

Aus der:  
Neurologischen Klinik und Poliklinik  
Klinikum der Universität München – Campus Großhadern  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktorin: Professor Dr. med. Marianne Dieterich



## **Untersuchungen über die Effekte von Amyloid- $\beta$ und Alpha-Synuclein auf die Nervenzellfunktion bei der Alzheimer- und Parkinson-Krankheit.**

Kumulative Habilitationsschrift  
zur  
Erlangung der Venia legendi für das Fach  
Neurologie  
Vorgelegt der  
Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München  
von  
Dr. med. Thomas Köglspurger  
aus München

## Inhaltsverzeichnis

<b>A.</b>	<b>Untersuchungen über die Effekte von Amyloid<math>\beta</math>- und Alpha-Synuclein auf die Nervenzellfunktion bei der Alzheimer- und Parkinson-Krankheit.</b>	
A.1.	Einleitung .....	3
A.1.1.	Arten und Einteilung neurodegenerativer Erkrankungen .....	3
A.1.2.	M. Alzheimer .....	5
A.1.3.	M. Parkinson .....	7
A.2.	Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten .....	9
A.3.	Studienmethodik und -ergebnisse .....	10
A.3.1.	Untersuchung der Effekte von A $\beta$ auf synaptische und extrasynaptische Glutamat-Rezeptoren .....	10
A.3.2.	Untersuchung der Effekte von Enriched Environment (EE) auf die A $\beta$ -Pathologie .....	13
A.3.3.	Untersuchung der Effekte von BACE auf Kainat-Rezeptoren im Hippocampus .....	15
A.3.4.	Die Rolle des Fragile X Proteins FMRP bei der Parkinson-Erkrankung .....	17
A.3.5.	Extrazelluläre Vesikel als Mediatoren der Krankheitsprogression bei der Parkinson- und Alzheimer-Krankheit .....	20
A.3.6.	Expression von miRNAs als Biomarker der Parkinson-Krankheit .....	25
A.4.	Zusammenfassung und Ausblick .....	28
A.5.	Abbildungsverzeichnis .....	29
A.6.	Literaturverzeichnis .....	29
A.7.	Verzeichnis der eigenen Veröffentlichungen .....	40
<b>B.</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>41</b>

## **A.1. Einleitung**

### **A.1.1. Arten und Einteilung neurodegenerativer Erkrankungen**

Neurodegenerative Erkrankungen sind durch den Untergang von Nervenzellen im zentralen oder peripheren Nervensystem charakterisiert. Während die Mehrzahl dieser Krankheiten sporadisch auftreten, zeigt sich bei einigen wenigen Varianten eine ausgeprägte erbliche Komponente [47]. Der wichtigste Risikofaktor für das Auftreten der meisten neurodegenerativen Erkrankungen ist das Alter [29]. Im vergangenen Jahrhundert hat die Wachstumsrate der Bevölkerung ab 65 Jahren in Industrieländern die der Gesamtbevölkerung weit übertroffen. Es ist daher zu erwarten, dass sich der Anteil älterer Menschen in den nächsten Generationen vervielfachen wird, und damit auch der Anteil von Patienten, die an einer neurodegenerativen Störung leiden. Die Prävention und Behandlung neurodegenerativer Syndrome stellt somit eine bedeutsame Herausforderung für die medizinische Versorgung der nächsten Jahrzehnte dar.

Häufig beginnen die pathologischen Veränderungen neurodegenerativer Erkrankungen in unterschiedlichen Gehirnarealen und breiten sich im Krankheitsverlauf sequentiell auf weitere anatomische Regionen aus. Der fortschreitende Verlust von Nervenzellen führt dabei zu verschiedenen neurologischen und psychiatrischen Beschwerden. Je nach Art der zugrundeliegenden Erkrankung und der Hauptlokalisation des Zellunterganges können dabei unterschiedliche Symptome im Vordergrund stehen. Patienten mit der Alzheimer-Krankheit zeigen durch die Beteiligung mnestic relevanter Gehirnareale im Temporallappen z.B. bereits frühzeitig Störungen der Merkfähigkeit und des Kurzzeitgedächtnisses [77]. Bei der Parkinson-Erkrankung hingegen stehen Störungen der Motorik im Vordergrund,

die aus dem fortschreitenden Verlust von Dopamin-produzierenden Nervenzellen im Mittelhirn resultieren [52, 53].

Die Ursache der meisten neurodegenerativen Erkrankungen ist bislang nicht eindeutig geklärt. Auf zellulärer Ebene wurden in der Vergangenheit eine Vielzahl von Mechanismen identifizieren, die in den meisten neurodegenerativen Erkrankungen zu Zellschädigungen beitragen. Dazu zählt z.B. die Generation von oxidativem Stress und die Mitochondrien-Dysfunktion sowie unterschiedliche inflammatorische Faktoren [50]. Bei einer Vielzahl neurodegenerativer Erkrankungen spielt zudem die Aggregation fehlgefalteter Proteine eine bedeutsame Rolle, weshalb diese Erkrankungen als Proteinopathien bezeichnet werden [24]. Analog werden neurodegenerative Erkrankungen häufig nach dem Vorherrschen krankheitsspezifischer pathogener Proteine eingeteilt [80] (**Tab. 1**), wobei für einige Erkrankungstypen mehrere Proteine ursächlich beitragen. Beispielsweise kommt es bei der Alzheimer-Erkrankung zu einer Akkumulation von extrazellulärem Amyloid- $\beta$ , während intraneuronal Aggregate des Proteins Tau (sog. microtubule-associated protein tau, MAPT) auftreten.

ÄTIOLOGIE	BEISPIELE
TAUOPATHIEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Morbus Alzheimer (AD)</li> <li>• Progressive supranukleäre Blickparese (PSP)</li> <li>• Kortikobasale Degeneration (CBD)</li> <li>• Silberkornkrankheit (AGD)</li> <li>• Frontotemporale Demenz und Parkinsonismus des Chromosoms 17 (FTDP-17)</li> <li>• Morbus Pick</li> </ul>
SYNUCLEINOPATHIEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Morbus Parkinson (PD)</li> <li>• Demenz mit Lewy-Körperchen (LBD)</li> <li>• Multiple Systematrophie (MSA)</li> </ul>
TDP-43 PROTEINOPATHIEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frontotemporallappen-Degeneration mit TDP-43 (FTLD-TDP)</li> </ul>
FUSOPATHIEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frontotemporale Lobärdegeneration mit FUS (FTLD-FUS)</li> <li>• Neuronal intermediate filament inclusion disease (NIFID)</li> <li>• Basophilic inclusion body disease (BIBD)</li> </ul>
TRINUCLEOTID- ERKRANKUNGEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chorea Huntington (HD)</li> <li>• Spinobulbäre Muskelatrophie Typ Kennedy (SBMA)</li> <li>• Friedreich-Ataxie</li> </ul>

PRIONEN- ERKRANKUNGEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Spinozerebelläre Ataxie (SCA)</li> <li>• Dentatorubropallidoluysische Atrophie (DRPLA)</li> <li>• Creutzfeldt-Jakob-Krankheit</li> <li>• Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom</li> <li>• Tödliche familiäre Schlaflosigkeit</li> <li>• Kuru</li> </ul>
MOTONEURON- ERKRANKUNGEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amyotrophe Lateralsklerose (ALS)</li> <li>• Primäre Lateralsklerose</li> <li>• Spinale Muskelatrophie (SMA)</li> </ul>
NEUROAXONALE DYSTROPHIEN	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Infantile Neuroaxonale Dystrophie (Seitelberger-Krankheit)</li> <li>• Neurodegeneration mit Eisenablagerung im Gehirn (NBIA)</li> </ul>
UNKLASSIFIZIERT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CANVAS (Cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome)</li> <li>• Familiäre Enzephalopathie mit Neuroserpin-Einschlüssen</li> <li>• Frontotemporallappen-Degeneration mit Ubiquitin-Proteasom-System (FTLD-UPS)</li> <li>• Gluten-Ataxie</li> <li>• Mohr-Tranebjaerg-Syndrom</li> </ul>

**Tab. 1.: Pathogenetische Einteilung neurodegenerativer Syndrome**

### **A.1.2. Alzheimer**

Die Alzheimer-Krankheit (Morbus Alzheimer, engl. Alzheimer's disease, AD) ist eine neurodegenerative Erkrankung, die in ihrer häufigsten Form bei Personen über dem 65. Lebensjahr auftritt und die durch eine zunehmende kortikale Demenz gekennzeichnet ist [77]. Sie ist für ungefähr 60 Prozent der weltweit etwa 24 Millionen Demenzerkrankungen verantwortlich [34]. Charakteristisch beim M. Alzheimer ist eine zunehmende Verschlechterung der kognitiven, insbesondere der mnestischen Leistungsfähigkeit, einhergehend mit einer Abnahme der Fähigkeit, die Aktivitäten des täglichen Lebens zu gestalten. Bereits viele Jahre vor dem Auftreten klinischer Symptome, bilden sich im Gehirn von Betroffenen sog. Plaques, die aus fehlerhaft gefalteten Beta-Amyloid-(A $\beta$ -)Peptiden bestehen. Zusammen mit den Plaques sind die aus dem Protein Tau bestehende Neurofibrillen („Tangles“) kennzeichnend für die Erkrankung [39]. Beide Mechanismen tragen neben inflammatorischen [54] und anderer Veränderungen zu einer neuronalen Funktionsstörung im Gehirn von

Alzheimer-Patienten bei [108]. Die Alzheimer-Krankheit ist durch den Verlust von Neuronen und Synapsen in der Großhirnrinde und bestimmten subkortikalen Regionen gekennzeichnet. Dieser Verlust führt zu einer starken Atrophie der betroffenen Regionen, einschließlich einer Degeneration des Temporallappens und des Parietallappens sowie von Teilen des Frontalcortex und des cingulären Gyrus [125]. Neuronale Degeneration ist auch in Hirnstammkernen vorhanden, insbesondere im Locus coeruleus (LC) [15]. Auf genetischer Ebene wurde eine Variante im ApoE-Gen identifiziert (APOE $\epsilon$ 4), die einen Risikofaktor für die Entwicklung einer Alzheimer-Erkrankung darstellt. Darüber hinaus wurden kausale Mutationen in drei verschiedenen Genen gefunden (*PSNE1* und *PSEN2* und dem Amyloid-Precursor-Protein (APP)), die als Auslöser der seltenen früh auftretenden Unterform gelten [76]. A $\beta$  ist ein Fragment des größeren A $\beta$ -Vorläuferproteins (engl. amyloid precursor protein, APP), eines Transmembranproteins. Physiologisch ist APP wichtig für das Wachstum, das Überleben und die Reparatur von Zellschäden [98]. Bei der Alzheimer-Krankheit bewirken die Enzyme  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase, dass APP in kleinere Fragmente aufgeteilt wird, die sich außerhalb von Neuronen ablagern können. Die Veränderungen in allen drei Genen ( $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase, APP) führen dazu, dass sich früher als bei der nicht erblichen, sporadischen Form große Mengen von A $\beta$  zunächst im Assoziationscortex und im Hippocampus und später im gesamten Gehirn anhäufen. Passend für diese Gen-Dosis-Beziehung ist der Befund, dass Menschen mit Trisomie 21 (Down-Syndrom), die eine zusätzliche Genkopie des Chromosomes 21 aufweisen, auf dem sich auch APP befindet, häufig und frühzeitig an AD erkranken [78]. Wie genau es bei AD zu einer Störung bzw. zu einem Untergang von Neuronen kommt ist nur in Ansätzen verstanden. Besonders die Konzentration von löslichen, sog. oligomeren A $\beta$ -Molekülen korreliert stark mit der Krankheitsprogression und der Ausprägung der Symptome [83]. Diese A $\beta$ -Peptide blockieren u.a. die synaptische

Plastizität im Hippocampus, die als ein Korrelat von Lernen und Gedächtnis angesehen wird [70, 72, 110], z.B. durch Modulation von Glutamat-Rezeptoren (GluRs) [22, 116]. Entsprechend der angenommenen Bedeutung von A $\beta$  zielen viele gegenwärtig durchgeführte klinische Studien auf die Hemmung der A $\beta$ -Produktion bzw. dessen Entfernung ab [30, 86, 91, 109].

### **A.1.3. M. Parkinson**

Die Parkinson-Erkrankung (Morbus Parkinson, *engl.* Parkinson's disease, PD) ist die häufigste neurodegenerative Bewegungsstörung und ist gekennzeichnet durch eine fortschreitende Verlangsamung der Bewegungen (Bradykinesie), Muskelsteifigkeit (Rigor), Muskelzittern (Tremor) und posturale Instabilität [8]. Diese Symptome resultieren aus dem fortschreitenden Verlust von Nervenzellen in der Substantia nigra pars compacta (SNc), die den Botenstoff Dopamin (DA) produzieren [48]. Ein wichtiges neuropathologisches Merkmal der Parkinson-Erkrankung ist das graduelle Auftreten von intraneuronalen Proteinaggregaten die, nach ihrem Entdecker, Lewy-Körperchen (*engl.* Lewy bodies, LBs) genannt werden [28]. Ein Hauptbestandteil dieser Aggregate ist das Protein Alpha-Synuclein ( $\alpha$ -Syn), das durch das Gen *SNCA* (4q22.1) kodiert wird [117]. Gen-Multiplikationen und Missense-Mutationen im *SNCA* Gen führen zu familiären Formen der Parkinson-Krankheit [21, 62, 97, 114]. Zudem sind Genpolymorphismen im *SNCA* Gen (sog. single nucleotide polymorphisms) mit der sporadischen Form der Parkinson-Krankheit assoziiert [84, 85, 113], was die pathophysiologische Bedeutung von  $\alpha$ -Syn bei M. Parkinson zusätzlich unterstreicht. Obwohl die exakten Mechanismen des  $\alpha$ -Syn-vermittelten Zellunterganges nicht bekannt sind, legen neuere Forschungsarbeiten Zelltyp-spezifische Faktoren, wie etwa Veränderungen der zellulären Calciumhomöostase [20, 118] und der neuronalen Erregbarkeit [19, 74, 75, 81, 94] nahe, die oxidativem Stress verursachen und den

Verlust von DA-Neuronen bedingen [12, 90]. Die Untersuchung der molekularen Faktoren, die die neuronale Erregbarkeit in DA-Neuronen kontrolliert, trägt daher zum Verständnis des Zellunterganges bei M. Parkinson bei.

Postmortem-Studien haben gezeigt, dass das allmähliche Auftreten von LBs mit dem Fortschreiten der Erkrankung bei Parkinson korreliert [16]. Basierend auf dem sequentiellen Auftreten von LBs hat Braak et al. ein neuropathologisches Staging-Schema für die Parkinson-Krankheit entwickelt. Dieses geht von einem Beginn der Pathologie im Riechkolben und im kaudalen Hirnstamm aus mit einer Ausbreitung der Lewy-Pathologie (*engl.* Lewy body pathology, LBP) in die SNc, wo es zu einem Untergang DAerger Neurone kommt [6, 13, 52, 53]. LBs werden daher als Marker für das Fortschreiten von Krankheiten und das neuropathologische Korrelat von PD angesehen [9, 28, 112], da beim Fortschreiten Nervenzellen insbesondere in Hirnregionen mit LBP verloren gehen [43, 61, 120]. Braak unterscheidet 6 verschiedene Stadien, die ein Fortschreiten der LP vom dorsalen Motorkern des Vagusnervs (DMV) (Braak-Stadium 1) und des Locus coeruleus (LC) (Braak-Stadium 2) zur SNc und zur Amygdala (Braak-Stadium 3) widerspiegeln und letztendlich der Affektion kortikaler Regionen (Braak Stadium 4-6) [14]. Während frühe Stadien durch nicht-motorische Symptome gekennzeichnet sind, treten die typischen motorischen Symptome der Parkinson-Krankheit auf, sobald die SNc in den Braak-Stadien 3 betroffen ist. Kognitive Symptome treten erst auf, wenn die LBP den Kortex in den Braak-Stadien 5 und 6 erfasst. In Übereinstimmung mit dem von Braak vorgeschlagenen Modell treten LBs allmählich in definierten anatomischen Strukturen während des Fortschreitens der Krankheit auf [6, 28]. Analog zu einer Prion-artigen Ausbreitung von LBs zeigten transplantierte fetale DA-Neuronen nach Jahren proteinhaltige Einschlüsse, die LBs stark ähneln [57, 68], was als Transmission von LP von Empfänger-Neuronen auf das Transplantat interpretiert wurde. Bei Mäusen



breiten sich synthetische vorgeformte  $\alpha$ -Syn-Fibrillen vom Ort der stereotaktischen Injektion zu synaptisch damit verbundenen benachbarten Strukturen aus und erzeugen eine Lewy-ähnliche Pathologie [79, 92, 102]. In ähnlicher Weise können sich Proteine, die aus menschlichen LBP-Gehirnen extrahiert und in das Striatum von Affen injiziert wurden, retrograd ausbreiten [101]. Es gibt jedoch Fälle, in welchen die LBP ohne klinische PD-Symptome auftritt. Diese Fälle werden als inzidentelle LBD (iLBD) bezeichnet [51, 106]. iLBD tritt bei 10-15% der Menschen über 60 Jahre auf [11] und es wird angenommen, dass es sich um eine präklinische Form von PD handelt. Ob diese Fälle tatsächlich eine präklinische Parkinson-Krankheit darstellen, ist umstritten, da es keinen Beweis dafür gibt, dass diese Fälle definitiv zu einer Parkinson-Krankheit übergegangen wären, wenn diese Menschen länger überlebt hätten. Die Untersuchung aufeinanderfolgender Fälle in großen Fallserien und das Erkennen mehrerer mittlerer Grade der Beteiligung des Hirnstamms, der limbischen Strukturen und schließlich der Großhirnrinde deuteten jedoch auf iLBD als Vorstufe der PD hin. Die Untersuchung des iLBD-Gehirns bietet somit die einzigartige Möglichkeit die pathologischen Veränderungen zu untersuchen, die vor dem Auftreten von LBs auftreten. Die Untersuchung dieser Veränderungen hat wahrscheinlich eine hohe Relevanz für das Verständnis der Initiierung und des Fortschreitens der PD-Pathologie und wird daher die Entwicklung früh wirkender möglicherweise krankheitsmodifizierender Interventionen unterstützen.

## **A.2. Zielsetzung der habilitationsrelevanten Arbeiten**

Neurodegenerative Erkrankungen stellen in einer alternden Gesellschaft eine zunehmende Herausforderung für die medizinische Versorgung dar. Das Verständnis der Krankheitsursachen ist eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung neuartiger Therapieformen. Im Rahmen der hier zusammengefassten Arbeiten wurden

die Effekte Pathologie-assoziiertes Proteins auf die Nervenzellfunktion bei AD und PD untersucht. Dazu wurde eine Kombination aus biochemischen, zellbiologischen und elektrophysiologischen Methoden angewandt. Ein besonderer thematischer Schwerpunkt war dabei die Untersuchung früher pathogener Veränderungen, da deren vertieftes Verständnis neue therapeutische Strategien ermöglicht pathologische Veränderungen vor dem Auftreten irreversibler Zelltodereignisse zu beeinflussen bzw. aufzuhalten.

### **A.3. Studienmethodik und -Ergebnisse**

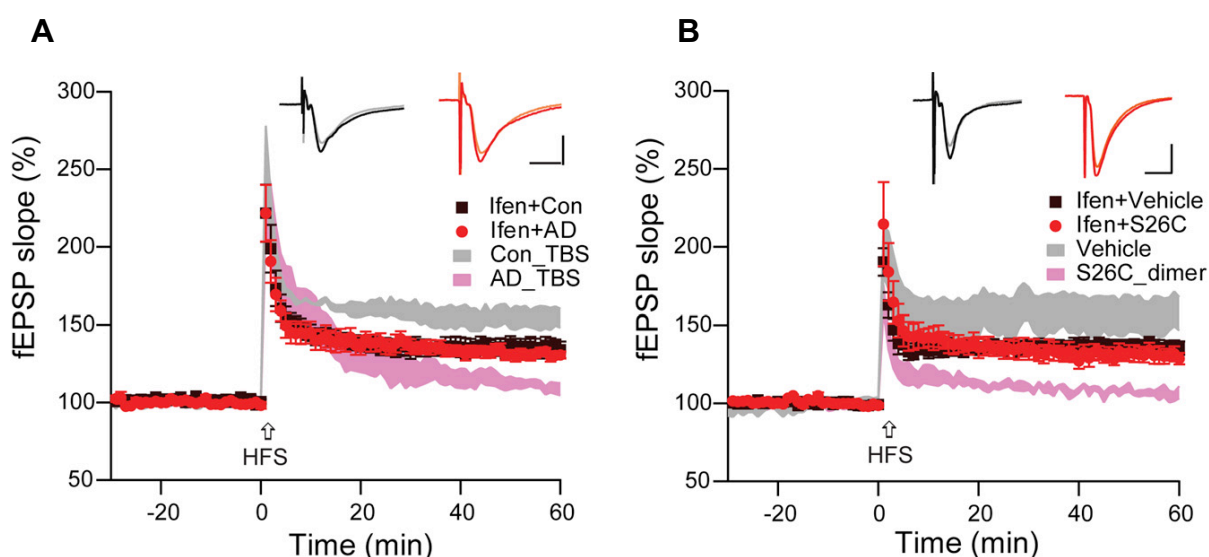
#### **A.3.1. Untersuchung der Effekte von A $\beta$ auf synaptische und extrasynaptische Glutamat-Rezeptoren.**

**Soluble A $\beta$  oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors.** Li S, Jin M, Köglspurger T, Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ (2011). The Journal of Neuroscience 31:6627–6638.

**Hintergrund:** Die Langzeit-Potenzierung (long term potentiation, LTP) ist eine langandauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung und gilt als wichtiges elektrophysiologisches Korrelat von Lernen und Gedächtnis. Eine Vielzahl von Studien legen nahe, dass LTP im Hippocampus durch A $\beta$ -Peptide gehemmt werden kann [70]. Die molekularen synaptischen Mechanismen, die für diesen Effekt verantwortlich sind, waren lange nicht geklärt.

**Methoden:** Mittels elektrophysiologischer Untersuchungen haben wir an Gehirnschnitten der Maus und im Zellkulturmodell die Wechselwirkung von A $\beta$ -Peptiden und spezifischen GluR-Subtypen untersucht [69].

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Es konnte gezeigt werden, dass der hemmende Effekt von A $\beta$  auf die LTP-Expression durch Zugabe von GluN2B-spezifischen NMDA-Rezeptor Antagonisten (Ifenprodil, Ro 25-6981) blockiert werden kann. Andererseits führte die Behandlung von Gehirnschnitten der Maus mit A $\beta$  zu einer Stimulation von GluN2B-vermittelten Ionenströmen, ähnlich wie der Glutamat-Wiederaufnahmehemmer DL-threo-beta-Benzyloxyaspartate (TBOA) (**Abb.1**).



**Abb 1.: Der GluN2B-spezifische GluR-Antagonist Ifenprodil schützt die Expression von LTP nach Behandlung von akuten Hirnschnitten mit A $\beta$ .** (A) Eluate von Hirngewebe von AD-Patienten (AD\_TBS) blockieren die LTP-Expression ebenso wie die Zugabe von synthetischen A $\beta$ -Dimeren (S26C\_Dimer), während sich (B) die LTP-Expression mit Ifenprodil (3 $\mu$ M) wieder normalisiert.

Wir schlussfolgerten, dass A $\beta$ -Peptide ihren hemmenden Effekt auf die LTP durch sogenannte extrasynaptische GluN2B-enhaltende GluRs vermitteln. Während synaptische GluRs LTP induzieren fördern extrasynaptische GluRs die Expression von (synaptischer) Langzeit-Depression (LTD) [82]. Synaptische und extrasynaptische NMDARs sind an unterschiedliche Signalkomplexe gebunden und vermitteln

divergente zelluläre Effekte [44]. Passend dazu fanden wir den Effekt von A $\beta$  durch die p38-MAP Kinase vermittelt, da p38-MAP Kinase-Hemmstoffe den Effekt von A $\beta$  auf die Expression von LTP hemmten.

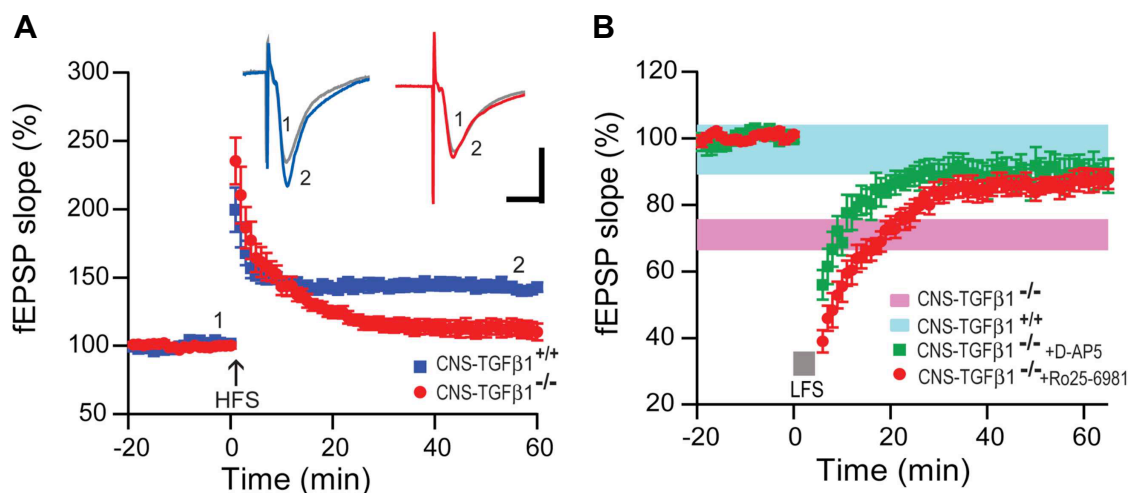
**Impaired glutamate recycling and GluN2B-mediated neuronal calcium overload in mice lacking TGF- $\beta$ 1 in the CNS.** Koeglsperger T, Li S, Brenneis C, Saulnier JL, Mayo L, Carrier Y, Selkoe DJ, Weiner HL (2013). *Glia* 61:985–1002.

**Hintergrund:** Extrasynaptische GluRs sind mutmaßlich für die Effekte von A $\beta$  auf die synaptische Plastizität relevant. Bis dato waren keine physiologischen Signale bekannt, die die Menge bzw. Funktion extrasynaptischer GluRs kontrollieren [44]. In weiterführenden Arbeiten untersuchten wir daher den Einfluss neurotropher Zytokine im ZNS auf extrasynaptische GluRs.

**Methoden:** Vorarbeiten legten einen Effekt des Zytokins Transforming Growth Factor beta (TGF- $\beta$ 1) nahe. Aufgrund der multiplen und insbesondere der immunmodulatorischen Effekte von TGF- $\beta$ 1 entwickelten wir zunächst ein geeignetes Mausmodell um die Effekte von TGF- $\beta$ 1 im ZNS studieren zu können. Dazu wurde durch genetische Manipulation eine ZNS-selektive Deletion von TGF- $\beta$ 1 erzeugt (CNS-TGF- $\beta$ 1<sup>-/-</sup>). Diese Tiere wurden dann mittels elektrophysiologischer und biochemischer Methoden untersucht. Zudem wurden primäre hippocampale Neurone der Versuchstiere mittels Calcium-Imaging untersucht.

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Ähnlich wie nach der Behandlung mit A $\beta$ -Peptiden zeigten CNS-TGF- $\beta$ 1<sup>-/-</sup> Tiere eine verstärkte, GluN2B-vermittelte LTD (**Abb.2**). Zudem zeigte sich eine verminderte Glutamat-Aufnahme in Astrozyten und als Konsequenz davon eine verstärkte Aktivierung extrasynaptischer GluN2B-enthaltender Glutamat-Rezeptoren. Wir schlussfolgerten daher, dass TGF- $\beta$ 1 ein wichtiger physiologischer

Modulator extrasynaptischer GluRs zu sein scheint und die A $\beta$ -Effekte auf die synaptische Plastizität möglicherweise entscheidend modulieren kann.



**Abb. 2: TGF- $\beta$ 1 moduliert GluN2B-anhängige LTP im Hippocampus.** TGF- $\beta$ 1-defiziente Tiere (CNS-TGF- $\beta$ 1<sup>-/-</sup>) zeigen eine gestörte LTP-Expression im Hippocampus. Durch die Zugabe von D-AP5 (0.5  $\mu$ M) oder dem GluN2B-spezifischen GluR-Antagonisten Ro25-6981 (0.5  $\mu$ M) normalisiert sich die Expression LTP in diesen Tieren.

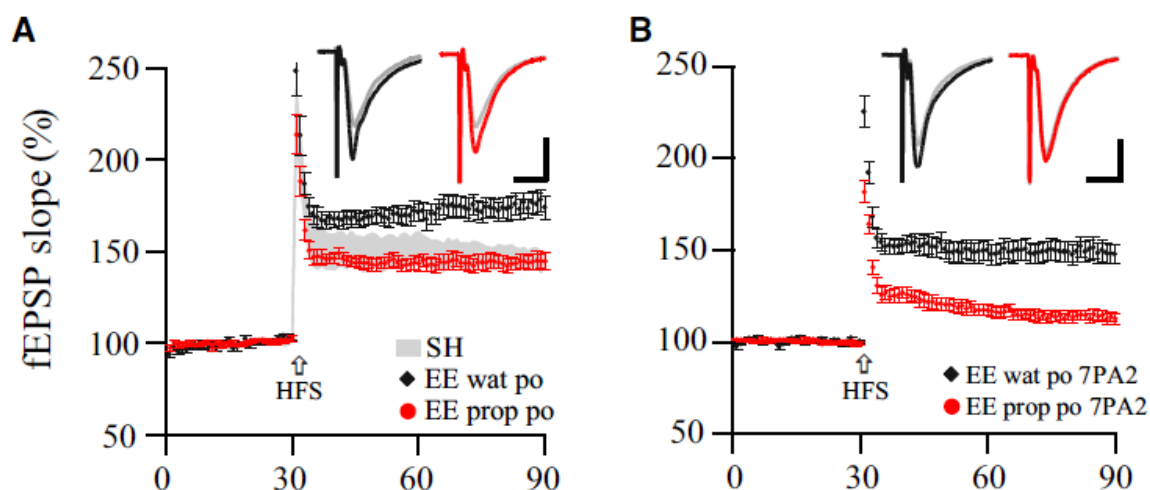
### A.3.2. Untersuchung der Effekte von Enriched Environment (EE) auf die A $\beta$ -Pathologie.

**Environmental novelty activates  $\beta$ 2-adrenergic signaling to prevent the impairment of hippocampal LTP by A $\beta$  oligomers.** Li S, Jin M, Zhang D, Yang T, Koeglspberger T, Fu H, Selkoe DJ (2013). Neuron 77:929–941

**Hintergrund:** Körperliches und kognitives Training scheint einen günstigen Effekt auf die Krankheitsprogression bei Demenzen aufzuweisen [88]. Die spezifischen molekularen und zellulären Mechanismen dazu sind bislang nicht abschließend geklärt.

**Methoden:** In weiteren Untersuchungen wurde daher der Effekt einer stimulierenden Umgebung („enriched environment“) auf die hippocampale Plastizität untersucht. Dazu wurden Mäuse entweder in einer Standardumgebung (SH) gehalten oder einem stimulierenden Umfeld (EE). Die EE-Umgebung umfasste u.a. 2 Laufräder und mehrere Gegenstände in verschiedenen Formen und Farben. Die Spielzeuge wurden täglich gewechselt. Die Mäuse wurden 4 Wochen (2 bis 6 Wochen alt) in SH oder EE gehalten. Im Anschluss wurden die Gehirne der Tiere entnommen und elektrophysiologisch und biochemisch untersucht.

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Im Tierversuch konnten wir zeigen, dass ein abwechslungsreiches Umfeld (EE) zu einer Stimulation von LTP führt [71] sowie zu einem Wachstum hippocampaler Synapsen. Zudem führte die Haltungsbedingung EE zu einer Zunahme der synaptischen Ionenströme (sog. mEPSCs) sowie der Phosphorylierung von GluNA-enthaltenden GluRs (pSer845). Interessanterweise zeigten die EE-Tiere eine gesteigerte Resistenz gegenüber den Effekten der A $\beta$ -Peptide im Hinblick auf deren LTP-inhibierende Wirkung (**Abb.3**). Mechanistisch wirkte die EE-Haltung über die Aktivierung von  $\beta$ 2-adrenergen Rezeptoren und cAMP-Protein Kinase A (PKA) Signalkaskaden. Versuchstiere, die systemisch  $\beta$ -Rezeptor-Agonisten erhielten, waren vor den Effekten von A $\beta$  auf die synaptische Plastizität teilweise geschützt. Wir schlussfolgerten, dass EE demnach zu einer Aktivierung von  $\beta$ -Rezeptoren führt und so die schädlichen Effekte von A $\beta$  auf die synaptische Plastizität verhindert.



**Abb. 3: Blockade von  $\beta$ -Rezeptoren verhindert die protektiven Effekte einer abwechslungsreichen Umgebung auf das hippocampale LTP. (A)** Die Haltung der Tiere in einer abwechslungsreichen Umgebung (eng. enriched environment, EE) führt zu einer verstärkten Expression von LTP im Hippocampus im Vergleich zu Standard-Bedingungen (engl. standard housing, SH). Die Blockade von Beta-Rezeptoren durch die Gabe von Propranolol (0.2 g/l im Trinkwasser) verhindert die verstärkte LTP-Expression. **(B)** Die Behandlung mit Propranolol verhindert die protektiven Effekte von EE auf die Effekten von A $\beta$ .

### A.3.3. Untersuchung der Effekte von BACE auf Kainat-Rezeptoren im Hippocampus.

#### **Mouse brain proteomics establishes MDGA1 and CACHD1 as in vivo substrates**

#### **of the Alzheimer protease BACE1.** Njavro JR, Klotz J, Dislich B, Wanngren J,

Shmueli MD, Herber J, Kuhn P, Kumar R, **Koeglsperger T**, Conrad M, Wurst W,

Feederle R, Vlachos A, Michalakis S, Jedlicka P, Müller SA, Lichtenthaler SF (2020)

Faseb J 34:2465–2482. doi: 10.1096/fj.201902347r

#### **Seizure protein 6 controls glycosylation and trafficking of kainate receptor**

#### **subunits GluK2 and GluK3.** Pigoni M, Hsia H-E, Hartmann J, Njavro JR, Shmueli

MD, Müller SA, Güner G, Tüshaus J, Kuhn P-H, Kumar R, Gao P, Tran ML,

Ramazanov B, Blank B, Ederveen ALH, Blume JV, Mülle C, Gunnensen JM, Wuhrer

M, Rammes G, Busche MA, **Koeglsperger T**, Lichtenthaler SF (2020) Embo J

e103457.

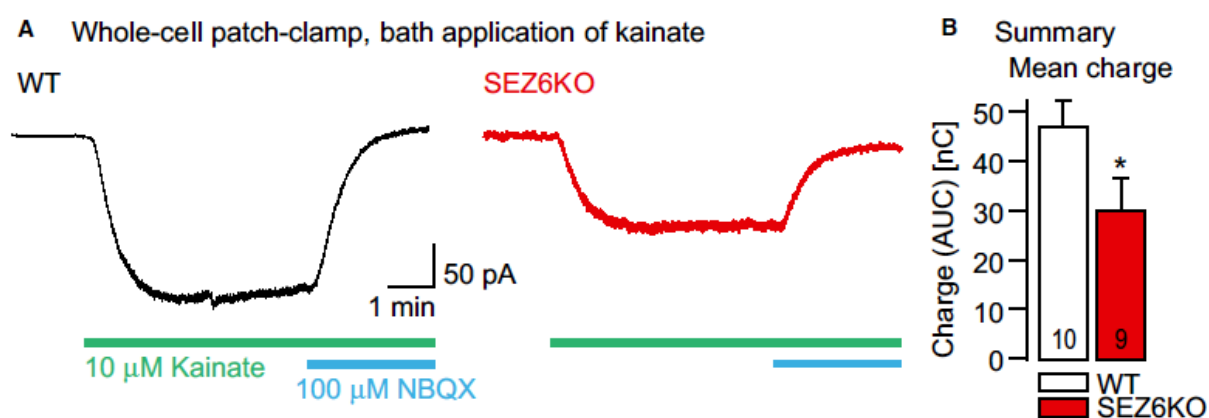
**Hintergrund:** Die Erzeugung von A $\beta$  setzt zwei aufeinanderfolgende enzymatische Spaltungen im Amyloid-Vorläuferprotein APP voraus. Die Spaltung durch die sog. Beta-Secretase (BACE) im extrazellulären Teil des APP setzt dabei ein lösliches extrazelluläres Fragment frei [122] und trägt somit ursächlich entscheidend zur Entstehung der AD-Pathologie bei [108]. BACE stellt daher ein wichtiges therapeutisches Target bei der Alzheimer-Erkrankung dar und BACE1-Hemmstoffe wurden bereits in klinischen Studien weiterführend untersucht. Allerdings wurden bei der Untersuchung der Effekte dieser Substanzen Nebenwirkungen festgestellt wie z.B. psychiatrische Auffälligkeiten und vermehrte Stürze [31, 46]. Diese Symptome resultieren vermutlich aus dem Effekt von BACE auf andere Substrate, da BACE neben APP auch multiple andere Proteine schneidet und deren physiologische Funktion somit beeinträchtigt [126, 129]. Die Identifikation und Charakterisierung zusätzlicher BACE-Substrate in vivo wird die therapeutische Nutzbarkeit der BACE-Hemmung verbessern [121].

**Methoden:** Um BACE1-Substrate mit in-vivo-Relevanz zu identifizieren, verwendeten wir auf Isotopenmarkierung basierende quantitative Proteom-Untersuchungen. Wir untersuchten dazu ZNS-Gewebe von Wildtyp- und BACE1 Knockout-Tieren.

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Mit diesem Ansatz identifizierten wir einige bekannte BACE1-Substrate. Zusätzlich wurden MAM domain-containing glycosylphosphatidylinositol anchor protein 1 (MDGA1) und vWFA and cache domain-containing protein 1 (CACHD1), die jeweils wichtige Funktionen bei der synaptischen Übertragung haben, in vivo durch Immunblots und unter Verwendung von primären Neuronen und Mausgehirnen als neue BACE1-Substrate identifiziert und validiert. Weiterführende Untersuchungen haben zudem die Effekte der BACE-Hemmung auf das seizure protein 6 (SEZ6) untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass SEZ6 die



Oberflächenexpression von GluRs vom Kainattyp (GluK2 und GluK3) moduliert. Passend dazu modulierte SEZ6 die Kainatrezeptor-vermittelten Ströme in akuten Gehirnschnitten der Maus (**Abb.4**). Mechanistisch konnte gezeigt werden, dass SEZ6 die (human natural killer-1) HNK-1-Glykanmodifikation von GluK2 und GluK3 kontrolliert und somit dessen Sekretion bzw. Membraninsertion beeinflusst. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben somit zum Verständnis der BACE-Effekte im Gehirn beigetragen und können die Entwicklung von BACE-Inhibitoren bei der Alzheimer-Krankheit unterstützen.



**Abb. 4: Genetische Ablation von SEZ6 reduziert Kainat-induzierte Ströme im Hippocampus der Maus.** Stromkurven von Whole-Cell-Ableitungen von CA1 Pyramidenneuronen von WT und SEZ6 KO Mäusen. Die Zugabe von Kainat (10  $\mu$ M) führt zu einem Einwärtsstrom durch Kainatrezeptoren, der im SEZ6 KO Tier in Folge der reduzierten KA-Rezeptordichte schwächer ausgeprägt ist.

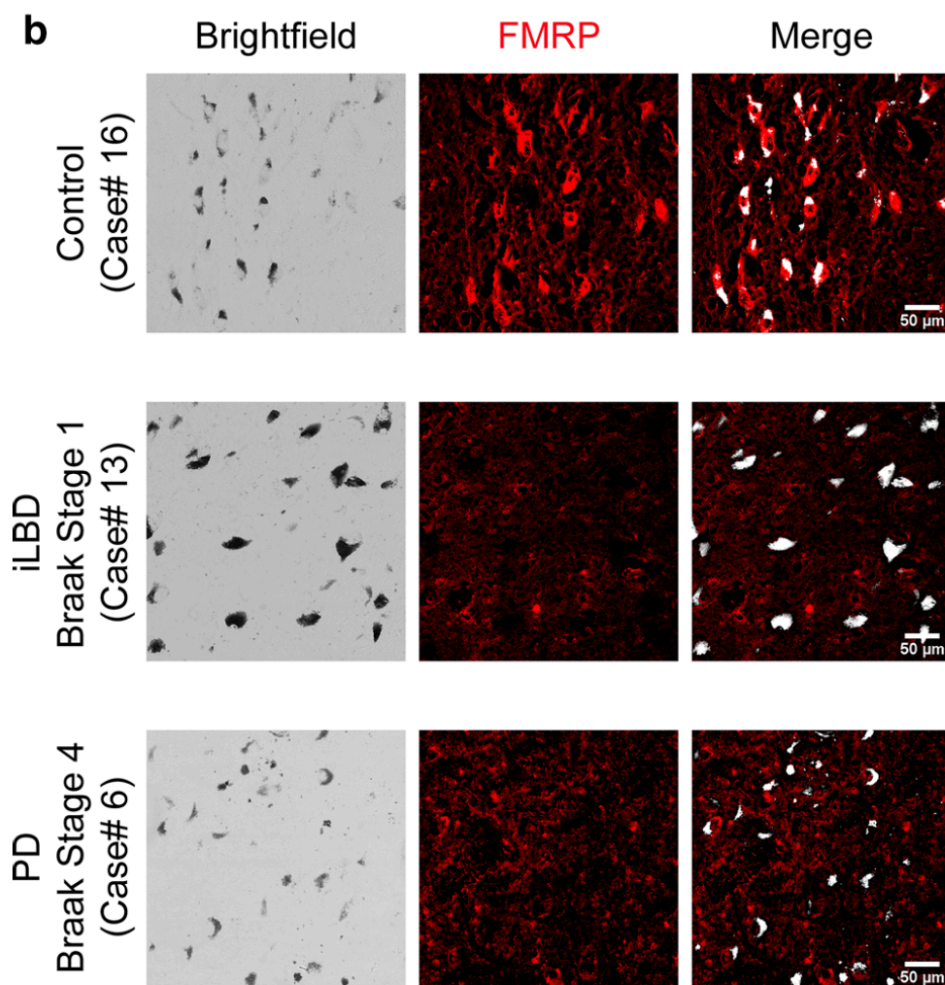
#### A.3.4. Die Rolle des Fragile X Proteins FMRP bei der Parkinson-Erkrankung.

**Loss of fragile X mental retardation protein precedes Lewy pathology in Parkinson's disease.** Tan Y, Sgobio C, Arzberger T, Machleid F, Tang Q, Findeis E, Tost J, Chakroun T, Gao P, Höllerhage M, Bötzel K, Herms J, Höglinger G, Köglspurger T (2020). Acta Neuropathologica Feb;139(2):319-345.

**Hintergrund:** Das Fragile X Syndrom (FXS) ist die häufigste erbliche Form der intellektuellen Leistungsminderung und die häufigste durch ein einzelnes Gen verursachte Ursache für Autismus [42]. Das FXS wird verursacht durch eine instabile ('fragile') Expansion von CGG-Triplets in der 5'-UTR des Fragile X Mental Retardation Gens (*FMR1*). Diese Veränderung verhindert die Transkription von *FMR1* und führt zu einem Verlust des *FMR1*-Genproduktes, des Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP) [37, 123]. FMRP interagiert direkt mit neuronalen mRNAs [2, 115] und reduziert deren Translation im Gehirn [27]. Es wird angenommen, dass etwa 4% aller mRNAs im ZNS an FMRP binden und durch FMRP reguliert werden [3]. Der Verlust von FMRP beim FXS resultiert in einer Aktivierung der durch Phosphorylierung von mTOR (regulatory-associated protein of the mammalian target of rapamycin) und ERK (extracellular signal-regulated kinase) Signalkaskaden [103]. Deshalb ist die neuronale Proteinsynthese in Nervenzellen in Abwesenheit von FMRP um ca. 15-20% gesteigert [89, 99, 100]. Dieser Mechanismus scheint eine wichtige Rolle bei der Pathophysiologie des Fragilen X Syndroms zu spielen [10, 49]. FMRP-regulierte mRNAs umfassen eine breite Gruppe von Proteinen, welche die neuronale Erregbarkeit, Ionen-Homöostase und Generation von Aktionspotentialen kontrollieren [17, 67, 105, 128]. Zudem beeinflusst FMRP die Funktion mehrerer Ionenkanäle mittels direkter Protein-Protein-Interaktionen und unabhängig von der Regulation der Proteinsynthese [26, 35]. Beispielsweise wurde eine Interaktion der C-terminalen Domäne von FMRP mit der  $\alpha 1$ -Untereinheit des sogenannten N-Typ Calciumkanales ( $\text{Ca}_v2.2$ ) gezeigt, was zu dessen Proteasom-abhängigen Degradierung führt. Die Reduktion von FMRP führt daher zu einem verminderten  $\text{Ca}_v2.2$  Umsatz und zu einer gesteigerten Anzahl von  $\text{Ca}_v2.2$ -Untereinheiten in der Plasmamembran und einem gesteigertem  $\text{Ca}_v2.2$ -vermitteltem N-Typ Calciumstrom.

**Methoden:** Um die Rolle von FMRP bei der Parkinson-Erkrankung zu untersuchen haben wir Untersuchungen in Zellkultur, an Versuchstieren sowie an postmortalem Gewebe von Patienten mit Lewy-Pathologie durchgeführt.

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Im Rahmen von Studien in Zellkultur konnten wir zeigen, dass die Überexpression von  $\alpha$ -Syn zu einer Reduktion von FMRP führt. Dieser Effekt wird - anders als beim FXS - posttranslational durch Proteinkinasen vermittelt. Analog zum FXS führt der Verlust von FMRP in humanen DA-Nervenzellen in Kultur zu einer Aktivierung der Proteintranslation und einer Stimulation von N-Typ Calciumkanälen. Dieser Effekt ließ sich analog im Tiermodell nachvollziehen, wo die stereotaktische Injektion von  $\alpha$ -Syn-exprimierenden Adenoviren zu einer Verminderung von FMRP in DA-Nervenzellen der SNc führte. Zusätzlich zu Zellkultur- und Tiermodellen haben wir den Effekt von  $\alpha$ -Syn auch in postmortalem Gewebe von Parkinson-Patienten und nicht-erkrankten Kontrollen untersucht. Interessanterweise fand sich dabei gleichermaßen ein Verlust von FMRP in DA-Nervenzellen in der Substantia nigra von Parkinson-Patienten (**Abb.5**). Der Verlust von FMRP geht dabei dem Auftreten der Lewy-Pathologie wahrscheinlich um Jahre voraus, da sich in der SNc bereits im Braak-Stadium 1 und 2 ein Verlust von FMRP nachweisen lässt, d.h. noch bevor Lewy-Körperchen in der SNc nachweisbar sind [13].



**Abb. 5: Die Expression von FMRP in der humanen SNc ist vor Auftreten der Lewy-Pathologie reduziert.** Immunhistochemische (IHC) Untersuchung von humanem postmortalem SNc Gewebe. Die Hellfeld-Mikroskopie (*engl.* brightfield) zeigt Neuromelanin-haltige DA-Neurone der SNc. Während im Kontroll-Gewebe eine zytoplasmatische FMRP-Expression nachweisbar ist, zeigen Fälle mit LBP ab dem Braak-Stadium 1 ein Fehlen von FMRP.

Der Verlust von FMRP ist daher als frühe molekulare Veränderung bei der Parkinson-Krankheit anzusehen und trägt wahrscheinlich zu der neuronalen Dysfunktion und Degeneration von DA Nervenzellen ursächlich bei. Zukünftige Untersuchungen werden die spezifischen zellphysiologischen Konsequenzen für die neuronale Erregbarkeit von DA-Neuronen zu untersuchen haben.

### **A.3.5. Extrazelluläre Vesikel als Mediatoren der Krankheitsprogression bei der Parkinson- und Alzheimer-Krankheit.**

**Fibroblast Growth Factor 2-Mediated Regulation of Neuronal Exosome Release**

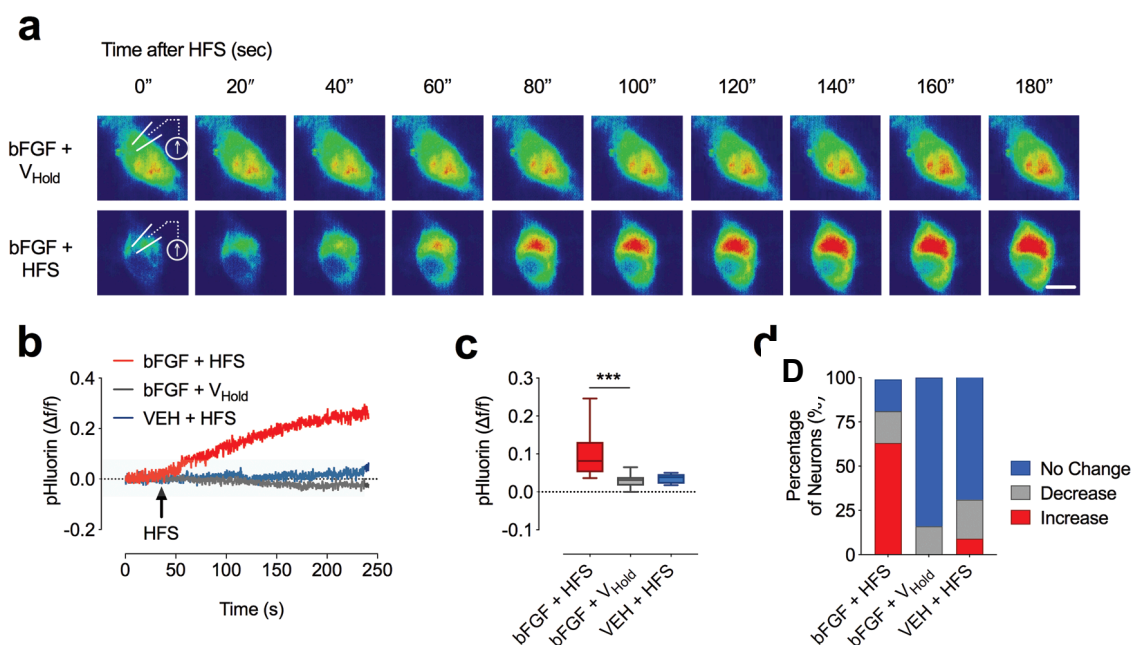
**Depends on VAMP3/Cellubrevin in Hippocampal Neurons.** Kumar R, Tang Q, Müller SA, Gao P, Mahlstedt D, Zampagni S, Tan Y, Klingl A, Bötzel K, Lichtenthaler SF, Höglinger GU, **Koeglsperger T (2020)**. Adv Sci 7:1902372.

**Hintergrund:** Extrazelluläre Vesikel (EVs) sind kleine Membranvesikel, die bioaktive Moleküle wie Proteine, RNA oder DNA zwischen verschiedenen Zellen transportieren. EVs können im Blut und der Extrazellulärflüssigkeit größere Strecken zurücklegen und somit Nachrichten zwischen verschiedenen Organsystemen übermitteln. Zudem haben EVs ein großes Potential als diagnostische und therapeutische sog. Nanocarrier [60, 73]. Im ZNS werden EVs von Neuronen und Glia freigesetzt [18, 36], um die neuronale Erregbarkeit [1, 38, 104] und synaptische Plastizität [4, 56, 58, 59, 127] zu modulieren. Das Vorkommen von EVs im Liquor unterstreicht ihre Bedeutung für die ZNS-Physiologie [23]. Zudem tragen EVs zu der Transmission pathogener Proteine bei der Alzheimer- und Parkinson-Krankheit bei [41, 96, 107, 111]. Es wird dabei davon ausgegangen, dass sog. „Seeds“ von  $\alpha$ -Syn und A $\beta$  mit Hilfe von EVs von Zelle zu Zelle transportiert werden und dadurch die für die Erkrankung pathognomonischen Proteinaggregate somit, ähnlich einem Prion, propagiert werden. Das Verständnis der molekularen und zellulären Mechanismen der EV-Generation und -Freisetzung verspricht deshalb ein besseres Verständnis der Krankheitsprogression und stellt möglicherweise einen Ansatzpunkt für eine den Krankheitsverlauf modifizierende Therapie dar.

**Methoden:** Mittels einer Kombination von Patch-Clamp-Elektrophysiologie und pH-sensitiver Fluoreszenzindikatoren haben wir die Freisetzung von EVs aus primären, hippocampalen Nervenzellen in Echtzeit untersucht. Dazu wurde eine

Expressionsplasmid generiert, das für ein Fusionsprotein bestehend aus CD63 und pHluorin kodiert. Durch dieses Konstrukt wird eine Expression von pHluorin in multivesikulären Endosomen (MVBs) sowie auf EVs ermöglicht. Mittels Fluoreszenzmikroskopie wurde damit die Fusion von MVBs mit der Plasmamembran untersucht. Dazu wurde eine Kombination aus Fluoreszenzmikroskopie und Whole-Cell Patch-Clamp Elektrophysiologie angewandt.

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Unsere Experimente zeigten, dass die Freisetzung von EVs - ähnlich wie die Freisetzung von Neurotransmitter-Vesikeln - prinzipiell durch einen elektrischen Reiz ausgelöst werden kann. Dieser Reiz-Reaktionszusammenhang trifft allerdings, anders als bislang vermutet [5, 32, 33, 40], nur auf etwa 10% der Nervenzellen zu. Die Anzahl der Neurone, die einen Stimulus-induzierten EV-Release aufweisen, lässt sich durch bestimmte Wachstumsfaktoren, wie z.B. den Fibroblasten-Wachstumsfaktor Basic Fibroblast Growth Factor 2 (bFGF) signifikant auf um 60% steigern (**Abb.6**).



**Abb. 6: Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) steigert die Fusionsrate von multivesikulären Endosomen mit der Plasmamembran.** (A) Echtzeit-Epifluoreszenzmikroskopie in Kombination mit Whole-Cell Patch-Clamp Ableitungen von CD63-pHluorin-transduzierten hippocampalen Neuronen mit und ohne Zugabe von bFGF (50 ng/ml). (B,C) Relatives pHluorin Fluoreszenzsignal nach Applikation eines Hochfrequenzstimulus (HFS; 1 s, 1 Hz). (D) Relativer Anteil der Neurone, bei welchen eine Steigerung der Fluoreszenz unter den genannten Bedingungen nachweisbar war.

Massenspektrometrische Proteom-Analysen der EV-Zusammensetzung zeigten eine Veränderung sog. SNARE-Proteine in bFGF-behandelten Zellen. Insbesondere führte bFGF zu einer Zunahme des (vesikulären) SNARE-Proteins VAMP3. Ein Knock-Down von VAMP3 mittels siRNAs führte dagegen zu einer Verminderung der Freisetzung von Exosomen. In der Zusammenschau ermöglichen diese Ergebnisse somit neue Erkenntnisse über die molekularen Mechanismen der Exosomenfreisetzung in Nervenzellen. Zukünftige Arbeiten sollten an diese Befunde anknüpfen und die Relevanz der identifizierten SNARE-Proteine für die Krankheitsprogression neurodegenerativer Erkrankungen wie z.B. bei der Parkinson- oder Alzheimer-Krankheit untersuchen.

**Basic Fibroblast Growth Factor 2-Induced Proteome Changes Endorse Lewy Body Pathology in Hippocampal Neurons.** Kumar R, Donakonda S, Müller SA, Lichtenthaler SF, Bötzel K, Höglinger GU, **Koeglsperger T (2020)**. Cell IScience 23:101349.

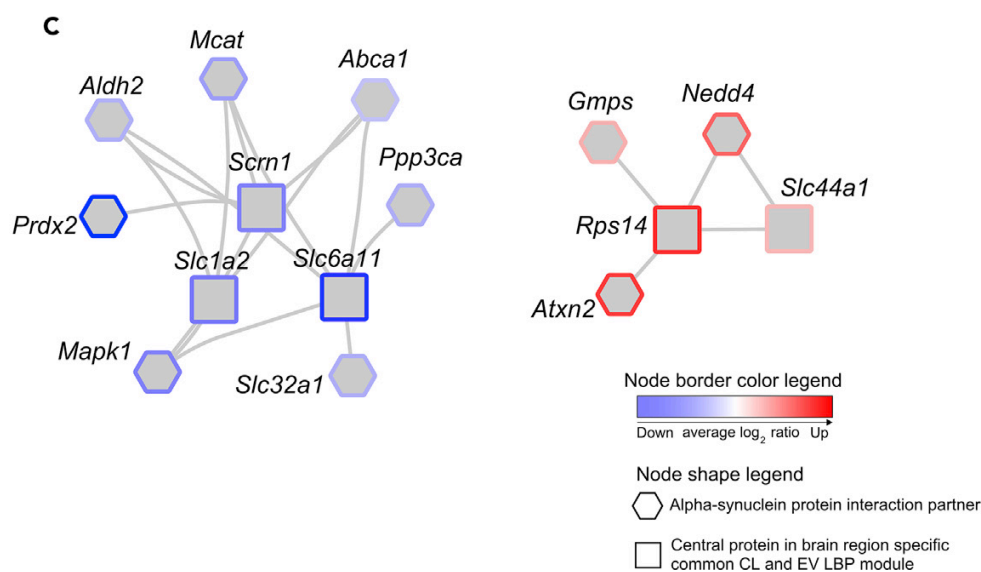
**FGF2 affects Parkinson's disease-associated molecular networks through exosomal Rab8b/Rab31.** Kumar R, Donakonda S, Müller SA, Bötzel K, Höglinger GU, Lichtenthaler S, **Koeglsperger T (2020)** . Frontiers in Genetics, 11:572058.

**Hintergrund:** Neben der mechanistischen Bedeutung extrazellulärer Vesikel sind diese auch im Sinne krankheits-assoziiertes Biomarker interessant.

**Methoden:** In weiterführenden bioinformatischen Untersuchungen haben wir daher Protein-Protein-Interaktionen von EVs in Zellkulturmodellen untersucht. Wir haben dazu primäre hippocampale Neurone in Kultur mit bFGF behandelt und die Proteinzusammensetzung der EVs mittels Massenspektrometrie untersucht [63, 64].

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Bei  $n = 235$  signifikant hochregulierten Proteinen fanden wir, dass bFGF die beiden Rab-Proteine Rab8b und Rab31 spezifisch in EVs anreichert. Infolgedessen untersuchten wir die Wechselwirkungen von Rab8b und Rab31 mithilfe einer Netzwerkanalyse. Dazu haben wir ein Protein-Protein-Interaktionsnetzwerk (PPiN) für diese Rabs entwickelt und dessen Interaktion mit Parkinson-assoziierten Proteinen in verschiedenen zellulären Komponenten des Zentralnervensystems (ZNS), in verschiedenen Hirnregionen und im enterischen Nervensystem identifiziert (ENS). Insgesamt wurden  $n = 126$  direkte oder indirekte Wechselwirkungen für zwei Rab-Kandidaten identifiziert. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse die Relevanz der bFGF-induzierten Rab-Anreicherung und ihr Potenzial zur Regulierung der PD-Pathophysiologie. Ergänzend dazu haben wir ebenfalls den Einfluss von bFGF auf das Proteom hippocampaler Neurone mittels Massenspektrometrie untersucht. Wir identifizierten dabei  $n = 2.310$  differentiell exprimierte Proteine (DEPs), die durch bFGF induziert wurden. Wir haben eine gewichtete Protein-Coexpressions-Netzwerkanalyse (WPCNA) angewendet, um Proteinmodule aus DEPs zu generieren und sie auf veröffentlichte LBP-Datensätze abzubilden. Dieser Ansatz ergab  $n = 532$  mit der Lewy-Pathologie verknüpfte DEPs, die wichtige  $\alpha$ -Syn-interagierende Proteine, LBP-assoziierte RNA-bindende Proteine (RBPs) sowie neuronale Ionenkanäle und Rezeptoren umfassen und die den Beginn und das Fortschreiten von LBP beeinflussen können (**Abb.7**).





**Abb. 7: Modulare Charakterisierung von Wechselwirkungen zwischen den Top 5% Kandidatenproteinen und deren Wechselwirkungen mit  $\alpha$ -Syn-Interaktionspartnern.**

Zusammenfassend bestätigt unsere tiefe Proteomanalyse den möglichen Einfluss der bFGF-Signalübertragung auf LBP-bezogene Proteomveränderungen und damit verbundene molekulare Wechselwirkungen.

### A.3.6. Expression von miRNAs als Biomarker der Parkinson-Krankheit

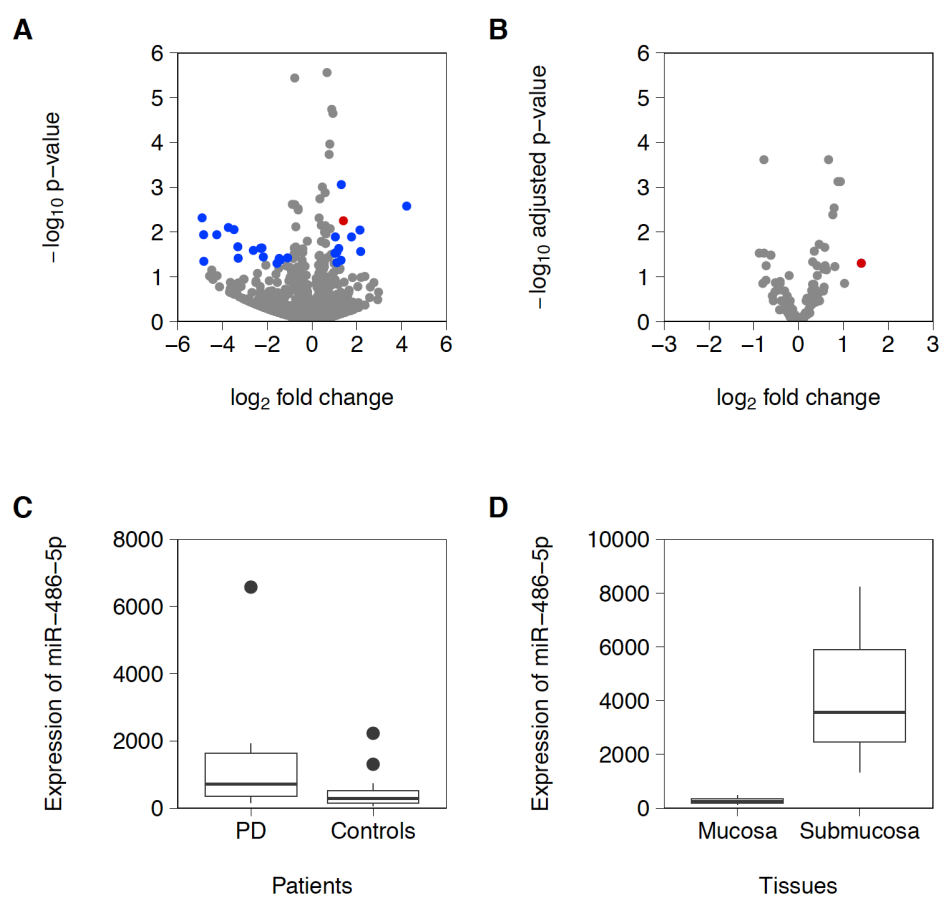
**Differential expression of gut miRNAs in idiopathic Parkinson's disease.** Kurz A, Kumar R, Northoff BH, Wenk C, Schirra J, Donakonda S, Höglinger GU, Schwarz J, Rozanski V, Hübner R, Bötzel K, Holdt L, & **Koeglsperger T. (2021)**; Parkinsonism & Related Disorders; <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.05.022>

**Hintergrund:** Um früh im Krankheitsverlauf auftretende Veränderungen zu untersuchen, ist gut zugängliches und risikoarm zu gewinnendem Gewebe notwendig. Jüngste Forschungsergebnisse legen nahe, dass das enterische Nervensystem (ENS) bei der Parkinson-Krankheit (PD) betroffen ist, da frühere Biopsie- und

Autopsiestudien eine Lewy-ähnliche Synucleinopathie im ENS von PD-Patienten zeigten [7]. Zusätzlich zu diesen pathologischen Befunden können gastrointestinale (GI) Symptome wie z.B. Verstopfung häufig bei Parkinson auftreten und sich manchmal Jahre vor den motorischen Anzeichen der Krankheit bemerkbar machen [93]. Da das Auftreten von LTS in enterischen Neuronen der LB-Pathologie im Gehirn vorausgehen kann, führten diese Ergebnisse zu der Hypothese, dass PD durch einen Umweltpathogen verursacht wird. Nach Durchbruch der Schleimhautbarriere des GI-Trakts löst es einen pathologischen Prozess in enterischen Neuronen aus, und dieser Prozess schreitet über die autonomen Nerven des Darms zum ZNS voran [45]. Infolge dieser Hypothese untersuchten frühere Studien den diagnostischen Wert von LTS im Darmgewebe als Biomarker für frühe Krankheiten bei Parkinson. Viele dieser Berichte haben jedoch Bedenken hinsichtlich der Spezifität von enterischem  $\alpha$ -Syn geäußert, da seine Immunreaktivität auch bei gesunden Personen beobachtet wurde [25, 124]. Diese Diskrepanz kann teilweise auf technische Schwierigkeiten zurückzuführen sein, die mit der Vorbereitung menschlicher Gewebeprobe zum Nachweis von  $\alpha$ -Syn verbunden sind. Daher bleibt der diagnostische Gesamtwert des Nachweises von LTS in GI-Biopsien zur Diagnose von PD derzeit ungewiss. Darüber hinaus hat die Untersuchung von enterischem  $\alpha$ -Syn keinen weiteren Einblick in die spezifische Ursache von GI-Symptomen geliefert. Daher besteht ein Bedarf an alternativen GI-Biomarkern bei Parkinson, die das Verständnis der GI-Dysfunktion und der molekularen Mechanismen des Ausbruchs von Krankheiten bei Parkinson unterstützen.

**Methoden:** Im Rahmen einer klinischen Diagnostikstudie haben wir daher mikro RNAs (miRNAs) in Darmbiopsien von Parkinson-Patienten und gesunden Kontrollprobanden untersucht. Hierzu untersuchten wir die Expression von miRNAs in routinemäßigen Kolonbiopsien von n = 13 PD-Patienten und n = 17 gesunden Kontrollpersonen.

**Ergebnisse & Schlussfolgerung:** Beim Vergleich beider Gruppen fanden wir eine Reihe von differentiell exprimierten, mit Submukosa angereicherten miRNAs mit hsa-miRNA-486-5p mit der höchsten Spezifität für PD (**Abb.8**). Unsere Ergebnisse zeigten, dass die Expression von miRNA-486-5p mit dem Alter und der Schwere der Erkrankung bei PD korreliert. Nachgeschaltete Bioinformatik-Analysen identifizierten eine Reihe von miRNA-486-5p-Zielgenen und die damit verbundenen molekularen Pathways im ENS. Zusammenfassend werden unsere Ergebnisse die Untersuchung von miRNAs als diagnostische Biomarker bei Parkinson unterstützen und zum Verständnis der GI-Symptome bei Parkinson beitragen.



**Abb. 8: miR-486-5p ist verstärkt in der Submukosa von PD-Patienten nachweisbar. (A-C)** Hypothesen-freie Sequenzierung von mirRNAs aus Routinebiopsien von Parkinson-Patienten und gesunden Kontrollprobanden zeigte eine Anreicherung von miR-486-5p. **(D)** Die Expression von miR-486-5p segregiert in die Submukosa, während die Expression in der Mukosa nur schwach ausgeprägt ist.

#### **A.4. Zusammenfassung und Ausblick**

Neurodegenerative Erkrankungen stellen in einer alternden Gesellschaft eine zunehmende Herausforderung dar. Für eine Vielzahl neurodegenerativer Prozesse wurden in der Vergangenheit histopathologische Korrelate beschrieben, die allerdings häufig den Endzustand eines längerfristigen degenerativen Prozesses beschreiben, während die früh im Krankheitsverlauf auftretenden Veränderungen nur unvollständig verstanden sind. Andererseits wäre ein besseres Verständnis dieser frühen molekularen und zellulären Prozesse eine wichtige Voraussetzung für die Entwicklung zielgerichteter, den Krankheitsverlauf modifizierender Therapieformen und neuartigen Diagnosemethoden zur Früherkennung. Der Schwerpunkt der hier zusammengefassten Arbeiten ist in der Untersuchung früher molekularer und zellulärer Veränderungen bei der Alzheimer- und Parkinson-Krankheit zu sehen. Bei der Alzheimer-Krankheit haben wir vor allem die Effekte von A $\beta$  auf die synaptische Plastizität untersucht [69, 71]. Die von uns identifizierten Mechanismen haben zu einem besseren Verständnis der Störung synaptischer Plastizität bei AD beigetragen, die besonders in der Frühphase der Erkrankung noch vor dem Auftreten von neuronalem Zelltod relevant sein dürften. Ebenfalls als relevant sind die funktionellen Veränderungen zu sehen, die aus der Hemmung von BACE1 – einem wichtigen therapeutischem Target bei AD – entstehen. Dabei konnten wir zeigen, dass SAZ6, ein BACE1-Substrat, die Glykosylierung und Membraninsertion neuronaler Kainatrezeptoren GluK2 und 3 verändert [87, 95].

Bei der Parkinson-Erkrankung haben wir mit FMRP ein Protein identifiziert, dass ebenfalls frühzeitig im Krankheitsverlauf und noch vor dem Auftreten von Lewy-Körperchen verloren geht [119]. Zukünftige Untersuchungen werden die spezifischen zellphysiologischen Konsequenzen für die neuronale Erregbarkeit von DA-Neuronen zu untersuchen haben und deren Bedeutung für die selektive Vulnerabilität von SNc

Neuronen. In physiologischen Modellen haben wir mit bFGF einen Modulator der EV-Freisetzung identifiziert [65] und dessen Effekt auf PD-relevante molekulare Netzwerke untersucht [64]. Erweiterte bioinformatische Analysen wurden zudem zum Effekt von bFGF auf die Autophagie-relevanten Rab-Proteinen angefertigt [63].

Insgesamt haben die hier zusammengefassten Arbeiten neue und bislang unbekannte Targets früher krankheitsassoziierter Veränderungen identifiziert oder das Wissen über deren mechanistischen Beitrag erweitert.

## A.5. Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG	HERKUNFT & REFERENZ
ABBILDUNG 1	Fig. 1C,D aus [69]
ABBILDUNG 2	Fig. 3A,E aus [55]
ABBILDUNG 3	Fig. 6A,B aus [71]
ABBILDUNG 4	Fig. 3A,B aus [95]
ABBILDUNG 5	Fig. 8B aus [119]
ABBILDUNG 6	Fig. 2A-D aus [65]
ABBILDUNG 7	Fig. 6C aus [64]
ABBILDUNG 8	Fig. 1A-D aus [66]

## A.6. Literaturverzeichnis

1. Antonucci F, Turola E, Riganti L, Caleo M, Gabrielli M, Perrotta C, Novellino L, Clementi E, Giussani P, Viani P, Matteoli M, Verderio C (2013) Microvesicles released from microglia stimulate synaptic activity via enhanced sphingolipid metabolism. *The EMBO journal* 31:1–10. doi: 10.1038/emboj.2011.489
2. Ashley CT, Sutcliffe JS, Kunst CB, Leiner HA, Eichler EE, Nelson DL, Warren ST (1993) Human and murine FMR-1: alternative splicing and translational initiation downstream of the CGG-repeat. *Nature genetics* 4:244–251. doi: 10.1038/ng0793-244
3. Ashley CT, Wilkinson KD, Reines D, Warren ST (1993) FMR1 protein: conserved RNP family domains and selective RNA binding. *Science (New York, NY)* 262:563–566
4. Ataman B, Ashley J, Gorczyca M, Ramachandran P, Fouquet W, Sigrist SJ, Budnik V (2008) Rapid Activity-Dependent Modifications in Synaptic Structure and Function Require Bidirectional Wnt Signaling. *Neuron* 57:705–718. doi: 10.1016/j.neuron.2008.01.026
5. Bahrini I, Song J, Diez D, Hanayama R (2015) Neuronal exosomes facilitate synaptic pruning by up-regulating complement factors in microglia. *Scientific reports* 5:243–8. doi: 10.1038/srep07989
6. Beach TG, Adler CH, Lue L, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Sasse J, Boyer S, Shirohi S, Brooks R, Eschbacher J, White CL, Akiyama H, Caviness J, Shill HA, Connor DJ, Sabbagh MN, Walker DG, Consortium APD (2009) Unified staging system for Lewy body disorders: correlation with

nigrostriatal degeneration, cognitive impairment and motor dysfunction. *Acta neuropathologica* 117:613–634. doi: 10.1007/s00401-009-0538-8

7. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, Iii CLW, Akiyama H, Caviness JN, Shill HA, Sabbagh MN, Walker DG, Consortium APD (2010) Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta neuropathologica* 119:689–702. doi: 10.1007/s00401-010-0664-3

8. Berg D, Postuma RB, Adler CH, Bloem BR, Chan P, Dubois B, Gasser T, Goetz CG, Halliday G, Joseph L, Lang AE, Liepelt-Scarfone I, Litvan I, Marek K, Obeso J, Oertel W, Olanow CW, Poewe W, Stern M, Deuschl G (2015) MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease: MDS Criteria for Prodromal PD. *Movement Disord* 30:1600–1611. doi: 10.1002/mds.26431

9. Berg WDJ van de, Hepp DH, Dijkstra AA, Rozemuller JAM, Berendse HW, Foncke E (2012) Patterns of alpha-synuclein pathology in incidental cases and clinical subtypes of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat D* 18:S28–S30. doi: 10.1016/s1353-8020(11)70011-6

10. Bhakar AL, Dölen G, Bear MF (2012) The Pathophysiology of Fragile X (and What It Teaches Us about Synapses). *Annual Review of Neuroscience* 35:417–443. doi: 10.1146/annurev-neuro-060909-153138

11. Bloch A, Probst A, Bissig H, Adams H, Tolnay M (2006) Alpha-synuclein pathology of the spinal and peripheral autonomic nervous system in neurologically unimpaired elderly subjects. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 32:284–295. doi: 10.1111/j.1365-2990.2006.00727.x

12. Bolam JP, Pissadaki EK (2012) Living on the edge with too many mouths to feed: why dopamine neurons die. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 27:1478–1483. doi: 10.1002/mds.25135

13. Braak H, Braak H, Tredici KD, Tredici KD (2009) Neuroanatomy and pathology of sporadic Parkinson's disease. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 201:1–119

14. Braak H, Ghebremedhin E, Rüb U, Bratzke H, Tredici KD (2004) Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell and tissue research* 318:121–134. doi: 10.1007/s00441-004-0956-9

15. Braak H, Tredici KD (2012) Where, when, and in what form does sporadic Alzheimer's disease begin? *Curr Opin Neurol* 25:708–714. doi: 10.1097/wco.0b013e32835a3432

16. Braak H, Tredici KD (2017) Neuropathological Staging of Brain Pathology in Sporadic Parkinson's disease: Separating the Wheat from the Chaff. *J Park Dis* 7:S73–S87. doi: 10.3233/jpd-179001

17. Brager DH, Akhavan AR, Johnston D (2012) Impaired dendritic expression and plasticity of h-channels in the *fmr1(-/y)* mouse model of fragile X syndrome. *Cell reports* 1:225–233. doi: 10.1016/j.celrep.2012.02.002

18. Budnik V, Ruiz-Cañada C, Wendler F (2016) Extracellular vesicles round off communication in the nervous system. *Nature reviews Neuroscience* 17:160–172. doi: 10.1038/nrn.2015.29

19. Carbone C, Costa A, Provensi G, Mannaioni G, Masi A (2017) The Hyperpolarization-Activated Current Determines Synaptic Excitability, Calcium Activity and Specific Viability of Substantia Nigra Dopaminergic Neurons. *Frontiers in cellular neuroscience* 11:251–14. doi: 10.3389/fncel.2017.00187

20. Chan CS, Guzman JN, Ilijic E, Mercer JN, Rick C, Tkatch T, Meredith GE, Surmeier DJ (2007) "Rejuvenation" protects neurons in mouse models of Parkinson's disease. *Nature* 447:1081–1086. doi: 10.1038/nature05865

21. Chartier-Harlin MC, Chartier-Harlin M-C, Kachergus J, Kachergus J, Roumier C, Roumier C, Mouroux V, Mouroux V, Douay X, Douay X, Lincoln S, Lincoln S, Levecque C, Levecque C, Larvor L, Larvor L, Andrieux J, Andrieux J, Hulihan M, Hulihan M, Waucquier N, Waucquier N, Defebvre L, Defebvre L, Amouyel P, Amouyel P, Farrer M, Farrer M, Destee A, Destée A (2004) Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet* 364:1167–1169. doi: 10.1016/s0140-6736(04)17103-1
22. Chen Q-S, Wei W-Z, Shimahara T, Xie C-W (2002) Alzheimer amyloid beta-peptide inhibits the late phase of long-term potentiation through calcineurin-dependent mechanisms in the hippocampal dentate gyrus. *Neurobiology of learning and memory* 77:354–371. doi: 10.1006/nlme.2001.4034
23. Chiasserini D, Weering JRT van, Piersma SR, Pham TV, Malekzadeh A, Teunissen CE, Wit H de, Jimenez CR (2014) Proteomic analysis of cerebrospinal fluid extracellular vesicles: a comprehensive dataset. *Journal of proteomics* 106:191–204. doi: 10.1016/j.jprot.2014.04.028
24. Chung CG, Lee H, Lee SB (2018) Mechanisms of protein toxicity in neurodegenerative diseases. *Cell Mol Life Sci* 75:3159–3180. doi: 10.1007/s00018-018-2854-4
25. Chung SJ, Kim J, Lee HJ, Ryu H-S, Kim K, Lee JH, Jung KW, Kim MJ, Kim YJ, Yun S-C, Lee J-Y, Hong S-M, Myung S-J (2016) Alpha-synuclein in gastric and colonic mucosa in Parkinson's disease: Limited role as a biomarker. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 31:241–249. doi: 10.1002/mds.26473
26. Contractor A, Klyachko VA, Portera-Cailliau C (2015) Altered Neuronal and Circuit Excitability in Fragile X Syndrome. *Neuron* 87:699–715. doi: 10.1016/j.neuron.2015.06.017
27. Darnell JC, Driesche SJV, Zhang C, Hung KYS, Mele A, Fraser CE, Stone EF, Chen C, Fak JJ, Chi SW, Licatalosi DD, Richter JD, Darnell RB (2011) FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell* 146:247–261. doi: 10.1016/j.cell.2011.06.013
28. Dijkstra AA, Voorn P, Berendse HW, Groenewegen HJ, Bank NB, Rozemuller AJM, Berg WDJ van de (2014) Stage-dependent nigral neuronal loss in incidental Lewy body and Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 29:1244–1251. doi: 10.1002/mds.25952
29. Draganski B, Lutti A, Kherif F (2013) Impact of brain aging and neurodegeneration on cognition. *Curr Opin Neurol* 26:640–645. doi: 10.1097/wco.0000000000000029
30. Dyck CH van (2018) Anti-Amyloid- $\beta$  Monoclonal Antibodies for Alzheimer's Disease: Pitfalls and Promise. *Biol Psychiat* 83:311–319. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.08.010
31. Egan MF, Kost J, Voss T, Mukai Y, Aisen PS, Cummings JL, Tariot PN, Vellas B, Dyck CH van, Boada M, Zhang Y, Li W, Furtek C, Mahoney E, Mozley LH, Mo Y, Sur C, Michelson D (2019) Randomized Trial of Verubecestat for Prodromal Alzheimer's Disease. *The New England journal of medicine* 380:1408–1420. doi: 10.1056/nejmoa1812840
32. Escudero CA, Lazo OM, Galleguillos C, Parraguez JI, Lopez-Verrilli MA, Cabeza C, Leon L, Saeed U, Retamal C, Gonzalez A, Marzolo MP, Carter BD, Court FA, Bronfman FC (2014) The p75 neurotrophin receptor evades the endolysosomal route in neuronal cells, favouring multivesicular bodies specialised for exosomal release. *Journal of cell science* 127:1966–1979. doi: 10.1242/jcs.141754
33. Fauré J, Lachenal G, Court M, Hirrlinger J, Chatellard-Causse C, Blot B, Grange J, Schoehn G, Goldberg Y, Boyer V, Kirchhoff F, Raposo G, Garin J, Sadoul R (2006) Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Molecular and Cellular Neuroscience* 31:642–648. doi: 10.1016/j.mcn.2005.12.003
34. Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Scazufca M, International AD (2005) Global

prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 366:2112–2117. doi: 10.1016/s0140-6736(05)67889-0

35. Ferron L, Nieto-Rostro M, Cassidy JS, Dolphin AC (2014) Fragile X mental retardation protein controls synaptic vesicle exocytosis by modulating N-type calcium channel density. *Nature communications* 5:3628. doi: 10.1038/ncomms4628

36. Frohlich D, Kuo WP, Fruhbeis C, Sun JJ, Zehendner CM, Luhmann HJ, Pinto S, Toedling J, Trotter J, Kramer-Albers EM (2014) Multifaceted effects of oligodendroglial exosomes on neurons: impact on neuronal firing rate, signal transduction and gene regulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369:20130510–20130510. doi: 10.1098/rstb.2013.0510

37. Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Pieretti M, Sutcliffe JS, Richards S, Verkerk AJ, Holden JJ, Fenwick RG, Warren ST (1991) Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox. *Cell* 67:1047–1058

38. Gabrielli M, Battista N, Riganti L, Prada I, Antonucci F, Cantone L, Matteoli M, Maccarrone M, Verderio C (2015) Active endocannabinoids are secreted on extracellular membrane vesicles. *EMBO reports* 16:213–220. doi: 10.15252/embr.201439668

39. Goedert M, Spillantini MG, Crowther RA (1991) Tau Proteins and Neurofibrillary Degeneration. *Brain Pathol* 1:279–286. doi: 10.1111/j.1750-3639.1991.tb00671.x

40. Goldie BJ, Dun MD, Lin M, Smith ND, Verrills NM, Dayas CV, Cairns MJ (2014) Activity-associated miRNA are packaged in Map1b-enriched exosomes released from depolarized neurons. *Nucleic Acids Research* 42:9195–9208. doi: 10.1093/nar/gku594

41. Grey M, Dunning CJ, Gaspar R, Grey C, Brundin P, Sparr E, Linse S (2015) Acceleration of  $\alpha$ -synuclein aggregation by exosomes. *The Journal of biological chemistry* 290:2969–2982. doi: 10.1074/jbc.m114.585703

42. Grigsby J (2016) The fragile X mental retardation 1 gene (FMR1): historical perspective, phenotypes, mechanism, pathology, and epidemiology. *The Clinical neuropsychologist* 30:815–833. doi: 10.1080/13854046.2016.1184652

43. Halliday GM, Li YW, Blumbergs PC, Joh TH, Cotton RG, Howe PR, Blessing WW, Geffen LB (1990) Neuropathology of immunohistochemically identified brainstem neurons in Parkinson's disease. *Annals of Neurology* 27:373–385. doi: 10.1002/ana.410270405

44. Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H (2002) Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nature Neuroscience* 5:405–414. doi: 10.1038/nn835

45. Hawkes CH, Tredici KD, Braak H (2010) A timeline for Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders* 16:79–84. doi: 10.1016/j.parkreldis.2009.08.007

46. Henley D, Raghavan N, Sperling R, Aisen P, Raman R, Romano G (2019) Preliminary Results of a Trial of Atabecestat in Preclinical Alzheimer's Disease. *The New England journal of medicine* 380:1483–1485. doi: 10.1056/nejmc1813435

47. Herrero MT, Morelli M (2017) Multiple mechanisms of neurodegeneration and progression. *Prog Neurobiol* 155:1. doi: 10.1016/j.pneurobio.2017.06.001

48. Hornykiewicz O (2002) Dopamine miracle: from brain homogenate to dopamine replacement. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 17:501–508. doi: 10.1002/mds.10115



49. Hou L, Antion MD, Hu D, Spencer CM, Paylor R, Klann E (2006) Dynamic translational and proteasomal regulation of fragile X mental retardation protein controls mGluR-dependent long-term depression. *Neuron* 51:441–454. doi: 10.1016/j.neuron.2006.07.005
50. Jellinger KA (2009) Recent advances in our understanding of neurodegeneration. *J Neural Transm* 116:1111–1162. doi: 10.1007/s00702-009-0240-y
51. Jellinger KA (2018) Is Braak staging valid for all types of Parkinson's disease? *J Neural Transm Vienna Austria* 126:423–431. doi: 10.1007/s00702-018-1898-9
52. Jellinger KA (2019) Neuropathology and pathogenesis of extrapyramidal movement disorders: a critical update. II. Hyperkinetic disorders. *J Neural Transm* 126:997–1027. doi: 10.1007/s00702-019-02030-y
53. Jellinger KA (2019) Neuropathology and pathogenesis of extrapyramidal movement disorders: a critical update—I. Hypokinetic-rigid movement disorders. *J Neural Transm* 126:933–995. doi: 10.1007/s00702-019-02028-6
54. Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT (2018) Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia Transl Res Clin Interventions* 4:575–590. doi: 10.1016/j.trci.2018.06.014
55. Koeglsperger T, Li S, Brenneis C, Saulnier JL, Mayo L, Carrier Y, Selkoe DJ, Weiner HL (2013) Impaired glutamate recycling and GluN2B-mediated neuronal calcium overload in mice lacking TGF- $\beta$ 1 in the CNS. *Glia* 61:985–1002. doi: 10.1002/glia.22490
56. Koles K, Nunnari J, Korkut C, Barria R, Brewer C, Li Y, Leszyk J, Zhang B, Budnik V (2012) Mechanism of evenness interrupted (Evi)-exosome release at synaptic boutons. *The Journal of biological chemistry* 287:16820–16834. doi: 10.1074/jbc.m112.342667
57. Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, Freeman TB, Olanow CW (2008) Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. *Nature medicine* 14:504–506. doi: 10.1038/nm1747
58. Korkut C, Ataman B, Ramachandran P, Ashley J, Barria R, Gherbesi N, Budnik V (2009) Trans-Synaptic Transmission of Vesicular Wnt Signals through Evi/Wntless. *Cell* 139:1–12. doi: 10.1016/j.cell.2009.07.051
59. Korkut C, Li Y, Koles K, Brewer C, Ashley J, Yoshihara M, Budnik V (2013) Regulation of Postsynaptic Retrograde Signaling by Presynaptic Exosome Release. *Neuron* 77:1–8. doi: 10.1016/j.neuron.2013.01.013
60. Kowal J, Tkach M, Théry C (2014) Biogenesis and secretion of exosomes. *Current opinion in cell biology* 29:116–125. doi: 10.1016/j.ceb.2014.05.004
61. Kremer HP, Bots GT (1993) Lewy bodies in the lateral hypothalamus: do they imply neuronal loss? *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 8:315–320. doi: 10.1002/mds.870080310
62. Krüger R, Kuhn W, Müller T, Voitalla D, Graeber M, Kösel S, Przuntek H, Epplen JT, Schöls L, Riess O (1998) Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nature genetics* 18:106–108. doi: 10.1038/ng0298-106
63. Kumar R, Donakonda S, Müller SA, Bötzel K, Höglinger GU, Koeglsperger T (2020) FGF2 Affects Parkinson's Disease-Associated Molecular Networks Through Exosomal Rab8b/Rab31. *Frontiers Genetics* 11:572058. doi: 10.3389/fgene.2020.572058

64. Kumar R, Donakonda S, Müller SA, Lichtenthaler SF, Bötzel K, Höglinger GU, Koeglsperger T (2020) Basic Fibroblast Growth Factor 2-Induced Proteome Changes Endorse Lewy Body Pathology in Hippocampal Neurons. *Iscience* 23:101349. doi: 10.1016/j.isci.2020.101349
65. Kumar R, Tang Q, Müller SA, Gao P, Mahlstedt D, Zampagni S, Tan Y, Klingl A, Bötzel K, Lichtenthaler SF, Höglinger GU, Koeglsperger T (2020) Fibroblast Growth Factor 2-Mediated Regulation of Neuronal Exosome Release Depends on VAMP3/Cellubrevin in Hippocampal Neurons. *Adv Sci* 7:1902372. doi: 10.1002/advs.201902372
66. Kurz A, Kumar R (2021) Differential expression of gut miRNAs in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat D*; <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.05.022>
67. Lee HY, Ge W-P, Huang W, He Y, Wang GX, Rowson-Baldwin A, Smith SJ, Jan YN, Jan LY (2011) Bidirectional regulation of dendritic voltage-gated potassium channels by the fragile X mental retardation protein. *Neuron* 72:630–642. doi: 10.1016/j.neuron.2011.09.033
68. Li J-Y, Li JY, Englund E, Englund E, Holton JL, Holton JL, Soulet D, Soulet D, Hagell P, Hagell P, Lees AJ, Lees AJ, Lashley T, Lashley T, Quinn NP, Quinn NP, Rehncrona S, Rehncrona S, Björklund A, Björklund A, Widner H, Widner H, Revesz T, Revesz T, Lindvall O, Lindvall O, Brundin P, Brundin P (2008) Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nature medicine* 14:501–503. doi: 10.1038/nm1746
69. Li S, Jin M, Koeglsperger T, Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ (2011) Soluble A $\beta$  oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31:6627–6638. doi: 10.1523/jneurosci.0203-11.2011
70. Li S, Jin M, Liu L, Dang Y, Ostaszewski BL, Selkoe DJ (2018) Decoding the synaptic dysfunction of bioactive human AD brain soluble A $\beta$  to inspire novel therapeutic avenues for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 6:121–16. doi: 10.1186/s40478-018-0626-x
71. Li S, Jin M, Zhang D, Yang T, Koeglsperger T, Fu H, Selkoe DJ (2013) Environmental novelty activates  $\beta$ 2-adrenergic signaling to prevent the impairment of hippocampal LTP by A $\beta$  oligomers. *Neuron* 77:929–941. doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.040
72. Li S, Shankar GM, Selkoe DJ (2010) How do Soluble Oligomers of Amyloid beta-protein Impair Hippocampal Synaptic Plasticity? *Frontiers in cellular neuroscience* 4:5. doi: 10.3389/fncel.2010.00005
73. Liao W, Du Y, Zhang C, Pan F, Yao Y, Zhang T, Peng Q (2019) Exosomes: The next generation of endogenous nanomaterials for advanced drug delivery and therapy. *Acta biomaterialia* 86:1–14. doi: 10.1016/j.actbio.2018.12.045
74. Liss B, Haeckel O, Wildmann J, Miki T, Seino S, Roeper J (2005) K-ATP channels promote the differential degeneration of dopaminergic midbrain neurons. *Nature Neuroscience* 8:1742–1751. doi: 10.1038/nn1570
75. Liss B, Roeper J (2010) Ion Channels and Regulation of Dopamine Neuron Activity. *Oxford Scholarship Online*, pp 1–21
76. Long JM, Holtzman DM (2019) Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. *Cell* 179:312–339. doi: 10.1016/j.cell.2019.09.001
77. Lopez JAS, González HM, Léger GC (2019) Chapter 13 Alzheimer's disease. *Handb Clin Neurology* 167:231–255. doi: 10.1016/b978-0-12-804766-8.00013-3
78. Lott IT, Head E (2005) Alzheimer disease and Down syndrome: factors in pathogenesis. *Neurobiol Aging* 26:383–389. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2004.08.005

79. Luk KC, Kehm V, Carroll J, Zhang B, O'Brien P, Trojanowski JQ, Lee VM (2012) Pathological alpha-synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science (New York, NY)* 338:949–953. doi: 10.1126/science.1227157
80. Mackenzie IRA, Neumann M, Bigio EH, Cairns NJ, Alafuzoff I, Kril J, Kovacs GG, Ghetti B, Halliday G, Holm IE, Ince PG, Kamphorst W, Revesz T, Rozemuller AJM, Kumar-Singh S, Akiyama H, Baborie A, Spina S, Dickson DW, Trojanowski JQ, Mann DMA (2009) Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: an update. *Acta Neuropathol* 119:1. doi: 10.1007/s00401-009-0612-2
81. Masi A, Narducci R, Resta F, Carbone C, Kobayashi K, Mannaioni G (2015) Differential contribution of Ih to the integration of excitatory synaptic inputs in substantia nigra pars compacta and ventral tegmental area dopaminergic neurons. *The European journal of neuroscience* 42:2699–2706. doi: 10.1111/ejn.13066
82. Massey PV, Johnson BE, Moulton PR, Auberson YP, Brown MW, Molnar E, Collingridge GL, Bashir ZI (2004) Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in cortical long-term potentiation and long-term depression. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 24:7821–7828. doi: 10.1523/jneurosci.1697-04.2004
83. McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther K, Bush AI, Masters CL (1999) Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 46:860–866
84. Nalls MA, Blauwendraat C, Vallerga CL, Heilbron K, Bandres-Ciga S, Chang D, Tan M, Kia DA, Noyce AJ, Xue A, Bras J, Young E, Coelln R von, Simón-Sánchez J, Schulte C, Sharma M, Krohn L, Pihlstrøm L, Siitonen A, Iwaki H, Leonard H, Faghri F, Gibbs JR, Hernandez DG, Scholz SW, Botia JA, Martinez M, Corvol J-C, Lesage S, Jankovic J, Shulman LM, Sutherland M, Tienari P, Majamaa K, Toft M, Andreassen OA, Bangale T, Brice A, Yang J, Gan-Or Z, Gasser T, Heutink P, Shulman JM, Wood NW, Hinds DA, Hardy JA, Morris HR, Gratten J, Visscher PM, Graham RR, Singleton AB, Team 23andMe Research, Consortium SG of PD, Consortium IPDG, Adames-Gómez AD, Aguilar M, Aitkulova A, Akhmetzhanov V, Alcalay RN, Alvarez I, Alvarez V, Bandres-Ciga S, Barrero FJ, Yarza JAB, Bernal-Bernal I, Billingsley K, Blauwendraat C, Blazquez M, Bonilla-Toribio M, Botía JA, Bongiorno MT, Bras J, Brice A, Brockmann K, Bubb V, Buiza-Rueda D, Cámara A, Carrillo F, Carrión-Claro M, Cerdan D, Chelban V, Clarimón J, Clarke C, Compta Y, Cookson MR, Corvol J-C, Craig DW, Danjou F, Diez-Fairen M, Dols-Icardo O, Duarte C, Duran R, Escamilla-Sevilla F, Escott-Price V, Ezquerra M, Faghri F, Feliz C, Fernández M, Fernández-Santiago R, Finkbeiner S, Foltynie T, Gan-Or Z, Garcia C, García-Ruiz P, Gasser T, Gibbs JR, Heredia MJG, Gómez-Garre P, González MM, Gonzalez-Aramburu I, Guelfi S, Guerreiro R, Hardy J, Hassin-Baer S, Hernandez DG, Heutink P, Hoenicka J, Holmans P, Houlden H, Infante J, Iwaki H, Jesús S, Jimenez-Escrig A, Kaishybayeva G, Kaiyrzhanov R, Karimova A, Kia DA, Kinghorn KJ, Koks S, Krohn L, Kulisevsky J, Labrador-Espinosa MA, Leonard HL, Lesage S, Lewis P, Lopez-Sendon JL, Lovering R, Lubbe S, Lungu C, Macias D, Majamaa K, Manzoni C, Marín J, Marinus J, Marti MJ, Martinez M, Torres IM, Martínez-Castrillo JC, Mata M, Mencacci NE, Méndez-del-Barrio C, Middlehurst B, Mínguez A, Mir P, Mok KY, Morris HR, Muñoz E, Nalls MA, Narendra D, Noyce AJ, Ojo OO, Okubadejo NU, Pagola AG, Pastor P, Errazquin FP, Perrián-Tocino T, Pihlstrom L, Plun-Favreau H, Quinn J, R'Bibo L, Reed X, Rezola EM, Rizig M, Rizzu P, Robak L, Rodriguez AS, Rouleau GA, Ruiz-Martínez J, Ruz C, Ryten M, Sadykova D, Scholz SW, Schreglmann S, Schulte C, Sharma M, Shashkin C, Shulman JM, Sierra M, Siitonen A, Simón-Sánchez J, Singleton AB, Suarez-Sanmartin E, Taba P, Taberner C, Tan MX, Tartari JP, Tejera-Parrado C, Toft M, Tolosa E, Trabzuni D, Valdeoriola F, Hilten JJ van, Keuren-Jensen KV, Vargas-González L, Vela L, Vives F, Williams N, Wood NW, Zharkinbekova N, Zharmukhanov Z, Zhodybayeva E, Zimprich A, Ylikotila P, Shulman LM, Coelln R von, Reich S, Savitt J, Agee M, Alipanahi B, Auton A, Bell RK, Bryc K, Elson SL, Fontanillas P, Furlotte NA, Huber KE, Hicks B, Jewett EM, Jiang Y, Kleinman A, Lin K-H, Litterman NK, McCreight JC, McIntyre MH, McManus KF, Mountain JL, Noblin ES, Northover CAM, Pitts SJ, Poznik GD, Sathirapongsasuti JF, Shelton JF, Shringarpure S, Tian C, Tung J, Vacic V, Wang X, Wilson CH, Anderson T, Bentley S, Dalrymple-Alford J, Fowdar J, Gratten J, Halliday G, Henders AK, Hickie I, Kassam I, Kennedy M, Kwok J, Lewis S, Mellick G, Montgomery G, Pearson J, Pitcher T, Sidorenko J, Silburn PA, Vallerga CL, Visscher PM, Wallace L, Wray NR, Xue A, Yang J, Zhang F (2019) Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurology* 18:1091–1102. doi: 10.1016/s1474-4422(19)30320-5

85. Nalls MA, Pankratz N, Lill CM, Do CB, Hernandez DG, Saad M, DeStefano AL, Kara E, Bras J, Sharma M, Schulte C, Keller MF, Arepalli S, Letson C, Edsall C, Stefansson H, Liu X, Pliner H, Lee JH, Cheng R, (IPDGC) IPDGC, (PROGENI) PSG (PSG) PRTOGenI, 23andMe, GenePD, (NGRC) NRC, (HIHG) HI of HG, Investigator AJD, (CHARGE) C for H and AR in GE, (NABEC) NABEC, (UKBEC) UKBEC, Consortium GPD, Group AGA, Ikram MA, Ioannidis JPA, Hadjigeorgiou GM, Bis JC, Martinez M, Perlmutter JS, Goate A, Marder K, Fiske B, Sutherland M, Xiromerisiou G, Myers RH, Clark LN, Stefansson K, Hardy JA, Heutink P, Chen H, Wood NW, Houlden H, Payami H, Brice A, Scott WK, Gasser T, Bertram L, Eriksson N, Foroud T, Singleton AB (2014) Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nature genetics* 46:989–993. doi: 10.1038/ng.3043
86. Neumann U, Ufer M, Jacobson LH, Rouzade-Dominguez M, Huledal G, Kolly C, Löönd RM, Machauer R, Veenstra SJ, Hurth K, Rueeger H, Tintelnot-Blomley M, Staufienbiel M, Shimshek DR, Perrot L, Frieauff W, Dubost V, Schiller H, Vogg B, Beltz K, Avrameas A, Kretz S, Pezous N, Rondeau J, Beckmann N, Hartmann A, Vormfelde S, David OJ, Galli B, Ramos R, Graf A, Lopez CL (2018) The BACE-1 inhibitor CNP520 for prevention trials in Alzheimer's disease. *Embo Mol Med* 10. doi: 10.15252/emmm.201809316
87. Njavro JR, Klotz J, Dislich B, Wanngren J, Shmueli MD, Herber J, Kuhn P, Kumar R, Koeglsperger T, Conrad M, Wurst W, Feederle R, Vlachos A, Michalakis S, Jedlicka P, Müller SA, Lichtenthaler SF (2020) Mouse brain proteomics establishes MDGA1 and CACHD1 as in vivo substrates of the Alzheimer protease BACE1. *Faseb J* 34:2465–2482. doi: 10.1096/fj.201902347r
88. Okamura H, Otani M, Shimoyama N, Fujii T (2018) Combined Exercise and Cognitive Training System for Dementia Patients: A Randomized Controlled Trial. *Dement Geriatr Cogn* 45:318–325. doi: 10.1159/000490613
89. Osterweil EK, Krueger DD, Reinhold K, Bear MF (2010) Hypersensitivity to mGluR5 and ERK1/2 leads to excessive protein synthesis in the hippocampus of a mouse model of fragile X syndrome. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 30:15616–15627. doi: 10.1523/jneurosci.3888-10.2010
90. Pacelli C, Giguère N, Bourque M-J, Lévesque M, Slack RS, Trudeau L-É (2015) Elevated Mitochondrial Bioenergetics and Axonal Arborization Size Are Key Contributors to the Vulnerability of Dopamine Neurons. *Current biology: CB* 25:2349–2360. doi: 10.1016/j.cub.2015.07.050
91. Panza F, Lozupone M, Seripa D, Imbimbo BP (2019) Amyloid- $\beta$  immunotherapy for alzheimer disease: Is it now a long shot? *Ann Neurol* 85:303–315. doi: 10.1002/ana.25410
92. Peelaerts W, Bousset L, Perren AV der, Moskalyuk A, Pulizzi R, Giugliano M, Haute CV den, Melki R, Baekelandt V (2015)  $\alpha$ -Synuclein strains cause distinct synucleinopathies after local and systemic administration. *Nature* 522:340–344. doi: 10.1038/nature14547
93. Pfeiffer RF (2018) Gastrointestinal Dysfunction in Parkinson's Disease. *Current treatment options in neurology* 20:54. doi: 10.1007/s11940-018-0539-9
94. Philippart F, Destreel G, Merino-Sepulveda P, Henny P, Engel D, Seutin V (2016) Differential Somatic Ca<sup>2+</sup> Channel Profile in Midbrain Dopaminergic Neurons. *Journal of Neuroscience* 36:7234–7245. doi: 10.1523/jneurosci.0459-16.2016
95. Pignoni M, Hsia H-E, Hartmann J, Njavro JR, Shmueli MD, Müller SA, Güner G, Tüshaus J, Kuhn P-H, Kumar R, Gao P, Tran ML, Ramazanov B, Blank B, Ederveen ALH, Blume JV, Mülle C, Gunnensen JM, Wuhrer M, Rammes G, Busche MA, Koeglsperger T, Lichtenthaler SF (2020) Seizure protein 6 controls glycosylation and trafficking of kainate receptor subunits GluK2 and GluK3. *Embo J* e103457. doi: 10.15252/embj.2019103457
96. Polanco JC, Li C, Durisic N, Sullivan R, Götz J (2018) Exosomes taken up by neurons hijack the endosomal pathway to spread to interconnected neurons. *Acta Neuropathologica Communications* 6:10. doi: 10.1186/s40478-018-0514-4

97. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Iorio GD, Golbe LI, Nussbaum RL (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science (New York, NY)* 276:2045–2047
98. Priller C, Bauer T, Mitteregger G, Krebs B, Kretschmar HA, Herms J (2006) Synapse Formation and Function Is Modulated by the Amyloid Precursor Protein. *J Neurosci* 26:7212–7221. doi: 10.1523/jneurosci.1450-06.2006
99. Qin M (2005) Postadolescent Changes in Regional Cerebral Protein Synthesis: An In Vivo Study in the Fmr1 Null Mouse. *Journal of Neuroscience* 25:5087–5095. doi: 10.1523/jneurosci.0093-05.2005
100. Qin M, Schmidt KC, Zametkin AJ, Bishu S, Horowitz LM, Burlin TV, Xia Z, Huang T, Quezado ZM, Smith CB (2013) Altered cerebral protein synthesis in fragile X syndrome: studies in human subjects and knockout mice. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 33:499–507. doi: 10.1038/jcbfm.2012.205
101. Recasens A, Dehay B, Bové J, Carballo-Carbajal I, Dovero S, Pérez-Villalba A, Fernagut P-O, Blesa J, Parent A, Perier C, Fariñas I, Obeso JA, Bezard E, Vila M (2014) Lewy body extracts from Parkinson disease brains trigger  $\alpha$ -synuclein pathology and neurodegeneration in mice and monkeys. *Annals of Neurology* 75:351–362. doi: 10.1002/ana.24066
102. Rey NL, Steiner JA, Maroof N, Luk KC, Madaj Z, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Brundin P (2016) Widespread transneuronal propagation of  $\alpha$ -synucleinopathy triggered in olfactory bulb mimics prodromal Parkinson's disease. *The Journal of experimental medicine* 213:1759–1778. doi: 10.1084/jem.20160368
103. Richter JD, Bassell GJ, Klann E (2015) Dysregulation and restoration of translational homeostasis in fragile X syndrome. *Nature reviews Neuroscience* 16:595–605. doi: 10.1038/nrn4001
104. Riganti L, Antonucci F, Gabrielli M, Prada I, Giussani P, Viani P, Valtorta F, Menna E, Matteoli M, Verderio C (2016) Sphingosine-1-Phosphate (S1P) Impacts Presynaptic Functions by Regulating Synapsin I Localization in the Presynaptic Compartment. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 36:4624–4634. doi: 10.1523/jneurosci.3588-15.2016
105. Routh BN, Johnston D, Brager DH (2013) Loss of functional A-type potassium channels in the dendrites of CA1 pyramidal neurons from a mouse model of fragile X syndrome. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 33:19442–19450. doi: 10.1523/jneurosci.3256-13.2013
106. Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, Arai T, Kazama H, Hosoi T, Yamanouchi H, Murayama S (2004) Lewy Body-Related  $\alpha$ -Synucleinopathy in Aging. *J Neuropathology Exp Neurology* 63:742–749. doi: 10.1093/jnen/63.7.742
107. Saman S, Kim W, Raya M, Visnick Y, Miro S, Saman S, Jackson B, McKee AC, Alvarez VE, Lee NCY, Hall GF (2012) Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease. *The Journal of biological chemistry* 287:3842–3849. doi: 10.1074/jbc.m111.277061
108. Selkoe DJ, Hardy J (2016) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO molecular medicine* 8:595–608. doi: 10.15252/emmm.201606210
109. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, Dunstan R, Salloway S, Chen T, Ling Y, O'Gorman J, Qian F, Arastu M, Li M, Chollate S, Brennan MS, Quintero-Monzon O, Scannevin RH, Arnold HM, Engber T, Rhodes K, Ferrero J, Hang Y, Mikulskis A, Grimm J, Hock C, Nitsch RM, Sandrock A (2016) The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer's disease. *Nature* 537:50–56. doi: 10.1038/nature19323

110. Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, Regan CM, Walsh DM, Sabatini BL, Selkoe DJ (2008) Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nature medicine* 14:837–842. doi: 10.1038/nm1782
111. Shi M, Liu C, Cook TJ, Bullock KM, Zhao Y, Ghingina C, Li Y, Aro P, Dator R, He C, Hipp MJ, Zabetian CP, Peskind ER, Hu S-C, Quinn JF, Galasko DR, Banks WA, Zhang J (2014) Plasma exosomal  $\alpha$ -synuclein is likely CNS-derived and increased in Parkinson's disease. *Acta neuropathologica* 128:639–650. doi: 10.1007/s00401-014-1314-y
112. Sian-Hulsmann J, Monoranu C, Strobel S, Riederer P (2015) Lewy Bodies: A Spectator or Salient Killer? *Cns Neurological Disord - Drug Targets* 14:947–955. doi: 10.2174/1871527314666150317225659
113. Simon-Sanchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, Paisan-Ruiz C, Lichtner P, Scholz SW, Hernandez DG, Krüger R, Federoff M, Klein C, Goate A, Perlmutter J, Bonin M, Nalls MA, Illig T, Gieger C, Houlden H, Steffens M, Okun MS, Racette BA, Cookson MR, Foote KD, Fernandez HH, Traynor BJ, Schreiber S, Arepalli S, Zonozi R, Gwinn K, Brug M van der, Lopez G, Chanock SJ, Schatzkin A, Park Y, Hollenbeck A, Gao J, Huang X, Wood NW, Lorenz D, Deuschl G, Chen H, Riess O, Hardy JA, Singleton AB, Gasser T (2009) Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nature genetics* 41:1308–1312. doi: 10.1038/ng.487
114. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muenter M, Baptista M, Miller D, Blancato J, Hardy J, Gwinn-Hardy K (2003) alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science (New York, NY)* 302:841–841. doi: 10.1126/science.1090278
115. Siomi H, Siomi MC, Nussbaum RL, Dreyfuss G (1993) The protein product of the fragile X gene, FMR1, has characteristics of an RNA-binding protein. *Cell* 74:291–298
116. Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P (2005) Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nature Neuroscience* 8:1051–1058. doi: 10.1038/nn1503
117. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M (1997) Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388:839–840. doi: 10.1038/42166
118. Surmeier DJ, Guzman JN, Sanchez-Padilla J, Schumacker PT (2011) The role of calcium and mitochondrial oxidant stress in the loss of substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Neuroscience* 198:221–231. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.045
119. Tan Y, Sgobio C, Arzberger T, Machleid F, Tang Q, Findeis E, Tost J, Chakroun T, Gao P, Höllerhage M, Bötzel K, Herms J, Höglinger G, Koeglspberger T (2019) Loss of fragile X mental retardation protein precedes Lewy pathology in Parkinson's disease. *Acta neuropathologica* 1–27. doi: 10.1007/s00401-019-02099-5
120. Thannickal TC, Lai Y-Y, Siegel JM (2007) Hypocretin (orexin) cell loss in Parkinson's disease. *Brain: a journal of neurology* 130:1586–1595. doi: 10.1093/brain/awm097
121. Vassar R (2019) Editorial: Implications for BACE1 Inhibitor Clinical Trials: Adult Conditional BACE1 Knockout Mice Exhibit Axonal Organization Defects in the Hippocampus. *The journal of prevention of Alzheimer's disease* 6:78–84. doi: 10.14283/jpad.2019.3
122. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M (1999) Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science (New York, NY)* 286:735–741. doi: 10.1126/science.286.5440.735

123. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Reiner O, Richards S, Victoria MF, Zhang FP (1991) Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 65:905–914
124. Visanji NP, Marras C, Kern DS, Dakheel AA, Gao A, Liu LWC, Lang AE, Hazrati L-N (2015) Colonic mucosal  $\alpha$ -synuclein lacks specificity as a biomarker for Parkinson disease. *Neurology* 84:609–616. doi: 10.1212/wnl.0000000000001240
125. Wenk GL (2003) Neuropathologic changes in Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 64 Suppl 9:7–10
126. Willem M, Garratt AN, Novak B, Citron M, Kaufmann S, Rittger A, DeStrooper B, Saftig P, Birchmeier C, Haass C (2006) Control of peripheral nerve myelination by the beta-secretase BACE1. *Science (New York, NY)* 314:664–666. doi: 10.1126/science.1132341
127. Yoshihara M, Adolfsen B, Galle KT, Littleton JT (2005) Retrograde signaling by Syt 4 induces presynaptic release and synapse-specific growth. *Science (New York, NY)* 310:858–863. doi: 10.1126/science.1117541
128. Zhang Y, Bonnan A, Bony G, Ferezou I, Pietropaolo S, Ginger M, Sans N, Rossier J, Oostra B, LeMasson G, Frick A (2014) Dendritic channelopathies contribute to neocortical and sensory hyperexcitability in *Fmr1(-/y)* mice. *Nature Neuroscience* 17:1701–1709. doi: 10.1038/nn.3864
129. Zhu K, Xiang X, Filser S, Marinković P, Dorostkar MM, Crux S, Neumann U, Shimshek DR, Rammes G, Haass C, Lichtenthaler SF, Gunnarsen JM, Herms J (2018) Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 Inhibition Impairs Synaptic Plasticity via Seizure Protein 6. *Biological psychiatry* 83:428–437. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.12.023

## A.7. Verzeichnis der eigenen Veröffentlichungen

1. Koeglsperger T, Li S, Brenneis C, Saulnier JL, Mayo L, Carrier Y, Selkoe DJ, Weiner HL (2013) Impaired glutamate recycling and GluN2B-mediated neuronal calcium overload in mice lacking TGF- $\beta$ 1 in the CNS. *Glia* 61:985–1002. doi: **10.1002/glia.22490**
2. Li S, Jin M, Koeglsperger T, Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ (2011) Soluble A $\beta$  oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31:6627–6638. doi: **10.1523/jneurosci.0203-11.2011**
3. Li S, Jin M, Zhang D, Yang T, Koeglsperger T, Fu H, Selkoe DJ (2013) Environmental novelty activates  $\beta$ 2-adrenergic signaling to prevent the impairment of hippocampal LTP by A $\beta$  oligomers. *Neuron* 77:929–941. doi: **10.1016/j.neuron.2012.12.040**
4. Pighi M, Hsia H-E, Hartmann J, Njavro JR, Shmueli MD, Müller SA, Güner G, Tüshaus J, Kuhn P-H, Kumar R, Gao P, Tran ML, Ramazanov B, Blank B, Ederveen ALH, Blume JV, Mülle C, Gunnensen JM, Wührer M, Rammes G, Busche MA, Koeglsperger T, Lichtenthaler SF (2020) Seizure protein 6 controls glycosylation and trafficking of kainate receptor subunits GluK2 and GluK3. *Embo J* e103457. doi: **10.15252/embj.2019103457**
5. Tan Y, Sgobio C, Arzberger T, Machleid F, Tang Q, Findeis E, Tost J, Chakroun T, Gao P, Höllerhage M, Bötzel K, Herms J, Höglinger G, Koeglsperger T (2019) Loss of fragile X mental retardation protein precedes Lewy pathology in Parkinson's disease. *Acta neuropathologica* 1–27. doi: **10.1007/s00401-019-02099-5**
6. Kumar R, Donakonda S, Müller SA, Lichtenthaler SF, Bötzel K, Höglinger GU, Koeglsperger T (2020) Basic Fibroblast Growth Factor 2-Induced Proteome Changes Endorse Lewy Body Pathology in Hippocampal Neurons. *Iscience* 23:101349. doi: **10.1016/j.isci.2020.101349**
7. Kumar R, Tang Q, Müller SA, Gao P, Mahlstedt D, Zampagni S, Tan Y, Klingl A, Bötzel K, Lichtenthaler SF, Höglinger GU, Koeglsperger T (2020) Fibroblast Growth Factor 2-Mediated Regulation of Neuronal Exosome Release Depends on VAMP3/Cellubrevin in Hippocampal Neurons. *Adv Sci* 7:1902372. doi: **10.1002/adv.201902372**
8. Kurz A, Kumar R (2021) Differential expression of gut miRNAs in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat D*; <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.05.022>



## **B. Danksagung**

Herzlich bedanken möchte ich mich zuerst bei Frau **Professor Marianne Diederich**, Direktorin der Neurologischen Klinik und Poliklinik, die mich über die gesamte Zeit meiner Ausbildung sowohl fachlich als auch menschlich sehr stark unterstützt hat.

Zudem gilt mein besonderer Dank Herrn **Professor Kai Bötzel**. Seine überaus unterstützende und hilfreiche Art hat mir einen wunderbaren Einstieg in die Welt der Bewegungsstörungen und der Tiefen Hirnstimulation ermöglicht.

Herrn **Professor Günter Höglinger** und Herrn **Professor Jochen Herms** danke ich ebenfalls herzlich für die materielle wie immaterielle Unterstützung und Supervision während meiner Zeit am Deutschen Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen.

Herrn **Professor Beat Lutz** war mein Doktorvater am Max-Planck-Institut für Psychiatrie; ihm danke ich für seine fundierte Ausbildung und die Begeisterung für experimentelle Forschung, die er mir vermittelt hat.

Herr **Dr. Howard Weiner**, Robert Kroc Professor of Neurology, Harvard Medical School gilt mein besonderer Dank für seine Unterstützung während meines Postdoktorates.

Außerdem möchte ich allen an den Publikationen beteiligten Studenten und Doktoranden meiner Arbeitsgruppe. Besonders erwähnt werden sollen hier Herr Yi Tan, Herr Rohit Kumar, Herr Qilin Tang, Herr Pan Gao, Frau Anna Kurz sowie Herr Felix Machleid.

Schließlich und ganz besonders herzlich danke ich meinen **Eltern**, Thomas und Brigitte sowie meiner **Familie** mit Marie, Benno M. und Antonia M. für Ihre Liebe und Unterstützung.

