

Sonja Christine Krause  
Dr. med.

## **Die Expression von Neurotrophinen und Neurotrophinrezeptoren in Amygdala und Hippokampus von Mäusen**

Geboren am 16.04.1981 in Karlsruhe  
Staatsexamen am 27.11.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie und Zellbiologie  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. Dr. h.c. Klaus Unsicker

Die Neurotrophine "brain-derived neurotrophic factor" (BDNF) und Neurotrophin-3 (NT-3) und ihre Rezeptoren *trkB* und *trkC* sind unter anderem notwendig für bestimmte Formen der synaptischen Plastizität. So spielen diese Neurotrophine eine wichtige Rolle bei der Langzeitpotenzierung (LTP; ein elektrophysiologische Korrelat der synaptischen Plastizität). Es ist bekannt, dass eine hippocampale LTP, wie auch einige Formen des Lernens, die Dichte dendritischer Dornen ("spines") im Hippokampus erhöht. Die Ausbildung neuer "spines" scheint von einer Aktivierung des *trkB*-Rezeptors abhängig zu sein: In Wildtyp-Tieren findet im Alter zwischen 8 und 15 Wochen eine Zunahme und Reifung der dendritischen "spines" im Areal CA1 statt, wohingegen in Mäusen mit einem postnatalen "knockout" des *trkB*-Rezeptors (*trkB*-CRE-Tiere) keine neuen "spines" gebildet werden und unreife Spineformen erhalten bleiben. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde bei den *trkB*-CRE-Tieren im Alter von 8 Wochen eine deutlich reduzierte Expression von *trkB*-mRNA in CA1 gemessen, im Alter von 15 Wochen eine weitere deutliche Reduktion. Die Menge an mRNA, die im Alter von 8 Wochen vorhanden ist, scheint für die Aufrechterhaltung vorhandener "spines" auszureichen, für die Ausbildung weiterer "spines" bis zum Alter von 15 Wochen jedoch nicht. Interessanterweise wird *trkB* in dem *trkB*-CRE-Konstrukt, das den CamKII-Promotor verwendet, nicht vollständig eliminiert. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass CamKII von einem Großteil der hippocampalen Pyramidenzellen des Hippokampus exprimiert wird, jedoch nicht von allen. Dies könnte bedeuten, dass es wahrscheinlich bei allen konditionalen "knockouts", die den CamKII-Promotor benutzen, nicht zu einem vollständigen "knockout" des gewünschten Gens bei hippocampalen Pyramidenzellen kommt.

Der überwiegende Teil von Daten zur Beeinflussung der LTP durch Neurotrophine stammt aus Untersuchungen im Hippokampus. Ein direkter Beweis dafür, dass Neurotrophine im Hippokampus Lernvorgänge durch eine Induktion einer LTP ermöglichen oder erleichtern, ist jedoch aufgrund der komplexen neuronalen Verbindungen des Hippokampus schwer zu führen.

Dagegen sind die neuronalen Verbindungen, die der Furchtkonditionierung zugrunde liegen, hinreichend erforscht. Sie beinhalten Faserverbindungen innerhalb der Amygdala und zu anderen Hirnregionen, wie dem Thalamus und dem Kortex. Auch in der Amygdala ist eine LTP induzierbar. Für elektrophysiologische und verhaltensbiologische Untersuchungen zur Bedeutung der Neurotrophine und deren Rezeptoren für amygdaläre LTP und Amygdala-abhängiges Lernen ist die Kenntnis der Expressionmuster in dem heterogenen Kerngebiet der Amygdala eine unverzichtbare Grundlage. Im Gegensatz zum Hippokampus finden sich in der Literatur nur bruchstückhafte Daten zur Amygdala. Daher wurden in der vorliegenden mRNA- und Proteinexpressionsstudie der basolaterale Kern (BL), laterale Kern (LA), mediale Kern (ME) und zentrale Kern der Amygdala (CE) untersucht. Der Hippokampus wurde als Positivkontrolle und als Basis zum Vergleich mit anderen Studien in die Untersuchung aufgenommen.

Die hippocampalen Expressionsmuster für BDNF-, NT-3-, trkB- und trkC-mRNA und die jeweiligen Proteine, die sich aus der In situ Hybridisierung ebenso wie der Immunhistochemie ergaben, stimmten weitestgehend mit den publizierten Daten zum Hippokampus von Ratten und Mäusen überein. In der Amygdala konnte weder NT-3-mRNA noch das dazugehörige Protein nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu steht eine deutliche Expression des NT-3-Rezeptors, trkC. In allen untersuchten Kernen war trkC-mRNA und -Protein vorhanden, im CE überstieg die Dichte immunhistochemischer Signale mit neuronalem Aussehen die Dichte mRNA-exprimierender Zellen. Dies bedeutet, dass NT-3 von Zellen produziert wird, die außerhalb der Amygdala liegen, aber die amygdalären Zielregionen mit NT-3 versorgen. Insgesamt war die Dichte BDNF-mRNA-positiver Zellen in der Amygdala gering. Die meisten Zellen fanden sich im BL, während LA und ME moderate Mengen zeigten. Im CE konnten dagegen keinerlei BDNF-mRNA-positive Zellen nachgewiesen werden. Neuronen im BL, LA und ME waren auch immunhistochemisch anfärbbar, im CE waren immunhistochemische Signale zu beobachten, die mit neuronalen Strukturen vergleichbar waren. In Anbetracht der vollständig fehlenden BDNF-mRNA-Expression in diesem Kern entsprechen diese Signale am ehesten perizellulären Geflechten von Fasern aus anderen Kernen, was der Rolle des CE als Ausgangsstation der Amygdala, in der Informationen aus den anderen Kernen konvergieren, gerecht wird. TrkB-mRNA (sowohl für "full length" als auch für trunkierte Rezeptoren) und Protein konnte in allen Kernen nachgewiesen werden. Die vorliegende Arbeit ist die erste, die eine umfassende Analyse der mRNA- und Protein-Expression von BDNF, NT-3, trkB und trkC in der Amygdala von Mäusen liefert und kann als Basis für weitere Untersuchungen zur Rolle der Neurotrophine für die amygdaläre LTP und Amygdala-abhängiges Lernen dienen.