Aus dem Institut für Neuropathologie (Prof. Dr. med. C. Stadelmann-Nessler) der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Validität human-transgener Mausmodelle für die Parkinson-Krankheit und die Lewy-Körper-Demenz

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von

Anna Lisa Pülm (geb. Ehlerding)

aus

Hannover

Göttingen 2021

Dekan:	Prof. Dr. Wolfgang Brück
Referent/in:	Prof. Dr. Walter J. Schulz-Schaeffer
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. Thomas Bayer
Drittreferent/in:	Prof. Dr. Thomas Meyer

Datum der mündlichen Prüfung: 11.08.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Validität human-transgener Mausmodelle für die Parkinson-Krankheit und die Lewy-Körper-Demenz" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis III			
Tabel	TabellenverzeichnisV		
Abkür	zungsverzeichnisV		
1	Einleitung		
1.1	Parkinson-Krankheit		
1.1.1	Epidemiologie1		
1.1.2	Ätiologie1		
1.1.3	Pathogenese		
1.1.4	Histopathologie		
1.1.5	Klinik		
1.1.6	Diagnostik und Therapie		
1.2	Lewy-Körper-Demenz		
1.2.1	Epidemiologie		
1.2.2	Atiologie		
1.2.3	Histopathologie und Pathogenese		
1.2.4	Klinik		
1.2.3	Diagnostik und Therapie		
1.5	Nosologischer Zusammennang der PD und der DLB		
1.4	Alpha-Synuclein 9		
1.4.1	Localisation und Struktur		
1.4.2	Funktion		
1.4.4	SNCA-Aggregation und -Zelltoxizität		
1.5	Welche Rolle spielen Lewy-Körper für Neurodegeneration und Neuroprotektion?11		
1.6	Kann sich die alpha-Synuclein-Pathologie von Zelle zu Zelle ausbreiten?		
1.7	SNCA-transgene Mausmodelle		
1.8	Zielsetzung der Arbeit		
2	Material und Methoden		
21	Aufarbeitung des murinen ZNS Gewebes 17		
2.1	Anfertigen von Paraffinschnitten 18		
2.2	PET_blot_Methode 19		
2.5	Immunhistochemia 20		
2.4	Lämetowig Essig Fähres		
2.5	Hamatoxyiin-Eosin-Farbung		
2.0	LFB-PAS-Farbung		
2./	SNCA-transgene Mauslinien		
2.8	Humanes Cortexgewebe eines DLB-Patienten		
2.9	Substanzen		
2.10	Geräte		

Ι

2.11	Materialien	
2.12	Programme	31
2.13	Antikörper	32
2.14	Lösungen	34
2.15	Beschreibung der semiquantitativen Messskala der SNCA-Pathologie	
2.15.1	Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Großhirns	
2.15.2	Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Kleinhirns	40
2.15.3	Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der weißen Substanz des Großhirns	42
2.16	Grundlagen der graphischen Auswertung	44
3	Ergebnisse	45
3.1	Auswertung der Mauslinie PAC-Tg- <i>A53T</i>	45
3.1.1	Junge und adoleszente Tiere	45
3.1.2	Erwachsene Tiere	57
3.1.3	Tiere mittleren Alters	68
3.1.4	Alte Tiere	79
3.2	Auswertung der Mauslinie PAC-Tg-SNCAwt	91
3.2.1	Junge und adoleszente Tiere	91
3.2.2	Erwachsene Tiere	102
3.2.3	Tiere mittleren Alters	112
3.2.4	Alte Tiere	122
3.3	Auswertung der Mauslinie SNCA -/- (homozygot null)	134
3.4	Auswertung der Mauslinie M83	137
4	Diskussion	145
4.1	Ist der Paraffin embedded tissue(PET) blot die Methode der Wahl?	145
4.2	Limitationen sowie fehleranfällige Aspekte der Auswertung	146
4.3	Morphologische Klassifikation der SNCA-Aggregation	148
4.4	Topographische Expansion der SNCA-Aggregation auf das murine ZNS-Gewel Vergleich zur humanen PD und DLB	be im 150
4.5	Ein Einblick in phänotypische Veränderungen	152
4.6	SNCA-transgene Mäuse – Ein realistisches Modell?	153
4.7	Sprechen die Ergebnisse für eine Prion-ähnliche Ausbreitung der SNCA- Pathologie?	155
4.8	Ergebnisse im Kontext der Dual-hit-Hypothese	156
4.9	Diskussion der Ergebnisse hinsichtlich des nosologischen Zusammenhangs von und DLB	PD 158
4.10	Aus dieser Arbeit abgeleitete Anregungen für weiterführende Fragestellungen	162
5	Zusammenfassung	160
6	Literaturverzeichnis	162

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 – 1.5: Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Großhirns exemplarisch veranschaulicht anhand der Hippocampus-Region
Abbildung 2.1 – 2.5: Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Kleinhirns exemplarisch veranschaulicht anhand des Stratum moleculare der Uvula cerebelli
Abbildung 3.1 – 3.3: Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der weißen Substanz des Großhirns veranschaulicht anhand der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels43
Abbildung 4.1 – 4.8: Graphische Auswertung – <i>A53T</i> , junge und adoleszente Tiere50
Abbildung 5.1 – 5.6: Exemplarische Fotoausschnitte – $A53T$, junge und adoleszente Tiere 55
Abbildung 6.1 – 6.8: Graphische Auswertung – <i>A53T</i> , erwachsene Tiere
Abbildung 7.1 – 7.6: Exemplarische Fotoausschnitte – $A53T$, erwachsene Tiere
Abbildung 8.1 – 8.8: Graphische Auswertung – <i>A53T</i> , Tiere mittleren Alters
Abbildung 9.1 – 9.6.: Exemplarische Fotoausschnitte – <i>A53T</i> , Tiere mittleren Alters77
Abbildung 10.1 – 10.8: Graphische Auswertung – <i>A53T</i> , alte Tiere
Abbildung 11.1 – 11.6: Exemplarische Fotoausschnitte – <i>A53T</i> , alte Tiere
Abbildung 12.1 – 12.6: Übersichtsdarstellung – Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie <i>A53T</i> im Alter von 10 – 24 Monaten
Abbildung 13.1 – 13.8: Graphische Auswertung – <i>SNCAwt</i> , junge und adoleszente Tiere97
Abbildung 14.1 – 14.6: Exemplarische Fotoausschnitte – <i>SNCAwt</i> , junge und adoleszente Tiere
Abbildung 15.1 – 15.8: Graphische Auswertung – SNCAwt, erwachsene Tiere
Abbildung 16.1 – 16.6: Exemplarische Fotoausschnitte – SNCAwt, erwachsene Tiere110
Abbildung 17.1 – 17.8: Graphische Auswertung – SNCAwt, Tiere mittleren Alters
Abbildung 18.1 – 18.6: Exemplarische Fotoausschnitte – SNCAwt, Tiere mittleren Alters 120
Abbildung 19.1 – 19.8: Graphische Auswertung – <i>SNCAwt</i> , alte Tiere
Abbildung 20.1 – 20.8: Exemplarische Fotoausschnitte – SNCAwt, alte Tiere
Abbildung 21.1 – 21.6: Übersichtsdarstellung – Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie <i>SNCAwt</i> im Alter von 10 – 24 Monaten
Abbildung 22.1 – 22.4: Übersichtsdarstellung – Fehlender Nachweis PK-resistenter SNCA- Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie <i>SNCA-/</i> 136
Abbildung 23.1 – 23.6: Exemplarische Fotoausschnitt – Muster der PK-resistenten SNCA- Aggregation bei einem elf Monate alten Tier der Linie <i>M83</i> 141
Abbildung 24.1 – 24.6: Übersichtsdarstellung – Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei einem Tier der <i>M83</i> im Alter von elf Monaten

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Definierte Altersgruppen entsprechend der Lebensphasen der Maus	17
Tabelle 2: Ebenen der koronalen Schnittführung	18
Tabelle 3: Stammdaten der SNCA-transgenen Mauslinie dbl-PAC-Tg-SNCA A53T	23
Tabelle 4: Stammdaten der SNCA-transgenen Mauslinie PAC-Tg-SNCAwt	24
Tabelle 5: Stammdaten der SNCA-transgenen Mauslinie SNCA -/- (homozygot null)	25
Tabelle 6: Stammdaten der SNCA-transgene Mauslinie M83	26
Tabelle 7: Humane Positiv-Kontrolle (DLB)	27
Tabelle 8: Substanzen	28
Tabelle 9: Geräte	30
Tabelle 10: Materialien	31
Tabelle 11: Programme	31
Tabelle 12: Primärantikörper 10D2	32
Tabelle 13: Primärantikörper LB509	32
Tabelle 14: Sekundärantikörper Anti-Maus, AP-konjugiert	33
Tabelle 15: Sekundärantikörper Anti-Maus, Biotin-konjugiert	33
Tabelle 16: Lösungen	34
Tabelle 17: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, junge und adoleszente Tiere	47
Tabelle 18: Legende zur tabellarischen Einzelauswertung	49
Tabelle 19: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, erwachsene Tiere	61
Tabelle 20: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, Tiere mittleren Alters	71
Tabelle 21: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, alte Tiere	81
Tabelle 22: Tabellarische Einzelauswertung - SNCAwt, junge und adoleszente Tiere	94
Tabelle 23: Tabellarische Einzelauswertung – SNCAwt, erwachsene Tiere	105
Tabelle 24: Tabellarische Einzelauswertung – SNCAwt, Tieren mittleren Alters	114
Tabelle 25: Tabellarische Einzelauswertung – SNCAnt, alte Tiere	124
Tabelle 26: Tabellarische Einzelauswertung – SNCA -/- (homozygot null)	135

Abkürzungsverzeichnis

AD	Alzheimer-Krankheit (Alzheimer's disease)
AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
Av	Arbor vitae
AWMF	Arbeitsgesellschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
A53T	SNCA-transgene Mauslinie: dbl-PAC-Tg-SNCA A53T
BCIP	Brom-4-chlor-3-indoxylphosphat
BO	Bulbus olfactorius
BOa	Bulbus olfactorius accessorius
СВ	Cerebellum
cbFT	Cerebelläre Fasertrakte
сс	Corpus callosum
ci	Capsula interna
cing	Cingulum
CP	Caudoputamen
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
DLB	Lewy-Körper-Demenz (Dementia with lewy-bodies)
DMF	Dimethylformamid
ENS	Enterisches Nervensystem
fi	Fimbrien (mediales Vorderhirnbündel)
FL	Flocculus cerebelli
fxs	Fornix-System
HE	Hämatoxylin-Eosin
HPR	Hippocampus-Region
HY	Hypothalamus
iLBD	Nachweis von Lewy-Körpern als Zufallsbefund (Incidental Lenn hody disease)
iPD	Idionathische Parkinson-Krankheit (Idionathic barkinson's disease)
IPN	Nucleus interpeduncularis
ISO	Isocortex
LB	Lewy-Körner (Lewy hodies)
LEB	Luxol-East-Blue-Earburg
I SK	Lateral-septaler Kompley (Striatum)
MFD	Medulla oblongata
MES	Mesencephalon
MIRG	Metaiodhenzylguanin
MPTP	1 Methyl 4 phenyl 1 2 3 6 tetrahydropyridin
MR IT	SNCA transgono Mauelinio: DrD Tg. 453T
n I	Normus olfactorius
11.1 n II	Nerros entina
11.11 n III	Nervus opticus
11.111 n V	Nervus oculomotorius
	Nerrous mgeninius
11. V 111	Nervus vesubulocochiearis
n.A	Nielt Americal beta Kamananata (Mananakid keta amtanat)
NAC	Nicht-Amyloid-beta-Komponente (1Non-amyloid-beta component)
NBI	Nitrodiautetrazoliumchiorid
INUA NETM	INUCIEUS OITACTOTIUS ANTERIOT
	Natrium-1ris-Magnesium
INUCI.IN.V	Nucleus nervi vagi
Nucl.N.X	Nucleus nervi trigemini
Nucl.O.a	Nucleus olfactorius anterior

Nucl.Ts	Nucleus tractus solitarii
MDS	Movement Disorder Society
OlfC	Olfactorischer Cortex
Р	Pons
PAC	Aus dem Bakteriophage P1 abgeleitetes künstliches bakterielles Chromosom
PALd	Dorsales Pallidum
PALm	Mediales Pallidum
PALv	Ventrales Pallidum
PAS	Periodsäure-Schiff Reaktion
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline)
PBST	Phosphatgepufferte Salzlösung mit Tween 20
PD	Parkinson-Krankheit (Parkinson's disease)
PDD	Parkinson-Krankheit mit Demenz (Parkinson's disease with dementia)
PET blot	Paraffin embedded tissue blot
PFA	Paraformaldehyd
PFL	Paraflocculus cerebelli
PG	Pontines Grau
PIR	Area piriformis
РК	Proteinase-K
Prion	Proteinaceous infectious particle
PrP	Prion-Protein-Promotor
PYR	Tractus pyramidalis
rHPR	Retrohippocampale-Region
sAMY	Striatum-ähnliches Kerngebiet der Amygdala
Si	Substantia innominata
SN	Substantia nigra
SNCA	Alpha-Synuclein (Protein)
SNCA	Alpha-Synuclein (Gen)
SNCAwt	SNCA-transgene Mauslinie: PAC-Tg-SNCA wildtyp
SNCA-/-	SNCA homozygot null /knockout Maus
STRv	Ventrales Striatum
SUB	Subiculum
TBS	Tris-gepufferte Salzlösung (Tris-buffered saline)
TBST	Tris-gepuffert Salzlösung mit Tween 20
Tg	Transgen
TH	Thalamus
tmt	Tractus mamillothalamicus
ТТ	Taenia tecta
UPDRS	Unified Parkinson's Disease Rating Scale
UVU	Uvula
wt	Wildtyp
ZNS	Zentralnervensystem

1 Einleitung

1.1 Parkinson-Krankheit

Die Parkinson-Krankheit (Parkinson's disease, PD) ist durch eine progredient verlaufende extrapyramidal-motorischen Degeneration des Systems gekennzeichnet. Die idiopathische/primäre PD (idiopathic parkinson's disease, iPD) macht ca. 75 – 90 % der Fälle aus. Die Ursache der iPD ist bis heute weitestgehend ungeklärt. In etwa 5 – 10 % der Fälle finden sich familiäre Formen der PD mit monogenetischem Erbgang. Die Erblichkeit beträgt etwa ca. 20 - 27 %. Die sekundäre/symptomatische PD kann diverse Ursachen haben: Medikamente, Tumoren, Traumata, Intoxikationen, Entzündungen, Gefäßerkrankungen, metabolische Alterationen. Die atypische PD entsteht im Rahmen anderer neurodegenerativer Erkrankungen, wie der zu den Tauopathien gehörenden progressiven supranukleären Blickparese, der Multisystematrophie (MSA), der Lewy-Körper-Demenz (Dementia with lewy-bodies, DLB) und der kortikobasalen Degeneration (Payami et al. 1994; De Michele et al. 1995; 1996; Marder er al. 1996; Farrer 2006; Sellbach et al. 2006; Wood-Kaczmar et al. 2006; Hawkes et al. 2007; DGN-Leitlinie 2016; Lesage und Brice 2009; Do et al. 2011).

1.1.1 Epidemiologie

Die iPD ist nach der Alzheimer-Krankheit (*Alzheimer's disease*, AD) die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung. Das Lebenszeitrisiko liegt bei ca. 2 - 2,5 % (Schapira 2006). In Abhängigkeit von der Studienpopulation liegt das durchschnittliche Erkrankungsalter zwischen dem 55 – 65. Lebensjahr (Dauer und Przedborski 2003; Twelves et al. 2003; Driver et al. 2009). Die Diagnosestellung erfolgt im Allgemeinen erst nach dem 60. Lebensjahr (Lesage und Brice 2009). Nur bei etwa 5 – 10 % der Patienten zeigen sich die Symptome bereits in Abhängigkeit von der Studienpopulation vor dem 40 – 50. Lebensjahr. Diese Sonderform der Erkrankung wird als *young-onset Parkinson's disease* klassifiziert (Lang und Lozano 1998a).

1.1.2 Ätiologie

Das SNCA-Gen (PARK1 locus) war das erste Gen, das eindeutig in Verbindung mit der autosomal-dominant vererbten PD gebracht wurde. Darauffolgend wurden achtzehn weitere mit der PD assoziierte Genloci (PARK1 - 18) benannt. Sechs einem PARK-locus zugeordnete Einzelgenmutationen (SNCA, LRRK2, PARKIN, DJ1, PINK1 und ATP13A2) mit mendelschem Vererbungsmuster und hoher Penetranz wurden als Ursache monogenetischer Formen der PD identifiziert (Polymeropoulos et al. 1996; 1997; Farrer 2006; Schapira 2006; Bekris et al. 2010; Mullin und Schapira 2015). Die Einzelgenmutationen sind jedoch relativ selten und tragen allenfalls einen marginalen Anteil zur Epidemiologie der PD bei (Farrer et al. 1998; Vaughan et al. 1998; Chan et al. 2000; Mullin und Schapira 2015).

Ferner scheinen gesteigerte SNCA-Expressionslevel die Wahrscheinlichkeit zu erkranken zu erhöhen. Polymorphismen des SNCA-Promotors sowie genomische Multiplikationen des *SNCA*-locus wurden in Verbindung mit der familiären PD gebracht (Touchman et al. 2001; Singleton et al. 2003; Farrer et al. 2004).

Man geht heute davon aus, dass die PD von multiplen Faktoren verursacht wird, darunter polygenetische Vererbung, Gen-Umwelt-Interaktion sowie Alterungsprozesse (Tanner 2003; Bekris et al. 2010; Mullin und Schapira 2015).

Neben den endogenen Ursachen haben etliche Studien den potentiellen Einfluss exogen Einflüsse toxischer offengelegt. Das Neurotoxin 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-(MPTP) bedingt einen tetrahydropyridin programmierten Zelltod dopaminerger Nervenzellen sowie eine charakteristische progredient verlaufende PD-Klinik (Burns et al. 1983; Langston et al. 1983; Salach et al. 1984; Javitch et al. 1985; Nicklas et al. 1985; Singer et al. 1986). Daneben wurden Herbizide und Pestizide als ursächliche Faktoren in der Pathogenese der Erkrankung beschrieben (Schapira 2006).

Daneben werden Inhibitoren des proteasomalen Funktion, inflammatorische Veränderungen der Substantia nigra sowie weitere exogene Faktoren (u. a. Nikotin-/Koffeinkonsum) mit der Ätiologie der PD in Verbindung gebracht (McGeer et al. 1988; 1996; Boka et al. 1994; Hunot et al. 1999; in t`Veld et al. 2001; Chen et al. 2003; McNaught et al. 2006).

Eine mitochondriale Dysfunktion, oxidative Schädigungen, Proteinaggregation sowie Defizite der Proteindegradation scheinen entscheidende Faktoren in der Pathogenese der PD zu sein (Schapira 2006; Bekris et al. 2010).

1.1.3 Pathogenese

Traditionell wurde die progressive Degeneration dopaminerger Neurone der Substantia nigra im fortgeschrittenen Stadium als pathophysiologisch entscheidende Komponente der PD angesehen. Die Dopamin-Depletion bedingt vermutlich ein durch die Neurotransmitter Gamma-Aminobuttersäure sowie Acetylcholin vermitteltes Ungleichgewicht der Funktion der Basalganglien und konsekutiv eine Suppression des kortikalen motorischen Systems. Die hemmende Wirkung auf die Regulation der Bewegungsabläufe erklärt wahrscheinlich die Entstehung der motorischen Kardinalsymptome der PD. Andererseits führt die Inhibition absteigender Projektionsbahnen des Hirnstamms vermutlich zu den mit der PD assoziierten Veränderungen des Gangbildes und der Haltung (Lang und Lozano 1998b; George et al. 2013; Benazzouz et al. 2014; Jellinger et al. 2015).

Die durch Braak et al. postulierte Dual-hit-Hypothese geht von der Inhalation eines unbekannten neurotropen Umweltpathogens aus. Die Pathologie manifestiere sich initial in Strukturen der Nase sowie, nach Verschlucken des nasalen Schleims, im Darm. Nach Überwindung der Epithelschicht würde das Pathogen entlang von Projektionsneuronen von der Riechschleimhaut zum Temporallappen und retrograd von der Darmschleimhaut entlang des Nervus vagus (n.X) zum Gehirn transportiert. Involviert seien entsprechend der Hypothese in frühen Stadien postganglionäre enterische Nervenzellen und präganglionäre Fasern viszeromotorischer Neurone. Von pathologischen Veränderungen seien weiterhin parasympathische Kerngebiete, sympathische Ganglien, vegetative Nervengeflechte und diverse andere Organe betroffen. Im Gehirn beginne der Prozess im motorischen Kern des Nervus vagus und Nervus glossopharyngeus und breite sich aufsteigend über das Mittelhirn in kaudorostraler Richtung schließlich ins Vorderhirn aus. Die relevanten Strukturen seien über Faserstränge eng miteinander verbunden (Braak et al. 2002; 2003a; 2003b; 2004; Del Tredici et al. 2002; Hawkes et al. 2007; 2009).

SNCA-Ablagerungen konnten im Bereich des Plexus submucosus sowie Plexus myentericus des enterischen Nervensystems (ENS) vom Ösophagus bis zum Rektum bereits vor dem Auftreten motorische Defizite nachgewiesen werden. Ferner wird die Pathologie im Bereich der Substantia nigra regelmäßig von umfangreichen Schäden diverser zentral- und periphernervöser Strukturen begleitet. Daraus schlussfolgernd sind zentralnervöse Strukturen möglicherweise erst im Anschluss an die Aszension der Pathologie über periphernervöse Strukturen betroffen (Wakabayashi et al. 1988; 1993; Braak und Braak 2000; Braak et al. 2003b; 2006b; Lebouvier et al. 2009; Beach et al. 2010; Derkinderen et al. 2011).

Aus heutiger Sicht handelt es sich bei der PD um eine Multisystemerkrankung im Rahmen derer pathologische Prozesse topographisch sowie chronologisch vorbestimmt neben dem nigrostriatalen System diverse Strukturen des zentralen, peripheren sowie enterischen Nervensystems involvieren und neben motorischen Defiziten Beeinträchtigungen des limbischen und autonomen Nervensystems bedingen. Die selektive Anfälligkeit bestimmter Neuronentypen ergibt ein distinktes, bilateral symmetrische Muster assoziierter histopathologischer Veränderungen (Braak und Braak 2000; Braak et al. 2003b; Braak und Del Tredici 2004; Beach et al. 2010; Jellinger 2015).

1.1.4 Histopathologie

Histopathologisches Kennzeichen der PD sind charakteristische zytoplasmatische Einschlusskörperchen in der Nähe des Zellkerns, sog. Lewy-Körper (*Lewy bodies*, LB). Filamentöse sowie feingranuläre Proteinablagerungen bilden einen dichten Kern welcher

von radiär angeordneten Filamenten umgeben ist. Die Hauptkomponente der LB bildet das synaptische Protein SNCA. LB sind vornehmlich im Bereich von Prädilektionsstellen der Neurodegeneration (Hirnstamm, Substantia nigra, Locus coeruleus) nachzuweisen (Lewy 1912; 1914; Duffy und Tennyson 1965; Roy und Wolman 1969; Spillantini et al. 1997; Baba et al. 1998; Spillantini und Goedert 2000; Braak et al. 2006b; Wakabayashi et al. 2007).

Neben den LB sind ferner degenerativ veränderte Zellfortsätze mit identischem immunhistochemischem Färbeprofil (sog. Lewy-Neuriten), extrazelluläre LB, gliale SNCA-Einschlüsse sowie eine reaktive Gliose im Bereich der Substantia nigra kennzeichnend (McGeer et al. 1988; Wakabayashi et al. 1992; 2000; 2013; Spillantini et al. 1997; Arai et al. 1999; Spillantini und Goedert 2000; Hishikawa et al. 2001; Piao et al. 2003; McGeer und McGeer 2008).

Insbesondere in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung können mit der AD assoziierte und/oder vaskuläre Veränderungen hinzukommen (Emre 2003).

1.1.5 Klinik

Die motorischen Kardinalsymptome der PD sind Brady-/Akinese, Rigor, Tremor sowie posturale Instabilität. Charakteristisch sind Bewegungsverlangsamung bis hin zur Unbeweglichkeit, Bewegungsarmut, ein eingeschränkter Bewegungsumfang sowie eine Verringerung von Spontanbewegungen. Die Planung, Initiierung und Ausführung von Willkürbewegungen ist erschwert und verzögert.

Typische Kennzeichen motorischer Defizite sind ein kleinschrittiges und schlurfendes Gangbilds mit vorgeneigter Haltung im Bereich der Hals- und Rumpfwirbelsäule mit angewinkelten Armen und Beinen, verlangsamte oder fehlende Gleichgewichtsreflexe und in Folge posturale Instabilität, plötzliche kurze Bewegungsblockaden (sog. *freezing*), ein ruckartiges Nachgeben bei passiver Gelenkbewegungen basierend auf einer Tonuserhöhung des Gelenkmuskulatur (sog. Zahnradphänomen), der für die PD charakteristische sog. Pillendreher-Tremor der distalen Extemitäten, Hypomimie, Mikrographie, eine leise und monotone Sprache, eine Beeinträchtigung des Schluckvorgangs. Die Klinik der PD beginnt typischerweise einseitig und bleibt meistens seitenbetont (Berardelli et al. 2001; Giladi et al. 2001; Hoehn und Yahr 2001; Jankovic 2008; Goetz et al. 2008).

Zu den für die PD typischen autonomen Dysfunktionen zählt eine orthostatische Hypotension, Störungen der Thermoregulation, eine vermehrte Talg- und Speichelproduktion, Obstipationsneigung, Harn- und Stuhlinkontinenz sowie erektile Dysfunktion.

Typische kognitive Defizite äußern sich in Form von Verlangsamung, Störungen des logischen Denkens, Aufmerksamkeits- und Sprachstörungen, Defiziten der visuelle-

räumlichen Funktion sowie Gedächtniseinbußen. Etwa 80 % der PD-Patientin entwickeln im Krankheitsverlauf eine dementielle Symptomatik (*Parkinon's disease with dementia*, PDD) mit schleichendem Beginn und langsamer Progression. Bei der PDD tritt die Demenz, im Gegensatz zur DLB, erst mindestens ein Jahr nach bestehender PD-typischer Symptomatik auf (sog. "Ein-Jahres-Regel"). Angst- und Schlafstörungen, Depression, Apathie, Halluzinationen, Psychosen sowie die Manifestation abnormer Verhaltensweisen sind typische neuropsychiatrische Komorbiditäten. Weiterhin zeigen PD-Patientin regelmäßig sensorische Veränderungen in Form von Hyposmie, Dysästhesie und Schmerzen (Mayeux et al. 1992; Hoehn und Yahr 2001; Emre 2003; Aarsland et al. 2005; McKeith et al. 2005; Emre et al. 2007; Jankovic 2008; Munhoz et al. 2015; AWMF-Leitlinie 2016).

Die PD schreitet progredient voran und zeigt typischerweise einen stadienhaften Verlauf, wobei nicht nicht-motorische Symptome den motorischen Kardinalsymptomen häufig viele Jahre vorausgehen (Hoehn und Yahr 2001).

1.1.6 Diagnostik und Therapie

Basierend auf charakteristischen Merkmalen der PD mit hoher Sensitivität und Spezifität wurden diagnostische Kriterien entwickelt, die eine Diagnosestellung zu Lebzeiten auch in frühen Krankheitsstadien sowie eine Abgrenzung gegenüber anderen mit einer Parkinsonähnlichen Symptomatik vergesellschafteten Erkrankungen ermöglichen sollten (Gelb et al. 1999; Gibb et al. 1988). Die UK Parkinson's Diease Society Brain Bank Clinical Diagnostic Criteria gilt entsprechend der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) zum idiopathischen Parkinson-Syndrom als Goldstandart (DGN 2016). Zur Sicherung der Verdachtsdiagnose muss neben Brady-/Akinese mindestens eines der drei weiteren Kardinalsymptome (Rigor, Tremor, Akinese) zu beobachten sein. Die klinische Diagnosestellung wird durch das Vorhandensein unterstützender Kriterien (einseitiger Beginn, persistierende Asymmetrie und langsame Progression des Krankheitsverlaufs, Ruhetremor, positives und anhaltendes Ansprechen auf Levodopa, choreatische Dyskinesien) bestätigt. Das Vorliegen nicht-motorisches Begleitsymptome ist nicht erforderlich.

Hinweise auf ein symptomatisches/sekundäres Parkinson-Syndrom sollten ausgeschlossen sowie die Möglichkeit genetischer Formen der PD hinterfragt werden.

Die Diagnose gilt dennoch erst dann als sicher, wenn postmortal für die PD charakteristische histopathologische Kriterien (Neurodegeneration mit vergesellschafteter Gliose im Bereich der Substantia nigra, der Nachweis mindestens eines LB im Bereich der Substantia nigra oder des Locus coeruleus, Ausschluss pathologischer Veränderungen anderer Erkrankungen, die mit einer der PD ähnlichen Symptomatik assoziiert werden) nachgewiesen werden können (Sandmann-Keil und Braal 2005). Zur Basisdiagnostik gehört neben einer klinisch-neurologischen Untersuchung die Evaluation diagnostischer Kriterien entsprechend der Unified Parkinson's Disease Rating Scale der Movement Disorder Society (Goetz et al. 2008) sowie die darin enthaltene Stadieneinteilung nach Hoehn und Yahr 2001. Zum Ausschluss symptomatischer Ursachen sollte eine strukturelle cerebrale Bildgebung erfolgen (kraniale Computertomographie, kraniale Magnetresonanztomographie), die durch weitere bildgebende Verfahren (Positronen-Emissions-Tomographie, Dopamin-Transporter-SPECT, MIBG-SPECT, transkranielle Sonographie) in Einzelfällen ergänzt werden kann.

Klinische Verlaufskontrollen sollten mindestens halbjährlich erfolgen.

Eine genetische Beratung kann bei früher Krankheitsmanifestation vor dem 45. Lebensjahr oder Hinweis auf familiäre Häufung erfolgen.

Auch aufgrund der bis heute nicht abschließend geklärten Ursache der PD steht keine kausale Therapie zur Verfügung. Die Therapie sollte rechtzeitig, altersgerecht und effizient begonnen werden. Je nach Alter, Erkrankungsdauer und sozialer Situation wird das Therapieziel formuliert. Neben zahlreichen Medikamenten stehen operative Behandlungsverfahren in Form einer tiefen Hirnstimulation sowie der Einsatz weiterer nicht medikamentöser Therapiemaßnahmen (u. a. Physiotherapie, Sprech-/Sprachtherapie, Ergotherapie, logopädische Schlucktherapie, Verhaltens-/Psychotherapie) zur Verfügung (DGN-Leitlinie 2016).

1.2 Lewy-Körper-Demenz

Die DLB ist eine neurodegenerative Demenz die zusammen mit der PD sowie der MSA zu den mit SNCA-Aggregation-assoziierten neurodegenerativen Erkrankungen gezählt wird.

1.2.1 Epidemiologie

Die DLB ist zusammen mit der PDD nach der AD vermutlich die zweithäufigste Ursache für die Demenz des älteren Menschen. Diagnostische Unsicherheiten führen zu Schwierigkeiten der Erhebung der tatsächlichen Häufigkeit der Erkrankung. Die Prävalenz beträgt je nach Studienpopulation bei den über 65-Jährigen in der Allgemeinbevölkerung bis zu 0,5 %, bei den über 85-Jährigen etwa 5 %. Das entspricht einem Anteil von etwa 30 % an allen Demenzpatienten. Eine Erstdiagnose der Erkrankung vor dem 65. Lebensjahr ist ungewöhnlich (Holmes et al. 1999; Stevens et al. 2002; Rahkonen et al. 2003; McKeith et al. 2004; Zaccai et al. 2005; Neef und Walling 2006; Vann Jones und O'Brien 2014; Walker L et al. 2015; Walker Z et al. 2015).

1.2.2 Ätiologie

Die Ätiologie der sporadischen DLB ist bis heute weitestgehend ungeklärt. Man führt die Pathogenese ähnlich der PD auf ein multifaktorielles Geschehen zurück. Die Beschreibung familiärer Häufungen mit autosomal-dominantem Erbgang deutet auf den Einfluss genetischer Faktoren hin. Molekulargenetische Untersuchungen ergaben Variationen im *SNCA-, LRRK2-, GBA- sowie APOE-*Gen. Ob diese seltenen Varianten verursachende Mutationen oder lediglich Risikofaktoren darstellen bleibt unklar (Brett et al. 2002; Tsuang et al. 2004; Bogaerts et al. 2007; Meeus et al. 2012; Hyun et al. 2013; Nalls et al. 2013; Tsuang et al. 2014; Walker L et al. 2015).

1.2.3 Histopathologie und Pathogenese

Das histopathologische Kennzeichen der DLB ist das weitverbreitete Vorkommen von LB im Bereich des Cortex cerebri (Kosaka 1978; Katsuse et al. 2003). Daneben sind LB im Bereich des limbischen Systems, des Diencephalons, der Basalganglien sowie des Hirnstamms nachzuweisen. In Abhängigkeit vom jeweiligen Muster der LB-Ablagerungen bzw. der Vulnerablität bestimmter Hirnareale ergeben sich verschiedene Subtypen innerhalb der untersuchten DLB-Fälle (Kosaka et al. 1984; McKeith et al. 2003; 2005). Daneben AD-typische können postmortem häufig histopathologische Veränderungen (Amyloidplaques, neurofibrilläre Tangles), vaskuläre Veränderungen, neurodegenerative peripheren Nervensystems sowie gliale Veränderungen des SNCA-Einschlüsse nachgewiesen werden. Angenommen wird ein synergistischer Effekt der Histopathologien auf den klinischen Phänotyp (Kosaka et al. 1984; Arai et al. 1999; Piao et al. 2000; 2003; McKeith et al. 2003; Edison et al. 2008; Jellinger et al. 2010; Gomperts et al. 2012; Meeus et al. 2012; Irwin et al. 2013b; Walker L et al. 2015; Barker und Williams-Gray 2016).

Die Übertragung der Vorstellung einer topographisch und chronologisch vorbestimmten sequentiellen Ausbreitung der Pathologie auf das Nervensystem im Rahmen der DLB analog der Dual-hit-Hypothese ist nicht etabliert. Die zu beobachtenden histopathologischen Veränderungen weichen von einer kaudorostralen Ausbreitung ab.

Biochemisch ist die DLB mit einer Dopamin- und Acetylcholindepletion assoziiert, vergleichbar mit Neurotransmitterdefiziten entsprechend der PD (McKeith et al. 1996).

1.2.4 Klinik

Zentrales Merkmal der DLB ist die Demenz. Die persistierende Beeinträchtigung des Erinnerungsvermögens tritt nicht notwendigerweise in frühen Stadien der Erkrankung auf, wird aber in den meisten Fällen im Verlauf evident. Daneben zählen Fluktuation der kognitiven Funktion (insbesondere Aufmerksamkeit und Wachheit) sowie visuelle Halluzinationen zu den Kernmerkmalen der Erkrankung. Per Definition beginnt der klinische Verlauf mit kognitiven und/oder weiteren psychiatrischen Symptomen und geht gleichzeitig oder innerhalb eines Jahres (sog. "1-Jahres-Regel") mit den typischen motorischen Kardinalsymptomen (Bradykinese/Akinese, Rigor, Tremor) der PD einher. Auf die DLB hinweisende Kriterien sind eine REM-Schlaf-Verhaltensstörungen, eine ausgeprägte Neuroleptika-Überempfindlichkeit sowie eine Dopamindepletion im Bereich der Basalganglien. Wiederholte Stürze, Synkopen, orthostatische Dysfunktion, Urininkontinenz, Halluzinationen sowie Wahnvorstellung und Depression können unterstützend vorliegen (McKeith et al. 2004; 2005; Neef und Walling 2006; Weisman und McKeith 2007; AWMF-Leitlinie 2016).

1.2.5 Diagnostik und Therapie

Die Diagnose zu Lebzeiten stützt sich vor allem auf das Vorliegen sowie den zeitlichen Verlauf charakteristischer klinischer Merkmale sowie den Ausschluss von Differentialdiagnosen. Eine Auswahl bildgebender Verfahren (cCT, cMRT, DaTScan, SPECT, PET, EEG, MIBG-Szintigraphie) wird hinzugezogen, um krankheitsbedingte Veränderungen zu diagnostizieren und Differentialdiagnosen abzugrenzen. Der Nachweis eines eingeschränkt-charakteristischen Verteilungsmuster und die Dichte der LB-, AD- und vaskulären Pathologie in postmortalen Untersuchungen kann die Diagnose stützen. Hilfe der zur Verfügung stehenden diagnostischen Mittel ist das Vollbild der DLB von der PDD nicht sicher zu unterscheiden und die diagnostische Treffsicherheit daher limitiert (McKeith et al. 1996; 1999; 2004; 2005; Lang und Bergmann 2002).

Bis heute steht bezüglich der DLB kein kurativer Therapieansatz zur Verfügung. Aufgrund einer extremen Neuroleptika-Sensitivität mit assoziierter erhöhter Morbiditäts- und Mortalitätsrate ist eine Abgrenzung der DLB von anderen Demenzformen zu Lebzeiten insbesondere für die Pharmakotherapie von Relevanz. Zentral wirksame Cholinesterase-Inhibitoren sowie dopaminerge Mittel finden in der medikamentösen Therapie neuropsychiatrischer sowie motorischer Beschwerden Anwendung. Daneben werden analog der PD bzw. PDD eine Reihe nicht-medikamentöser Therapiemaßnahen eingesetzt (McKeith et al. 2004; Mayo und Bordelon 2014; Barker und Williams-Gray 2016).

1.3 Nosologischer Zusammenhang der PD und der DLB

Überschneidungen klinischer, pathologischer und genetischer Merkmale der DLB mit der PD aber auch der AD resultieren in Schwierigkeiten hinsichtlich der Diagnosestellung sowie der Klassifikation der Erkrankungen. Einerseits handelt es sich bei der DLB möglicherweise um eine definierte pathologische Entität mit spezifischer Entstehungsperspektive. Andererseits basieren die Erkrankungen auf einer gemeinsamen zugrundeliegenden biologischen Ebene. Sie hätten demnach eine einheitliche Entstehungsperspektive und würden vielmehr phänoytpische Expressionsformen einer Entität darstellen. Die pathologisch-assoziierten Prozesse würden sich nur durch einen beliebigen Zeitfaktor unterscheiden. Die Verwendung des Überbegriffs Lewy-Körper-Erkrankungen greift den Aspekt der nicht eindeutigen kategorischen Unterscheidung der Erkrankungen auf und fasst diese unspezifisch als mit SNCA-Aggregation einhergehende Erkrankungen zusammen. Die spezifischen Bezeichnungen als PD und DLB finden allerdings Anwendung, um das individuelle klinische Bild, den zeitlichen Verlauf sowie die relative Gewichtung der Symptome angemessen beschreiben zu können (McKeith et al. 2003; Singleton et al. 2003; Chartier-Harlin et al. 2004; McKeith und Mosimann 2004; McKeith et al. 2004; Zaccai et al. 2005; Farrer 2006; Meeus et al. 2012; Walker L et al. 2015; Barker und Williams-Gray 2016).

1.4 Alpha-Synuclein

1.4.1 Lokalisation und Struktur

Das Protein Alpha-Synuclein (SNCA) wird in seiner physiologischen Konformation in hoher Konzentration weitverbreitet in präsynaptischen Nervenendigungen vorwiegend im Bereich des ZNS exprimiert. In der Präsynapse besteht ein Gleichgewicht zwischen einer mit synaptischen Vesikeln assoziierten membrangebundenen und einer freien, zytosolischen Form (Buchman et al. 1998; Galvin et al.2001; Giasson et al. 2001a; Li et al. 2002; Mori et al. 2002b; Surgucheva et al. 2006).

Das für das Protein SNCA codierende Gen ist auf Chromosom 4q21 lokalisiert (Chen et al. 1995; Shibasaki et al. 1995; Spillantini et al. 1995; Lavedan et al. 1998a).

SNCA besteht aus 140 Aminosäuren. Die Primärstruktur wird in drei Domänen eingeteilt. Aminosäuren 1 - 60 bilden den N-terminalen Abschnitt. Er besteht aus einer wiederholten Sequenz von elf Aminosäuren, mit der jeweiligen Konsensus-Sequenz KTKEGV. Die alpha-Helix, resultierende Sekundärstruktur ist eine amphipathische die mit Phospholipmembranen interagiert. Aminosäuren 61 – 95 bilden die zentrale, hydrophobe Domäne. Dieser Abschnitt besitzt die sog. Non-amyloid-beta component (NAC)-Region, die auch in AD-Plaques vorkommt. Dieser Abschnitt ist essentiell um amyloidartige beta-Faltblatt-Fibrillen zu formieren und ist damit in die Proteinaggregation involviert. Die Aminosäuren 96 – 140 bilden den C-terminalen Abschnitt. Der Abschnitt zeigt keine Tendenz eine bestimmte Sekundärstruktur zu bilden. Er vermittelt Protein-Protein-Wechselwirkungen (Maroteaux et al. 1988; Maroteaux und Scheller 1991; Tobe et al. 1992; Nakajo et al. 1993; Shibayama-Imazu et al. 1993; Uéda et al 1993; Jakes et al. 1994; George et al. 1995; Iwai et

al. 1995a; 1995b; Weinreb et al. 1996; Ji et al. 1997; Buchman et al. 1998; Conway et al. 1998; Davidson et al. 1998; Lavedan et al. 1998b; Clayton und George 1998; 1999; Jo et al. 2000; Giasson et al. 2001; George et al. 2002; Mori et al. 2002; Du et al. 2003; Jao et al. 2004; von Bohlen und Halbach 2004; Bisaglia et al. 2006; Breydo et al. 2012; Fauvet et al. 2012).

1.4.2 Funktion

Die physiologische Funktion des synaptischen Proteins ist bis heute nicht vollständig geklärt. Man geht davon aus, dass SNCA in die nachfolgenden physiologischen Prozesse involviert ist: Synaptische Plastizität, Genese und Aufrechterhaltung des synaptischen Vesikel-Pools, Vesikel-Recycling, Axonaler Transport synaptischer Vesikel, Fusion und Dissoziation des SNARE-Komplexes, Beeinflussung des Dopaminmetabolismus, Neuroregeneration geschädigter Axone (George et al. 1995; Jenco et al. 1998; Abeliovich et al. 2000; Liscovitch et al. 2000; Murphy et al. 2000; Lee et al. 2001; Sharon et al. 2001; Cabin et al. 2002; Daekyun et al. 2002; Lotharius und Brundin 2002a; 2002b; Perez et al. 2002; Xu et al. 2002; Di Rosa et al. 2003; Martinez et al. 2003; Wersinger et al. 2003; Wersinger und Sidhu 2003; Chandra et al. 2004; Liu et al. 2004; Sidhu et al. 2004; Yu et al. 2004; Burré et al. 2010; Scott und Roy 2012).

1.4.3 Genetische Varianten des SNCA-Gens

Genetische Analysen in Fällen familiärer PD führten zur Entdeckung von Punktmutationen sowie Multiplikationen des SNCA-Locus mit autosomal-dominantem Erbgang, einer gesteigerten Aggregationstendenz, einer assoziierten LB-Pathologie sowie einem klinischen Phänotyp entsprechend eines early-onset Parkinsonism. Die Punktmutationen A53T, A30P sowie E46K gehen mit einer veränderten Sekundärstruktur sowie gesteigerten Aggregationstendenz einher. Eine Überexpression im Rahmen SNCAvon Duplikation/Triplikation scheint positiv mit der potentiell schädigenden Wirkung bzw. der Schwere des Phänotyps zu korrelieren. Die Überexpression der genetischen Wildtyp(wt)-Variante ist ausreichend, um eine Pathologie auszulösen. Die A53T- und E46K-Mutation sowie die SNCA-Triplikation zeigen altersabhängig eine vollständige Penetranz. Sie zeigen klinischen sowie histopathologischen ein Phänotyp-Spektrum, das von der PD über die PDD bis zur DLB reicht. Die A30P-Mutation sowie SNCA-Duplikation weisen eine unvollständige Penetranz auf. Letztere sind nur selten mit einer Demenz assoziiert, zeigen mildere Formen einer PD-Symptomatik und die histopathologischen Veränderungen scheinen auf den Hirnstamm begrenzt. Ferner wird die SNCA-Expression von genetischen Variationen des Promotors beeinflusst (Iwai et al. 1995b; Jensen et al. 1995; Weinreb et al. 1996; Polymeropoulos et al. 1997; Krüger et al. 1998; Li J et al. 2001; Perrin et al. 2001; Singleton et al. 2003; Chartier-Harlin et al. 2004; Chiba-Falek und Nussbaum 2001; Farrer et al. 2001;

2004; Hamilton 2004; Zarranz et al. 2004; Greenbaum et al. 2005; Chu und Kordower 2007; Angot et al. 2010; Cookson 2010; Meeus et al. 2012).

1.4.4 SNCA-Aggregation und -Zelltoxizität

Unter physiologischen Bedingungen liegt ein Gleichgewicht zwischen einer instabilen monomeren Konformation sowie einem SNCA-Tetramer vor. Das SNCA-Monomer hat eine starke Tendenz zur Fehlfaltung und Aggregation. Die Aggregationsneigung des stabilen Oligomers ist nicht oder nur gering ausgeprägt. Die Destabilisierung der tetrameren Proteinkonformation sowie eine erhöhte SNCA-Expression bedingen eine Verschiebung des Gleichgewichts von der physiologischen monomeren zu einer fehlgefalteten monomeren Form. Die fehlgefalteten Monomere bilden kleine Oligomere (sog. Protofibrillen) mit charakteristischer beta-Faltblatt-Struktur. Von diesem Kern ausgehend lagern sich Oligomere longitudinal aneinander und ergeben letztlich unlösliche fibrilläre Strukturen, die sich u. a. in Form von LB ablagern (*nucleation-dependent polymerization*) (Wetzel 1996; Goldberg und Lansbury 2000; Uversky 2001a; 2001b; 2003; 2007; Trojanowski und Lee 2003; Uversky und Fink 2004; Fink 2006; Luk et al. 2009; Nonaka et al. 2010; Bartels et al. 2011; Wang et al. 2011).

Die Basis des potentiell von SNCA-Aggregaten ausgehenden toxischen Effekts und der konsekutiven Neurodegeneration wird mit den folgenden pathologisch-assoziierten Prozessen in Verbindung gebracht: Beeinträchtigung des synaptischen Vesikeltransports und Neurotransmitterfreisetzung, des der Dysfunktion Mitochondriums, des endoplamasmatischen Retikulums, des Ubiquitin-Proteasom-Systems sowie der Lysosomabhängigen Proteindegradation, Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies, erhöhte Membranpermeabilität infolge einer potentiell porenbildenen Funktion fehlgefalteter SNCA-Oligomere (Ii et al. 1997; Stefanis et al. 2001; Tanaka et al. 2001; Petrucelli et al. 2002; Volles und Lansbury 2002; Snyder et al. 2003; Zhu et al. 2003; Cuervo et al. 2004; Lindersson et al. 2004; Pountney et al. 2004; Smith et al. 2005; Cooper et al. 2006; Zaltieri et al. 2015).

Welche Mechanismen der initialen SNCA-Fehlfaltung zugrunde liegen sind bis heute weitestgehend ungeklärt. Neben genetischen Variationen wird der Einfluss diverser posttranslationaler Modifikationen, Metalle und Pestizide diskutier.

1.5 Welche Rolle spielen Lewy-Körper für Neurodegeneration und Neuroprotektion?

Man geht heute davon aus, dass die Formation nicht-fibrillärer SNCA-Mikroaggregate (Oligomere und Protofibrillen) im Bereich präsynaptischer Nervenendigungen toxisch wirkt. Diese Proteinablagerungen werden vermutlich entlang von Axonen retrograd in Richtung Zellsoma transportiert und in weniger schädliche Strukturen überführt, indem die proteotoxische Oberfläche im Vergleich zu kleineren Aggregaten reduziert wird. Es entstehen zuerst LN und später größere Proteinaggregate in Form von LB im Zellsoma. Die Formation fibrillärer SNCA-Aggregate stellt vermutlich einen zytoprotektiven Mechanismus dar, die es der Zelle ermöglicht noch eine Zeit mit Einschlusskörperchen zu leben bevor die Funktion frühzeitig zugrunde geht (Newell et al. 1999; Kopito 2000; Ding et al. 2002; Lashuel et al. 2002; Marui et al. 2002; McNaught et al. 2002; Katsuse et al. 2003; Kramer und Schulz-Schaeffer 2007; Jellinger 2012; Schulz-Schaeffer 2015; Sekigawa et al. 2015)

Neben LB und LN wurden im Rahmen von mit SNCA-Aggregation-assoziierten neurodegenerativen Erkrankungen weitere das Neuropil durchziehende Ablagerungen beschrieben. Zahlreiche feine faserähnliche Strukturen (*Leny-Threads*) sowie feine punktförmige Ablagerungen (*Leny-Dots*) repräsentieren wahrscheinlich von der Pathologie betroffene Axone, Dendriten und präsynaptische Nervenendigungen, die in Relation zum Nachweis von LB und LN besser mit der klinischen Symptomatik korrelieren. LB treten vermutlich erst in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung auf. Sie sind typisch für die assoziierten Erkrankungen und histopathologisch relevant, lass die Schwere der klinischen Symptomatik und die Dauer der Erkrankung aber nicht abschätzen (Kosaka 1978; Wakabayashi et al. 1998a; 2013; Braak et al. 2000; Gómez-Tortosa et al. 2000; Katsuse et al. 2003; Saito et al. 2003; Zaja-Milatovic et al. 2005; 2006; Kramer und Schulz-Schaeffer 2007; Beach et al. 2008; Alafuzoff et al. 2008; 2009; Leverenz et al. 2008; Jellinger 2009; Kanazawa et al. 2012; Schulz-Schaeffer 2012; 2015; Kovacs et al. 2014; Sekigawa et al. 2015).

Der Nachweis von LB im Bereich von Prädilektionsstellen gelingt in überlebenden Zellen. Vermutlich haben dabei nur bestimmte Neuronen-Populationen die Fähigkeit SNCA-Mikroaggregate im Rahmen eines Detoxifikations-Prozesses in eine weniger schädliche Form zu überführen (Schulz-Schaeffer 2012; 2015).

Der sporadische Nachweis einer schwach ausgeprägten LB-Pathologie ohne auffällige neurologische Symptomatik (*Incidental Leny-Body Disease*, iLBD) im Gehirn des älteren Menschen gilt als mögliche physiologische oder präklinische Manifestation. Der Nachweis von LB und LN ist zumindest in einem gewissen Umfang nicht notwendigerweise pathologisch assoziiert (Arawaka et al. 1998; Lippa et al. 1998; Gelb et al. 1999; Lippa et al. 1999; Spillantini et al. 1999; Hamilton 2000; Saito et al. 2004; Wong et al. 2004; Suzuki et al. 2007; DelleDonne et al. 2008; Dickson et al. 2008; Caviness et al. 2011; Wrede 2011; Paisán-Ruiz et al. 2012; Winder-Rhodes et al. 2012).

1.6 Kann sich die alpha-Synuclein-Pathologie von Zelle zu Zelle ausbreiten?

Die Vorstellung, dass sich die SNCA-Pathologie in einer chronologisch vorbestimmten Sequenz sukzessive auf weite Teile des Nervensystems ausbreitet, führte zu der Fragestellung ob und auf welche Weise das fehlgefaltete Protein in der Lage ist sich auf benachbarte Zellen bzw. Strukturen auszubreiten und dort ebenfalls eine Fehlfaltung und Aggregation homologer Proteine auszulösen.

Prion-Erkrankungen zeichnen sich durch eine nicht virale Ausbreitung der pathologischen Proteinkonformation innerhalb des Organismus sowie interindividuell und artübergreifend aus. Induziert durch ein vermutlich multifaktorielles Geschehen (Stochastik, Zeit, genetische Prädisposition, potentielle exogene Risikofaktoren) lagern sich fehlgefaltete Monomere zu (pathological Oligomeren zusammen seed), die die Anlagerungen und den Konformationswechsel der physiologischen Isoform induzieren. Der Zerfall des wachsenden Proteinaggregats führt zur Entstehung weiterer Oligomere. Fibrilläre Strukturen stellen den Endpunkt des Aggregationsprozesses dar (Prusiner 1982; Riek et al. 1996; Aguzzi 2009; Aguzzi und Rajendran 2009; Angot und Brundin 2009; Olanow und Prusiner 2009; Wille et al. 2009; Angot et al. 2010; Frost und Diamond 2010; Goedert 2010, 2015).

Studienergebnisse deuten darauf hin, dass sich die SNCA-Pathologie Prion-ähnlich ausgehend von einem Fokus intraindividuell von Zelle zu Zelle ausbreiten kann (sog. *Seeding-effect*) vermutlich ohne eine infektiöse Komponente aufzuweisen. So konnten eine Zell-zu-Zell Ausbreitung analog einer *graf-to-host-* und *host-to-graft-transmission* sowie eine Prion-ähnliche Pathologie nach Inokulation mit SNCA-Fibrillen reproduziert werden (Freed et al. 2001; Kordower et al. 2008a; 2008b; Li et al. 2008; Olanow und Prusiner 2009; Angot et al. 2010; Visanji et al. 2013; Beekes et al. 2014; Kovacs et al. 2014).

1.7 SNCA-transgene Mausmodelle

Genetisch modifizierte Tiermodelle für mit SNCA-Aggregation-assoziierte Erkrankungen basieren vorwiegend auf den Hypothesen, dass *SNCA*-Missense-Mutationen (u. a. *A53T*, *A30P*, *E46K*) sowie *SNCA*-Überexpression die intrinsische Neigung Amyloid-Fibrillen zu bilden erhöhen. Basierend auf der Annahme, dass die klinische Übereinstimmung der familiären und der sporadischen Form der mit SNCA-Aggregation-assoziierten Erkrankungen auf gemeinsamen pathophysiologischen Mechanismen beruht, generierte man diverse genetisch modifizierte Modellorganismen.

SNCA-knockout Mäuse ermöglichten Rückschlüsse auf die physiologische Funktion des Proteins (Abeliovich et al. 2000; Cabin et al. 2002; Dauer et al. 2002; Schlüter et al. 2013). Der Einsatz verschiedener Promotoren sollte die *SNCA*-Expression/Überexpression in zum Teil selektiven Neuronen-Populationen ermöglichen, die typischerweise bei humanen assoziierten Erkrankungen pathologische Veränderungen aufweisen. Verwendung fanden neben dem Prion-Protein (PrP)-Promotor u. a. das sog. P1 artifizielle Chromosom (PAC), das die SNCA-Expression unter der Kontrolle des "eigenen" *SNCA*-Promotors möglich machte. Das PAC enthält das gesamt humane *SNCA*-Gen einschließlich einer Upstream-Sequenz, die alle bekannten *SNCA*-Promotor-Elemente abdeckt (Touchman et al. 2001; Giasson et al. 2002; Lee et al. 2002; Gispert et al. 2003; Kahle et al. 2008; Emmer et al. 2011).

Neben den oben genannten SNCA-transgenen Mausmodellen existieren eine Vielzahl weiterer Modellorganismen, die u. a. auf dem Einsatz diverser weiterer Promotoren, der Expression einer weiteren mit einem PARK-Locus assoziierten Einzelgenmutation (*LRRK2, PARKIN, PINK, DJ-1*), der Modifikation spezieller Transkriptionsfaktoren (Nur-1, Pitx3) und der Exposition ggü. Neurotoxinen (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) oder Pestiziden (Paraquat, Maneb, Rotenone) beruhen.

Gemeinsames Ziel experimenteller Modellorganismen war die Möglichkeit der Beschreibung von Orten der Primärmanifestation pathologischer Veränderungen, spezifischer pathogener Ereignisse und deren phänotypische Folgen, eines potentiellen Ausbreitungsmusters sowie möglicher exogener Einflüsse zu Lebzeiten.

Die Einfachheit der experimentellen Tiermodelle resultiert in einer Limitation hinsichtlich der Abbildung der Komplexität relevanter neurodegenerativer Prozesse. Gemeinsames Merkmal aller transgenen Mausmodelle war die altersabhängige somatodendritische Akkumulation von SNCA-Aggregaten. Im Allgemeinen bestand eine positive Korrelation zwischen hohen SNCA-Expressionsleveln und der Schwere histopathologischer Veränderungen und eine negative Korrelation zwischen hohen SNCA-Expressionsleveln und dem Zeitpunkt der Erstmanifestation. Jedes der genannten Modelle konnte einzelne Aspekte humaner assoziierter Erkrankungen rekapitulieren (mögliche Stadien des Krankheitsprozesses, subpathologische Veränderungen, degenerativer Veränderungen typischerweise involvierter Neuronen-Populationen, charakteristische Proteinablagerungen, weitestgehend mit der humanen Erkrankung übereinstimmende phänotypische Veränderungen). Einige Modelle zeigten aus fibrillärem Amyloid bestehende kompakte, runde somatodendritische LB-ähnliche Einschlüsse. Dennoch konnte das gesamte Spektrum pathologischer Veränderungen in keinem Modell vereint werden (Giasson 2002; Fernagut und Chesselet 2004; Springer und Kahle 2006; Buchman und Ninkina 2008; Chesselt 2008; Dawson et al. 2010; Duty und Jenner 2011; Emmer et al 2011).

Keines der Modelle gilt als spezifisch für die PD oder DLB.

1.8 Zielsetzung der Arbeit

Die PD und die DLB überschneiden sich auf genetischer, pathophysiologischer sowie phänotypischer Ebene. Unterschiede sind vornehmlich hinsichtlich der jeweiligen regionalen Verteilung spezifischer histopathologischer Veränderungen (insbesondere SNCA-Ablagerungen) sowie dem zeitlichen Verlauf phänotypischer Veränderungen festzustellen.

Für die PD wurde ein chronologisch und topographisch vorbestimmtes Ausbreitungsmuster der SNCA-Pathologie in kaudorostraler Richtung beschrieben (sog. Dual-hit-Hypothese). Die Übertragung eines entsprechenden Ausbreitungsweges auf die DLB ist nicht etabliert.

Ob es sich bei der DLB um eine eigenständige Entität oder eine Sonderform der PD handelt wird kontrovers diskutiert.

Experimentelle Tiermodelle für mit SNCA-Aggregation-assoziierte Erkrankungen konnten lediglich spezifische Aspekte nicht aber das gesamte Spektrum pathologischer sowie phänotypischer Veränderungen in einem Modell rekapitulieren.

Keines der Modelle gilt als spezifisch für die PD oder DLB.

Ziel der vorliegenden Arbeit war eine detaillierte Beschreibung der SNCA-Aggregationspathologie im ZNS einer Auswahl verschiedener transgener Mausmodelle, die die *SNCA*-Punktmutation *A53T* sowie das humane wildtyp *SNCA (SNCAwt)* mithilfe des Einsatzes eines P1 artifiziellen Chromosoms (PAC) unter Kontrolle des *SNCA*-Promotors exprimieren (Namen der Mauslinie: dbl-PAC-Tg-*SNCA A53T (A53T)*, PAC-Tg-*SNCA wildtyp (SNCAwt)*. Das murine ZNS-Gewebe wurde im Alter von 1 – 24 Monaten zu diesem Zweck mit der Paraffin-embedded-tissue(PET)-blot-Methode auf das Vorkommen von bereits feinsten SNCA-Aggregaten hin untersucht. Verifiziert wurden die Ergebnisse mit herkömmlichen immunhistochemischen Färbungen.

Die Ergebnisse der untersuchten Tierlinien wurden mit einer in der Literatur bereits gut charakterisierten genetisch modifizierten Mauslinie verglichen, die die SNCA-Punktmutation *A53T* unter der Kontrolle des PrP-Promotors exprimiert (PrP-Tg-*A53T* (M83)).

Herausgearbeitet wurden Gemeinsamkeiten und Unterschiede der eingesetzten Mausmodelle hinsichtlich des Zeitpunkts und Orts der Primärmanifestation einer spezifischen SNCA-Pathologie sowie die Ausbreitung entlang einer möglichen topographisch und chronologisch vorbestimmten Sequenz.

Basierend auf den Ergebnissen wurde u. a. der nosologische Zusammenhang der PD und DLB sowie die Spezifität der eingesetzten Mauslinien für die PD einerseits sowie die DLB andererseits diskutiert.

2 Material und Methoden

Das murine ZNS-Gewebe von jeweils drei Tieren der *SNCA*-transgenen Mauslinien *A53T* sowie *SNCAmt* im Alter von 1, 2, 3, 6, 10, 13, 18 und 24 Monaten wurde aufgearbeitet und mithilfe der PET-blot-Methode auf das Vorkommen bereits feinster, Proteinase-K(PK)-resistenter SNCA-Ablagerungen hin untersucht.

Entsprechend der Lebensphasen einer Maus wurden vier übergeordnete Altersgruppen definiert (Flurkey et al. 2007; siehe Tabelle 1).

Immunhistochemische Färbungen wurden zur Verifizierung der Ergebnisse hinzugezogen.

Zudem wurden das ZNS-Gewebe eines 11 Monate alten Tieres der *SNCA*-transgenen Mauslinie PrP-Tg-*A53T*(M83) übereinstimmend aufgearbeitet und gefärbt.

Das ZNS-Gewebe einer *SNCA*-knockout Linie (*SNCA* -/-) von Tieren im Alter von 1 - 24 Monaten fungierte als Negativkontrolle.

Das Cortexgewebe eines an der DLB erkrankten Patienten wurde als Positivkontrolle mitgeführt.

Bezeichnung der Altersgruppe	Alter in Monate	
Junge und adolszente Tiere	1 – 2	
Erwachsene Tiere	3 - 6	
Tiere mittleren Alters	10 – 15	
Alte Tiere	18 – 24	

Tabelle 1: Definierte Altersgruppen entsprechend der Lebensphasen der Maus

Legende zu Tabelle 16: Definition der Altersgruppen an den von Flurkey et al. 2007 definierten Lebensphasen.

2.1 Aufarbeitung des murinen ZNS-Gewebes

Tiere im Alter von 1 – 24 Monaten wurden mithilfe einer Überdosis des Injektionsnarkotikum Chloralhydrat (49 % in destilliertem Wasser; 0,3 ml/Maus), welches Atemdepression und schließlich Atemstillstand bedingt, geopfert. Nach Überprüfung einer vollständigen Narkose und gegebener Schmerzfreiheit wurde der Brustkorb der Tiere eröffnet. Der linke Ventrikel wurde mit einer Kanüle punktiert und Ringer-Standard-Lösung infundiert. Aus dem eröffneten rechten Vorhof konnte das ausgewaschene Blut abfließen. Es wurde so lange perfundiert bis das Gewebe aufgrund der Blutarmut blass erschien.

Die Vorfixation erfolgte mittels Infusion von Paraformaldehyd (PFA) in den linken Ventrikel.

Nach Entfernung der Haut wurde der Kopf vom Rumpf getrennt, die Nackenmuskulatur entfernt sowie die Sagittalnähte des Schädels eröffnet, um die Zugänglichkeit von PFA zum ZNS im Rahmen der Postfixation sicherzustellen. Das Gewebe wurde für 24 h in PFA nachfixiert.

Im Anschluss wurden von jedem Tier sechs bis sieben vergleichbare etwa 2 mm dicke Schnittebenen in der Frontalebene angefertigt. Bei PD- und DLB-Patientin regelhaft von pathologisch-assoziierten Veränderungen betroffenen Strukturen sollten abgebildet werden. Um weitestgehend einheitliche Schnittebenen anzufertigen orientiert sich die Schnittführung an den definierten zentralnervösen Strukturen (siehe Tabelle 2).

Nummerierung der Schnittebenen	Zentralnervöse Orientierungsstrukturen
Eins	Auf Höhe des Bulbus olfactorius
Zwei	Auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius
Drei	Vor dem Chiasma opticum
Vier	Auf Höhe des Hypophysenstiels
Fünf	Vor der Vierhügelplatte
Sechs	Auf Höhe der Vierhügelplatte
Sieben	Auf Höhe des Kleinhirn-Flocculus/-Paraflocculus
Acht	Auf Höhe der Medulla oblongata

Tabelle 2: Ebenen der koronalen Schnittführung

Nach dem Zuschnitt wurde das Gewebe für 24 h gewässert, um Formalin-Präzipitate zu vermeiden. Es folgte eine Entwässerung des Gewebes über eine aufsteigende Alkoholreihe. Die Exposition gegenüber Isopropanol in den Konzentrationen 50 %, 70 %, zweimal 90 %, zweimal 100 % betrug jeweils 5 h, gegenüber zweimal Xylol jeweils 3 h.

Das Gewebe wurde anschließend in Paraffin (Paraplast Plus) eingebettet. Beim Ausgießen war zu beachten, dass die in der Kassette untenliegende Seite des Gewebeblocks später die Anschnittfläche bildet.

2.2 Anfertigen von Paraffinschnitten

Mithilfe des Mikrotoms wurden $1 - 2 \mu m$ dicke histologische Schnittpräparate angefertigt und auf der Wasseroberfläche einer Glasschale mit kaltem Aqua bidest. ausgebreitet. Die Gewebeschnitte wurden anschließend auf einem Glasobjektträger eingefangen und von einem kalten in ein warmes Wasserbad (55 °C, Aqua bidest) transferiert. Auf der Oberfläche des warmen Wassers entfaltet sich das Paraplast und streckt den Gewebeschnitt. Die gestreckten Schnitte wurden auf Glasobjektträger aufgezogen. Dieser wurde hochkant gestellt, damit das Wasser ablaufen konnte. Der Rest wurde mit Filterpapier abgesaugt. Um die Objektträger abschmelzen zu lassen wurden sie über Nacht stehend bei 60 °C im Wärmeschrank gelagert.

Für die PET-blot-Methode wird das Gewebe auf eine Nitrozellulosemembran aufgezogen. Unter Zuhilfenahme eines Glasobjektträgers wurde der Schnitt auf der vorher angefeuchtete Membranoberfläche aufgefangen. Die weiteren Schritte erfolgten entsprechend dem oben genannten Protokoll. Schlussendlich wurden die Objektträger mit den anhaftenden Membranen auf einer Wärmeplatte getrocknet, durch Trennpapiere jeweils voneinander separiert, gestapelt und zwischen beschwerten Glasplatten für mindestens 30 min im Wärmeschrank bei 55 °C getrocknet.

2.3 **PET-blot-Methode**

Die Basis der Untersuchung des murinen ZNS-Gewebes bildete die PET-blot-Methode unter Verwendung des monoklonalen anti SNCA-human Primärantikörpers 10D2. Die PET-blot-Methode ermöglichte einen sehr sensitiven Nachweis bereits feinster SNCA-Mikroaggregate bei gleichzeitig zufriedenstellend erhaltener Anatomie. Ein der Färbung vorgeschalteter PK-Verdau des nicht aggregierten SNCA ermöglichte einen spezifischen Nachweis der pathologisch-assoziierten Proteinform. PK-resistente Ablagerungen wurden als dunkelviolette bis dunkelbraune Strukturen sichtbar. Zur Verifizierung der Ergebnisse wurden einzelne ergänzende Färbungen mit dem anti SNCA-human Primärantikörper LB509 angefertigt.

Zur Vorbereitung der Färbung wurden die Membranen zwischen Glasobjektträgern in Histoschaukeln gelagert und nacheinander erst in drei Becken mit Xylol für jeweils 10 min und anschließend für 5 min in einem gleichteiligen Gemisch aus Xylol und Isopropanol (Isoxylol) entparaffiniert. Anschließend wurden die Membranen für jeweils 5 min in zweimal 100 %, einmal 90 %, einmal 70 %, einmal 50 % und einmal 25 % Isopropanol rehydriert. Die Membranen wurden darauffolgend für 5 min in ein Becken mit phosphatgepufferter Salzlösung mit 0,1% Tween 20 (PBST) eingestellt und zwischen Papierhandtüchern kurz angetrocknet. Abschließend wurden die Membranen zwischen Streifen der Papierhandtücher an beiden Enden eingeklemmt und zwischen Glasplatten weiter getrocknet.

Der Verdau der Membranen erfolgte auf einer mit Verdaupuffer und PK getränkten Zellulose–einlage in einer geschlossenen Kunststoffbox unter mehrmaligen Schwenken für 8 – 12 h bei 55 – 60 °C im Wärmeschrank. Die PK-Stammlösung (50 mg PK/ml) wurde

hierzu mit dem PK-Verdaupuffer in einem Verhältnis von 1:200 verdünnt (250 µg/ml). Pro Box wurden etwa 13 ml der PK-Lösung benötigt um die Membranen vollständig zu bedecken.

Nach dem Verdauschritt wurden die Membranen in einer Box ohne Einlage dreimal 5 min in Tris-gepufferte Salzlösung mit Tween 20 (TBST) gewaschen. Anschließen wurden die Membranen für 15 min in Guanidiniumthiocyanat (4 mol) inkubiert. Es folgte ein weiterer Waschschritt für dreimal 5 min in TBST. Die Membranen wurden nun mit Brackets auf dem Boden einer leeren Box befestigt und für 45 min in 0,2 % Caseinblock auf dem Tischschüttler inkubiert. Nach Abgießen des Caseinblocks wurden die Membranen für 90 min mit dem verdünnten Primärantikörper inkubiert. Der Antikörper 10D2 in 0,2 % Caseinblock wurde 1:5000 mit TBST verdünnt. Der Antikörper LB509 in 0,2 % Caseinblock wurde 1:2000 mit TBST verdünnt. Pro Box wurden etwa 10 ml Antikörperlösung benötigt. Anschließend wurden die Membranen für 10 min in TBST gewaschen. Der an alkalische Phosphatase gekoppelte Sekundärantikörper (Ziegenantikörper anti-Maus) in 0,2 % Caseinblock wurde ebenfalls 1:1000 mit TBST verdünnt und für 60 min auf die Membranen auf dem Tischschüttler gegeben. Anschließend wurden die Membranen erneut für 10 min in TBST und zweimal für wenige Minuten in Natrium-Tris-Magnesium (NTM) gewaschen. Nach Abgießen des NTM Puffer wurden die Brackets entfernt und etwa 20 ml der lichtempfindlichen Farblösung für 10 min (aufgrund der hohen Antigenität der murinen Gewebes in Relation zu humanem Gewebe deutlich kürzere Färbedauer) auf die Schnitte gegeben. Nach visueller Kontrolle eines adäquaten Farbsignals werden die Membranen für 30 min auf dem Tischschüttler in Aqua bidest gewaschen. Anschließend werden die Membranen zwischen mit Glasplatten beschwerten Papierhandtüchern getrocknet. Die Aufbewahrung erfolgt lichtgeschützt in Diahüllen (Schulz-Schaeffer et al. 2000; Wrede 2001)

2.4 Immunhistochemie

Das ZNS-Gewebe einer Auswahl von Tieren wurde mithilfe einer im Verdauschritt modifizierten konventionellen Immunhistochemie gefärbt. Aufgrund des ausgesprochen destruktiven Effekts des PK-Verdaus auf auf Glasobjektträger aufgezogene Gewebeschnitte wurde die PK-Konzentration sowie die Expositionsdauer in Relation zur PET-blot-Methode reduziert. Neben distinkten PK-resistenten SNCA-Ablagerungen resultierte (unabhängig vom eingesetzten Primärantikörper) eine diffuse Färbung, die am ehesten auf die nicht restlos verdaute Form des physiologischen Proteins zurückgeführt und daher als unspezifisch gewertet wurde.

Die Glasobjektträger wurden zunächst über eine absteigende Alkoholreihe entparaffiniert. Die Expositionsdauer gegenüber dreimal Xylol betrug 5 min, gegenüber einmal Isoxylol 1 min, gegenüber Isopropanol in den Konzentrationen 100 %, 90 %, 70 % und 50 % jeweils 2 min. Anschließend wurden die Glasobjektträger zweimal gründlich mit Aqua bidest gespült. Der anschließende PK-Verdau erfolgt für 20 min bei 37 °C im Wärmschrank. Die PK-Stammlösung (50 mg/ml) wurde zuvor in einem Verhältnis von 1:1000 mit der Pufferlösung verdünnt (10 µg/ml) und auf 37 °C vorgewärmt. Anschließend wurden die Objektträger dreimal für 5 min in Tris-gepufferter Salzlösung (TBS) gewaschen und in 3 % H2O2 (30 % H2O2 verdünnt mit TBS in einem Verhältnis 1:10) für 10 min auf dem Tischschüttler inkubiert. Es folgte ein dreimaliger Spülschritt für 5 min in TBS sowie ein Proteinblock in 0,2 % Casein für 20 min auf dem Tischschüttler. Nach einem weiteren Spülschritt in TBST für wenigen Minuten erfolgte die Inkubation des Gewebes für 90 min bei Raumtemperatur in 100 µl einer verdünnten Lösung des Primärantikörpers (10D2 wurde mit TBS im Verhältnis 1:500 verdünnt, LB509 in einem Verhältnis 1:200). Anschließend wurde die Gewebsschnitte erneut dreimal für einige Minuten in TBS und einmal in TBST gewaschen. 125 µl des in TBST verdünnten biotinylierten Sekundärantikörpers wurden auf die Schnitte pipettiert. Die Inkubationszeit betrug 60 min. Darauffolgend wurden das Gewebe für 60 min bei Raumtemperatur in 100 µl einer mit TBS im Verhältnis 1:1000 verdünnten an eine Meerrettich-Peroxidase gekoppelte ExtrAvidin®-Lösung inkubiert. Nach dreimaligem Spülen für 5 min in TBS erfolgte die 7-minütige Farbreaktion mit 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC) Chromogen. Das Farbergebnis wurde lichtmikroskopisch kontrolliert. Bei gegebenem pink-rotem, kräftigen Farbsignal der SNCA-Aggregate wurden die Objektträger kurz in TBS gespült und die Farbreaktion anschließend in Aqua bidest gestoppt. Der Schnitt wurde nun für 2 – 3 s in Mayers Hämalaun gegengefärbt, zweimal in Aqua bidest und für etwa 10 min unter Leitungswasser gespült. Das Eindeckeln der Schnitte erfolgte mit Aquatex.

2.5 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Mithilfe der Hämatoxylin-Eosin(HE)-Färbungen wurden ergänzend morphologische Übersichtsfärbungen erstellt.

Die auf Glasobjektträger aufgezogenen Gewebeschnitte wurden über eine absteigende Alkoholreihe entparaffiniert. Die Expositionsdauer gegenüber dreimal Xylol betrug jeweils 10 min, gegenüber Isoxylol 1 min sowie gegenüber Isopropanol in den Konzentrationen zweimal 100 %, einmal 90%, einmal 70% und einmal 50% jeweils 10 min. Nach einem Spülschritt in Aqua bidest wurden die Schnitte für 5 min in Mayers Hämalaun gefärbt. Anschließend wurden die Schnitte kurz in Aqua bidest gespült, in 1 % HCl-Alhokol differenziert und für 10 min unter Leitungswasser gebläut. Nach 5-minütigem Färben der Schnitte mit 1 % Eosin in 70 % Isopropanol wurden die Glasobjektträger in Aqua bidest gespült und über einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Die Expositionsdauer gegenüber Isopropanol in den Konzentrationen einmal 50 %, 70 %, 90 % und dreimal 100% betrug dabei jeweils 2 min, gegenüber Isoxylol 2 min und gegenüber Xylol 2 min. Anschließend wurden die Schnitte mit Depex eingedeckelt.

2.6 LFB-PAS-Färbung

Eine Kombination der Luxol-Fast-Blue (LFB)- und der Periodic acid-Schiff (PAS)-Färbung wurde hinzugezogen um in Einzelfällen ergänzend zur HE-Färbung die anatomische Orientierung im Gewebsschnitt zu optimieren.

1 μm dicke Schnitte von in Formalin fixiertem und in Paraffin eingebettetem murinen ZNS-Gewebe wurden auf Glasobjektträger aufgezogenen und über eine absteigende Alkoholreihe entparaffiniert. Die Expositionsdauer gegenüber dreimal Xylol betrug jeweils 10 min, gegenüber einmal Isoxylol 1 min, gegenüber zweimal Isopropanol 100 % 10 min und gegenüber Isopropanol 90 % 10 min. Die Gewebsschnitte wurden für etwa 12 h bei 60 °C mit der LFB-Lösung gefärbt und anschließend in 90 % Isopropanol gestellt. Unter visueller Kontrolle wurden die Schnitte nacheinander in 0,05 % Lithiumcarbonat, 70 % Isopropanol und Aqua bidest differenziert und anschließend zweimal gründlich in Aqua bidest gespült. Nachfolgend erfolgte die 5-minütige Färbung des Gewebes mit 1 % Perjodsäure. Nach gründlichem Spülen für 5 min unter Leitungswasser sowie zweimal gründlich in Aqua bidest wurde das Gewebe bei Raumtemperatur für 20 min mit Schiffs-Reagenz gefärbt und erneut für 5 min unter Leitungswasser gewaschen. In einem vierten Färbeschritt wurden die Gewebeschnitte für 2 min bei Raumtemperatur mit Mayers Hämalaun gefärbt, anschließend erneut einmal kurz in Aqua bidest gespült und nach einer kurzen Differenzierung in 1% HCl-Alkohol für 5-10 min unter Leitungswasser gebläut. Die Gewebsschnitte wurden abschließend über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert. Die Expositionsdauer gegenüber Isopropanol in den Konzentrationen 50 %, 70 %, 90 % und dreimal 100 % betrug jeweils 2 min, gegenüber Isoxylol 1 min und gegenüber dreimal Xylol jeweils 4 min. Das Gewebe wurde mit Depex eingedeckelt.

2.7 SNCA-transgene Mauslinien

Abkürzung	A53T
Name/Genetischer Hintergrund	dbl-PAC-Tg-SNCA <i>A53T; SNCA -/-</i>
Weiterführende Informationen	Doppelt transgene, homozygote, lebensfähige und fruchtbare Mäuse, deren Genom neben einem SNCA-knockout Allel zwei unabhängig voneinander inserierte Transgene enthält, die für das humane, mutierte <i>A53T-SNCA</i> kodieren. Die Expressionen des endogenen, murinen SNCA wird durch die insgesamt vier Insertionen des humanen <i>SNCA-A53T</i> unter der Kontrolle des humanen SNCA-Promotors (PAC)) ersetzt. Die RNA-Level im Gehirn sind in Relation zum endogenen, murinen SNCA zehnfach gesteigert. Proteinlevel zeigen dagegen eine gesteigerte Expression um den Enktora 1 bis 1.5
	Im Colon ist sowohl die SNCA-A53T RNA-Expression als auch die Proteinexpression um das 80-fache gesteigert.
Stammdaten	Tg (SNCA*A53T) 1Nbm, FVB;129s6-Snca ^{tm1Nbm,} Tg/SNCA*A53T)2Nbm/J
Hersteller	The Jackson Laboratory, Main, USA
Lagernummer im Herstellerverzeichnis	N° 010799
Relevante Publikationen	Cabin et al. 2002, Kuo et al. 2010
Quellenangabe im Literaturverzeichnis	The Jackson Laboratory

Tabelle 3: Stammdaten der SNCA-transgenen Mauslinie dbl-PAC-Tg-SNCA A53T

Abkürzung	SNCAwt
Name/Genetischer Hintergrund	PAC-Tg-SNCA wildtyp; SNCA -/-
Weiterführende Informationen	Lebensfähige, fruchtbare Mäuse, deren Genom ein SNCA- knockout Allel sowie ein Transgen beinhaltet, dass für das humane Wildtyp(wt)-SNCA kodiert. Zwei Insertionen (homozygot) des humanen PAC-Tg-SNCAwt ersetzen die Expression der murinen SNCA. Die Expression der SNCAwt-RNA ist im Gehirn der Tiere in Relation zu den RNA-Leveln des endogenen, murinen SNCA 50-fach gesteigert. Proteinlevel sind um den Faktor 1 bis 1,5 erhöht. Im Colon ist sowohl die RNA- als auch die Proteinexpression des humanen SNCAwt 100-fach gesteigert.
Stammdaten	FVB; 129S6-Snca ^{tm1Nbm,} Tg (SNCA) 1Nbm/J
Hersteller	The Jackson Laboratory, Main, USA
Lagernummer im Herstellerverzeichnis	N°: 010799
Relevante Publikationen	Cabin et al. 2002, Gispert et al. 2003
Quellenangabe im Literaturverzeichnis	The Jackson Laboratory

Tabelle 4: Stammdaten der SNCA-transgenen Mauslinie PAC-Tg-SNCAwt

Abkürzung	SNCA -/-
Name/Genetischer Hintergrund	Homozygot null (knockout)
Weiterführende Informationen	Homozygot-null Mäuse sind lebensfähig, fruchtbar, haben eine normale Größe und zeigen keine wesentlichen Abnormalitäten. Kein Gen-Produkt (weder mRNA noch Protein) kann im Gehirn der Tiere detektiert werden.
Stammdaten	B6; 129X1-Snca ^{tm1Rosl} /J
Hersteller	The Jackson Laboratory, Main, USA
Lagernummer im Herstellerverzeichnis	N° 003692
Relevante Publikationen	Abeliovich et al. 2000
Quellenangabe im Literaturverzeichnis	The Jackson Laboratory

Tabelle 5: Stammdaten der SNCA-transgenen Mauslinie SNCA -/- (homozygot null)

Abkürzung	M83	
Name/Genetischer Hintergrund	PrP murin-Tg-A53T (M83)	
Weiterführende Informationen	Lebensfähige, fruchtbare, homozygote Mäuse, deren Genom ein Transgen beinhaltet, welches unter der Kontrolle des murinen PrP-Promotors für die humane A53T-Mutation kodiert. Die relativen Expressionslevel des humanen Proteins sind in Relation zum endogenen SNCA im Cortex cerebri etwa 4,6-fach, im Rückenmark dagegen etwa 28-fach erhöht. Die Unterschiede der relativen Überexpression ist am ehesten auf, in Relation zum Cortex, niedrigere Expressionslevel des endogenen SNCA im Rückenmark zurückzuführen. Die absoluten SNCA- Expressionslevel entsprechen sich dagegen im Bereich des Cortex cerebelli, Cerebellum und Rückenmark.	
Stammdaten	B6; C3-Tg (Prnp-SNCA*A53T)83Vle/J	
Hersteller	The Jackson Laboratory, Main, USA	
Lagernummer im Herstellerverzeichnis	N° 004479	
Relevante Publikationen	Giasson et al. 2002	
Quellenangabe im Literaturverzeichnis	Das untersuchte Tier im Alter von 340 Tagen (ca. elf Monaten) wurde uns freundlicherweise von Marion Joncic (Robert-Koch- Institut Berlin) zur Verfügung gestellt. Primäre Bezugsquelle war "The Jackson Laboratory", Main, USA.	

Tabelle 6: Stammdaten der SNCA-transgene Mauslinie M83

2.8 Humanes Cortexgewebe eines DLB-Patienten

Als humane Positiv-Kontrolle wurde ein Gewebeblock aus dem Isocortex eines an der DLB erkrankten, 70-Jährigen, männlichen, 2012 verstorbenen Patienten mitgefärbt.

Für weiterführende Informationen siehe Tabelle 7.

Tabelle 7: Humane Positiv-Kontrolle (DLB)

Brain-Net N°	BN 481
Demenz-Stadium in der CERAD-Testbatterie	С
(Zur CERAD-Testbatterie siehe Satzger et al. 2001)	
ZNS-Pathologie entsprechend der von Braak et al. 2002 definierten Stadien	4
ZNS-Pathologie entsprechend den von Mc Keith et al. 1996, 1999, 2000 definierten Stadien	Kortikales LB-Stadium

2.9 Substanzen

Substanz	Hersteller
Aquatex	Merck, Darmstadt, Deutschland (D)
Brij 35	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Brom-4-chlor-3-indoxylphosphat	Roche, Mannheim (D)
(BCIP)	
Caseinblock	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Collagenase	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Depex	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg (D)
Dimethylformamid (DMF)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Dinatriumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt (D)
Eosin G	Merck, Darmstadt (D)
Ethanol	Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe (D)
ExtrAvidin®-Peroxidase	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Hämalaun nach Mayer	Merck, Darmstadt (D)
I-Block	Tropic Inc., Bedford (USA)
Isopropanol	Chemie Vertrieb Hannover, Hannover (D)
Lithiumcarbonat	Merck, Darmstadt (D)
Luxol-Fast-Blue-Lösung	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Magnesiumchlorid	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg (D)
Naphthol-AS-Biphosphat	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg (D)
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt (D)
Natriumnitrit	Merck, Darmstadt (D)
Neufuchsin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Nitroblautetrazoliumchlorid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
(NBT)	
Paraformaldehyd (PFA)	Merck, Darmstadt (D)
Paraplast Plus	McCormick Scientific, St. Louis (USA)
Perjodsäure	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Phosphatgepufferte	AppliChem GmbH, Darmstadt (D)
Kochsalzlösung	
Substanz	Hersteller
------------------------	--
Proteinase-K	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim (D)
Salzsäure	Merck, Darmstadt (D)
Schiff Reagenz	Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe (D)
TrisHCl	Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe (D)
Tween 20	Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe (D)
Wasserstoffperoxid 30%	AppliChem, Darmstadt (D)
Xylol	Baker, Deventer, Niederlande

2.10 Geräte

Tabelle	9:	Geräte
---------	----	--------

Bezeichnung	Hersteller	Modell
Analysenwaagen	Sartorius, Göttingen (D)	A200S
Ausgießstation	Thermo Scientific, Waltham (USA)	Shandon Histocentre 2
Einbettautomat	Thermo Scientific, Waltham (USA)	Shandon Citadel 2000
Gefrierschrank	Liebherr, Kirchdorf a.d. Iller (D)	Premium
Kühlplatte	Medite GmbH, Burgdorf (D)	COP 30
Kühlschrank	Liebherr, Kirchdorf an der Iller (D)	Premium
Laptop	Apple, Cupertine (USA)	MacBookPro
Mikroskop 1	Olympus, Tokyo, Japan	BX41
Mikroskop 2	Olympus, Tokyo, Japan	BX51 mit Fotoeinheit
Mikrotom	Leica Microsystems, Wetzlar (D)	SN2000R
Mikrowelle	Bauknecht, Schorndorf (D)	750 Watt
Präzisionswaage	Sartorius, Göttingen (D)	
Schüttler	Heidolph Instruments GmbH&Co. KG, Schwalbach (D)	Reax top
Schwenktisch	Heidolph Instruments GmbH&Co. KG, Schwalbach (D)	Duomax 1030
Wärmeplatte	Thermo Scientific, Waltham (USA)	3120061
Wärmeschrank	Heraeus, Hanau (D)	Kelvitron

2.11 Materialien

Bezeichnung	Hersteller	Modell
Deckgläschen	G-Menzel, Braunschweig (D)	
Filterpapier	GE Healthcare, Buckinghamshire (UK)	519 1/2
Mikrotomklingen	Feather Razor, Osaka, Japan	A35
Nitrozellulosemembran	BioRad Laboratories, Hercules (USA)	0,45µm Porengröße
Objektträger	G. Menzel, Braunschweig (D)	Superfost
Objektträger	Waldemar Knittel Glasbearbeitungs- GmbH, Bielefeld (D)	Objektträger geschnitten
Zelluloseeinlagen	Temca, Pölzig (D)	Profix vispo 066 533

2.12 Programme

Tabelle 11: Programme

Bezeichnung	Entwickler	Version	Angabe im
			Literaturverzeichnis
Grafikprogramm:	Adobe Inc., Delaware	Version: 9	
Adobe Photoshop	(USA)		
Elements			
Referenz-Atlas:	Allen Institute for Brain	Version: 2	Allen Institute for
Mouse Brain,	Science, Washington (USA)	(2011)	Brain Science
Coronal Atlas, P65			
Literaturverwaltungs-	Roy Rosenzweig-Zentrum	Version	
programm: Zotero	für Geschichte und neue	5.0.48	
	Medien, Fairfax County		
	(USA)		
Textsoftware:	Microsoft, Redmond (USA)	Version	
Microsoft® Word		16.36	
für Mac			

2.13 Antikörper

Tabelle 12: Primärantikörper 10D2

Bezeichnung/Klon	10D2
Antigen	Alpha Synuklein
Molekulare Struktur	Monoklonal
Antikörperklassifikation	Primärantikörper
Spezies	Maus
Hersteller	AJ Roboscreen GmbH, Leipzig (D)
Bestellnummer	N° 0102004701, 1012004703
Verwendete Verdünnung	PET blot: 1:5000 (verdünnt in TBST)
	Immunhistochemie: 1:500 (verdünnt in TBS)

Tabelle 13:	Primärantikörper	LB509
-------------	------------------	-------

Bezeichnung/Klon	LB509
Antigen	α-Synuklein
Molekulare Struktur	Monoklonal
Antikörperklassifikation	Primärantikörper
Spezies	Maus
Hersteller	Convance, Princeton (USA)
Bestellnummer	N° SIG-39725
Verwendete Verdünnung	PET blot: 1:2000 (verdünnt in TBST)
	Immunhistochemie: 1:200 (verdünnt in TBS)

Der Einsatz der anti-SNCA-human Primärantikörper 10D2 sowie LB509 ergab sowohl bei Verwendung der PET-blot-Methode als auch im Rahmen immunhistochemischer Färbungen ein im Wesentlichen übereinstimmendes Ergebnis. Bei Verwendung des Antikörpers LB509 resultierte lediglich neben spezifischen PK-resistenten SNCA-Ablagerungen ein diffuses Farbsignal, das am ehesten auf unspezifische Ablagerungen des Antikörpers zurückgeführt wurde.

Bezeichnung/Klon	Anti-Maus, AP-konjugiert
Antigen	Anti-Maus (Primärantikörper)
Molekulare Struktur	Polyklonal
Antikörperklassifikation	Sekundärantikörper
Spezies	Ziege
Hersteller	Dako, Glostrup, Dänemark
Bestellnummer	N° D 0486
Verwendete Verdünnung	PET blot: 1:1000 (verdünnt in TBST)
Enzym-Konjugation	Alkalische Phosphatase (AP)-konjugiert

Tabelle 14: Sekundärantikörper Anti-Maus, AP-konjugiert

Tabelle 15: Sekundärantikörper Anti-Maus, Biotin-konjugiert

Bezeichnung/Klon	Anti-Maus, Biotin-konjugiert
Antigen	Anti-Maus (Primärantikörper)
Molekulare Struktur	Polyklonal
Antikörperklassifikation	Sekundärantikörper
Spezies	Schaf
Hersteller	GE Healthcare, Chalfont St.Giles (UK)
Bestellnummer	N° RPN1001-2ML
Verwendete Verdünnung	Immunhistochemie: 1:200 (verdünnt in TBST; Vorverdünnt 1:2 in Glycerin, dann 1:1000 in TBST)
Enzym-Konjugation	Biotin-konjugiert

2.14 Lösungen

Tabelle 16: Lösungen

Lösung (mit Angabe von Stoffmengenkonzentration in Mol oder %)	Zusammensetzung / Bemerkungen
Acetatpuffer 0,1 mol/l	5,75 ml Eisessig mit 1000 ml Aqua dest. mischen (= Lösung A),
	13,61 g Natriumactetat-Trihydrat in 1000 ml Aqua dest. lösen (= Lösung B),
	300 ml Lösung A und 700 ml Lösung B mischen, pH 5,2 einstellen
AEC-Chromogen (Stammlösung)	2 g 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEG) in 500 ml Dimethylformamid (DMF) lösen, dunkel verwahren
AEC-Chromogen (Gebrauchslösung)	4 ml AEC-Chromogen (Stammlösung) mit 56 ml Acetatpuffer 0,1 mol/l, pH 5,2 mischen, Gemisch zweifach filtrieren, Zugabe von 20 μl H ₂ O ₂ 30 %
CaCl ₂ 3 mol/l	44,1 g Calciumchlorid Dihydrat (CaCl ₂ 2H ₂ O) in 100 ml Aqua bidest. lösen
Caseinblock 0,2 %	2 g I-Block mit 1000 ml Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) mischen und bei 50 °C unter Rühren lösen (ca. 30 min.), abkühlen lassen, 1 ml Tween 20 zugeben
Eosin	1 % Eosin in 70 % Isopropanol lösen, rühren und anschließend filtrieren
Guanidiniumthiocyanat 4 mol/l	472,64 g Guanidiniumthiocyanat in 1000 ml Aqua bidest. bei 50 °C lösen
HCl-Alkohol 1 %	1750 ml Isopropanol mit 750 ml Aqua dest. und 25 ml HCl 25% mischen
Magnesiumchlorid (MgCl ₂) 1 mol/l	20,33g Magnesiumchlorid Hexahydrat (MgCl ₂ 6H ₂ O) in 100ml Aqua bidest. lösen
Natriumchlorid (NaCl) 5 mol/l	29,22 g NaCl in 100 ml Aqua bidest. lösen

Lösung (mit Angabe von Stoffmengenkonzentration in Mol oder %)	Zusammensetzung / Bemerkungen
Natrium-Tris- Magnesium(NTM) (Pufferlösung)	10 ml TrisHCl pH 9,5 mit 2 ml 5 mol/l NaCl und 5ml MgCl ₂ 1 mol/l mischen, mit 100 ml Aqua dest. auffüllen
Paraformaldehyd 4 %	40 g Paraformaldehyd in 500ml Aqua bidest. lösen, unter Rühren auf 60-65 °C erhitzen, Klärung mit NaOH 1mol/l, 100 ml 10xPBS zugeben und mit 800 ml Aqua bidest. auffüllen, mit HCl oder NaOH pH 7,3 einstellen, mit 1000 ml Aqua bidest. auffüllen
Perjodsäure 1 %	10 g Perjodsäure mit 1000 ml Aqua dest. mischen
PET-blot-Färbelösung	 45 μl Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT, 75 mg/ml) in 70% Isopropanol mit 33 μl Brom-4-chlor-3-indoxylphosphat (BCIP) und 10ml Natrium-Tris-Magnesium (NTM) mischen
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) 1x	9,6 g PBS in 1000 ml Aqua bidest. lösen
Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) 10x	96 g PBS in 1000 ml Aqua bidest. lösen
Phosphatgepufferte Salzlösung + Tween 20 (PBST)	PBS 1x mit 0,5 ml Tween 20 mischen
Proteinase-K(PK)-Lösung	Zu 15 ml PK-Verdaupuffer 65 µl PK zugeben
Proteinase-K(PK)- Verdaupuffer	5 ml TrisHCl pH 7,8 mit 10 ml NaCl 5 mol/l mischen, 1,5 ml Brij 30 % zugeben, 8,33 g CaCl ₂ 3 mol/l zugeben, 25 ml MgCl ₂ 1 mol/l zugeben, mit 500 ml Aqua bidest. auffüllen

Lösung (mit Angabe von Stoffmengenkonzentration in Mol oder %)	Zusammensetzung / Bemerkungen
Tris-gepufferte Kochsalzlösung (TBS)	 60,5 g Tris mit 85 g NaCl mischen, 1000ml Aqua bidest. Zugeben, mit HCl 30 % oder NaOH auf den gewünscht pH einstellen (= Stammlösung), 100 ml Stammlösung mit 900 ml Aqua bidest. auffüllen (= Gebrauchslösung)
Tris-gepufferte Kochsalzlösung + Tween 20 (TBST)	 100 ml TrisHCL 1 mol/l, pH 7,8 mit 200 ml NaCl mischen, 5 ml Tween 20 zugeben, mit 1000 ml Aqua bidest. Auffüllen (= Stammlösung), 100 ml Stammlösung mit 900 ml Aqua bidest. auffüllen (= Gebrauchslösung)

2.15 Beschreibung der semiquantitativen Messskala der SNCA-Pathologie

2.15.1 Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Großhirns

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte unter Zuhilfenahme einer zu diesem Zweck entwickelten semiquantitativen Messskala. In Zusammenschau des Gesamtspektrums zu beobachtender histopathologischer Veränderungen im Bereich der grauen Substanz und weißen Substanz des Groß- und Kleinhirns wurden Stadien definiert.

Abbildung 1.1 – 1.5 zeigt die Gesamtheit zu beobachtender Ablagerungen PK-resistenter SNCA-Aggregate im Bereich der grauen Substanz des Großhirns exemplarisch veranschaulicht anhand der Hippocampus-Region.

Abbildung 1.1 zeigt keinerlei PK-resistente SNCA-Ablagerungen.

Abbildung 1.2 zeigt eine schwach ausgeprägte Pathologie auf, die sich in Form feinster Mikroaggregate manifestiert. Es resultiert einer in der Intensität sehr schwache, diffuse, homogene Färbung von blasser hell-violetter Tönung. Die Färbung hebt sich von den umgebenden, nicht betroffenen Strukturen diskret ab. Distinkte Ablagerungen sind nicht zu beobachten.

Abbildung 1.3 zeigt eine mäßig ausgeprägte Pathologie in Form sehr feiner, bei entsprechender Vergrößerung gerade als distinkte Strukturen auszumachende, dicht gelagerter Ablagerungen von blasser hell-violetter bis braun-grauer Tönung. Es resultiert eine homogene, feingranuläre Färbung von mäßiger Intensität unter Erhalt einer diffusen Hintergrundkomponente.

Abbildung 1.4 zeigt eine stark ausgeprägte Pathologie in Form feiner, sphärischer erscheinender, dicht gelagerter PK-resistenter Ablagerungen, die ein granuläres Muster von dunkelvioletter bis brauner Tönung ergeben.

Abbildung 1.5 zeigt eine stark ausgeprägte Pathologie basierend auf dicht gelagerten, sphärisch erscheinenden PK-resistenter Ablagerungen. Ein resultierendes grobgranuläres Muster von intensiv dunkelvioletter bis braun-schwarzer Tönung.













Abbildung 1.3







Abbildung 1.5

Abbildung 1.1 - 1.5: Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Großhirns exemplarisch veranschaulicht anhand der Hippocampus-Region

Abbildung 1.1 – 1.5 zeigt die Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Großhirns exemplarisch veranschaulicht anhand der Hippocampus Region.

Die Pfeilspitze markiert jeweils ein Areal, anhand dessen der Ausprägungsgrad PK-resistenter SNCA-Ablagerungen visualisiert wird.

Die Pfeilspitze in Abbildung 1.1 markiert das Stratum moleculare des Gyrus dentatus. Es ist zeigen sich keine PK-resistenten SNCA-Ablagerungen.

Die Pfeilspitze in Abbildung 1.2 markiert Stratum granulosum des Gyrus dentatus. Es zeigt sich eine schwach ausgeprägte Pathologie.

Die Pfeilspitze in Abbildung 1.3 markiert das Stratum radiatum des Cornu ammonis. Das betreffende Areal ist von einer mäßig ausgeprägten Pathologie betroffen.

Die Pfeilspitze in Abbildung 1.4 markiert das Stratum radiatum des Cornu ammonis. Es zeigt sich eine stark ausgeprägte Pathologie.

Die Pfeilspitze in Abbildung 1.5 markiert ein Areal, in dem das Stratum moleculare des Gyrus dentatus an das Stratum granulosum des Gyrus dentatus grenzt. Es zeigt sich eine sehr stark ausgeprägte Pathologie.

2.15.2 Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Kleinhirns

Im Bereich der weißen Substanz des Kleinhirns resultiert ein von der grauen Substanz des Großhirns abweichendes Färbemuster. Eine in Relation weniger stark ausgeprägte Größenprogredienz der Proteinablagerungen ergibt eine deutlich homogenere, feinere Struktur der Färbung. Bei entsprechender Vergrößerung sind in fortgeschrittenen Stadien feine, distinkte, sphärisch erscheinende Ablagerungen zu erkennen, die ein feingranuläres Muster ergeben. Die Tönung sowie die Farbintensität stimmen mit den für die graue Substanz des Großhirns definierten Stadien überein.

Abbildung 2.1 – 2.5 zeigt die Gesamtheit zu beobachtender Ablagerungen PK-resistenter SNCA-Aggregate im Bereich der grauen Substanz des Kleinhirns exemplarisch veranschaulicht anhand des Stratum moleculare der Uvula cerebelli.

Abbildung 2.1 zeigt keinerlei PK-resistente SNCA-Ablagerungen ersichtlich.

Abbildung 2.2 zeigt eine schwach ausgeprägte Pathologie in Form feinster Mikroaggregate. Es resultiert eine in der Intensität sehr schwache, diffuse, homogene Färbung von blassvioletter bzw. braun-grauer Tönung. Die Uvula hebt sich durch eine entsprechende Färbung geringfügig von der Umgebung ab.

Abbildung 2.3 zeigt eine mäßig ausgeprägte Pathologie in Form feiner Mikroaggregate, die bei entsprechender Vergrößerung geradeso zu erahnen sind. Es resultiert eine schwache hellviolette bis braun-graue Tönung von zunehmender Farbintensität.

Abbildung 2.4 zeigt eine stark ausgeprägte Pathologie in Form feiner SNCA-Ablagerungen, die als distinkte Strukturen zu erkennen sind. Es resultiert ein feingranuläres, homogenes Muster von dunkelvioletter bis brauner Tönung.

Abbildung 2.5 zeigt eine sehr stark ausgeprägte Pathologie in Form feiner, dicht gelagerter, sphärisch-erscheinender SNCA-Aggregate. Es resultiert ein etwas gröberes, homogenes Muster von intensiv dunkelvioletter bis braun-schwarzer Tönung.







Abbildung 2.2



0,1 cm

Abbildung 2.3

Abbildung 2.4



Abbildung 2.5

Abbildung 2.1 – 2.5: Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Kleinhirns exemplarisch veranschaulicht anhand des Stratum moleculare der Uvula cerebelli.

Abbildung 2.1 – 2.5 zeigt die Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der grauen Substanz des Kleinhirns exemplarisch veranschaulicht anhand des Stratum moleculare des Uvula cerebelli (jeweils markiert mit der Pfeilspitze).

Abbildung 2.1 zeigt keinerlei SNCA-positive, PK-resistente Ablagerungen.

Abbildung 2.2 zeigt eine schwach ausgeprägte Pathologie.

Abbildung 2.3 zeigt eine mäßig ausgeprägte Pathologie.

Abbildung 2.4 zeigt eine stark ausgeprägte Pathologie.

Abbildung 2.5 zeigt eine sehr stark ausgeprägte Pathologie.

2.15.3 Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der weißen Substanz des Großhirns

Betroffene Strukturen der weißen Substanz des Großhirns zeigen ebenfalls mit fortgeschrittenem Alter der Tiere PK-resistente SNCA-Ablagerungen. Die sich im Bereich der weißen Substanz manifestierende Pathologie weist allerdings Unterschiede gegenüber der grauen auf. Bereits im Rahmen der Primärmanifestation sind bei entsprechender Vergrößerung eindeutig sphärische Strukturen zu erkennen. Die Aggregatgröße korreliert positiv mit dem Alter der Tiere. Die Ablagerungen sind aber weniger dicht gelagert, sodass ein inhomogeneres Muster resultiert. Der Progress der SNCA-Pathologie in einem betreffenden Areal ist vornehmlich durch die Zunahme der Aggregatdichte gekennzeichnet.

Im Bereich der weißen Substanz des Großhirns können drei Stadien differenziert werden.

Die weiße Substanz des Kleinhirns zeigte zu keinem Zeitpunkt PK-resistente SNCA-Ablagerungen.

Abbildung 3.1 – 3.5 zeigt die Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der weißen Substanz exemplarisch veranschaulicht anhand der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels.

Abbildung 3.1 zeigt keinerlei PK-resistente SNCA-Ablagerungen.

Abbildung 3.2 zeigt die Primärmanifestation PK-resistenter SNCA-Ablagerungen im Bereich der weißen Substanz. Mikroaggregate, die in Relation zur grauen Substanz gröber erscheinen, ergeben eine grobgranuläre aber weniger dichte Färbung von dunkelvioletter bis brauner Tönung.

Abbildung 3.3 zeigt eine mäßig ausgeprägte Pathologie in Form von SNCA-Aggregaten zunehmender Größe und Dichte, die ein grobgranuläres Muster von dunkel- bis schwarzvioletter Tönung ergeben.





Abbildung 3.2





Abbildung 3.1 – 3.3: Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der weißen Substanz des Großhirns veranschaulicht anhand der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels.

Abbildung 3.1 – 3.3 zeigen die Stadien der SNCA-Pathologie im Bereich der weißen Substanz des Großhirns exemplarisch veranschauchlicht anhand der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels

Die Pfeilspitzen markieren die Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels, anhand derer der Ausprägungsgrad SNCA-positiver und PK-resistenter Ablagerungen visualisiert wird.

Abbildung 3.1 zeigt keinerlei SNCA-positiven und PK-resistenten Ablagerungen.

Abbildung 3.2 zeigt eine schwach ausgeprägte Pathologie.

Abbildung 3.3 zeigt eine mäßig ausgeprägte Pathologie.

2.16 Grundlagen der graphischen Auswertung

Die Ergebnisse der Linien *A53T* und *SNCAwt* wurden mithilfe repräsentative Grafiken der vier definierten Altersgruppe visualisiert. Die Grafiken wurden dabei so gewählt, dass sie einerseits möglichst viele der regelmäßig bei der PD und DLB von pathologisch-assoziierten Veränderungen betroffenen Strukturen abbilden. Andererseits sollte eine größtmögliche Deckungsgleichheit zu den koronalen Schnittebenen gegeben sein, an denen sich die Schnittführung im Rahmen der Gewebeaufarbeitung des murinen ZNS-Gewebe orientierte (siehe Tabelle 2).

Von allen Tieren einer Altersgruppe wurde der durchschnittliche Ausprägungsgrad der SNCA-Pathologie im Bereich eines definierten anatomischen Areals ermittelt und farbkodiert abgebildet.

Im Rahmen der praktischen Auswertung konnte nicht gewährleistet werden, dass die Schnittführung bei jedem Einzelnen der untersuchten Tiere auf der exakt gleichen koronalen Ebene verläuft. So waren ausgewählte Strukturen nur vereinzelt abgebildet. Die Beschreibung einer möglicher SNCA-Aggregationspathologie in diesen unregelmäßig abgebildeten Arealen wurde aufgrund mangelnder Aussagekraft vernachlässigt. Gleiches gilt für solche Bereiche, die unter Zuhilfenahme der oben genannten Methoden nicht zweifelsfrei von der Umgebung zu differenzieren waren.

Die Zuordnung PK-resistenter Ablagerungen zu neuroanatomischen Arealen erfolgte unter der Zuhilfenahme eines digitalen, hochauflösenden anatomischen Referenzatlas (Allen Mouse Brain Atlas (2011). Der Referenzaltas bildet insgesamt 132 koronale Schnittebenen im Abstand von jeweils 100µm ab. Die Erstellung der Grafiken orientierte sich dabei an den Atlasebenebenen N° 12, 44, 68, 83, 95, 109 und 129. Die Verwendung erfolgte mit freundlicher Genehmigung des *Allen Institute for Brain Science*.

3 Ergebnisse

3.1 Auswertung der Mauslinie PAC-Tg-A53T

3.1.1 Junge und adoleszente Tiere

Die ersten PK-resistenten, SNCA-positiven Proteinablagerungen manifestierten sich ab einem Alter von einem Monat multifokal in ausgewählten Strukturen der grauen Substanz.

Die Hippocampus-Region zeigte im Bereich des Stratum multiforme des Gryus dentatus sowie im Bereich des Stratum lucidum des Cornu ammonis regelmäßig eine schwach ausgeprägte Pathologie.

Im Bereich des Nucleus spinalis nervi trigmini manifestierten sich regelmäßig schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Ablagerungen in einem schmalen bandförmigen Areal, das am ehesten der Zone synaptischer Verbindung zwischen dem Nucleus und dem Tractus spinalis Nervi trigemini entsprach.

Das Myelon war bei jungen und adoleszenten Tieren auf einer zusätzlichen Schnittebene regelmäßig abgebildet. Bei einem Tier im Alter von einem Monat manifestierte sich einmalig in einem umschriebenen Areal, welches am ehesten der Substantia gelatinosa zugeordnet werden konnte, eine mäßig-ausgeprägte Pathologie.

Daneben zeigten die Uvula cerebelli sowie der Flocculus/Paraflocculus cerebelli regelmäßig eine durchschnittlich schwach ausgeprägte Pathologie. Flocculus und Paraflocculus waren nicht immer eindeutig voneinander zu differenzieren, zeigten aber ein weitestgehend übereinstimmendes Färbemuster und wurden daher nicht gesondert voneinander betrachtet. Der Nodulus cerebelli war lediglich bei einem Tier im Alter von einem Monat auf den Schnittebenen abgebildet und in diesem Fall ebenfalls von einer schwach ausgeprägten Pathologie betroffen. Von PK-resistenten SNCA-Ablagerungen involvierte Strukturen des Kleinhirns zeigten ein charakteristisches Färbemuster, das dem dreischichten Aufbau der Kleinhirnrinde am ehesten wie folgt zugeordnet werden konnte: Das Stratum moleculare zeigte ein auf feinsten Granula basierendes, diffuses Ablagerungsmuster von blass-violetter Farbe. Dagegen war das Stratum granulosum sowie das Stratum purkinjense nicht betroffen.

Bei zwei Monate alten Tieren war sowohl hinsichtlich des Grades der Pathologie betroffener Strukturen als auch der weiteren topographischen Expansion eine geringe Progression der Ergebnisse zu beobachten.

Im Bereich der Glomeruli olfactorii des Bulbus olfactorius manifestierte sich bei einem Tier im Alter von zwei Monaten erstmalig eine schwach ausgeprägte Pathologie. Vereinzelte, eindeutig als distinkte Strukturen zu erkennende sphäroide Ablagerung von intensiver braunbis schwarz-violetter Farbe kennzeichneten das betreffende Areal.

Die folgenden Strukturen waren nicht oder nur unregelmäßig auf den Schnittebene abgebildet und konnten daher nicht bewertet werden: Stratum glomerulosum des accessorischen Bulbus olfactorius, mediales und dorsales Pallidum, Nucleus ventromedialis hypothalami, pontines Grau, Nodulus cerebelli.

Tiefer gelegene Rindenschichten/Strukturen der kortikalen Subplatte konnten nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurden daher nicht gesondert betrachtet.

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 17.

Abbildung 4.1 – 4.8 zeigt eine graphische Darstellung der Ergebnisse.

Abbildung 5.1 – 5.8 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

							Ø
Fallnummer	4	5	6	7	8	9	
Alter in Monaten	1	1	1	2	2	2	
Geschlecht	W	W	W	W	m	m	
Anatomische Struktur 🛛 💭							
Bulbus olfactorius	-	-	-	-	-	I	-
Glomeruli olfactorii	-	-	-	-	+	-	-
Nucleus olfactorius anterior	-	/	-	-	-	/	-
Bulbus olfactorius accessorius	/	/	/	-	-	/	-
Stratum glomerulosum	/	/	/	/	/	/	/
Area piriformis	-	-	-	-	-	-	-
Taenia tecta	-	/	-	/	-	/	-
Olfaktorischer Cortex	-	-	-	-	-	I	-
Isocortex	-	-	-	-	-	-	-
Hippocampus-Region	-	-	-	-	-	-	-
Gyrus dentatus	+	+	+	+	+	+	+
Cornu ammonis	+	+	+	+	+	+	+
Retrohippocampale Region	-	-	-	-	-	-	-
Dorsales Striatum/Caudoputamen	-	-	-	-	-	I	-
Ventrales Striatum	-	-	-	-	-	-	-
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	-	/	-	-	-	I	-
Ventrales Pallidum	-	-	-	-	-	I	-
Mediales Pallidum	-	-	-	-	/	-	-
Dorsales Pallidum	/	/	/	/	/	/	/
Kaudales Pallidum	/	/	/	/	-	/	[-]
Amygdala	/	-	/	-	-	-	-
Thalamus	-	-	-	-	-	-	-
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	-
Corpus mamillare hypothalami	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus ventromedialis hypothalami	/	/	/	/	/	/	/
Mesencephalon	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 17: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, junge und adoleszente Tiere

							Ø
Fallnummer	4	5	6	7	8	9	
Alter in Monaten	1	1	1	2	2	2	
Geschlecht	W	W	W	W	m	m	
Anatomische Struktur							/
Substantia nigra	-	-	-	/	-	-	-
Nucleus interpeduncularis	-	-	-	-	/	-	-
Nucleus tegmentalis ventralis	-	/	-	/	/	/	-
Pons	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	/	/	/	/	/	/	/
Medulla oblongata	-	-	I	-	-	-	-
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	-	+	++	+	++	-	+
Myelon	-	-	I	/	-	-	-
Substantia gelatinosa	-	-	++	/	-	-	-
Cerebellum	-	-	-	-	-	-	-
Nodulus	/	/	/	/	+	/	[+]
Uvula	+	/	-	++	/	-	+
Flocculus/Paraflocculus	/	+	+	+	+	+	+
Cingulum	-	-	-	-	-	-	-
Fimbrien	/	-	/	-	-	-	-
Commissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	-	-	-
Capsula interna	/	-	/	-	-	-	-
Tractus mamillothalamicus	/	-	/	-	-	-	-

Die in der Tabelle verwendeten Zeichen sind wie folgt zu interpretieren:

Ausprägungsgrad PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen:				
-	Nicht vorhanden			
+	Schwach ausgeprägt			
++	Mäßig ausgep r ägt			
+++	Stark ausgeprägt			
++++	Sehr stark ausgeprägt			
/	Struktur ist nicht auf den Schnittebenen abgebildet			

Tabelle	18: Lo	egende	zur tab	ellarischen	Einzela	uswertung
		8				

Ø	Durchschnittlicher Ausprägungsgrad PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen

[]	Die Struktur ist nicht oder nur unregelmäßig (in weniger als einem Drittel der Fälle) auf den
	Schnittebenen abgebildet und konnte daher nicht valide bewertet werden.

Eingerückte anatomische Strukturen in der ersten Spalte zeigen die Zugehörigkeit zur Zeile darüber an.

Geschlechter	bezeichnung:
W	weiblich
m	männlich



Abbildung 4.3

Abbildung 4.4

Abbildung 4.1 – 4.8: Graphische Auswertung – A53T, junge und adoleszente Tiere



Abbildung 4.7

Abbildung 4.8

Abbildung 4.1 – 4.8: Graphische Auswertung – A53T, junge und adoleszente Tiere

Abbildung 4.1 – 4.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen junger und adoleszenter Tiere im Alter von 1 - 2 Monaten der Mauslinie *A53T*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Abbildung 4.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 4.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 4.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 4.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus der Hippocampus-Region. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis der Hippocampus-Region.

Abbildung 4.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte.

Abbildung 4.6: Schnitteben auf Höhe von der Vierhügelplatte.

Abbildung 4.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 4.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare der Uvula cerebelli. Die Pfeilspitze b markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

The working for wondere ribharbangen in aprice easener remember
Alveus
Bulbus olfactorius
Bulbus olfactorius accessorius
Cerebellum
cerebellärer Fasertrakt
Corpus callosum
Capsula interna
Caudoputamen/dorsales Striatum
Fimbrien (mediales Vorderhirnbündel)
Flocculus cerebelli
Fornixsystem
Hippocampus-Region
Nucleus interpenduncularis
Hypothalamus
Isocortex
kortikale Subplatte
lateral-septaler Komplex (Striatum)
Mesencephalon
Nervus opticus
Nervus oculomotorius
Nervus trigeminus
Nervus vestibulocochlearis
Nervus vagus
Nucleus spinalis nervi trigemini
Nucleus dorsalis nervi vagi
Nucleus olfactorius anterior
olfaktorischer Cortex
Pons
dorsales Pallidum
mediales Pallidum
Paraflocculus cerebelli
Pontines Grau
Area piriformis
Tractus pyramidalis
retrohippocampale Region
Striatum-ähnliches Kerngebiet der Amygdala
Substantia nigra
Substantia innominate
ventrales Striatum
Subiculum
Thalamus
Uvula cerebelli

In der graphischen Auswertung verwendete Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge:

Strukturen der weißen Substanz wurden im Rahmen der graphischen Auswertung in kursiver Schrift abgekürzt.

Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen



Graue Substanz – keine PK-resistenten, SNCA-positiven Ablagerungen nachweisbar



Graue Substanz – PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung nachweisbar



Graue Substanz – PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung nachweisbar



Graue Substanz – PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in starker Ausprägung nachweisbar



Graue Substanz – PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in sehr starker Ausprägung nachweisbar

Weiße Substanz - keine PK-resistenten, SNCA-positiven Ablagerungen nachweisbar



Weiße Substanz – PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung nachweisbar



Weiße Substanz – PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung nachweisbar

Liquor



nicht bewertete Areale











Abbildung 5.3



Abbildung 5.4



Abbildung 5.5

Abbildung 5.6



Abbildung 5.1 – 5.6 zeigt Fotoausschnitte der jungen und adoleszenten Tiere der Linie *A53T*, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 5.1 zeigt den Bulbus olfactorius eines zwei Monate alten Tieres (Fallnummer 8) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitzen a und b markieren die Glomeruli olfactorii. Sie zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Maßstab 1:40.

Abbildung 5.2 zeigt die Hippocampus-Region eines zwei Monate alten Tieres (Fallnummer 8) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus. Beide Areale zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Maßstab 1:25.

Abbildung 5.3 zeigte die Hippocampus-Region eines zwei Monate alten Tieren (Fallnummer 8) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus. Beide Areale zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Die die umliegenden Strukturen involvierende, diffuse, rötliche Färbung konnte unter Verwendung der PET-blot-Methode nicht reproduziert werden und wurde daher als unspezifisch gewertet. Maßstab 1:25.

Abbildung 5.4 zeigt das Myelon eines ein Monat alten Tieres (Fallnummer 6) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert Anteile des Nucleus spinalis nervi trigemini. Die Pfeilspitze b markiert die Substantia gelatinosa des Hinterhorn des Rückenmarks. Beide Areale zeigen PKresistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Maßstab 1:7.

Abbildung 5.5 zeigt die Medulla oblongata eines zwei Monate alten Tieren (Fallnummer 8) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert Anteile des Nucleus spinalis nervi trigemini. Der Nucleus zeigt PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Maßstab 1:12,5.

Abbildung 5.6 zeigt Anteile des Nucleus spinalis nervi trigemini unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Es zeigen sich in pink-rot Färbung distinkte, sphärische erscheinende PK-resistente SNCA-Ablagerungen. Maßstab 1:80.

3.1.2 Erwachsene Tiere

Von jungen und adoleszenten zu drei Monaten alten Tieren kam es zu einer umfangreichen Progression der mutmaßlich pathologisch-assoziierten Veränderungen, einerseits gekennzeichnet durch eine zunehmende Größe und Dichte der SNCA-Aggregate und andererseits durch eine topographische Expansion auf Strukturen der grauen Substanz von Groß- und Kleinhirn. Im Bereich der weißen Substanz manifestierte sich erstmalig eine SNCA-Pathologie. Eine mögliche Expansionsrichtung entlang neuroanatomischer Strukturen war nicht zu beobachten.

Die Glomeruli olfactorii des Bulbus olfactorius zeigten bei Tieren im Alter von drei Monaten keinerlei PK-resistente SNCA-Ablagerungen. Das Stratum granulosum des Bulbus war in einem Fall erstmalig von einer schwach ausgeprägten Pathologie involviert. Die äußere und innere plexiforme Schicht sowie die Schicht der Mitralzellen waren nicht zweifelsfrei voneinander zu differenzieren. Sie zeigten keine spezifische Färbung.

Im Bereich des Nervus olfactorius waren feine, dunkelviolette bis braune irreguläre, faserähnliche Strukturen abzugrenzen, die in ihrer Morphologie nicht mit den im übrigen ZNS zu beobachtenden SNCA-Ablagerungen übereinstimmten. Eine entsprechende Färbung konnte im gesamtem ZNS im Bereich unmittelbar randbildender Strukturen beobachtet werden und wurde auf unspezifische Ablagerungen, am ehesten bedingt durch den Fixationsprozess, zurückgeführt.

Der medialie, dorsale, laterale sowie posteroventrale Anteil des Nucleus olfactorius anterior zeigte durchschnittlich eine schwach ausgeprägte Pathologie. Der externe Anteil des Kerns konnte nicht eindeutig von den Umgebungsstrukturen abgegrenzt werden, zeigte aber am ehesten ein mit den übrigen Anteilen übereinstimmendes Ergebnis. Die als Lamina eins des Kerngebiets war nicht betroffen.

Der Isocortex war bei drei Monaten alten Tieren unregelmäßig eine schwach bis maximal mäßig ausgeprägte Pathologie involviert. Unterschiede im Ausprägungsgrad betroffener Schichten ergaben ein charakteristisches Muster, welches dem sechsschichtigen Aufbau am ehesten wie folgt zugeordnet werden konnte: In einem Großteil des Isocortex (motorische, sensorische, visuelle und auditive Rindenareale) zeigten die Laminae vier und sechs eine schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Aggregation. Die Laminae eins bis drei sowie die Lamina fünf waren dagegen nicht betroffen. Mediale Cortexabschnitte (Gyrus cinguli, präund infralimbischer und retrospinaler Cortex sowie solche Rindenareale mit Assoziation zu Orbita) zeigten, ausgenommen der Laminae vier, ein entsprechendes Muster. Die topographische Beziehung temporaler Rindenareale (Inselrinde, peri-/ectorhinaler Cortex) zur angrenzenden Area piriformis und retrohippocampalen Region war nicht eindeutig festzulegen. In den betreffenden Isocortexabschnitten war die Schichtung in Relation deutlich schwächer ausgeprägt.

Die Hippocampus-Region zeigte regelmäßig eine maximal stark ausgeprägte SNCA-Pathologie mit charakteristischer Schichtung. Ausgewählte Schichten hoben sich durch eine in Relation fortgeschrittene Färbung deutlich von den umgebenden hippocampalen Strukturen ab, darunter das Stratum multiforme des Gyrus dentatus sowie ein schmales bandförmiges Areal am ehesten im Bereich synaptischer Verbindungen zwischen dem Stratum moleculare einerseits und dem Stratum granulosum des Gyrus dentatus andererseits. Ein entsprechend intensives Farbverhalten zeigte das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Nicht von pathologisch-assoziierten Veränderungen involviert waren das Stratum granulosum des Gyrus dentatus, das Stratum pyramidale des Cornu ammonis und das Stratum lacunosum-moleculare des Cornu ammonis.

Die retrohipocampale Region zeigte durchschnittlich eine schwach ausgeprägte Pathologie. Eine charakteristische Schichtung war nicht zu beobachten.

Im Bereich des Caudoputamens war einmalig eine schwach ausgeprägte Pathologie festzustellen.

Das dorsale Pallidum war unregelmäßig auf den Schnittebenen abgebildet und zeigte in einem Fall eine SNCA-Aggregation von schwacher Ausprägung.

Bis auf zwei umschriebene Areale, die am ehesten dem Epithalamus sowie dem Nucleus reticularis thalami entsprachen, zeigten die übrigen Thalamuskerne regelmäßig eine mäßig ausgeprägte Färbung. Die Nuclei mediani thalami sowie die Nuclei intralaminares schienen in Relation etwas schwächer betroffen. Im Bereich der ventralen Gruppe des dorsalen Thalamus war ein inhomogenes Farbverhalten zu beobachten. Die anterior-laterale sowie die mediale Kerngruppe zeigten eine mit der medialen sowie anterioren Gruppe weitestgehend übereinstimmende Färbung. Ventrale Kerngebiete erschienen, auch in Abhängigkeit von der Schnittebene, in einigen Fällen deutlich schwächer betroffen. Eine eindeutige Abgrenzung einzelner Thalamus-Kerne war nicht möglich. Die ventrale Gruppe wurde daher im Rahmen der graphischen Auswertung einheitlich behandelt.

Im Bereich des Nucleus spinalis nervi trigemini manifestierten sich, übereinstimmend mit den Ergebnissen der jungen und adoleszenten Tiere, regelmäßig PK-resistente SNCA-Ablagerungen von schwacher bis mäßiger Ausprägung in einem schmalen, longitudinalen und unmittelbar an den Tractus spinalis nervi trigemini angrenzendem Areal.

Der Nodulus cerebelli sowie der Flocculus/Paraflocculus cerebelli waren nur unregelmäßig auf den Schnittebenen abgebildet, zeigten in diesen Fällen aber erstmalig eine schwach ausgeprägte SNCA-Pathologie mit charakteristischer Schichtung. Das Stratum moleculare hob sich durch eine homogene, schwach ausgeprägte, hellviolette bis gräuliche Färbung vom Stratum granulosum sowie vom Stratum purkinjense ab, die ihrerseits nicht betroffen waren. Die übrigen cerebellären Strukturen zeigten keine pathologisch-assoziierten Veränderungen.

Im Bereich der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels waren erstmalig PK-resistente, distinkte, sphärisch erscheinende SNCA-Ablagerungen von geringer Dichte auszumachen.

Sechs Monate alten Tieren zeigten weiterhin eine signifikante Zunahme der SNCA-Pathologie, sodass drei und sechs Monate alte Tiere gesonderte beschrieben wurden.

Im Bereich der Glomeruli olfactorii des Bulbus olfactorius war nun regelmäßig eine grobgranuläre SNCA-Aggregation von insgesamt mäßiger Ausprägung zu beobachten, die sich deutlich von den unmittelbar umgebenden Strukturen abhob.

Im Bereich der Area piriformis entwickelte sich erstmalig eine schwach ausgeprägte Färbung mit charakteristischer Schichtung, die dem dreischichten Aufbau des Rindenareals aber nicht zweifelsfrei zugeordnet werden konnte.

Die Taenia tecta war nur bei einem Tier im Alter von sechs Monaten auf den Schnittebenen abgebildet und zeigte in diesem Fall eine mäßig ausgeprägte Pathologie. Auch aufgrund der Tatsache, dass nur ein kleinster Anteil des Rindenareals angeschnitten war, konnte keine charakteristische Schichtung beschrieben werden.

Der Isocortex zeigte eine weitestgehend mit jüngeren Tieren übereinstimmende charakteristische Schichtung von regelmäßig mäßiger Ausprägung. Neben den Laminae vier und sechs zeigten allerdings auch die Laminae eins und fünf eine PK-resistente Färbung.

Im Bereich des olfaktorischen Cortex hoben sich am ehesten die Laminae eins und/oder zwei durch eine schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Pathologie von den restlichen Schichten ab.

Das ventrale Striatum sowie der lateral-septale Komplex des Striatums waren jeweils nur bei einem Tier im Alter von sechs Monaten auf den Schnittebenen abgebildet und zeigten in beiden Fällen eine mäßig ausgeprägte SNCA-Aggregation.

Das striatum-ähnliche Kerngebiet der Amygdala war bei zwei von drei Tieren erstmalig von einer schwach ausgeprägten Pathologie betroffen.

Die Substantia nigra zeigte nun regelmäßig eine schwach ausgeprägte SNCA-Aggregation vornehmlich im Bereich der Pars compacta. In fortgeschrittenen Stadien schien die Pars reticularis ebenfalls von einer entsprechenden Pathologie involviert.

Im Bereich der Uvula cerebelli zeigte das Stratum moleculare eine schwach ausgeprägte Färbung. Es resultierte ein den jungen und adoleszenten Tieren entsprechendes Färbemuster des cerebellären Cortex in dem betreffenden Areal. Tiefer gelegene Rindenschichten (kortikale Subplatte) konnten nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurden daher nicht gesondert betrachtet.

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 19.

Abbildung 6.1 – 6.8 zeigt eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse.

Abbildung 7.1 – 7.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

							Ø
Fallnummer	10	11	12	224	225	226	
Alter in Monaten	3	3	3	6	6	6	
Geschlecht	w	w	m	W	w	m	
Anatomische Struktur							
Bulbus olfactorius	+	-	-	++	+	++	+
Glomeruli olfactorii	-	-	-	-	++	++	+
Nucleus olfactorius anterior	+	-	+	++	/	/	+
Bulbus olfactorius accessorius	/	/	-	/	/	/	[-]
Stratum glomerulosum	/	/	/	/	/	/	/
Area piriformis	-	-	-	/	+	+	-
Taenia tecta	/	/	-	/	++	/	+
Olfaktorischer Cortex	-	-	-	/	++	+	+
Isocortex	+	-	++	++	++	++	++
Hippocampus-Region	+	+	++	+	++	++	++
Gyrus dentatus	++	++	+++	++	+++	+++	+++
Cornu ammonis	++	++	+++	++	+++	+++	+++
Retrohippocampale Region	-	+	+	+	++	++	+
Dorsales Striatum/Caudoputamen	-	-	+	+	+	+	+
Ventrales Striatum	-	-	/	/	++	/	+
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	/	-	/	++	/	/	+
Ventrales Pallidum	/	-	/	/	-	/	-
Mediales Pallidum	/	-	/	/	-	/	-
Dorsales Pallidum	-	/	+	/	/	+	+
Kaudales Pallidum	/	/	-	/	/	/	[-]
Amygdala	-	-	-	+	-	+	-
Thalamus	++	-	++	++	++	++	++
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	-
Corpus mamillare hypothalami	-	-	-	/	/	/	-
Nucleus ventromedialis hypothalami	-	/	-	/	/	-	-

Tabelle 19: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, erwachsene Tiere

							Ø
Fallnummer	10	11	12	224	225	226	/
Alter in Monaten	3	3	3	6	6	6	
Geschlecht	W	w	m	W	W	m	
Anatomische Struktur 🕠							
Mesencephalon	-	-	-	-	-	-	-
Substantia nigra	-	/	/	+	+	+	+
Nucleus interpeduncularis	-	/	/	/	/	/	[-]
Nucleus tegmentalis ventralis	-	-	-	/	/	/	-
Pons	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	/	/	/	/	/	/	/
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	/	/	-	-	-	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	+	+	++	/	/	/	+
Myelon	/	/	/	/	/	/	/
Substantia gelatinosa	/	/	/	/	/	/	/
Cerebellum	-	-	-	-	-	-	-
Nodulus	/	/	+	/	/	/	[+]
Uvula	-	/	/	/	+	+	+
Flocculus/Paraflocculus	/	+	/	-	-	-	-
Cingulum	I	-	-	-	-	-	-
Fimbrien	-	-	++	-	-	-	-
Commissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	/	/	-
Capsula interna	-	-	/	/	/	/	-
Tractus mamillothalamicus	-	-	/	-	-	-	-

Legende zu Tabelle 19: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).

а

b



Abbildung 6.2



Abbildung 6.4







Abbildung 6.7

Abbildung 6.8

Abbildung 6.1 – 6.8: Graphische Auswertung – A53T, erwachsene Tiere (Teil 2)
Legende zu Abbildung 6.1 – 6.6:

Abbildung 6.1 - 6.6 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 - 8 erwachsener Tiere im Alter von 3 - 6 Monaten der human-transgenen Mauslinie *A53T*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 6.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. De Pfeilspitze b markiert die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 6.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze b markiert den Nervus olfactorius.

Abbildung 6.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 6.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis (Hippocampus-Region). Die Pfeilspitze c markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze d markiert den Nucleus reticularis hypothalami.

Abbildung 6.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte.

Abbildung 6.6: Schnitteben auf Höhe der Vierhügelplatte.

Abbildung 6.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 6.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare der Uvula (Vermis cerebelli). Die Pfeilspitze b markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.





Abbildung 7.1

Abbildung 7.2





Abbildung 7.3



Abbildung 7.5

Abbildung 7.4



Abbildung 7.6

Abbildung 7.1 – 7.6: Exemplarische Fotoausschnitte – A53T, erwachsene Tiere

Abbildung 7.1 – 7.6 zeigt Fotoausschnitte erwachsener Tiere (3 – 6 Monate) der SNCA-transgenen Linie A53T, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 7.1 zeigt den Bulbus olfactorius eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 226) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert ein Glomerulom des Stratum glomerulosum. Sie zeigen distinkte, sphärische PK-resistente SNCA-Aggregate von dunkelvioletter Farbe in mäßiger Ausprägung. Maßstab 1:120.

Abbildung 7.2 zeigt den Bulbus olfactorius sowie den Nucleus olfactorius anterior eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 224) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum granulosum des Bulbus olfactorius. Der Bulbus olfactorius zeigt in seiner Gesamtheit PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Die Ablagerungen im Bereich der Glomeruli olfactorii wurden als mäßig ausgeprägt beschrieben. Die Pfeilspitze c markiert den Nucleus olfactorius anterior (abgebildet ist der mediale, laterale, dorsale und posteroventrale Anteil). Maßstab 1:12,5.

Abbildung 7.3 zeigt den Isocortex eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 226) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert das Corpus callosum. Mit den entsprechenden Zahlen markiert sind die Laminae 1 – 6 des Isocortex. Der Isocortex zeigt in seiner Gesamtheit PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Maßstab 1:25.

Abbildung 7.4 zeigt u. a. die Hippocampus-Region sowie das Mesencephalon eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 226) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert die Hippocampus-Region. Sie ist in ihrer Gesamtheit von PK-resistenten, SNCA-positiven Ablagerungen in mäßiger Ausprägung betroffen. Die Pfeilspitze b markiert die anteriore Gruppe des dorsalen Thalamus. Das betreffende Areal zeigt PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Maßstab 1:20.

Abbildung 7.5 zeigt u. a. die Hippocampus-Region, Anteile des Thalamus sowie das Mesencephalon eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 226) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert die Hippocampus-Region. Sie zeigt PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Die Pfeilspitze b markiert die Corpora geniculata mediale und laterale des Thalamus (Metathalamus). Sie zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Die Pfeilspitze c markiert die Substantia nigra. Sie zeigt PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Maßstab 1:10.

Abbildung 7.6 zeigt u. a. das Cerebellum eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 226) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare der Uvula der Vermis cerebelli. Es zeigen sich PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Maßstab 1:7.

3.1.3 Tiere mittleren Alters

Ausgehend von erwachsenen Tieren im Alter von 3-6 Monaten zu Tieren mittleren Alters im Alter 10-15 Monaten kam es zu einer weniger stark ausgeprägten aber dennoch weiteren Progression der SNCA-Pathologie. Zu beobachten war neben einer weiteren topographischen Expansion insbesondere die gesteigerte Dichte und Größe der Proteinaggregate. Tiere im Alter von 10 - 15 Monaten zeigten weitestgehend übereinstimmende Ergebnis und wurden daher nicht differenziert voneinander beschrieben.

Die nachfolgenden Strukturen zeigte in Relation zu den Ergebnissen der jüngeren Tiere die folgenden Besonderheiten.

Das Stratum granulosum sowie das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius zeigten regelmäßig eine schwach bis maximal stark ausgeprägte Pathologie. Daneben entwickelte sich in Fällen fortgeschrittener Pathologie auch im Bereich der äußeren plexiformen Schicht eine weniger stark ausgeprägt PK-resistente Färbung. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der erwachsenen Tiere konnten die Schicht den Mitralzellen sowie die innere plexiforme Schicht nicht sicher voneinander differenziert werden. Die Glomeruli olfactorii waren bei einzelnen Tieren auf den Schnittebenen abgebildet. Dicht gelagerte und gröbste Granula von dunkel- bis schwarz-violetter Farbe hoben sich in diesen Fällen deutlich von der Umgebung des Bulbus ab.

Der Bulbus olfactorius accessorius war nur bei einem Tier im Alter von 13 Monaten auf den Schnittebenen abgebildet. Das Stratum glomerulosum zeigt in diesem Fall PK-resistente und SNCA-positive Ablagerungen von starker Ausprägung.

Neben den Laminae vier und sechs des Isocortex zeigte nun auch die Lamina eins eine charakteristische Färbung. Die Lamina fünf war in Relation etwas schwächer betroffen. Die Laminae zwei und drei waren nicht betroffen. Im Bereich medialer Cortexabschnitte (Gyrus cinguli, prälimbischer, infralimbischer und retrospinaler Cortex, Rindenareale mit Assoziation zur Orbita) zeigte sich ein entsprechendes Färbemuster (die Laminae vier entfällt). Im Bereich temporaler Rindenareale (Inselrinde, peri-/ectorhinaler Cortex) am Übergang zur Area piriformis bzw. der retrohippocampalen Region war die Schichtung übereinstimmend mit jüngeren Tieren nahezu aufgehoben.

Das dorsale Striatum/Caudoputamen sowie der lateral-septale Komplex des Striatums zeigten einen deutlichen Progress der SNCA-Aggregation von nun maximal starker, durchschnittlich mäßiger Ausprägung. Bei einem Tier im Alter von zehn Monaten hob sich sowohl im Bereich des dorsalen Striatums/Caudoputamens als auch im Bereich des lateral-septalen Komplexes (am ehesten caudodorsaler Anteil) erstmalig ein an den lateralen Ventrikel angrenzendes Areal durch deutlich gröbere, dicht gelagerte Proteinaggregate von intensiver Farbe deutlich ab.

Im Bereich des kaudalen Pallidums war ab einem Alter von 13 Monaten erstmalig eine schwache hell-violett bis braun-gräuliche, diffuse Färbung zu beobachten.

Das Corpus mamillare hypothalami war ab einem Alter von 13 Monaten ebenfalls erstmalig von einer schwachen Färbung involviert.

Das Myelon war lediglich bei einem Tier im Alter von zehn Monaten auf einer weiteren/neunten Schnittebene abgebildet. In diesem Fall zeigte ein Areal, das am ehesten der Substantia gelatinosa zugeordnet werden konnte, eine schwach ausgeprägte SNCA-Aggregation.

Ausschließlich im Bereich des Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli ergaben dicht gelagerte, feine SNCA-Ablagerungen eine schwach ausgeprägte Färbung. Das Stratum granulosum sowie das Stratum purkinjense waren nicht betroffen.

Im Bereich der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels manifestierte sich regelmäßig eine schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Pathologie. Das Cingulum zeigte PK-resistente Proteinablagerungen von maximal mäßiger Ausprägung.

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten bei Tieren im Altern von 6 – 15 Monaten keine relevante Progression der SNCA-Pathologie: Taenia tecta, olfaktorischer Cortex, retrohippocampale Region, striatum-ähnliche Kerngebiete der Amygdala, Substantia nigra, Nucleus spinalis Nervi trigemini, Uvula cerebelli.

Bei einzelner Betrachtung der Tiere mittleren Alters konnte in Relation zu jüngeren Tieren ein gering ausgeprägter Progress der Färbung im Bereich der nachfolgenden Strukturen beobachtet werden: Nucleus olfactorius anterior, Area piriformis, Hippocampus-Region, Thalamus, ventrales Striatum, dorsales Pallidum/Globus pallidus. Der gemittelte Ausprägungsgrad der Pathologie stimmte allerdings mit erwachsenen Tieren im Alter von sechs Monaten überein.

Die folgenden Strukturen waren nicht oder nur unregelmäßig auf den Schnittebene abgebildet und konnten daher nicht bewertet werden: Stratum glomerulosum des accessorischen Bulbus, mediales Pallidum, Nucleus tegmentalis ventralis, pontines Grau, Nodulus cerebelli, Myelon.

Tiefer gelegene Rindenschichten (kortikale Subplatte) konnten nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurden daher nicht gesondert betrachtet.

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine pathologisch-assoziierten Veränderungen.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 20.

Abbildung 8.1 – 8.8 zeigt eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse.

Abbildung 9.1 – 9.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

-				
Tabelle 20: Tab	oellarische Einzela	uswertung – <i>A53</i>	<i>T</i> , Tiere mittlerer	n Alters

										Ø
Fallnummer	13	14	15	16	17	18	22	23	24	
Alter in Monaten	10	10	10	13	13	13	15	15	15	
Geschlecht	w	m	m	m	m	m	m	m	m	
Anatomische Struktur 🚶										
Bulbus olfactorius	-	/	+	+++	++	/	/	/	/	++
Glomeruli olfactorii	/	/	-	+++	+++ +	/	/	/	/	++
Nucleus olfactorius anterior	+	++	++	/	+++	+	+	+	/	++
Bulbus olfactorius accessorius	-	/	-	/	-	/	/	/	/	-
Stratum glomerulosum	/	/	/	/	+++	/	/	/	/	[++ +]
Area piriformis	+	++	+	+	/	+	+	+	+	+
Taenia tecta	/	+	/	/	/	+	+	++	++	+
Olfaktorischer Cortex	++	+	++	+	+	++	+	++	++	++
Isocortex	++	++	++	+++	+++	+	++	++	+++	++
Hippocampus-Region	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Gyrus dentatus	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++
Cornu ammonis	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++
Retrohippocampale Region	+	++	+	+	++	++	++	++	++	++
Dorsales Striatum/Caudoputamen	+1	++	++	+++	+++	+	++	++	+++	++
Ventrales Striatum	-	+	+	+++	+++	+	+	+	+++	+++
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	++1	++	++	+++	+++	/	/	/	+++	+++
Ventrales Pallidum	-	-	-	-	/	/	/	/	-	-

¹ In einem unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzenden Areal des dorsalen Striatums/Caudoputamens einerseits sowie lateral-septalen Komplexes des Striatums andererseits waren PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von in Relation fortgeschrittener Ausprägung festzustellen.

										Ø
Fallnummer	13	14	15	16	17	18	22	23	24	
Alter in Monaten	10	10	10	13	13	13	15	15	15	
Geschlecht	W	m	m	m	m	m	m	m	m	
Anatomische Struktur 🚶										
Mediales Pallidum	/	/	-	-	/	/	/	/	/	[-]
Dorsales Pallidum	/	/	/	+	+	/	++	++	++	++
Kaudales Pallidum	-	-	/	/	+	+	/	+	++	+
Amygdala	/	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Thalamus	++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	+++	++
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	_	-	-	-
Corpus mamillare hypotahalami	-	-	-	-	-	++	-	-	+	-
Nucleus ventromedialis hypothalami	/	/	/	-	-	/	-	-	-	-
Mesencephalon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substantia nigra	+	+	+	/	+	+	/	/	/	+
Nucleus interpeduncularis	/	/	-	/	-	-	/	/	/	-
Nucleus tegmentalis ventralis	-	/	/	-	/	/	/	/	/	[-]
Pons	I	-	-	-	-	I	i	I	-	-
Pontines Grau	-	/	/	/	/	/	/	/	/	[-]
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	_	-	-	-
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	-	/	-	I	-	-	-	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	/	+	+	-	+	+	/	/	-	+
Myelon	-	/	/	/	/	/	/	/	/	[-]
Substantia gelatinosa	+	/	/	/	/	/	/	/	/	[+]
Cerebellum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

										Ø	
Fallnummer	13	14	15	16	17	18	22	23	24		
Alter in Monaten	10	10	10	13	13	13	15	15	15		
Geschlecht	w	m	m	m	m	m	m	m	m		
Anatomische Struktur 🚶											
Nodulus	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
Uvula	++	+	/	+	/	+	+	+	/	+	
Flocculus / Paraflocculus	+	+	-	/	+	+	+	-	/	+	
Cingulum	-	+	++	++	++	-	+	++	+	+	
Fimbrien	++	-	++	++	-	-	+	++	+	+	
Comissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Capsula interna	-	-	-	-	/	-	-	/	/	-	
Tractus mamillothalamicus	/	/	/	-	-	-	-	-	-	-	

Legende zu Tabelle 20: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).

a b во

Abbildung 8.1

с



Abbildung 8.2



Abbildung 8.1 – 8.8: Graphische Auswertung – A53T, Tiere mittleren Alters



Abbildung 8.7

Abbildung 8.8

Abbildung 8.1 – 8.8: Graphische Auswertung – A53T, Tiere mittleren Alters

Abbildung 8.1 – 8.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 – 8 von Tieren mittleren Alters im Alter von 10 - 15 Monaten der human-transgenen Mauslinie *A53T*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 8.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b markiert die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 8.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen b markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 8.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 8.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis (Hippocampus-Region). Die Pfeilspitze c markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels. Die Pfeilspitze d markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus reticularis hypothalami.

Abbildung 8.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte.

Abbildung 8.6: Schnitteben auf Höhe von der Vierhügelplatte.

Abbildung 8.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 8.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare der Uvula (Vermis cerebelli). Die Pfeilspitze b markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.



Abbildung 9.1



Abbildung 9.2



e b a d PAL

Abbildung 9.3

Abbildung 9.4



Abbildung 9.5



Abbildung 9.6



Abbildung 9.1 – 9.6 zeigt Fotoausschnitte der Tiere mittleren Alters der SNCA-transgenen Linie *A53T*, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 9.1 zeigt den Bulbus olfactorius eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 16) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Ausgewählte Schichten des Bulbus olfactorius sind wie folgt markiert: a – Stratum glomerulosum, b – äußere plexiforme Schicht, c – Stratum granulosum. Der Bulbus olfactorius zeigt in seiner Gesamtheit eine starke Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen. Maßstab 1:12.5.

Abbildung 9.2 zeigt den Bulbus olfactorius sowie den Nucleus olfactorius anterior eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 17) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert den Nucleus olfactorius anterior. Der Nucleus zeigt PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in starker Ausprägung. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum granulosum des Bulbus olfactorius. Pfeilspitze c markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius zeigt in seiner Gesamtheit PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Das Stratum glomerulosum gesondert betrachtet zeigt eine stark ausgeprägte SNCA-Pathologie. Maßstab 1:20.

Abbildung 9.3 zeigt einen Ausschnitt der Schnittebene vor dem Chiasma opticum eines 13 Monate alten Tieren (Fallnummer 17) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Der Isocortex. (ISO), das Caudoputamen (CP) sowie der lateral-septale Komplex des Striatums (LSK) zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in starker Ausprägung. Das Corpus callosum (cc) ist nicht betroffen. Die Pfeilspitze a markiert die anteriore Kommissur des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze b markiert das Cingulum (cing). Beide Strukturen sind von einer mäßig ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen.

Abbildung 9.4 zeigt den Thalamus eines 13 Monate alten Kindes (Fallnummer 17) unter Verwendung der PETblot-Methode (Antikörper 10D2). Ausgewählt Gruppen der Thalamus-Kerne sind wie folgt markiert: a – mediale Kerngruppe des dorsalen Thalamus, b – ventrale Gruppe des dorsalen Thalamus, c – anteriore Gruppe des dorsalen Thalamus, d – Mittellinien-Gruppe des dorsalen Thalamus, e –Nucleus reticularis thalami, f – Epithalamus. Der Thalamus zeigte in seiner Gesamtheit PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in starker Ausprägung. Das Pallidum (PAL) zeigte eine schwach ausgeprägte SNCA-Pathologie. Der Hypothalamus (HY) zeigt keine PK-resistenten, SNCA-positiven Ablagerungen. Maßstab gerundet 1:10.

Abbildung 9.5 zeigt Teile des Mesencephalons sowie der Hippocampus-Region eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 17) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert die Substantia nigra. Maßstab 1:16.

Abbildung 9.6 zeigt den Isocortex eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 17) unter Verwendung der PETblot-Methode (Antikörper 10D2). Die Zahlen 1 – 6 markieren die Schichten des Isocortex. Maßstab 1:20.

3.1.4 Alte Tiere

Alter Tiere (18 – 24 Monaten) zeigte eine weitere, aber schwächer ausgeprägte Progression der SNCA-Pathologie im Bereich von bereits bei jüngeren Tieren involvierten Arealen. Zudem konnte eine weitere topographische Expansion der SNCA-Aggregation beobachten werden.

Im Vergleich mit den Tieren mittleren Alters im Alter zeigten alte Tiere die folgenden Auffälligkeiten:

Im Bereich der Hippocampus-Region zeigten das das Stratum multiforme des Gyrus dentatus sowie des Stratum lucidum des Cornu ammonis erstmalig PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von sehr starker Ausprägung.

Sowohl das dorsale Striatum/Caudoputamen als auch der lateral-septale Komplex zeigten ebenfalls erstmalig eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Pathologie. Unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzende Areale beider Strukturen hoben sich durch eine besonders intensive dunkelviolette Färbung deutlich vom restlichen Striatum ab.

Im Bereich des striatum-ähnlichen Kerngebiets der Amygdala waren vereinzelt PKresistente, SNCA-positive Ablagerungen von mäßiger Ausprägung zu beobachten.

Das Corpus mamillare hypothalami war erstmalig von einer mäßig ausgeprägten Färbung involviert. Zudem zeigte ein Bereich des ventromedialen Hypothalamus, der am ehesten dem Nucleus ventromedialis hypothalami zugeordnet werden konnte, erstmalig eine schwach ausgeprägte SNCA-Aggregation.

Im Bereich der Substantia nigra war erstmalig eine maximal stark ausgeprägte SNCA-Pathologie zu beobachten.

Das pontine Grau zeigte erstmalig eine hell-violette bis graue, diffus imponierend Färbung von schwacher Intensität.

Ausgewählte Strukturen der Substantia alba zeigten in Relation einen deutlichen Progress der SNCA-Aggregation. Die Fimbrien des Fornixsystems waren erstmalig stark betroffen. Die Capsula interna zeigte bei Tieren im Alter von 21 Monaten erstmalig eine mäßig ausgeprägte SNCA-Pathologie (wobei die Grenzen zum angrenzenden Pallidum nicht eindeutig festgelegt werden konnten).

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten ein mit den Tieren mittleren Alters übereinstimmendes Ergebnis: Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius, Nucleus olfactorius anterior, Area piriformis, Isocortex, olfaktorische Cortex, retrohippocampale Region, ventrales Striatum, dorsales Pallidum/Globus pallidus, kaudales Pallidum, Thalamus, Corpus mamillare hypothalami, Nucleus spinalis Nervi trigemini, Uvula, Vermis cerebelli, Flocullus/Paraflocculus, Cingulum.

Die folgenden Strukturen waren nicht oder nur unregelmäßig auf den Schnittebene abgebildet und wurden daher nicht bewertet: Nucleus interpeduncularis, Nucleus tegmentalis ventralis, Myelon.

Tiefer gelegene Rindenschichten (kortikale Subplatte) konnten nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurden daher nicht gesondert betrachtet.

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 21.

Abbildung 10.1 – 10.8 eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse.

Abbildung 11.1 – 11.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 12.1 – 12.6 zeigt eine Übersichtsdarstellung des Musters PK-resistenter, SNCApositiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie A53T im Alter von 10 – 24 Monaten.

Ventrales Pallidum

_

										Ø
Fallnummer	20	21	37	38	39	41	47	49	50	
Alter in Monaten	18	18	18	21	21	21	24	24	24	
Geschlecht	w	w	w	w	W	w	w	w	W	
Anatomische Struktur 🚶										
Bulbus olfactorius	++	-	/	/	/	++	++	++	+	++
Glomeruli olfactorii	+++	/	/	/	/	+++	+++ +	/	/	+++
Nucleus olfactorius anterior	++	-	++	/	++	/	++	/	++	++
Bulbus olfactorius accessorius	-	/	/	/	/	/	/	-	/	[-]
Stratum glomerulosum	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Area piriformis	++	-	+	+	++	+	++	++	+	+
Taenia tecta	/	/	++	/	++	/	/	++	/	++
Olfaktorischer Cortex	++	-	+	+	++	+	++	++	+	+
Isocortex	+++	-	+	+	++	+++	++	+++	++	++
Hippocampus-Region	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Gyrus dentatus	+++	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++
Cornu ammonis	+++	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++
Retrohippocampale Region	++	+	++	++	+	++	++	++	++	++
Dorsales Striatum/Caudoputamen	++	+2	+	++	++	+++	+++	++	+++ 2	++
Ventrales Striatum	++	+	+	++	/	+	+++	++	++	++
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	++	+2	+	/	/	++2	$^{+++}_{+^2}$	/	++2	++

Tabelle 21: Tabellarische Einzelauswertung – A53T, alte Tiere

² In einem unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzenden Areal des dorsalen Striatums/Caudoputamens einerseits sowie lateral-septalen Komplexes des Striatums andererseits waren PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von in Relation fortgeschrittener Ausprägung festzustellen.

										Ø
Fallnummer	20	21	37	38	39	41	47	49	50	
Alter in Monaten	18	18	18	21	21	21	24	24	24	
Geschlecht	W	W	W	W	W	W	W	W	W	
Anatomische Struktur 🚶										
Mediales Pallidum	/	_	-	/	/	-	-	/	-	-
Dorsales Pallidum	++	/	/	+	++	++	/	/	+	+
Kaudales Pallidum	+	/	/	/	/	/	+	/	/	[+]
Amygdala	+	-	+	-	+	+	++	++	+	+
Thalamus	+++	+	++	++	+++	+++	++	+	+++	++
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Corpus mamillare hypotahalami	/	+	+	-	-	-	+++	+	-	+
Nucleus ventromedialis hypothalami	I	/	/	+	I	+	/	/	+	+
Mesencephalon	I	I	-	-	I	-	-	I	-	-
Substantia nigra	++	/	/	++	/	++	+++	+	/	++
Nucleus interpeduncularis	/	/	-	-	/	/	/	/	/	[-]
Nucleus tegmentalis ventralis	/	-	/	/	-	/	/	/	/	[-]
Pons	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	/	/	/	/	/	-	+	+	/	+
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	-	-	/	-	/	-	-	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	/	/	/	+	/	+	/	+	/	+
Myelon	/	/	/	/	/	-	/	/	/	[-]
Substantia gelatinosa	/	/	/	/	/	+	/	/	/	[+]
Cerebellum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

										Ø	
Fallnummer	20	21	37	38	39	41	47	49	50		
Alter in Monaten	18	18	18	21	21	21	24	24	24		
Geschlecht	w	w	w	w	w	w	W	w	w		
Anatomische Struktur 🚶											
Nodulus	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
Uvula	++	-	+	+	/	+	/	-	-	+	
Flocculus / Paraflocculus	+	/	-	+	-	+	/	+	-	+	
Cingulum	++	-	++	-	+	-	+	-	-	+	
Fimbrien	-	-	++	+++	+++	-	i	-		+	
Comissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Capsula interna	/	-	-	++	++	/	-	-	-	+	
Tractus mamillothalamicus	-	-	/	/	-	-	/	/	-	-	

Legende zu Tabelle 21: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).



Abbildung 10.1



Abbildung 10.2



Abbildung 10.3

Abbildung 10.4

Abbildung 10.1 – 10.8: Graphische Auswertung – A53T, alte Tiere



Abbildung 10.1 – 10.8: Graphische Auswertung – *A53T*, alte Tiere (Teil 2)

Abbildung 10.1 - 10.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 - 8 alter Tiere (18 - 24 Monate) der SNCAtransgenen Mauslinie *A53T*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 10.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 10.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze b markiert den Nervus olfactorius.

Abbildung 10.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 10.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis (Hippocampus-Region). Die Pfeilspitze c markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels. Die Pfeilspitze d markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus reticularis hypothalami.

Abbildung 10.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte. Die Pfeilspitze markiert das Corpus mamillare hypothalami.

Abbildung 10.6: Schnittebene auf Höhe der Vierhügelplatte.

Abbildung 10.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 10.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare der Uvula cerebelli. Die Pfeilspitze b markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.



Abbildung 11.1



Abbildung 11.2



Abbildung 11.3



Abbildung 11.4



Abbildung 11.5



Abbildung 11.6

Abbildung 11.1 – 11.6: Exemplarische Fotoausschnitte – A53T, alte Tiere

Abbildung 11.1 – 11.6 zeigt Fotoausschnitte alter Tiere (18 – 24 Monate) der SNCA-transgenen Linie A53T, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 11.1 zeigt die Hippocampus-Region eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Hippocampus-Region zeigt in ihrer Gesamtheit PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in mäßiger Ausprägung. Die oben genannten Schichten der Hippocampus-Region zeigen eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Pathologie. Maßstab 1:20.

Abbildung 11.2 zeigt den Bulbus olfactorius eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitzen markieren Glomeruli olfactorii. Beide Glomeruli zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in sehr starker Ausprägung. Maßstab 1:50.

Abbildung 11.3 zeigt einen Ausschnitt der Schnittebene vor dem Chiasma opticum eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert einen Teil des dorsalen Striatums/Caudoputamens, der unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzt. Die Pfeilspitze b markiert einen Teil des lateral-septalen Komplexes des Striatums, der unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzt. Beide Areale heben sich durch eine maximal sehr stark ausgeprägte Pathologie hervor. Die Pfeilspitze c markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels, das eine schwach ausgeprägte SNCA-Aggregation zeigt. Maßstab 1:12,5.

Abbildung 11.4 zeigt einen Ausschnitt der Schnittebene vor dem Chiasma opticum eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Siehe vergleichend Abbildung 12.3. Maßstab 1:12,5.

Abbildung 11.5 zeigt Teile des Mesencephalons sowie der Hippocampus-Region eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert die Hippocampus-Region. Das Stratum multiforme des Gyrus dentatus und das Stratum lucidum des Cornu ammonis zeigen PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von sehr starker Ausprägung. Die Pfeilspitze b markiert die Substantia nigra, die von einer stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen ist. 1:16.

Abbildung 11.5 zeigt Teile des Mesencephalons sowie der Hippocampus-Region 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Siehe vergleichend Abbildung 12.5. Maßstab 1:16.





Abbildung 12.1







Abbildung 12.3

Abbildung 12.4



Abbildung 12.5

Abbildung 12.6

Abbildung 12.1 – 12.6: Übersichtsdarstellung – Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie A53T im Alter von 10 – 24 Monaten.

Abbildung 12.1 – 12.6 zeigt das Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren mittleren Alters sowie alten Tieren (10 – 24 Monate) der SNCA-transgenen Linie *A53T*. Gefärbt wurden sechs definierte koronale Schnittebenen mit der PET-blot-Methode unter Verwendung des Antikörpers 10D2. Die Abbildungen zeigen eine repräsentative Übersicht des zu beobachtenden Ablagerungsmusters in fortgeschrittenen Stadien. Da es von Tieren mittleren Alters zu alten Tieren zu einer nicht relevanten Progression der SNCA-Pathologie kommt, ist das dargestellte Ablagerungsmuster als maximale Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen zu verstehen. Maßstab 1:10.

Zu den in der Abbildung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 12.1 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 17).

Abbildung 12.2 zeigt die Schnittebene vor dem Chiasma opticum eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 17).

Abbildung 12.3 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 17).

Abbildung 12.4 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Vierhügelplatte eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 38).

Abbildung 12.5 zeigt die Schnittebene hinter dem Flocculus/Paraflocculus cerebelli eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 47).

Abbildung 12.6 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 49).

3.2 Auswertung der Mauslinie PAC-Tg-SNCAwt

3.2.1 Junge und adoleszente Tiere

Junge und adoleszente Tiere im Alter von 1 - 2 Monaten zeigten bereits früh eine topographisch verbreitete und zum Teil fortgeschrittene Pathologie in einem Großteil der grauen sowie ausgewählten Strukturen der weißen Substanz.

Der Bulbus olfactorius war in seiner Gesamtheit von einer mäßig ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Die Glomeruli olfactorii hoben sich bereits früh durch grobe, dicht gelagerte Proteinaggregate von dunkel- bis schwarz-violetter Farbe ab. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der Linie *A53T* ließen sich die Schicht der Mitralzellen, die innere plexiforme Schicht sowie die äußere plexiforme Schicht mithilfe der angewandten Methodik nicht eindeutig voneinander differenzieren. Die drei Schichten zeigten eine in Relation zum Stratum granulosum sowie Stratum glomerulosum schwächer ausgeprägte Färbung. Im Unterschied zu den Tieren der Linie *A53T* kennzeichneten einzelne, distinkte, sphärische Ablagerungen die Schicht der Mitralzellen sowie die innere und äußere plexiforme Schicht.

Im Bereich randständiger Strukturen (einschließlich Nervus olfactorius) wurden, übereinstimmend mit den Tieren der Linie *A53T*, irreguläre SNCA-positive Strukturen sowohl mit der PET-blot-Methode als und im Rahmen immunhistochemischer Färbungen wiederholt dargestellt und als unspezifisch bewertet.

Das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius accessorius war nur vereinzelt auf den Schnittebenen abgebildet, hob sich in diesen Fällen aber durch eine fortgeschrittene Pathologie in Form dicht gelagerter, grober, dunkelvioletter Granula deutlich von der Umgebung ab.

Im Bereich medialer, dorsaler, lateraler sowie posteroventraler Anteile des Nucleus olfactorius anterior war eine SNCA-Pathologie von starker Ausprägung zu beobachten. Der externe Anteil des Kerns konnte nicht eindeutig differenziert werden. Es bestand jedoch kein Hinweis auf ein von den übrigen Anteilen abweichendes Ergebnis. Die Lamina eins zeigte in einem schmalen, longitudinalen, bandförmigen und unmittelbar an den Tractus olfactorius lateralis angrenzendem Areal SNCA-Aggregate von starker Ausprägung.

Die Area piriformis zeigte eine PK-resistente Färbung von mäßiger Intensität. Es resultierte ein mehrschichtiges, spezifisches Muster, das dem dreischichtigen Aufbau des Rindenareals nicht zweifelsfrei zugeordnet werden.

Anteile der Taenia tecta waren lediglich bei zwei Monate alten Tieren regelmäßig auf den Schnittebenen abgebildet und zeigte in diesen Fällen eine mäßig bis stark ausgeprägte SNCA-Pathologie. Oberflächliche Schichten (am ehesten Laminae eins und zwei) hoben sich durch eine fortgeschrittene Färbung von maximal mäßiger Intensität hervor.

Der Isocortex war in seiner Gesamtheit von einer durchschnittlich mäßig ausgeprägten SNCA-Aggregation betroffen. Es resultierte ein charakteristisches Färbemuster, das dem sechsschichtigen Aufbau am ehesten wie folgt zugeordnet werden konnte. Im Bereich des motorischen, sensorischen, visuellen sowie auditiven Cortex zeigten die Laminae vier und sechs in Relation zu Lamina fünf eine intensivere Färbung. Die Laminae eins bis drei waren nicht betroffen. Im Bereich medialer Cortex-Abschnitte (Gyrus cinguli, prälimbischer, infralimbischer und retrospinaler Cortex, Rindenareale mit Assoziation zur Orbita) hoben sich die Laminae eins und sechs durch eine in Relation fortgeschrittene Pathologie hervor (die Lamina vier entfällt). Die Laminae zwei und drei waren nicht betroffen. Im Bereich temporaler Rindenareale (Inselrinde, peri-/ectorhinaler Cortex) am Übergang zur Area piriformis bzw. der retrohippocampalen Region wurde keine charakteristische Färbung der Schichten beobachtet.

Im Bereich der Hippocampus-Region waren das Stratum moleculare des Gyrus dentatus sowie das Stratum radiatum und das Stratum oriens des Cornu ammonis durchschnittlich von PK-resistenten, SNCA-positiven Ablagerungen von mäßiger Ausprägung betroffen. Das Stratum granulosum des Gyrus dentatus sowie das Stratum pyramidale und Stratum lacunosum-moleculare des Cornus ammonis waren nicht betroffen. Ausgewählte hippocampale Substrukturen hoben sich regelmäßig durch dicht gelagerte, besonders grobe Ablagerungen von intensiver dunkel- bis schwarz-violetter Farbe deutlich ab. Dazu gehörten im Bereich des Gyrus dentatus neben dem Stratum multiforme ein schmales bandförmiges Areal am ehesten im Bereich synaptischer Verbindungen zwischen dem Stratum moleculare und dem Stratum granulosum. Das Stratum moleculare war im Großteil nicht betroffen. Das Ammonshorn zeigte ein entsprechendes Färbemuster in einem Bereich des Stratum lucidum.

Die retrohippocampale Region war von einer durchschnittlich mäßig ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen.

Der lateral-septale Komplex hob sich durch eine in Relation intensivere Färbung deutlich von den restlichen striatalen Strukturen ab (dorsales Striatum/Caudoputamen, ventrales Striatum), die eine Färbung von durchschnittlich mäßiger Intensität aufwiesen. Das striatumähnliche Kerngebiet der Amygdala war ebenfalls mäßig betroffen.

Das dorsale und kaudale Pallidum zeigte eine schwach ausgeprägte SNCA-Ablagerung.

Die Thalamuskerngebiete (ausgenommen zweier Areale, die am ehesten Epithalamus sowie dem Nucleus reticularis thalami zugeordnet werden konnten) waren bereits früh von einer maximal stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Die Nuclei mediani thalami sowie die Nuclei intralaminares waren in Relation schwächer betroffen. Der ventromediale Hypothalamus (Corpus mamillare hypothalami, Nucleus ventromedialis hypothalami) zeigte durchschnittlich eine SNCA-Pathologie von schwacher Ausprägung.

Die Substantia nigra war lediglich bei zwei Monate alten Tieren auf den Schnittebenen abgebildet und zeigte in diesen Fällen eine schwach ausgeprägte Pathologie. Die Pars compacta konnte von der Pars reticularis nicht sicher differenziert werden.

Ein Areal der Fossa interpeduncularis mesencephali, die dem Nucleus interpeduncularis zugeordnet wurde, war lediglich bei einem zwei Monate alten Tier abgebildet und war in diesem Fall von einer schwach ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen.

Das pontine Grau war ebenfalls nur vereinzelt abgebildet. Bei einem Tier im Alter von zwei Monaten war eine PK-resistente Färbung von schwacher Intensität zu beobachten.

Ein schmales, longitudinales, unmittelbar an den Tractus spinalis nervi trigemini angrenzendes Areal des Nucleus spinalis nervi trigemini zeigte, übereinstimmend mit den Tieren der Linie *A53T*, eine schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Pathologie.

Im Unterschied zur Mauslinie *A53T* zeigte der Großteil des Cortex cerebelli ein charakteristisches Muster, das dem dreischichtigen Aufbau des Cortex cerebelli am ehesten wie folgt zugeordnet werden. Das Stratum moleculare zeigte eine feingranuläre, diffusimponierende, hell-violette bis hellgraue Färbung von schwacher Intensität. Das Stratum granulosum sowie das Stratum purkinjense waren nicht betroffen. Der Flocculus, Paraflocculus sowie Nodulus cerebelli hoben sich allerdings durch eine in Relation fortgeschrittene SNCA-Pathologie von den übrigen cerebellären Strukturen ab.

Neben dem Cingulum und den Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels zeigte die Comissura anterior nervi olfactorii bei Tieren der Linie *SNCAwt* einzelne, feine, als distinkte Strukturen gerade so zu erkennende SNCA-Aggregate von schwacher Intensität.

Die folgenden Strukturen waren nicht oder nur unregelmäßig auf den Schnittebene abgebildet und konnten daher nicht bewertet werden: Nucleus interpeduncularis, Myelon inklusive Substantia gelatinosa, Uvula cerebelli, Tractus mamillothalamicus.

Tiefer gelegene Rindenschichten/die kortikale Subplatte konnten nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurden daher nicht gesondert betrachtet.

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 22.

Abbildung 13.1 – 13.8 zeigt eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse. Abbildung 14.1 – 14.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

							Ø
Fallnummer	75	76	77	81	82	83	
Alter in Monaten	1	1	1	2	2	2	
Geschlecht	W	W	m	W	W	m	
Anatomische Struktur 🕠							
Bulbus olfactorius	++	++	+++	/	/	/	++
Glomeruli olfactorii	+++	+++	++++	/	/	/	+++
Nucleus olfactorius anterior	+++	+++	/	+++	++	++	+++
Bulbus olfactorius accessorius	-	-	/	/	/	/	-
Stratum glomerulosum	+++	+++	/	/	/	/	+++
Area piriformis	+	++	/	++	++	++	++
Taenia tecta	/	/	/	++	+++	++	++
Olfaktorischer Cortex	+	+	/	++	++	++	++
Isocortex	++	+++	++	++	++	++	++
Hippocampus-Region	++	++	++	++	++	+++	++
Gyrus dentatus	+++	++++	+++	+++	+++	++++	+++
Cornu ammonis	+++	++++	+++	+++	+++	++++	+++
Retrohippocampale Region	++	+++	++	++	++	+++	++
Dorsales Striatum/Caudoputamen	+	++	++	++	++	++	++
Ventrales Striatum	+	++	/	++	++	++	++
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	+++	+++	/	+++	+++	+++	+++
Ventrales Pallidum	-	-	/	-	-	-	-
Mediales Pallidum	-	/	/	/	/	-	-
Dorsales Pallidum	/	+	+	/	-	/	+
Kaudales Pallidum	+	++	/	+	+	+	+
Amygdala	/	++	+	++	++	++	++
Thalamus	++	++++	+++	++	++	+++	+++
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 22: Tabellarische Einzelauswertung – SNCAwt, junge und adoleszente Tiere

							Ø
Fallnummer	75	76	77	81	82	83	
Alter in Monaten	1	1	1	2	2	2	
Geschlecht	W	W	m	W	W	m	
Anatomische Struktur							
Corpus mamillare hypothalami	-	+	/	+	-	+	+
Nucleus ventromedialis hypothalami	/	+	+	/	-	/	+
Mesencephalon	-	-	-	-	-	-	-
Substantia nigra	/	/	/	+	+	+	+
Nucleus interpeduncularis	/	/	/	/	/	+	[+]
Nucleus tegmentalis ventralis	+++	+++	/	/	/	/	+++
Pons	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	/	/	/	-	/	+	+
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	-	++	++	+	/	/	+
Myelon	/	/	-	/	/	/	/
Substantia gelatinosa	/	/	/	/	/	/	/
Cerebellum	+	+	++	++	-	+	+
Nodulus	/	/	/	+++	/	++++	++++
Uvula	/	++	/	/	/	/	[++]
Flocculus / Paraflocculus	+	++	++	/	++	+	++
Cingulum	-	+	+	+	+	++	+
Fimbrien	+	+	+	+	+	++	+
Commissura anterior nervi olfactorii	-	+	-	+	/	-	-

							Ø					
Fallnummer	75	76	77	81	82	83						
Alter in Monaten	1	1	1	2	2	2						
Geschlecht	W	W	m	W	W	m						
Anatomische Struktur 🗸												
Capsula interna	/	-	-	-	/	-	-					
Tractus mammillothalamicus	/	/	/	-	/	/	[-]					

Legende zu Tabelle 21: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).

во

Abbildung 13.1

С



Abbildung 13.2



а

Abbildung 13.3

Abbildung 13.4

Abbildung 13.1 - 13.8: Graphische Auswertung - SNCAwt, junge und adoleszente Tiere



Abbildung 13.1 - 13.8: Graphische Auswertung - SNCAwt, junge und adoleszente Tiere (Teil 2)

Abbildung 13.1 – 13.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 – 8 junger und adoleszenter Tiere der humantransgenen Mauslinie *SNCAwt*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCApositiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 13.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze c markiert den Nervus olfactorius.

Abbildung 13.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze b markiert die Lamina eins des Nucleus olfactorius anterior.

Abbildung 13.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 13.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis (Hippocampus-Region). Die Pfeilspitze c markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze d markiert den Nucleus reticularis hypothalami. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus ventromedialis hypothalami. Die Pfeilspitze f markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels.

Abbildung 13.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte. Die Pfeilspitze markiert das Corpus mamillare hypothalami.

Abbildung 13.6: Schnitteben auf Höhe von der Vierhügelplatte.

Abbildung 13.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 13.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare des Cortex cerebelli. Die Pfeilspitze b markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.





Abbildung 14.1



b c



Abbildung 14.3

Abbildung 14.4



Abbildung 14.5

Abbildung 14.6

Abbildung 14.1 – 14.6: Exemplarische Fotoausschnitte – SNCAwt, junge und adoleszente Tiere

400 µm

UVU
Abbildung 14.1 – 14.6 zeigt Fotoausschnitte junger und adoleszenter Tiere der Linie SNCAwt, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 14.1 zeigt den Bulbus olfactorius, den Bulbus olfactorius accessorius sowie den Nucleus olfactorius anterior eines Tieres im Alter von einem Monat (Fallnummer 75) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius accessorius. Die Pfeilspitze b markiert den Nervus olfactorius. Die Pfeilspitze c markiert das Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze d markiert die Mitralzellschicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus olfactorius anterior. Die Glomeruli olfactorii zeigen grobe, dunkelviolette SNCA-Aggregate. Der Nucleus olfactorius anterior ist von einer stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Maßstab 1:16.

Abbildung 14.2 zeigt den lateral-septalen Komplex (markiert mit Pfeilspitze a) sowie den dorsalen Anteil (Caudoputamen; markiert mit Pfeilspitze b) des Striatums eines Tieres im Alter von einem Monat (Fallnummer 76) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Der lateral-septale Komplex ist durchschnittlich stark, das Caudoputamen mäßig betroffen Maßstab 1:20.

Abbildung 14.3 zeigt die Hippocampus-Region (markiert mit Pfeilspitze a), Teile des Thalamus (markiert mit Pfeilspitze a) sowie die Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels (markiert mit Pfeilspitze b) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Ausgewählte Areale der Hippocampus-Region sind von einer sehr stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Der Thalamus zeigt mutmaßlich pathologischassoziierte Veränderungen von ebenfalls sehr starker Ausprägung. Die Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels zeigen gröbere SNCA-Aggregate von geringer Dichte und insgesamt schwacher Ausprägung. Maßstab 1:16.

Abbildung 14.4 zeigt den Cortex cerebelli eines Tieres im Alter von einem Monat (Fallnummer 76) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert markiert das Stratum moleculare. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum granulosum. Die Pfeilpsitze c markiert den Arbor vitae. Der Cortex cerebelli zeigt in seiner Gesamtheit PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen in schwacher Ausprägung. Die Uvula cerebelli (UVU) zeigt eine Färbung mäßiger Intensität. Maßstab 1:25.

Abbildung 14.5 die Medulla oblongata sowie das Myelon eines Tieres im Alter von einem Monat (Fallnummer 77) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini. Es zeigen sich PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von mäßiger Ausprägung. Pfeilspitze b markiert das Myelon. Maßstab 1:25.

Abbildung 14.6 zeigt einen Ausschnitt der Medulla oblongata eines zwei Monate alten Tieres (Fallnummer 81) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini, der in einem Areal angrenzend an den Tractus spinalis nervi trigemini von einer schwach ausgeprägten SNCA-Pathologie involviert ist. Maßstab 1:50.

3.2.2 Erwachsene Tiere

Von jungen und adoleszenten zu erwachsenen Tieren im Alter von drei Monaten war lediglich ein geringer Progress der SNCA-Pathologie im Bereich von bereits bei jüngeren Tieren involvierten Strukturen zu beobachten. Eine weitere topographische Expansion war nicht festzustellen. Eine Auswahl neuroanatomischer Strukturen zeigte im Vergleich zu jungen und adoleszenten Tieren die folgenden Besonderheiten:

Im Bereich des Isocortex resultierte bei durchschnittlich mäßig ausgeprägter SNCA-Aggregation ein charakteristisches Ablagerungsmuster, das dem sechsschichtigen Aufbau am ehesten wie folgt zugeordnet werden konnte. Im Bereich motorischer, sensorischer, visueller sowie auditiver Areale hoben sich neben den Laminae vier und sechs auch die Laminae eins und fünf durch eine intensive Färbung ab. Die Laminae zwei und drei waren nicht betroffen. Im Bereich medialer sowie temporaler Cortexabschnitte resultierte ein mit jüngeren Tieren übereinstimmendes Ablagerungsmuster von mäßiger Intensität.

Im Bereich des Cortex cerebelli hoben sich die Uvula, der Flocculus, der Paraflocculus sowie der Nodulus cerebelli durch eine in Relation fortgeschrittene Pathologie deutlich hervor. Im restlichen Cortex ergab eine durchschnittlich schwach ausgeprägte PK-resistente SNCA-Aggregation ein mit jungen und adoleszenten Tieren übereinstimmende dreischichtige Färbung.

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten ein hinsichtlich des Ausprägungsgrades PKresistenter, SNCA-positiver Ablagerungen mit jungen und adoleszenten Tieren weitestgehend übereinstimmendes Ergebnis: Bulbus olfactorius, Bulbus olfactorius accessorius, Nucleus olfactorius anterior, Area piriformis, olfaktorischer Cortex, ventrales Striatum, dorsales Pallidum/Globus pallidus, kaudales Pallidum, striatum-ähniches Kerngebiet der Amygdala, Thalamus, Hypothalamus; Substantia nigra, pontines Grau, Nucleus spinalis nervi trigemini.

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten einen leichten Progress der SNCA-Pathologie bei sonst übereinstimmenden Ergebnissen: Hippocampus-Region, retrohippocampale Region, dorsales Striatum/Caudoputamen, lateral-septaler Komplex des Striatums, Nucleus interpeduncularis mesencephali.

Strukturen der weißen Substanz waren bei Tieren im Alter von drei Monaten nicht betroffen.

Da sechs Monate alte Tiere ein weiteres Fortschreiten der SNCA-Pathologie zeigten, wurden sie differenziert von Tieren im Alter von drei Monaten betrachtet. Eine topographische Expansion auf zuvor nicht involvierte Areale war dagegen nicht zu beobachten.

Im Bereich des Bulbus olfactorius zeigten das Stratum granulosum sowie das Stratum glomerulosum eine durchschnittlich stark ausgeprägte Färbung. Die äußere plexiforme

Schicht war in Relation schwächer betroffen. Im Bereich der Glomeruli olfactorii waren regelmäßig gröbste, dunkel- bis schwarz-violette, dicht gelagerte SNCA-Aggregate festzustellen.

Im Bereich des Gyrus dentatus waren das Stratum multiforme sowie ein schmales Areal im Bereich des Stratum moleculare unmittelbar angrenzend an das Stratum granulosum durch grobe, dunkel- bis schwarz-violette, dicht gelagerte SNCA-Aggregate gekennzeichnet. Ebenso zeigte das Stratum ludicum des Cornu ammonis eine sehr stark ausgeprägte Pathologie.

Striatale Strukturen waren durchschnittlich von einer stark ausgeprägten SNCA-Aggregation betroffen. Vereinzelt hoben sich im Bereich des lateral-septalen Komplexes solche Bereiche ab, die an das Ventrikelsystem grenzten.

Die Thalamuskerne zeigten ein mit jungen und adoleszenten Tieren übereinstimmendes Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen bei im Einzelnen leicht fortgeschrittener SNCA-Aggregation.

Die Substantia nigra und des Nucleus interpeduncularis zeigten erstmalig pathologischassoziierte Veränderungen von maximal starker Ausprägung.

Der Flocculus, Paraflocculus, Nodulus sowie die Uvula cerebelli hoben sich durch eine im Vergleich fortgeschrittene Pathologie deutlich vom insgesamt schwach betroffenen restlichen cerebellären Cortex ab.

Die Fimbrien sowie das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels zeigten zahlreiche grobe, intensiv dunkel- bis schwarz-violett gefärbte SNCA-Aggregate.

Die Area piriformis, der olfaktorische Cortex, der Isocortex, die retrohippocampale Region und das dorsale Pallidum zeigten in Relation zu jüngeren Tieren einen Progress der PKresistenten Proteinablagerungen.

Der Bulbus olfactorius accessorius, das striatum-ähnliche Kerngebiete der Amygdala, der Hypothalamus, das kaudale Pallidum, das pontine Grau sowie der Nucleus spinalis nervi trigemini zeigten im Vergleich zu jüngeren Tieren keine fortschreitende Pathologie.

Die folgenden Strukturen waren nicht oder nur unregelmäßig auf den Schnittebene abgebildet und konnten daher nicht bewertet werden: Taenia tecta, Nucleus tegmentalis ventralis, Substantia gelatinosa (Myelon).

Tiefer gelegene Rindenschichten/die kortikale Subplatte konnte nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurde daher nicht gesondert betrachtet. Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 23.

Abbildung 15.1 – 15.8 zeigt eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse.

Abbildung 16.1 – 16.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

							Ø
Fallnummer	88	89	90	93	94	95	
Alter in Monaten	3	3	3	6	6	6	
Geschlecht	m	m	m	W	W	m	
Anatomische Struktur 🎝							
Bulbus olfactorius	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Glomeruli olfactorii	/	+++	/	++++	/	+++	+++
Nucleus olfactorius anterior	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bulbus olfactorius accessorius	ī	-	-	/	/	-	-
Stratum glomerulosum	+++	+++	+++	/	/	+++	+++
Area piriformis	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Taenia tecta	/	/	/	/	/	/	/
Olfaktorischer Cortex	++	++	++	+++	++	+++	++
Isocortex	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Hippocampus-Region	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Gyrus dentatus	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Cornu ammonis	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Retrohippocampale Region	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Dorsales Striatum/Caudoputamen	+	++	+++	+++	+++3	+++	+++
Ventrales Striatum	/	+	/	+++	+++	+++	+++
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	+++	++++	++++	/	+++3	++++	++++
Ventrales Pallidum	/	-	-	-	-	-	-
Mediales Pallidum	-	-	-	-	-	-	-
Dorsales Pallidum	/	+	+	++	/	++	++
Kaudales Pallidum	+	/	+	+	+	++	+
Amygdala	++	+	+	++	++	++	++
Thalamus	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle 23: Tabellarische Einzelauswertung – SNCAwt, erwachsene Tiere

³ In einem unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzenden Areal des dorsalen Striatums/Caudoputamens einerseits sowie lateral-septalen Komplexes des Striatums andererseits waren PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von in Relation fortgeschrittener Ausprägung festzustellen.

							Ø
Fallnummer	88	89	90	93	94	95	
Alter in Monaten	3	3	3	6	6	6	
Geschlecht	m	m	m	w	W	m	
Anatomische Struktur							
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	-
Corpus mamillare hypothalami	-	-	+	+	+	+	+
Nucleus ventromedialis hypothalamis	/	+	/	+	/	+	+
Mesencephalon	-	-	-	-	-	-	-
Substantia nigra	+	/	+	+++	++	+++	++
Nucleus interpeduncularis	/	/	-	/	+++	++	+++
Nucleus tegmentalis ventralis	/	/	/	/	/	/	/
Pons	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	/	/	/	/	/	+	[+]
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	ŀ
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	/	-	-	/	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	/	+	+	/	+	-	+
Myelon	/	/	/	/	/	/	/
Substantia gelatinosa	/	/	/	/	/	/	/
Cerebellum	+	+	-	++	+++	+	+
Nodulus	+++	/	+++	/	/	/	+++
Uvula	+++	/	/	++++	+++	+++	+++
Flocculus/Paraflocculus	+	++	-	+	+++	/	+++
Cingulum	-	-	-	++	++	++	++
Fimbrien	-	/	/	++	++	++	++
Commissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	-	-	-
Capsula interna	-	-	-	/	-	-	-
Tractus mamillothalamicus	/	-	-	-	-	-	-

Legende zu Tabelle 23: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).



Abbildung 15.3

Abbildung 15.4





Abbildung 15.1 - 15.8: Graphische Auswertung - SNCAwt, erwachsene Tiere (Teil 2)

Abbildung 15.1 – 15.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 – 8 erwachsener Tiere (3 – 6 Monate) der human-transgenen Mauslinie *SNCAwt*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.6.

Abbildung 15.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b markiert die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 15.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b markiert die Lamina eins des Nucleus olfactorius anterior. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 15.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 15.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze c markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze d markiert den Nucleus reticularis hypothalami. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus ventromedialis hypothalami. Die Pfeilspitze f markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels.

Abbildung 15.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte. Die Pfeilspitze a markiert den Nucleus interpeduncularis mesencephali. Die Pfeilspitze b markiert das Corpus mamillare hypothalami.

Abbildung 15.6: Schnitteben auf Höhe von der Vierhügelplatte.

Abbildung 15.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 15.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.



Abbildung 16.1



Abbildung 16.2



Abbildung 16.3



Abbildung 16.4



Abbildung 16.5



Abbildung 16.6

Abbildung 16.1 – 16.6: Exemplarische Fotoausschnitte – SNCAwt, erwachsene Tiere

Abbildung 16.1 – 16.6 zeigt Fotoausschnitte erwachsener Tiere der Linie SNCAwt, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 16.1 zeigt die charakteristische Färbung des sechsschichtigen Aufbaus des Isocortex eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 95) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Laminae 1 – 6 sind mit den entsprechenden Ziffern markiert. Der Isocortex zeigte PK-resistente, SNCApositive Ablagerungen von starker Ausprägung. Die Pfeilspitze a markiert das Corpus callosum. Die Pfeilspitze b markiert das dorsale Striatum/Caudoputamen. Maßstab 1:25.

Abbildung 16.2 zeigt den Thalamus eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 95) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die nachfolgenden Thalamuskerngebiete sind wie folgt markiert: a – mediale Gruppe des dorsalen Thalamus, b – anteriore Gruppe des dorsalen Thalamus, c – intralaminare Gruppe des dorsalen Thalamus, d – ventrale Gruppe des dorsalen Thalamus, e – mediane Gruppe des dorsalen Thalamus, f – Epithalamus, g – Nucleus reticularis hypothalami, h – Capsula interna. Der Thalamus in seiner Gesamtheit zeigte PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von durchschnittlich starker Ausprägung. Die Pfeilspitze markiert den Tractus mamillothalamicus. Maßstab 1:12,5.

Abbildung 16.3 die Hippocampus-Region eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 95) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert die Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels. Es zeigten sich PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von mäßiger Ausprägung. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze c markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus. Die Pfeilspitze d markiert ein schmales, bandförmiges Areal im Bereich des Stratum moleculare angrenzend an das Stratum granulosum des Gyrus dentatus. Die Hippocampus-Region zeigte eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Pathologie. Maßstab 1:25.

Abbildung 16.4 zeigt Teile des Mesencephalons, des Thalamus, der Hippocampus-Region sowie des Isocortex eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 93) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert den Thalamus. Die Pfeilspitze b markiert die Substantia nigra. Die Substantia nigra war von einer stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Maßstab: 1:12,5.

Abbildung 16.5 zeigt den Cortex cerebelli eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 94) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum granulosum. Der Cortex cerebelli zeigte eine spezifische Färbung von schwacher Ausprägung. Im Bereich der Uvula cerebelli (markiert mit UVU) waren durchschnittlich von einer stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Maßstab 1:10.

Abbildung 16.6 zeigt die Hippocampus-Region eines sechs Monate alten Tieres (Fallnummer 93) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus. Die Pfeilspitze c markiert ein schmales, bandförmiges Areal im Bereich des Stratum moleculare angrenzend an das Stratum granulosum des Gyrus dentatus. Die Hippocampus-Region zeigte eine maximal sehr stark ausgeprägte Färbung einzelner Schichten. Maßstab 1:25.

3.2.3 Tiere mittleren Alters

Von erwachsenen Tieren im Alter von sechs Monaten zu Tieren mittleren Alters (10-15 Monate) war eine schwache Progression der SNCA-Pathologie in Form einer Zunahme der Aggregatgröße und -dichte in bereits zuvor involvierten Arealen einerseits sowie einer weiteren topographischen Expansion andererseits der zu beobachten.

Die Taenia tecta war nur unregelmäßig auf den Schnittebene abgebildet. In diesen Fällen zeigten sich allerdings eine mäßig bis stark ausgeprägte PK-resistente SNCA-Aggregation.

Im Bereich des Stratum moleculare und des Stratum multiforme des Gryus dentatus sowie im Bereich des Stratum lucidum des Cornu ammonis manifestierte sich die maximale Ausprägung der bei Zusammenschau aller Tiere zu beobachtenden SNCA-Pathologie.

Das dorsale Striatum/Caudoputamen und der lateral-septale Komplex des Striatums waren durchschnittlich von einer stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen wobei sich erneut solche Areale in Form einer in Relation fortgeschrittenen Pathologie deutlich abhoben, die unmittelbar an den lateralen Ventrikel angrenzten.

Das kaudale Pallidum war lediglich bei einem Tier im Alter von zehn Monaten auf den Schnittebenen abgebildet und zeigte in diesem Fall eine mäßige ausgeprägte Färbung.

Die Substantia nigra zeigte vereinzelt eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Aggregation.

Der Nucleus interpeduncularis mesencephali war durch durchschnittlich von einer stark ausgeprägten Pathologie betroffen, wobei die Ergebnisse im Einzelnen nur unwesentlich von denen der erwachsenen Tiere abwichen.

Ein weiteres umschriebenes Areal im Bereich des Mesencephalons, das am ehesten dem Nucleus tegmentalis ventralis mesencephali zugeordnet werden konnte, war lediglich bei einem Tier im Alter von 13 Monaten auf den Schnittebenen abgebildet. In diesem Fall waren PK-resistente SNCA-Ablagerungen mäßiger Ausprägung zu beobachten. Da der Kern bei keinem der erwachsenen Tiere abgebildet war, war nur ein Vergleich mit den Ergebnissen der jungen und adoleszenten Tiere möglich. Diese zeigten im Bereich der Nucleus in zwei Fällen eine stark ausgeprägte SNCA-Pathologie.

Im Bereich des pontinen Graus waren mutmaßlich pathologisch-assoziierte Veränderungen von mäßiger Ausprägung zu beobachten. Da das pontine Grau bei erwachsenen Tieren nur in einem Fall abgebildet war, war eine vergleichende Betrachtung nicht möglich.

Im Bereich der Fossa rhomboidea zeigte ein umschriebenes Areal in unmittelbarer Nähe zum zentralen Liquorkanal regelmäßig eine schwach bis mäßig ausgeprägte Färbung. Die Färbung involvierte am ehesten den Nucleus tractus solitarii und/oder den motorischen Hirnnervenkern des Nervus vagus. Eine exakte Differenzierung beider Kerngebiete voneinander und vom umliegenden Gewebe war nicht zweifelsfrei möglich. Im Bereich des Cortex cerebelli hoben sich die Uvula, der Nodulus sowie der Flocculus/Paraflocculus cerebelli in Form einer dunkelvioletten, dichten, freingranulären Färbung deutlich vom den restlichen cerebellären Strukturen ab. Es resultierte eine charakteristische Färbung des dreischichten cerebellären Cortex, die mit den Ergebnissen der jüngeren Tiere übereinstimmte.

Im Bereich des medialen Vorderhirnbündels zeigten die Fimbrien erstmalig grobgranuläre Färbung von maximal sehr starker Ausprägung.

Im Bereich der Capsula interna war bei einem Tier im Alter von 13 Monaten erstmalig eine schwach ausgeprägte SNCA-Aggregation zu beobachten, wobei auch hier eine sichere Differenzierung vom angrenzenden dorsalen Pallidum nicht sicher möglich war.

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten ein hinsichtlich des Ausprägungsgrades PKresistenter, SNCA-positiver Ablagerungen mit erwachsenen Tiere (3 – 6 Monate) weitestgehend übereinstimmendes Ergebnis: Bulbus olfactorius, Bulbus olfactorius accessorius, Nucleus olfactorius anterior, Area piriformis, Isocortex, retrohippocampale Region, ventrales Striatum, striatum-ähnliches Kerngebiet der Amygdala, dorsales Pallidum, Thalamus, Nucleus spinalis nervi trigemini.

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten eine leichte Progression der SNCA-Pathologie: Olfaktorischer Cortex, Corpus mamillare hypothalami, Nucleus ventromedialis hypothalami.

Tiefer gelegene Rindenschichten/ die kortikale Subplatte konnte nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurde daher nicht gesondert betrachtet werden.

Die Substantia gelatinosa war nicht den Schnittebene abgebildet und konnte daher nicht bewertet werden

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 24.

Abbildung 17.1 – 17.8 zeigt eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse.

Abbildung 18.1 – 18.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

										Ø
Fallnummer	99	100	101	104	105	106	107	108	109	
Alter in Monaten	10	10	10	13	13	13	15	15	15	
Geschlecht	w	w	m	w	W	m	w	w	m	
Anatomische Struktur 🚶										
Bulbus olfactorius	+++	+++	+++	+++	/	/	+++	+++	+++	+++
Glomeruli olfactorii	+++	+++	+++ +	+++	/	/	+++	+++	+++ +	+++
Nucleus olfactorius anterior	+++	+++	++	/	/	+++	++	/	+++	+++
Bulbus olfactorius accessorius	-	/	/	/	/	/	/	/	/	[-]
Stratum glomerulosum	++	/	/	/	/	/	/	/	/	[++]
Area piriformis	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
Taenia tecta	/	/	++	/	/	/	+++	/	/	+++
Olfaktorischer Cortex	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++
Isocortex	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
Hippocampus-Region	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Gyrus dentatus	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Cornu ammonis	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++ +
Retrohippocampale Region	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Dorsales Striatum/Caudoputamen	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	+++
Ventrales Striatum	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	++	+++
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	+++ 4	/	/	+++	+++ 4	+++ +	/	++	+++ 4	+++
Ventrales Pallidum	-	-	/	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 24: Tabellarische Einzelauswertung – SNCAwt, Tieren mittleren Alters

⁴ In einem unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzenden Areal des dorsalen Striatums/Caudoputamens einerseits sowie lateral-septalen Komplexes des Striatums andererseits waren PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von in Relation fortgeschrittener Ausprägung festzustellen.

										Ø
Fallnummer	99	100	101	104	105	106	107	108	109	
Alter in Monaten	10	10	10	13	13	13	15	15	15	
Geschlecht	W	W	m	W	W	m	W	W	m	
Anatomische Struktur 🚶										
Mediales Pallidum	-	/	/	-	_	-	_	-	/	-
Dorsales Pallidum	++	/	+	/	/	/	++	++	+	++
Kaudales Pallidum	/	++	/	/	/	/	/	/	/	[++]
Amygdala	+	+++	+	++	++	/	++	++	+	++
Thalamus	+++ +	+++	+++	+++	+++	+++ +	+++	+++	+++	+++
Hypothalamus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Corpus mamillare hypotahalami	+	+	/	++	/	++	++	++	+	++
Nucleus ventromedialis hypothalami	/	/	+	/	/	++	/	+	++	++
Mesencephalon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substantia nigra	+	+++	++	+++	+++ +	/	++	/	+	++
Nucleus interpeduncularis	/	+++	+++	+++	++	/	/	/	++	+++
Nucleus tegmentalis ventralis	/	/	/	++	/	/	/	/	/	[++]
Pons	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	/	/	/	+	+++	+	/	++	/	++
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	+	+	+	-	++	-	-	-	+
Nucleus spinalis nervi trigemini	+	+	+	/	/	/	/	/	/	+
Myelon	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Substantia gelatinosa	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

										Ø
Fallnummer	99	100	101	104	105	106	107	108	109	
Alter in Monaten	10	10	10	13	13	13	15	15	15	
Geschlecht	w	w	m	w	w	m	W	w	m	
Anatomische Struktur 🚶										
Cerebellum	++	++	-	+++ +	+++ +	++	+	+	++	++
Nodulus	/	+++ +	/	+++ +	/	/	-	+++ +	/	+++ +
Uvula	/	+++ +	/	/	+++ +	/	/	/	+++	+++ +
Flocculus / Paraflocculus	/	++	++	/	+++ +	++	+	+	+++	++
Cingulum (mediales Vorderhirnbündel)	++	/	++	++	++	++	-	+	+	++
Fimbrien (mediales Vordernhirnbündel)	++	++	++	+++ +	+++ +	+++	++	+	++	++
Comissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Capsula interna	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Tractus mamillothalamicus	-	/	-	-	/	/	-	-	-	-

Legende zu Tabelle 24: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).



Abbildung 17.3

Abbildung 17.4

Abbildung 17.1 – 17.8: Graphische Auswertung – SNCAwt, Tiere mittleren Alters



Abbildung 17.7

Abbildung 17.8

Abbildung 17.1 – 17.8: Graphische Auswertung – SNCAwt, Tiere mittleren Alters (Teil 2)

Abbildung 17.1 – 17.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 – 8 von Tieren mittleren Alters (10 – 15 Monate) der human-transgenen Mauslinie *SNCAwt*. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 17.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 17.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b markiert die Lamina eins des Nucleus olfactorius anterior. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 17.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 17.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze c markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze d markiert den Nucleus reticularis hypothalami. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus ventromedialis hypothalami. Die Pfeilspitze f markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels.

Abbildung 17.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte. Die Pfeilspitze a markiert den Nucleus interpeduncularis mesencephali. Die Pfeilspitze b markiert das Corpus mamillare hypothalami.

Abbildung 17.6: Schnitteben auf Höhe von der Vierhügelplatte.

Abbildung 17.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 17.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.



Abbildung 18.1



Abbildung 18.2



Abbildung 18.3



Abbildung 18.4



Abbildung 18.5



Abbildung 18.6



Abbildung 18.1 zeigt den Cortex cerebelli eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 105) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum moleculare. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum granulosum. Der Cortex cerebelli zeigte in seiner Gesamtheit eine spezifische Färbung von sehr starker Ausprägung. Maßstab 1:20.

Abbildung 18.2 zeigt den Cortex cerebelli eines zehn Monate alten Tieres (Fallnummer 100) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Der Cortex cerebelli war in seiner Gesamtheit von einer mäßig ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Die Uvula cerebelli (UVU) hob durch eine in Relation leicht fortgeschrittene SNCA-Pathologie von dem restlichen cerebellären Cortex ab. Maßstab 1:4.

Abbildung 18.3 zeigt das Mesencephalon sowie kaudale Anteile der Hippocampus-Region eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 105) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert die Substantia nigra. Sie zeigte PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von sehr starker Ausprägung. Die Pfeilspitze b markiert die Hippocampus-Region, die eine stark ausgeprägte SNCA-Pathologie aufwies. Maßstab 1:25.

Abbildung 18.4 zeigt die Medulla oblongata eines zehn Monate alten Tieres (Fallnummer 100) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini. Es zeigten sich mutmaßlich pathologisch-assoziierte SNCA-Ablagerungen von schwacher Ausprägung. Maßstab: 1:4.

Abbildung 18.5 zeigt einen Ausschnitt der Medulla oblongata in unmittelbarer Nähe zum Liquorkanal (markiert mit der Pfeilspitze a) eines zehn Monate alten Tieres (Fallnummer 100) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze b markiert ein Areal welches am ehesten dem Nucleus dorsalis nervi vagi und/oder dem Nucleus tractus solitarii entsprach und eine schwach ausgeprägte SNCA-Pathologie aufwies. Eine exakte Differenzierung der Kerngebiete voneinander sowie von der näheren Umgebung war nicht zweifelsfrei möglich. Maßstab 1:16.

Abbildung 18.6 zeigt Teile des dorsalen Striatums/Caudoputamens (CP), des Corpus callosums (cc) sowie der Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels (fi) eines 13 Monate alten Tieres (Fallnummer 104 unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Gegenübergestellt sind Unterschiede der Ablagerungsmuster der grauen und der weißen Substanz. Das dorsale Striatum/Caudoputamen zeigte PK-resistente SNCA-Ablagerungen von mäßiger Ausprägung. Die Fimbrien zeigten eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Aggregation. Maßstab 1:40.

3.2.4 Alte Tiere

Von Tieren mittleren Alters zu alten Tieren (18 – 24 Monate) war im Bereich der grauen Substanz keine weitere Progression der SNCA-Pathologie zu beobachten. Im Bereich der weißen Substanz war dagegen neben einer Zunahme der SNCA-Aggregation in bereits zuvor involvierten Arealen eine weitere topographische Expansion festzustellen.

Im Bereich des Stratum moleculare und Stratum multiforme des Gyrus dentatus sowie im Bereich des Stratum lucidum des Cornu ammonis war erneut eine durchschnittlich sehr stark ausgeprägte SNCA-Pathologie zu beobachten.

Der kaudodorsale Anteil des lateral-septalen Komplexes war durch eine stark ausgeprägte SNCA-Aggregation gekennzeichnet.

Im Bereich der dorsalen Striatums/Caudoputamen zeigte erneut ein unmittelbar an den lateralen Ventrikel angrenzendes Areal eine maximal sehr stark ausgeprägte Pathologie.

Im Bereich des dorsalen Pallidums/Globus pallidus manifestierten sich bei einzelnen Tieren erstmalig PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von starker Ausprägung.

Das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels zeigte erstmalig bei einem Tier im Alter von 24 Monaten eine stark ausgeprägte SNCA-Aggregation.

Die Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels zeigten ab einem Alter von 21 Monaten regelmäßig eine stark bis sehr stark ausgeprägte SNCA-Aggregation.

Im Bereich der Comissura anterior nervi olfactorii konnten bei einem Tier im Alter von 24 Monaten fraglich PK-resistente SNCA-Ablagerungen von mäßiger Ausprägung beobachtet werden.

Die Capsula interna zeigte bei Tieren im Alter von 24 Monaten wiederholt eine mäßig ausgeprägte SNCA-Aggregation (eine Differenzierung vom dorsalen Pallidum war erneut nicht sicher möglich).

Zudem konnte im Bereich des Tractus mamillothalamicus bei Tieren im Alter von 24 Monaten regelmäßig eine mäßig bis stark ausgeprägte SNCA-Aggregation festgestellt werden.

Die folgenden anatomischen Strukturen zeigten ein mit den Tieren mittleren Alters übereinstimmendes Ergebnis: Bulbus olfactorius, Bulbus olfactorius accessorius, Nucleus olfactorius anterior, Taenia tecta, olfaktorischer Cortex, Area piriformis, Isocortex, retrohippocampale Region, ventrales Striatum, striatum-ähnliches Kerngebiet der Amygdala, dorsales Pallidum, kaudales Pallidum, Thalamus, Corpus mamillare hypothalami, Nucleus ventromedialis hypothalami, Substantia nigra, Nucleus interpeduncularis mesencephali, Nucleus tegmentalis ventralis mesencephali, pontines Grau, Nucleus dorsalis nervi vagi/Nucleus tractus solitarii, Cerebellum.

Im Bereich der nachfolgenden Strukturen waren in Zusammenschau aller Ergebnisse mit Tieren mittleren Alters übereinstimmende Ergebnisse festzustellen: Area piriformis, Isocortex.

Tiefer gelegene Rindenschichten/ die kortikale Subplatte konnte nicht zweifelsfrei von umliegenden Rindenarealen differenziert werden und wurde daher nicht gesondert betrachtet.

Die übrigen abgebildeten Strukturen der grauen und weißen Substanz zeigten keine Auffälligkeiten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 25.

Abbildung 19.1 – 19.8 zeigt eine graphische Übersichtsdarstellung der Ergebnisse.

Abbildung 20.1 – 20.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 21.1 – 21.6 zeigt eine Übersichtsdarstellung des Musters PK-resistenter, SNCApositiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie *SNCAwt* im Alter von 10 – 24 Monaten.

Fallnummer	115	116	117	123	124	131	218	219	220	
Alter in Monaten	18	18	18	21	21	21	24	24	24	
Geschlecht	w	w	m	w	w	m	m	m	W	
Anatomische Struktur 🚶				-	-	-				
Bulbus olfactorius	/	/	/	+++	+++	/	++	/	++	+++
Glomeruli olfactorii	/	/	/	+++ +	+++	/	+++	/	/	+++
Nucleus olfactorius anterior	++	++	+	/	+++	+++	/	+++	++	++
Bulbus olfactorius accessorius	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Stratum glomerulosum	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Area piriformis	+	++	+	+++ +	+++	+++	+	++	+	++
Taenia tecta	+++ +	+++	++	/	/	+++	/	/	/	+++
Olfaktorischer Cortex	+++	++	+	+++	+++	++	++	+	++	++
Isocortex	+++	+++	++	+++ +	+++	+++	++	++	++	+++
Hippocampus-Region	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Gyrus dentatus	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++	+++ +	+++ +	+++ +
Cornu ammonis	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++	+++ +	+++ +	+++ +
Retrohippocampale Region	++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++
Dorsales Striatum/Caudoputamen	+++	+++	+++	+++ +	+++	+++	+	++	++	+++
Ventrales Striatum	+++	++	+	+++	+++	+++	+	++	++	++

⁵ In einem unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzenden Areal des dorsalen Striatums/Caudoputamens PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von in Relation fortgeschrittener Ausprägung festzustellen.

Ø

										Ø
Fallnummer	115	116	117	123	124	131	218	219	220	
Alter in Monaten	18	18	18	21	21	21	24	24	24	
Geschlecht	w	W	m	w	W	m	m	m	W	
Anatomische Struktur 🚶										
Lateral-septaler Komplex (Striatum)	/	+++ 6	+++ 6	$^{+++}_{+^6}$	$^{+++}_{+^6}$	/	++6	+++ 6	+++ +	+++
Ventrales Pallidum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mediales Pallidum	/	/	-	-	-	/	-	/	-	-
Dorsales Pallidum	/	++	/	+++	/	+++	/	++	/	+++
Kaudales Pallidum	/	+	/	/	/	/	-	+	+	+
Amygdala	++	++	+	++	+++	+++	+	++	++	++
Thalamus	+++	+++	++	+++ +	+++ +	+++ +	++	+++	++	+++
Hypothalamus	-	-	-	-	I	-	i	I	I	-
Corpus mamillare hypotahalami	++	++	+	+	-	++	+	++	-	+
Nucleus ventromedialis hypothalami	/	+	/	++	/	++	/	/	+	++
Mesencephalon	-	-	-	-	I	-	i	I	I	-
Substantia nigra	+	++	+	+++ +	+++ +	/	++	/	+	++
Nucleus interpeduncularis	+++	++	+	/	+++	/	-	/	+	++
Nucleus tegmentalis ventralis	/	/	/	+++	-	+	/	/	/	+
Pons	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pontines Grau	++	/	+	++	+	++	+	/	/	++
Medulla oblongata	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

⁶ In einem unmittelbar an das Ventrikelsystem angrenzenden Areal des lateral-septalen Komplexes des Striatums waren PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen von in Relation fortgeschrittener Ausprägung festzustellen.

										Ø
Fallnummer	115	116	117	123	124	131	218	219	220	
Alter in Monaten	18	18	18	21	21	21	24	24	24	
Geschlecht	w	w	m	w	W	m	m	m	W	
Anatomische Struktur 👢										
Nucleus dorsalis nervi vagi / Nucleus tractus solitarii	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Nucleus spinalis nervi trigemini	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Myelon	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Substantia gelatinosa	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Cerebellum	++	++	++	+++	+++	+++ +	+	++	++	++
Nodulus	/	+++ +	/	+++	/	/	/	+++	/	+++
Uvula	+++ +	/	+++	/	+++ +	+++ +	++	/	++	+++
Flocculus / Paraflocculus	+++	+++	+++	+++	+++ +	+++ +	+	+++	-	+++
Cingulum (mediales Vorderhirnbündel)	++	++	-	++	++	++	++	+++	++	++
Fimbrien (mediales Vordernhirnbündel)	++	+	-	+++	+++	+++ +	+++ +	+++	+++ +	+++
Comissura anterior nervi olfactorii	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
Capsula interna	-	-	-	/	-	-	-	++	++	+
Tractus mamillothalamicus	-	-	-	-	-	-	+++	++	+++	+

Legende zu Tabelle 25: Siehe Legende zur tabellarischen Einzelauswertung (Tabelle 18).

П

BO

Abbildung 19.1



Abbildung 19.2



Abbildung 19.3

Abbildung 19.4

Abbildung 19.1 – 19.8: Graphische Auswertung – SNCAwt, alte Tiere



Abbildung 19.1 – 19.8: Graphische Auswertung – SNCAwt, alte Tiere (Teil 2)

Abbildung 19.1 – 19.8 zeigt die repräsentativen Schnittebenen 1 – 8 von alten Tieren (18 – 24 Monate) der human-transgenen Mauslinie SNCAwt. Dargestellt ist die durchschnittliche Ausprägung PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen.

Zu den in der graphischen Auswertung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.

Abbildung 19.1: Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b die äußere plexiforme Schicht des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 19.2: Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum glomerulosum. Die Pfeilspitze b markiert die Lamina eins des Nucleus olfactorius anterior. Die Pfeilspitzen c markieren den Nervus olfactorius.

Abbildung 19.3: Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 19.4: Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels. Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gryus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum lucidum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze c markiert den Epithalamus. Die Pfeilspitze d markiert den Nucleus reticularis hypothalami. Die Pfeilspitze e markiert den Nucleus ventromedialis hypothalami. Die Pfeilspitze f markiert das Cingulum des medialen Vorderhirnbündels.

Abbildung 19.5: Schnittebene vor der Vierhügelplatte. Die Pfeilspitze a markiert das Corpus mamillare hypothalami. Die Pfeilspitze b markiert den Nucleus interpeduncularis mesencephali.

Abbildung 19.6: Schnitteben auf Höhe von der Vierhügelplatte.

Abbildung 19.7: Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli. Die Pfeilspitze markiert das Stratum moleculare des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 19.8: Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Die Pfeilspitze markiert den Nucleus spinalis nervi trigemini.

Zur Farbkodierung des Ausprägungsgrades PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.8.





Abbildung 20.1

Abbildung 20.2



Abbildung 20.3



Abbildung 20.4



Abbildung 20.5



Abbildung 20.6

Abbildung 20.1 – 20.8: Exemplarische Fotoausschnitte – SNCAwt, alte Tiere

Abbildung 20.1 zeigt den Isocortex, das dorsale Striatum/Caudoputamen (CP) sowie das Corpus callocum (cc) eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Ziffern markieren die Laminae 1 – 6 des sechsschichtigen Isocortex. Das dorsale Striatum/Caudoputamen zeigte eine stark ausgeprägte SNCA-Aggregation. Der Isocortex war ebenfalls von einer stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Maßstab 1:12,5.

Abbildung 20.2 zeigt das Mesencephalon, kaudale Anteile des Thalamus (markiert mit Pfeilspitze b) sowie kaudale Anteile der Hippocampus-Region eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Pfeilspitze a markiert die Substantia nigra, die eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Pathologie aufwies. Die Hippocampus-Region und der Thalamus waren zeigten ebenfalls eine stark ausgeprägte SNCA-Aggregation. Maßstab 1:12,5.

Abbildung 20.3 zeigt die Hippocampus-Region eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze a markiert das Stratum multiforme des Gyrus dentatus. Die Pfeilspitze b markiert das Stratum moleculare des Gyrus dentatus. Die Pfeilspitze c markiert Stratum radiatum des Cornu ammonis. Die Pfeilspitze d markiert das Stratum oriens des Cornu ammonis. Die Hippocampus-Region zeigte eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Pathologie. Maßstab 1:16.

Abbildung 20.4 zeigt eine Detailaufnahme des Ablagerungsmusters im Bereich des Thalamus eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Der Thalamus war von einer sehr stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Maßstab 1:40.

Abbildung 20.5 zeigt die Fimbrien des medialen Vorderhirnbündels (markiert mit der Pfeilspitze) eines 24 Monate alten Tieres (Fallnummer 220) unter Verwendung von Immunhistochemie (Antikörper 10D2). Die Fimbrien zeigten eine sehr stark ausgeprägte SNCA-Aggregation. Maßstab 1:32.

Abbildung 20.6 zeigt einen Ausschnitt des Cerebellums sowie der Medulla oblongata eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124) unter Verwendung der PET-blot-Methode (Antikörper 10D2). Die Pfeilspitze markiert den Flocculus cerebelli, der von einer sehr stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen war. Maßstab 1:16.





Abbildung 21.1





HPR 0,1 cm TH ISO HY PIR

Abbildung 21.3

Abbildung 21.4



Abbildung 21.5

Abbildung 21.6

Abbildung 21.1 – 21.6: Übersichtsdarstellung – Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie SNCAwt im Alter von 10 - 24 Monaten.

Abbildung 21.1 – 21.6 zeigt das Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren mittleren Alters sowie alten Tieren der Linie *SNCAwt* (10 – 24 Monate). Gefärbt wurden sechs definierte koronale Schnittebenen mit der PET-blot-Methode unter Verwendung des Antikörpers 10D2. Die Abbildung zeigen eine repräsentative Übersicht des zu beobachtenden Ablagerungsmusters in fortgeschrittenen Stadien. Da von Tieren mittleren Alters zu alten Tieren keine relevante Progression der SNCA-Pathologie zu beobachten war, ist das dargestellte Ablagerungsmuster als maximale Ausprägung PKresistenter, SNCA-positiver Ablagerungen zu verstehen.

Zu den in der Abbildung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.6.

Abbildung 21.1 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 123). Maßstab 1:20.

Abbildung 21.1 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Basis des Bulbus olfactorius eines 10 Monate alten Tieres (Fallnummer 100). Maßstab 1:10.

Abbildung 21.3 zeigt die Schnittebene vor dem Chiasma opticum eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124). Maßstab 1:10.

Abbildung 21.4 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124). Maßstab 1:10.

Abbildung 21.5 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Vierhügelplatte eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124). Maßstab 1:10.

Abbildung 21.6 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata eines 21 Monate alten Tieres (Fallnummer 124). Maßstab 1:10.

3.3 Auswertung der Mauslinie SNCA -/- (homozygot null)

Umfangreiche Gewebedefekte verhinderten bei insgesamt vier Tieren der Linie *SNCA -/-* die Auswertung. Bei den übrigen Tieren war im gesamten ZNS zu keinem Zeitpunkt eine PK-resistente SNCA-Aggregation zu beobachten.

Eine tabellarische Darstellung der Einzelergebnisse findet sich in Tabelle 26.

Abbildung 22.1 – 22.4 zeigt anhand exemplarischer Fotoausschnitte den fehlenden Nachweis PK-resistenter SNCA-Ablagerungen im ZNS-Gewebe der Mauslinie *SNCA-/-*.

Fallnummer	Alter in Monaten	Geschlecht	Ø
145	1	W	-
146	1	W	-
147	1	m	-
151	2	W	-
152	2	W	-
153	2	m	-
157	3	W	-
158	3	W	-
159	3	m	-
163	6	m	-
164	6	W	-
165	6	W	-
173	10	W	-
174	10	W	-
179	13	W	-
186	15	W	-
187	15	W	-
188	15	m	-
203	18	m	-
205	18	W	-
206	18	m	-
193	21	W	-
194	21	m	-
195	21	m	-
212	24	m	-
213	24	m	_

Tabelle 26: Tabellarische Einzelauswertung – SNCA -/- (homozygot null)

Legende zu Tabelle 26: Durchschnittlicher Ausprägungsgrad PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im Gesamten ZNS (markiert mit \emptyset). Angaben zum Geschlecht wie folgt: w (weiblich), m (männlich).





Abbildung 22.1

Abbildung 22.2



Abbildung 22.3

Abbildung 22.4

Abbildung 22.1 – 22.4: Übersichtsdarstellung – Fehlender Nachweis PK-resistenter SNCA-Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei Tieren der Linie *SNCA-/-*.

Abbildung 22.1 – 22.4 zeigt das Ergebnis der Auswertung der Mauslinie *SNCA* -/- anhand vier exemplarischer koronaler Schnittebenen eines Tieres im Alter von 15 Monaten (Fallnummer 187) mit der PET-blot-Methode unter Verwendung des Antikörpers 10D2. Es waren keine PK-resistenten, SNCA-positiven Ablagerungen zu beobachten.

Abbildung 22.1 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius. Maßstab 1:20.

Abbildung 22.2 zeigt die Schnittebene vor dem Chiasma opticum. Maßstab 1:10.

Abbildung 22.3 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Vierhügelplatte. Maßstab 1:10.

Abbildung 22.4 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata. Maßstab 1:10.
3.4 Auswertung der Mauslinie M83

Das Gewebe eines Tieres der transgenen Linie *M83* im Alter von elf Monaten wurde mithilfe der PET-blot-Methode unter Verwendung des Antikörpers 10D2 gefärbt. Das Tier der Linie *M83* zeigte ein von den Tieren der Linien *A53T* und *SNCAwt* gravierend abweichendes Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe. Unterschiede zeigten sich sowohl hinsichtlich der Aggregategröße, Aggregatmorphologie sowie der topographischen Ausdehnung. Dynamisch Prozesse konnten nicht beurteilt werden.

Die Glomeruli olfactorii des Bulbus olfactorius zeigten regelmäßig ein intensiv dunkel- bis schwarz-violettes Farbsignal. Die von Gliazellen umhüllten, rund- bis ellipsoiden Nervenzellgeflechte der Glomeruli olfactorii waren nahezu homogen gefärbt. Die Färbung basierte dabei am ehesten auf zu erahnenden, sehr dicht gelagerten, sphäroiden Ablagerungen. Sie verliehen dem Glomerulum einen diffus- bis feingranulären Gesamteindruck. Im Bereich der äußeren plexiformen Schicht waren vereinzelt sehr feine faserähnliche, SNCA-immunreaktive Strukturen zu beobachten. Die innere plexiforme Schicht sowie die Schicht der Mitralzellen waren untereinander sowie von den angrenzenden Schichten nicht zweifelsfrei zu differenzieren. In einem Bereich, der am ehesten der Schicht der Mitralzellen zugeordnet werden konnte, waren vereinzelt sphärische, etwas gröbere Ablagerungen von geringer Dichte zu beobachten. Das Stratum granulosum zeigte keine Auffälligkeiten. Die Differenzierung des Stratum glomerulosum vom Nervus olfactorius war nicht zweifelsfrei möglich.

Der Bulbus olfactorius accessorius war nicht auf den Schnittebenen abgebildet und konnte daher nicht bewertet werden.

Der Nucleus olfactorius anterior, die Taenia tecta und die Area piriformis zeigten keinerlei pathologisch-assoziierte Veränderungen.

Im Bereich des frontalen Isocortex zeigten tiefer gelegene Rindenschichten ein inhomogenes Ablagerungsmuster. Eine zweifelsfreie Zuordnung der SNCA-Aggregate zu den Schichten des Isocortex war nicht möglich. Am ehesten waren die Laminae vier bis sechs motorischer Rindenareale betroffen. Das gesamte somatodendritische Kompartiment einzelner prominenter Neurone, die am ehesten den Pyramidenzellen der Lamina fünf (Lamina pyramidalis interna) zugeordnet werden konnten, war intensiv dunkel- bis schwarzviolett angefärbt. Die Nuclei hoben sich im Sinne einer immunnegativen Reaktion deutlich ab. Die Axonhügel zeigten ebenfalls ein intensives Farbsignal. Daneben waren vereinzelt prominente, sphäroidbis ellipsoid-erscheinende Strukturen in der näheren Umgebung der Neurone abzugrenzen. Eine Zuordnung zu einer Substruktur des Neuronengeflechts war nicht zweifelsfrei möglich. Die Strukturen entsprachen somatischen Einschlüssen benachbarter Neurone. Deutliche feinere sphäroide und faserähnliche SNCA-Ablagerungen ergaben in der näheren Umgebung der Pyramidenzellen ein inhomogenes und lichtes Muster, das am ehesten dem Neuropil der Lamina fünf zugeordnet werden konnte. Oberfläche Rindenschichten sowie kaudale Anteile des Isocortex waren nicht angefärbt.

Im Bereich der Hippocampus-Region zeigten das Stratum multiforme des Gyrus dentatus und das Stratum lucidum des Cornu ammonis eine schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Aggregation. Daneben war in einem unmittelbar an das Stratum pyramidale angrenzenden schmalen Areal im Bereich des Stratum oriens eine schwach bis mäßig ausgeprägte Pathologie festzustellen.

Strukturen der retrohippocampalen Region waren nicht betroffen.

Ebenso zeigten Basalganglien (Striatum, Pallidum) keine pathologisch-assoziierten Veränderungen.

Die Kerne des medioventralen Thalamus zeigten ein uneinheitliches Farbergebnis. Morphologisch diverse PK-resistente, SNCA-Ablagerungen involvierten die Thalamuskerne am ehesten wie folgt: Die Nuclei mediani thalami, Nuclei ventromedialis, Nuclei suprafascicularis sowie vermutlich Anteile des Nucleus posteromedialis des dorsalen Thalamus waren betroffen. Feine sphäroid- bis ellipsoid erscheinende Ablagerungen einerseits sowie faserähnliche Strukturen andererseits ergaben ein inhomogenes, retikuläres, dichtes Ablagerungsmuster von intensiv dunkel- bis schwarzvioletter Farbe. Daneben hoben sich prominente Strukturen von intensiver Farbe deutlich von den zuvor beschriebenen Ablagerungsformen. Eine zweifelsfreie Zuordnung zu Substrukturen des Neuronengeflechts war nicht möglich. Die Ablagerungen erfüllten am ehesten die Kriterien einer diffusen Färbung des gesamten somatodendritischen Kompartiments einzelner kleinerer Neurone. Die Nuclei waren nicht zu differenzieren.

Im Bereich dorsolateraler Anteile des Hypothalamus zeigte sich ein mit den betroffenen ventromedialen Thalamuskernen übereinstimmendes Ablagerungsmuster. Einzelne sehr feine sphäroide sowie faserähnliche Strukturen ergaben ein inhomogenes, weniger dichtes, retikuläres Muster von schwacher Farbintensität. Daneben hoben sich erneut prominente intensiv gefärbte Strukturen ab, die am ehesten die Kriterien diffus gefärbter Zellsomata oder intrazellulärer Einschlüsse erfüllten. Mediale sowie periventrikuläre Anteile erschienen weniger stark betroffen.

Ein Großteil des Mesencephalons war von morphologisch diversen PK-resistenten, SNCApositiven Ablagerungen von sehr starker bzw. maximal zu beobachtender Ausprägung betroffen. Dicht gelagerte sphäroide und faserähnliche Strukturen ergaben neben prominenten, intensiv angefärbten Ablagerungen (diffus gefärbte Zellsomata vs. intrazytoplasmatische Einschlüsse) eine schwarz-violette, retikuläre, inhomogene Färbung von maximaler Intensität. Eine zweifelsfreie Differenzierung der Substrukturen des Mittelhirns war nicht möglich. Zentral bzw. periaquaquaeductal gelegen Bereich hoben sich durch eine Färbung maximaler Intensität gegenüber dem restlichen Mesencephalon ab.

Die Substantia nigra war bei dem vorliegenden Tier nicht auf den Schnittebenen abgebildet.

Das pontine Grau und die Medulla oblongata zeigten ein mit dem Mesencepahlon übereinstimmendes inhomogenes Muster von intensiv dunkel- bis schwarz-violetter Farbe basierend auf Ablagerungen diverser Morphologie. Pontine Substrukturen waren ebenfalls u. a. aufgrund eines einheitlichen Farbergebnisses nicht sicher voneinander zu differenzieren.

Ein Großteil der medullären grauen Substanz war von einer stark bis sehr stark ausgeprägten SNCA-Pathologie betroffen. Der Nucleus spinalis nervi trigemini zeigte angrenzend an den Tractus spinalis nervi trigemini ebenfalls eine fortgeschrittene SNCA-Aggregation. Der Rest des Nucleus war dagegen deutlich schwächer gefärbt. Weniger dicht gelagerte feine, faserähnliche sowie vereinzelt sphäroide Ablagerungen (diffus gefärbte Zellsomata vs. intrazytoplasmatische Einschlüsse) ergaben eine lichte und in Relation eher schwach ausgeprägte Färbung.

Im Bereich des Stratum granulosum des Cortex cerebelli ergaben sehr feine, sphäroide wie auch faserähnliche Strukturen ein retikuläres Muster von mäßiger Intensität. Daneben hoben sich einzelne prominente Strukturen (diffus gefärbte Zellsomata vs. intrazytoplasmatische Einschlüsse) deutlich ab. Das Stratum moleculare war nicht betroffen. Im Bereich der tiefer gelegenen Hirnnervenkerne waren prominente Neurone zu beobachten, deren gesamtes somatisches Kompartiment diffus und intensiv angefärbt war. Die Nuclei zeigten ein immunnegatives Signal und ließen sich zumeist sicher differenzieren. Die Axonhügel stellten sich häufig ebenfalls intensiv dunkel- bis schwarz-violett dar. Weiterhin zeigten sich am ehesten im Bereich des Neuropils feine sphäroide sowie faserähnliche Strukturen von mäßiger Ausprägung.

Die weiße Substanz frontaler Großhirnabschnitte zeigte keinerlei PK-resistente, SNCApositive Ablagerungen. Anders verhielten sich dagegen weiter kaudale gelegene Strukturen der weißen Substanz. Das Mesencephalon, das pontine Grau sowie die Medulla oblongata durchziehende Fasertrakte zeigten regelmäßig weniger dicht gelagerte sphäroide sowie faserähnliche Strukturen. Im Bereich der cerebellären weißen Substanz manifestierte sich ein übereinstimmendes Ablagerungsmuster. Die Comissura cerebellaris hob sich durch besonders prominente, dicht gelagerte, im Wesentlichen lineare Srukturen deutlich von der restlichen Substantia alba cerebellaris ab.

Abbildung 23.1 – 23.6 zeigt Fotoausschnitte, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren.

Abbildung 24.1 – 24.6 zeigt eine Übersichtsdarstellung des Musters PK-resistenter, SNCApositiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe eines elf Monate alten Tieres der Linie M83.







Abbildung 23.2



Abbildung 23.3



Abbildung 23.4



Abbildung 23.5



Abbildung 23.6

Abbildung 23.1 – 23.6: Exemplarische Fotoausschnitt – Muster der PK-resistenten SNCA-Aggregation bei einem elf Monate alten Tier der Linie *M83*.

Abbildung 23.1 – 23.6 zeigt Fotoausschnitte eines Tieres im Alter von elf Monaten der Linie *M83*, die die Ergebnisse exemplarisch visualisieren. Verwendet wurde die PET-blot-Methode (Antikörper 10D2).

Abbildung 23.1 zeigt den Bulbus olfactorius. Die Schichten des Bulbus olfactorius sind wie folgt markiert. a – Stratum granulosum, b – äußere plexiforme Schicht, c – Stratum glomerulosum, d – Nervus olfactorius. Maßstab 1:50.

Abbildung 23.2 zeigt eine Detailaufnahme des Isocortex. Die Pfeilspitze markiert eine Pyramidenzelle im Bereich des Stratum pyramidale/der Lamia fünf. Veranschaulicht werden soll das Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im Bereich des Isocortex. 1:160.

Abbildung 23.3 zeigt eine Detailaufnahme des Hypothalamus. Die Pfeilspitze markiert ein prominent angefärbtes Neuron. Veranschaulicht werden soll das Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im Bereich des Hypothalamus. Maßstab 1:80.

Abbildung 23.4 zeigt eine Detailaufnahme des Mesencephalons im Bereich des periaquaeductalen Graus. Veranschaulicht werden soll das Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im Bereich des Mesencephalons. Maßstab 1:32.

Abbildung 23.5 zeigt eine Detailaufnahme des Cortex cerebelli. Die Schichten des Cortex sind wie folgt markiert. a – Stratum granulosum, b – Stratum moleculare. Die Pfeilspitze markiert das Stratum purkinjense. Mit dem Buchstaben c markiert ist die Comissura cerebellaris. Maßstab 1:20.

Abbildung 23.6 zeigt den Nucleus spinalis nervi trigemini (markiert mit der Pfeilspitze b) sowie unmittelbar angrenzende Strukturen. Die Pfeilspitze a markiert den Tractus spinalis nervi trigemini. Die Pfeilpsitze c markiert die Nuclei reticulares. Maßstab 1:25.





MES

Abbildung 24.1





Abbildung 24.3

Abbildung 24.4



Abbildung 24.5



Abbildung 24.1 – 24.6: Übersichtsdarstellung – Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei einem Tier der *M83* im Alter von elf Monaten.

0,1 cm

rHPR

Abbildung 24.1 – 24.6 zeigt das Muster PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im murinen ZNS-Gewebe bei einem Tier im Alter von elf Monaten der Mauslinie *M83*. Gefärbt wurden sechs definierte koronale Schnittebenen mit der PET-blot-Methode unter Verwendung des Antikörpers 10D2. Die Abbildung zeigen eine repräsentative Übersicht des zu beobachtenden Ablagerungsmusters. Maßstab 1:10.

Zu den in der Abbildung verwendeten Abkürzungen in alphabetischer Reihenfolge siehe Legende zu Abbildung 4.1 – 4.6.

Abbildung 24.1 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Bulbus olfactorius.

Abbildung 24.2 zeigt die Schnittebene vor dem Chiasma opticum.

Abbildung 24.3 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Hypophysenstiels.

Abbildung 24.4 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Vierhügelplatte.

Abbildung 24.5 zeigt die Schnittebene auf Höhe des Flocculus/Paraflocculus cerebelli.

Abbildung 24.6 zeigt die Schnittebene auf Höhe der Medulla oblongata.

4 Diskussion

4.1 Ist der Paraffin embedded tissue(PET) blot die Methode der Wahl?

Für diese wie auch für alle anderen Arbeiten zum Thema potentiell auf pathologischassoziierten Proteinablagerungen basierenden neurodegenerativen Erkrankungen sind die folgenden Aspekte relevant. Erstens der sensitive Nachweis des betreffenden Proteins, zweitens die Unterscheidung der physiologischen von der mutmaßlich pathologischassoziierten Form und drittens die Zuordnung der Proteinaggregate zu anatomischen Regionen. In der gängigen Immunhistochemie wird mittels einer Antigen-Antikörper-Reaktion das Vorhandensein eines Epitops an einer bestimmten Stelle im Gewebe untersucht. Bereits feine Proteinablagerungen lassen sich bei erhaltenen anatomischen Verhältnissen detektieren. Das Lichtmikroskop ermöglicht im Rahmen der Auswertung einerseits eine hohe Auflösung und andererseits die Zuordnung auf zellulärer Ebene. Die Antikörper können dabei in der Regel nicht zwischen der physiologischen und der mutmaßlich pathologisch-assoziierten Form unterscheiden. Aus diesem Grund wird das Gewebe im Rahmen immunhistochemischer Färbung konventionell vorbehandelt mit dem Ziel die physiologische Form des Proteins weitestgehend zerstören. zu Immunhistochemische Färbungen wurden in der Vergangenheit nicht routinemäßig mit dem sehr effektiven PK-Verdau vorbehandelt, da dieser einen ausgesprochen destruktiven Effekt auf auf Glasobjektträger aufgezogenes Gewebe hat. Stattdessen wurden in der Regel andere, weniger effektive Vorbehandlungen gewählt um die physiologische Form des Proteins zu zerstören. Im Ergebnis weisen immunhistochemische Färbungen ohne vorangegangenen PK-Verdau in unterschiedlichem Ausmaß auch die physiologische Form des Proteins nach, die der konventionellen Vorbehandlung entgangen ist (Schulz-Schaeffer et al. 2000). Die mutmaßlich pathologisch-assoziierten, PK-resistenten SNCA-Aggregate sind dabei zum Teil so klein, dass sie mithilfe der Durchlichtmikroskopie nicht von der Färbung des physiologischen Proteins unterschieden werden können (Kramer und Schulz-Schaeffer 2007; Schulz-Schaeffer 2010). Neuere Studienergebnisse deuten ebenfalls darauf hin, dass der PK-Verdau anderen Vorbehandlungen hinsichtlich der spezifischen Darstellung des kompletten Spektrums der mit SNCA-Aggregation assoziierten Pathologie deutlich überlegen ist (Beach et al. 2008). Schulz-Schaeffer et al. erkannten die Notwendigkeit einer Methode, die einerseits die Anforderungen eines sensitiven aber spezifischen Nachweises der mutmaßlich pathologisch-assoziierten, in Aggregation befindlichen Proteinform (in Abhängigkeit der zugrundeliegenden neurodegenerativen Erkrankung) deutlich verbessert. Andererseits sollte die Möglichkeit einer morphologisch-topographischen Zuordnung gewährleisten sein. Sie entwickelten zu diesem Zweck die sog. PET-blot-Methode. Die PET-

blot-Methode basiert auf der Kombination präexistenter, konventioneller Methodologien (Immunhistochemie und Histoblot). Sie weist eine extrem hohe Sensitivität auf und gewährleistet gleichzeitig einen zufriedenstellenden Erhalt anatomischer Verhältnisse. Mit der PET-blot-Methode können bereits sehr kleine Mengen des aggregierten Proteins nachgewiesen werden. Die Proteine eines Gewebeschnittes, nicht eines Gewebehomogenats, werden bei erhaltenen anatomischen Verhältnissen auf eine Trägermembran übertragen. Die PET-blot-Methode erlaubt einen hochkonzentrierten PK-Verdau ohne zu erwartende gravierende Schädigung des auf Nitrozellulosemembranen übertragenen Gewebeschnittes. Es kommt zu einem selektiven Verdau der pyhsiologischen Proteinform. Durch die entsprechende Vorbehandlung werden Epitope der auf der Membran zurückbleibenden PKresistenten Proteinform freigelegt. Diese können in Folge spezifisch mittels Antikörperreaktion detektiert werden (Schulz-Schaeffer et al. 2000).

Die konventionelle Immunhistochemie hat auf der zellulären und subzellulären Ebene eine deutlich höhere Auflösung. Aufgrund der Anfälligkeit der auf Glasobjektträger aufgezogenen Gewebeschnitte wurde die PK-Konzentration sowie die Expositionsdauer im Rahmen dieser Arbeit in Relation zur PET-blot-Methode reduziert. Die Immunhistochemie bietet daher, aufgrund von Limitationen der enzymatischen Vorbehandlung, eine weniger effektive Möglichkeit das physiologische Protein zu verdauen. Mit regulären immunhistochemischen Färbungen ist es daher nicht möglich zwischen physiologischem alpha-Synuklein in der Synapse und kleinsten Aggregaten sicher zu unterscheiden. Der selektive Nachweis der PKresistenten Ablagerungen ist daher mit der Immunhistochemie im Vergleich zum PET blot weniger sensitiv (Wemheuer et al. 2013).

Daneben konnte gezeigt werden, dass die PET-blot-Methode durch ihre extrem hohe Sensitivität einerseits sowie der hohen morphologischen Auflösung andererseits auch der konventionellen Histoblot-Technik sowie dem Western blot überlegen ist (Schulz-Schaeffer et al. 2000).

Die PET-blot-Methode stellt damit die geeignetste Methode dar um bereits sehr feine Aggregate in frühen Krankheitsstadien zu studieren. Die konventionelle Immunhistochemie hat den Vorteil des Erhalts der anatomischen Verhältnisse sowie des höheren mikroskopischen Auflösungsvermögens. Sie stellt dabei nach angepasster Vorbehandlung des Gewebes mit einem schonenderen PK-Verdau die ergänzende Referenzmethode der Wahl dar.

4.2 Limitationen sowie fehleranfällige Aspekte der Auswertung

Die semiquantitative Auswertung der Ergebnisse beruhte auf einer eigens definierten Messskala. Die Ergebnisse ließen sich damit in eine Reihenfolge bringen. Ein definierter Größenbezug lag per definitionem nicht vor. Die Definition der Messskala hing dabei im Wesentlichen von der Kenntnis des zu beobachtenden Gesamtspektrums PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen ab. Aufgrund der *Interobserver*-Variabilität könnte eine mögliche Reproduktion der Messskala eine abweichende Einstufung der Ergebnisse hervorbringen. Zusammenfassend sollte eine Progression der PK-resistenten, SNCApositiven Ablagerungen (hinsichtlich der Aggregatgröße, -dichte und -quantität sowie der topographischen Expansion) aber unabhängig vom Untersucher zu beobachten sein. Eine exakt übereinstimmende Einstufung entsprechend der definierten Messskala ist zweitrangig. Daraus folgt eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse als Anforderung an wissenschaftliche Forschungsarbeiten.

In Hinblick auf die praktische Anwendung der oben beschriebenen Färbeprotokolle galt es folgende Punkte zu beachten. Die Länge der Fixationsdauer korrelierte negativ mit der Antigenität des Gewebes. Die Expositionsdauer gegenüber der Proteinase einerseits sowie die Wahl der richtigen PK-Konzentration andererseits mussten daher der Fixationsdauer angepasst werden. Eine unspezifische Färbung der physiologischen Proteinform konnte auf einen unvollständigen Verdau, eine zu kurze Expositionsdauer oder eine zu geringe Enzymkonzentration zurückgeführt werden. Es sollte gerade noch kein Verdau der mutmaßlich pathologisch-assoziierten, aggregierten Proteinform aufgrund einer zu langen Expositionsdauer oder einer zu hohen Enzymkonzentration erfolgen. Ferner wurde eine Variation die Potenz der PK zwischen den Chargen beobachtet. Wiederholte Kontrollfärbungen waren daher sowohl bei Anwendung der PET-blot-Methode als auch im Rahmen immunhistochemischer Färbungen erforderlich, um falsch positive oder negative Ergebnisse möglichst zu vermeiden.

Eine Besonderheit stellte die Färbung des Nervus olfactorius dar. Im Bereich des Nervus waren gröbere, teils sphäroide, teils faserähnliche PK-resistente, SNCA-positive Strukturen zu beobachten. Damit unterschied sich das Spektrum der Ablagerungsformen von dem der übrigen grauen und weißen Substanz der Linien A53T und SNCAwt. In Fällen fortgeschrittener pathologisch-assoziierter Veränderungen im Bereich des olfaktorischen Systems eines Tieres zeigte auch der Nervus olfactorius Ablagerungen fortgeschrittener Ausprägung. Eine sichere Differenzierung des Nervus olfactorius von den ihm anliegenden Hirnhäuten war nicht zweifelsfrei möglich. Im Bereich des Nervus waren regelmäßig Gewebsdefekte festzustellen, die die Beurteilbarkeit noch erschwerten. Eine intensive Färbung randständiger Strukturen/der Hirnhäute war bei Tieren der Linie A53T und SNCAwt in allen Altersgruppen ubiquitär zu beobachten. Die Färbung wurde am ehesten auf Färbeartefakte zurückgeführt, die möglicherweise auf der unspezifischen Ablagerung von Formalinpräzipitaten oder einer unspezifischen Antikörperund/oder Chromogenablagerung basierten. Tiere der Linie SNCA -/- zeigten dagegen keine Färbung der Hirnhäute. In diesem Zusammenhang könnten Unterschiede des Fixationsprozesses oder der Grad der Antigenität des gesamten Gewebes einen Einfluss haben. Eine valide Bewertung des Nervus olfactorius konnte aufgrund der beschriebenen Problemstellung nicht erfolgen.

Gerade in frühen Stadien der SNCA-Pathologie bereitet die Differenzierung feinster Aggregate von einer möglichen unspezifischen Färbung des physiologischen Proteins Schwierigkeiten. Folgende Aspekte wurden zu Hilfe genommen, um das Risiko eines falschnegativen Ergebnisses zu minimieren. Für eine unspezifische Färbung sprach ein vom übrigen ZNS abweichendes Verhalten. So wurde eine fehlende Progression der Ergebnisse mit fortschreitendem Alter als unspezifisch gewertet. Für eine spezifische Färbung sprach eine Progredienz der Ablagerungsgröße, -dichte und -quantität. Ein feingranuläres Muster, welches feinste PK-resistente und SNCA-positive Ablagerungen gerade so erahnen ließ, wurde als spezifisch gewertet. Dagegen sprach ein rein diffuses Farbsignal für eine unspezifische Färbung.

4.3 Morphologische Klassifikation der SNCA-Aggregation

Bei näherer Betrachtung des SNCA-Aggregationsprozesses assoziierter neurodegenerativer Erkrankungen (insb. PD und DLB) konnte das Spektrum neben der vorbekannten LB und Lewy-Neuriten um weitere Ablagerungsformen erweitert werden. Sehr feine, punktförmige SNCA-Aggregate im Bereich des Neuropils werden als Lewy-Dots und feiner, faserähnliche SNCA-positive Strukturen als Lewy-Threads bezeichnet. Definierte hyaline Strukturen ohne Halo mit in Relation zu LB verminderter SNCA-Immunreaktivität wurden als Pale-Bodies bezeichnet. Als Prä-LB wurden diffuse zytoplasmatische Ablagerungen beschrieben. Pale-Bodies und Prä-LB gelten als morphologische Vorstufen der LB. Im Rahmen des Reifungsprozesses der LB in den Zellfortsätzen wurden frühe neuritische LB entsprechend als Pale Neurites bezeichnet. Der Begriff Lewy-Axon beschreibt neuritische Ablagerungen. Weiterhin wurden neben extrazellulären LB auch cerebelläre Ablagerungsformen beschrieben. Zuletzt konnte gliale Proteinablagerungen festgestellt werden (Kosaka 1978; Pappolla et al. 1988; Dickson et al. 1991; Gibb et al. 1991; Takahashi et al. 1994; Wakabayashi et al. 1998a; Arai et al. 1999; Iseki et al. 2000; Piao et al. 2000; Wakabayashi et al. 2000; Hishikawa et al. 2001; Katsuse et al. 2003; Piao et al. 2003; Saito et al. 2003; McKeith et al. 2005; Ferrer et al. 2008; Kanazawa et al. 2012; Seidel et al. 2015; Seidel et al. 2017).

Im Rahmen dieser Arbeit zeigte die Untersuchung der Mauslinien *A53T* und *SNCAmt* im Wesentlichen eine topographisch weit verbreitete PK-resistente Mikroaggregation, die unter Einbeziehung der Theorien zur Rolle von SNCA-Aggregation für Neurodegeneration bzw. - protektion am ehesten einer beginnenden diffus-synaptischen SNCA-Pathologie in der

Zellperipherie entspricht. Die mit dem Alter positiv korrelierende wenn auch diskret ausgeprägte Größenprogredienz der SNCA-Aggregate erfüllt in fortgeschrittenen Stadien möglicherweise die Kriterien von Lewy-Dots. Im Bereich der cerebellären weißen Substanz konnten vereinzelt eher faserähnlich, irregulär imponierende SNCA-positive Strukturen dargestellt werden, die am ehesten den morphologischen Kriterien sog. Lewy-Axone entsprechen.

Das Referenztier der Linie *M83* zeigte morphologische diverse SNCA-Ablagerungen. Somatodendritisch weit verbreitete SNCA-positive faserähnliche Ablagerungen erfüllten am ehesten die Kriterien sogenannter Lewy-Threads. Daneben erfüllten gröbere sphäroide axonale Strukturen die Charakteristika von Lewy-Dots. Einige intrazytoplasmatische Einschlüsse füllten das gesamte Kompartiment aus. Grobe, sphäroid- bis ellipsoiderscheinende intrazytoplasmatische Einschlüsse sind vorzugsweise als LB-ähnlich zu beschreiben.

Das untersuchte Tier der Linie M83 zeigte ein mit den Ergebnissen der einschlägigen Literatur übereinstimmendes Ergebnis bei in Relation womöglich vermehrtem Nachweis feiner SNCA-Ablagerungen. Giasson et al. 2002 führten die immunhistochemische Färbung des Neuropils bei Tieren der Linie M83 bis zu einem Alter von sechs Monaten auf die physiologisch im Bereich der synaptischen Nervenendigungen lokalisierte nicht aggregierte Proteinform zurück. Möglichweise ist die Bewertung einer umfangreichen, insbesondere auf feinen SNCA-positiven Strukturen basierenden ZNS-Pathologie auf die Annahme eines effizienten und nahezu vollständigen PK-Verdaus der physiologischen Proteinform bei Verwendung der PET-blot-Methode zurückzuführen. Giasson et al. 2002 untersuchten ebenfalls die Expression der humanen A53T-Mutation unter Kontrolle des PrP im murinen ZNS-Gewebe und beschrieben ab einem Alter von 8-16 Monaten eine im ZNS weitverbreitete somatodendritische SNCA-Pathologie aller Tiere. Neben dystrophen, Lewy-Neuriten-ähnlichen SNCA-positiven Strukturen beschrieben Giasson et al. 2002 ebenfalls grobe sphäroide neuritische Ablagerungen (Lewy-Dots), LB-ähnliche Strukturen sowie Zellen, deren gesamtes somatodendritisches Kompartiment mit SNCA-Ablagerungen ausgefüllt war. Lediglich im Bereich des Stratum granulosum wurden mithilfe der PET-blot-Methode umfassende pathologisch-assoziierte Veränderungen festgestellt, die von Giasson et al. 2002 nicht beschrieben wurden.

Die mitgeführte humane Positiv-Kontrolle (DLB) zeigte regelmäßig SNCA-positive Strukturen, die die Charakteristika humaner LB erfüllten.

Zur Klassifizierung der SNCA-Ablagerungen auf zellulärer Ebene wären sicherlich weiterführende Untersuchungen (beispielsweise mithilfe von Immunelektronenmikroskopie) sinnvoll.

4.4 Topographische Expansion der SNCA-Aggregation auf das murine ZNS-Gewebe im Vergleich zur humanen PD und DLB

Kuo et al. 2010 untersuchten die Expression der A53T-Mutation unter Kontrolle des *SNCA*-Promotors im murinen Gewebe mithilfe immunhistochemischer Färbungen sowie dem Western blot. Eine signifikante SNCA-Aggregation wurde bei Tieren im Alter von 6 - 12 Monaten lediglich im Bereich des Plexus myentericus beschrieben und mit charakteristischen histopathologischen Veränderungen im Bereich des enterischen Nervensystems in frühen Stadien der humanen PD in Verbindung gebracht. Die Expression des humanen Proteins wurde von Kuo et al. 2010 dagegen nicht mit einer SNCA-Pathologie im Bereich des ZNS assoziiert.

Gispert et al. 2003 untersuchten die Expression der humanen wildtyp Variante (*SNCAwt*) unter Kontrolle des *SNCA*-Promotors im murinen Gewebe mithilfe immunhistochemischer Färbung, dem Western blot sowie Immunogold-Elektronenmikroskopie. Mithilfe der angewandten Methodik konnte weder im peripheren noch im zentralen Nervensystem eine relevante SNCA-Aggregation nachgewiesen werden. Lediglich einzelne Neurone in ausgewählten Hirnarealen und einigen Rückenmarks-Motorneuronen wiesen in immunhistochemischen Färbungen SNCA-positive Ablagerungen auf. Das Vorkommen von SNCA-Aggregaten konnte allerdings weder elektronenmikroskopisch noch im Western blot bestätigt werden.

Giasson et el. 2002 untersuchten die Expression der *A53T*-Mutation unter Kontrolle *PrP*-Promotors im murinen ZNS-Gewebe und beschriebene eine altersabhängig fortschreitende SNCA-Aggregation vornehmlich im Bereich des gesamten Rückenmarks sowie des Hirnstamms. Ferner beobachteten sie eine hohe Dichte charakteristischer somatodendritischer Veränderungen im Bereich des Striatums (insbesondere dorsolateraler Anteil), in einigen Thalamus-Regionen (medioventrale, ventromediale, parazentrale Kerngebiete), im Bereich der cerebellären Kerngebiete sowie der cerebellären weißen Substanz. LB-ähnliche Veränderungen wurden zudem zahlreich im Bereich der Raphekerne sowie der Pons und weniger zahlreich im Bereich der Locus coeruleus nachgewiesen. Motorische Isocortex-Areale waren nur schwach betroffen. Weitere im Rahmen humaner assoziierter Erkrankungen involvierte anatomische Strukturen (u. a. Bulbus olfactorius, Hippocampus-Region Substantia nigra) zeigten keine Auffälligkeiten.

Der Großteil der in der Literatur beschriebenen SNCA-transgenen Mausmodelle zeigten eine SNCA-Aggregation vornehmlich im Bereich des Hirnstamms und Rückenmarks. Daneben waren olfaktorische Areale, der Isocortex, die Hippocampus-Region, der Thalamus, das Striatum und Mesencephalon regelmäßig von pathologisch-assoziierten Veränderungen involviert (Kahle et al. 2000; Masliah et al. 2000; van der Putten et al. 2000; Kahle et al. 2001;

Matsuoka et al. 2001; Rathke-Hartlieb et al. 2001; Giasson et al. 2002; Lee et al. 2002; Neumann et al. 2002; Rockenstein et al. 2002; Fleming et al. 2004; Maskri et al. 2004; Freichel et al. 2007; Emmer et al. 2011)

Für die humane PD wurde eine Hirnstamm-betonte SNCA-Pathologie beschrieben, die sich in kaudorostraler Richtung auf Strukturen der Pons (Locus coeruleus), des Mesenencephalons (Substantia nigra), die Basalganglien (Striatum/Pallidum) sowie den Neocortex ausbreitet (Braak und Braak 2000; Braak et al. 2003a; 2003b; 2004; Hawkes et al. 2007; 2009; Del Tredici et al. 2002; Beach et al. 2010; Jellinger 2015).

DLB-Patienten zeigen dagegen vornehmlich eine kortikale SNCA-Aggregation. Daneben sind diverse Strukturen des limbischen Systems (Corpora mamillaria, Fornix cerebri, Gyrus cinguli, Hippocampus, Subiculum, Nucleus interpeduncularis), Strukturen des Diencephalons (vornehmlich der Thalamus), die Basalganglien (Striatum/Pallidum) und ausgewählt Strukturen des Hirnstamms betroffen (Kosaka 1978; Kosaka et al. 1984, Katsuse et al. 2003; McKeith et al. 2003; 2005).

Im Rahmen dieser Arbeit zeigten die Tiere der Linien *A53T* und *SNCAwt* eine altersabhängige, progressiv verlaufende, bilateral-symmetrische und einer vorbestimmten Sequenz folgende Expansion einer PK-resistenten SNCA-Pathologie auf weite Teile des murinen ZNS-Gewebe. Pathologisch-assoziierte Veränderungen involvierten insbesondere frontobasale Großhirnabschnitte (Rhinencephalon, Isocortex, Basalganglien, Hippocampus-Region, Thalamus). Einzelne Strukturen des Mesencephalons, der Pons sowie der Medulla oblongata (darunter im Wesentlichen die Substantia nigra sowie einzelne Hirnnervenkerne) zeigten regelmäßig eher schwach ausgeprägte charakteristische Veränderungen. Dennoch waren weite Teile des kaudalen Großhirns nicht betroffen.

Das mitgeführte Tier der Linie *M83* im Alter von elf Monaten zeigte umfangreiche PKresistente SNCA-Ablagerungen im Bereich des Hirnstamms sowie der Medulla oblongata. Daneben waren Pons, Rhombencephalon sowie mesencephale Strukturen von charakteristischen SNCA-Ablagerungen involviert. Eine in Relation deutlich schwächer ausgeprägte SNCA-Pathologie war im Bereich von Thalamus, Hypothalamus, Hippocampus, Isocortex, dem cerebellären Cortex sowie im Bereich des Bulbus olfactorius zu beobachten.

Die Gesamtheit der SNCA-transgene Mausmodelle rekapituliert, in Abhängigkeit vom eingebrachten Genkonstrukt, einzelne Aspekte der humanen DLB aber im Wesentlichen eine Hirnstamm-betonte SNCA-Pathologie analog der humanen PD. Auch die Linie M83 zeigt (weitestgehend deckungsgleich mit den Ergebnissen von Giasson et al. 2002) eine SNCA-Pathologie vom Hirnstamm-Typ. Die Tiere der Linien A53T und SNCAwt zeigen dagegen eher eine kortikale SNCA-Pathologie und fungieren damit am ehesten als Modell für die humane DLB, nicht aber die PD bzw. PDD.

4.5 Ein Einblick in phänotypische Veränderungen

Mit dem Ziel der Objektivierung von in der Regel progressiv verlaufenden komplexen phänotypischen Veränderungen SNCA-transgener Mausmodelle entwickelte man eine Vielzahl von Testbatterien. Angestrebt wurde eine Detektion phänotypischer Veränderungen, die gemeinhin auf eine Dysfunktion des nigrostriatalen Systems zurückgeführt wurden. SNCA-transgener Mausmodelle zeigen wiederholt altersabhängig sensomotorische Defizite, eine frühe Dysfunktion des enterischen Nervensystems sowie kognitive Veränderungen, die einzelne Aspekte assoziierter humaner Erkrankungen suffizient abbildeten (Masliah et al. 2000; van der Putten et al. 2000; Giasson et al. 2002; Neumann et al. 2002; Fleming et al. 2004, Freichel et al. 2007; Kuo et al. 2010). Erfasst wurden neben der motorischen Leistungsfähigkeit, die Spontanaktivität, die Koordination, Veränderungen des Gangbildes sowie das Ansprechen auf sensorische Stimuli. Beobachtet wurden zudem das Nestbauverhalten und die Körperpflege. Auch kognitive Defizite sowie Funktionsstörungen des enterischen Nervensystems wurden untersucht (Freichel et al. 2007; Schallert und Fleming 2009). Im Allgemeinen bestand eine positive Korrelation zwischen SNCA-Expressionsleveln einerseits sowie der Schwere phänotypischer hohen Veränderungen andererseits. Die Expression der humanen Wildtyp-Variante reichte dabei aus um phänotypische Veränderungen auszulösen. Es zeigte sich jedoch eine in Relation zum mutierten SNCA-Gen (u. a. A53T, A30P, E46K) niedrigere Penetranz und damit einhergehend später einsetzender Symptomatik (Masliah et al. 2000; van der Putten et al. 2000; Giasson et al. 2002; Neumann et al. 2002; Fleming et al. 2004; Freichel et al. 2007; Kuo et al. 2010).

Tiere, die die humane *A53T*-Mutation unter der Kontrolle des *SNCA*-Promotors exprimierten, zeigten ab einem Alter von drei Monaten gravierende Defizite des enterischen Nervensystems in Form einer Beeinträchtigung der Motilität sowie einer verlängerten Passagedauer des Gastrointestinaltrakts. Ab einem Alter von zwölf Monaten manifestierte sich eine motorische Dysfunktion. Eine olfaktorische Dysfunktion wurde nicht beschrieben. Die in Relation zu motorischen Defiziten sehr früh einsetzende gastrointestinale Dysfunktion in Abwesenheit wesentlicher PK-resistenter, SNCA-positiver Ablagerungen im Bereich der murinen ZNS-Gewebe wurde mit frühen Stadien der humanen PD assoziiert (Kuo et al. 2010).

Tiere, die das humane *SNCAwt* unter der Kontrolle des *SNCA*-Promotors exprimierten, zeigten im Rahmen der Untersuchung durch Gispert et al. 2003 keinerlei Defizite der motorischen Funktion, des enterischen Nervensystems oder der olfaktorischen Funktion.

Die durch Giasson et al. 2002 tiefgreifend untersuchten Mäuse der Linie M83 zeigten bis einschließlich zum siebten Lebensmonat keine pathologisch-assoziierten phänotypischen

Veränderungen. Ab einem Alter von 8-16 Monaten entwickelten alle Tiere einen dramatischen Phänotyp in Form einer schweren und komplexen Beeinträchtigung des motorischen Systems, der zur Paralyse und schlussendlich zum vorzeitigen Tod der Tiere führte. Die Tiere wurden daher innerhalb von 10-21 Tagen nach klinischer Primärmanifestation geopfert, um das Leiden zu mindern.

Die Beobachtung der phänotypischen Veränderungen war nicht Hauptbestandteil dieser Arbeit. Dennoch wird nachfolgend auf Beobachtungen eingegangen, die im Rahmen der Aufzucht der Tiere bemerkt wurden ⁷. Tiere der Linie *A53T* zeigten ab einem Alter von etwa 18 Monaten eine starke Hinterbeinataxie einhergehend mit einer Versteifung der Extremitäten, die sich bis zu einem Alter von 24 Monaten auch auf die Vorderbeine ausbreitete. Bei Tieren der Linie *SNCAwt* waren phänoytpische Veränderungen bereits bei jüngeren Tieren zu beobachten. Eine Ataxie im Sinne von Hinterbeinparesen war erstmalig bereits bei einem Tier im Alter von zwölf Monaten festzustellen. Daneben zeigten Tiere ab einem Alter von zwölf Monaten starke Kratzverletzungen mit blutigen Stellen an Nasen, Kopf sowie im Nackenbereich einhergehend mit starkem Fellverlust. Die in Relation zu den Tieren der Linie A53T früher einsetzenden gravierenden phänotypischen Veränderungen sind schlüssig auf im Rahmen dieser Arbeit zu beobachtende histopathologischen Veränderungen zurückzuführen.

Mit dem Tier der Linie M83 wurde ausschließlich postmortem gearbeitet.

Zur weiterführenden Spezifizierung der Mausmodelle PAC-Tg-*A53T* sowie PAC-Tg-SNCAwt sollte die Objektivierung potentieller behavioraler, lokomotorischer und kognitiver Veränderungen phänotypischer Veränderungen sollte Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein.

4.6 SNCA-transgene Mäuse – Ein realistisches Modell?

Die Aussagekraft SNCA-transgener Mausmodelle ist insofern limitiert, als dass bis dato nur einzelne Aspekte assoziierter humaner Erkrankungen nicht aber das gesamte Spektrum u. a. histopathologischer und phänotypischer Veränderungen in einem Modell vereint werden konnte. Zudem konnte weder ein eindeutiger geradliniger Zusammenhang zwischen Neuropathologie und Neurodegeneration noch der für die humane PD typische Verlust nigraler dopaminerger Neurone reproduziert werden (Fernagut und Chesselet 2004; Beekes et al. 2014).

⁷ Die Beobachtungen zur Klinik der Tiere wurden ausschließlich von Dr. rer. nat. Uwe Hahmann aufgezeichnet, der mit der Aufzucht der Tiere betraut war.

Um den Einfluss eines varianten genetischen Hintergrunds zu minimieren wurde im Wesentlichen eine spezifische Zuchtlinie (C75BL/6) eingesetzt. Dennoch zeigten transgene Mauslinien mit hypothetisch genetisch identischem Hintergrund trotz Verwendung einheitlicher Promotoren unterschiedliche SNCA-Expressionsmuster. Man geht heute von einem Einfluss der Anzahl der eingebrachten Genkassetten, der in der Regel nicht spezifisch gewählten Integrationsstelle des Genlocus, der Expression benachbarter Gene (Gen-Silencing, Gen-Enhancement) sowie epigenetischer und exogener Faktoren (z.B. Haltungsoder Fütterungsbedingungen) aus. Man ist sich daher weitestgehend einig, dass das Zusammenspiel multipler genetisch, epigenetischer und exogener Einflüsse unter experimentellen Bedingungen nur schwer bzw. unmöglich einheitlich zu reproduzieren ist (Gispert et al. 2003; Fernagut und Chesselet 2004; Maskri et al. 2004; Duty und Jenner 2011).

Die Expression der humanen Wildtyp-Variante (*SNCAwt*) erscheint plausibel. Es konnte gezeigt werde, dass die Überexpression der humanen Wildtyp-Variante ausreicht um eine fulminante Pathologie auszulösen. Andererseits wurde eine von Missense-Mutationen (*A53T*) ausgehende erhöhte Neigung Amyloid-Fibrillen auszubilden beschrieben. Die Integration verschiedener Promotoren in das eingebrachte Genkonstrukt ist insbesondere für die regionale Verteilung der exprimierenden Zellen relevant. Zum Teil strebte die Wahl des Promotors eine Transgenexpression in spezifischen Neuronenpopulationen an. Die Mehrheit der genetisch modifizierten Mausmodelle (so auch die Steuerung der *SNCA*-Expression über eine Upstream-Sequenz, die alle bekannten *SNCA*-Promotor-Elemente abdeckt (PAC), als auch die Regulation mittels *PrP*) ermöglichte die unspezifische Über-expression des humanen Proteins in nahezu allen Neuronenpopulationen des murinen ZNS-Gewebes (Matsuoka et al. 2001; Rathke-Hartlieb et al. 2001; Maskri et al. 2004).

Viele der transgenen Mauslinien wurden primär mit dem Ziel entwickelt morphologisch identifizierbare SNCA-Aggregate und bestenfalls LB zu reproduzieren. Folgt man der Theorie, dass nicht kompakte LBs sondern vielmehr synaptische Ablagerungen die entscheidende Rolle für Neurotoxizität und in Folge -degeneration spielen, dann rückt der Stellenwert der Reproduktion der LB als Qualitätsmerkmal in den Hintergrund. Zudem scheint möglicherweise die deutlich kürzere Lebensdauer der Mäuse im Vergleich zum Menschen eine entscheidende Rolle zu spielen. So weisen subpathologische Veränderungen potentiell auf eine frühe Dysfunktion hin, die erst in späteren Stadien eine charakteristische Degeneration bedingt. Eine kürzere Lebensdauer könnte auch der Grund dafür sein, dass keine LB im engeren Sinne hervorgebracht werden konnte. Zelleigene Kontrollmechanismen, deren Kapazität erst nach einer längeren Inkubationszeit erschöpft, bieten hypothetisch für mehrere Monate einen Schutz (Fernagut und Chesselet 2004; Fleming et al. 2005; Kahle 2008; Jellinger 2009; Wakabayashi et al. 2013; Sekigawa et al. 2015)

Das murine *SNCA* zeigt trotz hoher Expressionslevel keine endogene Aggregationstendenz und wurde bisher nicht in SNCA-Aggregaten nachgewiesen. Eine Proteinaggregation im murinen ZNS-Gewebe wird erst durch eine genetische Humanisierung ausgelöst. Geht man davon aus, dass es sich bei der Formation von LB um einen Schutzmechanismus handelt, fehlt der murinen Zelle unter Umständen die Kompetenz Mikroaggregate im Rahmen eines Detoxifikationsprozesses in kompakt Formen zu überführen (Fernagut und Chesselet 2004; Buchman und Ninkina 2008). Es konnte zudem gezeigt werden, dass das murine Wildtyp-*SNCA* der humanen *A53T*-Mutation weitestgehend entspricht. Möglicherweise hat die Maus auch spezifische Protektionsmechanismen entwickelt, die der Formation von LB entgegenwirken (Rochet et al. 2000; Fernagut und Chesselet 2004; Cabin et al. 2015).

In vivo Längsschnittstudien mithilfe SNCA-transgener Mausmodelle lassen Rückschlüsse auf die Pathogenese sowie den zeitlichen Verlauf der Krankheitsentstehung mit all ihren Facetten zu. Von besonderer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang Zeitpunkt, Lokalisation und Manifestationsform der primären, mutmaßlich pathologisch-assoziierten SNCA-Aggregation sowie der Einfluss der altersabhängig progressiv verlaufenden Pathologie auf phänotypische Veränderungen. Interventionsmöglichkeiten zu Lebzeiten können Aussagen zu einer möglichen Reversibilität mutmaßlich pathologischer Prozesse sowie darauf basierende Therapieansätze offenlegen. Durch eine einheitliche Stallhaltung kann der Einfluss exogener Faktoren minimiert werden.

4.7 Sprechen die Ergebnisse für eine Prion-ähnliche Ausbreitung der SNCA-Pathologie?

In Zusammenhang mit der Expansion der SNCA-Pathologie wird ein Prion-ähnlicher replikativer zyklischer Zerfall fehlgefalteter Proteinkomplexe diskutiert, der den Konformationswechsel der physiologischen Isoform induziert und letztlich die Formation von fibrillären SNCA-Aggregaten beschleunigt. In experimentellen Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass die intracerebrale Inokulation fehlgefalteter Proteine die Aggregation des endogenen Proteins begünstigen, beschleunigen oder sogar triggern kann. Möglicherweise stellen diese Inokula damit einen initialen Fokus dar, von dem ausgehend sich die SNCA-Pathologie zentrifugal auf benachbarte bzw. neuroanatomisch-verbundene Areale ausbreitet.

Das Einbringen fehlgefalteter Proteine konnte allerdings weder ein für die humane PD bzw. DLB typisches Ablagerungsmuster von SNCA-Aggregaten noch charakteristische phänotypische Veränderungen reproduzieren. Es bestand eine Diskrepanz zwischen der effizienten Transmission von SNCA-Aggregaten einerseits sowie der ineffizienten Transmission des Vollbilds histopathologischer sowie phänotypischer Veränderungen andererseits. Eine interindividuelle Übertragung der Erkrankung (z.B. durch Blut, Blutprodukte oder kontagiöse chirurgische Instrumente) im Sinne einer Infektiosität, wie sie für Prion-Erkrankungen typisch ist, konnte nicht nachgewiesen werden (Irwin et al. 2013a; Beekes et al. 2014).

Tiere der Linien *A53T* sowie *SNCAwt* zeigten im Rahmen dieser Arbeit eine sequentielle Ausbreitung pathologischer Veränderungen auf murine ZNS-Strukturen, die vielmehr einer voneinander unabhängigen Formation von SNCA-Aggregaten entspricht und letztlich in einem zeitlich und räumlich vorbestimmten uniformen Ablagerungsmuster resultiert. Die Hypothese zur multifokalen Entstehung von SNCA-Aggregaten wird ebenso für mit SNCA-Aggregation-assoziierte humane Erkrankungen diskutiert (Lee et al. 2011; Beekes et al. 2014).

Da insbesondere Tiere im Alter von 1-6 Monaten eine ausgeprägte topographische Expansion der SNCA-Pathologie zeigen wäre es sicherlich sinnvoll im Rahmen weiterführender Arbeiten kürzere Untersuchungsabstände zu wählen, um einen zeitlichen Verlauf der Orte der Proteinaggregation sowie mögliche richtungsweisende Prozesse detaillierter offenzulegen.

4.8 Ergebnisse im Kontext der Dual-hit-Hypothese

Die Beobachtung der primären Manifestation PK-resistenter SNCA-Ablagerungen im Bereich der Glomeruli olfactorii des Bulbus olfactorius bereits in der Gruppe der jungen und adoleszenten Mäuse der Linien A53T sowie SNCAwt bekräftigt die Hypothese der Inhalation eines unbekannten neurotropen Umweltpathogens, wie sie von Braak et al. 2002 postuliert wurde. Entsprechend der Dual-hit-Hypothese käme es nach Eintritt in den Körper zu einer potentiellen Ausbreitung des Pathogens über Projektionsneuronen der Riechschleimhaut bis auf den Temporallapen. Olfaktorische Informationen werden über primäre Sinneszellen der Riechschleimhaut aufgenommen, über die Nervi olfactorii in die Schädelhöhle geleitet und in den Glomeruli olfactorii erstmalig umgeschaltet. Mitralzellaxone verlassen den Bulbus olfactorius, vereinen sich im Tractus olfactorius, passieren den Nucleus olfactorius anterior (der vermutlich den Informationsfluss zwischen den in die Verarbeitung der Geruchsinformationen involvierten Strukturen reguliert) und terminieren letztlich in verschiedenen kortikalen Arealen, wo sie die viszero-sensiblen Informationen höheren Verarbeitungszentren zuführen. Der Bulbus olfactorius accessorius erhält Afferenzen aus dem vomeronasalen Organ (Berliner et al. 1996; Brunjes et al. 2005; Baum und Kelliher 2009; Saiz-Sanchez et al. 2010). Zeitlich verzögert entwickelten den Glomeruli olfactorii des Bulbus olfactorius nachgeschaltete Strukturen der Riechbahn (Nucleus olfactorius anterior, Taenia tecta, Area piriformis, olfaktorischer Cortex) ebenfalls altersabhängig eine signifikante aber schwächer ausgeprägte SNCA-Mikroaggregation. vergleichsweise Das Stratum

glomerulosum des Bulbus olfactorius accessorius war nur in Einzelfällen auf den Schnittebenen abgebildet, zeigte aber eine mit den Glomeruli des Riechkolbens übereinstimmendes Ablagerungsmuster einer fortgeschrittenen SNCA-Aggregation.

Tiere der Linie SNCAwt zeigten ab einem Alter von 10-15 Monaten vereinzelt PKresistente SNCA-Ablagerungen von schwacher bis mäßiger Ausprägung in einem den vierten Ventrikel umgebenden Areal der Medulla oblongata, das dem Nucleus dorsalis nervi vagi zugeordnet wurde (eine zweifelsfreie Differenzierung vom Nucleus tractus solitarii war aufgrund der engen anatomischen Beziehung nicht zweifelsfrei möglich). Der Nucleus tractus solitarii erhält Geschmacksinformationen der Zunge via afferenter viszerosensorischer Fasern des Nervus facialis, Nervus glossopharyngeus und Nervus vagus, leitet diese nach Umschaltung in ausgewählten Thalamus-Arealen an den cerebralen Cortex weiter und reguliert nach einer komplexen Weiterverarbeitung assoziierte Prozesse der Nahrungsaufnahme (Speichelfluss, Kaubewegungen, Schluckakt, Abwehrund Schutzreflexe).

Als einen zweiten Eintrittsweg des potentiellen Umweltpathogens in den Körper nennt die Dual-hit-Hypothese das Verschlucken nasalen Schleims, die Aufnahme über die Darmschleimhaut sowie die retrograde Ausbreitung in kaudorostraler Richtung über das enterische Nervensystem auf den Hirnstamm bis hin zum Prosencephalon. Braak et al. 2002 beschrieben übereinstimmend erste charakteristische histopathologische Veränderungen auf Hirnstammebene im Bereich der motorischen Hirnnervenkerne des Nervus vagus sowie Nervus glossopharyngeus. Efferente Fasern der Hirnnerven IX. und X., die die Muskulatur von Larynx, Pharynx sowie der oberen Speiseröhre innervieren, entstammen neben dem Nucleus dorsalis nervi vagi dem Nucleus ambiguus. Letzterer zeigte bei keinem der Tiere erkennbare SNCA-Ablagerungen.

Auf Hirnstammebene zeigte der Nucleus spinalis nervi trigemini bei jungen und adoleszenten Tieren der Linien *A53T* und *SNCAwt* regelmäßig eine schwach bis mäßig ausgeprägte SNCA-Aggregation. Der somatosensible Hirnnervenkern empfängt Afferenzen der Nervi trigeminus, facialis, glossopharyngeus und vagus, ist in die Reizverarbeitung von Informationen mit irritativem Charakter (z.B. stechend, scharf, brennend oder kühlend) involviert und reguliert vermutlich nachgeschaltete Prozesse wie z.B. Tränensekretion, Speichelfluss oder die Auslösung des Niesreflexes (Shusterman 2009; Hummel und Livermore 2002; Brand 2006). Sensorische Anteile des Nervus facialis gewährleisten die Innervation der Geschmacksknospen im Bereich der Zungenpapillen der vorderen 2/3 der Zunge. Afferente Faser leiten sensiblen Informationen auch an den Nucleus tractus solitarii. Die Rami pharyngei, linguales und tonsillares des Nervus glossopharyngeus versorgen den Gaumen, den Rachen sowie das hintere Drittel der Zunge. Die Rami pharyngei sowie der Nervus laryngeus des Nervus vagus versorgen Rachen und Kehlkopf. Der Lemniscus medialis leitet Informationen des Nervus trigeminus ausgehend von dessen Kerngebieten zum Thalamus und von dort zum Cortex cerebri weiter.

Daneben zeigten Strukturen der Hippocampus-Region bereits bei jungen Tieren eine charakteristische Färbung und hoben sich in jedem Alter deutlich durch eine fortgeschrittene SNCA-Pathologie ab. Hippocampale Strukturen empfangen Afferenzen des Rhinencephalons und sind als Teil des limbischen Systems vermutlich wesentlich an der Geruchserinnerung beteiligt.

Entsprechend der Dual-hit-Hypothese würde man erwarten, dass zwischen dem Auftreten erster SNCA-Aggregate im Bereich des Bulbus oder relevanten Kernen auf Hirnstammebene einerseits und direkt oder indirekt nachgeschalteten Strukturen andererseits eine gewisse Latenzzeit zu beobachten wäre, die einer Fortleitung des Pathogens entlang von Axonen beteiligter Projektionsneurone gerecht werden würde. Eine vom Hirnstamm oder von primär involvierten Strukturen der Riechbahn ausgehende zentrifugale Ausbreitung war nicht zu beobachten.

Andererseits fällt auf, dass (entsprechend der Hypothese von Braak et al. 2002 zur möglichen Aufnahme eines Umweltpathogens über die Nahrungs- bzw. Riechschleimhaut) insbesondere solche Strukturen zu den Orten der Primärmanifestation von SNCA-Aggregaten zählen, die an der Prozession von Geruchs- und Geschmacksinformationen beteiligt sind.

(Neuroanatomische Referenzen wurden Kahle und Frotscher 2013 sowie Trepel 2017 entnommen.)

4.9 Diskussion der Ergebnisse hinsichtlich des nosologischen Zusammenhangs von PD und DLB

PD-Patienten präsentieren initial vornehmlich motorische Defizite. Eine kognitive Beeinträchtigung kommt typischerweise erst im Krankheitsverlauf hinzu. Ausgewählte Studien konnten aber zeigen, dass eine dementielle Symptomatik in ausgewählten Fällen sechs Jahre vor der Diagnosestellung nachzuweisen war, ohne dass die Kriterien einer Demenz im engeren Sinne erfüllt wurden. Wann eine kognitive Beeinträchtigung ausreicht, um im Rahmen der PD von einer Demenz zu sprechen, wurde nicht genau festgelegt (Brown und Tanner 2017; Darweesh et al. 2017; Lippa et al. 2017; Jellinger und Korczyn 2018). Die DLB ist dagegen gekennzeichnet durch eine deutlich kürzere Latenz bis zur Primärmanifestation einer schweren Beeinträchtigung der kognitiven Funktion mit dementiellem Charakter. Im weiteren Verlauf können visuelle Halluzinationen, kognitive Fluktuationen sowie ein in Relation weniger ausgeprägter Parkinsonismus (der die Kriterien der PD engeren Sinne häufig nicht erfüllt sowie ein herabgesetztes Ansprechen auf Levodopa zeigt) hinzukommen

(McKeith et al. 2005; Tsuobi und Dickson 2005; Goldman et al. 2008; Berg et al. 2014). In fortgeschrittenen Krankheitsstadien sind keine signifikanten Unterschiede zwischen der PDD und DLB mehr festzustellen. Neben den Kardinalsymptomen der PD (Rigor, Tremor, Akinese) sind regelhaft eine autonome Dysfunktion, Schlafstörungen und Depressionen, eine Beeinträchtigung des Riechvermögens und kognitive Defizite (kognitive Fluktuationen, visuelle Halluzinationen, verhaltensbezogene Auffälligkeiten) sowohl für die PD als auch für die DLB charakteristisch (Berg et al. 2014; Donaghy und McKeith 2014; Lippa et al. 2017; Jellinger und Korczyn 2018). Die auf der Heterogenität des klinischen Verlaufs basierende Differenzierung zu Lebzeiten (1-Jahres-Regel) verliert an Eindeutigkeit und bereitet insbesondere dann Schwierigkeiten, wenn Patienten mit initial einsetzender motorischer Dysfunktion eine früh einsetzende Demenz zeigen oder andersherum bei primär kognitiver Beeinträchtigung früh einsetzende motorische PD-typische Kardinalsymptome zu beobachten sind (Tsuobi und Dickson 2005; Aarsland et al. 2009; Beach et al. 2009; Lippa et al. 2017). Das Alter der Patienten mag eine entscheidende Rolle für den klinischen Phänotyp spielen. Jüngere PD-Patienten präsentieren häufig keine oder in Relation weniger stark ausgeprägte kognitive Defizite. Ältere Patienten zeigen dagegen häufig dementielle Defizite (PDD versus DLB) (Lippa et al. 2017).

Ebenso kommt es auf histologischer Ebene zu gravierenden Überschneidungen, da PD- und DLB-Patientin neben einer prädominanten SNCA-Aggregation regelmäßig eine AD-Pathologie in Form von beta-Amyloid Plaques und sog. Alzheimer Fibrillen einerseits sowie charakteristische vaskuläre Veränderungen andererseits in unterschiedlichem Ausmaß zeigen. Die kortikale Pathologie im Rahmen der PDD beruht im Wesentlichen auf einer SNCA-Aggregation mit einer nicht oder nur minimal ausgeprägten einhergehenden AD-Pathologie. DLB-Patienten zeigen dagegen zu Lebzeiten eine in Relation schwach ausgeprägte SNCA-Pathologie im Bereich des Isocortex sowie eine prädominante AD-Pathologie. Sie werden zu Lebzeiten häufig als AD-Patientin geführt, da sie häufig erst spät oder garnicht die klinischen Merkmale der DLB entwickeln. Von den histopathologischen Veränderungen scheint ein additiver/synergistischer Effekt auszugehen, der den Zeitpunkt der Primärmanifestation sowie die klinische Ausprägung der Demenz beeinflusst und das klinische Bild der PDD bzw. DLB mit der AD verschwimmen lässt (Jellinger 2007; Halliday et al. 2011; Ince 2011; Colom-Cadena et al. 2013; Irwin et al. 2013b; Berg et al. 2014; Howlett et al. 2015; Walker L et al. 2015; Colom-Cadena et al. 2017; Irwin et al. 2017; Spires-Jones et al. 2017; Jellinger und Korczyn 2018).

Aus pathopyhsiologischer Ebene kommt es sowohl bei der PD bzw. PDD als auch bei der DLB zu einer synaptischen Dysfunktion in Form einer Beeinträchtigung des axonalen Transports sowie einer Neurotransmitterverarmung (Klein et al. 2010).

Mithilfe bildgebender Verfahren (DaTScan, SPECT, PET, MIBG-Szintigraphie, MRT) ist eine Diagnosestellung nicht möglich. Auf dem Grad der Amyloid-Ablagerungen, cholinergen Defiziten, vaskulären Schäden sowie möglichen Atrophiemustern basierende morphologische Unterschiede können die Einordnung lediglich erleichtern (Johansen et al. 2010; Lippa et al. 2017; Jellinger und Korczyn 2018).

Für die PD und die DLB wurden Überlappungen genetischer Merkmale untereinander sowie mit der AD beschrieben. Die Signifikanz dieser Merkmale ist bis dato nicht ausreichend um eine eindeutige Unterscheidung zu ermöglichen könnte aber in Zukunft potentiell herangezogen werden um eine Differenzierung mithilfe genetischer Tests zu ermöglichen (Berg et al. 2014; Guella et al. 2016; Walton et al. 2016; Lippa et al. 2017; Vergouw et al. 2017; Weil et al. 2017; Jellinger und Korczyn 2018).

Gemeinsamkeiten der PD und PDD auf vielerlei Ebene führten zu einer kontroversen Debatte zum nosologischen Zusammenhang, die im Wesentlichen durch die folgenden Interpretationsansätze gekennzeichnet ist:

Hypothetisch handelt es sich bei der PD und der DLB um zwei distinkte Entitäten mit einer jeweils spezifischen biologischen Grundlage, die auf genetischer, pathophysiologischer morphologischer und klinischer Ebene einerseits untereinander sowie andererseits ebenfalls mit der AD in einem bestimmten Maße überlappen. Geht man von einer Entität mit einer einheitlichen zugrundeliegenden molekularen Pathogenese aus, dann muss eine Determinante existieren die beeinflusst ob es im Rahmen einer mit SNCA-Aggregation assoziierten neurodegenerativen Erkrankung primär zu einer kognitiven Beeinträchtigung (DLB) oder einer extrapyramidal-motorischen Symptomatik (PD) kommt. In diesem Zusammenhang müsste die Priorität auf der Identifikation dieses möglichen Faktors liegen.

Andererseits können die PD, PDD und DLB voneinander abweichende Ausprägung einer Entität mit einer einheitlichen biologischen Grundlage darstellen. Sie repräsentieren möglicherweise lediglich Punkte auf einem Kontinuum einer Entität. Unterschiede sind hypothetisch lediglich in der regionalen Verteilung sowie dem Grad der Ausprägung histopathologischer Veränderungen (SNCA-Aggregation, Amyloid-Ablagerungen, vaskuläre Pathologie) einerseits sowie motorischer und nicht-motorischer Symptome andererseits begründet. Die DLB mit Parkinson-Symptomen wird zuweilen auch als Subtyp der PD angesehen. Das regelmäßige Vorkommen einer AD-typischen Histopathologie führte auch zur Klassifikation der DLB als LB-Variante der AD. Basierend auf Überschneidung und Heterogenität charakteristischer histopathologischer Veränderungen (SNCA-Aggregation, beta-Amyloid Plaques, AD-typische Fibrillen, vaskuläre Pathologien) einerseits sowie des klinischen Symptomkomplexes andererseits wurden die PDD, DLB sowie AD auf einem möglichen Spektrum lokalisiert. Auf einer Seite dieses Spektrums wären demnach PD-Patienten zu finden, die eine dementielle Symptomatik erst in fortgeschrittenen Stadien entwickeln und deren histopathologischer Befund durch eine prädominante SNCA-Pathologie gekennzeichnet ist. Daneben wären PD-Patientin zu finden, die kognitive Defizite bereits in weniger fortgeschrittenen Stadien zeigen (jedoch mindestens ein Jahr nach Erstmanifestation einer PD-typischen motorischen Kardinalsymptomatik) und deren histopathologischer Befund neben einer wesentlichen SNCA-Aggregation einen geringen Anteil AD-typischen Veränderungen zeigt. In der Mitte des Spektrums wären DLB-Patienten zu lokalisieren, die neben einer dementiellen Symptomatik motorische Defizite gleichzeitig oder im Verlauf entwickeln und deren histopathologischer Befund durch ADtypische Veränderungen sowie SNCA-Ablagerungen in nahezu gleichem Umfang gekennzeichnet ist. DLB-Patienten, die eine PD-typische Symptomatik erst in fortgeschrittenen Stadien entwickeln sind neben AD-Patienten zu finden. Letztere bilden das andere Extrem des Spektrums und sind auf histopathologischer Ebene durch den prädominanten Nachweis von beta-Amyloid Ablagerungen sowie vaskulären Veränderungen gekennzeichnet. Einige als iLBD klassifizierte Fälle zeigen eine Hirnstamm-dominante LB-Pathologie, andere eine prominente Beteiligung kortikaler Strukturen. Dieser Beobachtung entsprechend müsste die iLBD sowohl in der Nähe der DLB als und in der Nähe der PD lokalisiert werden. Sie bildet möglicherweise präklinische Fälle ab (Hansen et al. 1998; Richard et al. 2002; Frigerio et al. 2011; Postuma et al. 2015; Boeve et al. 2016; Walton u. a. 2016; Lippa et al. 2017; Postuma und Berg 2017; Friedman 2018; Jellinger und Korczyn 2018).

Die Arbeitsgruppe um McKeith et al. 2000 schlug die parallele Anwendung zweier Klassifikationssysteme vor: Die Differenzierung PD, PDD und DLB sei insbesondere für klinische Interventionen, die Pflege der Patienten sowie im Rahmen ausgewählter klinischer Forschungsansätze von Bedeutung. Ferner erscheint der spezifische Terminus DLB sinnvoll, wenn es darum geht in Fällen klinisch manifester Demenz anzuzeigen wie wahrscheinlich die Entwicklung einer extrapryamidalmotorischen Symptomatik ist (DLB versus AD). Das Modelle einer Krankheitsentität (LB-Erkrankungen) ist zweckmäßig um gemeinsame zugrundeliegende Krankheitsprozesse (basierend auf der Fehlfaltung und möglicherweise toxischen SNCA-Aggregation) weiterführend zu klassifizieren. Der Überbegriff LB-Erkrankungen sollte insbesondere dann Verwendung finden, wenn es um die Abgrenzung der PDD und DLB von der AD sowie anderen Demenzformen geht.

Tiere der Linien *A53T* sowie *SNCAwt* zeigen eine über das murine ZNS-Gewebe weit verbreitete altersabhängige, topographisch- und chronologisch vorbestimmte Expansion der SNCA-Pathologie mit Betonung frontobasaler Großhirnabschnitte, wie sie für die DLB beschrieben wurde. Das Ablagerungsmuster zeigte zu keinem Zeitpunkt eine Kongruenz mit dem Tier der Linie *M83*. Letzteres zeigte vornehmlich eine für die humane PD typische SNCA-Aggregation im Bereich des Hirnstamms. Geht man davon aus, dass die genannten

genetisch-modifizierten Tiere möglicherweise frühe Stadien assoziierter LB-Erkrankungen abbilden, spricht eine Heterogenität des Ablagerungsmusters am ehesten für spezifische pathologische Prozesse und die Differenzierung zweier eigenständiger Entitäten (PD vs. DLB). Die Annahme, dass es möglicherweise in fortgeschrittenem Alter zu einer Überlappung des Ablagerungsmusters käme bleibt offen und ist durch die deutlich kürzere Lebenszeit der Tiere limitiert. Eine ergänzende Untersuchung der humanisierten Mäuse auf das Vorkommen von AD-typischen Veränderungen und/oder einer vaskulären Pathologie wäre zur Vervollständigung der Klassifikation sicher sinnvoll.

4.10 Aus dieser Arbeit abgeleitete Anregungen für weiterführende Fragestellungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Auswahl peripherer Organe bei einzelnen Tieren der Linien *A53T* und *SNCAwt* nach entsprechender Vorbereitung und übereinstimmender Methode mitgefärbt. Dabei zeigten sich wiederholt PK-resistente, SNCA-positive Ablagerungen im Bereich der renalen Glomeruli. Eine weiterführende Aufarbeitung peripherer Organsysteme im Rahmen dieser Arbeit ist nicht erfolgt.

Zur weiterführenden Charakterisierung SNCA-transgener Mausmodelle sollten hinsichtlich der Frage zur Atiologie der LB-Erkrankungen (insbesondere in Anlehnung an die Dual-hit-Hypothese) neben dem Groß- und Kleinhirn weitere zentral- sowie peripher-nervöse Strukturen (wie z.B. autonome Ganglien sowie postganglionäre Nervenfasern), das enterische Nervensystem sowie weitere periphere Organsysteme auf das Vorkommen einer mit SNCA-Aggregation-assoziierten Pathologie hin untersucht werden. Neben Rückschlüssen auf mögliche exogene Risikofaktoren oder andere Ursachen der Krankheitsentstehung könnten Ausbreitungsmuster im gesamten Organismus sowie mögliche Eliminationsprozesse offengelegt werden, die das Krankheitsverständnis Zudem könnten weiterführende klinische Tests u. a. der motorischen verbessern. Leistungsfähigkeit, der Koordination, der Funktion des enterischen und olfaktorischen Systems sowie der kognitiven Funktion mögliche Unterschiede der SNCA-transgenen Modellinien offenlegen und so zur weiterführenden Charakterisierung beitragen.

Die Erweiterung des Spektrums der angewandten Methoden um u. a. die Elektronenmikroskopie könnte Rückschlüsse auf die subzelluläre Lokalisation der SNCA-Aggregate sowie den von ihnen ausgehenden Einfluss auf die zelluläre Integrität ermöglichen.

Mithilfe der Western-Blot-Methode könnte die Unterscheidung der physiologischen von der pathologisch-assoziierten aggregierten Form ergänzt werden.

5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war es wesentliche, kontrovers diskutierte Themenschwerpunkte hinsichtlich der mit SNCA-Aggregation-assoziierten neurodegenerativen Multisystemerkrankungen Parkinson-Krankheit sowie Lewy-Körper-Demenz mithilfe genetisch modifizierter, humanisierter Mausmodelle weiterführend zu untersuchen. Das Groß- und Kleinhirn der SNCA-transgenen Mauslinien PAC-Tg-A53T und PAC-Tg-SNCAwt wurde im Alter von 1 – 24 Monaten mithilfe der PET-blot-Methode sowie ergänzenden immunhistochemischen Färbungen auf das Vorkommen Proteinase-K-resistenter SNCA-Ablagerungen hin untersucht.

Beschrieben wurden morphologische Ablagerungsformen der mutmaßlich pathologischneuroanatomische Strukturen Orte assoziierten SNCA-Aggregate, als der die altersabhängige auf murine Primärmanifestation sowie Expansion das Zentralnervensystem. Vergleichend hinzugezogen und mit einer entsprechenden Methodik untersucht wurde einerseits ein elf Monate altes Tier der in der Literatur bereits umfangreich beschriebenen SNCA-transgenen Mauslinie PrP-Tg-A53'T(M83) sowie andererseits das Gewebe eines an der Lewy-Körper-Demenz erkrankten Patienten (als Positivkontrolle).

Hinsichtlich eines möglichen Ausbreitungsmechanismus von SNCA-Aggregaten wird ein Prion-ähnliches Verhalten diskutiert. Ein im Rahmen dieser Arbeit beschriebenes eher multifokales Entstehungsmuster ohne eindeutige Ausbreitungsrichtung spricht gegen eine Zell-zu-Zell-Transmission entlang definierter neuroanatomischer Strukturen.

Der spezifische und sehr sensitive Nachweis bereits feinster SNCA-Mikroaggregate mithilfe der PET-blot-Methode erfüllte bei den Tieren der Linien PAC-Tg-*A53T* und PAC-Tg-*SNCAwt* am ehesten die morphologischen Eigenschaften einer synaptischen Pathologie, die mit potentiell toxischen Effekten und konsekutiv synaptischer Degeneration in Verbindung gebracht wird. Der Nachweis einer vermutlich zumindest initial rein synaptischen Pathologie reichte aus um einen pathologischen Phänotyp zu bedingen, der in Teilen den für die humane Parkinson-Krankheit sowie die humane Lewy-Körper-Demenz beschriebenen motorischen und kognitiven Defiziten entsprach.

In der Debatte zur Rolle von Lewy-Körpern für Neurodegeneration und Neuroprotektion rücken SNCA-Mikroaggregate als pathologisches Korrelat in den Vordergrund. Demgegenüber ist der Nachweis von Lewy-Körpern möglicherweise zweitrangig, wenn auch für die histopathologische Diagnosestellung relevant. Lewy-Körper sind möglicherweise sekundäres Phänomen eines Detoxifikationsprozesses der eigentlich pathophysiologisch relevanten SNCA-Mikroaggregation.

Die Tiere der Linien PAC-Tg-A53T und PAC-Tg-SNCAmt zeigten ein untereinander hinsichtlich der topographischen Expansion sowie der Morphologie der SNCA-Aggregate

übereinstimmendes Ergebnis. Das Ausbreitungsmuster entsprach dabei am ehesten einer kortikalen Pathologie, wie sie für die humane Lewy-Körper-Demenz beschrieben wurde (mit einer weniger stark ausgeprägten Hirnstammbeteiligung). Die genetisch modifizierten Tiere unterscheiden sich vermutlich lediglich hinsichtlich des Levels der SNCA-Überexpression und damit folglich in puncto des Zeitpunkts und der Schwere einer mutmaßlich pathologisch-assoziierten, PK-resistenten SNCA-Aggregation.

Demgegenüber zeigten die Tiere der Linie PrP-Tg-A53T(M83) eine Hirnstamm-betonte Pathologie, die wesentliche Kriterien der humanen Parkinson-Krankheit erfüllte.

Das bei der Untersuchung der humanisierten Mauslinien PAC-Tg-*A53T* und PAC-Tg-*SNCAwt* zu beobachtende Ausbreitungsmuster der SNCA-Pathologie auf das murine ZNS-Gewebe zeigt in Relation zur mitgeführten Linie PrP-Tg-A53T(*M83*) zu jedem Zeitpunkt gravierende Unterschiede hinsichtlich der Expansion sowie der Morphologie der SNCA-Aggregation. Diese Beobachtungen stützen die Hypothese, dass es sich bei der DLB und der PD um pathophysiologisch eigenständige Entitäten mit spezifischer Entstehungsperspektive handelt und es lediglich auf vielerlei Ebene zu Überschneidungen kommt.

Die Charakterisierung SNCA-transgener Mausmodelle, die möglicherweise spezifische Aspekte der PD und DLB abbilden, könnte in Zukunft dabei helfen relevante humane Erkrankungen besser zu verstehen sowie weiterführend zu untersuchen, mögliche diagnostische Mittel abzuleiten, eine valide und objektive Unterscheidung der Erkrankungen zu ermöglichen und mögliche diagnostische, therapeutische oder sogar kurative Ansätze zu begründen.

6 Literaturverzeichnis

- Aarsland D, Perry R, Larsen JP, McKeith IG, O'Brien JT, Perry EK, Burn D, Ballard CG (2005): Neuroleptic sensitivity in Parkinson's disease and parkinsonian dementias. J Clin Psychiatry <u>66</u>, 633-637
- Aarsland D, Londos E, Ballard C (2009): Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies: different aspects of one entity. Int Psychogeriatr <u>21</u>, 216-219
- Abeliovich A, Schmitz Y, Farinas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, Shinsky N, Verdugo JM, Armanini M, Ryan A et al. (2000): Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. Neuron <u>25</u>, 239-252
- Aguzzi A (2009): Cell biology: Beyond the prion principle. Nature 459, 924-925
- Aguzzi A, Rajendran L (2009): The transcellular spread of cytosolic amyloids, prions, and prionoids. Neuron <u>64</u>,783-790
- Alafuzoff I, Parkkinen L, Al-Sarraj S, Arzberger T, Bell J, Bodi I, Bogdanovic N, Budka H, Ferrer I, Gelpi E et al. (2008): Assessment of alpha-synuclein pathology: a study of the BrainNet Europe Consortium. J Neuropathol Exp Neurol <u>67</u>, 125-143
- Alafuzoff I, Ince PG, Arzberger T, Al-Sarraj S, Bell J, Bodi I, Bogdanovic N, Bugiani O, Ferrer I, Gelpi E et al. (2009): Staging/typing of Lewy body related alpha-synuclein pathology: a study of the BrainNet Europe Consortium. Acta Neuropathol <u>117</u>, 635-652
- Allen Institute for Brain Science (Hrsg.): Reference Atlas :: Allen Brain Atlas: Mouse Brain, Coronal Atlas, Version 2, Washington 2011; https://atlas.brain-map.org; abgerufen am 15.03.2021
- Angot E, Brundin P (2009): Dissecting the potential molecular mechanisms underlying alphasynuclein cell-to-cell transfer in Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord <u>15</u>, 134-137
- Angot E, Steiner JA, Hansen C, Li JY, Brundin P (2010): Are synucleinopathies prion-like disorders? Lancet Neurol <u>9</u>, 1128-1138
- Arai T, Uéda K, Ikeda K, Akiyama H, Haga C, Kondo H, Kuroki N, Niizato K, Iritani S, Tsuchiya K (1999): Argyrophilic glial inclusions in the midbrain of patients with Parkinson's disease and diffuse Lewy body disease are immunopositive for NACP/alpha-synuclein. Neurosci Letters 259, 83-86
- Arawaka S, Saito Y, Murayama S, Mori H (1998) Lewy body in neurodegeneration with brain iron accumulation type 1 is immunoreactive for alpha-synuclein. Neurology <u>51</u>,887-889
- AWMF (2016): Demenzen. S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde und der Deutschen Gesellschaft für Neurologie. https://www.awmf.org; abgerufen am 15.03.2021
- Baba M, Nakajo S, Tu PH, Tomita T, Nakaya K, Lee VM, Trojanowski JQ, Iwatsubo T (1998): Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Am J Pathol <u>152</u>, 879-884
- Barker RA, Williams-Gray CH (2016): Review: The spectrum of clinical features seen with alpha synuclein pathology. Neuropathol Appl Neurobiol <u>42</u>, 6-19

- Bartels T, Choi JG, Selkoe DJ (2011): α-Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation. Nature <u>477</u>, 107-110
- Baum MJ, Kelliher KR (2009): Complementary roles of the main and accessory olfactory systems in mammalian mate recognition. Annu Rev Physiol <u>71</u>, 141-160
- Beach TG, White CL, Hamilton RL, Duda JE, Iwatsubo T, Dickson DW, Leverenz JB, Roncaroli F, Buttini M, Hladik CL et al. (2008) Evaluation of alpha-synuclein immunohistochemical methods used by invited experts. Acta Neuropathol <u>116</u>, 277-288
- Beach TG, Adler CH, Lue L, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Sasse J, Boyer S, Shirohi S, Brooks R et al. (2009): Unified staging system for Lewy body disorders: correlation with nigrostriatal degeneration, cognitive impairment and motor dysfunction. Acta Neuropathol <u>117</u>, 613-634
- Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White Iii CL, Akiyama H, Caviness JN, Chill HA, Sabbagh MN et al. (2010): Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. Acta Neuropathol <u>11</u>9,689-702
- Beekes M, Thomzig A, Schulz-Schaeffer WJ, Burger R (2014): Is there a risk of prion-like disease transmission by Alzheimer- or Parkinson-associated protein particles? Acta Neuropathol <u>128</u>, 463-476
- Bekris LM, Mata IF, Zabetian CP (2010): The Genetics of Parkinson Disease. J Geriatr Psychiatry Neurol <u>23</u>, 228-242
- Benazzouz A, Mamad O, Abedi P, Bouali-Benazzouz R, Chetrit J (2014): Involvement of dopamine loss in extrastriatal basal ganglia nuclei in the pathophysiology of Parkinson's disease. Front Aging Neurosci <u>6</u>, 87
- Berardelli A, Rothwell JC, Thompson PD, Hallett M (2001): Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. Brain <u>124</u>, 2131-2146
- Berg D, Postuma RB, Bloem B, Chan P, Dubois B, Gasser T, Goetz CG, Halliday GM, Hardy J, Lang AE et al. (2014): Time to Redefine PD? Introductory Statement of the MDS Task Force on the Definition of Parkinson's Disease. Mov Disord <u>29</u>, 454
- Berliner DL, Monti-Bloch L, Jennings-White C, Diaz-Sanchez V (1996): The functionality of the human vomeronasal organ (VNO): evidence for steroid receptors. J Steroid Biochem Mol Biol 58, 259-265
- Bisaglia M, Schievano E, Caporale A, Peggion E, Mammi S (2006): The 11-mer repeats of human alpha-synuclein in vesicle interactions and lipid composition discrimination: a cooperative role. Biopolymers <u>84</u>, 310-316
- Boeve BF, Dickson DW, Duda JE, Ferman TJ, Galasko DR, Galvin JE, Goldman JG, Growdon JH, Hurtig HI, Kaufer DI (2016) Arguing against the proposed definition changes of PD. Mov Disord <u>31</u>, 1619-1622
- Bogaerts V, Engelborghs S, Kumar-Singh S, Goossens D, Pickut B, van der Zee J, Sleegers K, Peeters K, Martin JJ, Del-Favero J et al. (2007): A novel locus for dementia with Lewy bodies: a clinically and genetically heterogeneous disorder. Brain, <u>130</u>, 2277-2291

- von Bohlen Und Halbach O (2004): Synucleins and their relationship to Parkinson's disease. Cell Tissue Res <u>318</u>, 163-174
- Boka G, Anglade P, Wallach D, Javoy-Agid F, Agid Y, Hirsch EC (1994): Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. Neurosci Lett <u>172</u>, 151-154
- Braak H, Braak E (2000): Pathoanatomy of Parkinson's disease. J Neurol 247, 3-10
- Braak H, Del Tredici K (2004): Poor and protracted myelination as a contributory factor to neurodegenerative disorders. Neurobiol Aging <u>25</u>, 19-23
- Braak H, Del Tredici K, Bratzke H, Hamm-Celement J, Sandmann-Keil D, Rüb U (2002): Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). J Neurol <u>249</u>, 1-5
- Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E (2003a): Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. Neurobiol Aging <u>24</u>, 197-211
- Braak H, Rüb U, Gai WP, Del Tredici K (2003b): Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. J Neural Transm <u>110</u>, 517-536
- Braak H, Ghebremedhin E, Rüb U, Bratzke H, Del Tredici K (2004): Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. Cell Tissue Res <u>318</u>, 121-134
- Braak H, de Vos RA, Bohl J, Del Tredici K (2006): Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's diseaserelated brain pathology. Neurosci Letters <u>396</u>, 67-72
- Brand G (2006): Olfactory/trigeminal interactions in nasal chemoreception. Neurosci Biobehav Rev <u>30</u>, 908-917
- Bras J, Guerreiro R, Darwent L, Parkkinen L, Ansorge O, Escott-Price V, Hernandez DH, Nalls MA, Clark LN, Honig LS et al. (2014): Genetic analysis implicates APOE, SNCA and suggests lysosomal dysfunction in the etiology of dementia with Lewy bodies. Hum Mol Gen <u>23</u>, 6139-6146
- Brett FW, Henson C, Staunton H (2002): Familial diffuse Lewy body disease, eye movement abnormalities, and distribution of pathology. Arch Neurol <u>59</u>, 464-467
- Breydo L, Wu JW, Uversky VN (2012): α-Synuclein misfolding and Parkinson's disease. Biochim Biophys Acta <u>1822</u>, 261-285
- Brown EG, Tanner CM (2017): Impaired Cognition and the Risk of Parkinson Disease: Trouble in Mind. JAMA Neurol <u>74</u>, 1398-1400
- Brunjes PC, Illig KR, Meyer EA (2005): A field guide to the anterior olfactory nucleus (cortex). Brain Res Brain Res Rev <u>50</u>, 305-335
- Buchman VL, Ninkina N (2008): Modulation of alpha-synuclein expression in transgenic animals for modelling synucleinopathies--is the juice worth the squeeze? Neurotox Res <u>13</u>, 329-341

- Buchman VL, Hunter HJ, Pinon LG, Thompson J, Privalova EM, Ninkina NN, Davies AM (1998): Persyn, a member of the synuclein family, has a distinct pattern of expression in the developing nervous system. J Neurosci <u>18</u>, 9335-9341
- Burns RS, Chiueh CC, Markey SP, Ebert MH, Jacobowitz DM, Kopin IJ (1983): A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Proc Natl Acad Sci U S A <u>80</u>, 4546-4550
- Burré J, Sharma M, Tsetsenis T, Buchman V, Etherton MR, Südhof TC (2010): α-Synuclein promotes SNARE-Complex assembly in vivo and in vitro. Science <u>329</u>, 1663-1667
- Cabin DE, Shimazu K, Murphy D, Cole NB, Gottschalk W, McIIwain KL, Orrison B, Chen A, Ellis CE, Paylor R et al. (2002): Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. J Neurosci <u>22</u>, 8797-8807
- Cabin DE, Gispert-Sanchez S, Murphy D, Auburger G, Myers RR, Nussbaum RL (2015): Exacerbated synucleinopathy in mice expressing A53T SNCA on a Snca null background. Neurobiol Aging <u>26</u>, 25-35
- Caviness JN, Adler CH, Hentz JG, Shill HA, Evidente VG, Driver-Dunckley ED, Sabbagh MN, Sue L, Beacj TG (2011): Incidental Lewy body disease: electrophysiological findings suggesting pre-clinical Lewy body disorders. Clin Neurophysiol <u>122</u>, 2426-2432
- Chan DKY, Mellick G, Cai H, Wang XL, Ng PW, Pang CP, Woo J, Kay R (2000): The alphasynuclein gene and Parkinson disease in a Chinese population. Arch Neurol <u>75</u>, 501-503
- Chandra S, Fornai F, Kwon HB, Yazdani U, Atasoy D, Liu X, Hammer RE, Battaglia G, German DC, Castillo PE et al. (2004): Double-knockout mice for alpha- and beta-synucleins: effect on synaptic functions. Proc Natl Acad Sci U S A <u>101</u>, 14966-14971
- Chartier-Harlin MC, Kachergus J, Rourmier C, Mouroux D, Douay X, Lincoln S, Levecque C, Larvor L, Andrieux J, Hulihan M et al. (2004): Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. Lancet <u>364</u>, 1167-1169
- Chen H, Zhang SM, Hernán MA, Schwarzschild MA, Willett WC, Colditz GA, Speizer FE, Ascherio A (2003): Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson disease. Arch Neurol <u>60</u>, 1059-1064
- Chen X, de Silva HA, Pettenati MJ, Rao PN, St George-Hyslop P, Roses AD, Xia Y, Horsburgh K, Uéda K, Saitoh T (1995): The human NACP/alpha-synuclein gene: chromosome assignment to 4q21.3-q22 and TaqI RFLP analysis. Genomics <u>26</u>, 425-427
- Chesselet MF (2008): In vivo alpha-synuclein overexpression in rodents: a useful model of Parkinson's disease? Exp Neurol <u>209</u>, 22-27
- Chiba-Falek O, Nussbaum RL (2001): Effect of allelic variation at the NACP-Rep1 repeat upstream of the alpha-synuclein gene (SNCA) on transcription in a cell culture luciferase reporter system. Hum Mol Gen <u>10</u>, 3101-3109

- Chu Y, Kordower JH (2007): Age-associated increases of alpha-synuclein in monkeys and humans are associated with nigrostriatal dopamine depletion: Is this the target for Parkinson's disease? Neurobiol Dis <u>25</u>, 134-149
- Clayton DF, George JM (1998): The synucleins: a family of proteins involved in synaptic function, plasticity, neurodegeneration and disease. Trends Neurosci <u>21</u>, 249-254
- Clayton DF, George JM (1999): Synucleins in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders. J Neurosci Res <u>58</u>, 120-129
- Colom-Cadena M, Gelpi E, Charif S, Belbin O, Blesa R, Martí MJ, Clarimón J, Lleó A (2013): Confluence of α-synuclein, tau, and β-amyloid pathologies in dementia with Lewy bodies. J Neuropathol Exp Neurol <u>72</u>, 1203-1212
- Colom-Cadena M, Grau-Rivera O, Planellas L, Cerquera C, Morenas E, Helgueta S, Kulisevsky J, Martí MJ, Tolosa E, Clarimon J et al. (2017): Regional Overlap of Pathologies in Lewy Body Disorders. J Neuropathol Exp Neurol <u>76</u>, 216-224
- Conway KA, Harper JD, Lansbury PT (1998): Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alpha-synuclein linked to early-onset Parkinson disease. Nat Med <u>4</u>, 1318-1320
- Cookson MR (2010): Unravelling the role of defective genes. Prog Brain Res 183, 43-57
- Cooper AA, Gitler AD, Cashikar A, Hyness CM, Hill KJ, Bhullar B, Liu K, Xu K, Strathearn KE, Liu F et al. (2006): Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models. Science <u>313</u>, 324-328
- Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D (2004): Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. Science <u>305</u>, 1292-1295
- Daekyun L, Lee SY, Lee EM, Chang CS, Paik SR (2002): alpha-Synuclein exhibits competitive interaction between calmodulin and synthetic membranes. J Neurochem <u>82</u>, 1007-1017
- Darweesh S, Wolters FJ, Postuma RB, Stricker BH, Hofman A, Koudstaal PJ, Ikram MK, Ikram MA (2017): Association Between Poor Cognitive Functioning and Risk of Incident Parkinsonism: The Rotterdam Study. Jama Neurol <u>74</u>, 1431-1438
- Dauer W, Przedborski S (2003) Parkinson's disease: mechanisms and models. Neuron 39, 889-909
- Dauer W, Kholodilov N, Vila M, Trillat AC, Goodchild R, Larsen KE, Staal R, Tieu K, Schmitz Y, Yuan CA et al. (2002): Resistance of alpha-synuclein null mice to the parkinsonian neurotoxin MPTP. Proc Natl Acad Sci U S A <u>99</u>, 14524-14529
- Davidson WS, Jonas A, Clayton DF, George JM (1998): Stabilization of alpha-synuclein secondary structure upon binding to synthetic membranes. J Biol Chem <u>273</u>, 9443-9449
- Dawson TM, Ko HS, Dawson VL (2010): Genetic animal models of Parkinson's disease. Neuron <u>66</u>, 646-661
- De Michele G, Filla A, Marconi R, Volpe G, D'Alessio A, Scala R, Ambrosio G, Campanella G (1995): A genetic study of Parkinson's disease. J Neural Transm Suppl <u>45</u>, 21-25

- De Michele G, Filla A, Volpe G, De Marco V, Gogliettino A, Ambrasio G, Marconi R, Castellano AE, Campanella G (1996): Environmental and genetic risk factors in Parkinson's disease: a case-control study in southern Italy. Mov Disord <u>11</u>, 17-23
- Del Tredici K, Rüb U, De Vos RA, Bohl JR, Braak H (2002): Where does parkinson disease pathology begin in the brain? J Neuropathol Exp Neurol <u>61</u>, 413-426
- DelleDonne A, Klos KJ, Fujishiro H, Ahned Z, Parisi JE, Josephs KA, Frigerio R, Burnett M, Wszolek ZK, Uitti RK et al. (2008): Incidental Lewy body disease and preclinical Parkinson disease. Arch Neurol <u>65</u>, 1074-1080
- Derkinderen P, Rouaud T, Lebouvier T, Bruley des Varannes S, Neunlist M, De Giorgio R (2011): Parkinson disease: the enteric nervous system spills its guts. Neurology <u>77</u>, 1761-1767
- DGN (2016): Idiopathisches Parkinson-Syndrom (Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie). S3-Leitlinie der Deutsche Gesellschaft für Neurologie. https://dgn.org; abgerufen am 15.03.2021
- Di Rosa G, Puzzo D, Sant'Angelo A, Trinchense F, Arancio O (2003): Alpha-synuclein: between synaptic function and dysfunction. Histol Histopathol <u>18</u>, 1257-1266
- Dickson DW, Ruan D, Crystal H, Mark MH, Davies P, Kress Y, Yen SH (1991): Hippocampal degeneration differentiates diffuse Lewy body disease (DLBD) from Alzheimer's disease: light and electron microscopic immunocytochemistry of CA2-3 neurites specific to DLBD. Neurology <u>41</u>, 1402-1409
- Dickson DW, Fujishiro H, DelleDonne A, Menke J, Ahmed Z, Klos KJ, Josephs KA, Frigerio R, Burnett M Parisi JE et al. (2008): Evidence that incidental Lewy body disease is presymptomatic Parkinson's disease. Acta Neuropathol <u>115</u>, 437-444
- Ding TT, Lee SJ, Rochet JC, Lansbury PT Jr. (2002): Annular alpha-synuclein protofibrils are produced when spherical protofibrils are incubated in solution or bound to brain-derived membranes. Biochemistry <u>41</u>, 10209-10217
- Do CB, Tung JY, Dorfman E, Kiefer AK, Drabant EM, Francke U, Mountain JL, Goldman SM, Tanner CM, Langston JW et al. (2011): Web-based genome-wide association study identifies two novel loci and a substantial genetic component for Parkinson's disease. PLoS Genet <u>7</u>, e1002141
- Donaghy PC, McKeith IG (2014): The clinical characteristics of dementia with Lewy bodies and a consideration of prodromal diagnosis. Alzheimers Res Ther <u>6</u>, 46
- Driver JA, Lagroscino G, Gaziano JM, Kurth T (2009): Incidence and remaining lifetime risk of Parkinson disease in advanced age. Neurology <u>71</u>, 432-438
- Du HN, Tang L, Luo XY, Li HT, Hu J, Zhou JW, Hu HY (2003): A peptide motif consisting of glycine, alanine, and valine is required for the fibrillization and cytotoxicity of human alphasynuclein. Biochemistry <u>42</u>, 8870-8878
- Duffy PO, Tennyson VN (1965): Phase and electron microscopic observations of Lewy bodies and melanin granules in the substantia nigra and locus ceruleus in Parkinson's Disease. J Neuropathol Exp Neurol <u>24</u>, 398-414

- Duty S, Jenner P (2011): Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. Br J Pharmacol <u>164</u>, 1357-1391
- Edison P, Rowe CC, Rinne JO, Ng S, Ahmed I, Kemppainen N, Villemagne VL, O'Keefe G, Nagren K, Chaudhury KR et al. (2008): Amyloid load in Parkinson's disease dementia and Lewy body dementia measured with [11C]PIB positron emission tomography. J Neurol Neurosurg Psychiatry <u>79</u>, 1331-1338
- Emmer KL, Waxman EA, Covy JP, Giasson BI (2011): E46K human alpha-synuclein transgenic mice develop Lewy-like and tau pathology associated with age-dependent, detrimental motor impairment. J Biol Chem <u>286</u>, 35104-35118
- Emre M (2003): Dementia associated with Parkinson's disease. Lancet 2, 229-237
- Emre M, Aarsland D, Brown R, Burn DJ, Duychaerts C, Mizuno DW, Gauthier S, Goldman J, Goetz C, Korczyn A et al. (2007): Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. Mov Disord <u>22</u>, 1689-1707
- Farrer MJ (2006): Genetics of Parkinson disease: paradigm shifts and future prospects. Nat Rev Genet 7, 306-318
- Farrer M, Wavrant-De Vrieze F, Crook R, Boles L, Perez-Tur J, Hardy J, Johnson WG, Steele J, Maraganore D, Gwinn K et al. (1998): Low frequency of alpha-synuclein mutations in familial Parkinson's disease. Ann Neurol <u>43</u>, 394-397
- Farrer M, Maraganore DM, Lockhart P, Singleton A, Lesnick TG, de Andrade M, West A, de Silva R, Hardy J, Hernandez D (2001): alpha-Synuclein gene haplotypes are associated with Parkinson's disease. Hum Mol Genet <u>10</u>, 1847-1851
- Farrer M, Kachergus J, Forno L, Lincoln S, Wang DS, Hulihan M, Maraganore D, Gwinn-Hardy K, Wszolek Z, Dickson D et al. (2004): Comparison of kindreds with parkinsonism and alphasynuclein genomic multiplications. Ann Neurol <u>55</u>, 174-179
- Fauvet B, Mbefo MK, Fares MB, Desobry C, Michael S, Ardah MT, Tsika E, Coune P, Prudent M, Lion N et al. (2012): α-Synuclein in central nervous system and from erythrocytes, mammalian cells, and Escherichia coli exists predominantly as disordered monomer. J Biol Chem <u>287</u>, 15345-15364
- Fernagut PO, Chesselet MF (2004): Alpha-synuclein and transgenic mouse models. Neurobiol Dis <u>17</u>, 123-130
- Ferrer I, Santpere G, van Leeuwen FW (2008): Argyrophilic grain disease. Brain 131, 1416-1432
- Fink AL (2006): The aggregation and fibrillation of alpha-synuclein. Acc Chem Res 39, 628-634
- Fleming SM, Salcedo J, Fernagut PO, Rockenstein E, Masliah E, Levine MS, Chesselet MF (2004): Early and progressive sensorimotor anomalies in mice overexpressing wild-type human alphasynuclein. J Neurosci <u>24</u>, 9434-9440
- Fleming SM, Fernagut PO, Chesselet MF (2005): Genetic mouse models of parkinsonism: strengths and limitations. NeuroRx <u>2</u>, 495-503

- Flurkey K, Currer JM, Harrison DE: The Mouse in Aging Research. In: Fahn S, Marsden CD, Caine DB, Goldstein M (Hrsg.): The Mouse in Biomedical Research. Volume 3, 2. Auflage, Elsevier, Amsterdam 2007, 637-672
- Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, Dillon S, Winfield H, Culver S, Trojanowski JG et al. (2001): Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. N Engl J Med <u>344</u>, 710-719
- Freichel C, Neumann M, Ballard T, Müller V, Woolley M, Ozmen L, Borroni E, Kretzschmar HA, Haass C, Spooren W et al. (2007): Age-dependent cognitive decline and amygdala pathology in alpha-synuclein transgenic mice. Neurobiol Aging <u>28</u>, 1421-1435
- Friedman JH (2018): Dementia with Lewy Bodies and Parkinson Disease Dementia: It is the Same Disease! Parkinsonims Realt Disord <u>46</u>, 6-9
- Frigerio R, Fujishiro H, Ahn TB, Josephs KA, Maraganore DM, DelleDonne A, Parisi JE, Klos KJ, Boeve BF, Dickson DW et al. (2011): Incidental Lewy body disease: do some cases represent a preclinical stage of dementia with Lewy bodies? Neurobiol Aging <u>32</u>, 857-863
- Frost B, Diamond MI (2010): Prion-like mechanisms in neurodegenerative diseases. Nat Rev Neurosci <u>11</u>, 155-159
- Galvin JE, Schuck TM, Lee VM, Trojanowski JQ (2001): Differential expression and distribution of alpha-, beta-, and gamma-synuclein in the developing human substantia nigra. Exp Neurol <u>168</u>, 437-355
- Gelb DJ, Oliver E, Gilman S (1999): Diagnostic criteria for Parkinson disease. Arch Neurol <u>56</u>, 33-39
- George JM, Jin H, Woods WS, Clayton DF (1995): Characterization of a novel protein regulated during the critical period for song learning in the zebra finch. Neuron <u>15</u>, 361-372
- George S, Rey NL, Reichenbach N, Steiner JA, Brundin P (2013): α-Synuclein: the long distance runner. Brain Pathol <u>23</u>, 350-357
- Giasson BI, Duda JE, Forman MS, Lee VM, Trojanowski JQ (2001a): Prominent perikaryal expression of alpha- and beta-synuclein in neurons of dorsal root ganglion and in medullary neurons. Exp Neurol <u>172</u>, 354-362
- Giasson BI, Murray IV, Trojanowski JQ, Lee VM (2001b): A hydrophobic stretch of 12 amino acid residues in the middle of alpha-synuclein is essential for filament assembly. J Biol Chem <u>276</u>, 1380-1386
- Giasson BI, Duda JE, Quinn SM, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VM (2002): Neuronal alphasynucleinopathy with severe movement disorder in mice expressing A53T human alphasynuclein. Neuron <u>34</u>, 521-533
- Gibb WR, Lees AJ (1988): The relevance of the Lewy body pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry <u>51</u>, 745-752
- Gibb WR, Scott T, Lees AJ (1991): Neuronal inclusions of Parkinson's disease. Mov Disord 6, 2-11
- Giladi N, McDermott MP, Fahn S, Przedborski S, Jankovic J, Stern M, Tanner C (2001): Freezing of gait in PD: prospective assessment in the DATATOP cohort. Neurology <u>56</u>, 1712-1721
- Gispert S, Del Turco D, Garrett L, Chen A, Bernard DJ, Hamm-Clement J, Korf HW, Deller T, Braak H, Auburger G et al. (2003): Transgenic mice expressing mutant A53T human alphasynuclein show neuronal dysfunction in the absence of aggregate formation. Mol Cell Neurosci <u>24</u>, 419-429
- Goedert M (2015): Neurodegeneration. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A β , tau, and α -synuclein. Science <u>349</u>, 1255555
- Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M (2010): The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. Trends Neurosci <u>33</u>, 317-325
- Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, Poewe W, Sampaio C, Stern MB, Dodel R et al. (2008): Movement Disorder Society- Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale Presentation and Clinimetroc Testing Results. Mov Disord <u>23</u>, 2129-2170
- Goldberg MS, Lansbury PT (2000): Is there a cause-and-effect relationship between alpha-synuclein fibrillization and Parkinson's disease? Nat Cell Biol <u>2</u>, E115-119
- Goldman JG, Goetz CG, Brandabur M, Sanfilippo M, Stebbins GT (2008): Effects of dopaminergic medications on psychosis and motor function in dementia with Lewy bodies. Mov Disord <u>23</u>, 2248-2250
- Gómez-Tortosa E, Newell K, Irizarry MC, Sanders JL, Hyman BT (2000): alpha-Synuclein immunoreactivity in dementia with Lewy bodies: morphological staging and comparison with ubiquitin immunostaining. Acta Neuropathol <u>99</u>, 352-357
- Gomperts SN, Locascio JJ, Marquie M, Santarlasci AL, Rentz DM, Maye J, Johnson KA, Growdon JH (2012): Brain amyloid and cognition in Lewy body diseases. Mov Disord <u>27</u>, 965-973
- Greenbaum EA, Graves CL, Mishizen-Eberz AJ, Lupoli MA, Lynch DR, Englander SW, Axelsen PH, Giasson BI (2005): The E46K mutation in alpha-synuclein increases amyloid fibril formation. J Biol Chem <u>280</u>, 7800-7807
- Guella I, Evans DN, Szu-Tu C, Nosova E, Bortnick SF, SNCA Cognition Study Group, Goldman JG, Dalrymple-Alford JC, Geurtsen GJ, Litvan I, Ross OA et al. (2016) α-synuclein genetic variability: A biomarker for dementia in Parkinson disease. Ann Neurol <u>79</u>, 991-999
- Halliday G, Holton JL, Revesz T, Dickson DW (2011): Neuropathology underlying clinical variability in patients with synucleinopathies. Acta Neuropathol <u>122</u>, 187-204
- Hamilton RL (2000): Lewy bodies in Alzheimer's disease: a neuropathological review of 145 cases using alpha-synuclein immunohistochemistry. Brain Pathol <u>10</u>, 378-384
- Hamilton BA (2004): alpha-Synuclein A53T substitution associated with Parkinson disease also marks the divergence of Old World and New World primates. Genomics <u>83</u>, 739-742
- Hansen LA, Daniel SE, Wilcock GK, Love S (1998): Frontal cortical synaptophysin in Lewy body diseases: relation to Alzheimer's disease and dementia. J Neurol Neurosurg Psychiatry <u>64</u>, 653-656
- Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H (2007): Parkinson's disease: a dual-hit hypothesis. Neuropathol Appl Neurobiol <u>33</u>, 599-614

- Hawkes CH, Del Tredici K, Braak H (2009): Parkinson's disease: the dual hit theory revisited. Ann N Y Acad Sci <u>1170</u>, 615-622
- Hishikawa N, Hashizume Y, Yoshia M, Sobue G (2001): Widespread occurrence of argyrophilic glial inclusions in Parkinson's disease. Neuropathol Appl Neurobiol <u>27</u>, 362-372
- Hoehn MM, Yahr MD (2001): Parkinsonism: onset, progression, and mortality. 1967. Neurology 57, 11-26
- Holmes C, Cairns N, Lantos P, Mann A (1999): Validity of current clinical criteria for Alzheimer's disease, vascular dementia and dementia with Lewy bodies. Br J Psychiatry <u>174</u>, 45-50
- Howlett DR, Whitfield D, Johnson M, Attems J, O'Brien JT, Aarsland D, Lai MK, Lee JH, Chen C, Ballard C et al. (2015): Regional Multiple Pathology Scores Are Associated with Cognitive Decline in Lewy Body Dementias. Brain Pathol <u>25</u>, 401-408
- Hummel T, Livermore A (2002): Intranasal chemosensory function of the trigeminal nerve and aspects of its relation to olfaction. Int Arch Occup Environ Health <u>75</u>, 305-313
- Hunot S, Dugas N, Faucheux B, Hartmann A, Tardieu M, Debré P, Agid Y, Dugas B, Hirsch EC (1999): FcepsilonRII/CD23 is expressed in Parkinson's disease and induces, in vitro, production of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha in glial cells. J Neurosci <u>19</u>, 3440-3447
- Hyun CH, Yoon CY, Lee HJ, Lee SJ (2013): LRRK2 as a Potential Genetic Modifier of Synucleinopathies: Interlacing the Two Major Genetic Factors of Parkinson's Disease. Exp Neurobiol <u>22</u>, 249-257
- Ii K, Ito H, Tanaka K, Hirano A (1997): Immunocytochemical co-localization of the proteasome in ubiquitinated structures in neurodegenerative diseases and the elderly. J Neuropathol Exp Neurol <u>56</u>, 125-131
- Ince PG: Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. In: Dickson D, Weller RO (Hrsg.): Neurodegeneration: the molecular pathology of dementia and movement disorders. 2nd Edition, Wiley-Blackwell, Hoboken 2011, 224-237
- Irwin DJ, Abrams JY, Schonerger LB, Leschek EW, Mills JL, Lee VM, Trojanowski JQ (2013a): Evaluation of potential infectivity of Alzheimer and Parkinson disease proteins in recipients of cadaver-derived human growth hormone. JAMA Neurol <u>70</u>, 462-468
- Irwin DJ, Lee VM, Trojanowski JQ (2013b) Parkinson's disease dementia: convergence of αsynuclein, tau and amyloid-β pathologies. Nat Rev Neurosci <u>14</u>, 626-636
- Irwin DJ, Grossman M, Weintraub D, Hurtig HI, Duda JE, Xie SX, Lee EB, Van Deerlin VM, Lopez OL, Kofler JK et al. (2017) Neuropathological and genetic correlates of survival and dementia onset in synucleinopathies: a retrospective analysis. Lancet <u>16</u>, 55-65
- Iseki E, Marui W, Akiyama H, Uéda K, Kosaka K (2000): Degeneration process of lewy bodies in the brains of patients with Lewy bodies using alpha-synuclein-immunohistochemistry. Neurosci Lett <u>26</u>, 69-73

- Iwai A, Masliah E, Yashimoto M, Ge N, Flanagan L, de Silva HA, Kittel A, Saitoh T (1995a): The precursor protein of non-A beta component of Alzheimer's disease amyloid is a presynaptic protein of the central nervous system. Neuron <u>14</u>, 467-475
- Iwai A, Yashimoto M, Masliah E, Saitoh T (1995b): Non-A beta component of Alzheimer's disease amyloid (NAC) is amyloidogenic. Biochemistry <u>34</u>, 10139-10145
- Jakes R, Spillantini MG, Goedert M (1994): Identification of two distinct synucleins from human brain. FEBS Lett <u>345</u>, 27–32
- Jankovic J (2008): Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry <u>79</u>, 368-376
- Jao CC, Der-Sarkissian A, Chen J, Langen R (2004): Structure of membrane-bound alpha-synuclein studied by site-directed spin labeling. Proc Natl Acad Sci U S A <u>101</u>, 8331-8336
- Javitch JA, D'Amato RJ, Strittmatter SM, Synder SH (1985): Parkinsonism-inducing neurotoxin, Nmethyl-4-phenyl-1,2,3,6 -tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity. Proc Natl Acad Sci U S A <u>82</u>, 2173-2177
- Jellinger KA (2005) Neurodegenerative Erkrankungen (ZNS) Eine aktuelle Übersicht. Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie <u>6</u>, 9-18
- Jellinger KA (2007): Lewy body disorders. In: Lajtha A, Baker G, Dunn S, Holt A (Hrsg.): Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Particular Neurochemistry Methods. Springer, Berlin 2007, 267-343
- Jellinger KA (2009): Formation and development of Lewy pathology: a critical update. J Neurol <u>256</u>, 270-279
- Jellinger KA (2010): Prevalence and impact of cerebrovascular lesions in Alzheimer and lewy body diseases. Neurodegener Dis 7, 112-115
- Jellinger KA (2012): Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: Evaluation and changes of concepts. Mov Disord <u>27</u>, 8-10
- Jellinger KA (2015): Neuropathobiology of non-motor symptoms in Parkinson disease. J Neural Transm (Vienna) <u>122</u>, 1429-1440
- Jellinger KA, Korczyn AD (2018): Are dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia the same disease? BMC Med <u>16</u>, 34
- Jenco JM, Rawlingson A, Daniels B, Morris AJ (1998): Regulation of phospholipase D2: selective inhibition of mammalian phospholipase D isoenzymes by alpha- and beta-synucleins. Biochemistry <u>37</u>, 4901-4909
- Jensen PH, Sörensen ES, Petersen TE, Gliemann J, Rasmussen LK (1995): Residues in the synuclein consensus motif of the alpha-synuclein fragment, NAC, participate in transglutaminase-catalysed cross-linking to Alzheimer-disease amyloid beta A4 peptide. Biochem J <u>310</u>, 91-94

- Ji H, Liu YE, Jia T, Wang M, liu J, Xiao G, Joseph BK, Rosen C, Shi YE (1997): Identification of a breast cancer-specific gene, BCSG1, by direct differential cDNA sequencing. Cancer Res <u>57</u>, 759-764
- Jo E, McLaurin J, Yip CM, St George-Hyslop P, Fraser PE (2000): alpha-Synuclein membrane interactions and lipid specificity. J Biol Chem <u>275</u>, 34328-34334
- Johansen KK, White LR, Sando SB, Aasly JO (2010): Biomarkers: Parkinson disease with dementia and dementia with Lewy bodies. Parkinsonism Relat Disord <u>16</u>, 307-315
- Kahle PJ (2008): alpha-Synucleinopathy models and human neuropathology: similarities and differences. Acta Neuropathol <u>115</u>, 87-95
- Kahle W, Frotschner M (2013): Taschenantlas Neuroanatomie, Band 3: Nervensystem und Sinnesorgane. Thieme, Stuttgart 2013
- Kahle PJ, Neumann M, Ozmen L, Müller V, Jacobson H, Schindzielorz A, Okochi M, Leimer U, van der Putten H, Probst A et al. (2000): Subcellular localization of wild-type and Parkinson's disease-associated mutant alpha -synuclein in human and transgenic mouse brain. J Neurosci <u>20</u>, 6365-6373
- Kahle PJ, Neumann M, Ozmen L, Müller V, Odoy S, Okamoto N, Jacobsen H, Iwatsubo T, Trojanowski JQ, Takahashi H et al. (2001): Selective insolubility of alpha-synuclein in human Lewy body diseases is recapitulated in a transgenic mouse model. Am J Pathol <u>159</u>, 2215-2225
- Kanazawa T, Adachi E, Orimo S, Nakamura A, Mizusawa H, Uchihara T (2012): Pale neurites, premature α-synuclein aggregates with centripetal extension from axon collaterals. Brain Pathol <u>22</u>, 67-78
- Katsuse O, Iseki E, Marui W, Kosaka K (2003): Developmental stages of cortical Lewy bodies and their relation to axonal transport blockage in brains of patients with dementia with Lewy bodies. J Neurol Sci <u>211</u>, 29-35
- Klein JC, Eggers C, kalbe E, Weisenbach S, Hohmann C, Vollmar S, Baudrexel S, Diederich NJ, heiß WD, Hilker R (2010): Neurotransmitter changes in dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia in vivo. Neurology <u>74</u>, 885-892
- Kopito RR (2000): Aggresomes, inclusion bodies and protein aggregation. Trends Cell Biol <u>10</u>, 524-530
- Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, Freeman TB Olanow CW (2008a): Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. Nat Med <u>14</u>, 504-506
- Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, Olanow CW, Freeman TB (2008b): Transplanted dopaminergic neurons develop PD pathologic changes: a second case report. Mov Disord <u>23</u>, 2203-2306
- Kosaka K (1978): Lewy bodies in cerebral cortex, report of three cases. Acta Neuropathol <u>42</u>, 127-134
- Kosaka K, Yoshimura M, Ikeda K, Budka (1984): Diffuse type of Lewy body disease: progressive dementia with abundant cortical Lewy bodies and senile changes of varying degree--a new disease? Clin Neuropathol <u>3</u>, 185-192

- Kovacs GG, Breydo L, Green R, Kis V, Puska G, Lörincz P, Perju-Dumbrava L, Giera R, Pirker W, Lutz M et al. (2014): Intracellular processing of disease-associated α-synuclein in the human brain suggests prion-like cell-to-cell spread. Neurobiol Dis <u>69</u>, 76-92
- Kramer ML, Schulz-Schaeffer WJ (2007): Presynaptic alpha-synuclein aggregates, not Lewy bodies, cause neurodegeneration in dementia with Lewy bodies. J Neurosci <u>27</u>, 1405-1410
- Krüger R, Kuhn W, Müller T, Woitalla D, Graeber M, Kösel S, Przuntek H, Epplen JT, Schöls L, Riess O (1998) Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. Nat Genet <u>18</u>, 106-108
- Kuo YM, Li Z, Jiao Y, Gaborit N, Pani AK, Orrison BM, Bruneau BG, Giasson BI, Smeyne RJ, Gershon MD, Nussbaum RL (2010) Extensive enteric nervous system abnormalities in mice transgenic for artificial chromosomes containing Parkinson disease-associated alpha-synuclein gene mutations precede central nervous system changes. Hum Mol Genet <u>19</u>, 1633-1650
- Lang AE, Lozano AM (1998a): Parkinson's disease. First of two parts. N Engl J Med <u>339</u>, 1044-1053
- Lang AE, Lozano AM (1998b) Parkinson's disease. Second of two parts. N Engl J Med <u>339</u>, 476-494
- Lang CJ, Bergmann M (2002): [Dementias with Lewy bodies]. Fortschr Neurol Psychiatr <u>70</u>, 476-494
- Langston JW (1987): MPTP: insights into the etiology of Parkinson's disease. Eur Neurol 26, 2-10
- Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I (1983): Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. Science <u>219</u>, 979-980
- Lashuel HA, Petre BM, Wall J, Simon M, Nowak RJ, Walz T, Lansbury PT Jr. (2002): Alphasynuclein, especially the Parkinson's disease-associated mutants, forms pore-like annular and tubular protofibrils. J Mol Biol <u>322</u>, 1089-1102
- Lavedan C, Dehejia A, Pike BL, Dutra A, Leroy E, Ide SE, Root H, Rubenstein J, Boyer RL, Chandrashekharappa S et al. (1998a): Contig map of the Parkinson's disease region on 4q21q23. DNA Res <u>5</u>, 19-23
- Lavedan C, Leroy E, Deheja A, Buchholtz S, Dutra A, Nussbaum RL, Polymeropoulos MH (1998b): Identification, localization and characterization of the human gamma-synuclein gene. Hum Genet <u>103</u>, 106-112
- Lebouvier T, Chaumette T, Pailusson S, Duychaerts C, Bruley de Varannes S, Neunlist M, Derkinderen P (2009): The second brain and Parkinson's disease. Eur J Neurosci <u>30</u>, 735-741
- Lee FJ, Liu F, Pristuba ZB, Niznik HB (2001) Direct binding and functional coupling of alphasynuclein to the dopamine transporters accelerate dopamine-induced apoptosis. FASEB J <u>15</u>, 916-926
- Lee MK, Stirling W, Xu Y, Xu X, Qui D, Mandir AS, Dawson TM, Copeland NG, Jenkins NA, Price DL (2002) Human alpha-synuclein-harboring familial Parkinson's disease-linked Ala-53 --> Thr mutation causes neurodegenerative disease with alpha-synuclein aggregation in transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A <u>99</u>, 8968-8973

- Lee SJ, Lim HS, Masliah E, Lee HJ (2011): Protein aggregate spreading in neurodegenerative diseases: problems and perspectives. Neurosci Res <u>70</u>, 339-348
- Lesage S, Brice A (2009): Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. Hum Mol Genet <u>18</u>, R48-R59
- Leverenz JB, Hamilton R, Tsuang DW, Schantz A, Vavrek D, Larson EB, Kukull WA, Lopez O, Galasko D, Masliah E et al. (2008): Empiric refinement of the pathologic assessment of Lewyrelated pathology in the dementia patient. Brain Pathol <u>18</u>, 2020-224
- Lewy FH: Paralysis agitans. In: Lewandowsky M (Hrsg.): Handbuch der Neurologie, Dritter Band: Spezielle Neurologie I. Springer, Berlin 1912, 920-933
- Lewy FH (1914): Zur pathologischen Anatomie der Paralysis agitans. Dtsch Z Nervenheilk <u>50</u>, 50-55
- Li JY, Jensen H, Dahlström A (2002): Differential localization of alpha-, beta- and gammasynucleins in the rat CNS. Neuroscience <u>113</u>, 463-478
- Li JY, Englund EU, Holton JL, Soulet D, Hagell P, Lees AJ, Lashley T, Quinn NP, Rehncrona S, Björklund A et al. (2008): Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. Nat Med <u>14</u>, 501-503
- Lindersson E, Beedholm R, Höjrup P, Moos T, Gai W, Hendil KB, Jensen PH (2004) Proteasomal inhibition by alpha-synuclein filaments and oligomers. J Biol Chem <u>279</u>, 12924-12934
- Lippa CF, Fujiwara H, Mann DM, Giasson B, Baba M, Schmidt ML, Nee LE, O'Connell B, Pollen DA, St George-Hyslop P et al. (1998): Lewy bodies contain altered alpha-synuclein in brains of many familial Alzheimer's disease patients with mutations in presenilin and amyloid precursor protein genes. Am J Pathol <u>153</u>, 1365-1370
- Lippa CF, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ (1999): Antibodies to alpha-synuclein detect Lewy bodies in many Down's syndrome brains with Alzheimer's disease. Ann Neurol <u>45</u>, 353-357
- Lippa CF, Duda J, Grossmann M, Hurtig HI, Aarsland D, Boeve BF, Brooks DJ, Dickson DW, Dubois B, Emre M et al. (2017): DLB and PDD boundary issues: diagnosis, treatment, molecular pathology, and biomarkers. Neurology <u>68</u>, 812-819
- Liscovitch M, Czarny M, Fiucci G, Tang X (2000): Phospholipase D: molecular and cell biology of a novel gene family. Biochem J <u>3</u>, 401-415
- Lotharius J, Brundin P (2002a): Impaired dopamine storage resulting from alpha-synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. Hum Mol Genet <u>11</u>, 2395-2407
- Lotharius J, Brundin P (2002b): Pathogenesis of Parkinson's disease: dopamine, vesicles and alphasynuclein. Nat Rev Neurosci <u>3</u>, 931-942
- Luk KC, Song C, O'Brien P, Stieber A, Branch JR, Brunden KR, Trojanowski JQ, Lee VM (2009): Exogenous alpha-synuclein fibrils seed the formation of Lewy body-like intracellular inclusions in cultured cells. Proc Natl Acad Sci U S A <u>106</u>, 20051-20056

- Marder K, Tang MX, Mejia H, Alfaro B, Côté L, Louis E, Groves J, Mayeux R (1996): Risk of Parkinson's disease among first-degree relatives: A community-based study. Neurology <u>47</u>, 155-160
- Maroteaux L, Scheller RH (1991): The rat brain synucleins; family of proteins transiently associated with neuronal membrane. Brain Res Mol Brain Res <u>11</u>, 335-343
- Maroteaux L, Campanellei JT, Scheller RH (1988): Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. J Neurosci <u>8</u>, 2804-2815
- Martinez J, Moeller I, Erdjument-Bromage H, Temps P, Lauring B (2003): Parkinson's diseaseassociated alpha-synuclein is a calmodulin substrate. J Biol Chem <u>278</u>, 17379-17387
- Marui W, Iseki E, Nakai T, Miura S, Kato M, Uéda K, Kosaka K (2002): Progression and staging of Lewy pathology in brains from patients with dementia with Lewy bodies. J Neurol Sci <u>195</u>, 153-159
- Maskri L, Zhu X, Fritzen S, Kühn K, Ullmer C, Engels P, Andriske M, Stichel CC, Lübbert H (2004): Influence of different promoters on the expression pattern of mutated human alphasynuclein in transgenic mice. Neurodegener Dis <u>1</u>, 255-265
- Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, Mallory M, Hashimoto M, Takeda A, Sagara Y, Sisk A, Mucke L (2000): Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. Science <u>287</u>, 1265-1269
- Matsuoka Y, Vila M, Lincoln A, McCormack A, Picciano M, LeFrancois J, Yuu X, Dickson D, Langston MJ, McGowan E et al. (2001): Lack of nigral pathology in transgenic mice expressing human alpha-synuclein driven by the tyrosine hydroxylase promoter. Neurobiol Dis <u>8</u>, 535-539
- Mayeux R Denaro J, Hemenegildo N, Marder K, Tang MC, Cote LJ, Stern Y et al. (1992): A population-based investigation of Parkinson's disease with and without dementia. Relationship to age and gender. Arch Neurol <u>49</u>, 492-497
- Mayo MC, Bordelon Y (2014): Dementia with Lewy bodies. Semin Neurol 34, 182-188
- McGeer PL, McGeer EG (2008): Glial reactions in Parkinson's disease. Mov Disord 23, 474-483
- McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG (1988): Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. Neurology <u>38</u>, 1285-1291
- McGeer PL, Schulzer M, McGeer EG (1996): Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies. Neurology <u>47</u>, 425-432
- McKeith IG, Mosimann UP (2004): Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord <u>10</u>, 15-18
- McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, Perry EK, Dickson DW, Hansen LA, Salmon DP, Lowe J, Mirra SS, Byrne EJ et al. (1996): Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. Neurology <u>47</u>, 1113-1124

- McKeith IG, Perry EK, Perry RH (1999): Report of the second dementia with Lewy body international workshop: diagnosis and treatment. Consortium on Dementia with Lewy Bodies. Neurology <u>53</u>, 902-905
- McKeith IG, Ballard CG, Perry RH, Ince PG, O'Brien JT, Neill D, Lowery K, Jaros E, Barber R, Thompson P et al. (2000): Prospective validation of consensus criteria for the diagnosis of dementia with Lewy bodies. Neurology <u>54</u>, 1050-1058
- McKeith IG, Burn DJ, Ballard CG, Collerton D, Jaros E, Morris CM, McLaren A, Perry EK, Perry R, Piggott MA et al. (2003): Dementia with Lewy bodies. Semin Clin Neuropsychiatry <u>8</u>, 46-57
- McKeith IG, Mintzer K, Aarsland D, Burn D, Chiu H, Cohen-Mansfield J, Dickson D, Dubois B, Duda JE, Feldman H et al. (2004): Dementia with Lewy bodies. Lancet Neurol <u>3</u>, 19-28
- McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, Cummings J, Duda JE, Lippa C, Perry EK et al. (2005): Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. Neurology <u>65</u>, 1863-1872
- McNaught KS, Shashidharan P, Perl DP, Jenner P, Olanow CW (2002): Aggresome-related biogenesis of Lewy bodies. Eur J Neurosci <u>16</u>, 2136-2148
- McNaught KS, Jackson R, JnoBaptiste R, Kapustin A, Olanow CW (2006): Proteasomal dysfunction in sporadic Parkinson's disease. Neurology <u>66</u>, 37-49
- Meeus B, Theuns J, Van Broeckhoven C (2012): The genetics of dementia with Lewy bodies: what are we missing? Arch Neurol <u>69</u>, 1113-1118
- Mori F, Tanji K, Yoshimoto M, Takahashi H, Wakabayashi K (2002a): Demonstration of alphasynuclein immunoreactivity in neuronal and glial cytoplasm in normal human brain tissue using proteinase K and formic acid pretreatment. Exp Neurol <u>176</u>, 98-104
- Mori F, Tanja K, Yoshimoto M, Takahashi H, Wakabayashi K (2002b): Immunohistochemical comparison of alpha- and beta-synuclein in adult rat central nervous system. Brain Res <u>941</u>, 118-126
- Mullin S, Schapira A (2015): The genetics of Parkinson's disease. Br Med Bull 114, 39-52
- Munhoz RP, Moro A, Silviera-Moriyama L, Teive HA (2015): Non-motor signs in Parkinson's disease: a review. Arq Neuropsiquiatr <u>73</u>, 454-462
- Murphy DD, Rueter SM, Trojanowski JQ, Lee VM (2000): Synucleins are developmentally expressed, and alpha-synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. J Neurosci 20, 3214-3220
- Nakajo S, Tsukada K, Omata K, Nakamura Y, Nakaya K (1993): A new brain-specific 14-kDa protein is a phosphoprotein. Its complete amino acid sequence and evidence for phosphorylation. FEBS J <u>217</u>, 1057-1963
- Nalls MA, Duran R, Lopez G, Kurzawa-Akanbi M, McKeith IG, Chinnery PF, Morris CM, Theuns J, Crosires D, Cras P et al. (2013): A multicenter study of glucocerebrosidase mutations in dementia with Lewy bodies. JAMA Neurol <u>70</u>, 727-735
- Neef D, Walling AD (2006): Dementia with Lewy bodies: an emerging disease. Am Fam Physiocian <u>73</u>, 1223-1229

- Neumann M, Kahle PJ, Giasson BI, Ozmen L, Borroni E, Spooren W, Müller V, Odoy S, Fujiwara H, Hasegawa M et al. (2002): Misfolded proteinase K-resistant hyperphosphorylated alphasynuclein in aged transgenic mice with locomotor deterioration and in human alphasynucleinopathies. J Clin Invest <u>110</u>, 1429-1439
- Newell KL, Boyer P, Gomez-Tortosa E, Hobbs W, Hedley-Whyte ET, Vonsattel JP, Hyman BT (1999): Alpha-synuclein immunoreactivity is present in axonal swellings in neuroaxonal dystrophy and acute traumatic brain injury. J Neuropathol Exp Neurol <u>58</u>, 1263-1268
- Nicklas WJ, Vyas I, Heikkila RE (1985): Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-pyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. Life Sci <u>36</u>, 2503-2508
- Nonaka T, Watanabe ST, Iwatsubo T, Hasegawa M (2010): Seeded aggregation and toxicity of {alpha}-synuclein and tau: cellular models of neurodegenerative diseases. J Biol Chem <u>285</u>, 34885-34898
- Olanow CW, Prusiner SB (2009): Is Parkinson's disease a prion disorder? Proc Natl Acad Sci U S A <u>106</u>, 12571-12572
- Paisán-Ruiz C, Li A, Schneider SA, Holton JL, Johnson R, Kidd D, Chataway J, Bhatia KP, Lees AJ, Hardy J (2012): Widespread Lewy body and tau accumulation in childhood and adult onset dystonia-parkinsonism cases with PLA2G6 mutations. Neurobiol Aging <u>33</u>, 814-823
- Pappolla MA, Shank DL, Alzofon J, Dudley AW (1988): Colloid (hyaline) inclusion bodies in the central nervous system: their presence in the substantia nigra is diagnostic of Parkinson's disease. Hum Pathol <u>19</u>, 27-31
- Payami H, Larsen K, Bernard S, Nutt J (1994): Increased risk of Parkinson's disease in parents and siblings of patients. Ann Neurol <u>36</u>, 659-661
- Perez RG, Waymire JC, Lin E, Liu JJ, Guo F, Zigmond MJ (2002): A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. J Neurosci <u>22</u>, 3090-3099
- Perrin RJ, Woods WS, Clayton DF, George JM (2001): Exposure to long chain polyunsaturated fatty acids triggers rapid multimerization of synucleins. J Biol Chem <u>276</u>, 41958-41962
- Petrucelli L, O'Farrell C, Lockhart PJ, Baptista M, Kehoe K, Vink L, Choi P, Wolozin B, Farrer M, Hardy J, Cookson MR (2002): Parkin protects against the toxicity associated with mutant alpha-synuclein: proteasome dysfunction selectively affects catecholaminergic neurons. Neuron <u>36</u>, 1007-1019
- Piao YS, Wakabayashi K, Hayashi S, Yishimoto M, Takahashi H (2000): Aggregation of alphasynuclein/NACP in the neuronal and glial cells in diffuse Lewy body disease: a survey of six patients. Clin Neuropathol <u>19</u>, 163-169
- Piao YS, Mori F, Hayashi S, Tanji K, Yoshimoto M, Kakita A, Wakabayashi K, Takahashi H (2003): Alpha-synuclein pathology affecting Bergmann glia of the cerebellum in patients with alphasynucleinopathies. Acta Neuropathol <u>105</u>, 403-409

- Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, Sanges G, Stenroos ES, Pho LT, Schaffer AA et al. (1996): Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. Science <u>274</u>, 1197-1199
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R et al. (1997): Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. Science <u>276</u>, 2045-2047
- Postuma RB, Berg D (2017): The New Diagnostic Criteria for Parkinson's Disease. Int Rev Neurobiol <u>132</u>, 55-78
- Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, Obeso J, Marek K, Litvan I, Lang AE et al. (2015): MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. Mov Disord <u>30</u>, 1591-1601
- Pountney DL, Loew R, Quilty M, Vickers JC, Voelcker NH, Gai WP (2004): Annular alphasynuclein species from purified multiple system atrophy inclusions. J Neurochem <u>90</u>, 502-512
- Prusiner SB (1982): Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science 216, 136-144
- van der Putten H, Wiederhold KH, Probst A, Barbieri S, Mistl C, Danner S, Kauffmann S, Hofele K, Spooren WP, Ruegg MA (2000): Neuropathology in mice expressing human alphasynuclein. J Neurosci <u>20</u>, 6021-6029
- Rahkonen T, Eleoniemi-Sulkava U, Rissanen S, Vatanen A, Viramo P, Sulkava R (2003): Dementia with Lewy bodies according to the consensus criteria in a general population aged 75 years or older. J Neurol Neurosurg Psychiatry <u>74</u>, 720-724
- Rathke-Hartlieb S, Kahle PJ, Neumann M, Ozmen L, Haid S, Okochi M, Haass C, Schulz (2001): Sensitivity to MPTP is not increased in Parkinson's disease-associated mutant alpha-synuclein transgenic mice. J Neurochem <u>77</u>, 1181-1184
- Richard IH, Papka M, Rubio A, Kurlan R (2002): Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies: one disease or two? Mov Disord <u>17</u>, 1161-1165
- Riek R, Hornemann S, Wider G, Billeter M, Glockshuber R, Wüthrich K (1996): NMR structure of the mouse prion protein domain PrP(121-231). Nature <u>382</u>, 180-182
- Rochet JC, Conway KA, Lansbury PT (2000): Inhibition of fibrillization and accumulation of prefibrillar oligomers in mixtures of human and mouse alpha-synuclein. Biochemistry <u>39</u>, 10619-10626
- Rockenstein EJ, Mallory M, Hasimoto M, Song D, Shults CW, Lang I, Masliah E (2002): Differential neuropathological alterations in transgenic mice expressing alpha-synuclein from the platelet-derived growth factor and Thy-1 promoters. J Neurosci Res <u>68</u>, 568-578
- Roy S, Wolman L (1969): Ultrastructural observations in Parkinsonism. J Pathol 99, 39-44
- Saito Y, Kawashima A, Ruberu NN, Fujiwara H, Koyama S, Sawabe M, Arai T, Nagura H, Yamanouchi H, Hasegwaw M et al. (2003): Accumulation of phosphorylated alpha-synuclein in aging human brain. J Neuropathol Exp Neurol <u>62</u>, 644-654
- Saito Y, Suzuki K, Hulette CM, Murayama S (2004): Aberrant phosphorylation of alpha-synuclein in human Niemann-Pick type C1 disease. J Neuropathol Exp Neurol <u>63</u>, 323-328

- Saiz-Sanchez D, Ubeda-Banon I, de la Rosa-Prieto C, Argandona-Palacios L, Garcia-Munozguren S, Insausti R, Martinez-Marcos A (2010): Somatostatin, tau, and beta-amyloid within the anterior olfactory nucleus in Alzheimer disease. Exp Neurol <u>223</u>, 347-350
- Salach JI, Singer TP, Castagnoli Jr. N, Trevor A (1984): Oxidation of the neurotoxic amine 1methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) by monoamine oxidases A and B and suicide inactivation of the enzymes by MPTP. Biochem Biophys Res Commun <u>125</u>, 831-835
- Sandmann-Keil D, Braak H (2005): Zur postmortalen Diagnose des idiopathischen Morbus Parkinson. Pathologe <u>26</u>, 214-220
- Satzger W, Hampel H, Padberg F, Bürger K, Nolde T, Ingrassia G, Engel RR (2001): Zur praktischen Anwendung der CERAD-Testbatterie als neuropsychologisches Demenzscreening. Nervenarzt <u>72</u>, 196-203
- Schallert T, Fleming SM (2009): Dopamine und Motor Function in Rat and Mouse Models of Parkinson's Disease, In: Iversen L, Iversen S, Dunnett S, Bjorklund A (Hrsg.): Dopamine Handbook, Oxford University Press, Oxford, 2009, 338-347
- Schapira AH (2006): Etiology of Parkinson's disease. Neurology 66, 10-23
- Schlüter OM, Fornai F, Alessandri MG, Takamori S, Geppert M, Jahn R, Südhof TC (2003): Role of alpha-synuclein in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism in mice. Neuroscience <u>118</u>, 985-1002
- Schulz-Schaeffer WJ (2010): The synaptic pathology of α-synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. Acta Neuropathol <u>120</u>, 131-143
- Schulz-Schaeffer WJ (2012): Neurodegeneration in Parkinson disease: moving Lewy bodies out of focus. Neurology <u>79</u>, 2298-2299
- Schulz-Schaeffer WJ (2015): Is Cell Death Primary or Secondary in the Pathophysiology of Idiopathic Parkinson's Disease? Biomolecules <u>5</u>, 1467-1479
- Schulz-Schaeffer WJ, Tschöke S, Kranefuss N, Dröse W, Hause-Reitner D, Giese A, groschup MH, Kretzschmar HA (2000): The paraffin-embedded tissue blot detects PrP(Sc) early in the incubation time in prion diseases. Am J Pathol <u>156</u>, 51-56
- Scott D, Roy S (2012): α-Synuclein inhibits intersynaptic vesicle mobility and maintains recyclingpool homeostasis. J Neurosci <u>32</u>, 10129-10135
- Seidel K, Mahlke J, Siswanto S, Krüger R, Heinsen H, Auburger G, Bouzrou M, Grinberg LT, Wicht H, Korf HW et al. (2015): The brainstem pathologies of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. Brain Pathol <u>25</u>, 121-135
- Seidel K, Bouzrou M, Heidemann N, Krüger R, Schöls L, den Dunnen WF, Korf HW, Rüb U (2017): Involvement of the Cerebellum in Parkinson Disease and dementia with Lewy Bodies. Ann Neurol <u>81</u>, 898-903
- Sekigawa A, Takamatsu Y, Sekiyama K, Hashimoto M, Witt SN (2015): Role of α- and β-Synucleins in the Axonal Pathology of Parkinson's Disease and Related Synucleinopathies. Biomolecules <u>5</u>, 1000-1011

- Sellbach AN, Boyle RS, Silburn PA, Mellick GD (2006): Parkinson's disease and family history. Parkinsonism Realt Disord <u>12</u>, 399-409
- Sharon R, Goldberg MS, Bar-Josef I, Betenesky RA, Shen J, Selkoe DJ (2001): alpha-Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins. Proc Natl Acad Sci U S A <u>98</u>, 9110-9115
- Shibasaki Y, Baillie DA, St Clair D, Brookes AJ (1995): High-resolution mapping of SNCA encoding alpha-synuclein, the non-A beta component of Alzheimer's disease amyloid precursor, to human chromosome 4q21.3-->q22 by fluorescence in situ hybridization. Cytogent Cell Genet <u>71</u>, 54-55
- Shibayama-Imazu T, Okahashi I, Omata K, Nakajo S, Ochiai H, Nakai Y, Hama T, Nakamura Y, Nakaya K (1993): Cell and tissue distribution and developmental change of neuron specific 14 kDa protein (phosphoneuroprotein 14). Brain Res <u>622</u>, 17-25
- Shusterman D (2009) Qualitative effects in nasal trigeminal chemoreception. Ann N Y Acad Sci <u>1170</u>, 196-201
- Sidhu A, Wersinger C, Vernier P (2004): Does alpha-synuclein modulate dopaminergic synaptic content and tone at the synapse? FASEB J <u>18</u>, 637-647
- Singer TP, Salach JI, Castagnoli N, Trevor Jr A (1986): Interactions of the neurotoxic amine 1methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine with monoamine oxidases. Biochem J <u>235</u>, 785-789
- Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum F et al. (2003): alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. Science <u>302</u>, 841
- Smith WW, Jiang H, Pei Z, Tanaka Y, Morita H, Sawa A, Dawson VL, Dawson TM, Ross CA (2005): Endoplasmic reticulum stress and mitochondrial cell death pathways mediate A53T mutant alpha-synuclein-induced toxicity. Hum Mol Genet <u>14</u>, 3801-3811
- Snyder H, Mensah K, Theisler C, Lee J, Matouschek Wolozin B (2003): Aggregated and monomeric alpha-synuclein bind to the S6' proteasomal protein and inhibit proteasomal function. J Biol Chem <u>278</u>, 11753-11759
- Spillantini MG, Goedert M (2000): The alpha-synucleinopathies: Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. Ann N Y Acad Sci <u>920</u>, 16-27
- Spillantini MG, Divane A, Goedert M (1995): Assignment of human alpha-synuclein (SNCA) and beta-synuclein (SNCB) genes to chromosomes 4q21 and 5q35. Genomics <u>27</u>, 379-381
- Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M (1997): Alphasynuclein in Lewy bodies. Nature <u>388</u>, 839-840
- Spillantini MG, Tolnay M, Love S, Goedert M (1999): Microtubule-associated protein tau, heparan sulphate and alpha-synuclein in several neurodegenerative diseases with dementia. Acta Neuropathol <u>97</u>, 585-594
- Spires-Jones TL, Attems J, Thal DR (2017): Interactions of pathological proteins in neurodegenerative diseases. Acta Neuropathol <u>134</u>, 187

- Springer W, Kahle PJ (2006): Mechanisms and models of alpha-synuclein-related neurodegeneration. Curr Neurol Neurosci Rep <u>6</u>, 432-436
- Stefanis L, Larsen KE, Rideout HJ, Sulzer D, Greene LA (2001): Expression of A53T mutant but not wild-type alpha-synuclein in PC12 cells induces alterations of the ubiquitin-dependent degradation system, loss of dopamine release, and autophagic cell death. J Neurosci <u>21</u>, 9549-9560
- Stevens T, Livingston G, Kitchen G, Manela M, Walker Z, Katona C (2002): Islington study of dementia subtypes in the community. Br J Psychiatry <u>180</u>, 270-276
- Surgucheva I, McHamon B, Surguchov A (2006): gamma-synuclein has a dynamic intracellular localization. Cell Motil Cytoskeleton <u>63</u>, 447-458
- Suzuki K, Iseki E, Togo T, Yamaguchi A, Katsuse O, Katsuyama K, Kanzaki S, Shiozaki K, Kawanashi C, Yamashita S (2007): Neuronal and glial accumulation of alpha- and betasynucleins in human lipidoses. Acta Neuropathol <u>114</u>, 481-489
- Takahashi H, Iwanaga K, Egawa S, Ikatu F (1994): Ultrastructural Relationship between Lewy Bodies and Pale Bodies Studied in Locus Ceruleus Neurons of a Non-Parkinsonian Patient. Neuropathology <u>14</u>, 73-80
- Tanaka Y, Engelender S, Igarashi S, Rao RK, Wanner T, Tanzi RE, Sawa A, Dawson VL, Dawson TM, Ross CA (2001): Inducible expression of mutant alpha-synuclein decreases proteasome activity and increases sensitivity to mitochondria-dependent apoptosis. Hum Mol Genet <u>10</u>, 919-926
- Tanner CM (2003): Is the cause of Parkinson's disease environmental or hereditary? Evidence from twin studies. Adv Neurol <u>91</u>, 133-142
- Tobe T, Nakajo S, Tanaka A, Mitoya A, Omata K, Nakaya K, Tomita M, Nakamura Y (1992): Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel brain-specific 14-kDa protein. J Neurochem <u>59</u>, 1624-1629
- Touchman JW, Dehejia A, Chiba-Falek O, Cabin DE, Schwartz JR, Rossin BM, Polymeropoulos MH, Nussbaum RL (2001): Human and mouse alpha-synuclein genes: comparative genomic sequence analysis and identification of a novel gene regulatory element. Genome Res <u>11</u>, 78-86
- Trepel M: Neuroanatomie. Struktur und Funktion. 7. Auflage. Urban und Fischer Verlag / Elsevier GmbH, München 2017
- Trojanowski JQ, Lee VM (2003): Parkinson's disease and related alpha-synucleinopathies are brain amyloidoses. Ann N Y Acad Sci <u>991</u>, 107-100
- Tsuang DW, DiGiacomo L, Bord TD (2004): Familial occurrence of dementia with Lewy bodies. Am J Geriatr Psychiatry <u>12</u>, 179-188
- Tsuang D, Leverenz JB, Lopez OL, Hamilton RL, Bennett DA, Schneider JA, Buchman AS, Larson EB, Crane PK (2013): APOE ε4 increases risk for dementia in pure synucleinopathies. JAMA Neurol <u>70</u>, 223-228
- Tsuobi Y, Dickson DW (2005): Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease with dementia: are they different? Parkinsonism Relat Disord <u>11</u>, 47-51

- Twelves D, Perkins KS, Counsell C (2003): Systematic review of incidence studies of Parkinson's disease. Mov Disord <u>18</u>, 19-31
- Uéda K, Fukushima H, Masliah E, Xia J, Iwai A, Yoshimoto M, Otero DA, Kondo J, Ihara J, Saitoh T (1993): Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. Proc Natl Acad Sci U S A <u>90</u>, 11282-11286
- Uversky VN (2003): Protein folding revisited. A polypeptide chain at the folding-misfoldingnonfolding cross- roads: which way to go? Cell Mol Life Sci <u>60</u>, 1852-1871
- Uversky VN (2007): Neuropathology, biochemistry, and biophysics of alpha-synuclein aggregation. J Neurochem <u>103</u>, 17-37
- Uversky VN, Fink AL (2004): Conformational constraints for amyloid fibrillation: the importance of being unfolded. Biochim Biophys Acta <u>1698</u>, 131-153
- Uversky VN, Li J, Fink AL (2001a): Evidence for a partially folded intermediate in alpha-synuclein fibril formation. J Biol Chem <u>276</u>, 10737-10744
- Uversky VN, Li J, Fink AL (2001b): Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein. A possible molecular NK between Parkinson's disease and heavy metal exposure. J Biol Chem <u>276</u>, 44284-44296
- Vann Jones SA, O'Brien JT (2014): The prevalence and incidence of dementia with Lewy bodies: a systematic review of population and clinical studies. Psychol Med <u>44</u>, 673-683
- Vaughan J, Durr A, Tassin J, Bereznai B, Gasser T, Bonifati V, DeMichele G, Fabrizio E, Volpe G, Bandmann O et al. (1998): The alpha-synuclein Ala53Thr mutation is not a common cause of familial Parkinson's disease: a study of 230 European cases. European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. Ann Neurol <u>44</u>, 270-273
- in t' Veld BA, Ruitenberg A, Hofman A, Launer DJ, van Duijn CM, Stijnen T, Breteler MM, Stricker BH (2001): Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease. N Engl J Med <u>345</u>, 1515-1521
- Vergouw LJM, van Steenhoven I, van de Berg WDJ, Teunissen CE, van Swieten JC, Bonifati V, Lemstra AW, de Jong FJ (2017): An update on the genetics of dementia with Lewy bodies. Parkinsonism Relat Disord <u>43</u>, 1-8
- Visanji NP, Brooks PL, Hazrati LN, Lang AE (2013): The prion hypothesis in Parkinson's disease: Braak to the future. Acta Neuropathol Commun <u>1</u>, 2
- Volles MJ, Lansbury PT (2002): Vesicle permeabilization by protofibrillar alpha-synuclein is sensitive to Parkinson's disease-linked mutations and occurs by a pore-like mechanism. Biochemistry <u>4</u>, 4595-4602
- Wakabayashi K, Takahashi H, Takeda S, Ohama E, Ikuta F (1988): Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses. Acta Neuropathol <u>76</u>, 217-221
- Wakabayashi K, Hayashi S, Kakita A, Yamada M, Toyoshima Y, Yoshimoto M, Takahashi H (1998): Accumulation of alpha-synuclein/NACP is a cytopathological feature common to Lewy body disease and multiple system atrophy. Acta Neuropathol <u>96</u>, 445-452

- Wakabayashi K, Takahashi H, Obata K, Ikuta F (1992:) Immunocytochemical localization of synaptic vesicle-specific protein in Lewy body-containing neurons in Parkinson's disease. Neurosci Lett <u>138</u>, 237-240
- Wakabayashi K, Takahashi H, Ohama E, Takeda S, Ikuta F (1993) Lewy bodies in the visceral autonomic nervous system in Parkinson's disease. Adv Neurol <u>60</u>, 609-612
- Wakabayashi K, Hayashi S, Yoshimoto M, Kudo H, Takahashi H (2000): NACP/alpha-synucleinpositive filamentous inclusions in astrocytes and oligodendrocytes of Parkinson's disease brains. Acta Neuropathol <u>99</u>, 14-20
- Wakabayashi K, Tanji K, Mori F, Takahashi H (2007): The Lewy body in Parkinson's disease: molecules implicated in the formation and degradation of alpha-synuclein aggregates. Neuropathology <u>27</u>, 494-506
- Wakabayashi K, Tanji K, Odagiri S, Miki Y, Mori F, Takahashi H (2013): The Lewy body in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. Mol Neurobiol <u>47</u>, 495-508
- Walker L, McAleese KE, Thomas AJ, Johnson M, Martin-Ruiz C, Parker C, Colloby SJ, Jellinger K, Attems J (2015) Neuropathologically mixed Alzheimer's and Lewy body disease: burden of pathological protein aggregates differs between clinical phenotypes. Acta Neuropathol <u>129</u>, 729-748
- Walker Z, Possin KL, Boeve BF, Aarsland D (2015): Lewy body dementias. Lancet 386, 1683-1697
- Walton R, Soto-Ortolaza AI, Murray ME, Lorenzo-Betancor O, Ogaki K, Heckmann MG, Rayaprolu S, Rodemakers R, Ertekin-Taner N, Uitti RJ et al. (2016): TREM2 p.R47H substitution is not associated with dementia with Lewy bodies. Neurol Genet <u>2</u>, e85
- Wang W, Perovic I, Chittuluru J, Kaganovich A, Nguyen LT, Liao J, Auclair JR, Johnson D, Landeru A, Simorellis AK et al. (2011): A soluble α-synuclein construct forms a dynamic tetramer. Proc Natl Acad Sci U S A <u>108</u>, 17797-17802
- Weil RS, Lashley TL, Bras J, Schrag AE, Schott JM (2017): Current concepts and controversies in the pathogenesis of Parkinson's disease dementia and Dementia with Lewy Bodies. F1000Res <u>6</u>, 1604
- Weinreb PH, Zhen W, Poon AW, Conway KA, Lansbury PT Jr (1996): NACP, a protein implicated in Alzheimer's disease and learning, is natively unfolded. Biochemistry <u>35</u>, 13709-13715
- Weisman D, McKeith I (2007) Dementia with Lewy bodies. Semin Neurol 27, 42-47
- Wemheuer WM, Wrede A, Gawinecka J, Zerr I, Schulz-Schaeffer WJ (2013): Filtration of protein aggregates increases the accuracy for diagnosing prion diseases in brain biopsies. J Neuropathol Exp Neurol <u>72</u>, 758-767
- Wersinger C, Sidhu A (2003) Attenuation of dopamine transporter activity by alpha-synuclein. Neurosci Lett <u>340</u>, 189-192
- Wersinger C, Prou D, Vernier P, Sidhu A (2003): Modulation of dopamine transporter function by alpha-synuclein is altered by impairment of cell adhesion and by induction of oxidative stress. FASEB J <u>17</u>, 2151-2153
- Wetzel R (1996): For protein misassembly, it's the "I" decade. Cell 86, 699-702

- Wille H, Bian W, McDonald M, Kendall A, Colby DW, Bloch L, Ollesch J, Borovinskiy AL, Cohen FE, Prusiner SB et al. (2009): Natural and synthetic prion structure from X-ray fiber diffraction. Proc Natl Acad Sci U S A <u>106</u>, 16990-16995
- Winder-Rhodes SE, Garcia-Reitböck P, Ban M, Evans JR, Jacques TS, Kemppinen A, Foltynie T, Williams-Gray CH, Chinnery PF, Hudson G et al. (2012): Genetic and pathological links between Parkinson's disease and the lysosomal disorder Sanfilippo syndrome. Mov Disord <u>27</u>, 312-315
- Wong K, Sidransky E, Verma A, Mixon T, Sandberg GD, Wakefield LK, Morrison A, Lwin A, Colegial C Allman JM et al. (2004): Neuropathology provides clues to the pathophysiology of Gaucher disease. Mol Genet Metab <u>82</u>, 192-207
- Wood-Kaczmar A, Gandhi S, Wood NW (2006): Understanding the molecular causes of Parkinson's disease. Trends Mol Med <u>12</u>, 521-528
- Wrede A: Charakterisierung der myopathologischen Veränderungen bei der Kamptokormie des Morbus Parkinson. Med. Diss. Göttingen 2011
- Xu J, Kao SY, Lee FJ, Song W, Jin LW, Yanker BA (2002): Dopamine-dependent neurotoxicity of alpha-synuclein: a mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. Nat Med <u>8</u>, 600-606
- Yu S, Zuo X, Li Y, Zhang c, Zhou M, Zhang YA, Uéda K, Chan P (2004): Inhibition of tyrosine hydroxylase expression in alpha-synuclein-transfected dopaminergic neuronal cells. Neurosci Lett <u>367</u>, 34-39
- Zaccai J, McCracken C, Brayne C (2005) A systematic review of prevalence and incidence studies of dementia with Lewy bodies. Age Ageing <u>34</u>, 561-566
- Zaja-Milatovic S, Milatovic Dm Schantz AM, Zhang J, Montine KS, Samii A, Deutch AY, Montine TJ (2005): Dendritic degeneration in neostriatal medium spiny neurons in Parkinson disease. Neurology <u>64</u>, 545-547
- Zaja-Milatovic S, Keene CD, Montine KS, Leverenz JB, Tsuang D, Montine TJ (2006): Selective dendritic degeneration of medium spiny neurons in dementia with Lewy bodies. Neurology <u>66</u>, 1591-1593
- Zaltieri M, Longhena F, Pizzi M, Missale C, Pano P, Bellucci A (2015): Mitochondrial Dysfunction and α-Synuclein Synaptic Pathology in Parkinson's Disease: Who's on First? Parkinson's Disease 108029
- Zarranz JJ, Allegre G, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, Vidal L, Hoenicka J, Rodriguez A, Atarés B et al. (2004): The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. Ann Neurol <u>55</u>, 164-173
- Zhu M, Jie L, Fink AL (2003) The association of alpha-synuclein with membranes affects bilayer structure, stability, and fibril formation. J Biol Chem <u>278</u>, 40186-40197

Danksagung

In erster Linie möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Walter J. Schulz-Schaeffer danken, der stets ein offenes Ohr hatte, meine Arbeit in jedem Stadium prüfend beurteilte und stets mit angemessener Kritik mein eigenständiges Denken förderte. Auch nachdem er Direktor des Intituts für Neuropathologie am Universitätsklinikum des Saarlandes geworden war, lief die Betreuung meinerseits als Promotionsstudentin des Universitätsklinikums der Georg-August-Universität Göttingen problemlos weiter.

Einen weiteren Dank möchte ich an Dr. rer. nat. Uwe Hahmann richten, der die Zucht der transgenen Mauslinien sowie die Betreuung zu Lebzeiten federführend begleitete sowie die Aufarbeitung der murinen ZNS-Gewebes durchführte. Auch ihm möchte ich zudem für jederzeit nette und hilfsbereite Begegnungen danken.

Zudem möchte ich Frau Tatjana Pfander danken. Sie hat mich von Beginn an nett aufgenommen hat, ein angenehmes Arbeitsumfeld geschaffen, mich stets ermutigt und mit Ihrer Arbeit die Grundlage meiner praktischen Arbeit maßgeblich ermöglicht.

Frau Cynthia Bunker möchte ich nicht vergessen, die mir bei Organisatorischem eine große Hilfe war.

Zuletzt möchte ich Frau Marion Joncic danken, die mir eine Maus der Linie PrP-Tg-A53T(M83) aus ihrer Aufzucht für meine Arbeit zur Verfügung stellte.