

# Zentrale Dysrhythmie und Zirkadiane Dependenz in der Alzheimer Erkrankung

Inaugural – Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

**Julien Soós**

aus Erfurt

Köln

April 2019

Referee/ Berichterstatter: **Prof. Dr. Ansgar Büschges**  
**Prof. Dr. Martin Nawrot**

Tag der mündlichen Prüfung: 16.08.2019



## Kurzzusammenfassung

Die Alzheimer-Demenz (AD) ist eine multifaktorielle neurodegenerative Erkrankung, die zu fortschreitendem Gedächtnisverlust und schließlich zum Tod führt. In dieser Arbeit wurde ein APP<sub>swePS1dE9</sub> Alzheimer-Mausmodell mit computergesteuerter stereotaktischer 3D-Elektrodenpositionierung und implantierbarer Langzeit- Video- EEG- Radiotelemetrie analysiert mit Berücksichtigung des zirkadianen Rhythmus, um in beiden Geschlechtern Oberflächen- und Tiefen- EEG- Aufnahmen des primären Motorkortex M1 und des hippocampalen CA1- Bereichs durchzuführen. Neben der motorischen Aktivität wurden EEG- Aufzeichnungen mit einem auf Fast-Fourier-Transformation (FFT) basierenden Ansatz auf elektroenzephalographische Anfallsaktivität (*Seizure*) und Frequenzcharakteristika analysiert. Im Gegensatz zu den weiblichen APP-Mäusen, zeigten die männlichen APP<sub>swePS1dE9</sub>- Alzheimer-Mäuse eine erhöhte motorische Aktivität während des Dunkelzyklus. Die computergestützte automatische Erkennung von Anfällen zeigte geschlechtsabhängig schwere elektroenzephalographische Anfallsaktivität, sowohl in der M1- als auch in der CA1-Region. Generell war die Anfallsaktivität in dem APP-Mausmodell durch eine hohe Variabilität gekennzeichnet, die bereits zuvor für andere AD-Mausmodelle beschrieben wurde. Die Frequenzanalyse der Oberflächen- als auch der Tiefen- EEG- Aufnahmen zeigte komplexe Veränderungen der Theta- und Gamma-Aktivität, die eindeutig alters- und geschlechtsspezifische Merkmale aufwiesen. Folglich sind Veränderungen in der Theta- und Gamma-Architektur und der zentralen Rhythmizität ein wesentliches Merkmal bei APP<sub>swePS1dE9</sub>-Tieren. Diese Arbeit zeigt erstmals eine systematische geschlechtsspezifische Bewertung der Übererregbarkeit (*Seizure*-) und Frequenzanalyse der kortikalen M1- und hippocampalen CA1-Region in APP<sub>swePS1dE9</sub>-Mäusen und Kontrollen mit Hilfe von implantierbarer Video- EEG- Radiotelemetrie. Geschlechtsspezifische zentrale Dysrhythmien und Nervensystemveränderungen in APP<sub>swePS1dE9</sub> weisen auf eine funktionale Rolle bei Verhaltens- und kognitiven Defiziten hin und könnten in Zukunft als frühe Biomarker einer AD dienen.

## **Abstract**

Alzheimer's disease (AD) is a multi-factorial neurodegenerative disease, leading to a progressive memory loss and eventually to death. In this work we used an APPswePS1dE9 mouse model to find new potential markers for Alzheimer's. Therefore we evaluated a long-term video- EEG- radiotelemetry in consideration of the circadian Periodicity. After a subcutaneous implantation of a transmitter to the male as well as female APPswePS1dE9 mice to perform a long-term surface and deep intracerebral EEG recordings from the primary motor cortex M1 and the hippocampal CA1 region we analyzed the data for motoric activity, seizure activity and frequency characteristics using a Fast Fourier Transformation (FFT) based approach. The male APPswePS1dE9 mice showed an increased motor activity during the dark cycle, whereas the female did not show any significance concerning their motor activity. The computerized seizure detection software revealed strong encephalographic seizure activity in the cortical M1-Region as well as in the hippocampal CA1-Region in subject to gender specification. Generally, there was a high variability within the seizure activity in our APP mouse model, which has been approved for other Alzheimer's mouse models before. We could show clear gender and age characteristics, such as alteration in theta and gamma activity, for the frequency analysis of both surface and deep EEG recordings. Thus, alterations in theta and gamma architecture and central rhythmicity are main aspects of the central nervous systems peculiarity in APPswePS1dE9 animals. Here we initially present a systematic gender – specific evaluation of the hyperexcitability / seizure analysis and frequency analysis in APPswePS1dE9 mice and controls using implantable video- EEG radiotelemetry under unrestraint conditions. The APPswePS1dE9 gender-specific central dysrhythmia and network alterations indicate a functional role in behavioral and cognitive decline and might serve as early biomarkers for AD in the future.

# Inhalt

I Abkürzungsverzeichnis .....	8
II Abbildungsverzeichnis .....	10
III Tabellenverzeichnis.....	12
1. Einleitung.....	13
1.1 Morbus Alzheimer .....	13
1.1.1. Geschichte .....	13
1.1.2. Definition/ Epidemiologie .....	14
1.1.3. Pathologie/ Ätiologie von Morbus Alzheimer .....	15
1.1.4. Familiäre und Sporadische Alzheimer Krankheit .....	19
1.2. Anfälle .....	22
1.2.1. Anfalls-Typen.....	23
1.2.2. EEG - und Anfallsdetektion .....	23
1.2.3. Maus-Modelle in der Alzheimer-Forschung .....	25
1.3. Geschlecht und Alzheimer .....	26
1.4. Schlaf und Theta-Wellen .....	27
1.5. APP – das Amyloid Precursor Protein.....	28
1.5.1. Proteolytische Prozessierung des APP: $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -Sekretase.....	28
1.5.2. Regulation des APP shedding: der intrazelluläre Transport.....	30
1.5.3. APPswePS1de Mausmodell .....	32
1.6. Ziel der Arbeit.....	34
2. Material und Methoden.....	35
2.1. Material.....	35
2.1.1. Reagenzien und Chemikalien.....	35
2.1.2. Laborgeräte.....	36
2.1.3. Puffer und Lösungen .....	37
2.1.4. Verbrauchsmaterial .....	37
2.1.5. Einwegmaterial.....	38
2.1.6. OP Instrumente .....	39
2.1.7. Recording System (DSI) .....	39
2.1.8. Studien Tiere .....	40
2.2. Molekularbiologische Methoden.....	41
2.2.1. DNA Extraktion .....	41

2.2.2.	Polymerasenkettenreaktion (PCR): APP-Genotypisierung.....	42
2.2.3.	Primer .....	45
2.2.4.	Ladder.....	45
2.3.	Praktische Methoden.....	46
2.3.1.	Radiofrequenztransmitter Implantation.....	46
2.3.2.	Elektroden-Platzierung für das EEG-Recording .....	47
2.3.3.	Kontrolle der EEG Elektroden Position .....	52
2.3.4.	Radiotelemetrische EEG Datenaquise.....	52
2.3.5.	Radiotelemetrisches Recording der Aktivität und Analyse.....	53
2.3.6.	Analyse der elektroenzephalographischen Daten.....	54
2.3.7.	Beginn des Recordings .....	55
2.3.8.	Perfusion.....	55
3.	Ergebnisse.....	56
3.1.	<i>Experimental Animals</i> : Kontrollen und APPswePS1dE9 .....	56
3.2.	Qualitative Elektroenzephalographische Seizure Charakteristik.....	56
3.3.	Motorische Aktivität in Kontrollen und APPswePS1dE9 .....	59
3.4.	Quantitative Seizure Analyse in Kontrollen und APPswePS1dE9.....	62
3.4.1.	Die M1-Region.....	63
3.4.2.	Die CA1-Region.....	68
3.4.3.	Frequenzanalyse in Kontrollen und APPswePS1dE9 .....	73
4.	Diskussion.....	77
5.	Literatur.....	84
6.	Anhang I.....	94
7.	Erklärung.....	111
8.	Teilpublikationen .....	112
9.	Danksagung.....	114
10.	Curriculum Vitae .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
11.	Anhang II.....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>

## I Abkürzungsverzeichnis

A $\beta$	Amyloid- $\beta$
ACH	<i>amyloid- cascade- hypotheses</i> (Amyloid- Kaskaden- Hypothese)
AD	Alzheimer Demenz
ADAM	<i>A Disintegrin And Metallprotinase</i>
aMCI	<i>amnesic mild cognitive impairment</i>
APP	Amyloid Precursor Protein
ApoE	Apolipoprotein E
BACE	<i><math>\beta</math>-site of APP cleaving enzyme</i> (Beta-Sekretase)
CFC	<i>cross- frequency- coupling</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> (Desoxyribonukleinsäure)
EEG	Electroencephalogramm
EOAD	<i>early onset Alzheimer's Disease</i>
FAD	<i>familial Alzheimer's Disease</i>
GABA	<i>gamma-Aminobutyric acid</i> ( $\gamma$ -Aminobuttersäure)
hAPP	humanes Amyloid Precursor Porotein
KO	Knock-out
MRT	Magnet- Resonanz- Tomografie
NFT	<i>neurofibrillary tangles</i> (Neurofibrilläre Bündel)
NREM	Non-Rapid Eye Movement (Schlaf)
NPY	Neuropeptid Y

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

PSEN1	Presenilin 1
PSEN2	Presenilin 2
PS	paradoxical sleep
REM	Rapid-Eye Movement (Schlaf)
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i>
SWS	Slow-Wave Sleep
TGN	<i>Trigeminal Ganglion Neuron</i>
WT	Wild-Typ
ZNS	Zentrales Nervensystem

## II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Histopathologische Veränderungen im Alzheimer Hirn.....	14
Abb. 2 Aggregationsstufen der Amyloid- $\beta$ Peptide.....	16
Abb. 3 Unterschiedliche Wege der Prozessierung von APP.....	17
Abb. 4 Tau- Protein, schematisch.....	18
Abb. 5 Ursachen der Hyperphosphorylierung.....	19
Abb. 6 Pathologische und nicht- pathologische Mechanismen des APP.....	30
Abb. 7 Intrazelluläres <i>trafficking</i> von APP.....	31
Abb. 8 Amplifizierte DNA aufgetrennt in Produktbanden.....	43
Abb. 9 Schematische Darstellung eines subkutan implantiertem 2-Channel-Transmitters in einer Hauttasche auf dem Rücken einer Maus.....	47
Abb. 10 OP- Platz mit Stereotaktischen Frame.....	47
Abb. 11 Anatomische Strukturen und Orientierungspunkte eines murinen Schädels.....	48
Abb. 12 EEG-Elektroden Lokalisation im Mausschädel.....	49
Abb. 13 Schematische Darstellung der platzierten Epiduralelektrode (M1) ohne Verletzung der Dura.....	49
Abb. 14 HE- gefärbter Hirnschnitt der schematisch die Lokalisation der intrakraniale Tiefenelektrode (CA1) illustriert (Elektrohippogramm.....	50
Abb. 15 Tiefenelektrode aus Wolfram befestigt an der Elektrode des Radiofrequenz-Transmitters.....	51
Abb. 16 Standard EEG Radiotelemetrie System.....	53
Abb. 17 Timeline der experimentellen Abläufe von Implantation bis zum Ende des zweiten 48h-Recordings.....	55
Abb. 18 Iktale Entladungen (EEG Seizure Aktivität) in weiblichen APPswePS1dE9 Alzheimer Mäusen.....	57
Abb. 19 Iktale Entladungen (EEG Seizure Aktivität) in männlichen APPswePS1dE9 Alzheimer Mäusen.....	58
Abb. 20 Aktivitätsanalyse männlicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	60
Abb. 21 Aktivitätsanalyse weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	61
Abb. 22 Ableitungen der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	64
Abb. 23 Ableitungen der M1-Region männlicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	65
Abb. 24 Ableitungen der M1-Region weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	66
Abb. 25 Ableitungen der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	67
Abb. 26 Ableitungen der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	69
Abb. 27 Ableitungen der CA1-Region männlicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse....	70
Abb. 28 Ableitungen der CA1-Region weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse....	71
Abb. 29 Ableitungen der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	72
Abb. 30 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	75

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 31 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	76
Abb. 32 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	96
Abb. 33 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	97
Abb. 34 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	98
Abb. 35 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	99
Abb. 36 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	100
Abb. 37 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	101
Abb. 38 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	102
Abb. 39 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	103
Abb. 40 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	104
Abb. 41 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	105
Abb. 42 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	106
Abb. 43 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	107
Abb. 44 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	108
Abb. 45 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	109
Abb. 46 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.....	110

**III Tabellenverzeichnis**

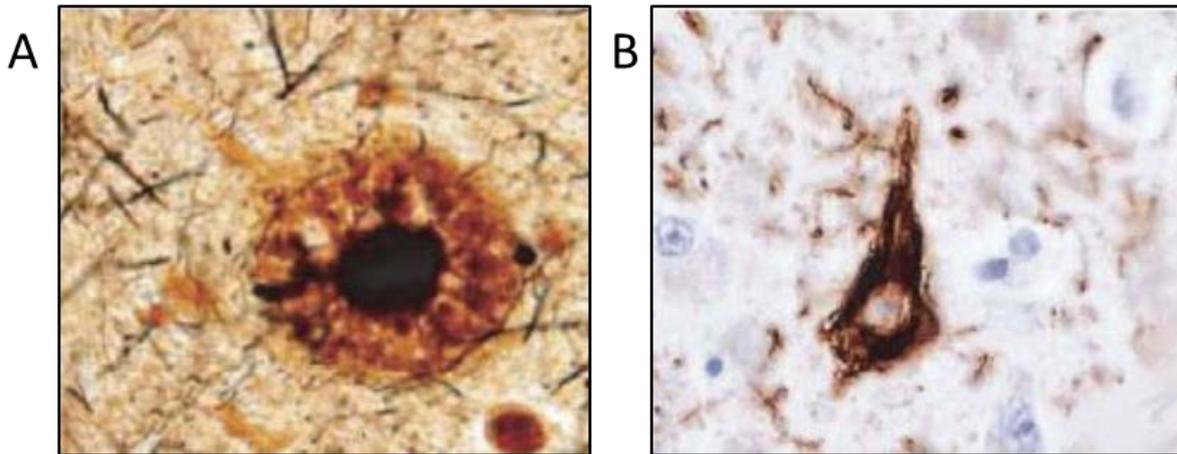
Tabelle 1 Verwendete Reagenzien und Chemikalien..... 35  
 Tabelle 2 Verwendete Laborgeräte ..... 36  
 Tabelle 3 Verwendete Puffer und Lösungen ..... 37  
 Tabelle 5 Verwendete Verbrauchsmaterialien..... 37  
 Tabelle 4 Verwendete Einwegmaterialien..... 38  
 Tabelle 6 Verwendete OP- Instrumente ..... 39  
 Tabelle 7 Bestandteile des Recording Systems ..... 39  
 Tabelle 8 Pipettierschema ..... 43  
 Tabelle 9 Cycler Einstellungen ..... 44  
 Tabelle 10 Verwendete Primer für Genotypisierung der Mäuse..... 45  
 Tabelle 11 Verwendete DNA- Leiter ..... 45  
 Tabelle 12 Schematische Darstellung der Frequenzbereiche und zugeordneten Frequenzen [Hz]..... 54

## 1. Einleitung

### 1.1 Morbus Alzheimer

#### 1.1.1. Geschichte

Ein fortschreitender Verlust geistiger Fähigkeiten bei älteren Menschen wird bereits seit Anbeginn von (medizinischen) Aufzeichnungen beschrieben. Ein Fortschritt wurde hingegen erst im Jahre 1906 Dank des deutschen Psychiaters und Neurologen Dr. Alois Alzheimer erzielt (Alzheimer, Stelzmann, Schnitzlein und Murtagh, 1995). Er identifizierte die einhergehenden Symptome und die histopathologischen Kennzeichen eines Demenztyps, der heute als Alzheimer Krankheit bekannt ist. In einem klinischen Bericht beschrieb er die Symptome und die anatomischen Charakteristika seiner Patientin Auguste Deter. Zu Anfang ihrer Krankheit zeigte die 51-jährige unberechtigte Eifersucht gegenüber ihrem Ehemann, bald gefolgt von einem rapiden Verlust der Erinnerung, Orientierungslosigkeit in Bezug auf Ort und Zeit und letztlich Halluzinationen. Ihre kognitiven Fähigkeiten waren massiv gestört, wohingegen ihre motorischen Fähigkeiten unverändert blieben. Sie konnte weiterhin ohne Hilfe laufen und ihre Hände gleichermaßen gut nutzen. Nach weiteren viereinhalb Jahren fortschreitender Geistesschwäche verstarb die Patientin. Die durchgeführten *post mortem* Untersuchungen zeigten ein homogen- atrophisches Hirn mit neurofibrillären Bündeln, welche mit Hilfe einer Bielschowsky'schen Silberfärbung sichtbar gemacht wurden. Diese wurden durch Ansammlung und Ablagerung einer „speziellen Substanz“ im Cortex hervorgerufen, die heutzutage als Amyloid Plaques bekannt sind (Alzheimer et al., 1995).



**Abb. 1 Histopathologische Veränderungen im Alzheimer Hirn.**

A) Extrazelluläres  $\beta$ -Amyloid Plaques B) Intrazelluläres neurofibrilläres Bündel (Sanchez, 2011)

### 1.1.2. Definition/ Epidemiologie

Die “Krankheit des Vergessens” - Morbus Alzheimer - ist mit 60 – 70 % der Demenzerkrankungen die häufigste neurodegenerative Erkrankung weltweit. Es handelt sich dabei um eine multifaktorielle Störung, die zu einem fortschreitenden Verlust der Erinnerung und letztlich zum Tod führt. Trotz des großen Interesses und der steten Erforschung, ist die Alzheimer Erkrankung weiterhin ein großes sozialökonomisches Problem weltweit (Ziegler-Graham, Brookmeyer, Johnson und Arrighi, 2008). Gründe hierfür liegen in den fortschreitenden demografischen Veränderungen, die eine starke Zunahme der älteren Bevölkerung (> 65 Jahre) verzeichnet (Schneider, 2013). Die Prävalenz für AD verhält sich exponentiell. Dies bedeutet, dass die AD ab einem Alter von 65 Jahren dramatisch ansteigt (Kukull, Higdon, Bowen, McCormick, Teri, Schellenberg et al., 2002). Bis zum Jahre 2030 wird der Anteil der älteren Bevölkerung im Vergleich zu heute von 7 % auf 12 % ansteigen. Somit wird sich die Zahl der Alzheimererkrankten auf circa 82 Millionen erhöhen (WHO, Stand 04/2019). Es wurde geschätzt, dass im Jahr 2010 35,6 Millionen Menschen von einer Demenz betroffen waren; der Großteil von der Alzheimer Krankheit (Prince, Bryce, Albanese, Wimo, Ribeiro und Ferri, 2013). Weiterhin geht man davon aus, dass sich die Anzahl der betroffenen Menschen mit Alzheimer alle 20 Jahre verdoppeln wird. Beispielhaft wurden 2000 in den USA 4,5 Millionen Erkrankungen registriert und bis zum Jahr 2050 rechnet man mit einer Vervielfachung. Aus diesem Grund werden immense Ressourcen für eine adäquate Versorgung von Alzheimer- und Demenzerkrankten notwendig. In Anbetracht der Tatsache, dass die Kosten im Jahre 2005 in den USA bei bereits 315 Mrd. US-Dollar

lagen, sind enorme sozio- ökonomische Spannungen absehbar, um die öffentlichen Versorgungssysteme aufrechtzuerhalten (Reitz, Brayne und Mayeux, 2011, Wimo, Sjolund, Skoldunger, Johansson, Nordberg und von Strauss, 2011). Es wird deutlich, wie wichtig die Entwicklung neuer Diagnose- und Therapieansätze ist, insbesondere für eine Verlangsamung des progressiven Krankheitsverlaufs

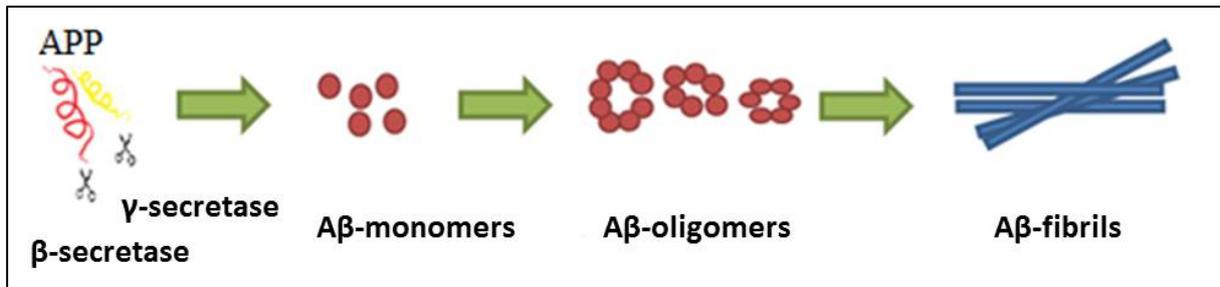
Die Aussagekraft der diagnostischen Kriterien (MRT, biologische Marker in Blut und Liquor) hat eine hohe Varietät und unterscheidet sich noch zusätzlich innerhalb der verschiedenen Demenzformen.

### **1.1.3. Pathologie/ Ätiologie von Morbus Alzheimer**

Die makroskopisch auffälligste Charakteristik eines AD- Gehirns ist die Hirnatrophie. So wird ein Massenverlust von etwa 1300 – 1700 g beim Gehirn eines normalen Erwachsenen auf 800 – 1000 g des Hirns bei Erkrankten beschrieben. Die Abnahme betrifft in der Regel beide Hirnhemisphären auf symmetrische Weise und findet sich hauptsächlich im Cortex und in hippokampalen Regionen wieder (Schroeter, Stein, Maslowski und Neumann, 2009).

Ätiologisch betrachtet konnte bis heute keine genaue Ursache für Morbus Alzheimer festgestellt werden, sodass der zugrundeliegende Pathomechanismus bis jetzt nicht identifiziert werden konnte. Die Beschreibung der AD erfolgt anhand biologischer Marker, wie den Amyloid Plaques (auch senile Plaques oder A $\beta$ -Fibrillen genannt), die im Hirn aller Alzheimer- Patienten nachgewiesen werden können. Diese entstehen durch extrazelluläre Proteinaggregate aus dem *Amyloid Precursor Protein* (APP) Metabolismus.

Ein Anstieg des A $\beta$ -monomers, welcher durch den Abbau von APP hervorgerufen wird, verursacht eine Ablagerung der A $\beta$ -Fibrillen im Hirn. Aufgrund einer Anreicherung dieser Monomere entstehen folglich neurotoxische A $\beta$ -Oligomere. Diese spielen zunehmend eine zentrale Rolle in der Frühdiagnostik von Alzheimer und sind bereits ein vielversprechender Biomarker (Jongbloed, Bruggink, Kester, Visser, Scheltens, Blankenstein et al., 2014, Kim, Kim, Kang, Lim, Kim und Kang, 2014). In der letzten Aggregationsstufe entstehen unlösliche A $\beta$ -Fibrillen, welche zum einen diffus oder als kompakte Aggregate (senile Plaques) auftreten und zur Neuronen-Degeneration führen.

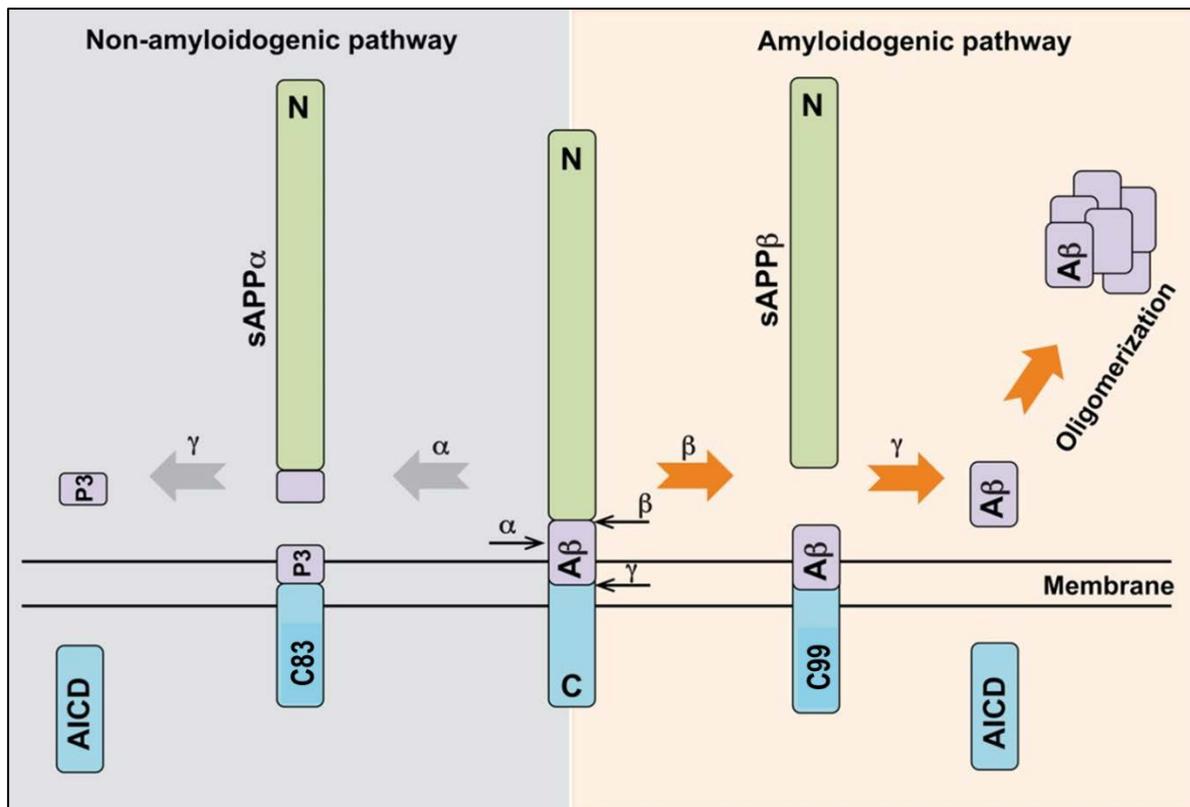


**Abb. 2 Aggregationsstufen der Amyloid-β Peptide**  
(<http://www.fz-juelich.de>)

Mikroskopisch betrachtet erfolgen die primären Schädigungen durch die senilen Plaques, den neurofibrillären Bündeln und den Verlust von cholinergen Neuronen. Die erstmals von Alois Alzheimer beschriebenen senilen Plaques sind 4 kDa große hydrophobe Aβ-Peptide (Glenner und Wong, 1984, Masters, Multhaup, Simms, Pottgiesser, Martins und Beyreuther, 1985, Masters, Simms, Weinman, Multhaup, McDonald und Beyreuther, 1985). Sie weisen eine β-Faltblattstruktur auf und werden in großen Mengen von Nervenzellen produziert (Serpell, 2000).

Aβ-Peptide sind ein normales Produkt der sequentiellen Spaltung des APP durch β- und γ-Sekretase. Nach der Spaltung durch die β-Sekretase kann die γ-Sekretase an zwei verschiedenen Stellen schneiden und dabei 40 und 42 Aminosäure lange Peptide entstehen lassen: Aβ<sub>40</sub> und Aβ<sub>42</sub>. Beide Peptide lassen sich in den Amyloid Plaques nachweisen, wobei Aβ<sub>42</sub> vermehrt vorkommt, aufgrund der höheren Fibrillisationsrate und der Unlöslichkeit (Serrano-Pozo, Frosch, Masliah und Hyman, 2011). Pathologisch reichert sich das Aβ<sub>42</sub> an und aggregiert zu extrazellulären Amyloid Plaque Depositionen.

APP wird orthologisch durch zwei unterschiedliche Kaskaden prozessiert. Dabei unterscheidet man die nicht-amyloide Kaskade und die amyloide Kaskade (Abb.3). Je nach enzymatischer Prozessierung existieren Aβ-Peptide in unterschiedlichen Längen (Nicolas und Hassan, 2014).



**Abb. 3 Unterschiedliche Wege der Prozessierung von APP**  
 Modifiziert nach (Nicolas et al., 2014)

Im gesunden Menschen dominiert die *nicht-amyloidogenen Prozessierung*. Abb. 3 zeigt die Spaltung durch die α-Sekretase innerhalb der Aβ-Region (Nicolas et al., 2014). Dabei entsteht die sekretierbare Ektodomäne sAPPα und ein 83 Aminosäure langes membrangebundenes Fragment (C83) (Nicolas et al., 2014). Die Spaltung führt zur einer orthologen Prozessierung ohne Ausbildung unlöslicher amyloider Peptide.

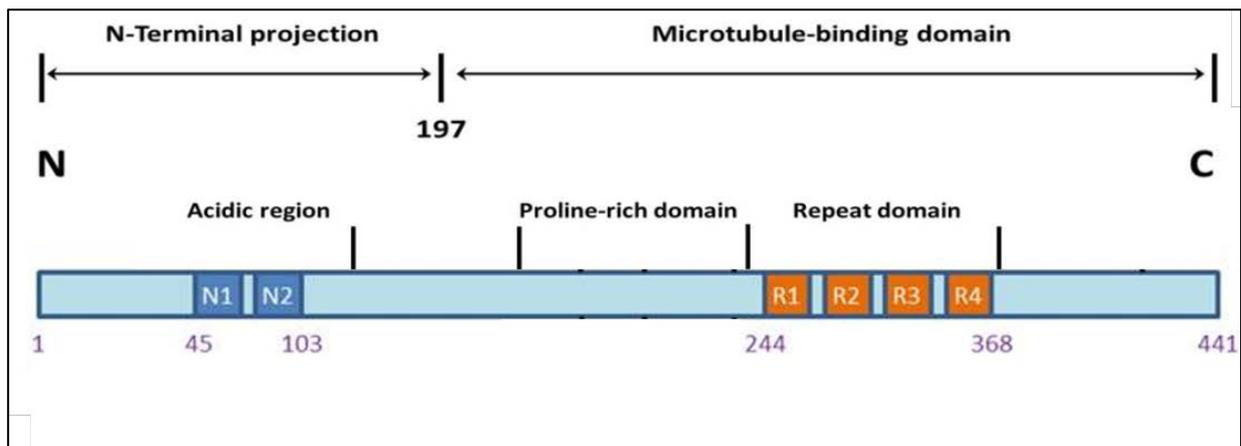
Aufgrund von Mutationen im APP-Gen oder einer Inhibition der cholinergen Neurotransmitter, kann es zu einer pathologischen *amyloidogenen Prozessierung* kommen bzw. kann diese verstärkt werden (Medeiros, Kitazawa, Caccamo, Baglietto-Vargas, Estrada-Hernandez, Cribbs et al., 2011). Hierbei wird im ersten Schritt das APP durch BACE1 (beta-site APP cleaving enzyme 1), eine β-Sekretase, geschnitten und führt zu einer Entstehung eines membrangebundenen C-Terminalfragments, welches aus 99 Aminosäuren besteht (C99), sowie der sekretierten sAPPβ (Nicolas et al., 2014). Im nächsten Schritt wird das C99 innerhalb der transmembranen Domäne durch die γ-Sekretase geschnitten. Dies führt zu einer Freisetzung von Aβ und der APP-intrazellulären Domäne (AICD) führt (Nicolas et al., 2014).

Demzufolge gibt es zwei C-terminale Varianten von Aβ: Aβ<sub>40</sub> und Aβ<sub>42</sub>, die in einem Verhältnis von 90 zu 10 stehen. Dabei sind lediglich 10 % des entstehenden Amyloidpeptides

auf A $\beta$ <sub>42</sub> zurückzuführen. Da diese Form jedoch das höhere Aggregations-Niveau besitzt, spielt es die wesentliche Rolle bei der Entstehung der fibrillären Amyloid Depositionen (Nicolas et al., 2014).

Der „Amyloid-Kaskaden-Hypothese“ (ACH) nach zufolge sind die erhöhte Entstehung und zugleich der verminderte Abbau der A $\beta$ -Peptide (unlösliche Aggregate) im zentralen Nervensystem (ZNS) Hauptgründe für synaptische Fehlfunktionen, das Absterben von Nervenzellen, oxidativen Stress sowie eine erhöhte Immunantwort, was letztlich zur progressiven Neurodegeneration führt (Reitz, 2012).

Demgegenüber besagt die Tau-Hypothese, dass der Grund für Alzheimer in den intrazellulären Ablagerungen der Neurone, den sogenannten neurofibrillären Bündeln, (*neurofibrillary tangles*, NFT) liegt. Der Hauptbestandteil der NFTs sind die 68 kDa langen Tau-Proteine, die eine  $\alpha$ -Helix bilden. Die Tau-Proteine wurden 1975 erstmals von Weingarten *et al.* als ein „hitzebeständiges, für Mikrotubuli essentielles Protein“ beschrieben (Weingarten, Lockwood, Hwo und Kirschner, 1975). Im Ursprungszustand liegt es in ungefalteter Struktur vor und kann schematisch in drei Abschnitte eingeteilt werden (Abb.4):

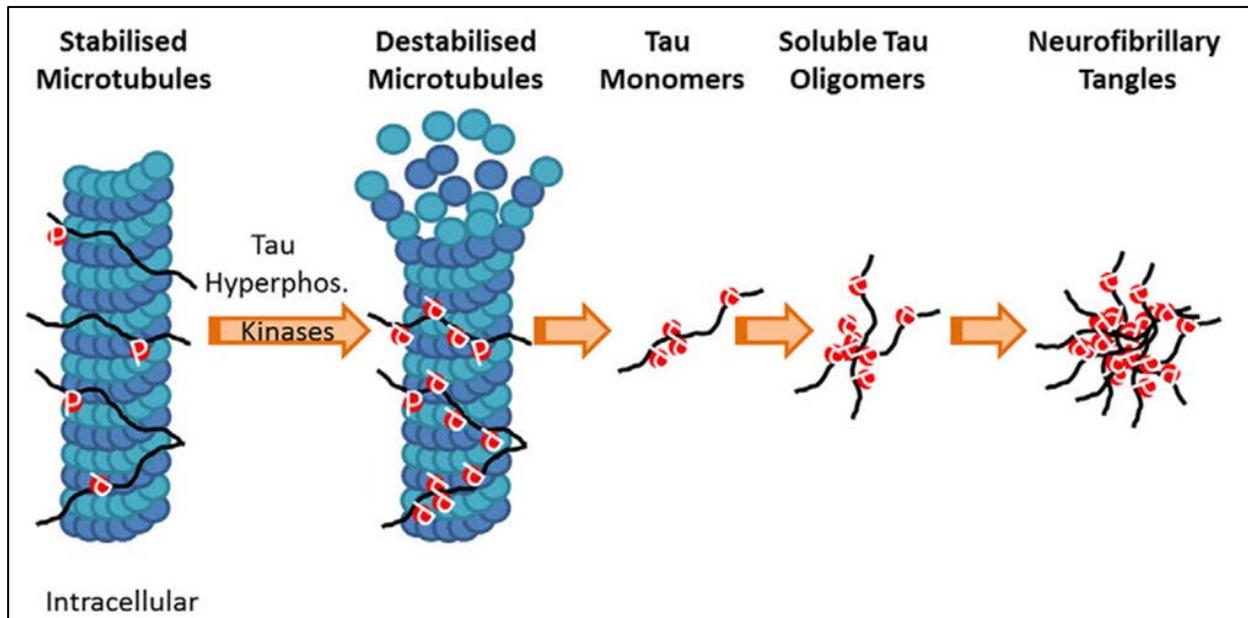


**Abb. 4 Tau-Protein, schematisch**

modifiziert nach: (Barron, Gartlon, Dawson, Atkinson und Pardon, 2017)

- 1.) einen N-Terminus Abschnitt
- 2.) einen basischen, prolinreichen Mittelteil und
- 3.) eine basische „repeat“ - Domäne nahe des C-Terminus: Mikrotubuli-Bindestelle für Stabilisierung der Mikrotubuli entscheidend (Barron et al., 2017)

Kommt es zu der pathologischen Phosphorylierung an der prolinreichen Region des Tau-Proteins, die strangaufwärts an den Mikrotubuli-Bindungs-Domänen lokalisiert ist, so lagert sich Tau zu unlöslichen Aggregaten, den NFTs zusammen (Mazanetz und Fischer, 2007).



**Abb. 5 Ursachen der Hyperphosphorylierung**  
 modifiziert nach: (Barron et al., 2017)

Gründe für eine Hyperpolarisation können zum einen eine erhöhte Kinase-Aktivität sein und zum anderen eine verminderte Phosphatase-Aktivität (Trojanowski und Lee, 1995). Dabei verliert Tau seine stabilisierenden Eigenschaften durch die Dissoziation. In Folge dessen depolarisieren die Mikrotubuli und die daraus entstandenen Neurofibrillen-Bündel haben eine negative Auswirkung auf den axonalen Transport und leiten letztlich die synaptische Dysfunktion und axonale Degeneration („*dying back*“ of axons) ein (Trojanowski et al., 1995, Mandelkow und Mandelkow, 1998, Barron et al., 2017).

#### 1.1.4. Familiäre und Sporadische Alzheimer Krankheit

Alzheimer ist eine spezifische Demenz, die durch folgende genetische und klinische Charakteristik zu definieren ist und in verschiedene Formen unterteilt werden kann:

Die vererbte oder familiäre Form von Alzheimer (FAD) ist eine Form mit neurologischen Symptomen wie Spasmen, Ataxia und Bewegungsverlust in bereits jungen Jahren (25 - 60

Jahre) und hat daher auch den Namen „*early onset AD*“ (EOAD). Erste Evidenz genetischer Korrelationen der Alzheimer Krankheit war die Entdeckung der Triplikation des *Amyloid Precursor Proteins* (APP), welches sich auf dem Locus 21q21 in Patienten mit Down Syndrom und begleitenden kognitiven Einschränkungen befindet (Glenner et al., 1984). Im Jahre 1987 gelang es erstmals das APP-Gen zu klonen (Kang, Lemaire, Unterbeck, Salbaum, Masters, Grzeschik et al., 1987, Tanzi, Bird, Latt und Neve, 1987) und somit führte dies zu ersten Studien mit FAD betroffenen Patienten.

Bis heute wurden viele Punktmutationen im APP-Gen entdeckt (<http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations>). Jede dieser Mutationen hat einen Einfluss auf die APP-Prozessierung. Ein Beispiel ist die Swedish Mutation KM670/671NL an der  *$\beta$ -cleavage site* der A $\beta$ -Sequenz, die zur Folge hat, dass die A $\beta_{40}$ - und A $\beta_{42}$ -Produktion erhöht ist, da die Mutation eine erhöhte  $\beta$ -Sekretase-Aktivität bedingt (Citron, Oltersdorf, Haass, McConlogue, Hung, Seubert et al., 1992, Mullan, Crawford, Axelman, Houlden, Lilius, Winblad et al., 1992). Andere Mutationen wie die Austrian, Iranian, French, German, London und Florida Mutation sind C-terminal an der A $\beta$ -Sequenz lokalisiert. Sie sind mit einer erhöhten Produktion von A $\beta_{42}$  assoziiert, welches, wie bereits erwähnt, die Eigenschaft hat schneller zu aggregieren (Suzuki, Cheung, Cai, Odaka, Otvos, Eckman et al., 1994). Die Arctic (E693G) und Dutch (E693Q) Mutationen liegen mittig in der A $\beta$ -Region (Levy, Carman, Fernandez-Madrid, Power, Lieberburg, van Duinen et al., 1990, Nilsberth, Westlind-Danielsson, Eckman, Condron, Axelman, Forsell et al., 2001) und haben Einfluss auf die Struktur des A $\beta$ -Peptides, welche die Aggregationseigenschaften und somit die Toxizität erhöhen. Sie werden autosomal dominant vererbt.

Weitere Mutationen wurden im Presenilin1 und Presenilin2 (PSEN1 / PSEN2) Gen entdeckt. Presenilin ist eine enzymatische Untereinheit des  $\gamma$ -Sekretase-Komplexes, dessen proteolytische Aktivität der bestimmende Faktor für die Produktion von A $\beta$  ist. Bis heute wurden einige Punktmutationen, Deletionen, Insertionen oder Splice-Mutationen im PSEN1 und PSEN2 Gen entdeckt. Sie sind verantwortlich für die Ratio von A $\beta_{40}$  und A $\beta_{42}$  (De Strooper, 2007).

Die sporadische Form des Alzheimers ist die häufigste auftretende Demenz in Patienten über 60 Jahre und liegt bei mehr als 90 % aller Alzheimerpatienten vor. Die genetischen Hintergründe der sporadischen Form sind weniger bekannt als die der FAD. Verschiedene anfällige Gene wurden bereits entdeckt, wobei das Apolipoprotein E (ApoE) den empfänglichsten Risikofaktor ausmacht (Myers, Schaefer, Wilson, D'Agostino, Ordovas,

Espino et al., 1996). Diverse „*Single Nucleotide Polymorphisms*“ (SNP) wurden im ApoE-Gen gefunden (Nickerson, Taylor, Fullerton, Weiss, Clark, Stengard et al., 2000). Die wichtigsten drei SNPs sind verantwortlich für die drei verschiedenen Isoformen des ApoE. Von dem Allel  $\epsilon 4$  wird angenommen, dass es der Risikofaktor für Alzheimer sei, wohingegen Allel  $\epsilon 2$  eine eher protektive Rolle spielt. Allel  $\epsilon 3$  hat hierbei eine eher neutral Rolle (Corder, Saunders, Strittmatter, Schmechel, Gaskell, Small et al., 1993, Strittmatter, Saunders, Schmechel, Pericak-Vance, Enghild, Salvesen et al., 1993, Corder, Saunders, Risch, Strittmatter, Schmechel, Gaskell et al., 1994). Unterschiedliche Kombinationen der Allele bestimmen die Funktion und Struktur des ApoE (Mahley und Huang, 2006). Das ApoE Allel  $\epsilon 4$  ist mit den Amyloid Plaques co-lokalisiert (Schmechel, Saunders, Strittmatter, Crain, Hulette, Joo et al., 1993, Wisniewski, Castano, Golabek, Vogel und Frangione, 1994). Das Risiko an Alzheimer zu erkranken ist bei Trägern des ApoE Allels  $\epsilon 4$  um etwa 3-fach erhöht im Vergleich zum  $\epsilon 3$  Allel und 12-fach erhöht, wenn beide Isoformen vorzufinden sind ([www.alzgene.org](http://www.alzgene.org)). Welche Rolle des ApoE bei der Modulation von A $\beta$ -Akkumulationen und -Aggregationen spielt ist bis dato nicht geklärt. Es gibt lediglich Studien die besagen, dass ApoE Einfluss auf den A $\beta$ -Abbau und somit der A $\beta$ -Oligomerisation hat (Jiang, Lee, Mandrekar, Wilkinson, Cramer, Zelcer et al., 2008, Castellano, Kim, Stewart, Jiang, DeMattos, Patterson et al., 2011).

## 1.2. Anfälle

Bei einem Anfall handelt es sich um eine Sequenz von Symptomen, die auf eine übermäßig starke oder synchrone neuronale Aktivität im Gehirn zurückzuführen ist (Fisher, Acevedo, Arzimanoglou, Bogacz, Cross, Elger et al., 2014).

Die Alzheimer-Krankheit birgt ein signifikant erhöhtes Risiko solcher Anfälle. Es wird geschätzt, dass 10 – 22 % der Menschen mit AD irgendwann unprovokierte Anfälle entwickeln, wobei die höheren Raten mit der erblichen und somit früh einsetzenden AD zusammenhängen (Mendez und Lim, 2003, Palop und Mucke, 2009). Mehrere Studien wiesen darauf hin, dass AD mit einem hohen Risiko für epileptische Anfälle verbunden ist (Horvath, Szucs, Barcs, Noebels und Kamondi, 2016). Menschen die AD in Kombination mit einer Anfallsstörung haben, leiden an einem stärkeren kognitiven Einbruch, einem schnelleren Fortschreiten der Symptome und gravierenderem neuronalen Verfall (Autopsie), als Personen mit Alzheimer ohne Anfallsstörungen (Forstl, Burns, Levy, Cairns, Luthert und Lantos, 1992, McAreavey, Ballinger und Fenton, 1992, Volicer, Smith und Volicer, 1995). Folglich ist es wichtig, die Anfälle frühzeitig zu behandeln, damit die Prognose verbessert werden kann. Über das Entstehen der Anfälle, die mit AD in Zusammenhang stehen, ist jedoch wenig bekannt. Sie sind schwer zu identifizieren und die Anfälle selbst können kognitive Probleme verursachen (Vossel, Beagle, Rabinovici, Shu, Lee, Naasan et al., 2013). Darüber hinaus wird berichtet, dass mehr als die Hälfte der Anfälle bei Menschen mit AD nicht-convulsiv einhergehen und sie somit leicht unerkant bleiben können (Vossel et al., 2013).

Es ist wahrscheinlich, dass eine epileptische Übererregung, aufgrund der erhöhten Amyloid-Ablagerungsrate, teilweise für das Fortschreiten von AD verantwortlich ist. Pathologische Veränderungen in Tiermodellen der Alzheimer-Krankheit ähneln denen der menschlichen Temporallappenepilepsie (TLE). Eine antiepileptische Behandlung hatte eine positive Wirkung auf die kognitive Funktion in Tier- und Humanstudien (Bakker, Krauss, Albert, Speck, Jones, Stark et al., 2012). Da die Detektion von Anfällen bei Patienten mit kognitivem Rückgang aufgrund methodischer Probleme äußerst schwierig ist, ist die tatsächliche Prävalenz von Anfällen unklar geblieben. Nicht-convulsive Anfälle ohne offensichtliche motorische Entäußerungen können bei AD häufige Anfallsformen sein. Diese sind durch klinische Beobachtung und mit standardmäßigen EEG-Methoden nur schwer zu erkennen, aber verbleiben dennoch bislang als einzige Möglichkeit überhaupt.

### 1.2.1. Anfalls-Typen

In einer zu untersuchenden Gruppe von Patienten mit leichter kognitiver Beeinträchtigung (aMCI) und AD waren 47 % der detektierten Anfälle partiell mit Bewusstseinsstörungen. Bei den Video-EEG-Aufzeichnungen waren 55 % dieser Anfälle nicht-convulsiv (Vossel et al., 2013). Dieses Ergebnis ähnelt einer Studie von Palop et al., die intermittierende nicht-convulsive fokale Anfälle in J20-Mäusen mit Hilfe von Video-EEG-Aufzeichnungen beschrieb (Palop, Chin, Roberson, Wang, Thwin, Bien-Ly et al., 2007). Es ist wahrscheinlich, dass nicht-convulsive Anfälle ohne offensichtliche klinische Symptome in der AD noch häufiger auftreten (Armon, Peterson und Liwnicz, 2000, Bernardi, Scaldaferri, Vanacore, Trebbastoni, Francia, D'Amico et al., 2010), aber unbemerkt bleiben oder als Zeichen episodischer Verwirrung bei AD-Patienten gelten (Chin und Scharfman, 2013). Nichtmotorische Symptome von Patienten, die mit Anfällen im Temporallappen einhergehen, schlossen Jamais-vu-Erlebnisse, Déjà-vu-Erlebnisse, sensorische Phänomene (wie z.B. metallischer Geschmack, brennender Geruch, epigastrisches Steiggefühl, Kribbeln und Brustwärme), psychische Phänomene (z.B. intensive Angst), Sprech-/Verhaltensstillstände und Aphasie ein. Einige weitere episodische Verhaltensänderungen, wie verminderter Aufmerksamkeit und Kognition, sowie Bewusstseinsstörungen, wurden durch aufmerksame Beobachtungen bei 10 % bis 20 % der Patienten in einer anderen Studie erfasst (Walker, Ayre, Cummings, Wesnes, McKeith, O'Brien et al., 2000a). Diese Fluktuationen könnten mit ictalen EEG-Änderungen korrelieren (Walker, Ayre, Cummings, Wesnes, McKeith, O'Brien et al., 2000b).

Es können auch ungewöhnliche Anfallsarten, wie eine vorübergehende epileptische Amnesie auftreten (Larner, 2010), von denen vermutet wird, dass sie bei einigen AD-Patienten für das Wanderverhalten verantwortlich sind.

### 1.2.2. EEG - und Anfallsdetektion

Obwohl das EEG dazu beitragen kann, die epileptiforme Aktivität bei AD-Patienten mit schwankenden Verhaltens- und kognitiven Leistungen zu ermitteln, ist das EEG nicht Teil des Protokolls, das bei der diagnostischen Aufarbeitung von Demenz-Patienten verwendet wird (Al-Qazzaz, Ali, Ahmad, Chellappan, Islam und Escudero, 2014). Bei sporadischer Alzheimererkrankung zeigte das Routine-EEG typischerweise eine langsame Hintergrundaktivität. Interiktale epileptiforme Entladungen wurden nur bei einer Minderheit

von AD-Patienten mit Anfällen und bei einigen Patienten ohne diese beobachtet (Czigler, Csikos, Gaal, Csibri, Kiss, Hidasi et al., 2006, Bernardi et al., 2010). Liedorp et al. untersuchten systematisch die Inzidenz epileptiformer Entladungen bei 1674 dementen Patienten, indem sie Routine-EEGs untersuchten (Liedorp, Stam, van der Flier, Pijnenburg und Scheltens, 2010). Sie fanden nur in drei Prozent der Gruppe temporale *Spikes* oder Wellen. Etwa 60 % der Patienten mit epileptiformen Entladungen hatten nie einen klinischen Anfall. Eine epileptische Aktivität wurde nur bei 26 % der demenzkranken Patienten mit offensichtlichen Anfällen festgestellt (Clemens, Janszky, Szucs, Bekesy, Clemens und Halasz, 2003). Die geringe Anzahl an pathologischen EEGs bei Alzheimer ist nicht überraschend, da bekannt ist, dass die epileptiforme Aktivität, die von der mesiotemporalen Region ausgeht, in Routine-EEG-Aufzeichnungen der Kopfhaut verborgen bleiben kann (Clemens et al., 2003). Nilsson *et al.* berichteten, dass bei TLE-Patienten (Temporallappen Epilepsie) das Kopf-EEG lediglich in weniger als der Hälfte der Fälle eine interiktale epileptiforme Aktivität nachweisen konnte (Nilsson, Fohlen, Jalin, Dorfmueller, Bulteau und Delalande, 2009). Es ist daher wahrscheinlich, dass bei der Mehrheit der AD-Patienten mit mesialer TLE epileptiforme *Spike*-Entladungen bei EEG-Aufnahmen der Kopfhaut nicht nachgewiesen werden können.

Die Verwendung zusätzlicher EEG-Techniken könnte, neben dem routinemäßigen EEG der Kopfhaut, bei AD-Patienten eine höhere Sensitivität und Spezifität der epileptiformen Aktivität zeigen. HD-EEG hat sich auch bei der Erkennung von *Spikes* in der Mesio-TLE bewährt. Darüber hinaus kann eine Langzeit-EEG- und/oder Video-EEG-Überwachung verwendet werden, um partielle Anfälle, die zu Bewusstseinsveränderungen führen, von demenzbedingten Verhaltensänderungen zu unterscheiden. Die Detektion von Anfällen mit Video-EEG- und/oder Langzeit-EEG-Überwachung wurde jedoch nur in wenigen Studien bei AD durchgeführt. McBride *et al.* haben berichtet, dass die Wahrscheinlichkeit der Erkennung von partiellen Anfällen bei längerer Video-EEG-Überwachung signifikant anstieg (McBride, Laroia und Guillet, 2000). Es ist jedoch zu beachten, dass Video-EEG- und/oder Langzeit-EEG-Überwachung bei der Anwendung praktische Hindernisse darstellt, einschließlich einer beeinträchtigten Zusammenarbeit des Patienten und der Möglichkeit eines erhöhten Niveaus von Angstzuständen und Erregung, die bspw. durch einen Krankenhausaufenthalt verursacht werden. Langfristiges ambulantes EEG im häuslichen Umfeld könnte diese Probleme umgehen.

### 1.2.3. Maus-Modelle in der Alzheimer-Forschung

Bis heute wurden etwa 100 verschiedene Alzheimer-Mausmodelle etabliert mit signifikanten Unterschieden in der Pathohistomorphologie, der Symptomatik, dem Krankheitsverlauf, der Sterblichkeit und translationalen Kategorien (Duff und Suleman, 2004). Allgemein betrachtet zeigen Alzheimer-Linien einen A $\beta$ <sub>42</sub>-Überschuss, der in Verbindung mit einer erhöhten Sterblichkeitsrate liegt (Hsiao, Borchelt, Olson, Johannsdottir, Kitt, Yunis et al., 1995, Leissring, Farris, Chang, Walsh, Wu, Sun et al., 2003, Chin, Palop, Yu, Kojima, Masliah und Mucke, 2004). Diverse Mausmodelle mit App PS1 und PS2 finden in der neurologischen Grundlagenforschung Anwendung. Je nach zu untersuchendem Hirnareal und Versuchsaufbau unterscheiden sich die Modelle in ihrer Anwendbarkeit. In diesen Modellen ist die hauptsächlich betroffene Hirnregion der Hippocampus, der am stärksten von der frühen AD betroffen ist (Sturchler-Pierrat, Abramowski, Duke, Wiederhold, Mistl, Rothacher et al., 1997). Viele dieser Modelle, wie APPwt und APPSwe wurden auf Krampfanfälligkeit getestet (Born, 2015).

Aufgrund der neuronalen Überexpression von hAPP-Mutationen weisen diese transgenen Mäuse mehrere Alzheimer-artige Anomalien auf, einschließlich der Amyloid-Plaques, funktionellen und strukturellen synaptischen Defiziten sowie erheblichen Beeinträchtigungen bei Lern- und Gedächtnisaufgaben (Kobayashi und Chen, 2005). Destabilisierte neuronale Netzwerkaktivität und anomale Netzwerksynchronisation (Palop und Mucke, 2010) und Störung der synaptischen Plastizität wurden ebenfalls berichtet (Nimmrich, Grimm, Draguhn, Barghorn, Lehmann, Schoemaker et al., 2008). Diese Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass die Alzheimer-Krankheit, zumindest initial, die Synapsen angreift (Selkoe, 2002).

Dies ähnelt den Ergebnissen von Untersuchungen an Geweben von Menschen mit Alzheimer und Epilepsie (Nagerl, Eberhorn, Cambridge und Bonhoeffer, 2004). Sie deuteten darauf hin, dass die hippokampalen Veränderungen, die bei transgenen hAPP-Mäusen und bei Menschen mit Alzheimer gefunden wurden, durch abweichende Erhöhungen der neuronalen Aktivität verursacht werden können, was mit der Übererregbarkeit bei neurodegenerativer Erkrankungen zusammen hängen kann (Larner, 2010). Außerdem ist es wahrscheinlich, dass eine Übererregbarkeit in neuronalen Schaltkreisen teilweise für das Fortschreiten der APP-Ablagerung verantwortlich ist. Dolev et al. fanden heraus, dass *Spike*-Entladungen von Synapsen die Konformation der PS1-Untereinheit der  $\gamma$ -Sekretase reguliert, wodurch das A $\beta$ -Verhältnis von  $_{40/42}$  bestimmt wird (Dolev, Fogel, Milshtein, Berdichevsky, Lipstein, Brose et

al., 2013). In mehreren Tierstudien war das Auftreten von Anfällen mit einer höheren Sterblichkeitsrate verbunden (Jolas, Zhang, Zhang, Wong, Del Vecchio, Gold et al., 2002).

### 1.3. Geschlecht und Alzheimer

Alter und Geschlecht sind zwei der drei Hauptrisikofaktoren für die Alzheimer-Krankheit, neben dem genetischen Aspekt (Riedel, Thompson und Brinton, 2016). Männer und Frauen zeigen Unterschiede in der Entwicklung und im Verlauf von Alzheimer (Hamson, Roes und Galea, 2016); so haben Frauen nach dem 75. Lebensjahr ein doppelt so hohes Risiko an AD zu erkranken als Männer. Die Faktoren, die den geschlechtsspezifischen Unterschieden in der Alzheimer-Erkrankung zugrunde liegen, sind noch ungeklärt (Henderson, 2009, Brinton, Yao, Yin, Mack und Cadenas, 2015, Engler-Chiurazzi, Brown, Povroznik und Simpkins, 2017, Merlo, Spampinato und Sortino, 2017, Pike, 2017). Höchstwahrscheinlich spielen Sexualsteroidhormone, insbesondere Estradiol, eine wichtige Rolle im Zusammenhang bei den Unterschieden der Entstehung und Entwicklung der AD. Bei Frauen sind Ereignisse, die die (lebenslange) Exposition von Östrogenen verringern, mit einem erhöhten AD-Risiko verbunden, wohingegen eine Hormontherapie auf Östrogenbasis, die in temporaler Nähe zu der Menopause verabreicht wird, das AD-Risiko verringern kann. Studien bei jungen Frauen zeigten außerdem Schwankungen in den Schlafereignissen und die schlafabhängige Gedächtniskonsolidierung in verschiedenen Phasen des Menstruationszyklus, die mit dem Niveau von Sexualsteroiden in Zusammenhang stehen. Eine wenig beachtete Möglichkeit besteht darin, dass eine wichtige Wechselwirkung zwischen diesen beiden Schutzfaktoren (Sexualsteroiden und Schlaf) besteht, die bei täglichen Schwankungen in der kognitiven Verarbeitung, insbesondere im Gedächtnis, über die Lebensdauer einer Frau eine Rolle spielen kann (Sundstrom Poromaa und Gingnell, 2014). Voneinander unabhängige Forschungsgruppen zeigten, dass dieselben elektrophysiologischen Merkmale, die für das schlafabhängige Gedächtnis wichtig sind, bei Männern und Frauen unterschiedlich ausgeprägt sind und auch von Sexualsteroiden beeinflusst werden: bei Frauen ist *Slow-Wave-Sleep* (SWS) präsenter und weist gesteigerte Delta- und Theta-Aktivität auf (Armitage und Hoffmann, 2001, Redline, Kirchner, Quan, Gottlieb, Kapur und Newman, 2004).

Bei Männern zeigen Östrogene keine altersbedingte Reduktion und sind nicht signifikant mit dem AD-Risiko verbunden. Vielmehr sagt normaler altersbedingter Abbau von Testosteron im Plasma und im Gehirn eine erhöhte Anfälligkeit für AD voraus. Sowohl Östrogene als

auch Androgene üben im Gehirn von Erwachsenen zahlreiche Schutzmaßnahmen aus, die die neuronale Funktion und Widerstandsfähigkeit erhöhen sowie mehrere Aspekte der AD-bedingten Neuropathologie gezielt abschwächen. Das Altern verringert die aktivierenden Wirkungen von Sexualhormonen auf geschlechtsspezifische Art und Weise, was vermutlich die Beziehung zwischen Alterung und AD fördert. Sexualsteroidhormone können aufgrund ihrer organisatorischen Auswirkungen während der sexuellen Entwicklung des Gehirns auch sexuelle Unterschiede in der AD hervorrufen. Insbesondere können Sexualhormone während der frühen Entwicklung die angeborene Verwundbarkeit des weiblichen Gehirns für die Entwicklung von AD im fortgeschrittenen Alter bedeuten. Die kombinierten Wirkungen von Organisations- und Aktivierungseffekten von Sexualsteroiden führen zu unterschiedlichen Geschlechtsunterschieden in der Pathogenese der AD, einer signifikanten Variablen, die in zukünftigen Forschungen strikter berücksichtigt werden muss.

#### **1.4. Schlaf und Theta-Wellen**

Schlaf stellt ebenfalls einen Schutzfaktor gegen altersbedingte kognitive Abnahme dar, da bestimmte elektrophysiologische Schlafereignisse für die „Offline“-Speicherkonsolidierung wichtig sind (da Silva, 2015). Wie im vorhergehenden Kapitel bereits erwähnt, zeigten Studien einen Zusammenhang bei jungen Frauen von Schlaf und Menstruationszyklus auf die Kognition. Der Einfluss von Sexualsteroiden auf das Gedächtnis kann durch ihre Wirkung auf andere modifizierbare, schützende biologische Faktoren, die das Gedächtnis beeinflussen, wie etwa den Schlaf, vermittelt werden. Der Schlaf ist entscheidend für das Langzeitgedächtnis. Dies ist auf mehrere elektrophysiologische Ereignisse (Boyce, Williams und Adamantidis, 2017), einschließlich langsamer Oszillationen und Schlafspindeln, verbunden mit einer Gedächtniskonsolidierung, zurückzuführen.

Die dominierenden Wellen des Schlafes sind Delta- und Theta-Wellen. Delta-Aktivität findet man verstärkt in der Tiefschlafphase, wohingegen Theta-Aktivität vermehrt im Traumschlaf (Rapid-Eye-Movement / REM) auftritt (Boyce, Glasgow, Williams und Adamantidis, 2016). Damit lässt sich schlussfolgern, dass ein gestörtes Schlafverhalten und somit ein Ausbleiben des REM-Schlafes eine verminderte Theta-Aktivität bewirkt und dieses die Gedächtnisfestigung verhindert (Diekelmann und Born, 2010).

## 1.5. APP – das Amyloid Precursor Protein

Das Amyloid Precursor Protein (APP) gehört zu der Familie der konservierten Typ I Membranproteine, zu denen ebenfalls das APP like protein 1 (APLP1) und 2 (APLP2) in Säugern gehört, als wohl die homologen Proteine APL-1 des *C. elegans* und das APPL in *Drosophila*. Diese Proteine haben verschiedene konservierte Motive gemein, wie beispielsweise die extrazelluläre Domäne E1, E2 und die YENPTY Sequenz. Die A $\beta$ -Sequenz hingegen ist lediglich in der APP-Sequenz aufzufinden (Zheng und Koo, 2011).

APP wird im Körper konstitutiv exprimiert, mit einem Hauptauftreten im Hirn und im noch spezielleren Sinne in den Neuronen. Das humane APP-Gen befindet sich auf dem Chromosom 21 und umfasst ~400kb genomischer DNA (Rooke, Talbot, James, Anand, Hardy und Goate, 1993) und wurde erstmals 1987 geklont (Kang et al., 1987). Das Protein wird alternativ gespleißt, wobei verschiedene mRNAs entstehen und folglich verschiedene Isoformen. Die wichtigsten Isoformen sind APP695, APP751 und APP770. Am häufigsten finden sich die längeren APP751 und das APP770, welche die Kunitz-Typ Domäne – einen extrazellulären Serin-Protease Inhibitor – enthalten. In Neuronen ist hingegen eher die Isoform APP659 prädominant und misst die Kunitz-Domäne (De Strooper und Annaert, 2000, Zheng et al., 2011).

### 1.5.1. Proteolytische Prozessierung des APP: $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -Sekretase

Das Typ I Transmembranprotein APP wird charakterisiert durch eine lange N-terminale Ektodomäne, die durch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Sekretasen gespalten wird, einer transmembranen Domäne, die teilweise die A $\beta$ -Sequenz enthält und einem kurzen C-terminalen Teil, der möglicher Weise am intrazellulären Signalweg beteiligt ist (Kang et al., 1987, Haass, 2004).

Das komplette APP wird durch translationale Modifikationen wie N- und O-glykosylation, Phosphorylation und Tyrosin-Sulfation verändert (Lichtenthaler, Haass und Steiner, 2011, Haass, Kaether, Thinakaran und Sisodia, 2012).

Während des sekretorischen Pathways wird APP sequentiell proteolytisch durch  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase prozessiert. Die Spaltung der extrazellulären Domäne findet durch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Sekretase statt und resultiert in den löslichen Produkten APPs $\alpha$  und APPs $\beta$ . Die in der Membran verbleibenden Fragmente, das  $\alpha$ - und  $\beta$ -carboxyterminale Fragment (CTF $\alpha$  und CTF $\beta$ ), werden weiter durch die  $\gamma$ -Sekretase an verschiedenen Positionen geschnitten, sodass zum einen das p3-Peptid von CTF $\alpha$  und zum anderen das A $\beta$ -Peptid des CTF $\beta$  entsteht. Die

Spaltung durch die  $\gamma$ -Sekretase führt in beiden Fällen zu einer Entstehung einer intrazellulären APP-Domäne (AICD). Da die  $\alpha$ -Sekretase-Spaltung innerhalb der A $\beta$ -Sequenz stattfindet, um die Entstehung des Zelltoxins zu vermeiden, wird dieser Weg nicht-amyloidogene Prozessierung genannt. Im Gegensatz dazu steht die durch  $\beta$ -Sekretase induzierte amyloidogene Prozessierung (Abb. 6) (Lichtenthaler et al., 2011).

Die  $\beta$ -Sekretase wurde 1999 entdeckt: Die transmembrane Aspartylprotease BACE1 ( $\beta$ -site APP cleaving enzyme 1) ist für die Spaltung von APPs $\beta$  an der  $\beta$ -Site Met 671-Asp672 (Vassar, Bennett, Babu-Khan, Kahn, Mendiaz, Denis et al., 1999) und die Entstehung des CTF $\beta$  verantwortlich. CTF $\beta$  kann nun entweder unter Freisetzung von A $\beta$  durch  $\gamma$ -Sekretase gespalten werden oder wie kürzlich entdeckt wurde, durch  $\alpha$ -Sekretase weiter gespalten werden (Portelius, Price, Brinkmalm, Stiteler, Olsson, Persson et al., 2011).

BACE1 kann zusätzlich APP an der  $\beta$ -Site, einer sekundären *Cleavage Site* (an Glu11 der A $\beta$ -Sequenz) spalten, wodurch CTF89 entsteht. Diese sekundäre Prozessierung lässt verkürzte Formen von A $\beta$  entstehen (Vassar et al., 1999).

Parallel dazu wurden viele Zinkmetalloproteinasen aus der ADAMs-Familie jahrelang als mögliche  $\alpha$ -Sekretasen für APP untersucht. Erst kürzlich wurde ADAM10 der APP-konstitutiven  $\alpha$ -Sekretase in Neuronen zugeordnet (Kuhn, Wang, Dislich, Colombo, Zeitschel, Ellwart et al., 2010, Lichtenthaler et al., 2011). ADAM10 spaltet APP zwischen Lys16 und Leu17 des A $\beta$  Sequenz (Kuhn et al., 2010).

Die CTFs, die durch die Spaltung von ADAM10 und BACE1 entstanden, dienen als Substrate des  $\gamma$ -Sekretase-Komplexes. Vier Untereinheiten sind verantwortlich für die  $\gamma$ -Sekretase-Aktivität: Presenelin, Nicastrin, APh1 und PEN2 (Edbauer, Winkler, Haass und Steiner, 2002, Edbauer, Winkler, Regula, Pesold, Steiner und Haass, 2003). Presenilin, bestehend aus Presenilin 1 und 2, ist die katalytische Untereinheit des  $\gamma$ -Sekretase-Komplexes (Haass und Steiner, 2002) und schneidet die CTF $\beta$  innerhalb der Transmembrandomäne, wobei A $\beta$ -Peptide und gekürzte Formen von A $\beta$  entstehen (Steiner, Fluhner und Haass, 2008, Fukumori, Fluhner, Steiner und Haass, 2010, Portelius, Mattsson, Andreasson, Blennow und Zetterberg, 2011): am prominentesten hierbei ist das A $\beta$ <sub>40</sub>.

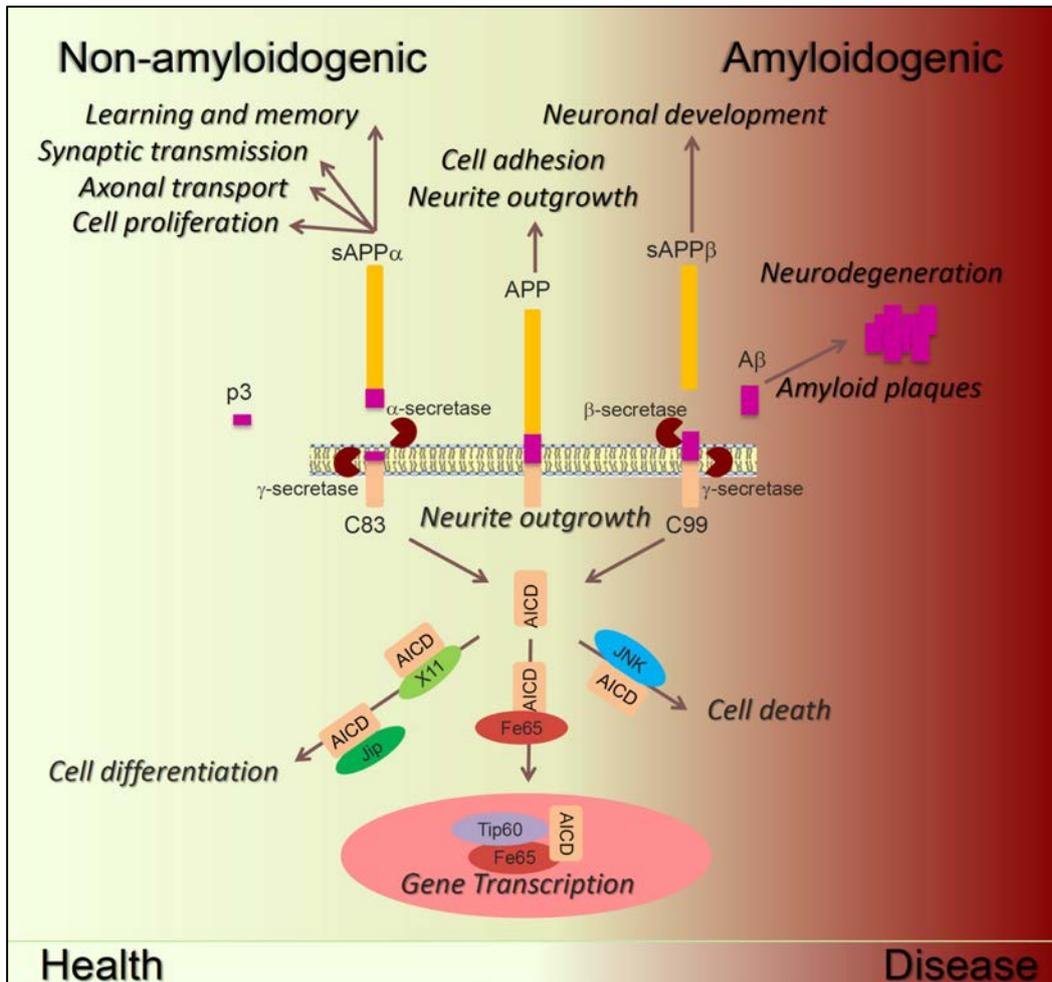


Abb. 6 Pathologische und nicht-pathologische Mechanismen des APP.  
(Deyts, Thinakaran und Parent, 2016)

### 1.5.2. Regulation des APP shedding: der intrazelluläre Transport

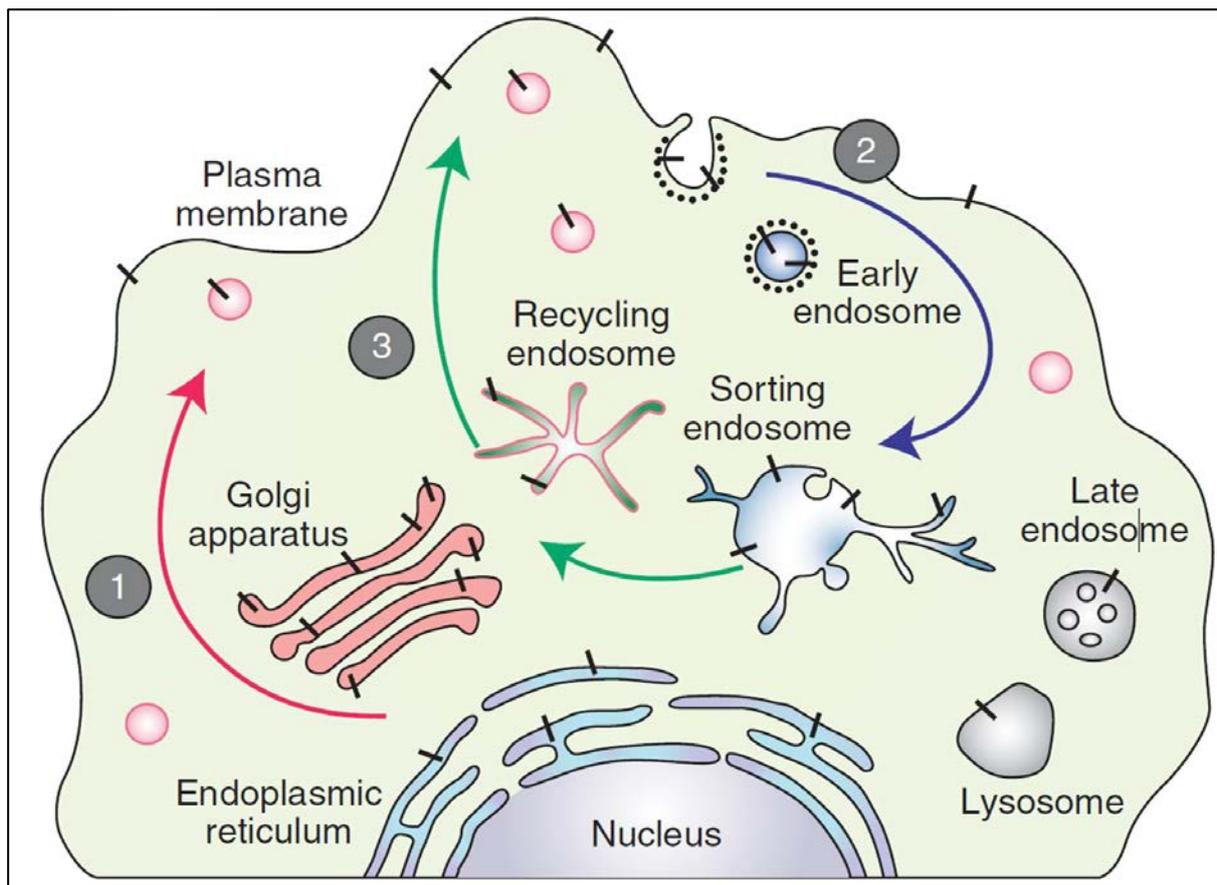
Ob APP amyloidogen oder nicht-amyloidogen prozessiert wird, spielt bei dem intrazellulären Transport und der Lokalisation eine wichtige Rolle und somit ist es auch ein wichtiger Faktor der Neurodegeneration (Abb.7).

APP wird im Endoplasmatischen Retikulum translatiert und durch den Golgi-Apparat zum Trans-Golgi-Netzwerk transportiert, wo es N- und O-glykosiert und phosphoryliert wird und ebenso die Tyrosin-Sulfation stattfindet (Zheng et al., 2011, Haass et al., 2012).

Die höchste Konzentration an APP lässt sich im TGN (*Trigeminal Ganglion Neuron*) nachweisen. Vom TGN stammende Vesikel transportieren APP zur Zelloberfläche, wo eine

$\alpha$ -Spaltung stattfinden kann, oder aber alternativ kann es zurückgeführt werden über den endosomalen- und lysosomalen Weg (Koo, Squazzo, Selkoe und Koo, 1996).

Das an der Zelloberfläche gebundene vollständige APP wird über Clathrine zu den Endosomen transportiert, wo es von BACE1 gespalten wird. Das entstandene CTF $\beta$  wird anschließend nun entweder zurück zur Zelloberfläche transportiert, wo es durch die  $\gamma$ -Sekretase zu A $\beta$  geschnitten oder es zu den Lysosomen abtransportiert und abgebaut wird (Koo et al., 1996, Sannerud und Annaert, 2009). Endosomales APP kann aber auch zum TGN und Golgi rücktransportiert werden und dabei durch  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase prozessiert werden (Vetrivel und Thinakaran, 2006, Thinakaran und Koo, 2008b, Thinakaran und Koo, 2008a).



**Abb. 7 Intrazelluläres trafficking von APP.**

APP Moleküle (Schwarze Balken) entstehen durch den konstitutiven Pathway (1). Sobald APP an der Zelloberfläche ankommt wird es sofort eingeschlossen (2) und durch endozytotische und recyclatorische Organellen zum TGN oder der Zelloberfläche transportiert (3). Anteilig wird in den Lysosomen abgebaut. Nicht-amyloide Prozessierung geschieht hauptsächlich an der Zelloberfläche, wo  $\alpha$ -Sekretase präsent ist. Amyloide Prozessierung findet beim Transit durch die endozytotischen Organellen statt, wobei APP auf  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase trifft. (Haass et al., 2012)

Ein großes Interesse besteht in der Erforschung der *Traffacking Factors*, aufgrund ihrer Rolle bei der Modulation von APP und der Entstehung von A $\beta$ .

Die Interaktion des zytoplasmatisch gelegenen *Tails* von APP mit X11 soll der Stabilisation von APP innerhalb der Zelle dienen sowohl bei der amyloiden als auch der nicht-amyloiden Prozessierung (Saito, Akiyama, Araki, Sumioka, Shiono, Taru et al., 2011). Verschiedene Komponenten des endozytären *Pathways*, wie beispielsweise Clathrin und Dynamin I, können die Produktion von A $\beta$  regulieren (Sorkin und von Zastrow, 2009). Das neuronal hoch exprimierte SorLA/LR11 (Typ I Membranprotein), was in den Transport von APP zwischen Plasmamembran, Endosomen und Golgi involviert ist, ist in Alzheimer Patienten vermindert. Eine Überexpression von SorLA resultiert in einer Akkumulation von APP im Golgi-Apparat (Andersen, Reiche, Schmidt, Gotthardt, Spoelgen, Behlke et al., 2005, Schmidt, Sporbert, Rohe, Reimer, Rehm, Andersen et al., 2007). Des Weiteren haben SorLA/LR11 knock-out Mäuse ein erhöhtes A $\beta$  Level (Rogaeva, Meng, Lee, Gu, Kawarai, Zou et al., 2007).

### 1.5.3. APP<sup>swe</sup>PS1<sup>dE</sup> de Mausmodell

Es existiert eine Reihe von transgenen Mausmodellen der Alzheimer Krankheit, welche hauptsächlich durch eine Überexpression einer oder mehrerer Mutationen im APP-Gen charakterisiert sind, die zu einem Anstieg von A $\beta$  führt. Folglich führt dies zu altersabhängigen alzheimerspezifischen Veränderungen, wie beispielsweise den A $\beta$ -Plaques, axonaler und synaptischer Dystrophy, gestörter synaptischer Plastizität und einem gestörten Lernverhalten und Erinnerungsvermögen (Games, Adams, Alessandrini, Barbour, Berthelette, Blackwell et al., 1995, Price, Sisodia und Borchelt, 1998, Gotz, Schild, Hoernkli und Pennanen, 2004, Kobayashi et al., 2005). Die von uns verwendete APP<sup>swe</sup>PS1<sup>dE</sup> Alzheimer-Maus trägt das humane APP-Gen mit der Swedish double mutation (APP<sup>swe</sup>) und zusätzlich dem humanen PS-1-Gen mit Exon 9 Deletion (PS1<sup>dE9</sup>) (Jankowsky, Fadale, Anderson, Xu, Gonzales, Jenkins et al., 2004a, Jankowsky, Slunt, Gonzales, Jenkins, Copeland und Borchelt, 2004b, Malm, Koistinaho und Kanninen, 2011). Das Ergebnis ist eine Überproduktion von APP und PS1 Splice-Varianten, was wiederum zu einem Anstieg von neuronalem A $\beta$  führt. Die Sterblichkeitsrate in APP<sup>swe</sup>PS1<sup>dE9</sup> liegt bei ca. 10 – 15 % unabhängig der Pathomorphologien (Minkeviciene, Rheims, Dobszay, Zilberter, Hartikainen, Fulop et al., 2009). Bei diesem Mausmodell entstehen die ersten A $\beta$ -Plaques, vor allem im Cortex und Hippokampus, in einem Alter von ca. 4 Monaten, was sich mit dem Mortalitätspeak bei etwa

drei bis vier Monaten deckt (Garcia-Alloza, Robbins, Zhang-Nunes, Purcell, Betensky, Raju et al., 2006, Shemer, Holmgren, Min, Fulop, Zilberter, Sousa et al., 2006). Die Mäuse zeigen ab einem Alter von sechs Monaten Gedächtnis-Defizite im *Radial Arm Water Maze* (Xiong, Hongmei, Lu und Yu, 2011). Ab einem Alter von zwölf Monaten zeigen sich bei den Mäusen Verhaltensauffälligkeiten und kognitive Defizite hinsichtlich der räumlichen Orientierung, bei der Erkennung von Zusammenhänge und dem *Morris Water Maze*.

Ebenfalls gibt es Hypothesen, die einen Zusammenhang zwischen Anfallsaktivität und plötzlichem Tod sehen, da intrazerebrale A $\beta$ -Akkumulationen in Verbindung mit Epileptogenese stehen (Palop et al., 2007, Paesler, Xie, Hettich, Siwek, Ryan, Schroder et al., 2015). Des Weiteren lassen sich typische komplexe zentrale Dysrhythmien (Siwek, Muller, Henseler, Trog, Lundt, Wormuth et al., 2015) zeigen, die ihren Ursprung in neurodegenerativen Prozessen im Cortex und septohippokampalen System haben. Diese haben insbesondere Einfluss auf die Theta- und Gamma-Aktivität.

## 1.6. Ziel der Arbeit

Derzeit gibt es für Alzheimer weder eine Heilung noch eine Behandlung, die es Patienten ermöglicht, ihre Lebensqualität zu verbessern oder den Krankheitsverlauf Verschlechterung der Symptome verlangsamt. Ein Hauptaugenmerk in der Alzheimer-Forschung liegt zum einen in der Prävention und zum anderen in der Früherkennung, lange bevor die Krankheit ausbricht und Schäden anrichtet. Somit stellt sich die Frage, ob das EEG ein Diagnostikinstrument zur Früherkennung darstellen kann.

Das EEG ermöglicht die Überwachung der Gehirnaktivität, indem es die elektrischen Signale des Gehirns erfasst. Hierbei werden die Signale in dessen Frequenzen separiert und in verschiedene Bänder (wie z.B. Alpha, Beta, Theta und Gamma) unterteilt. Diese verschiedenen Frequenzbänder stehen in Beziehung zueinander und beeinflussen sich gegenseitig. Des Weiteren gibt es auch ein sogenanntes *Cross-Frequency-Coupling* (CFC), wie beispielsweise das Theta-Gamma-Coupling, bei dem zwei Frequenzen in engem Zusammenhang zueinander stehen (Lisman und Jensen, 2013). Dieses spielt eine wichtige Rolle für das Arbeitsgedächtnis.

Kürzlich durchgeführte Studien haben gezeigt, dass Alzheimer-Patienten ein bestimmtes EEG-Spektrum aufweisen, das durch niedrigere Alpha- und Beta-Banden, höhere Theta- und Delta-Banden und einem gestörten Theta-Gamma-Coupling gekennzeichnet ist.

Es gilt nun herauszufinden, ab welchem Zeitpunkt bzw. welchem Grad der Erkrankung sich charakteristische Veränderungen in dem Oszillationsverhalten im EEG zeigen und ob sich diese Veränderungen bereits vor dem „Ausbruch“ der Erkrankung nachweisen lassen.

Die sich daraus ableitenden Hypothesen beziehen sich auf folgende Themenkomplexe:

- 1) APP-Mäuse zeigen demenztypische Veränderung im Vergleich zu WT-Mäusen
- 2) Männliche APP-Mäuse zeigen früher Seizure-Charakteristika auf als weibliche APP-Mäuse
- 3) Die Dauer der Seizures bei APP-Mäusen ist länger als bei WT-Mäusen
- 4) APP-Mäuse zeigen eine geschlechtsunabhängige Veränderung der Theta-Aktivität

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Reagenzien und Chemikalien

Tabelle 1 Verwendete Reagenzien und Chemikalien

Name	Hersteller
Agarose	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Bepanthen® dexpanthenole	Bayer (Leverkusen, Deutschland)
Betaisodonna	Mundipharma GmbH (Limburg, Deutschland)
Borsäure H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
ddH <sub>2</sub> O (bi-deionisiertes Wasser)	Milli-Q®, Merck (Darmstadt, Deutschland)
Disodium EDTA	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
Ethanol	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Glukose, 5% -ig	Braun (Melsungen, Deutschland)
Isofluoran	Baxter (Unterschleißheim, Deutschland)
Trizma Base	Sigma-Aldrich (München, Deutschland)
NaCl	Braun (Melsungen, Deutschland)
Rimadayl	Pfizer Braun (New York, USA)
Ringer-Lösung	Braun (Melsungen, Deutschland)

## 2.1.2. Laborgeräte

Tabelle 2 Verwendete Laborgeräte

Name	Hersteller
Aesculap Exacta Wireless shaver 'small'	Aesculap (USA, Center Valley,PA)
Chemidoc Touch (Gel Dokumentation)	Bio-Rad (München, Deutschland)
Heizdecke AEG® HK5510 100W	AEG AG (Frankfurt, Deutschland)
Pipette (5µl, 10 µl, 100 µl, 1000 µl, 5000µl)	Eppendorf (Hamburg, Deutschland)
Spektrophotometer (NanoDrop ND-1000)	PeqLab Biotechnology GmbH (Schabach, Deutschland)
Thermocycler (C1000)	Biometra (Göttingen, Deutschland)
Waage (PM2000)	Mettler-Toledo (Gießen, Deutschland)
Zentrifugen	Eppendorf (Hamburg, Deutschland) Sigma GmbH (Osterode am Harz, Deutschland)
Stuart® Orbital Inkubator S1500	Stuart Equipment (Staffordshire, UK)

### 2.1.3. Puffer und Lösungen

**Tabelle 3** Verwendete Puffer und Lösungen

Puffer für Agarose-Gel (4x)	40 % w/v Saccharose 0,1 % w/v Xylencyanol 0,1 % w/v Bromphenolblau Auffüllen bis 100 ml mit TAE-Puffer
TBE (5x) (pH 8.3)	37.5g Disodium EDTA 432g Trizma Base 220g Borsäure 2l Aqua. dest

### 2.1.4. Verbrauchsmaterial

**Tabelle 4** Verwendete Verbrauchsmaterilien

Name	Hersteller
Reaktionsgefäße: DNA LoBind Tubes® 1,5 ml DNA LoBind Tubes® 2,0 ml Safe-Lock-Tubes® 1,5 ml Safe-Lock-Tubes® 2.0 ml	Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)
Pipettenspitzen: epT.I.P.S. Reloads® 50–1000 µl epT.I.P.S. Reloads® 2–200 µl epT.I.P.S. Reloads® 0,1–10 µl	Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)

**2.1.5. Einwegmaterial****Tabelle 5** Verwendete Einwegmaterialien

<b>Name</b>	<b>Hersteller</b>
Wattestäbchen	Hartmann (Heidenheim, Deutschland)
Foliodrape	Hartmann (Heidenheim, Deutschland)
Handschuhe	Unigloves (Troisdorf, Deutschland)
Omincan® 1ml	Braun (Melsungen, Deutschland)
Omincan®50 (Insulin Spritze)	Braun (Melsungen, Deutschland)
Mulltupfer	Hartmann (Heidenheim, Deutschland)
Skalpell	Braun (Melsungen, Deutschland)
Sugi® Eyespear pointed tip	Kettenbach (Eschenburg, Deutschland)
Sabafil® Nylon USP 6/0, Fadenlänge 45 cm	SABANA Medizinbedarf (Wiesbaden, Deutschland)
Tungsten Microelectrode: UEWLGESANND	FHC (Bowdoin, ME USA)

### 2.1.6. OP Instrumente

**Tabelle 6** Verwendete OP- Instrumente

<b>Instrument</b>
Gewebe Pinzette 1x2 Zähne (12 cm length)
Standard Pinzette (12 cm/14.5 cm length)
Lexar baby scissors (10 cm)
Tungsten carbide iris scissors (11.5 cm)
Halsey micro needle holder (15.5 cm)
Iris scissors extra thin (10.5 cm)
Olsen-Hegar Needle Holder-extra delicate
Graefe forceps-curved, serrated
Graefe forceps-curved with teeth
Bulldog clamps
KL2500 LCD (Schott, Deutschland) - cold light source
Präzisionsbohrer PROXXON (Fohren, Deutschland)

### 2.1.7. Recording System (DSI)

**Tabelle 7** Bestandteile des Recording Systems

<b>Geräte</b>
TA10ETA-F20 - Transmitter
RPC-1 - Receiver
Data Exchange Matrix ( Multiplexer)
Data acquisition7 Analyse Einheit

### 2.1.8. Studien Tiere

Diese Studie wurde in transgenen APPswePS1dE9 Mäusen mit einem C57BL/6J *background* durchgeführt, welche das humane APP mit der *Swedish double mutation* (APPswe) und weiterhin das humane PS1 mit einer Exon 9 Deletion (PS1dE) tragen (Jankowsky et al., 2004a, Jankowsky et al., 2004b). Die Tiere (B6.Cg-Tg(APPswe, PSEN1dE9)85Dbo/Mmjax, MMRRC stock no. 34832-JAX) wurden von Jackson Laboratory beschafft. Insgesamt wurden 21 WT Kontrollen (10 Männchen, Gewicht:  $26,94 \pm 0,64$  g; 11 Weibchen, Gewicht:  $21,23 \pm 0,53$  g) und 20 APPswePS1dE Mäuse (9 Männchen, Gewicht:  $26,16 \pm 0,56$  g; 11 Weibchen, Gewicht:  $21,73 \pm 0,35$  g) in dieser Studie separat analysiert. Alle Tiere wurden in Gruppen von drei bis vier Tieren in klaren Makrolon Käfigen Typ II mit Standard-Futterpellets und Wasser *ad libitum* gehalten. Die Umgebung der Mäuse wurde konstant bei  $21 \pm 2$  °C, 50 - 60 % relative Luftfeuchte und einem konventionellen 12 h / 12 h hell / dunkel Zyklus, beginnend 5 Uhr am Morgen, mittels ventilierter Kabinen (Model 9AV125P) gehalten.

Im Laufe der Experimente wurden epidurale (elektrocortikographisch) und tiefen, intracerebrale (elektrohippographische) EEG Aufnahmen in den Käfigen aufgenommen.

Alle Experimente wurden nach dem Standard und der *Guidelines of the German Council on Animal Care* durchgeführt und alle Protokolle wurden bewilligt vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz, LANUV, Deutschland. Des Weiteren wird belegt, dass alle Tierexperimente in Anlehnung an das *European Communities Council Directive* vom 24. November 1986 (86/609/EEC) und dem 22. September, 2010 (2010/63/EU) durchgeführt wurden. Es wurde großen Wert auf die Minimierung der Tierzahl und die Minimierung des Leides der Tiere gelegt.

## 2.2. Molekularbiologische Methoden

### 2.2.1. DNA Extraktion

Die DNA-Extraktion erfolgte mittels des peqGOLD Tissue DNA Mini Kit in folgenden Schritten:

#### 1. Homogenisierung und Lyse

Es wurden ca. 0,5 cm des Mausschwanzes/-gewebes in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt und an der Gefäßinnenseite mittels einer Pipettenspitze zerdrückt. Anschließend wurden 400 µl DNA Lysis Buffer T und 20 µl Proteinase K sowie 15 µl RNase A (20 mg/ml) hinzu pipettiert. Nun wurde der Ansatz für 10 s mit Hilfe eines Vortexers gemischt und für 2 – 3 h bei 50 °C in einem Thermoschüttler inkubiert. Fortfahrend wurde der Lyseansatz für 30 s bei 10.000 x g\* zentrifugiert, um unlösliche Zelltrümmer zu pelletieren. Der Überstand wurde anschließend vorsichtig in ein neues 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt, ohne Teile des unlöslichen Pellets zu verschleppen.

#### 2. Laden und Binden

Zu dem überführten Überstand nun 400 µl DNA Binding Buffer je 400 µl eingesetztem DNA Lysis Buffer T geben und durch Pipettieren sorgfältig mischen. Nachdem eine PerfectBind DNA Column in ein 2 ml Collection Tube platziert wurde konnte der gesamten Ansatz einschließlich aller Präzipitate auf die Säule geladen werden. Anschließend wurde die Säule im Tube für 1 min bei 10.000 x g\* zentrifugiert, um restliche Flüssigkeit zu verwerfen.

#### 3. Waschen (2x)

Um die sich in der Säule befindliche DNA zu reinigen mussten 650 µl des komplettierten DNA Wash Buffers (Pufferkonzentrat plus 1,5-faches Volumen absoluten Ethanol) auf die Säule pipettiert werden. Die Säule wurde im Tube erneut für 1 min bei 10.000 x g zentrifugiert und der Säulendurchfluss verworfen.

#### 4. Trocknen

Um sie DNA vollständig zu trocknen wurde die PerfectBind DNA Column in ein 2 ml Collection Tube gegeben und durch Zentrifugieren für 2 min bei 10.000 x g vollständig getrocknet.

## 5. Elution

Damit die DNA aus der PerfectBind DNA Column gelöst werden konnte wurde die Säule in ein frisches 1,5 ml Reaktionsgefäß platziert und 200 µl Elution Buffer auf die Säulenmatrix pipettiert. Die Säule wurde anschließend im Reaktionsgefäß für 3 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach für 1 min bei 6.000 x g zentrifugiert.

### 2.2.2. Polymerasekettenreaktion (PCR): APP-Genotypisierung

Mittels PCR wurden die Mäuse in TG- und WT-Tiere differenziert. Hierfür wurden 2 µl isolierte Gesamt-DNA (peqGOLD DNA Mini Kit, peqlab) verwendet. Die gewonnene DNA stammt von den ausgestanzten Ohrmarkierungen eines jeden Tieres. Diese wurde mit dem Red Taq Master Mix (Sigma Aldrich) und dem *forward* und *reverse* Primer für APP und PSEN1 (je 0,5 µM Endkonzentration) und dem Kontrollgen (1µM Endkonzentration) zusammen pipettiert. Die anschließende PCR wurde mit dem C1000-Thermocycler (BioRad) durchgeführt. Die amplifizierte DNA wurde anhand einer standardmäßigen Gelelektrophorese auf einem 1,5 %-igen Agarosegel aufgetrennt. Die Produktbanden wurden unter Verwendung eines Chemidoc Touch (BioRad) mittels Lumineszenz sichtbar gemacht (Abb. 8 Amplifizierte DNA aufgetrennt in Produktbanden).

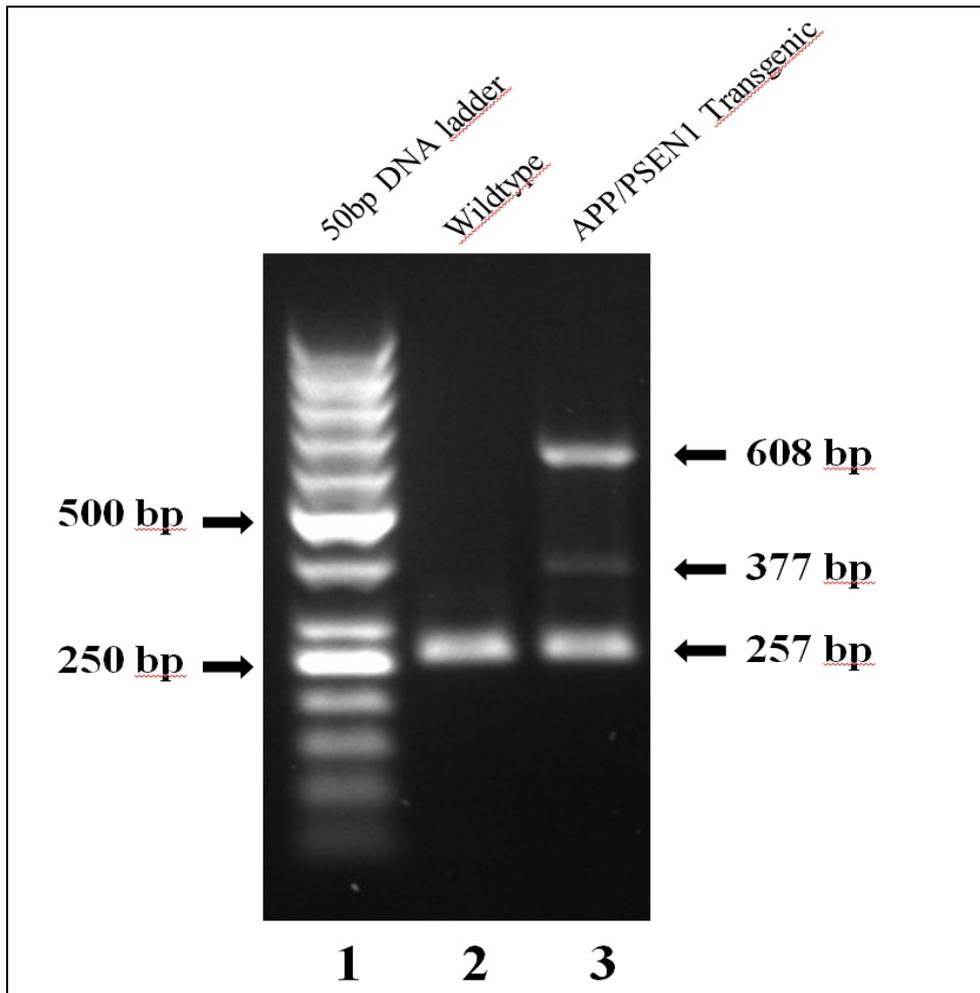


Abb. 8 Amplifizierte DNA aufgetrennt in Produktbanden

Tabelle 8 Pipettierschema

Reagenz	Volumen pro Probe [ $\mu$ l]
H <sub>2</sub> O	8,9
PSEN1 for (50 pmol/ $\mu$ l)	0,3
PSEN1 rev (50 pmol/ $\mu$ l)	0,3
APP for (50 pmol/ $\mu$ l)	0,3
APP rev (50 pmol/ $\mu$ l)	0,3
WT for (50 pmol/ $\mu$ l)	0,2
WT rev (50 pmol/ $\mu$ l)	0,2
Red Taq Master Mix	12,5
Genomische DNA	2
<b>TOTAL</b>	<b>25</b>

**Tabelle 9 Cycler Einstellungen**

<b>Schritt</b>	<b>Temp. [°C]</b>	<b>Dauer</b>	<b>Zyklen</b>
1. Denaturierung	94	3 min	1
2. Denaturierung	94	30 s	34 x
Annealing	48	30 sec	
Elongation	72	60 sec	
Optionale Elongation	72	10 min	1

## 2.2.3. Primer

Tabelle 10 Verwendete Primer für Genotypisierung der Mäuse

Primer	Sequenz 5' - 3'	Größe
APP for (TG – forward)	AGGACTGACCACTCGACCAG	377 bp
APP rev (TG – reverse)	CGGGGGTCTAGTTCTGC	
PSEN1 for (TG – forward)	AATAGAGACACGGAGCA	608 bp
PSEN1 rev (TG – reverse)	GCCATGAGGGACACATATCAT	
Kontrollgen – WT forward	ACCTTGGACCAAATCTGAGTGTA	257 bp
Kontrollgen – WT reverse	GGCCAAGCTGAGCAGGTAAT	

## 2.2.4. Ladder

Tabelle 11 Verwendete DNA-Leiter

Name	Hersteller
DNA-Leiter, 50 bp, peqGOLD	VWR (Radnor, PE USA)

## 2.3. Praktische Methoden

### 2.3.1. Radiofrequenztransmitter Implantation

Die Mäuse wurden mit dem leicht flüchtigen Narkotikum Isofluran (1,5 – 2,5 %) in Kombination mit Carbogen anästhesiert. Das Tier wurde dorsal auf eine sterile Unterlage auf eine Heizdecke gelegt, um Hypothermie während der Operation zu vermeiden. Während der OP wurde das Isofluran mittels einer Gesichtsmaske über einen kalibrierten Vaporizer TM VIP 3000 und einem Scavenger System von Harvard apparatus (USA) verabreicht (Weiergraber, Henry, Hescheler, Smyth und Schneider, 2005, Lundt, Wormuth, Siwek, Muller, Ehninger, Henseler et al., 2016, Papazoglou, Lundt, Wormuth, Ehninger, Henseler, Soos et al., 2016b). Anschließend wurde das Fell der Maus am Schädel und Nacken mit einem Rasierer (Aesculap®, Eikemeyer®, Deutschland) entfernt. Die rasierten Areale wurden mit Betaisodona®Solution (MUNDIPHARMA GmbH, Deutschland) desinfiziert. Mit Hilfe eines scharfen Skalpells wurde ein 2 cm langer mittiger Schnitt vom Schädelmittelpunkt zum Nacken gesetzt. Von der caudalen Seite des Einschnittes wurde eine Unterhauttasche entlang der lateralen Flanke bis zum Pelvis mittels einer stumpfen Präparierschere geschaffen. Der Radiofrequenz-Transmitter TL11M2-F20-EET (2-Kanal-Transmitter, Data Science International (DSI, Germany), Spezifikation: Gewicht 3,9 g, Volumen 1,9 cm<sup>3</sup>, Eingangsspannung  $\pm$  1,25 mV, Amplifizierungsfaktor (Spannungszunahme) 200; Nominale sampling Rate 250 Hz) wurde nun in die mit Saline vorgefeuchtete Unterhauttasche der Maus positioniert mit den Elektroden kranial ausgerichtet (Abb. 9), sodass diese mittels des computerisierten 3D-Stereotakten platziert werden konnten (Weiergraber et al., 2005, Lundt et al., 2016, Papazoglou et al., 2016b).

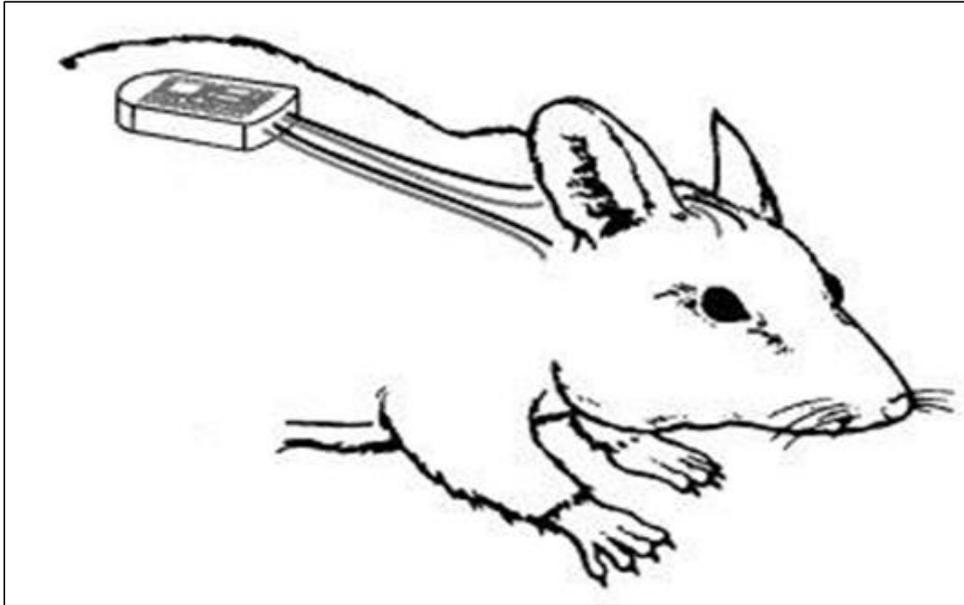


Abb. 9 Schematische Darstellung eines subkutan implantiertem 2-Channel-Transmitters in einer Hauttasche auf dem Rücken einer Maus

### 2.3.2. Elektroden-Platzierung für das EEG-Recording

Nachdem der Transmitter adäquat in der Unterhauttasche positioniert wurde, wurde die Maus im digitalen *stereotaxic device* (Stoelting, USA und Neurostar, Deutschland) durch zwei *ear-bars* und eine *mouth-clamp* in Position gebracht und ausgerichtet (Abb. 10 A+B).

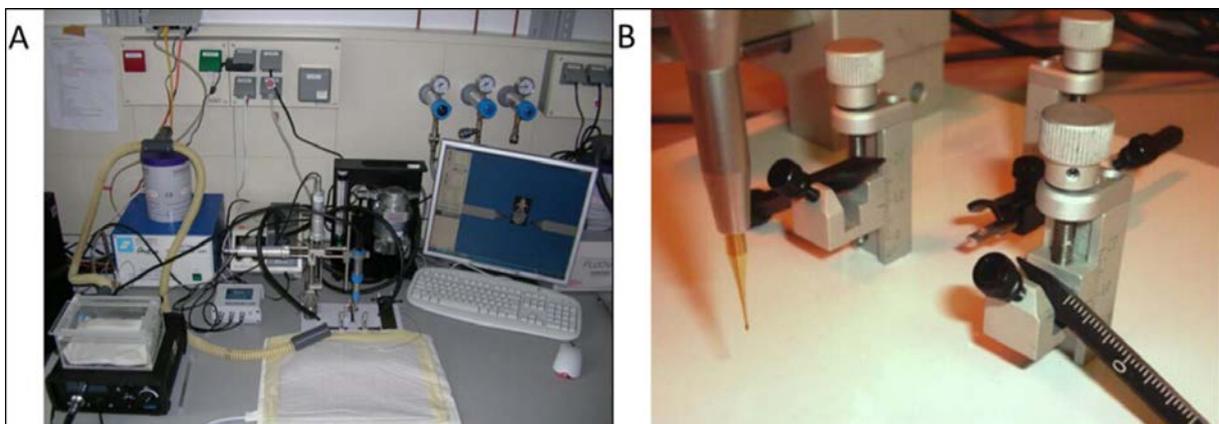
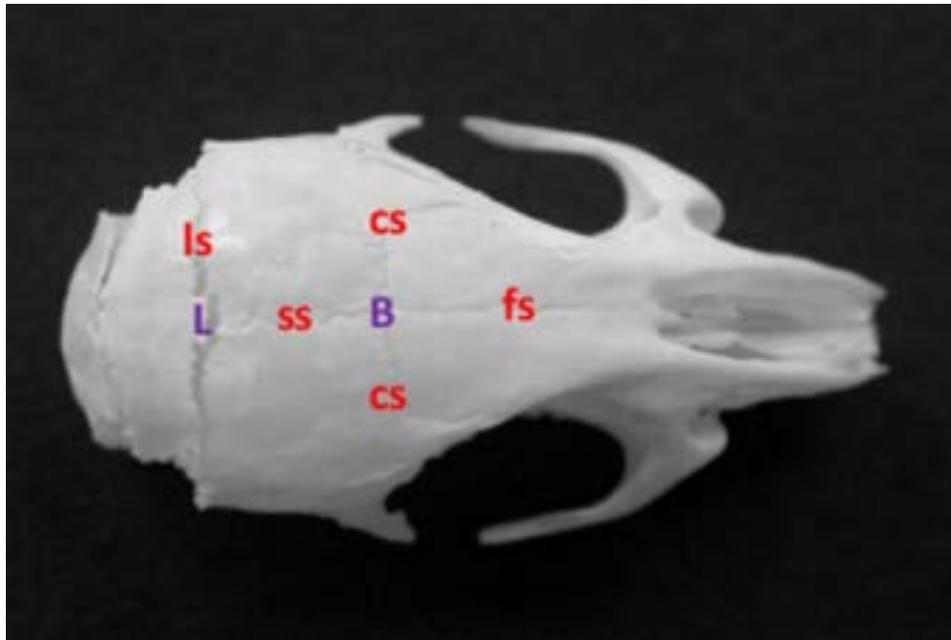


Abb. 10 OP-Platz mit Stereotaktischen Frame.

- A) OP-Platz mit Anästhesie-System, Stereotaktischem Frame, High-Speed-Bohrer und Heizdecke. B) Nahaufnahme des Bohrers, der *Ear-Bars* und der *Mouth-Clamp*.

Im Anschluss erfolgte das Reinigen des Periosts mittels eines sterilen Wattestäbchens und 0,3 % -igen  $H_2O_2$ , ohne die Schläfen- und Hinterkopfmuskulatur zu beschädigen. Bei diesem Verfahren werden eindeutige kraniale Nähte und kranio-metrische Merkmale wie Bregma und Lambda sichtbar gemacht (Abb. 11).



**Abb. 11 Anatomische Strukturen und Orientierungspunkte eines murinen Schädels.** Apikaler Betrachtungswinkel der sichtbarwerdenden Schädelnähte nach der Behandlung mit  $H_2O_2$ : Kraniale Knochen (os frontale (of), os parietale (op), os occipitale (oo)) und Nähte (sutura frontalis (sf), sutura sagittalis (ss), sutura coronaria (sc), und sutura lambdoidea (sl)).(Lundt et al., 2016)

Die epidurale Oberflächenelektrode (Abb. 12) von Kanal 1 des Transmitter TL11M2-F20-EET wurde an folgenden stereotaktischen Koordinaten (*bregma craniometric landmark*) positioniert: Kranial +1 mm, lateral von Bregma 1,5 mm (linke Hemisphäre). Hier ist der primäre Motorcortex (M1) lokalisiert. Die dazugehörige epidurale Referenzelektrode (Abb. 12) wurde am cerebralen Cortex bei Bregma -6 mm, lateral von Bregma 1mm (linke Hemisphäre) gesetzt. Der Kanal 2 wurde für die tiefen-, intracerebralen EEG Recordings aus der hippokampalen CA1-Region verwendet und wie folgt positioniert: caudal -2 mm, lateral von Bregma 1,5 mm (rechte Hemisphäre) und dorsoventral (tief) 1,5 mm (Abb. 14). Die dazugehörige epiduralen Referenzelektrode wurde im cerebralen Cortex bei Bregma -6mm, lateral von Bregma 1mm (rechte Hemisphäre) gesetzt (Abb. 12).

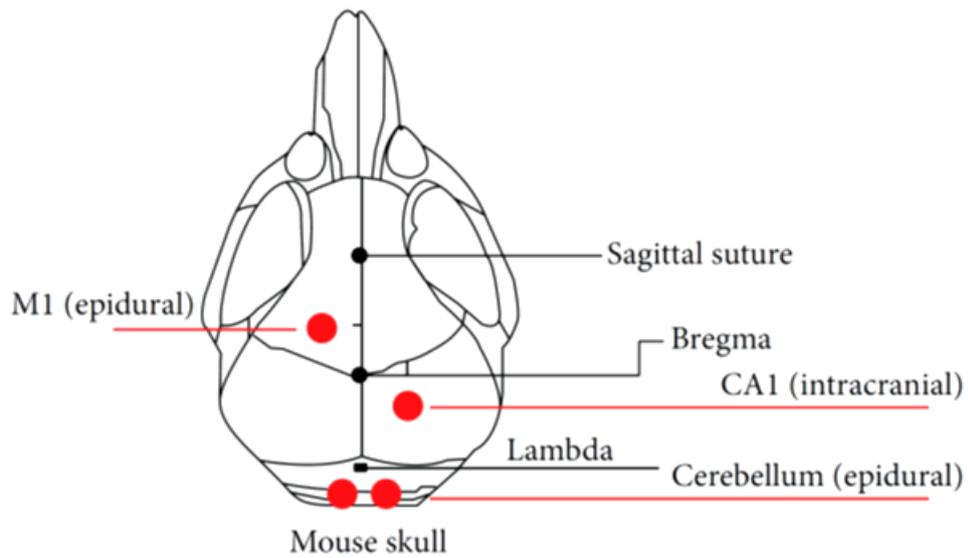


Abb. 12 EEG-Elektroden Lokalisation im Mausschädel.

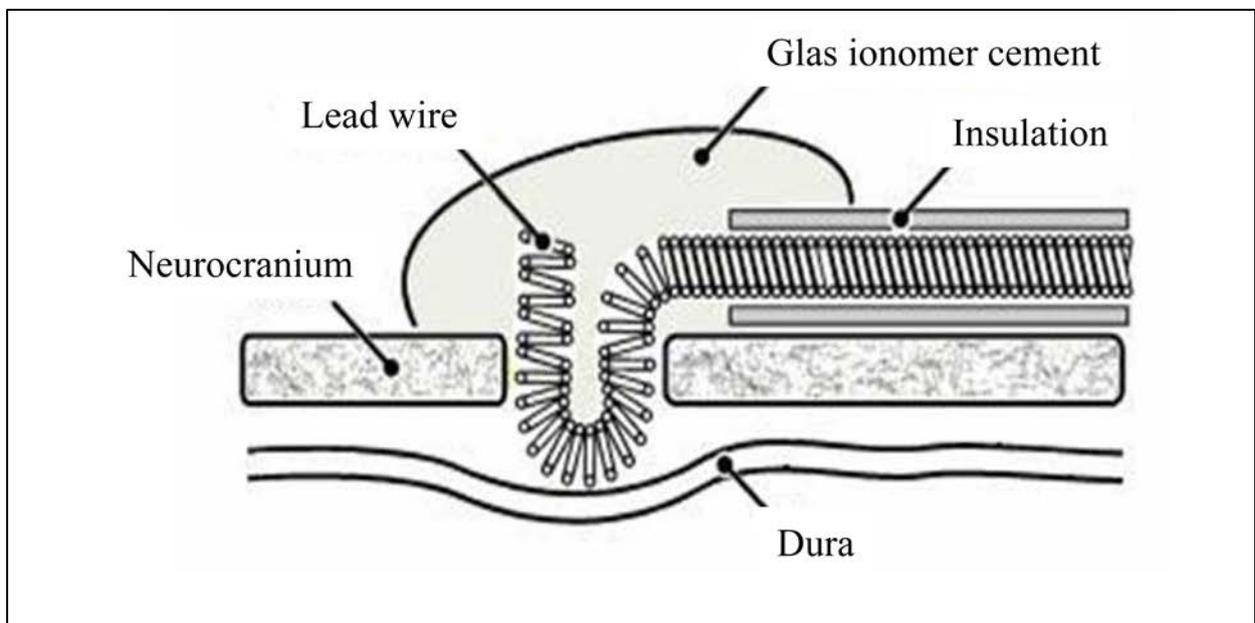
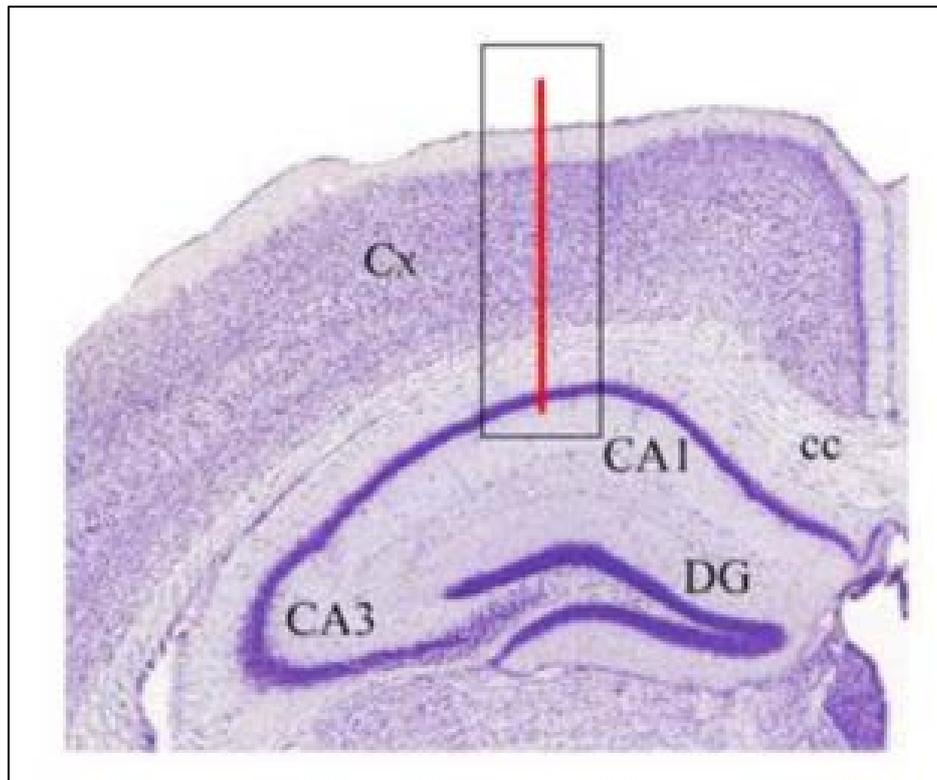
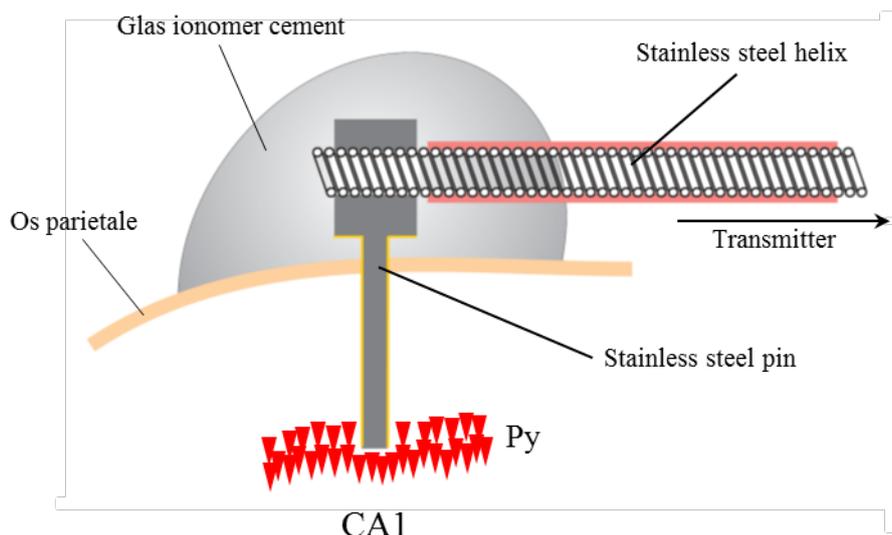


Abb. 13 Schematische Darstellung der platzierten Epiduralelektrode (M1) ohne Verletzung der Dura.



**Abb. 14 HE-gefärbter Hirnschnitt der schematisch die Lokalisation der intrakranielle Tiefenelektrode (CA1) illustriert (Elektrohippogramm**

Für die Tiefenelektrode war eine Verlängerung aus mit Gold isoliertem Wolframs (FHC, Bowdoin, USA) notwendig, welcher mechanisch an der Elektrode befestigt wurde (Abb. 15) (Weiergraber et al., 2005, Lundt et al., 2016). Hierfür wurde die Tiefenelektrode auf die erforderliche Länge gekürzt (Tiefe der CA1-Region) und der extrakranielle Teil mit der in der Isolierung liegenden Edelstahlspirale der Transmitterelektrode mechanisch verbunden. Die Wolframelektrodenverlängerung haben einen Durchmesser von 250 $\mu$ m und eine Impedanz von 50 – 100 k $\Omega$  (gemessen bei 1000 Hz).



**Abb. 15 Tiefenelektrode aus Wolfram befestigt an der Elektrode des Radiofrequenz-Transmitters.**

(Weiergraber et al., 2005, Lundt et al., 2016)

Die Bohrlöcher für die Elektroden wurden mittels High-Speed Drill (Proxxon, Deutschland) gebohrt, welcher am vertikalen Arm des Stereotakten befestigt wurde und in alle drei Dimensionen mit der dazugehörigen Software geführt wurde. Der Bohrvorgang wurde mit größter Vorsicht und Präzision durchgeführt, mit dem Kenntnis der verschiedenen Schädelknochendicken, um das Hirngewebe nicht zu verletzen.

Die Elektroden wurden unter Verwendung von Glasionomerzement (Kent Dental, UK) befestigt, welches nach Auftragen für ca. 5 Minuten austrocknen musste. Die Kopfhaut wurde unter Verwendung der Kreuznaht (Ethilon, 6-0 Nahtmaterial) geschlossen. Da Mäuse für Hypothermie prädisponiert sind, wurde dem Tier während des gesamten chirurgischen Verfahrens zusätzliche Wärme mittels eines Heizkissens zugeführt.

Eine detaillierte Beschreibung der Platzierung der stereotaktischen Elektrode und der Implantation des Transmitters wurde zuvor ausführlich beschrieben (Weiergraber et al., 2005, Lundt et al., 2016, Papazoglou, Lundt, Wormuth, Ehninger, Henseler, Soos et al., 2016a).

Zur postoperativen Schmerzbehandlung wurde Carprofen (5 mg / kg, Rimadyl, Parke-Davis / Pfizer, Deutschland) subkutan verabreicht. Dieses erhielten die Mäuse 10 Tage lang nach der Operation, um sich vollständig zu erholen. Diese Erholungsphase basiert auf der Beobachtung, dass 10 Tage nach dem Eingriff keine Unterschiede in der grundlegenden

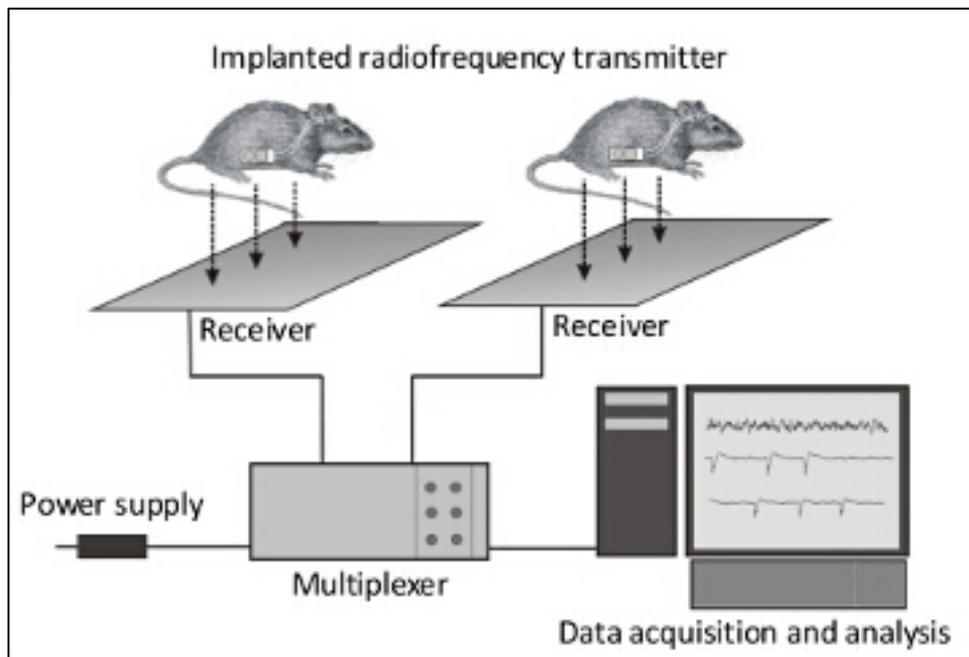
Physiologie und den Verhaltensparametern (Nahrungsaufnahme und Wasseraufnahme, Bewegungsaktivität, Körpertemperatur, ...) zwischen einer mit Radiotransmitter implantierten Maus, einer nicht-implantierten Maus und nachgewiesen werden konnten (Kramer und Kinter, 2003).

### 2.3.3. Kontrolle der EEG Elektroden Position

Um zu überprüfen, ob die Elektroden ordnungsgemäß in der kortikalen M1- und hippocampalen CA1-Region platziert wurden, wurden Gehirne *post-mortem* entnommen und in 4 % -igen Paraformaldehyd fixiert. Anschließend wurden die Gehirne mit einem Vibroslice Tissue Cutter EMS 5000-MZ (Campden Instruments Limited, UK) in 60- $\mu$ m-Slices geschnitten. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin gefärbt, um eine mögliche Schädigung des Cortexes sichtbar zu machen. Tiere, die kortikale Schäden aufwiesen, wurden von der Analyse ausgeschlossen.

### 2.3.4. Radiotelemetrische EEG Datenaquise

Die erste Langzeitaufzeichnung von 48 Stunden wurde am Tag 10 nach der Operation durchgeführt. Eine zweite 48-stündige Langzeitaufzeichnung wurde am Tag 17 nach der Implantation durchgeführt. Für die EEG-Datenerfassung wurde die Software Dataquest ART 4.2 (DSI) verwendet. Hierfür wurden die implantierten Mäuse innerhalb ihres Käfigs auf den Receiver-Platten platziert, welcher die empfangenen Daten via Multiplexer an den PC weitergeleitet haben, wo die Datenaquise stattfand (Abb. 16). Es wurden keine vorgesetzten *Cut-Offs* angewendet. Die nominale *Sampling Rate* (f) des Senders TL11M2-F20-EET beträgt 250 Hz. Die Analyse wurde bis zu 70 Hz durchgeführt, wobei die spezifische Bandbreite des Senders und das Nyquist-Shannon-Theorem von 125 Hz für diesen Sendertyp berücksichtigt wurden.



**Abb. 16 Standard EEG Radiotelemetrie System.**

Das System besteht aus einem Radiofrequenztransmitter, einer Receiver-Platte, einer Daten-Austausch-Matrix (Multiplexer) und der Datenakquise-, Prozess- und Analyseeinheit (PC) (Lundt et al., 2016).

### 2.3.5. Radiotelemetrisches Recording der Aktivität und Analyse

Während sich das Tier in seinem Käfig bewegt, variiert das an den Empfänger übertragene telemetrische Signal in der Stärke. Die Signalstärke kann aufgrund der Orientierung oder der Entfernung des Tieres zum Receiver variieren. Wenn sich die Signalstärke um einen bestimmten Betrag ändert, wird eine Aktivitätszählung generiert. Die Anzahl der erzeugten Zählungen hängt sowohl von der Entfernung als auch von der Bewegungsgeschwindigkeit (Beschleunigung) ab. Dabei ist der von Dataquest A.R.T. ermittelte Wert ein relatives Maß für die Bewegungsaktivität. Die Aktivitätsanalyse wurde für Kontroll- und APPswePS1dE9-Mäuse beider Geschlechter durchgeführt.

### 2.3.6. Analyse der elektroenzephalographischen Daten

Die Aufzeichnungen (48 Stunden) der spontanen EEG-Aktivität wurden basierend auf einer nominalen *Sampling Rate* von 250 Hz des Hochfrequenzsenders durchgeführt. Die EEG-Daten wurden unter Verwendung von NeuroScore 2.1 (DSI) im Frequenzbereich von 0,5 bis 70 Hz einer FFT-Analyse unterzogen, die die typischen Delta- (0,5 bis 4 Hz), Theta- (4 bis 8 Hz), Beta- (12 bis 30 Hz), Gamma-Low (30 - 50 Hz) und Gamma-Mid-Bänder (50 - 70 Hz) umfasst. Die obere Gamma-Grenze (70 Hz) liegt noch unter der Nyquist-Shannon-Grenze von 125 Hz, sodass eine Analyse auf FFT-Basis möglich ist (Weiergraber et al., 2016). Die Länge der einzelnen EEG-Epochen, die mittels FFT analysiert wurden, betrug zwei Sekunden. Anschließend wurde die mittlere EEG-Leistung [%] für die einzelnen Frequenzbereiche für beide Geschlechter und die einzelnen zirkadianen Stadien berechnet (zwei Nacht- (D1, D2) und zwei Tagzyklen (L1, L2) ). Außerdem wurden Aktivitätsdaten von Mäusen während des herkömmlichen 12-Stunden-Hell-Dunkel-Zyklus (beginnend um 5:00 Uhr) verwendet, um die Aktivität in verschiedenen EEG-Frequenzbändern beider Ableitungsregionen entweder mit dem aktiven (Aktivitäts-Unit > 0) oder dem inaktiven Zustand (Aktivitäts-Unit = 0) anzugeben.

Die Daten wurden statistisch analysiert und als Mittelwert  $\pm$  SEM angezeigt. Statistiken zur Häufigkeitsanalyse wurden *multiple Student's t-Tests* durchgeführt, die für den Mehrfachvergleich mit der Holm-Sidak-Methode korrigiert wurden. Die meisten Statistiken und Diagrammdarstellungen wurden mit GraphPad Prism 6 für Windows durchgeführt.

**Tabelle 12 Schematische Darstellung der Frequenzbereiche und zugeordneten Frequenzen [Hz].**

<b>Frequenzbereich</b>	<b>Frequenz [Hz]</b>
$\delta$ (Delta)	0,5 – 4
$\theta$ (Theta)	4 – 8
$\alpha$ (Alpha)	8 – 12
$\beta$ (Beta)	16 – 30
$\gamma$ (Gamma low)	30 – 50
$\gamma$ (Gamma mid)	50 – 70

### 2.3.7. Beginn des Recordings

Nach einem 10-tägigen Erholungszeitraum von der OP fand das erste 48h-Recording statt, bei dem die Tiere der jüngeren Gruppe 14 Wochen alt und der älteren Gruppe 18 Wochen alt waren. Ein weiteres 48h-Recording schloss sich nach exakt einer Woche am Tag 17 nach der OP an, sodass die Tiere der jüngeren Gruppe ein Alter von 15 Wochen und die der älteren Gruppe ein Alter von 19 Wochen hatten.

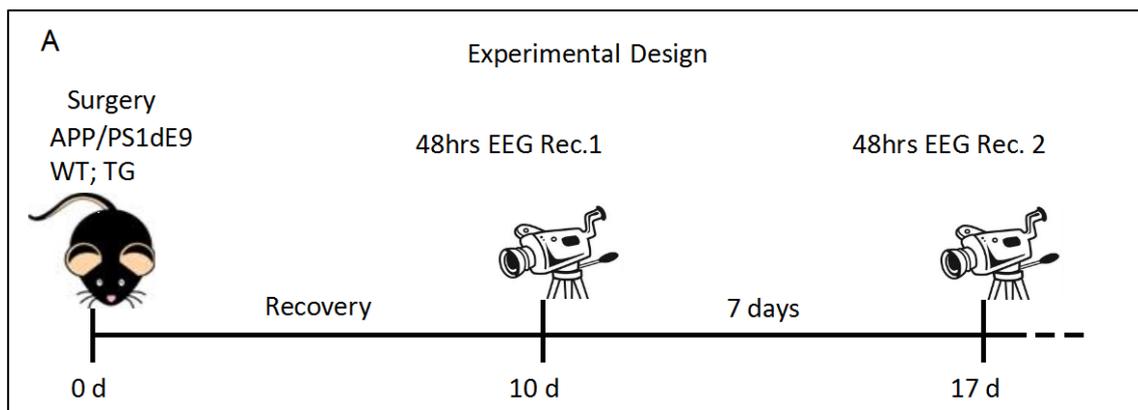


Abb. 17 Timeline der experimentellen Abläufe von Implantation bis zum Ende des zweiten 48h-Recordings.

### 2.3.8. Perfusion

Nach Abschluss des Experimentes wurden die Tiere per intraperitonealer Injektion von Ketamin- Rompune ( $25 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$  Ketamin; Pfizer, USA;  $20 \text{ mg} \times \text{ml}^{-1}$  Xylazine; Bayer, Deutschland) anästhesiert und mit 4 % -iger Paraformaldehyd-Lösung (PFA in PBS-Puffer) durch den linken Herzventrikel perfundiert, mit dem Ziel das Hirn zu fixieren, um es später zu schneiden und zu färben, damit anschließend die Elektrodenpositionen überprüft werden konnte.

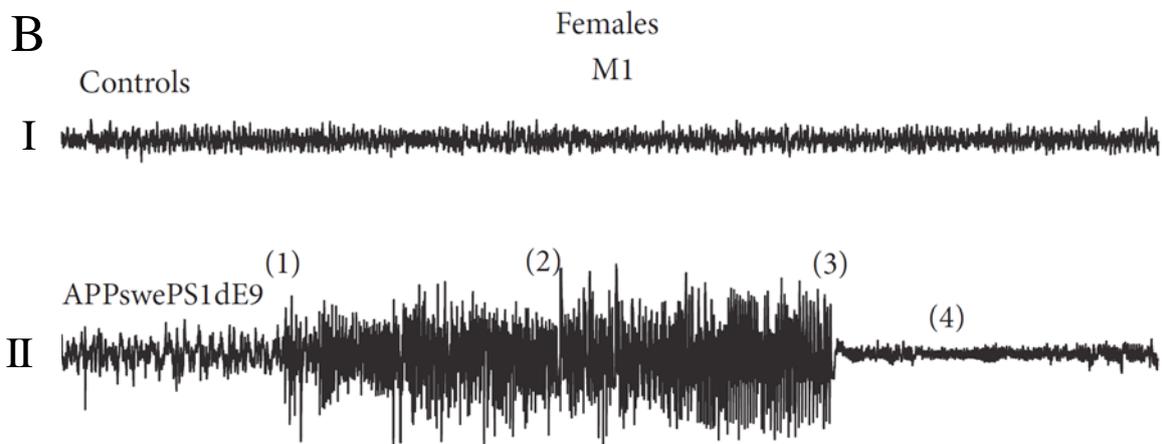
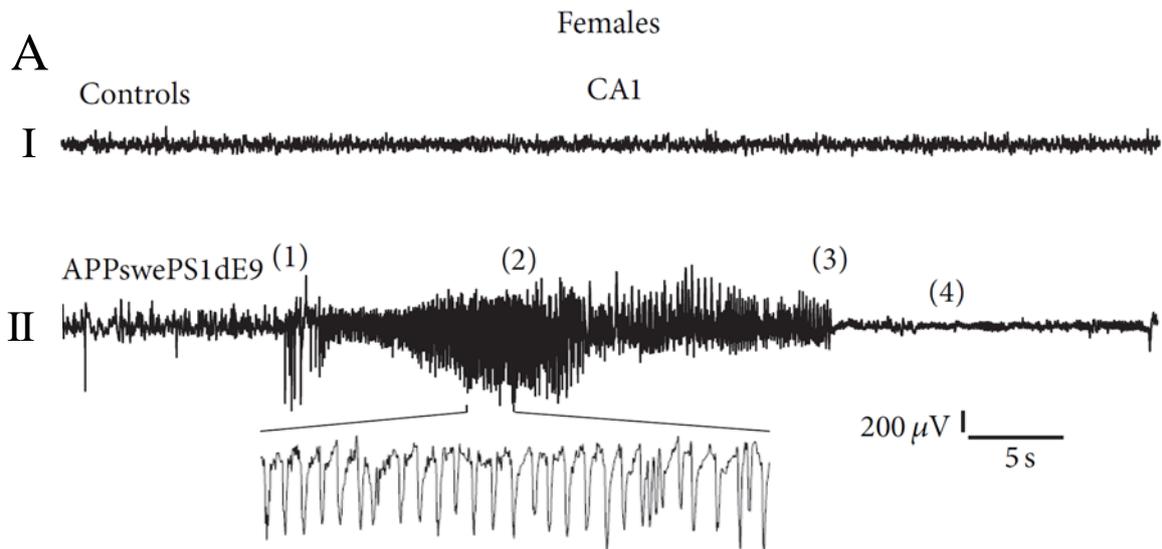
### 3. Ergebnisse

#### 3.1. *Experimental Animals*: Kontrollen und APPswePS1dE9

Da berichtet wurde, dass einige Alzheimer-Mauslinien Entwicklungsdefizite aufwiesen, hatten wir ein großes Augenmerk auf die geschlechtsspezifische Körpergewichtsentwicklung von APPswePS1dE9 und Kontrollen. Bei altersgleichen transgenen und Kontrollmäusen zeigte sich, dass die männlichen Mäuse im Vergleich zu den weiblichen ein signifikant höheres Körpergewicht aufwiesen. Im Unterschied zu anderen Alzheimer-Mausmodellen, wie dem 5XFAD (Paesler et al., 2015, Siwek et al., 2015), konnte bei APPswePS1dE9 jedoch keine signifikante Reduktion des Körpergewichts im Vergleich zu den Kontrolltieren in unserer Studie bei einem Alter von 14 Wochen festgestellt werden; (Kontroll-Männchen  $26,94 \pm 0,64$  g (n = 10) vs. Transgene Männchen  $26,16 \pm 0,56$  g (n = 9), p = 0,3755; Kontroll-Weibchen  $21,23 \pm 0,53$  g (n = 11) vs. Transgene Weibchen  $21,73 \pm 0,35$  g (n = 11), p = 0,4416).

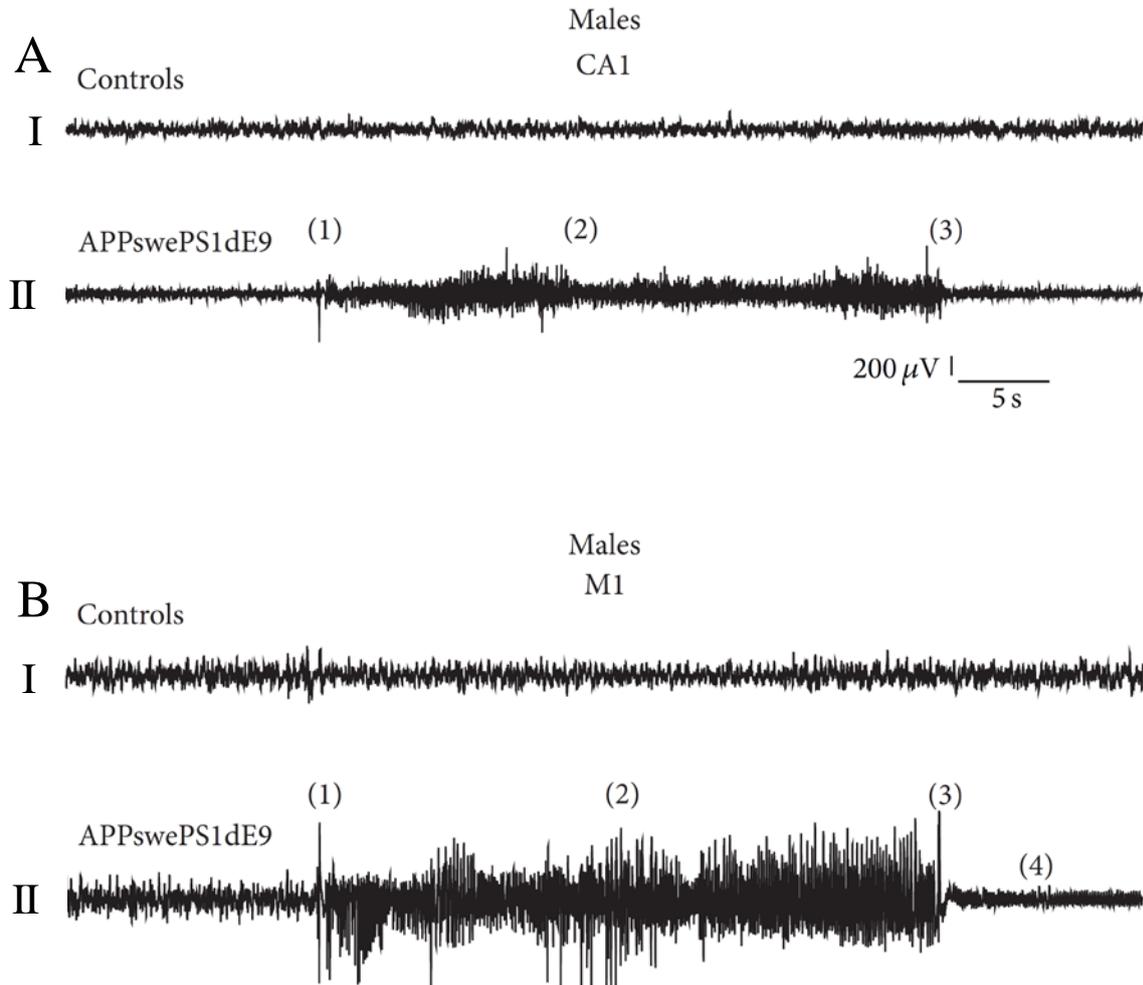
#### 3.2. Qualitative Elektroenzephalographische Seizure Charakteristik

Die 48-stündigen EEG-Langzeitaufzeichnungen der CA1- und M1-Region bei APP- und Kontrolltieren im Alter von 14, 15, 18 und 19 Wochen wurden visuell auf elektroenzephalographische Anfallsaktivität analysiert. Wie in (Abb. 18) und (Abb. 19) dargestellt, wiesen die APP-Tiere typische iktale Entladungen auf, einschließlich *Spikes*, *Spike-Waves* und *Poly-Spike-Waves*. Trotz vereinzelter iktaler Entladungen konnten wir auch charakteristische *Spike- / Spike-Wave-Trains* beobachten, einschließlich der initiierten Phase des Anfalls, sowie dessen Fortsetzung und Beendigung (Abb. 18 + Abb. 19). Wie bereits berichtet (Minkeviciene et al., 2009), begannen die Anfälle oft mit einer großen Amplitude (1), gefolgt von typischen anschließenden *Spike-Trains* (2), aber jedoch nicht immer von einer sogenannten postiktischen Depression begleitet (Abb. 18 + Abb. 19 II (4)). In den CA1- und M1-Ableitungen beider Geschlechter traten abnormale elektroenzephalographische iktale Entladungen auf. Bei den Kontrolltieren wurden iktale Entladungen kaum nachgewiesen. Sie könnten, wenn sie dennoch auftraten, in einem Zusammenhang mit Verhaltensereignissen stehen, wie z.B. Essen und Körperpflege.



**Abb. 18 Iktale Entladungen (EEG Seizure Aktivität) in weiblichen APPswePS1dE9 Alzheimer Mäusen.**  
 A und B: Repräsentative 1 min EEG-Aufzeichnung einer weiblichen Kontrollmaus (I) und einer APPswePS1dE9 Maus (II) mittels Tiefen-/Intracerebralelektrode (CA1-Delektion) und einer epiduralen Oberflächenelektrode im Primären Motorcortex (M1).

## ERGEBNISSE

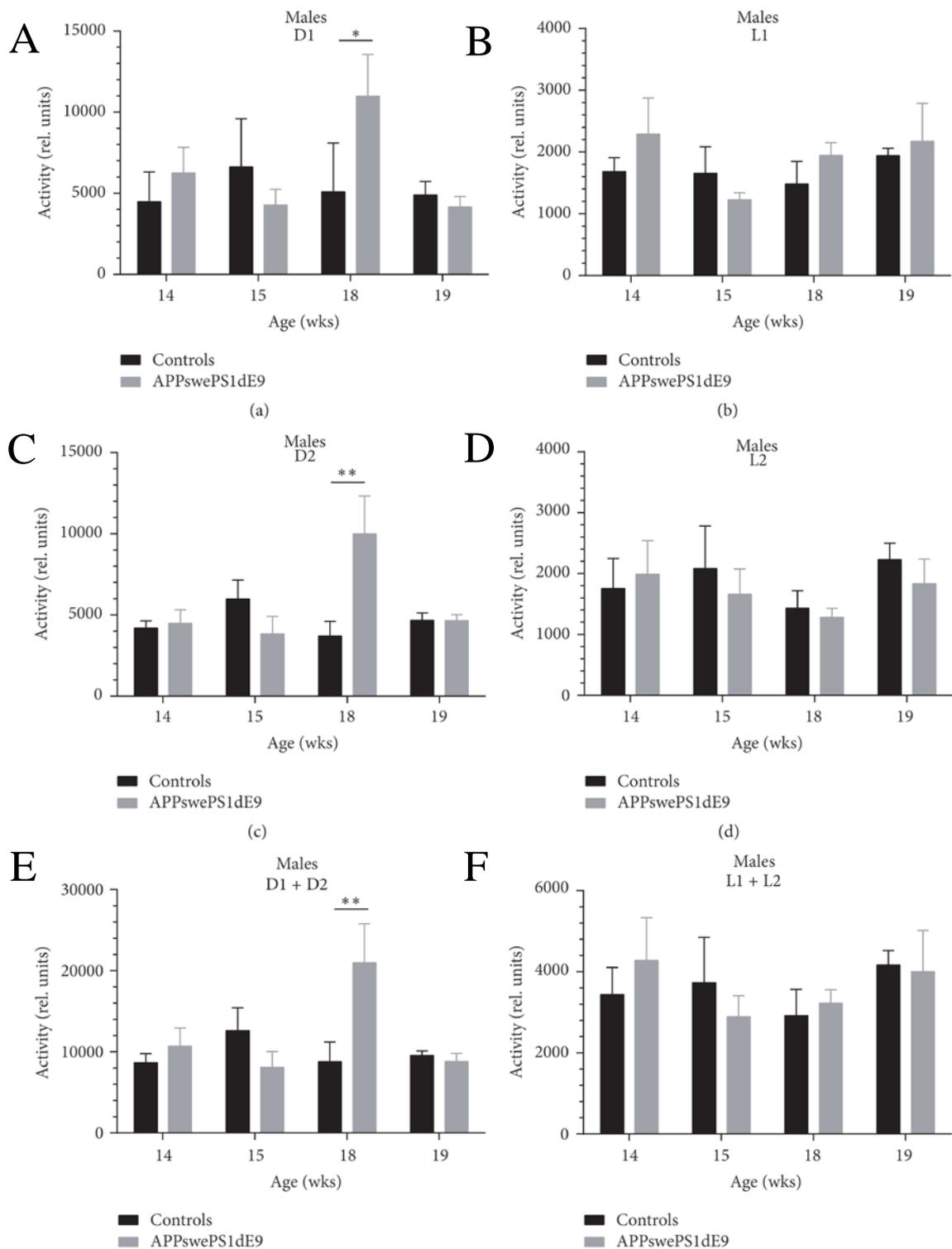


**Abb. 19 Iktale Entladungen (EEG Seizure Aktivität) in männlichen APPswePS1dE9 Alzheimer Mäusen.**  
A und B: Repräsentative 1min EEG-Aufzeichnung einer weiblichen Kontrollmaus (I) und einer APPswePS1dE9 Maus (II) mittels Tiefen-/Intracerebralelektrode (CA1-Delektion) und einer epiduralen Oberflächenelektrode im Primären Motorcortex (M1).

### 3.3. Motorische Aktivität in Kontrollen und APPswePS1dE9

Wir untersuchten die motorische Aktivität in Kontrolltieren und APP-Mäusen, da sowohl die Anfallsaktivität als auch die Frequenzcharakteristika im Zusammenhang mit der Motorik steht oder dadurch modifiziert werden kann (Abb. 20 + Abb. 21). Die Aktivität wurde für den ersten (D1) und den zweiten (D2) Nachtzyklus (der 48-Stunden-Aufzeichnung), sowie für die gesamte Dunkelperiode (D1 + D2) berechnet. Gleiches gilt für die beiden Tagzyklen (L1, L2 der 48-Stunden Aufnahme) sowie für die gesamte Lichtperiode (L1 + L2). Bei den Weibchen konnte kein signifikanter Unterschied in der motorischen Aktivität zwischen Kontroll- und APP-Mäusen festgestellt werden, weder im Tag- noch dem Nachtzyklus (Abb. 21). Bei den 18 Wochen alten Männchen wurde während des Dunkelzyklus ein signifikanter Anstieg der relativen motorischen Aktivität beobachtet (D1,  $5089,50 \pm 1504,47$  vs.  $10983,50 \pm 2567,92$ ,  $p = 0,0412$ ; D2,  $3700,25 \pm 909,43$  v.  $9994,00 \pm 2333,55$ ,  $p = 0,0049$ ; D1+D2,  $8789,75 \pm 2410,34$  vs.  $20977,50 \pm 4812,86$ ,  $p = 0,0127$ ) (Abb. 20 A, C, E).

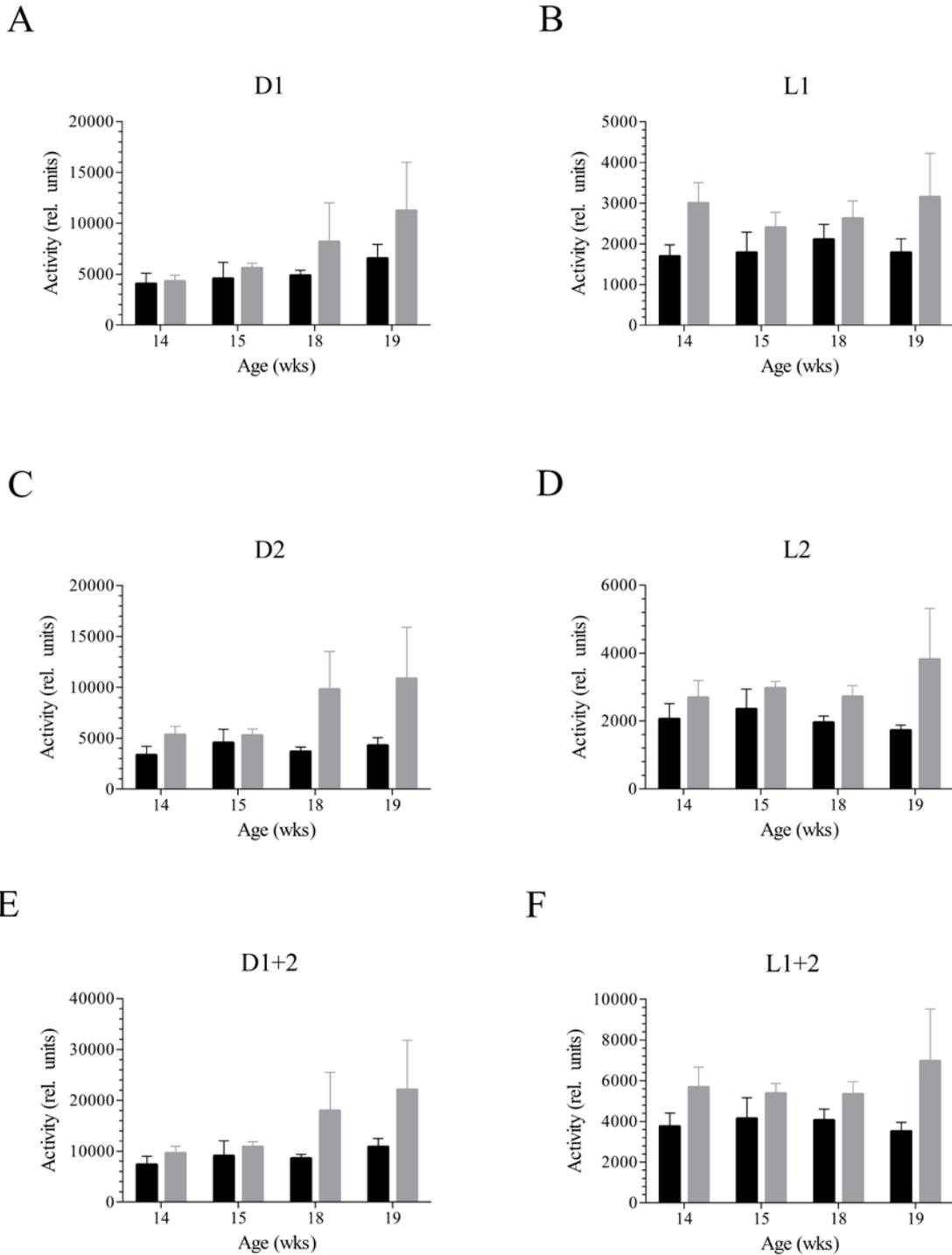
ERGEBNISSE



**Abb. 20 Aktivitätsanalyse männlicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer motorischen Aktivität (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1, L1, D2, L2, D1+D2 und L1+L2).

Females



**Abb. 21 Aktivitätsanalyse weiblicher Kontroll- und APPswE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer motorischen Aktivität (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1, L1, D2, L2, D1+D2 und L1+L2).

### 3.4. Quantitative Seizure Analyse in Kontrollen und APPswePS1dE9

Um die elektroenzephalographische Anfallsaktivität in Kontroll- und APP-Mäusen zu quantifizieren, verwendeten wir ein automatisches Seizure-Detection-Tool. Dieses Tool wurde für die einzelnen zirkadianen Zyklen angewandt (d.h. für den Nachtzyklus (D) und Tagzyklus (L)). Weiterhin wurden verschiedene Anfallsparameter bewertet: die Anzahl der *Spike-Trains*, die gesamte *Spike-Train-Dauer*, die durchschnittliche *Spike-Train-Dauer* und die Anzahl der einzelnen *Spikes*. Diese Parameter wurden für die CA1- und M1-Ableitungen berechnet. Wie auch für andere Alzheimer-Mausmodelle (Palop et al., 2007, Siwek et al., 2015), zeigen APPswePS1dE9-Mäuse eine hohe Variabilität im Schweregrad der Anfälle (Abb. 22-29). Signifikante Anstiege der *Spike / Spike-Train*-Parameter wurden durchgängig in M1- und CA1-Projektionen beider Geschlechter festgestellt.

### 3.4.1. Die M1-Region

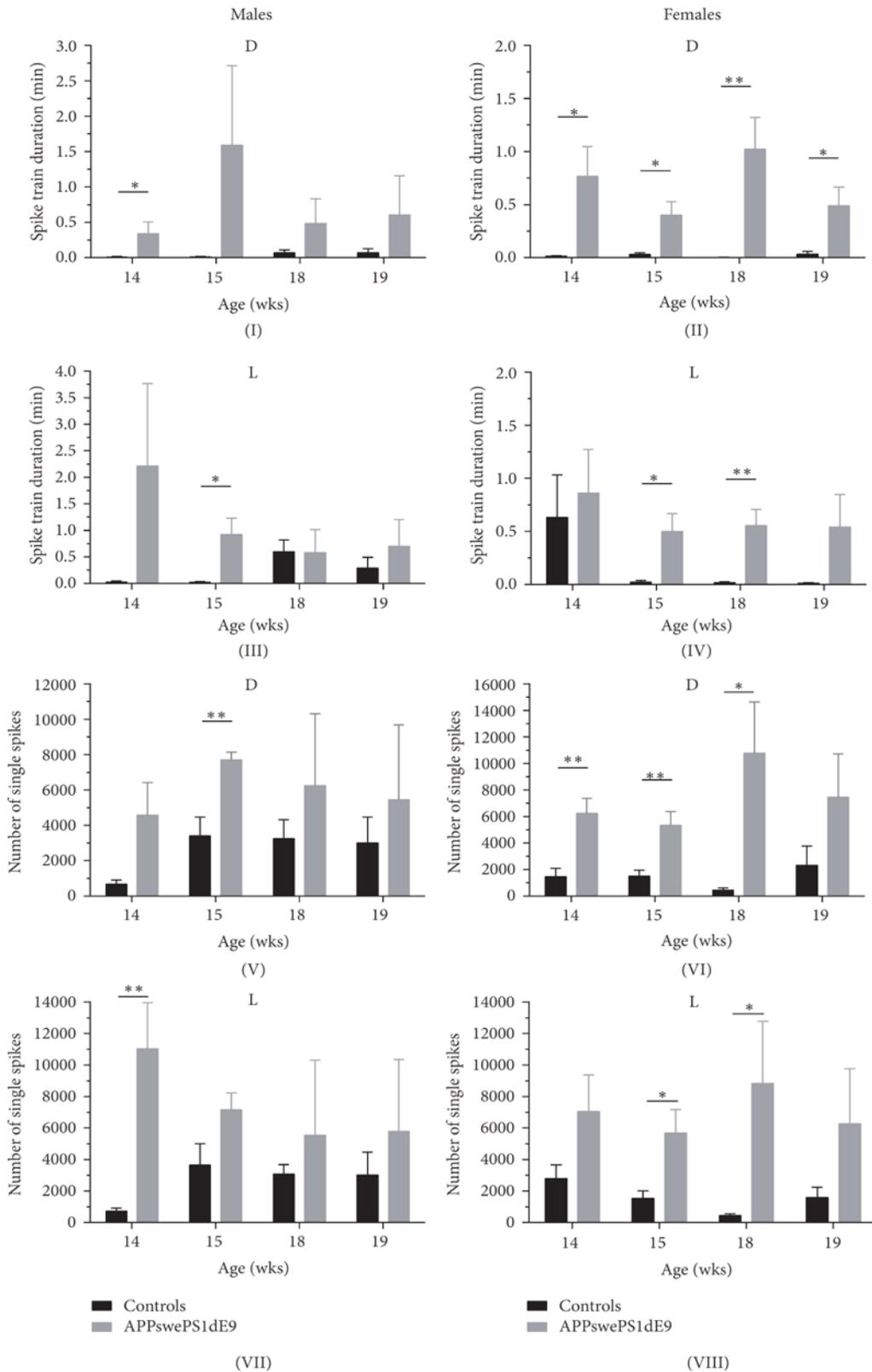
Die Beobachtungen zeigen, dass die elektroenzephalographische Seizure-Aktivität der M1-Region bei den männlichen APPswePS1dE9-Mäusen im Alter von 14 – 15 Wochen, am prominentesten ist (Abb. 22<sub>I,III,V,VII</sub>) während dies bei den Weibchen ebenfalls der Fall ist, jedoch im Alter von 18 – 19 Wochen (Abb. 22<sub>II,IV,VI,VIII</sub>). Die auf den Abbildungen 23 und 24 dargestellten zirkadianen Perioden (Dunkelzyklen (D1 + D2) und Lichtzyklen (L1 + L2) ) sind auf der Abbildung 22 als D und L zusammengefasst und zeigen gleiche Signifikanzverteilungen.

Die Ergebnisse der männlichen APPswePS1dE9-Mäuse sind bei der *Spike Train Duration* (Abb. 23<sub>I, II,III,IV</sub> Abb. 24<sub>I, II,III,IV</sub>) in der Woche 14 und 15 signifikant, wohingegen wir bei den Weibchen in Woche 18 und 19 zum Teil sehr hohe ( $p \leq 0,001$ ) als auch hohe ( $p \leq 0,01$  ) signifikante Unterschiede zeigen konnten.

Bei den Ergebnissen der *Number of Single Spikes* (Abb. 23<sub>V,VI,VII,VIII</sub> Abb. 24<sub>V,VI,VII,VIII</sub>) zeigten die männlichen APP-Mäuse hohe Signifikanzen ( $p \leq 0,01$ ) in den Wochen 14 und 15, wohingegen bei den Weibchen signifikante und hoch ( $p \leq 0,001$ ) signifikante Unterschiede in allen Untersuchungszeiträumen gezeigt werden konnten. Bei der *Number of Spike Trains* (Abb. 25<sub>I, II,III,IV</sub>) gab es bei den Männchen keine Signifikanzen. Im Gegensatz dazu zeigen die Weibchen signifikante und vor allem sehr ( $p \leq 0,01$ ) signifikante Unterschiede in Woche 18 des Dunkelzyklus. Mit dem Fokus auf die *Average Spike Train Duration* (Abb. 25<sub>V,VI,VII,VIII</sub>) konnten sich bei den Weibchen in Woche 18 hoch signifikante ( $p \leq 0,001$ ) Unterscheide aufzeigen lassen.

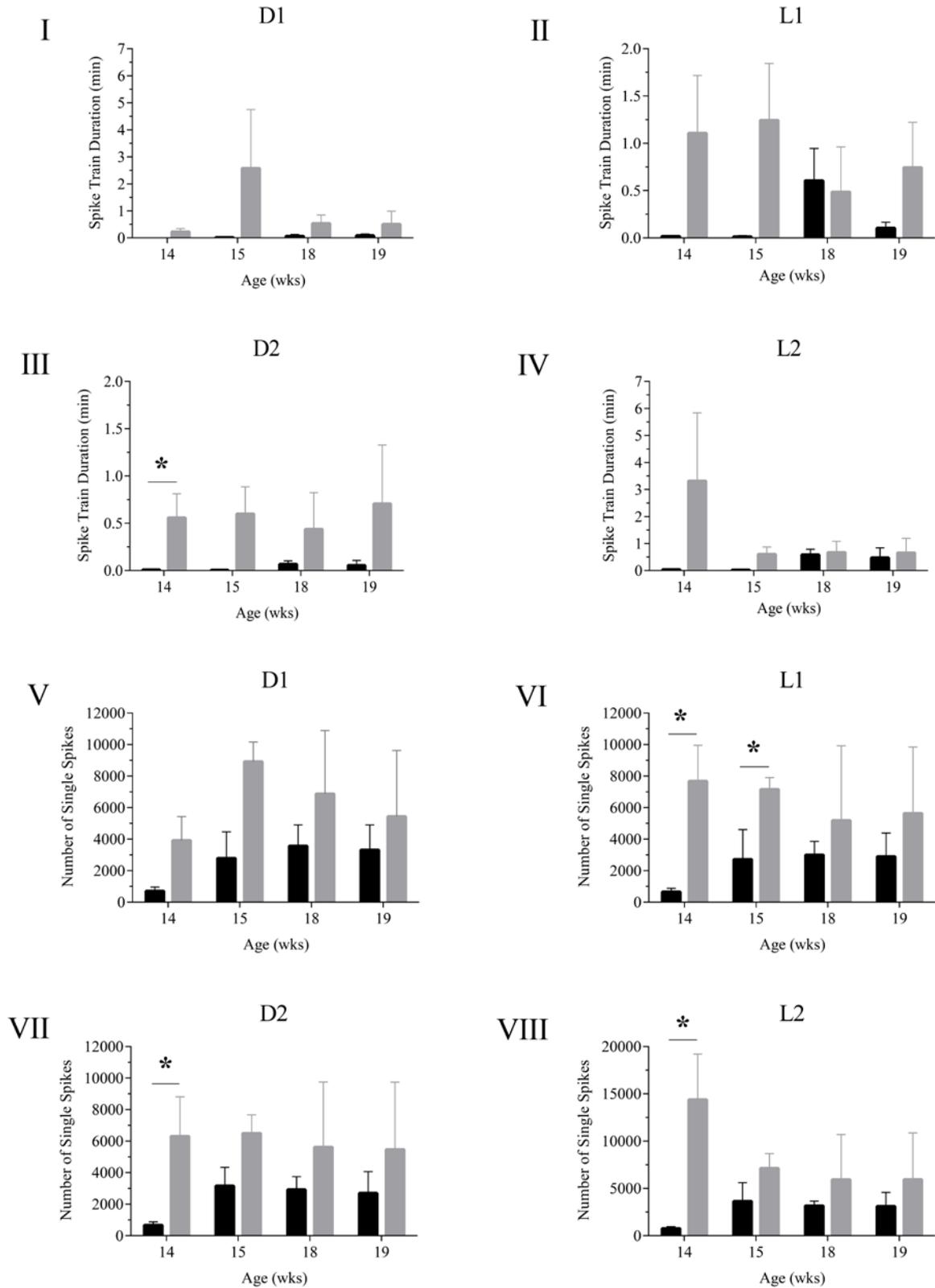
# ERGEBNISSE

## M1 deflection



**Abb. 22 Ableitungen der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.** Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Dauer der Spike Trains (Spike Train Duration) (in Minuten) und der Anzahl der Single Spikes (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1+D2 und L1+L2).

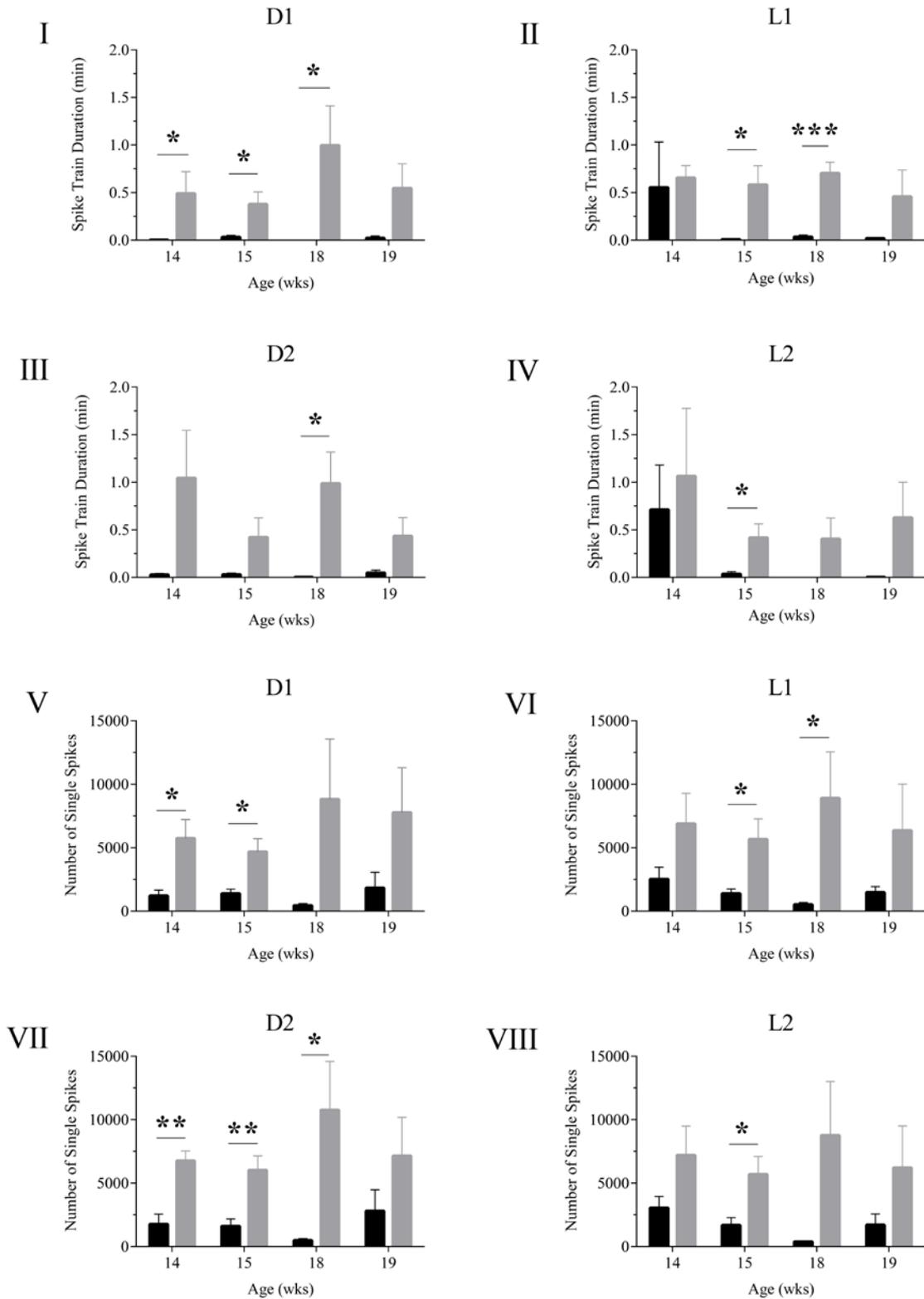
M1 deflection, males



**Abb. 23 Ableitungen der M1-Region männlicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Dauer der Spike Trains (Spike Train Duration) (in Minuten) und der Anzahl der Single Spikes (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1, L1, D2, L2).

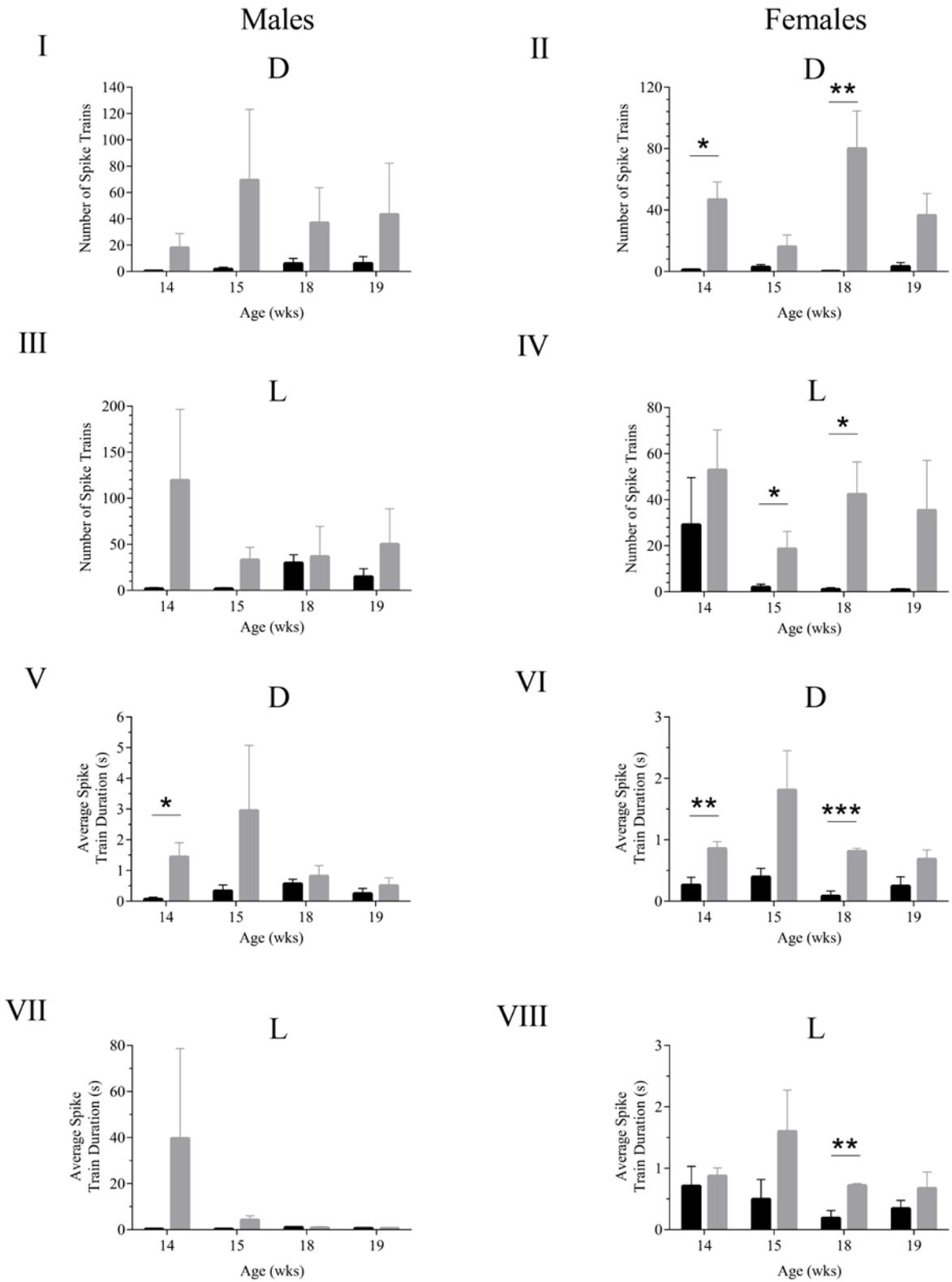
M1 deflection, females



**Abb. 24 Ableitungen der M1-Region weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Dauer der Spike Trains (Spike Train Duration) (in Minuten) und der Anzahl der Single Spikes (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1, L1, D2, L2).

M1 deflection



**Abb. 25 Ableitungen der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.** Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Anzahl der Spike Trains (relative Units) und der durchschnittlichen Länge der Spike Trains (in Sekunden) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1+D2 und L1+L2).

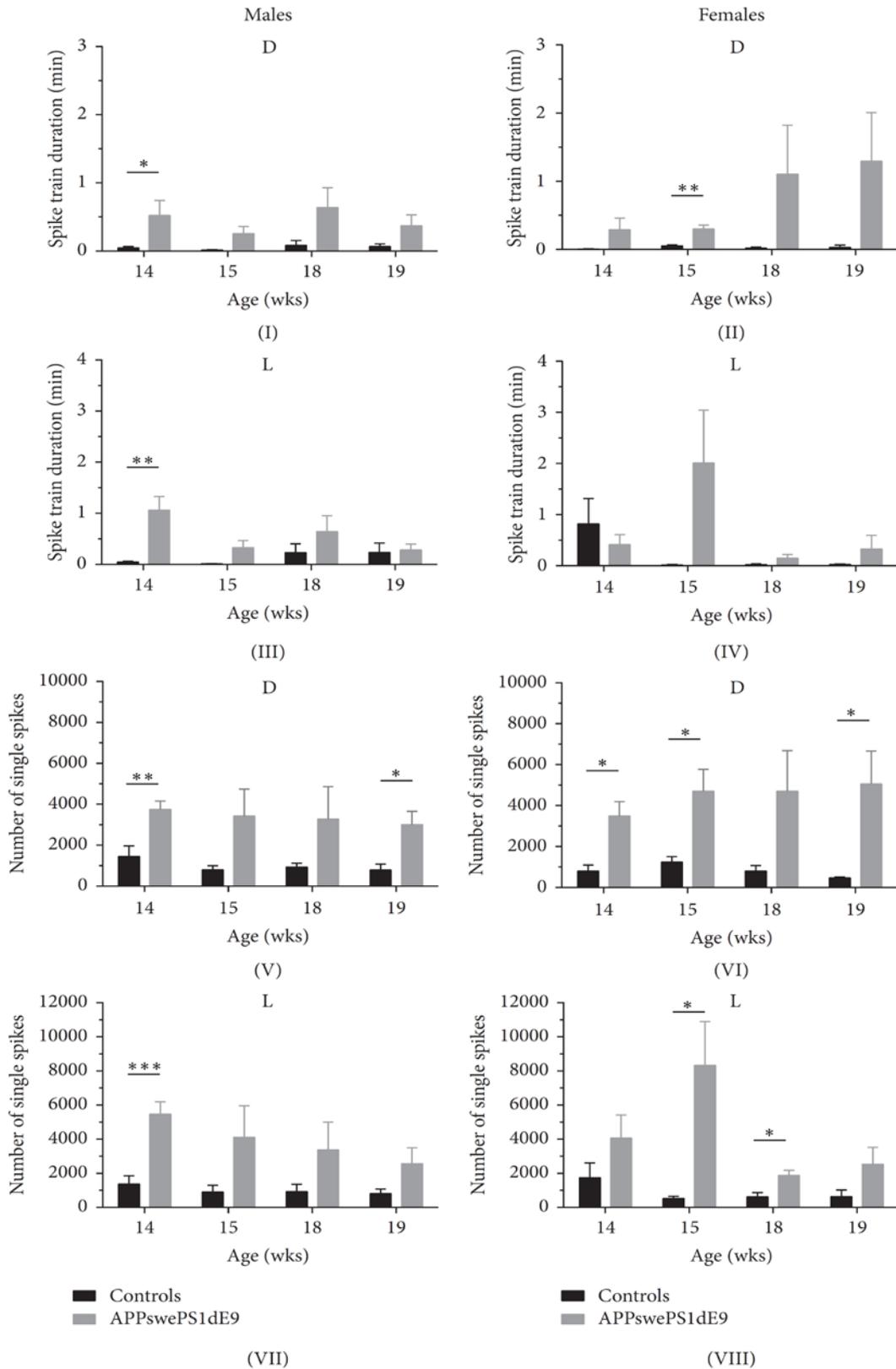
### 3.4.2. Die CA1-Region

Weiterhin zeigen die Beobachtungen, dass die elektroenzephalographische Seizure-Aktivität der CA1-Region bei den männlichen APP<sup>swePS1dE9</sup>-Mäusen im Alter von 14 – 15 Wochen, am prominentesten ist (Abb. 26<sub>I,III,V,VII</sub>) während dies bei den Weibchen ebenfalls der Fall ist, jedoch im Alter von 18 – 19 Wochen (Abb. 26<sub>II,IV,VI,VIII</sub>). Die auf den Abbildungen 27 und 28 dargestellten zirkadianen Perioden (Dunkelzyklen (D1 + D2) und Lichtzyklen (L1 + L2) ) sind auf der Abbildung 26 als D und L zusammengefasst und zeigen gleiche Signifikanzverteilungen.

Die Ergebnisse der männlichen APP<sup>swePS1dE9</sup>-Mäuse sind bei der *Spike Train Duration* (Abb. 27<sub>I, II,III,IV</sub> Abb. 28<sub>I, II,III,IV</sub>) in der Woche 14 signifikant bis hoch signifikant ( $p \leq 0,001$ ) wohingegen wir bei den Weibchen lediglich in Woche 15 signifikante Unterschiede zeigen konnten. Bei den Ergebnissen der *Number of Single Spikes* (Abb. 27<sub>V,VI,VII,VIII</sub> Abb. 28<sub>V,VI,VII,VIII</sub>) zeigten die männlichen APP-Mäuse signifikante ( $p \leq 0,05$ ) bis hoch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,001$ ) in der Woche 14, wohingegen bei den Weibchen signifikante Unterschiede in allen Untersuchungszeiträumen gezeigt werden konnten. Bei der *Number of Spike Trains* (Abb. 29<sub>I, II,III,IV</sub>) gab es weder bei Männchen noch Weibchen signifikante Unterschiede. Mit dem Fokus auf die *Average Spike Train Duration* (Abb. 29<sub>V,VI,VII,VIII</sub>) konnten sich bei den Weibchen in Woche 14 hoch signifikante ( $p \leq 0,001$ ) Unterschiede im Dunkelzyklus aufzeigen lassen.

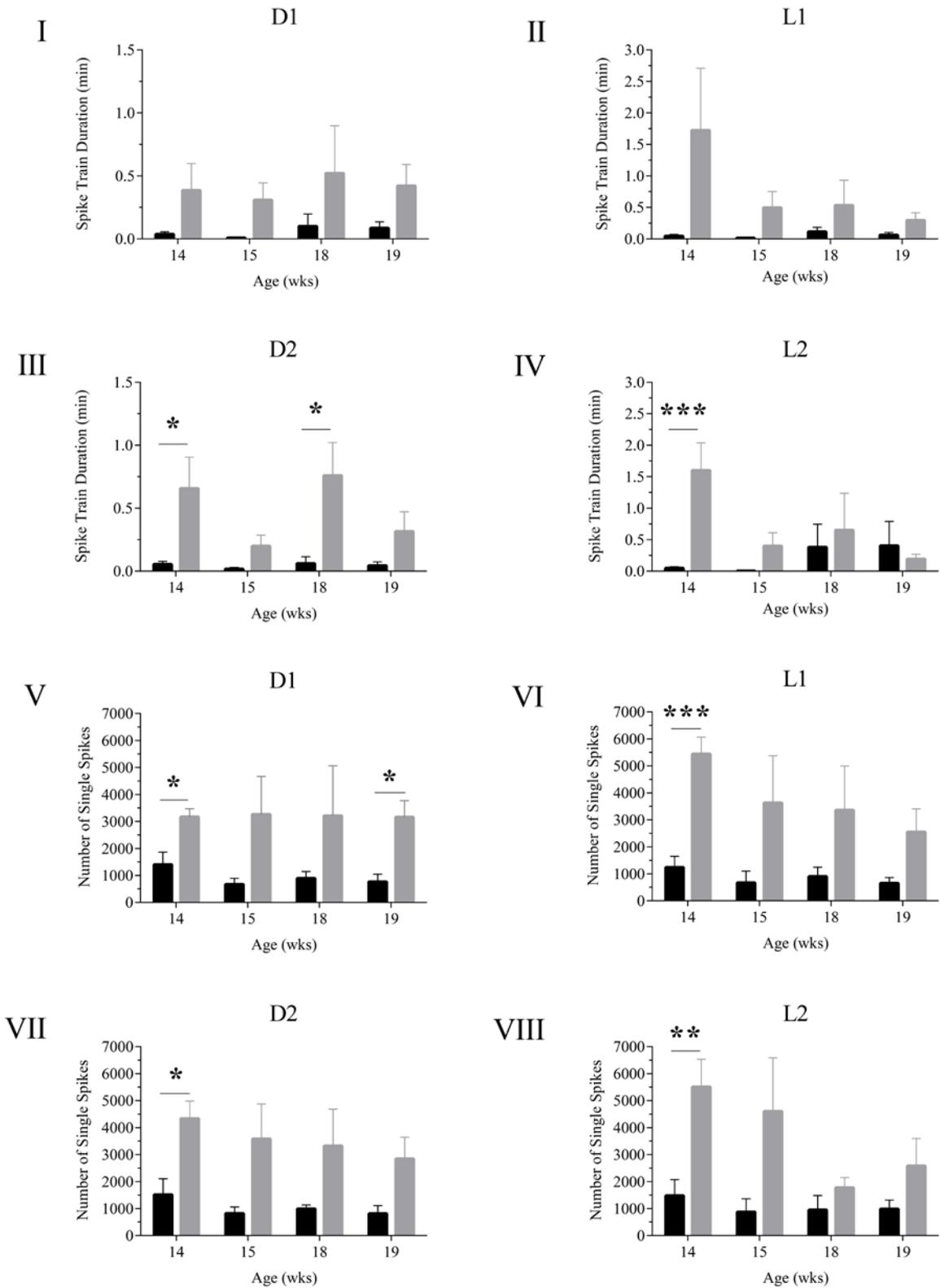
# ERGEBNISSE

## CA1 deflection



**Abb. 26 Ableitungen der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.** Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Dauer der Spike Trains (Spike Train Duration) (in Minuten) und der Anzahl der Single Spikes (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1+D2 und L1+L2).

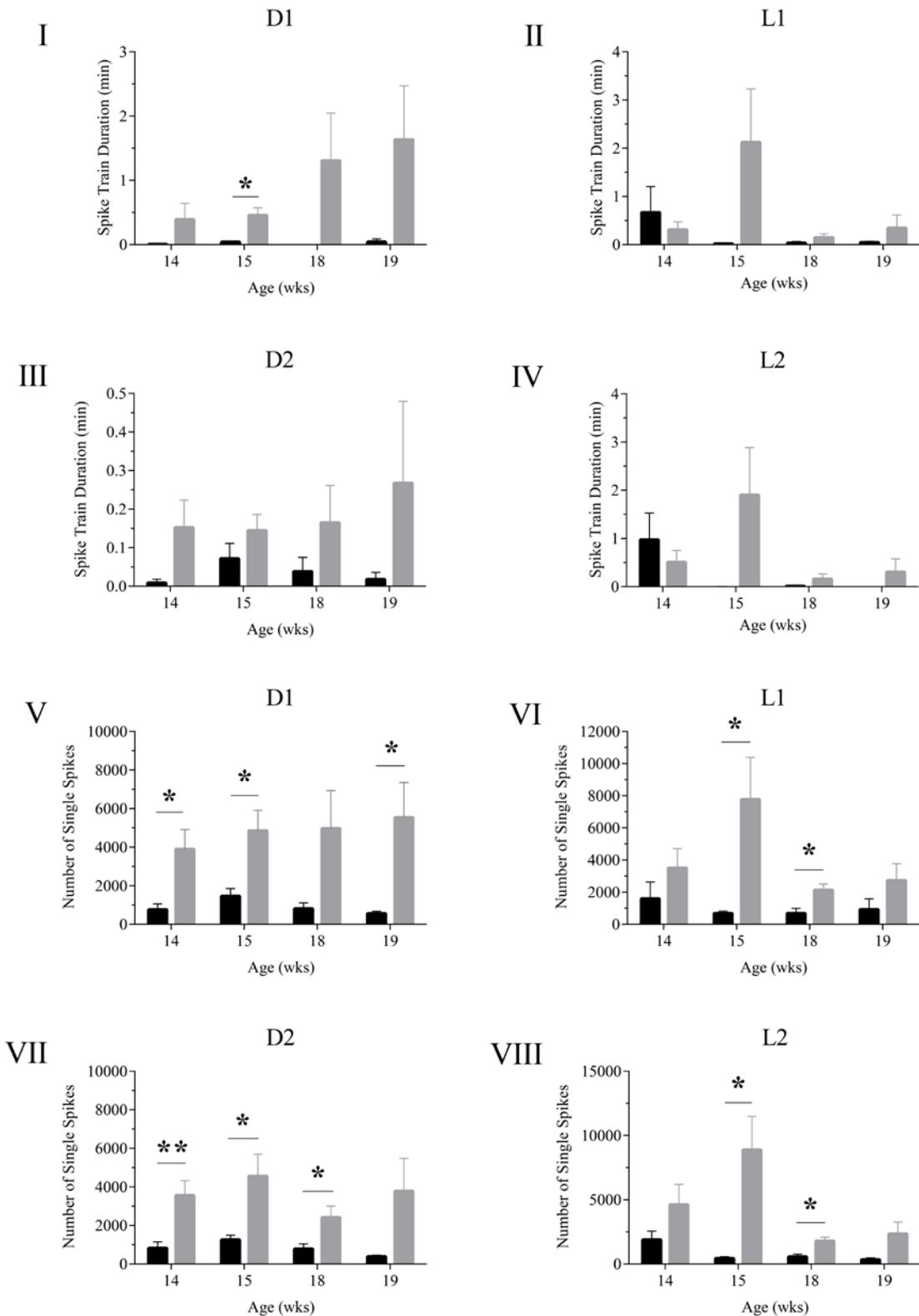
CA1 deflection, males



**Abb. 27 Ableitungen der CA1-Region männlicher Kontroll- und APPswPS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Dauer der Spike Trains (Spike Train Duration) (in Minuten) und der Anzahl der Single Spikes (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1, L1, D2, L2).

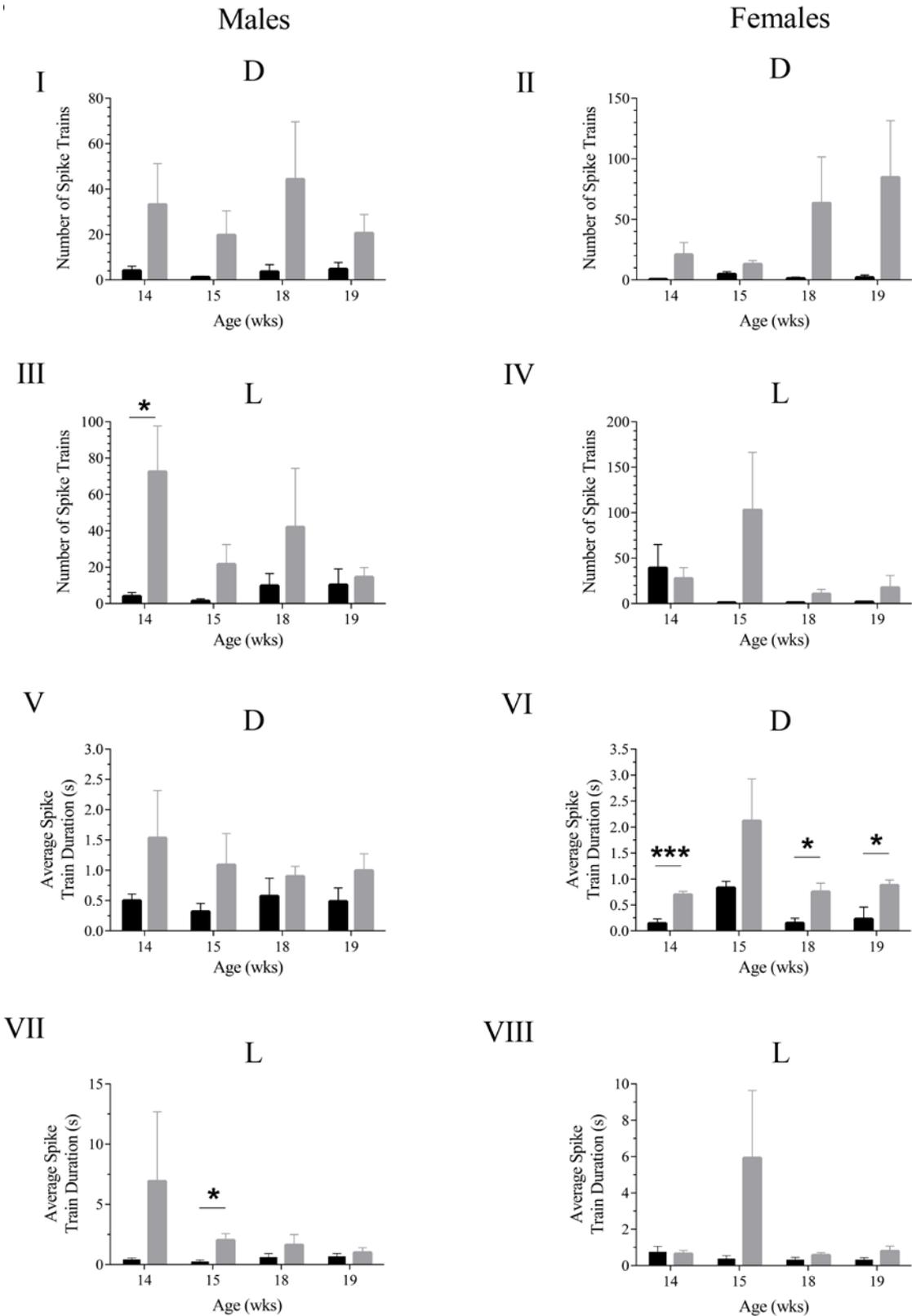
CA1 deflection, females



**Abb. 28** Ableitungen der CA1-Region weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Dauer der Spike Trains (Spike Train Duration) (in Minuten) und der Anzahl der Single Spikes (relative Units) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1, L1, D2, L2).

CA1 deflection



**Abb. 29** Ableitungen der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse. Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Anzahl der Spike Trains (relative Units) und der durchschnittlichen Länge der Spike Trains (in Sekunden) analysiert mit Fokus deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1+D2 und L1+L2).

Diese Beobachtung korreliert eindeutig mit den nachweisbaren alters- und geschlechtsspezifischen Unterschieden bei der Plaque-Bildung bei APPswePS1dE9-Mäusen (Ordonez-Gutierrez, Anton und Wandosell, 2015).

### 3.4.3. Frequenzanalyse in Kontrollen und APPswePS1dE9

Bei männlichen APP-Mäusen wurde im Alter von 14 Wochen eine signifikante Reduktion der relativen CA1 Theta-Power beobachtet (Nachtzyklus:  $28.890 \pm 0.902$  vs.  $20.978 \pm 2.125$ ,  $p = 0.0052$ ; Tagzyklus:  $29.101 \pm 0.754$  vs.  $23.578 \pm 2.091$ ,  $p = 0,0253$ ). Jedoch waren diese Signifikanzen bei älteren Tieren nicht mehr nachzuweisen (Abb. 30 A<sub>I</sub>, 31 B<sub>I</sub>). Auch weibliche APP-Mäuse zeigen eine signifikante Verringerung der Theta-Power. Dieses Phänomen trat jedoch erst in einem fortgeschritteneren Alter von 18 Wochen (Nachtzyklus:  $22,528 \pm 1,485$  vs.  $14,870 \pm 3,136$ ,  $p = 0,0495$ ; Tagzyklus:  $24,394 \pm 1,201$  vs.  $17,487 \pm 2,448$ ,  $p = 0,0313$ ) und ebenso 19 Wochen (Nachtzyklus:  $22,898 \pm 2,458$  vs.  $14,245 \pm 3,002$ ,  $p = 0,0673$ ; Tagzyklus:  $24,691 \pm 1,895$  vs.  $16,084 \pm 2,994$ ,  $p = 0,0512$ ) auf (Abb. 30 A<sub>IV</sub>, 31 B<sub>IV</sub>). Diese Ergebnisse weisen eindeutig auf eine zirkadiane unabhängige Veränderung der Theta-Architektur hin und ebenso, dass die entwicklungszeitabhängigen Merkmale von Theta geschlechtsspezifisch sind. Im Gegensatz zu anderen Alzheimer-Mausmodellen, die eine Zunahme der Theta-Power aufweisen (Goutagny und Krantic, 2013, Siwek et al., 2015), zeigt das APPswePS1dE9-Modell eine altersspezifische Reduktion der Theta-Aktivität, die mit vielen anderen AD-Mauslinien übereinstimmt (Colom, 2006, Rubio, Vega-Flores, Martinez, Bosch, Perez-Mediavilla, del Rio et al., 2012, Scott, Kiss, Kawabe und Hajos, 2016).

Das altersspezifische Theta-Aktivitätsmuster spiegelt sich in beiden Geschlechtern auch in der Gamma-Aktivität in der CA1-Ableitung wider. Männliche APPswePS1dE9-Mäuse zeigen im frühen Alter von 14 Wochen einen Anstieg des Gamma-low-Werts (30 - 50 Hz) (Nachtzyklus:  $6,556 \pm 0,298$  vs.  $8,713 \pm 0,992$ ,  $p = 0,0502$ ; Tagzyklus:  $5,138 \pm 0,296$  vs.  $8,154 \pm 1,376$ ,  $p = 0,0424$  (Abb. 30 A<sub>II</sub>, 31 B<sub>II</sub>), was bei den Weibchen nicht beobachtet wird. Im Gegensatz dazu zeigen die Weibchen einen signifikanten Anstieg des Gamma-low-Werts (30-50 Hz) im Alter von 18 Wochen (Nachtzyklus:  $8,083 \pm 1,314$  vs.  $11,114 \pm 1,250$ ,  $p = 0,1455$ ; Tagzyklus:  $3,406 \pm 0,583$  vs.  $10,611 \pm 1,051$ ),  $p < 0,001$ ) und 19 Wochen (Nachtzyklus:  $6,399 \pm 1,633$  vs.  $11,886 \pm 1,236$ ,  $p = 0,0366$ ; Tagzyklus:  $5,468 \pm 1,065$  vs.  $11,045 \pm 1,836$ ,  $p = 0,0391$ ) (Abb. 30 A<sub>V</sub>, 31 B<sub>V</sub>). Dasselbe Muster wurde für die Gamma-mid-Frequenz von 50 - 70 Hz beobachtet. Männliche APPswePS1dE9 zeigten erneut eine

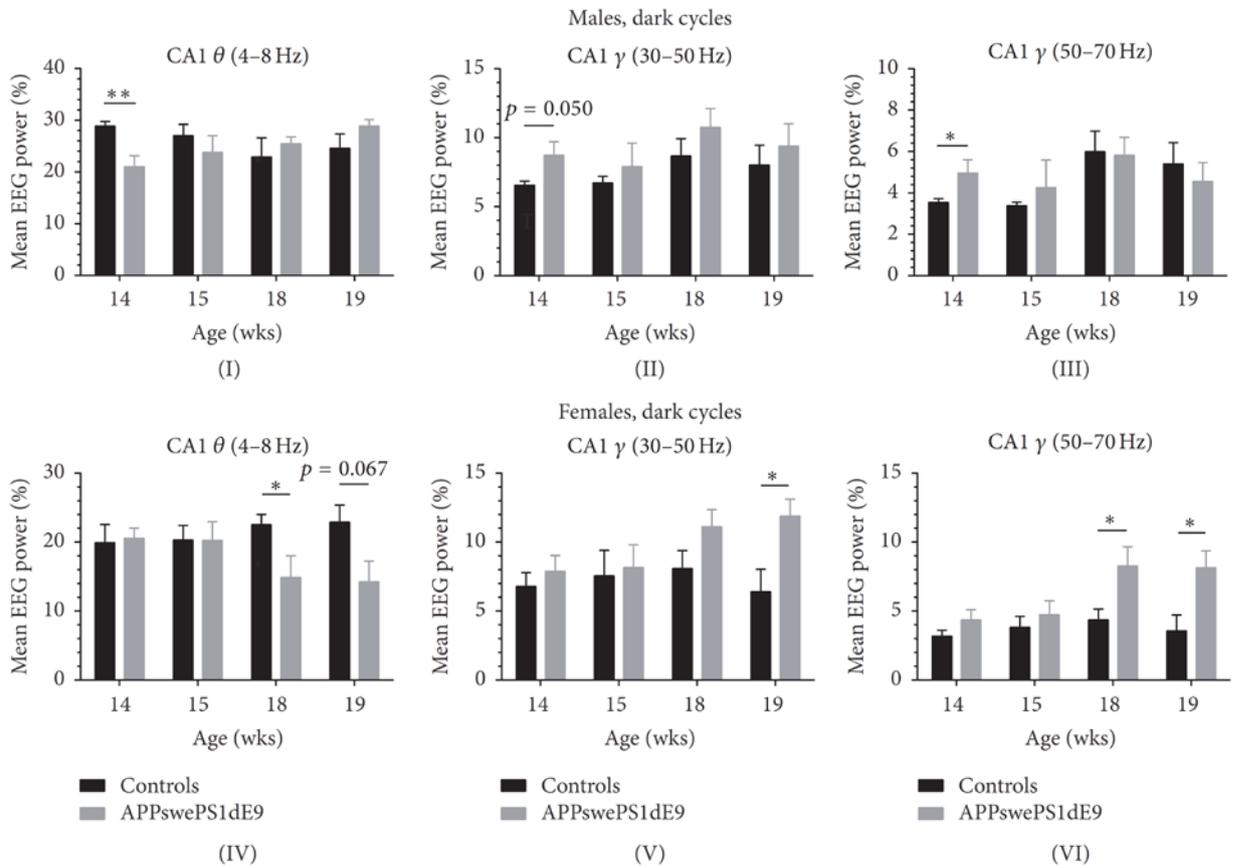
## ERGEBNISSE

erhöhte Aktivität bei 14 Wochen (Nachtzyklus:  $3,540 \pm 0,182$  vs.  $4,956 \pm 0,649$ ,  $p = 0,0481$ ; Tagzyklus  $2,508 \pm 0,189$  vs.  $4,193 \pm 0,834$ ,  $p = 0,0593$ ) (Abb. 30 A<sub>III</sub>, 31 B<sub>III</sub>), während die Weibchen eine Zunahme in einem fortgeschritteneren Alter von 18 Wochen aufwiesen (Nachtzyklus:  $4,351 \pm 0,787$  vs.  $8,273 \pm 1,379$ ,  $p = 0,0351$ ; Tagzyklus  $3,572 \pm 0,636$  vs.  $7,038 \pm 1,146$ ,  $p = 0,0266$ ) und 19 Wochen (Nachtzyklus:  $3,556 \pm 1,159$  vs.  $8,128 \pm 1,245$ ,  $p = 0,0362$ ; Tagzyklus:  $2,981 \pm 0,845$  vs.  $7,265 \pm 1,451$ ,  $p = 0,0427$ ) (Abb. 30 A<sub>VI</sub>, 31 B<sub>VI</sub>).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass der Rückgang der Theta-Aktivität und der Anstieg der Gamma-Aktivität geschlechtsspezifisch gekoppelt sind. Diese Hypothese wurde mit einer univariaten two-way ANOVA mit Faktoren, wie dem Genotyp (Kontrollen und APP<sup>swePS1dE9</sup>) und dem Frequenzband (Theta- und Gamma-Power für CA1) getestet. Basierend auf den vorherigen statistischen Ergebnissen wählten wir Daten von 14 Wochen alten männlichen und 18 Wochen alten weiblichen Mäusen aus. Für jedes Geschlecht wurde die Sub-Gamma-Bande mit dem höchsten p-Wert ausgewählt. Es stellte sich heraus, dass dies zu einer zyklusabhängigen Differenz führt, nicht jedoch zu einer geschlechtsabhängigen Differenz (Nachtzyklus: Gamma-Mid (50 - 70 Hz) für Männchen und Weibchen; Tagzyklus: Gamma-Low (30 - 50 Hz) sowohl für Männchen als auch für die Weibchen). Basierend auf diesem Verfahren führten die statistischen Berechnungen zu einer signifikanten Wechselwirkung zwischen dem Faktor Genotyp und dem Faktor Frequenzband für alle vier Konstellationen (Männchen, Nachtzyklus:  $p = 0,0006$ ; Männchen, Tagzyklus:  $p = 0,0083$ ; Weibchen, Nachtzyklus:  $p = 0,0058$ ; Weibchen, Tagzyklus:  $p = 0,0002$ ), was einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Abnahme der Theta-Power und der Zunahme der Gamma-Power zeigt. Neben der geschlechtsspezifischen FFT-basierten EEG-Power-Analyse haben wir außerdem auf aktivitätsabhängige Leistungsänderungen zwischen dem aktiven und dem inaktiven Zustand geprüft (Anhang Abb. 32 - 46). Während des Dunkelzyklus ließen sich bei den Männchen keine signifikanten Veränderungen zeigen. Bei den Weibchen blieben die beobachteten Veränderungen (Anhang Abb. 32 - 46) bestehen, insbesondere im inaktiven Zustand. Dies gilt für die untersuchten Theta- und beide Gamma-Frequenzbereiche. In der Lichtphase zeigten die Männchen nur geringfügige Änderungen im Theta-Bereich, jedoch blieben die Gamma-Bereiche unverändert. Die Weibchen wiesen jedoch vorwiegend im inaktiven Stadium markante Veränderungen in Theta- und den beiden Gamma-Bereichen auf. Die antithetische Verteilung von reduzierter Theta- und erhöhter Gamma-Power bei den Weibchen war während des inaktiven Zustands am markantesten (Anhang Abb. 33<sub>IV</sub>, 34<sub>IV</sub>, 35<sub>IV</sub>). Ebenfalls haben wir eine FFT-basierte EEG-Leistungsanalyse für M1-Ableitung von den Kontroll- und APP<sup>swePS1dE9</sup>-Mäusen durchgeführt. Für den Beta-Frequenzbereich (16 -

## ERGEBNISSE

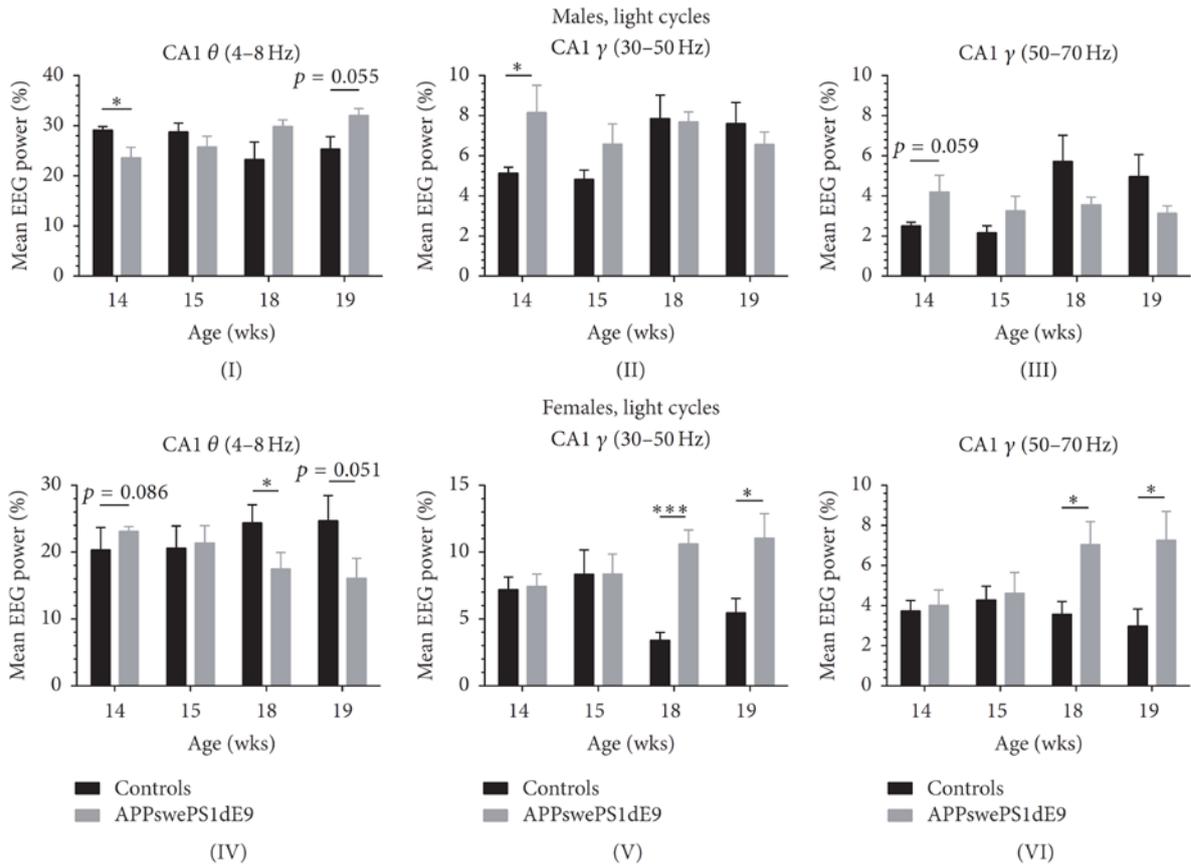
30 Hz) (Anhang Abb. 32) wurden keine Änderungen beobachtet. Für den Delta-Bereich (0,5 - 4 Hz) stellte sich heraus, dass lediglich die relative Power bei Männchen während des Tagzyklus im Alter von 18 Wochen ( $30,469 \pm 2,189$  vs.  $18,426 \pm 2,876$ ,  $p = 0,0158$ ) signifikant verringert wurde.



**Abb. 30 Frequenz-Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Frequenzbänder (Theta, Gamma – Mid und Gamma – Low) (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1+D2).

## ERGEBNISSE



**Abb. 31 Frequenz-Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihrer Frequenzbänder (Theta, Gamma – Mid und Gamma – Low) (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (L1+L2).

## 4. Diskussion

Die Alzheimererkrankung ist die wohl am häufigsten vorkommende neurodegenerative Erkrankung, die in Verbindung mit dem Alter steht. Auslöser der Krankheit sind zum einen die Aggregation der Amyloid- $\beta$ -Peptide (A $\beta$ ), als auch die Bildung von neurofibrillären Bündeln (Octave, 1995, Carrotta, Barthes, Longo, Martorana, Manno, Portale et al., 2007). Das Wissen um die unterschiedliche Entwicklung von AD bezogen auf das Geschlecht, ist ebenfalls weitreichend bekannt. Männer bekommen in der Regel früher Alzheimer, jedoch tritt sie vermehrt bei Frauen auf (Pike, 2017). Bei der Alzheimer-Krankheit können Nervenzellen verletzt werden und im gesamten Gehirn absterben. Dies stellt einen irreversiblen Vorgang dar. Dabei können Verbindungen zwischen neuronalen Netzwerken zusammenbrechen und viele Hirnregionen beginnen zu atrophieren. In den letzten Stadien der AD ist dieser Prozess weit verbreitet und führt zu einem erheblichen Verlust des Gehirnvolumens (Gehirnatrophie) (Risacher, Anderson, Charil, Castelluccio, Shcherbinin, Saykin et al., 2017).

Daher lag das Bestreben darin, einen Ansatz zu finden, um eine frühdiagnostische Einschätzung geben zu können, noch bevor sich Alzheimer manifestiert hat und es zur Bildung der Plaques gekommen ist.

Der Fokus dieser Arbeit liegt deshalb auf der Alzheimer-spezifischen EEG-Charakterisierung und der möglichen Früherkennung der Erkrankung mit Hilfe der APP<sup>swe</sup>PS1<sup>dE9</sup>-Mauslinie.

Bereits frühere Studien analysierten *spontaneous electrical activity* in Elektroenzephalogrammen und führten Schlafstudien in transgenen APP Mäusen durch (Wisor, Edgar, Yesavage, Ryan, McCormick, Lapustea et al., 2005, Palop et al., 2007, Minkeviciene et al., 2009, Jyoti, Plano, Riedel und Platt, 2010, Zhang, Thompson, Zhang und Xu, 2011, Gurevicius, Lipponen und Tanila, 2013). In diesen Studien wurden die EEG-Aufnahmen vom frontalen Cortex unter *restraining conditions* gewonnen und ausgewertet. Das bedeutet, dass die Tiere sich nicht frei in ihrem Käfig bewegen konnten, sondern durch Kabel der implantierten Elektroden bewegungseingeschränkt waren. Im Gegensatz dazu wurden unsere Experimente unter *non-restraining conditions* durchgeführt, indem wir den Mäusen einen Radiotelemetrie-Transmitter subkutan implantierten und dieser die ermittelten Daten über einen Receiver an das Aufnahmemodul weiterleitete. Hierbei haben wir das Auftreten und die Dauer von Anfällen (*seizures*) geprüft, welche sich sowohl

encephalographisch als auch motorisch zeigten. Hierfür haben wir eine Longitudinalstudie vieler verschiedener Anfall-Parameter durchgeführt, wie beispielsweise Anzahl von *Spikes*, *Spike Trains*, *Spike Train* Dauer und durchschnittliche Dauer eines *Spike Train*.

Mit dem Wissen, dass der Menstruationszyklus der weiblichen Mäuse, wie beim Menschen auch, einen signifikanten Einfluss auf die Anfalls-Aktivität hat (Baker, Sattari, de Zambotti, Goldstone, Alaynick und Mednick, 2018), haben wir uns entschieden eine gesamtgeschlechtliche Anfalls-Analyse der corticalen M1- und der hippocampalen CA1-Region durchzuführen.

Im Gegensatz zu früheren Studien, die keine Untersuchungen auf alters- und geschlechtsabhängigen *Seizure Architecture* in Betracht zogen, haben wir zusätzlich zu den Ablagerungen der Amyloid Plaques im Hirn der 14 Wochen alten APP transgenen Männchen und Weibchen eine Anfalls-Aktivität im Encephalon messen können. Diese Anfälle weisen einen typischen initialen *Spike* gefolgt von einem komplexen *Spike-Train* und späteren *Postictal State* auf.

Aktuell gibt es Diskussionen darüber, wie sich die neurale Degeneration innerhalb von neuronalen Netzwerken entwickelt; insbesondere dem septohippocampalen Kreislauf, trotz abweichender Erregbarkeit. Gezeigt wurde ein Verlust der calbindin-positiven Immunoreaktivität im *Dentate Gyrus* und ebenso abnormale Neuropeptid-Y-Level (NPY) in *Mossy Fibers* in der CA3-Region (Palop et al., 2007, Minkeviciene et al., 2009), welche beide als kompensatorisches Netzwerk interpretiert werden. Busche *et al.* (Busche, Eichhoff, Adelsberger, Abramowski, Wiederhold, Haass et al., 2008) deuten darauf hin, dass hyperaktive neuronale Cluster, die die Amyloid Plaques im Cortex von APP/PS1 Mäusen umgeben, beim Auslösen von Anfällen involviert sind. Weiterhin gibt es eine Theorie, die besagt, dass der Grund für  $A\beta_{1-42}$  Plaque-Formation in der Störung von spannungsabhängigen Ionenkanälen (Talley, Sirois, Lei und Bayliss, 2003, Ye, Selkoe und Hartley, 2003, Misonou, Mohapatra und Trimmer, 2005, Plant, Webster, Boyle, Ramsden, Freir, Peers et al., 2006, Thibault, Pancani, Landfield und Norris, 2012) liegt und eine Plasmamembranpotential-Destabilisierung möglicher Weise zu Anfällen führt (Palop et al., 2007).

Zusätzlich zur Anfalls-Analyse haben wir eine detaillierte FFT-basierte cortikale und hippocampale Frequenzanalyse durchgeführt, mit speziellem Fokus auf den Bereich der Theta- und Gamma-Frequenzen. Hippocampales Theta steht in Verbindung zu spezifischen

Verhaltens- und Kognitionsprozessen wie Wachsamkeit, Lernen, Erinnerung, Orientierung und räumliches Gedächtnis. Da bei der Alzheimer Krankheit das septohippocampale System pathophysiologisch angegriffen ist, geht man davon aus, dass eine Störung in der hippocampalen Rhythmicität, und somit vor allem in der Theta-Frequenz, einhergeht (Babiloni, Cassetta, Binetti, Tombini, Del Percio, Ferreri et al., 2007, Cummins, Broughton und Finnigan, 2008, Babiloni, Pievani, Vecchio, Geroldi, Eusebi, Fracassi et al., 2009). Frühere Studien schienen die Hypothese zu stützen, dass kognitive Beeinträchtigung bei Alzheimer mit verminderter Theta-Aktivität einhergeht (Cummins et al., 2008, Scott, Feng, Kiss, Needle, Atchison, Kawabe et al., 2012, Scott et al., 2016). Wiederum zeigen andere Studien gegenteilig, dass Alzheimer mit einem Anstieg Thetas einhergeht (Babiloni et al., 2007, Cummins et al., 2008, Babiloni et al., 2009, Siwek et al., 2015). Dieses Paradoxon lässt sich vielleicht mit der schwierigen Pathophysiologie des Septohippocampalen Systems und dessen Heterogenität erklären: der dualistischen Theorie des hippocampalen Theta. Hippocampales Theta wird in das Atropin-sensitive Typ I und Atropin-sensitive Typ II Theta unterteilt (Colom, 2006, Shin, 2010). Es wurde berichtet, dass cholinerge und glutaminerge Neurone von A $\beta$  im septohippocampalen System moduliert werden und dass A $\beta$  im medialen Septum und dem Hippocampus die Theta-Aktivität sowohl *in vitro* als auch *in vivo* dämpfen kann (Bland und Colom, 1993, Colom, Castaneda, Banuelos, Puras, Garcia-Hernandez, Hernandez et al., 2010, Pena, Ordaz, Balleza-Tapia, Bernal-Pedraza, Marquez-Ramos, Carmona-Aparicio et al., 2010, Leao, Colom, Borgius, Kiehn und Fisahn, 2012, Pena-Ortega und Bernal-Pedraza, 2012, Gutierrez-Lerma, Ordaz und Pena-Ortega, 2013), was mit kognitiver Schädigung assoziiert wird.

Scott L. *et al.* (Scott et al., 2012) zeigt eine Abnahme der *Theta-Power* bei vier und acht Monate alten APP<sup>swePS1dE9</sup>-Mäusen, die unter Urethan-Anästhesie aufgenommen und mit Hirnstamm-Stimuli behandelt wurden. Caycan S. *et al.* (Cayzac, Mons, Ginguay, Allinquant, Jeantet und Cho, 2015) zeigten zwar Veränderungen in der lokalen oszillären Aktivität, diese wurde jedoch mit Tieren unter *restrained tethered conditions* durchgeführt und zudem lag in der Studie eine inhomogene Geschlechtsverteilung vor, die eine Interpretation zusätzlich erschwert.

Unsere Studie zeigt unter physiologischen Umständen eindeutig eine Abnahme der Theta-Power und eine begleitende Erhöhung der Gamma-Power, die sowohl in Abhängigkeit von Alter als auch Geschlecht steht. Männchen zeigten eine Abnahme im Theta bereits bei einem Alter von 14 Wochen, was mit zunehmendem Alter nicht mehr gezeigt werden konnte. Weibchen hingegen zeigten diese Abnahme des Theta später im Alter von 18 und 19 Wochen.

## DISKUSSION

Unserem Wissen nach zeigten wir in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht das erste Mal die hippocampalen Veränderungen von Theta und Gamma in einem Alzheimer Mausmodell. Kürzlich wurde in einer Studie mit ein Monat alten TgCRND8 Alzheimer-Mäusen gezeigt, dass auch hier Veränderungen im Theta-Gamma *coupling* auftraten, obwohl diese Mäuse lediglich eine unbedeutende Menge A $\beta$  (Goutagny, Gu, Cavanagh, Jackson, Chabot, Quirion et al., 2013) aufwiesen. Jedoch ließen sich in dieser Studie – anders als in unserer Arbeit - keine Veränderungen in der Theta- oder Gamma-low-Power zeigen. Eine weitere Studie in hAPP Alzheimer Mäusen von (Rubio et al., 2012) zeigte, im Widerspruch zu unseren Ergebnissen, eine Abnahme von hippocampaler Theta und Gamma Power.

Eine aktivitätsbasierte Analyse zeigte, dass die antithetische Theta-Gamma-Power-Verteilung in Weibchen am prominentesten im aktiven Zustand (*active state*) ist. Diese Erkenntnis suggeriert, dass hippocampales Theta ein Typ II Theta ist, welches in Verbindung mit *alert immobility* steht (Buzsaki, 2002, Palop et al., 2007, Pena-Ortega et al., 2012, Chin et al., 2013, Gutierrez-Lerma et al., 2013, Siwek et al., 2015). Störungen der Theta-Aktivität resultieren in einer Beeinträchtigung des räumlichen Denkens und Erinnerns. Theta ermöglicht die Eigenschaft des Lernens in Ratten (McNaughton, Ruan und Woodnorth, 2006). Daraus folgern wir, dass inaktive Mäuse, die sich in *alert immobility*, sowohl im Tag- als auch Nacht-Zyklus befinden, Atropin-sensitives Theta Typ II zeigen (Bland, Trepel, Oddie und Kirk, 1996, Shin, Kim, Bianchi, Wong und Shin, 2005). Unsere Daten verweisen auf eine reduzierte Aktivität von Atropin-sensitivem Theta Typ II bei älteren APPswePS1dE9 Weibchen, was sich auf septohippocampale Störungen während des Alzheimerverlaufes rückschließen lässt.

Es ist bekannt, dass die A $\beta$ -Anreicherung von älteren APPswePS1dE9 Weibchen schwerwiegendere Folgen hat als bei älteren Männchen. Nichtsdestotrotz konnten wir hier weitere alters- und geschlechtsabhängige A $\beta$ -Dynamik zeigen. In vier Monate alten APPswePS1dE9-Mäusen wurde gezeigt, dass es sich bei A $\beta$  primär um das A $\beta_{1-40}$  handelt und nicht A $\beta_{1-42}$  (Wang, Tanila, Puolivali, Kadish und van Groen, 2003, Garcia-Alloza et al., 2006). Nachdem die Mäuse ein Alter von sechs Monaten überschreiten ändert sich das Verhältnis, sodass hauptsächlich A $\beta_{1-42}$  vorzufinden ist. Dies bleibt bis zum Lebensende unverändert. Weiter zeigte eine andere Studie, dass senile Plaques im Cortex und Hippocampus bei Männchen bereits ab einem Alter von drei Monaten detektiert werden können, wohingegen diese bei Weibchen kaum aufzufinden sind. Das wiederum bedeutet,

## DISKUSSION

dass Plaques bei Männchen früher entstehen als bei Weibchen (Ordonez-Gutierrez et al., 2015). Dies spiegelt unsere Beobachtungen der zuerst in Männchen und erst später in Weibchen auftretenden Veränderungen von Theta und Gamma in der CA1-Region wider. Resultierend daraus zeigt sich die Wichtigkeit der geschlechtsspezifischen Charakterisierung und Analyse in Alzheimer Mausmodellen. Wie nun der exakte Zusammenhang von Auftreten der Anfälle und den Veränderungen von Theta- und Gamma-Power in der CA1-Region mit der A $\beta$ -Anreicherung (A $\beta$ <sub>1-42</sub>/ A $\beta$ <sub>1-40</sub> Ratio und somit der Plaque Formation) zusammenhängt muss in weiteren Studien geklärt werden.

Die von uns gezeigte Reduktion von Delta, in Kombination mit Theta, wurde ebenso von Kent *et al.* beobachtet (Kent, Strittmatter und Nygaard, 2018). In der Veröffentlichung wird auf den Zusammenhang und den Einfluss von Schlaf und Schlafstörungen auf Alzheimer eingegangen. Schlafstörungen stehen seit langem mit der Alzheimer-Krankheit in Verbindung. Somit besteht ein wachsendes Interesse daran zu erforschen, wie diese Störungen die Pathophysiologie der AD beeinflussen können. In der zuvor erwähnten Studie von Kent *et al.* wurden drei Alzheimer-Mausmodelle verglichen und es konnte gezeigt werden, dass sowohl das APP / PS1-Modell nach acht bis zehn Monaten als auch das Tg2576-Modell im Alter von zwölf Monaten eine stufenabhängige Abnahme der Theta- und Delta-Leistung und Verschiebungen in den Leistungsspektren zu höheren Frequenzen aufweisen. Auch diese Verschiebung spiegelt sich in unseren Ergebnissen mit einem Anstieg der Gamma-Frequenzen wider.

Mit dem Fokus auf Veränderungen im Cortex, zeigten sich lediglich statistische Trends der Theta-, Beta- und Gamma-Frequenzen; Signifikanzen ließen sich keine aufzeigen (Abb. 33 - 36). Hierfür gibt es einige Aspekte, die für dieses Phänomen verantwortlich sein können.

Gurevicius *et al.* führten Grundlagenanalysen der kortikalen Power bei weiblichen APP<sup>swe</sup>PS1<sup>dE9</sup>-Mäusen im Alter von 16 - 17 Wochen durch (Gurevicius et al., 2013). Deren nicht-telemetrische Kurzzeit-Aufnahmen von einer Stunde zeigten einen Anstieg von Alpha-, Beta- und Gamma-Power. Es ist weitreichend bekannt, dass der frontale Cortex und der Temporallappen frühzeitig betroffene Regionen der Alzheimerkrankheit sind, wohingegen der primäre Motor-, der Sinnes- und der visuelle Iso-Cortex im späteren Krankheitsverlauf betroffen sind, was sich durch verminderte motorische, sensorische und visueller Reaktionen zeigt (Hyman, Van Hoesen, Damasio und Barnes, 1984, Arnold, Hyman, Flory, Damasio und

## DISKUSSION

Van Hoesen, 1991, Braak und Braak, 1991, Serrano-Pozo et al., 2011). Durch das 3-stufige System (A-C) von Braak und Braak, 1991 wird genau dieses aufgezeigt (Braak et al., 1991). Weiterhin sind diese Regionen verantwortlich für fortschreitende Beeinträchtigungen der kognitiven Eigenschaften: ausführende Dysfunktion (Präfrontaler Cortex), Apraxie (Parietaler Cortex), visuell-räumliche Navigation (Occipitoparietaler Cortex), visuell-vorausschauende Einschränkungen (Occipitotemporaler Cortex) und dem semantischen Gedächtnis. Gurevicius *et al.* gehen davon aus, dass die Veränderungen der Gamma-Power im frontalen Cortex multifaktorielle Gründe hat ((Gurevicius et al., 2013)), wie Projektionen im basalen Vorderhirn und lokale Hypererregbarkeit der kortikalen Pyramidenzellen, als Folge von erhöhtem Ruhepotential (Minkeviciene et al., 2009). Studien von Garcia-Marin *et al.* zeigen ein Fehlen von GABAergen perisomatischen Synapsen der Korbzellen an der Oberfläche der corticalen Pyramiden-Neurone, die in enger Verbindung zu Amyloid-Plaques stehen (Garcia-Marin, Blazquez-Llorca, Rodriguez, Boluda, Muntane, Ferrer et al., 2009). Da perisomatische GABAerge Synapsen einen großen Einfluss auf das Verhalten der Pyramiden-Neurone haben, steht deren strukturelle Schädigung möglicherweise im Zusammenhang mit der Hyperaktivität der den Amyloid-Plaques nahegelegenen Neuronen. Gamma-Aktivität ist vor allem durch GABA A Rezeptoren an perisomatische Inhibition gebunden (Buzsaki und Wang, 2012). Da hauptsächlich Interneurone die Power schneller Oszillationen, wie Gamma (Mann und Paulsen, 2005, Wang, 2010, Whittington, Cunningham, LeBeau, Racca und Traub, 2011), bestimmen, scheint es unwahrscheinlich, dass interneuronale Pathologien für die erhöhte kortikale Gamma-Power verantwortlich ist (van Deursen, Vuurman, Verhey, van Kranen-Mastenbroek und Riedel, 2008, Gurevicius et al., 2013).

Unsere Analyse der Theta-, Beta- und Gamma-Power des Motorcortex zeigte im Gegensatz zu der von Gurevicius *et al.* keine Veränderung im präfrontalen Cortex (Gurevicius et al., 2013). Angesichts des zuvor beschriebenen zeitlichen pathohistologischen Verlaufs der AD scheint es, dass das frühzeitige *Sparing* motorischer Cortextbereiche in neurofibrillären Bündeln und die Bildung von Amyloid-Plaques für die Erhaltung der Theta-, Beta- und Gamma-Aktivität im Motor Cortex von APP<sup>swE</sup>PS1<sup>dE9</sup>-Mäusen im Alter von 14-19 Wochen verantwortlich ist.

Weiterhin zeigen die Resultate, dass die hippocampalen und kortikalen Anfälle und die Charakteristik der EEG Power-Verteilung im Zusammenhang mit sowohl dem Alter, in Bezug auf die Krankheitsprogression, als auch dem Geschlecht der APP<sup>swE</sup>PS1<sup>dE9</sup>-Mäuse

## DISKUSSION

stehen. Diese Ergebnisse lassen auf neue geschlechtsspezifische EEG-Merkmale als potentielle Früherkennungsmerkmale/Biomarker für Alzheimer in der Zukunft deuten.

## 5. Literatur

- AL-QAZZAZ, N. K.,ALI, S. H.,AHMAD, S. A.,CHELLAPPAN, K.,ISLAM, M. S. & ESCUDERO, J. 2014. Role of EEG as biomarker in the early detection and classification of dementia. *ScientificWorldJournal*, 2014, 906038.
- ALZHEIMER, A.,STELZMANN, R. A.,SCHNITZLEIN, H. N. & MURTAGH, F. R. 1995. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat*, 8, 429-31.
- ANDERSEN, O. M.,REICHE, J.,SCHMIDT, V.,GOTTHARDT, M.,SPOELGEN, R.,BEHLKE, J., et al. 2005. Neuronal sorting protein-related receptor sorLA/LR11 regulates processing of the amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 13461-6.
- ARMITAGE, R. & HOFFMANN, R. F. 2001. Sleep EEG, depression and gender. *Sleep Med Rev*, 5, 237-246.
- ARMON, C.,PETERSON, G. W. & LIWNICZ, B. H. 2000. Alzheimer's disease underlies some cases of complex partial status epilepticus. *J Clin Neurophysiol*, 17, 511-8.
- ARNOLD, S. E.,HYMAN, B. T.,FLORY, J.,DAMASIO, A. R. & VAN HOESEN, G. W. 1991. The topographical and neuroanatomical distribution of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *Cereb Cortex*, 1, 103-16.
- BABILONI, C.,CASSETTA, E.,BINETTI, G.,TOMBINI, M.,DEL PERCIO, C.,FERRERI, F., et al. 2007. Resting EEG sources correlate with attentional span in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*, 25, 3742-57.
- BABILONI, C.,PIEVANI, M.,VECCHIO, F.,GEROLDI, C.,EUSEBI, F.,FRACASSI, C., et al. 2009. White-matter lesions along the cholinergic tracts are related to cortical sources of EEG rhythms in amnesic mild cognitive impairment. *Hum Brain Mapp*, 30, 1431-43.
- BAKER, F. C.,SATTARI, N.,DE ZAMBOTTI, M.,GOLDSTONE, A.,ALAYNICK, W. A. & MEDNICK, S. C. 2018. Impact of sex steroids and reproductive stage on sleep-dependent memory consolidation in women. *Neurobiol Learn Mem*.
- BAKKER, A.,KRAUSS, G. L.,ALBERT, M. S.,SPECK, C. L.,JONES, L. R.,STARK, C. E., et al. 2012. Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnesic mild cognitive impairment. *Neuron*, 74, 467-74.
- BARRON, M.,GARTLON, J.,DAWSON, L. A.,ATKINSON, P. J. & PARDON, M. C. 2017. A state of delirium: Deciphering the effect of inflammation on tau pathology in Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*, 94, 103-107.
- BERNARDI, S.,SCALDAFERRI, N.,VANACORE, N.,TREBBASTONI, A.,FRANCIA, A.,D'AMICO, A., et al. 2010. Seizures in Alzheimer's disease: a retrospective study of a cohort of outpatients. *Epileptic Disord*, 12, 16-21.
- BLAND, B. H. & COLOM, L. V. 1993. Extrinsic and intrinsic properties underlying oscillation and synchrony in limbic cortex. *Prog Neurobiol*, 41, 157-208.
- BLAND, B. H.,TREPEL, C.,ODDIE, S. D. & KIRK, I. J. 1996. Intraseptal microinfusion of muscimol: effects on hippocampal formation theta field activity and phasic theta-ON cell discharges. *Exp Neurol*, 138, 286-97.
- BORN, H. A. 2015. Seizures in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 286, 251-63.
- BOYCE, R.,GLASGOW, S. D.,WILLIAMS, S. & ADAMANTIDIS, A. 2016. Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Science*, 352, 812-6.

- BOYCE, R., WILLIAMS, S. & ADAMANTIDIS, A. 2017. REM sleep and memory. *Curr Opin Neurobiol*, 44, 167-177.
- BRAAK, H. & BRAAK, E. 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, 82, 239-59.
- BRINTON, R. D., YAO, J., YIN, F., MACK, W. J. & CADENAS, E. 2015. Perimenopause as a neurological transition state. *Nature Reviews Endocrinology*, 11, 393-405.
- BUSCHE, M. A., EICHHOFF, G., ADELSBERGER, H., ABRAMOWSKI, D., WIEDERHOLD, K. H., HAASS, C., et al. 2008. Clusters of hyperactive neurons near amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science*, 321, 1686-9.
- BUZSAKI, G. 2002. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33, 325-40.
- BUZSAKI, G. & WANG, X. J. 2012. Mechanisms of gamma oscillations. *Annu Rev Neurosci*, 35, 203-25.
- CARROTTA, R., BARTHES, J., LONGO, A., MARTORANA, V., MANNO, M., PORTALE, G., et al. 2007. Large size fibrillar bundles of the Alzheimer amyloid beta-protein. *Eur Biophys J*, 36, 701-9.
- CASTELLANO, J. M., KIM, J., STEWART, F. R., JIANG, H., DEMATTOS, R. B., PATTERSON, B. W., et al. 2011. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid-beta peptide clearance. *Sci Transl Med*, 3, 89ra57.
- CAYZAC, S., MONS, N., GINGUAY, A., ALLINQUANT, B., JEANTET, Y. & CHO, Y. H. 2015. Altered hippocampal information coding and network synchrony in APP-PS1 mice. *Neurobiol Aging*, 36, 3200-13.
- CHIN, J., PALOP, J. J., YU, G. Q., KOJIMA, N., MASLIAH, E. & MUCKE, L. 2004. Fyn kinase modulates synaptotoxicity, but not aberrant sprouting, in human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci*, 24, 4692-7.
- CHIN, J. & SCHARFMAN, H. E. 2013. Shared cognitive and behavioral impairments in epilepsy and Alzheimer's disease and potential underlying mechanisms. *Epilepsy Behav*, 26, 343-51.
- CITRON, M., OLTERSDORF, T., HAASS, C., MCCONLOGUE, L., HUNG, A. Y., SEUBERT, P., et al. 1992. Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production. *Nature*, 360, 672-4.
- CLEMENS, Z., JANSZKY, J., SZUCS, A., BEKESY, M., CLEMENS, B. & HALASZ, P. 2003. Interictal epileptic spiking during sleep and wakefulness in mesial temporal lobe epilepsy: a comparative study of scalp and foramen ovale electrodes. *Epilepsia*, 44, 186-92.
- COLOM, L. V. 2006. Septal networks: relevance to theta rhythm, epilepsy and Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 96, 609-23.
- COLOM, L. V., CASTANEDA, M. T., BANUELOS, C., PURAS, G., GARCIA-HERNANDEZ, A., HERNANDEZ, S., et al. 2010. Medial septal beta-amyloid 1-40 injections alter septo-hippocampal anatomy and function. *Neurobiol Aging*, 31, 46-57.
- CORDER, E. H., SAUNDERS, A. M., RISCH, N. J., STRITTMATTER, W. J., SCHMECHEL, D. E., GASKELL, P. C., JR., et al. 1994. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet*, 7, 180-4.
- CORDER, E. H., SAUNDERS, A. M., STRITTMATTER, W. J., SCHMECHEL, D. E., GASKELL, P. C., SMALL, G. W., et al. 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261, 921-3.
- CUMMINS, T. D., BROUGHTON, M. & FINNIGAN, S. 2008. Theta oscillations are affected by amnesic mild cognitive impairment and cognitive load. *Int J Psychophysiol*, 70, 75-81.
- CZIGLER, B., CSIKOS, D., GAAL, A. Z., CSIBRI, E., KISS, E., HIDASI, Z., et al. 2006. [Quantitative EEG analysis in Alzheimer's disease: spectral, coherence and complexity parameters]. *Psychiatr Hung*, 21, 300-12.

- DA SILVA, R. A. 2015. Sleep disturbances and mild cognitive impairment: A review. *Sleep Sci*, 8, 36-41.
- DE STROOPER, B. 2007. Loss-of-function presenilin mutations in Alzheimer disease. Talking Point on the role of presenilin mutations in Alzheimer disease. *EMBO Rep*, 8, 141-6.
- DE STROOPER, B. & ANNAERT, W. 2000. Proteolytic processing and cell biological functions of the amyloid precursor protein. *J Cell Sci*, 113 ( Pt 11), 1857-70.
- DEYTS, C., THINAKARAN, G. & PARENT, A. T. 2016. APP Receptor? To Be or Not To Be. *Trends Pharmacol Sci*, 37, 390-411.
- DIEKELMANN, S. & BORN, J. 2010. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci*, 11, 114-26.
- DOLEV, I., FOGEL, H., MILSHEIN, H., BERDICHEVSKY, Y., LIPSTEIN, N., BROSE, N., et al. 2013. Spike bursts increase amyloid-beta 40/42 ratio by inducing a presenilin-1 conformational change. *Nat Neurosci*, 16, 587-95.
- DUFF, K. & SULEMAN, F. 2004. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease: how useful have they been for therapeutic development? *Brief Funct Genomic Proteomic*, 3, 47-59.
- EDBAUER, D., WINKLER, E., HAASS, C. & STEINER, H. 2002. Presenilin and nicastrin regulate each other and determine amyloid beta-peptide production via complex formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 8666-71.
- EDBAUER, D., WINKLER, E., REGULA, J. T., PESOLD, B., STEINER, H. & HAASS, C. 2003. Reconstitution of gamma-secretase activity. *Nat Cell Biol*, 5, 486-8.
- ENGLER-CHIURAZZI, E. B., BROWN, C. M., POVROZNIK, J. M. & SIMPKINS, J. W. 2017. Estrogens as neuroprotectants: Estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. *Prog Neurobiol*, 157, 188-211.
- FISHER, R. S., ACEVEDO, C., ARZIMANOGLU, A., BOGACZ, A., CROSS, J. H., ELGER, C. E., et al. 2014. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55, 475-82.
- FORSTL, H., BURNS, A., LEVY, R., CAIRNS, N., LUTHER, P. & LANTOS, P. 1992. Neurologic signs in Alzheimer's disease. Results of a prospective clinical and neuropathologic study. *Arch Neurol*, 49, 1038-42.
- FUKUMORI, A., FLUHRER, R., STEINER, H. & HAASS, C. 2010. Three-amino acid spacing of presenilin endoproteolysis suggests a general stepwise cleavage of gamma-secretase-mediated intramembrane proteolysis. *J Neurosci*, 30, 7853-62.
- GAMES, D., ADAMS, D., ALESSANDRINI, R., BARBOUR, R., BERTHELETTE, P., BLACKWELL, C., et al. 1995. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature*, 373, 523-7.
- GARCIA-ALLOZA, M., ROBBINS, E. M., ZHANG-NUNES, S. X., PURCELL, S. M., BETENSKY, R. A., RAJU, S., et al. 2006. Characterization of amyloid deposition in the APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis*, 24, 516-24.
- GARCIA-MARIN, V., BLAZQUEZ-LLORCA, L., RODRIGUEZ, J. R., BOLUDA, S., MUNTANE, G., FERRER, I., et al. 2009. Diminished perisomatic GABAergic terminals on cortical neurons adjacent to amyloid plaques. *Front Neuroanat*, 3, 28.
- GLENNER, G. G. & WONG, C. W. 1984. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 120, 885-90.
- GOTZ, J., SCHILD, A., HOERNDLI, F. & PENNANEN, L. 2004. Amyloid-induced neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease: insight from transgenic mouse and tissue-culture models. *Int J Dev Neurosci*, 22, 453-65.

- GOUTAGNY, R., GU, N., CAVANAGH, C., JACKSON, J., CHABOT, J. G., QUIRION, R., et al. 2013. Alterations in hippocampal network oscillations and theta-gamma coupling arise before Abeta overproduction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*, 37, 1896-902.
- GOUTAGNY, R. & KRANTIC, S. 2013. Hippocampal oscillatory activity in Alzheimer's disease: toward the identification of early biomarkers? *Aging Dis*, 4, 134-40.
- GUREVICIUS, K., LIPPONEN, A. & TANILA, H. 2013. Increased cortical and thalamic excitability in freely moving APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> mice modeling epileptic activity associated with Alzheimer's disease. *Cereb Cortex*, 23, 1148-58.
- GUTIERREZ-LERMA, A. I., ORDAZ, B. & PENA-ORTEGA, F. 2013. Amyloid Beta peptides differentially affect hippocampal theta rhythms in vitro. *Int J Pept*, 2013, 328140.
- HAASS, C. 2004. Take five--BACE and the gamma-secretase quartet conduct Alzheimer's amyloid beta-peptide generation. *EMBO J*, 23, 483-8.
- HAASS, C., KAETHER, C., THINAKARAN, G. & SISODIA, S. 2012. Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2, a006270.
- HAASS, C. & STEINER, H. 2002. Alzheimer disease gamma-secretase: a complex story of GxGD-type presenilin proteases. *Trends Cell Biol*, 12, 556-62.
- HAMSON, D. K., ROES, M. M. & GALEA, L. A. 2016. Sex Hormones and Cognition: Neuroendocrine Influences on Memory and Learning. *Compr Physiol*, 6, 1295-337.
- HENDERSON, V. W. 2009. Aging, estrogens, and episodic memory in women. *Cogn Behav Neurol*, 22, 205-14.
- HORVATH, A., SZUCS, A., BARCS, G., NOEBELS, J. L. & KAMONDI, A. 2016. Epileptic Seizures in Alzheimer Disease: A Review. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 30, 186-92.
- HSIAO, K. K., BORCHELT, D. R., OLSON, K., JOHANNSDOTTIR, R., KITT, C., YUNIS, W., et al. 1995. Age-related CNS disorder and early death in transgenic FVB/N mice overexpressing Alzheimer amyloid precursor proteins. *Neuron*, 15, 1203-18.
- HYMAN, B. T., VAN HOESEN, G. W., DAMASIO, A. R. & BARNES, C. L. 1984. Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science*, 225, 1168-70.
- JANKOWSKY, J. L., FADALE, D. J., ANDERSON, J., XU, G. M., GONZALES, V., JENKINS, N. A., et al. 2004a. Mutant presenilins specifically elevate the levels of the 42 residue beta-amyloid peptide in vivo: evidence for augmentation of a 42-specific gamma secretase. *Hum Mol Genet*, 13, 159-70.
- JANKOWSKY, J. L., SLUNT, H. H., GONZALES, V., JENKINS, N. A., COPELAND, N. G. & BORCHELT, D. R. 2004b. APP processing and amyloid deposition in mice haplo-insufficient for presenilin 1. *Neurobiol Aging*, 25, 885-92.
- JIANG, Q., LEE, C. Y., MANDREKAR, S., WILKINSON, B., CRAMER, P., ZELCER, N., et al. 2008. ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta. *Neuron*, 58, 681-93.
- JOLAS, T., ZHANG, X. S., ZHANG, Q., WONG, G., DEL VECCHIO, R., GOLD, L., et al. 2002. Long-term potentiation is increased in the CA1 area of the hippocampus of APP(swe/ind) CRND8 mice. *Neurobiol Dis*, 11, 394-409.
- JONGBLOED, W., BRUGGINK, K. A., KESTER, M. I., VISSER, P. J., SCHELTENS, P., BLANKENSTEIN, M. A., et al. 2014. Amyloid-beta Oligomers Relate to Cognitive Decline in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*.
- JYOTI, A., PLANO, A., RIEDEL, G. & PLATT, B. 2010. EEG, activity, and sleep architecture in a transgenic AbetaPP<sup>swe</sup>/PSEN1A246E Alzheimer's disease mouse. *J Alzheimers Dis*, 22, 873-87.
- KANG, J., LEMAIRE, H. G., UNTERBECK, A., SALBAUM, J. M., MASTERS, C. L., GRZESCHIK, K. H., et al. 1987. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 325, 733-6.

- KENT, B. A., STRITTMATTER, S. M. & NYGAARD, H. B. 2018. Sleep and EEG Power Spectral Analysis in Three Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease: APP/PS1, 3xTgAD, and Tg2576. *J Alzheimers Dis*, 64, 1325-1336.
- KIM, J. A., KIM, M., KANG, S. M., LIM, K. T., KIM, T. S. & KANG, J. Y. 2014. Magnetic bead droplet immunoassay of oligomer amyloid beta for the diagnosis of Alzheimer's disease using micro-pillars to enhance the stability of the oil-water interface. *Biosens Bioelectron*.
- KOBAYASHI, D. T. & CHEN, K. S. 2005. Behavioral phenotypes of amyloid-based genetically modified mouse models of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav*, 4, 173-96.
- KOO, E. H., SQUAZZO, S. L., SELKOE, D. J. & KOO, C. H. 1996. Trafficking of cell-surface amyloid beta-protein precursor. I. Secretion, endocytosis and recycling as detected by labeled monoclonal antibody. *J Cell Sci*, 109 ( Pt 5), 991-8.
- KRAMER, K. & KINTER, L. B. 2003. Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals. *Physiol Genomics*, 13, 197-205.
- KUHN, P. H., WANG, H., DISLICH, B., COLOMBO, A., ZEITSCHEL, U., ELLWART, J. W., et al. 2010. ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive alpha-secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J*, 29, 3020-32.
- KUKULL, W. A., HIGDON, R., BOWEN, J. D., MCCORMICK, W. C., TERI, L., SCHELLENBERG, G. D., et al. 2002. Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study. *Arch Neurol*, 59, 1737-46.
- LARNER, A. J. 2010. Epileptic seizures in AD patients. *Neuromolecular Med*, 12, 71-7.
- LEAO, R. N., COLOM, L. V., BORGHIUS, L., KIEHN, O. & FISAHN, A. 2012. Medial septal dysfunction by Abeta-induced KCNQ channel-block in glutamatergic neurons. *Neurobiol Aging*, 33, 2046-61.
- LEISSRING, M. A., FARRIS, W., CHANG, A. Y., WALSH, D. M., WU, X., SUN, X., et al. 2003. Enhanced proteolysis of beta-amyloid in APP transgenic mice prevents plaque formation, secondary pathology, and premature death. *Neuron*, 40, 1087-93.
- LEVY, E., CARMAN, M. D., FERNANDEZ-MADRID, I. J., POWER, M. D., LIEBERBURG, I., VAN DUINEN, S. G., et al. 1990. Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science*, 248, 1124-6.
- LICHTENTHALER, S. F., HAASS, C. & STEINER, H. 2011. Regulated intramembrane proteolysis--lessons from amyloid precursor protein processing. *J Neurochem*, 117, 779-96.
- LIEDORP, M., STAM, C. J., VAN DER FLIER, W. M., PIJNENBURG, Y. A. & SCHELTENS, P. 2010. Prevalence and clinical significance of epileptiform EEG discharges in a large memory clinic cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 29, 432-7.
- LISMAN, J. E. & JENSEN, O. 2013. The theta-gamma neural code. *Neuron*, 77, 1002-16.
- LUNDT, A., WORMUTH, C., SIWEK, M. E., MULLER, R., EHNINGER, D., HENSELER, C., et al. 2016. EEG Radiotelemetry in Small Laboratory Rodents: A Powerful State-of-the Art Approach in Neuropsychiatric, Neurodegenerative, and Epilepsy Research. *Neural Plast*, 2016, 8213878.
- MAHLEY, R. W. & HUANG, Y. 2006. Apolipoprotein (apo) E4 and Alzheimer's disease: unique conformational and biophysical properties of apoE4 can modulate neuropathology. *Acta Neurol Scand Suppl*, 185, 8-14.
- MALM, T., KOISTINAHO, J. & KANNINEN, K. 2011. Utilization of APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> Transgenic Mice in Research of Alzheimer's Disease: Focus on Gene Therapy and Cell-Based Therapy Applications. *Int J Alzheimers Dis*, 2011, 517160.
- MANDELKOW, E. M. & MANDELKOW, E. 1998. Tau in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol*, 8, 425-7.

- MANN, E. O. & PAULSEN, O. 2005. Mechanisms underlying gamma ('40 Hz') network oscillations in the hippocampus--a mini-review. *Prog Biophys Mol Biol*, 87, 67-76.
- MASTERS, C. L.,MULTHAUP, G.,SIMMS, G.,POTTGIESSER, J.,MARTINS, R. N. & BEYREUTHER, K. 1985. Neuronal origin of a cerebral amyloid: neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease contain the same protein as the amyloid of plaque cores and blood vessels. *EMBO J*, 4, 2757-63.
- MASTERS, C. L.,SIMMS, G.,WEINMAN, N. A.,MULTHAUP, G.,MCDONALD, B. L. & BEYREUTHER, K. 1985. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 82, 4245-9.
- MAZANETZ, M. P. & FISCHER, P. M. 2007. Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 6, 464-79.
- MCAREAVEY, M. J.,BALLINGER, B. R. & FENTON, G. W. 1992. Epileptic seizures in elderly patients with dementia. *Epilepsia*, 33, 657-60.
- MCBRIDE, M. C.,LAROIA, N. & GUILLET, R. 2000. Electrographic seizures in neonates correlate with poor neurodevelopmental outcome. *Neurology*, 55, 506-13.
- MCNAUGHTON, N.,RUAN, M. & WOODNORTH, M. A. 2006. Restoring theta-like rhythmicity in rats restores initial learning in the Morris water maze. *Hippocampus*, 16, 1102-10.
- MEDEIROS, R.,KITAZAWA, M.,CACCAMO, A.,BAGLIETTO-VARGAS, D.,ESTRADA-HERNANDEZ, T.,CRIBBS, D. H., et al. 2011. Loss of muscarinic M1 receptor exacerbates Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. *Am J Pathol*, 179, 980-91.
- MENDEZ, M. & LIM, G. 2003. Seizures in elderly patients with dementia: epidemiology and management. *Drugs Aging*, 20, 791-803.
- MERLO, S.,SPAMPINATO, S. F. & SORTINO, M. A. 2017. Estrogen and Alzheimer's disease: Still an attractive topic despite disappointment from early clinical results. *Eur J Pharmacol*, 817, 51-58.
- MINKEVICIENE, R.,RHEIMS, S.,DOBSZAY, M. B.,ZILBERTER, M.,HARTIKAINEN, J.,FULOP, L., et al. 2009. Amyloid beta-induced neuronal hyperexcitability triggers progressive epilepsy. *J Neurosci*, 29, 3453-62.
- MISONOU, H.,MOHAPATRA, D. P. & TRIMMER, J. S. 2005. Kv2.1: a voltage-gated k<sup>+</sup> channel critical to dynamic control of neuronal excitability. *Neurotoxicology*, 26, 743-52.
- MULLAN, M.,CRAWFORD, F.,AXELMAN, K.,HOULDEN, H.,LILIUS, L.,WINBLAD, B., et al. 1992. A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of beta-amyloid. *Nat Genet*, 1, 345-7.
- MYERS, R. H.,SCHAEFER, E. J.,WILSON, P. W.,D'AGOSTINO, R.,ORDOVAS, J. M.,ESPINO, A., et al. 1996. Apolipoprotein E epsilon4 association with dementia in a population-based study: The Framingham study. *Neurology*, 46, 673-7.
- NAGERL, U. V.,EBERHORN, N.,CAMBRIDGE, S. B. & BONHOEFFER, T. 2004. Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron*, 44, 759-67.
- NICKERSON, D. A.,TAYLOR, S. L.,FULLERTON, S. M.,WEISS, K. M.,CLARK, A. G.,STENGARD, J. H., et al. 2000. Sequence diversity and large-scale typing of SNPs in the human apolipoprotein E gene. *Genome Res*, 10, 1532-45.
- NICOLAS, M. & HASSAN, B. A. 2014. Amyloid precursor protein and neural development. *Development*, 141, 2543-8.
- NILSBERTH, C.,WESTLIND-DANIELSSON, A.,ECKMAN, C. B.,CONDON, M. M.,AXELMAN, K.,FORSELL, C., et al. 2001. The 'Arctic' APP mutation (E693G) causes Alzheimer's disease by enhanced Aβ protofibril formation. *Nat Neurosci*, 4, 887-93.

- NILSSON, D., FOHLEN, M., JALIN, C., DORFMULLER, G., BULTEAU, C. & DELALANDE, O. 2009. Foramen ovale electrodes in the preoperative evaluation of temporal lobe epilepsy in children. *Epilepsia*, 50, 2085-96.
- NIMMRICH, V., GRIMM, C., DRAGUHN, A., BARGHORN, S., LEHMANN, A., SCHOEMAKER, H., et al. 2008. Amyloid beta oligomers (A beta(1-42) globulomer) suppress spontaneous synaptic activity by inhibition of P/Q-type calcium currents. *J Neurosci*, 28, 788-97.
- OCTAVE, J. N. 1995. The amyloid peptide and its precursor in Alzheimer's disease. *Rev Neurosci*, 6, 287-316.
- ORDONEZ-GUTIERREZ, L., ANTON, M. & WANDOSELL, F. 2015. Peripheral amyloid levels present gender differences associated with aging in AbetaPP/PS1 mice. *J Alzheimers Dis*, 44, 1063-8.
- PAESLER, K., XIE, K., HETTICH, M. M., SIWEK, M. E., RYAN, D. P., SCHRODER, S., et al. 2015. Limited effects of an eIF2alphaS51A allele on neurological impairments in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neural Plast*, 2015, 825157.
- PALOP, J. J., CHIN, J., ROBERSON, E. D., WANG, J., THWIN, M. T., BIEN-LY, N., et al. 2007. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*, 55, 697-711.
- PALOP, J. J. & MUCKE, L. 2009. Epilepsy and cognitive impairments in Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 66, 435-40.
2010. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci*, 13, 812-8.
- PAPAZOGLU, A., LUNDT, A., WORMUTH, C., EHNINGER, D., HENSELER, C., SOOS, J., et al. 2016a. Non-restraining EEG Radiotelemetry: Epidural and Deep Intracerebral Stereotaxic EEG Electrode Placement. *J Vis Exp*.
- PAPAZOGLU, A., LUNDT, A., WORMUTH, C., EHNINGER, D., HENSELER, C., SOOS, J., et al. 2016b. Non-restraining EEG radiotelemetry: epidural and deep intracerebral stereotaxic EEG electrode placement. *Journal of Visualized Experiments*, in press.
- PENA-ORTEGA, F. & BERNAL-PEDRAZA, R. 2012. Amyloid Beta Peptide slows down sensory-induced hippocampal oscillations. *Int J Pept*, 2012, 236289.
- PENA, F., ORDAZ, B., BALLEZA-TAPIA, H., BERNAL-PEDRAZA, R., MARQUEZ-RAMOS, A., CARMONA-APARICIO, L., et al. 2010. Beta-amyloid protein (25-35) disrupts hippocampal network activity: role of Fyn-kinase. *Hippocampus*, 20, 78-96.
- PIKE, C. J. 2017. Sex and the development of Alzheimer's disease. *J Neurosci Res*, 95, 671-680.
- PLANT, L. D., WEBSTER, N. J., BOYLE, J. P., RAMSDEN, M., FREIR, D. B., PEERS, C., et al. 2006. Amyloid beta peptide as a physiological modulator of neuronal 'A'-type K<sup>+</sup> current. *Neurobiol Aging*, 27, 1673-83.
- PORTELIUS, E., MATTSSON, N., ANDREASSON, U., BLENNOW, K. & ZETTERBERG, H. 2011. Novel abeta isoforms in Alzheimer's disease - their role in diagnosis and treatment. *Curr Pharm Des*, 17, 2594-602.
- PORTELIUS, E., PRICE, E., BRINKMALM, G., STITELER, M., OLSSON, M., PERSSON, R., et al. 2011. A novel pathway for amyloid precursor protein processing. *Neurobiol Aging*, 32, 1090-8.
- PRICE, D. L., SISODIA, S. S. & BORCHELT, D. R. 1998. Alzheimer disease--when and why? *Nat Genet*, 19, 314-6.
- PRINCE, M., BRYCE, R., ALBANESE, E., WIMO, A., RIBEIRO, W. & FERRI, C. P. 2013. The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement*, 9, 63-75 e2.

- REDLINE, S., KIRCHNER, H. L., QUAN, S. F., GOTTLIEB, D. J., KAPUR, V. & NEWMAN, A. 2004. The effects of age, sex, ethnicity, and sleep-disordered breathing on sleep architecture. *Arch Intern Med*, 164, 406-18.
- REITZ, C. 2012. Alzheimer's disease and the amyloid cascade hypothesis: a critical review. *Int J Alzheimers Dis*, 2012, 369808.
- REITZ, C., BRAYNE, C. & MAYEUX, R. 2011. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 7, 137-52.
- RIEDEL, B. C., THOMPSON, P. M. & BRINTON, R. D. 2016. Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 160, 134-47.
- RISACHER, S. L., ANDERSON, W. H., CHARIL, A., CASTELLUCCIO, P. F., SHCHERBININ, S., SAYKIN, A. J., et al. 2017. Alzheimer disease brain atrophy subtypes are associated with cognition and rate of decline. *Neurology*, 89, 2176-2186.
- ROGAEVA, E., MENG, Y., LEE, J. H., GU, Y., KAWARAI, T., ZOU, F., et al. 2007. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet*, 39, 168-77.
- ROOKE, K., TALBOT, C., JAMES, L., ANAND, R., HARDY, J. A. & GOATE, A. M. 1993. A physical map of the human APP gene in YACs. *Mamm Genome*, 4, 662-9.
- RUBIO, S. E., VEGA-FLORES, G., MARTINEZ, A., BOSCH, C., PEREZ-MEDIAVILLA, A., DEL RIO, J., et al. 2012. Accelerated aging of the GABAergic septohippocampal pathway and decreased hippocampal rhythms in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*, 26, 4458-67.
- SAITO, Y., AKIYAMA, M., ARAKI, Y., SUMIOKA, A., SHIONO, M., TARU, H., et al. 2011. Intracellular trafficking of the amyloid beta-protein precursor (APP) regulated by novel function of X11-like. *PLoS One*, 6, e22108.
- SANCHEZ, M. A. S. C., C.A., PEDROSO IBANEZ, I., BRINGAS, M.L., SANCHEZ, A.P. 2011. Phosphorylation of Tau Protein Associated as a Protective Mechanism in the Presence of Toxic, C-Terminally Truncated Tau in Alzheimer's Disease.
- SANNERUD, R. & ANNAERT, W. 2009. Trafficking, a key player in regulated intramembrane proteolysis. *Semin Cell Dev Biol*, 20, 183-90.
- SCHMECHEL, D. E., SAUNDERS, A. M., STRITTMATTER, W. J., CRAIN, B. J., HULETTE, C. M., JOO, S. H., et al. 1993. Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 9649-53.
- SCHMIDT, V., SPORBERT, A., ROHE, M., REIMER, T., REHM, A., ANDERSEN, O. M., et al. 2007. SorLA/LR11 regulates processing of amyloid precursor protein via interaction with adaptors GGA and PACS-1. *J Biol Chem*, 282, 32956-64.
- SCHNEIDER, L. S. 2013. Alzheimer disease pharmacologic treatment and treatment research. *Continuum (Minneapolis)*, 19, 339-57.
- SCHROETER, M. L., STEIN, T., MASLOWSKI, N. & NEUMANN, J. 2009. Neural correlates of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic and quantitative meta-analysis involving 1351 patients. *Neuroimage*, 47, 1196-206.
- SCOTT, L., FENG, J., KISS, T., NEEDLE, E., ATCHISON, K., KAWABE, T. T., et al. 2012. Age-dependent disruption in hippocampal theta oscillation in amyloid-beta overproducing transgenic mice. *Neurobiol Aging*, 33, 1481 e13-23.
- SCOTT, L., KISS, T., KAWABE, T. T. & HAJOS, M. 2016. Neuronal network activity in the hippocampus of tau transgenic (Tg4510) mice. *Neurobiol Aging*, 37, 66-73.
- SELKOE, D. J. 2002. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, 298, 789-91.
- SERPELL, L. C. 2000. Alzheimer's amyloid fibrils: structure and assembly. *Biochim Biophys Acta*, 1502, 16-30.

- SERRANO-POZO, A., FROSCHE, M. P., MASLIAH, E. & HYMAN, B. T. 2011. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 1, a006189.
- SHEMER, I., HOLMGREN, C., MIN, R., FULOP, L., ZILBERTER, M., SOUSA, K. M., et al. 2006. Non-fibrillar beta-amyloid abates spike-timing-dependent synaptic potentiation at excitatory synapses in layer 2/3 of the neocortex by targeting postsynaptic AMPA receptors. *Eur J Neurosci*, 23, 2035-47.
- SHIN, J. 2010. Theta rhythm heterogeneity in humans. *Clin Neurophysiol*, 121, 456-7.
- SHIN, J., KIM, D., BIANCHI, R., WONG, R. K. & SHIN, H. S. 2005. Genetic dissection of theta rhythm heterogeneity in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 18165-70.
- SIWEK, M. E., MULLER, R., HENSELER, C., TROG, A., LUNDT, A., WORMUTH, C., et al. 2015. Altered theta oscillations and aberrant cortical excitatory activity in the 5XFAD model of Alzheimer's disease. *Neural Plast*, 2015, 781731.
- SORKIN, A. & VON ZASTROW, M. 2009. Endocytosis and signalling: intertwining molecular networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10, 609-22.
- STEINER, H., FLUHRER, R. & HAASS, C. 2008. Intramembrane proteolysis by gamma-secretase. *J Biol Chem*, 283, 29627-31.
- STRITTMATTER, W. J., SAUNDERS, A. M., SCHMECHEL, D., PERICAK-VANCE, M., ENGHILD, J., SALVESEN, G. S., et al. 1993. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 1977-81.
- STURCHLER-PIERRAT, C., ABRAMOWSKI, D., DUKE, M., WIEDERHOLD, K. H., MISTL, C., ROTHACHER, S., et al. 1997. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 13287-92.
- SUNDSTROM POROMAA, I. & GINGNELL, M. 2014. Menstrual cycle influence on cognitive function and emotion processing-from a reproductive perspective. *Front Neurosci*, 8, 380.
- SUZUKI, N., CHEUNG, T. T., CAI, X. D., ODAKA, A., OTVOS, L., JR., ECKMAN, C., et al. 1994. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science*, 264, 1336-40.
- TALLEY, E. M., SIROIS, J. E., LEI, Q. & BAYLISS, D. A. 2003. Two-pore-Domain (KCNK) potassium channels: dynamic roles in neuronal function. *Neuroscientist*, 9, 46-56.
- TANZI, R. E., BIRD, E. D., LATT, S. A. & NEVE, R. L. 1987. The amyloid beta protein gene is not duplicated in brains from patients with Alzheimer's disease. *Science*, 238, 666-9.
- THIBAUT, O., PANCANI, T., LANDFIELD, P. W. & NORRIS, C. M. 2012. Reduction in neuronal L-type calcium channel activity in a double knock-in mouse model of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1822, 546-9.
- THINAKARAN, G. & KOO, E. H. 2008a. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *J Biol Chem*, 283, 29615-9.
- 2008b. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function.
- TROJANOWSKI, J. Q. & LEE, V. M. 1995. Phosphorylation of paired helical filament tau in Alzheimer's disease neurofibrillary lesions: focusing on phosphatases. *FASEB J*, 9, 1570-6.
- VAN DEURSEN, J. A., VUURMAN, E. F., VERHEY, F. R., VAN KRANEN-MASTENBROEK, V. H. & RIEDEL, W. J. 2008. Increased EEG gamma band activity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Neural Transm (Vienna)*, 115, 1301-11.
- VASSAR, R., BENNETT, B. D., BABU-KHAN, S., KAHN, S., MENDIAZ, E. A., DENIS, P., et al. 1999. Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*, 286, 735-41.

- VETRIVEL, K. S. & THINAKARAN, G. 2006. Amyloidogenic processing of beta-amyloid precursor protein in intracellular compartments. *Neurology*, 66, S69-73.
- VOLICER, L., SMITH, S. & VOLICER, B. J. 1995. Effect of seizures on progression of dementia of the Alzheimer type. *Dementia*, 6, 258-63.
- VOSSEL, K. A., BEAGLE, A. J., RABINOVICI, G. D., SHU, H., LEE, S. E., NAASAN, G., et al. 2013. Seizures and epileptiform activity in the early stages of Alzheimer disease. *JAMA Neurol*, 70, 1158-66.
- WALKER, M. P., AYRE, G. A., CUMMINGS, J. L., WESNES, K., MCKEITH, I. G., O'BRIEN, J. T., et al. 2000a. The Clinician Assessment of Fluctuation and the One Day Fluctuation Assessment Scale. Two methods to assess fluctuating confusion in dementia. *Br J Psychiatry*, 177, 252-6.
- 2000b. Quantifying fluctuation in dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease, and vascular dementia. *Neurology*, 54, 1616-25.
- WANG, J., TANILA, H., PUOLIVALI, J., KADISH, I. & VAN GROEN, T. 2003. Gender differences in the amount and deposition of amyloidbeta in APP<sup>sw</sup> and PS1 double transgenic mice. *Neurobiol Dis*, 14, 318-27.
- WANG, X. J. 2010. Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. *Physiol Rev*, 90, 1195-268.
- WEIERGRABER, M., HENRY, M., HESCHELER, J., SMYTH, N. & SCHNEIDER, T. 2005. Electrographic and deep intracerebral EEG recording in mice using a telemetry system. *Brain Res Brain Res Protoc*, 14, 154-64.
- WEINGARTEN, M. D., LOCKWOOD, A. H., HWO, S. Y. & KIRSCHNER, M. W. 1975. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 72, 1858-62.
- WHITTINGTON, M. A., CUNNINGHAM, M. O., LEBEAU, F. E., RACCA, C. & TRAUB, R. D. 2011. Multiple origins of the cortical gamma rhythm. *Dev Neurobiol*, 71, 92-106.
- WIMO, A., SJOLUND, B. M., SKOLDUNGER, A., JOHANSSON, L., NORDBERG, G. & VON STRAUSS, E. 2011. Incremental patterns in the amount of informal and formal care among non-demented and demented elderly persons: results from a 3-year follow-up population-based study. *Int J Geriatr Psychiatry*, 26, 56-64.
- WISNIEWSKI, T., CASTANO, E. M., GOLABEK, A., VOGEL, T. & FRANGIONE, B. 1994. Acceleration of Alzheimer's fibril formation by apolipoprotein E in vitro. *Am J Pathol*, 145, 1030-5.
- WISOR, J. P., EDGAR, D. M., YESAVAGE, J., RYAN, H. S., MCCORMICK, C. M., LAPUSTEA, N., et al. 2005. Sleep and circadian abnormalities in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a role for cholinergic transmission. *Neuroscience*, 131, 375-85.
- XIONG, Z., HONGMEI, Z., LU, S. & YU, L. 2011. Curcumin mediates presenilin-1 activity to reduce beta-amyloid production in a model of Alzheimer's Disease. *Pharmacol Rep*, 63, 1101-8.
- YE, C. P., SELKOE, D. J. & HARTLEY, D. M. 2003. Protofibrils of amyloid beta-protein inhibit specific K<sup>+</sup> currents in neocortical cultures. *Neurobiol Dis*, 13, 177-90.
- ZHANG, Y. W., THOMPSON, R., ZHANG, H. & XU, H. 2011. APP processing in Alzheimer's disease. *Mol Brain*, 4, 3.
- ZHENG, H. & KOO, E. H. 2011. Biology and pathophysiology of the amyloid precursor protein. *Mol Neurodegener*, 6, 27.
- ZIEGLER-GRAHAM, K., BROOKMEYER, R., JOHNSON, E. & ARRIGHI, H. M. 2008. Worldwide variation in the doubling time of Alzheimer's disease incidence rates. *Alzheimers Dement*, 4, 316-23.

**6. Anhang**

## Internetquellen

Alzheimer Disease & Frontotemporal Dementia Mutation Database (AD&FTDMDB)

URL: <http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations/>

Alzforum

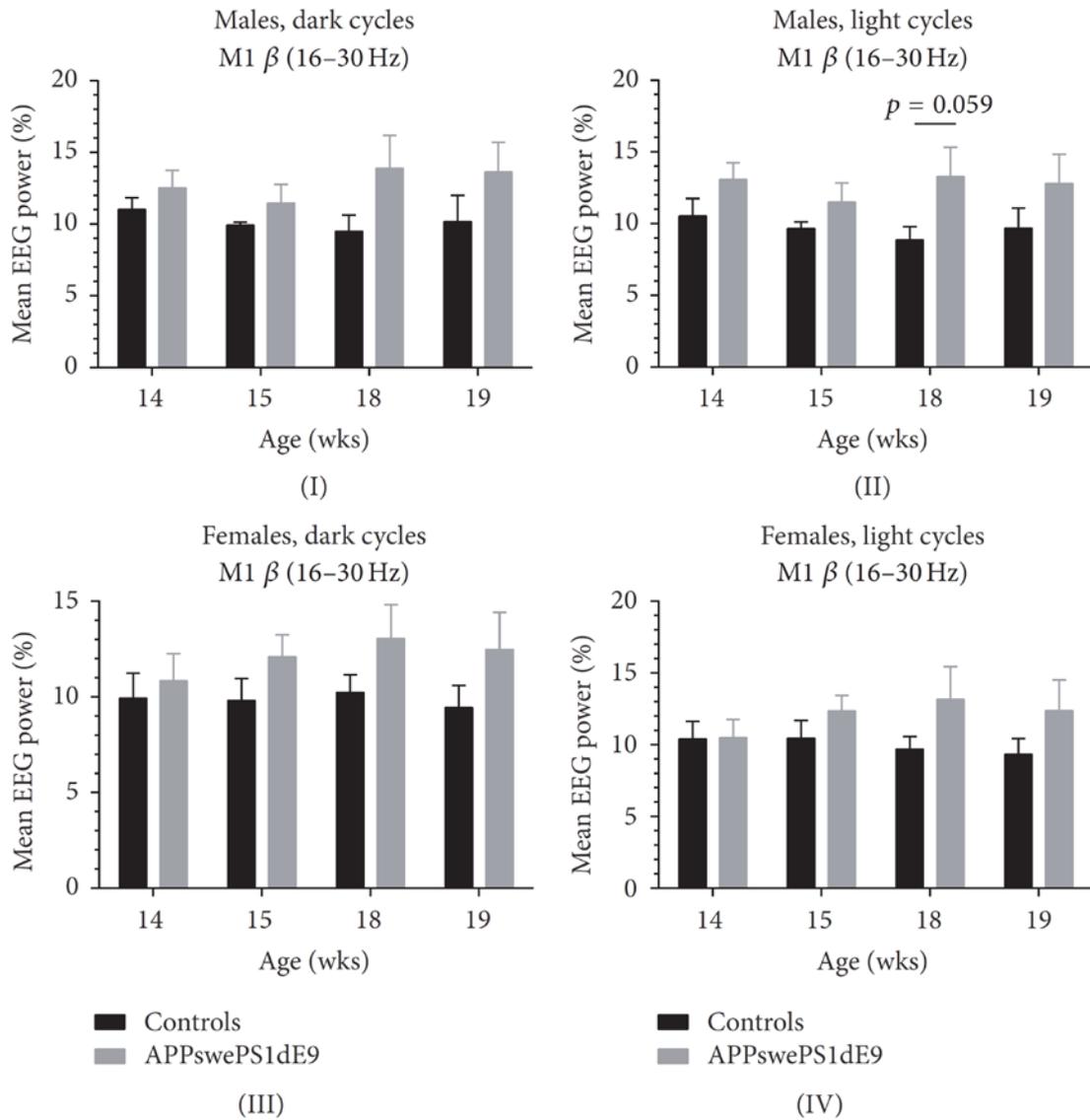
URL: [www.alzgene.org](http://www.alzgene.org)

Forschungszentrum Jülich

URL: <http://www.fz-juelich.de>

World Health Organization (WHO), Stand 04/2019

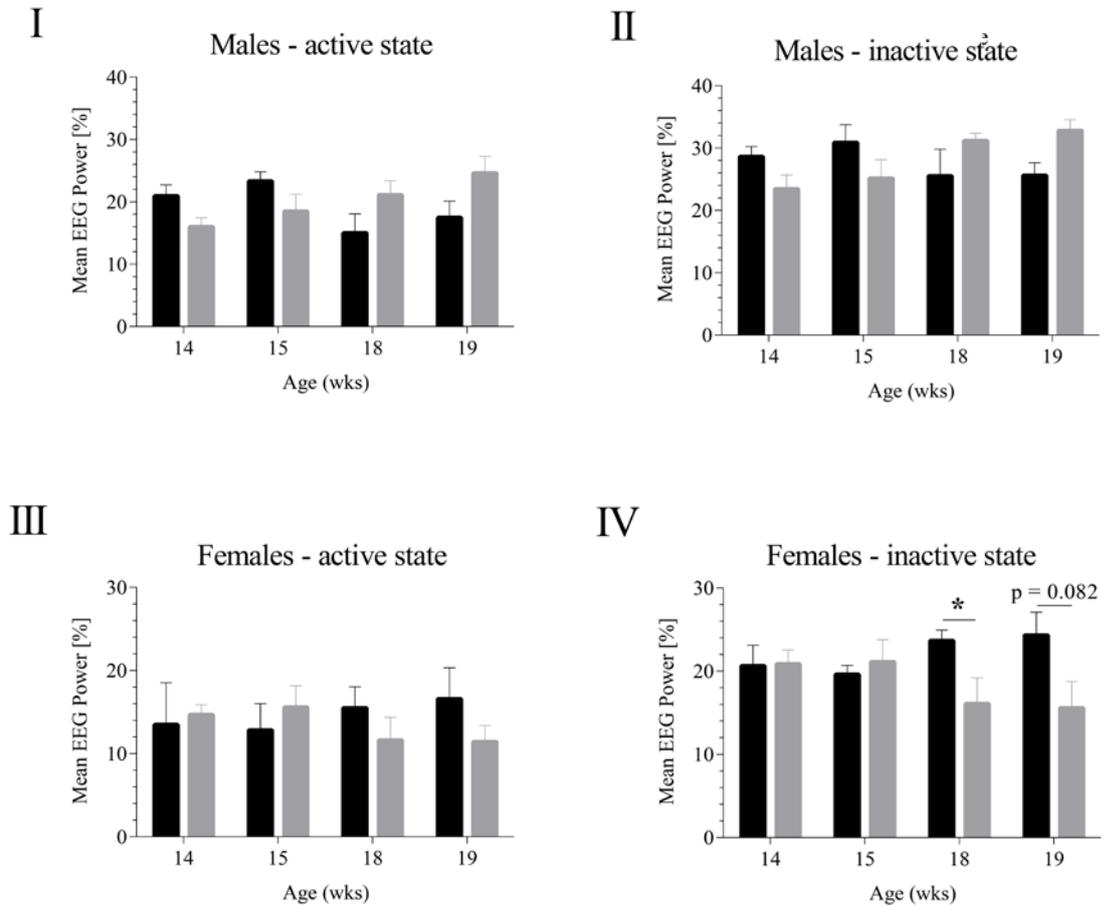
URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dementia>



**Abb. 32 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Beta- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen) und der zirkadianen Periode (D1+D2, L1+L2).

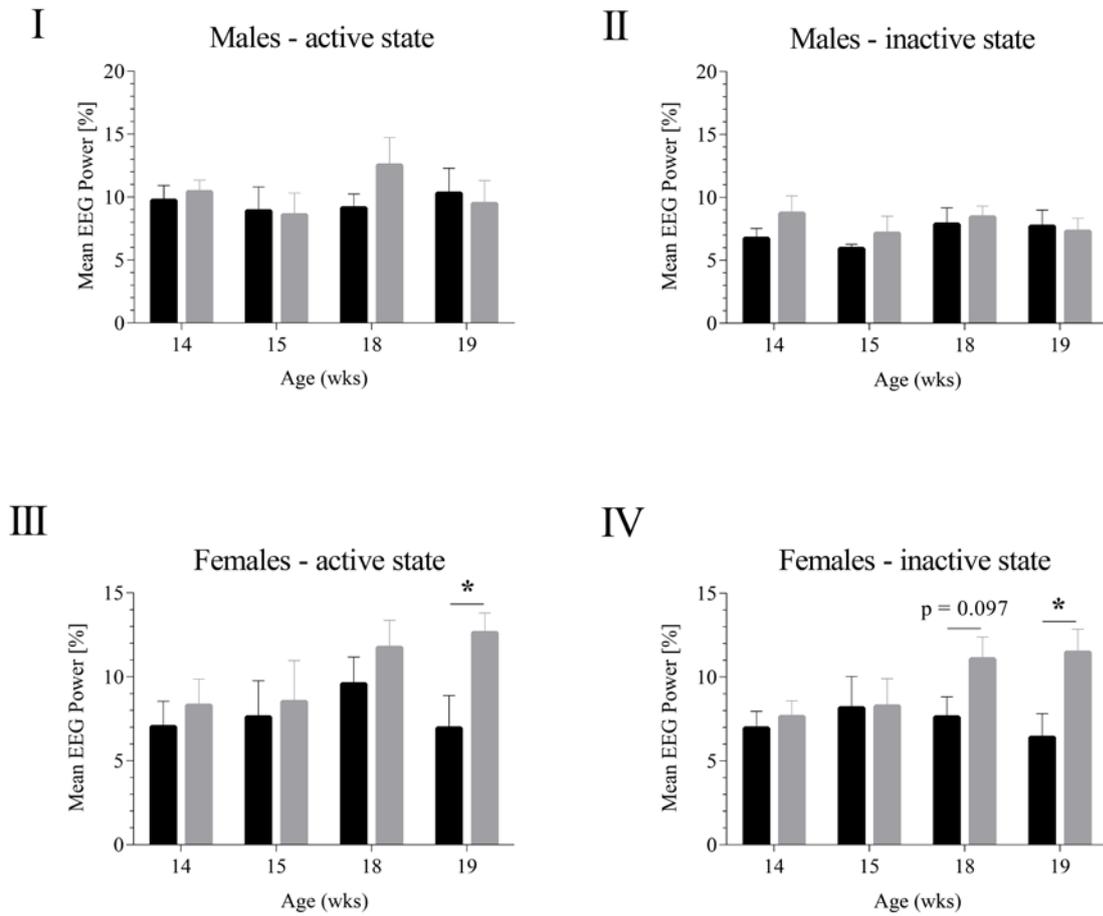
CA1  $\theta$  (4-8 Hz) - Dark cycle



**Abb. 33 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Theta- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

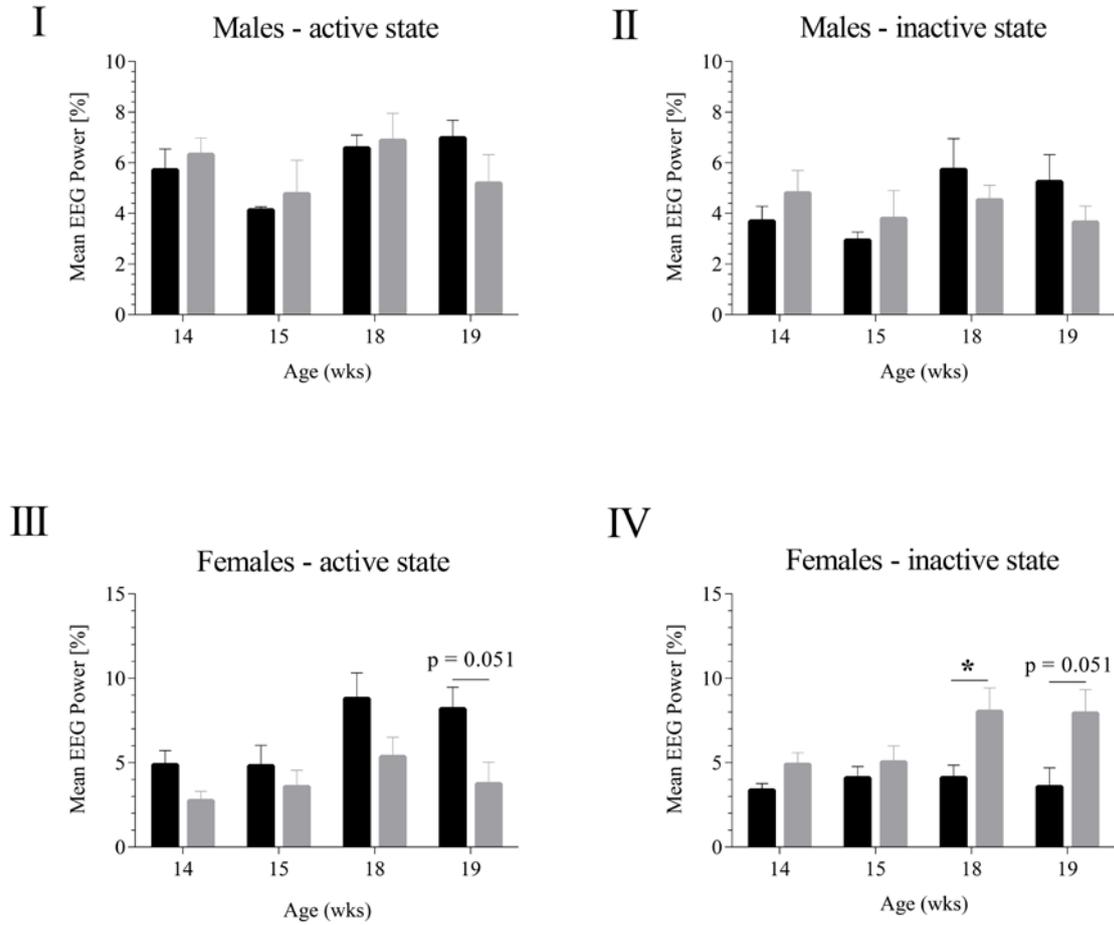
CA1  $\gamma$  (30-50 Hz) - Dark cycle



**Abb. 34 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Low- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

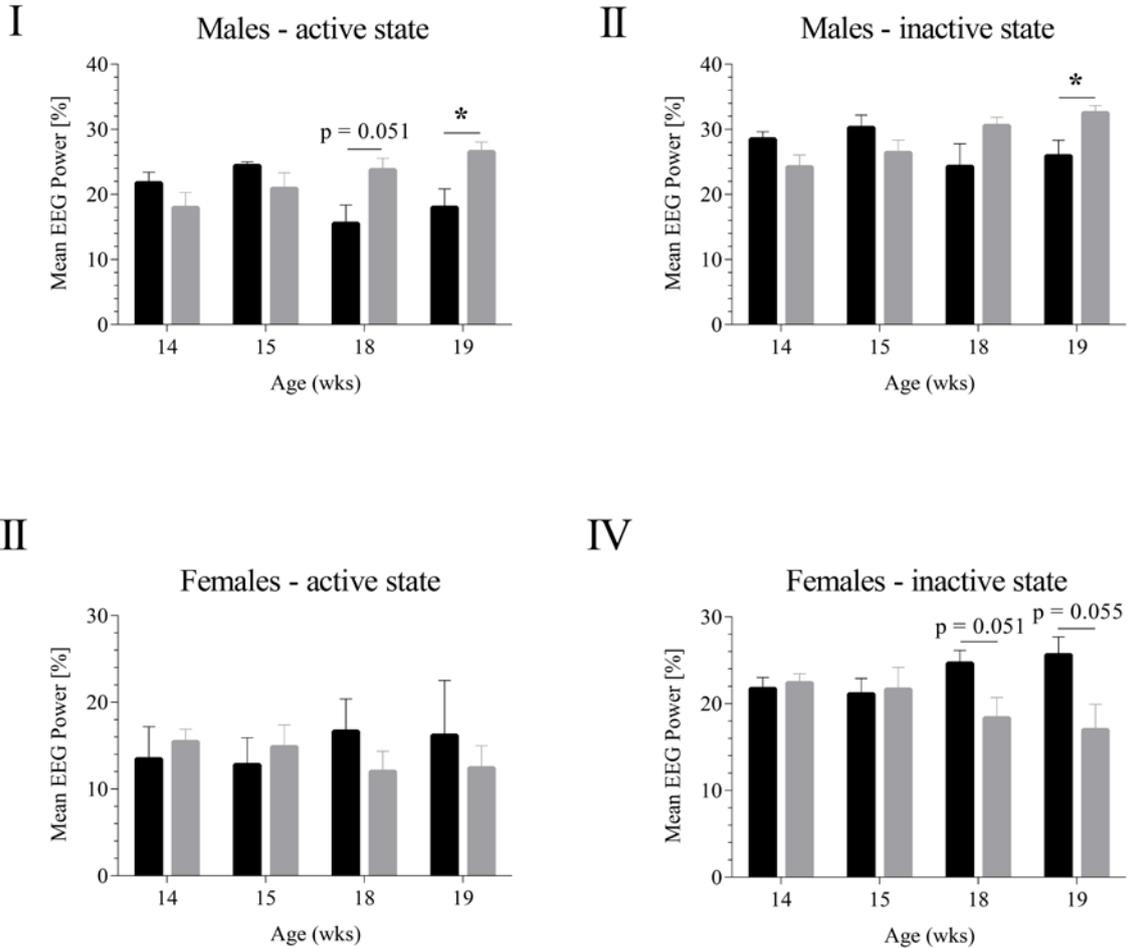
CA1  $\gamma$  (50-70 Hz) - Dark cycle



**Abb. 35 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Mid- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

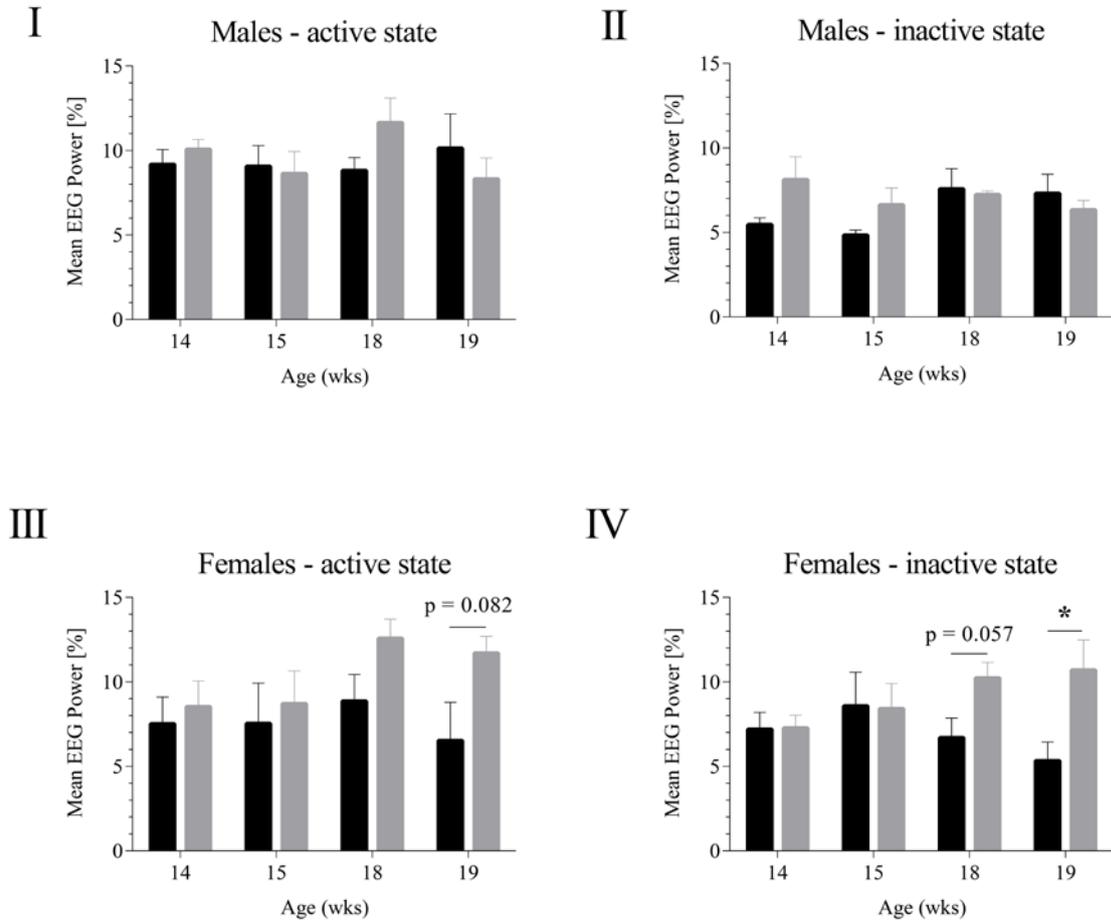
CA1  $\theta$  (4-8 Hz) - Light cycle



**Abb. 36 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Theta- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

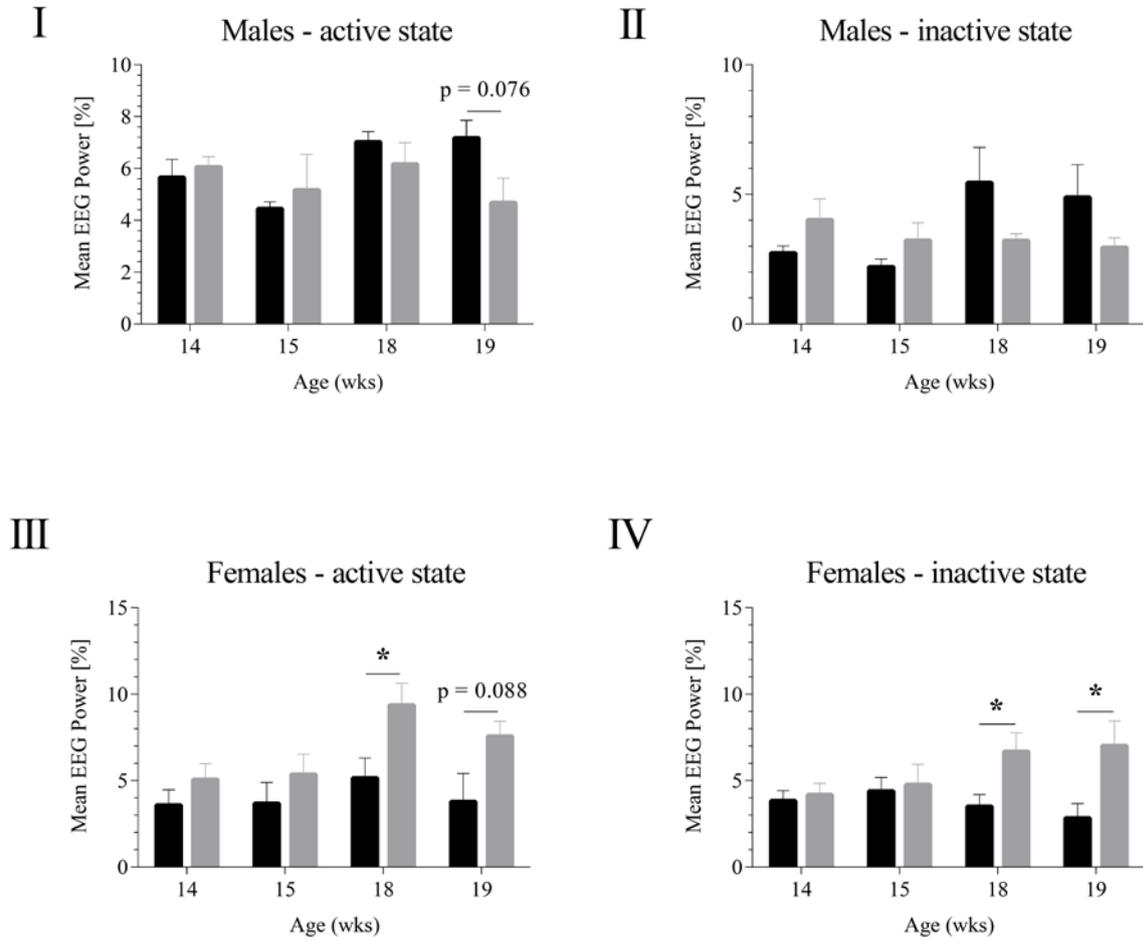
CA1  $\gamma$  (30-50 Hz) - Light cycle



**Abb. 37 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Low- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

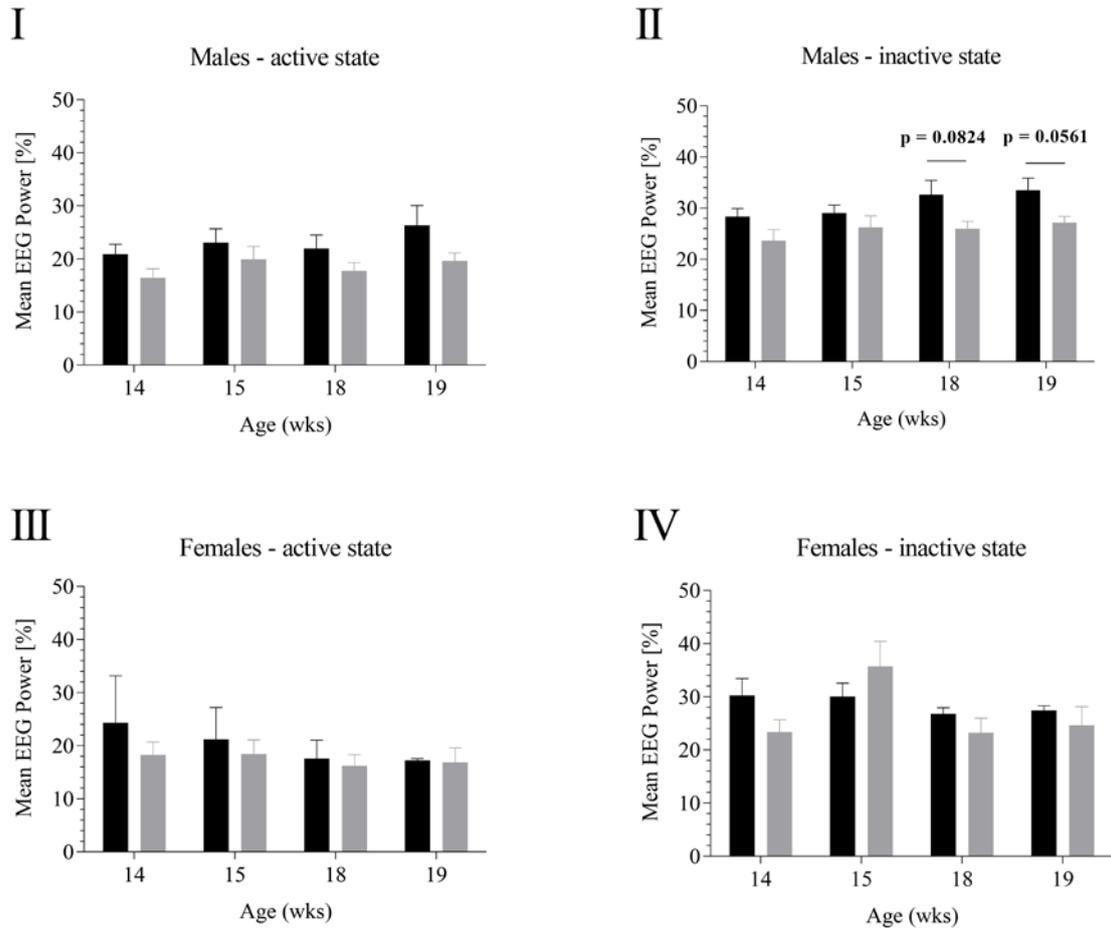
CA1  $\gamma$  (50-70 Hz) - Light cycle



**Abb. 38 Frequenz- Analyse der CA1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Mid- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

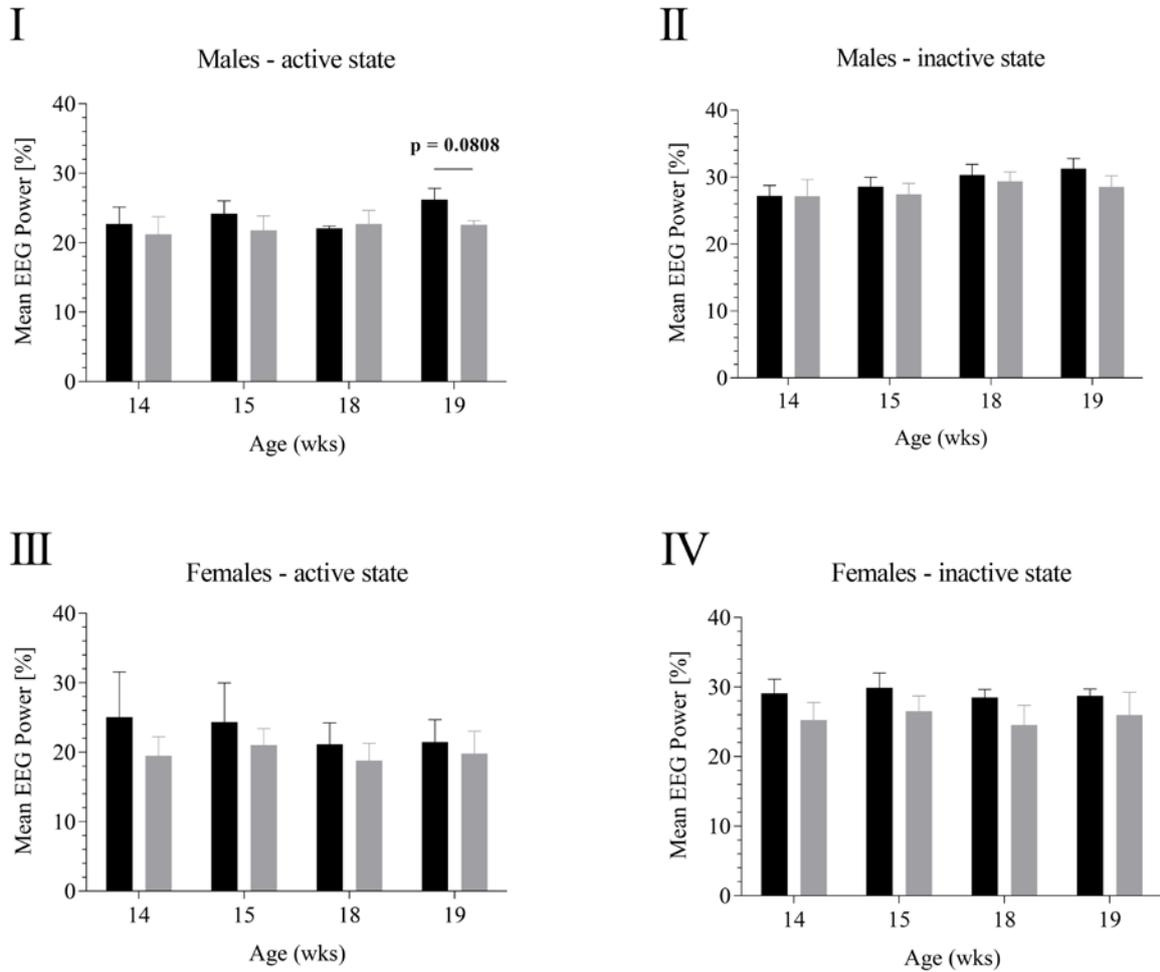
## M1 $\theta$ (4-8 Hz) - Dark cycle



**Abb. 39 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Theta- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

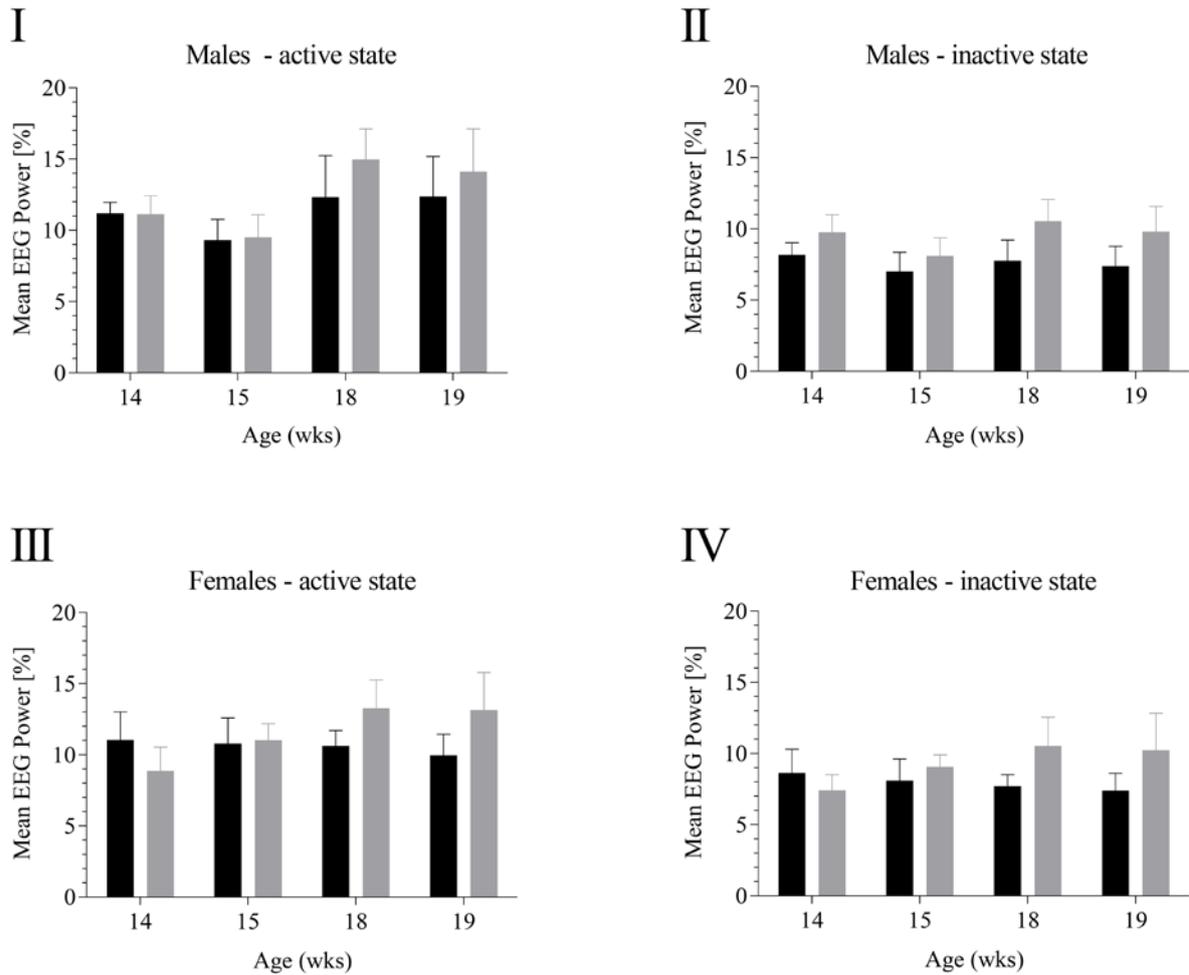
## M1 $\theta$ (4-8 Hz) - Light cycle



**Abb. 40 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Theta- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

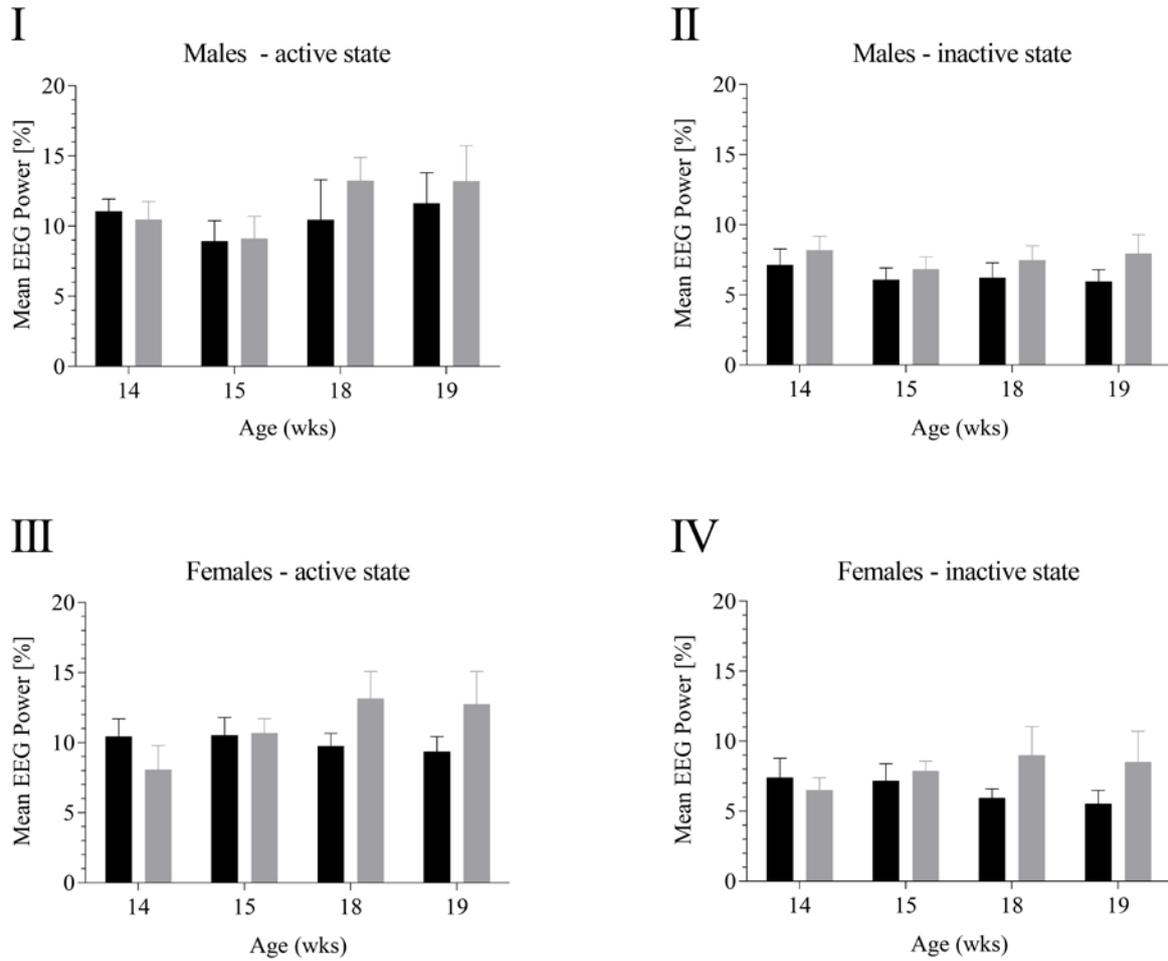
## M1 $\gamma$ (30-50 Hz) - Dark cycle



**Abb. 41 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

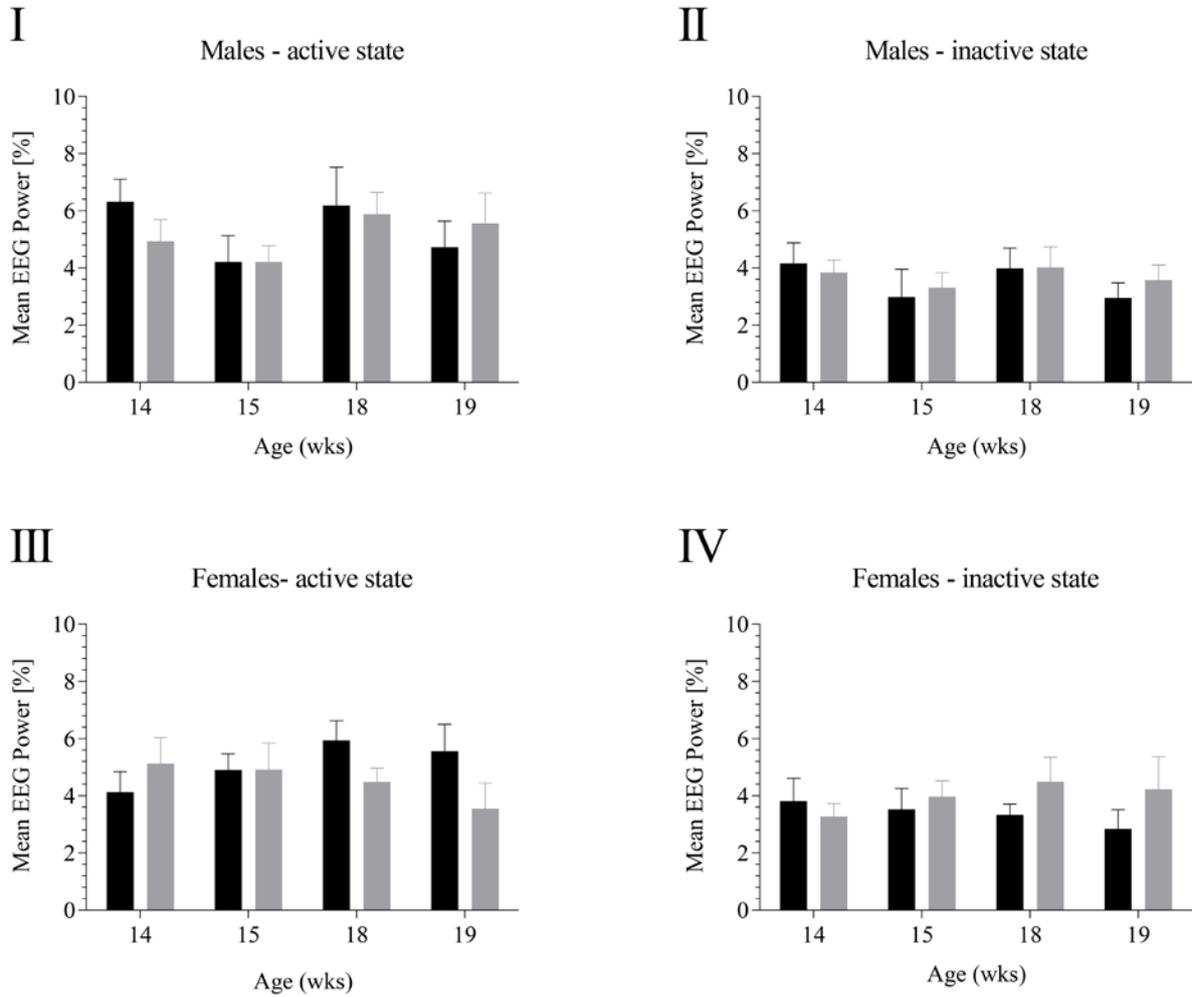
Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- low- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

## M1 $\gamma$ (30-50 Hz) - Light cycle



**Abb. 42 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPSwePS1dE9 Mäuse.**

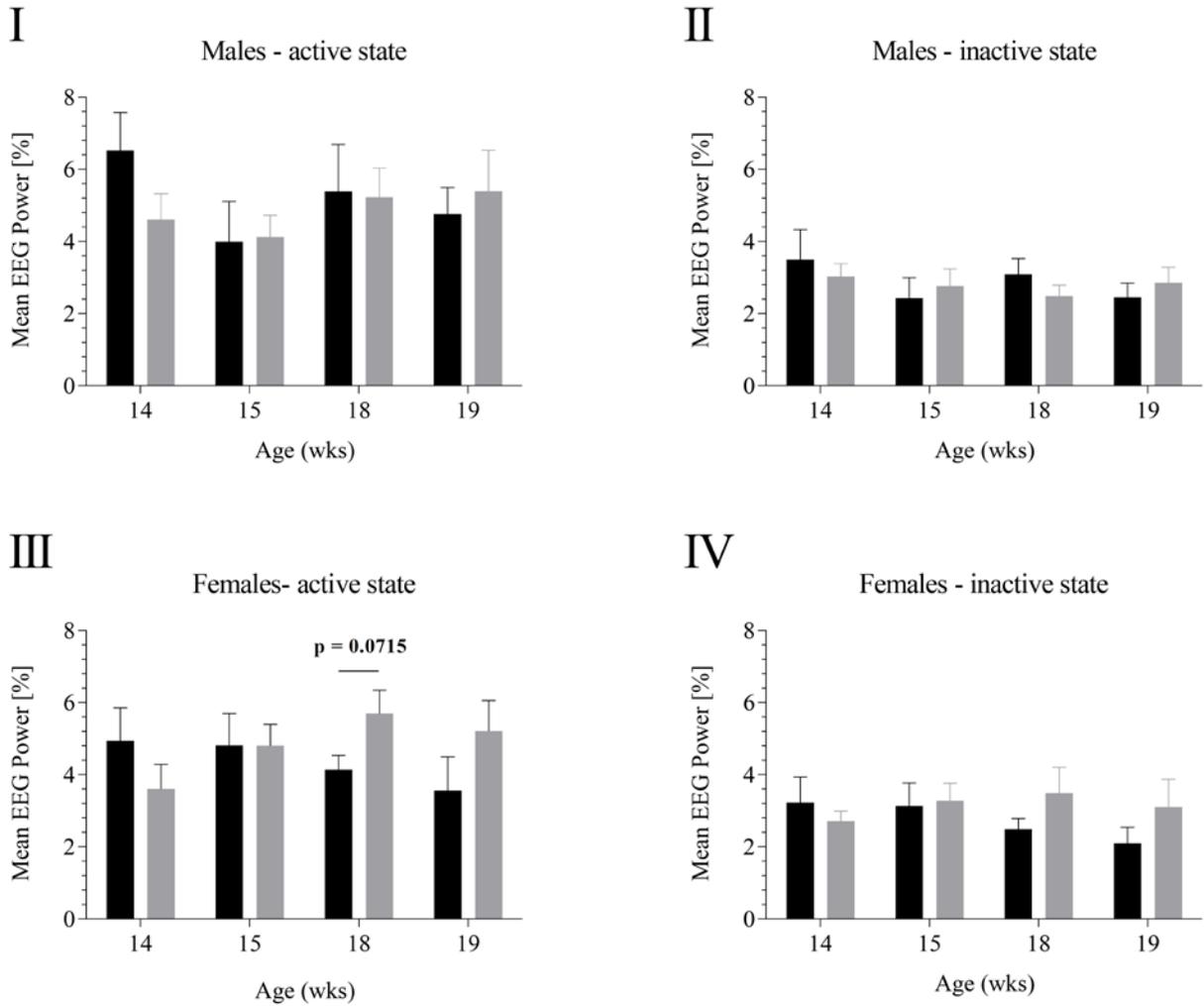
Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- low- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

M1  $\gamma$  (50-70 Hz) - Dark cycle

**Abb. 43 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Mid- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

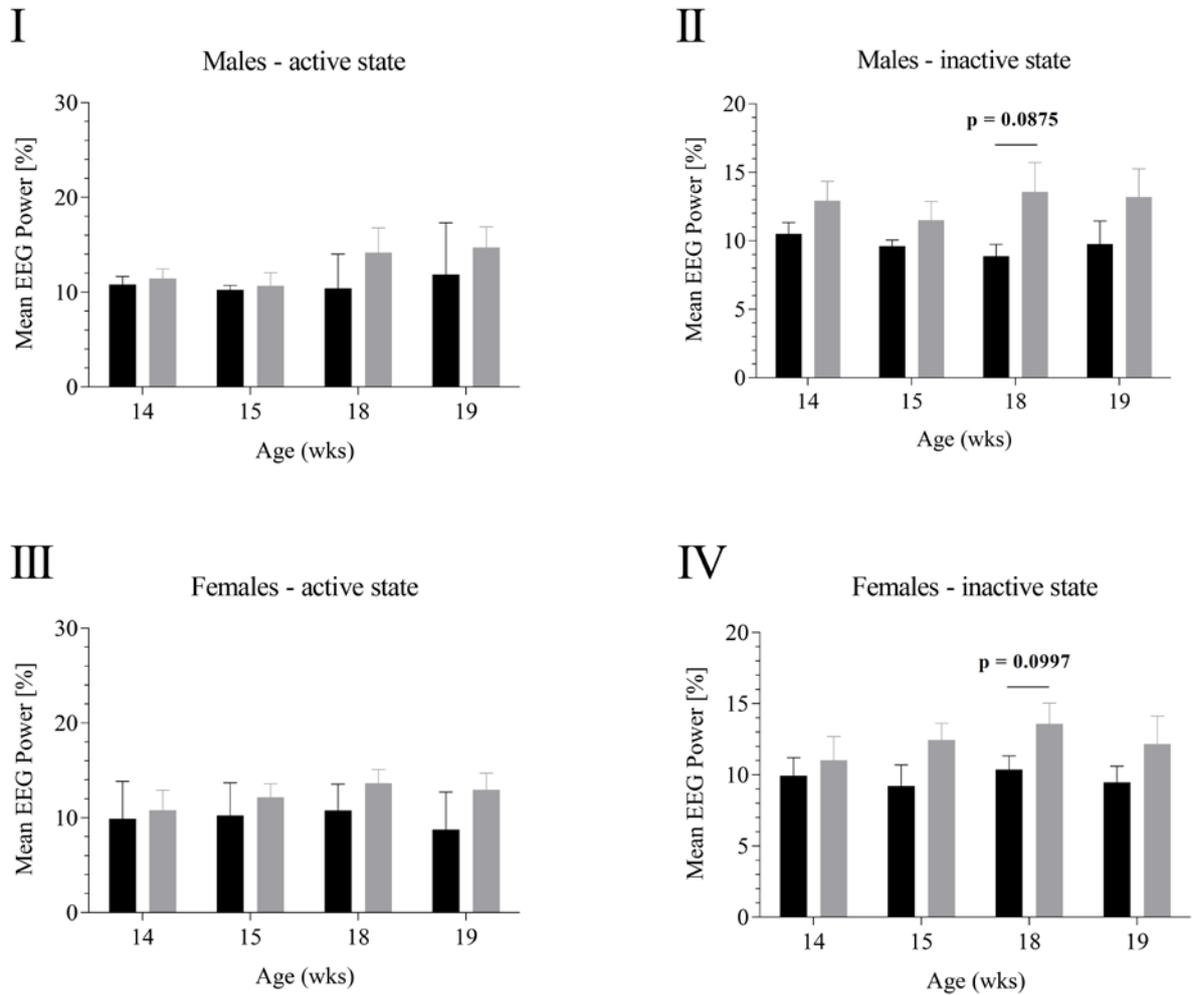
## M1 $\gamma$ (50-70 Hz) - Light cycle



**Abb. 44 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Mid- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

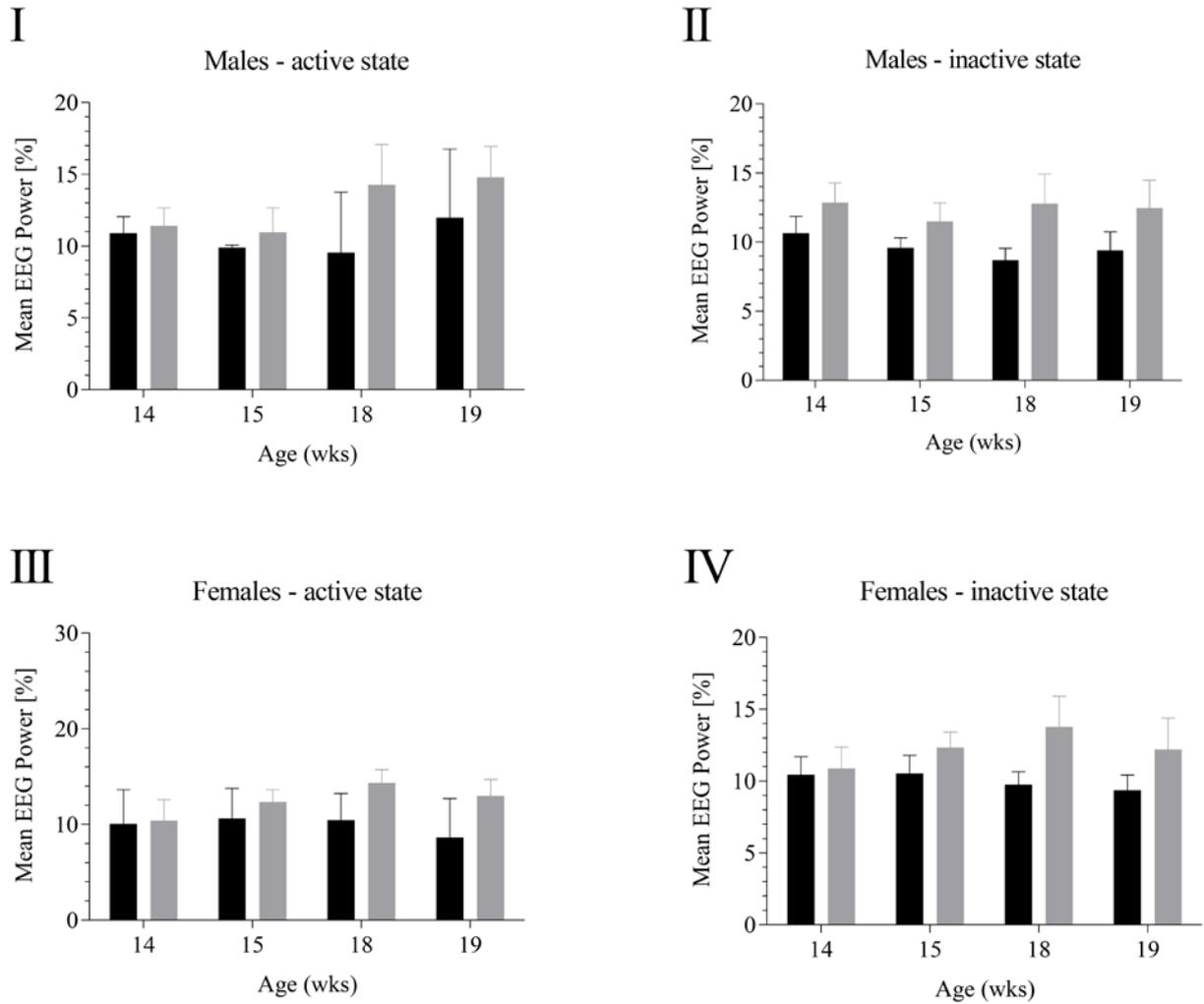
## M1 $\beta$ (16-30 Hz) - Dark cycle



**Abb. 45 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Mid- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (D1+D2).

## M1 $\beta$ (16-30 Hz) - Light cycle



**Abb. 46 Frequenz- Analyse der M1-Region männlicher und weiblicher Kontroll- und APPswePS1dE9 Mäuse.**

Tiere beider Gruppen wurden aufgrund ihres Gamma- Mid- Frequenzbandes (in Prozent) analysiert mit Fokus auf deren Alter (14, 15, 18 und 19 Wochen), deren Aktivitätsstatus und der zirkadianen Periode (L1+L2).

## **7. Erklärung**

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit - einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen - , die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie – abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen – noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen der Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von PD Dr. Dr. Marco Weiergräber und Prof. Dr. Ansgar Büschges betreut worden.

Köln, den 08.04.2019

---

Julien Soós

## 8. Teilpublikationen

### **Gender-Specific Hippocampal Dysrhythmia and Aberrant Hippocampal and Cortical Excitability in the APPswePS1dE9 Model of Alzheimer's Disease.**

Papazoglou A\*, Soos J\*, Lundt A, Wormuth C, Ginde VR, Müller R, Henseler C, Broich K, Xie K, Ehninger D, Haenisch B, Weiergräber M.

*Neural Plast.* 2016;2016:7167358. Epub 2016 Oct 20.

\*shared first authorship

### **Non-restraining EEG Radiotelemetry: Epidural and Deep Intracerebral Stereotaxic EEG Electrode Placement.**

Papazoglou A, Lundt A, Wormuth C, Ehninger D, Henseler C, Soós J, Broich K, Weiergräber M.

*J Vis Exp.* 2016 Jun 25;(112). doi: 10.3791/54216.

\*co-authorship

### **Motor Cortex Theta and Gamma Architecture in Young Adult APPswePS1dE9 Alzheimer Mice.**

Papazoglou A\*, Soos J\*, Lundt A, Wormuth C, Ginde VR, Müller R, Henseler C, Broich K, Xie K, Haenisch B, Ehninger D, Weiergräber M.

*PLoS One.* 2017 Jan 10;12(1):e0169654. doi: 10.1371/journal.pone.0169654. eCollection 2017

\*shared first authorship

### **Automatic Detection of Highly Organized Theta Oscillations in the Murine EEG.**

Müller R, Papazoglou A, Soos J, Lundt A, Wormuth C, Henseler C, Ehninger D, Broich K, Weiergräber M.

*J Vis Exp.* 2017 Mar 10;(121). doi: 10.3791/55089.

\*co-authorship

### **Gender specific hippocampal whole genome transcriptome data from mice lacking the Ca<sub>v</sub>2.3 R-type or Ca<sub>v</sub>3.2 T-type voltage-gated calcium channel.**

Papazoglou A, Henseler C, Lundt A, Wormuth C, Soos J, Broich K, Ehninger D, Weiergräber M.

*Data Brief.* 2017 Mar 25;12:81-86. doi: 10.1016/j.dib.2017.03.031. eCollection 2017 Jun.

\*co-authorship

**Gender specific click and tone burst evoked ABR datasets from mice lacking the Ca<sub>v</sub>2.3 R-type voltage-gated calcium channel.**

Lundt A, Henseler C, Wormuth C, **Soos J**, Seidel R, Müller R, Arshaad MI, Broich K, Hescheler J, Sachinidis A, Ehninger D, Papazoglou A, Weiergräber M.

*Data Brief.* 2018 Oct 24;21:1263-1266. doi: 10.1016/j.dib.2018.10.056. eCollection 2018 Dec.

\*co-authorship

**Gender specific click and tone burst evoked ABR datasets from mice lacking the Ca<sub>v</sub>3.2 T-type voltage-gated calcium channel.**

Lundt A, Henseler C, Wormuth C, **Soos J**, Seidel R, Müller R, Arshaad MI, Broich K, Hescheler J, Sachinidis A, Ehninger D, Papazoglou A, Weiergräber M.

*BMC Res Notes.* 2019 Mar 20;12(1):157. doi: 10.1186/s13104-019-4169-4.

\*co-authorship

In Revision bzw. vor der Veröffentlichung befindliche Publikationen

**Data Acquisition and Analysis in Brainstem Evoked Response Audiometry in Mice**

Andreas Lundt, **Julien Soos**, Christina Henseler, Muhammad Imran Arshaad, Ralf Müller, Dan Ehninger, Jürgen Hescheler, Agapios Sachinidis, Karl Broich, Carola Wormuth, Anna Papazoglou, Marco Weiergräber

**Functional Implications of Cav2.3 R-Type Voltage-Gated Calcium Channels in the Auditory System - Novel Vistas from Brainstem-Evoked Response Audiometry –**

Andreas Lundt, **Julien Soós**, Robin Seidel, Christina Henseler, Ralf Müller, Varun Raj Ginde, Imran Muhammed Arshaad, Dan Ehninger, Jürgen Hescheler, Agapios Sachinidis, Karl Broich, Carola Wormuth, Anna Papazoglou, Marco Weiergräber

**Cav3.2 T-Type Calcium Channels Are Physiologically Mandatory For The Auditory System**

Andreas Lundt, Robin Seidel, **Julien Soós**, Christina Henseler, Ralf Müller, Maheshwar Bakki, Muhammad Imran Arshaad, Dan Ehninger, Jürgen Hescheler, Agapios Sachinidis, Karl Broich, Carola Wormuth, Anna Papazoglou, Marco Weiergräber

## 9. Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei meinen Betreuern PD Dr. Marco Weiergräber und Dr. Anna Papazoglou für die großartige Unterstützung während meiner letzten Jahre bedanken. Danke für die Möglichkeit die ihr mir gegeben habt, mich täglich weiterzuentwickeln, egal wie kompliziert es gerade war. Ohne Euch wäre es nicht möglich gewesen, diese Doktorarbeit zu schreiben.

Ein großer Dank gilt meinem Doktorvater, Professor Büschges und meinem Zweitgutachter Professor Nawrot, für die wissenschaftliche Betreuung und die fachliche Bewertung meiner Arbeit.

Weiterhin bedanke ich mich für eine mehr als angenehme Arbeitsatmosphäre bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe *AG Weiergräber*: Es war immer sehr lustig.

Großer Dank gilt auch meinen sich kurzfristig zur Verfügung gestellten Korrekturlesern Moritz Liebmann, Daniela Gornyk und Friederike Thome-Soós.

Mein besonderer Dank gilt ebenso meiner Frau Friederike und meinem Sohn Jonah für wunderschöne Nachmittage nach der Arbeit sowie meiner Familie und allen meinen Freunden, die mich unterstützt haben während dieser Jahre.