

Aus dem Institut für Anatomie II

Der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktorin: Prof. Dr. Charlotte von Gall

**Analyse des zirkadianen Taktgebers in TgDimer-Mäusen als Modell für das frühe
Stadium der Alzheimer-Erkrankung**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Umay Alak

2026

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Univ.-Prof. Dr. phil. nat. Charlotte von Gall

Zweitgutachter: Prof. Dr. Carsten Korth

Für meine Eltern

Ayfer und Yasar Alak

Danke für eure ewige Unterstützung

Zusammenfassung

Die Alzheimer-Erkrankung (AD) ist die häufigste Demenzerkrankung, die weltweit Millionen von Menschen betrifft und deren Prävalenz zukünftig weiter zunehmen wird. AD ist durch kognitive Beeinträchtigungen wie Gedächtnisverlust gekennzeichnet, umfasst aber auch nicht-kognitive Veränderungen wie Störungen des zirkadianen Systems. Obwohl die genauen Mechanismen der Alzheimer-Pathogenese noch nicht vollständig verstanden sind, spielen fehlgefaltete Amyloid- β (A β)- und Tau-Proteine eine zentrale Rolle, die sich im Gehirn als Amyloid-Plaques und Tau-Fibrillen ablagern und neurotoxisch wirken. Neue Erkenntnisse weisen darauf hin, dass auch die löslichen Amyloid-Formen neurotoxisch wirken und Gehirnfunktionen beeinträchtigen können. In der transgenen Maus (TgDimer) werden ausschließlich lösliche A β -Dimere produziert, die weder Plaques bilden, noch Anzeichen von Tau-Hyperphosphorylierung, Neuroinflammation oder Neurodegeneration aufweisen. Sie eignet sich daher besonders als AD-Mausmodell, um gezielt den Einfluss löslicher A β -Formen, wie sie im Frühstadium der Alzheimer-Erkrankung auftreten, auf die Gehirnfunktion zu untersuchen. In dieser Arbeit untersuchten wir die Funktionen des zirkadianen Systems bei TgDimer-Mäusen, indem wir die rhythmische lokomotorische Spontanaktivität mittels Infrarotdetektor erfassten und Marker für die lichtinduzierte neuronale Aktivität (c-FOS), ein Uhrengenprotein (PER1), sowie Astrozyten (GFAP) im zirkadianen Rhythmusgenerator, dem Nucleus suprachiasmaticus (SCN), mithilfe von Immunhistochemie analysierten. Die TgDimer-Maus zeigte eine gesteigerte Aktivität in der frühen Licht-/Inaktivitätsphase im Vergleich zur Wildtyp-Maus. Dies ähnelt der nächtlichen Überaktivität bei Personen mit AD. Die c-FOS -Immunreaktion (IR) im SCN war zwischen den Genotypen nicht unterschiedlich, was darauf hindeutet, dass die lichtinduzierte neuronale Aktivität nicht durch die A β -Dimere beeinträchtigt ist. Allerdings waren sowohl die PER1- als auch die GFAP-Immunreaktion im SCN der TgDimer-Mäusen verändert. Dies deutet darauf hin, dass die A β -Dimere das molekulare Uhrwerk und die Astrozytenfunktion im SCN beeinflussen. Ein besseres Verständnis dieser Mechanismen könnte neue Therapieansätze für Personen mit AD ermöglichen.

Summary

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia, affecting millions of people worldwide, and its prevalence is set to increase in the future. AD is characterized by cognitive impairments such as memory loss, but also includes non-cognitive changes such as disturbances of the circadian system. Although the exact mechanisms of Alzheimer's pathogenesis are not yet fully understood, misfolded amyloid- β (A β) and tau proteins play a central role, accumulating in the brain as amyloid plaques and tau fibrils and exerting neurotoxic effects. New findings indicate that soluble forms of amyloid also have neurotoxic effects and can impair brain function. In the transgenic mouse (TgDimer), only soluble A β dimers are produced, which neither form plaques nor show signs of tau hyperphosphorylation, neuroinflammation, or neurodegeneration. It is therefore particularly suitable as an AD mouse model for specifically investigating the influence of soluble A β forms, as they occur in the early stages of Alzheimer's disease, on brain function. In this study, we investigated the functions of the circadian system in TgDimer mice by recording rhythmic spontaneous locomotor activity using an infrared detector and measuring light-induced neuronal activity (c-FOS), the molecular clock (PER1), and astrocyte activity (GFAP) in the circadian rhythm generator, the suprachiasmatic nucleus (SCN), using immunohistochemistry. The TgDimer mouse showed increased activity in the early light/inactivity phase compared to the wild-type mouse. This is similar to the nocturnal hyperactivity seen in people with AD. The c-FOS immune response (IR) in the SCN did not differ between genotypes, suggesting that light-induced neuronal activity is not impaired by A β dimers. However, both PER1 and GFAP IR were altered in the SCN of TgDimer mice. This suggests that A β dimers influence the molecular clockwork and astrocyte function in the SCN. A better understanding of these mechanisms could enable new therapeutic approaches for individuals with AD.

Abkürzungsverzeichnis

Ach	Acetylcholin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AD	Alzheimer Erkrankung
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
APP	Amyloid-Precursor Protein
ARNT	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator
AVP	Arginin-Vasopressin
A β	Amyloid beta
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
BMAIL1	Brain and muscle arnt-like protein 1
bmal1	Protein: BMAL1, Gen: bmal1
CamKII	calcium/calmodulin-dependent protein kinase typ
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CREB	cAMP response element-binding protein
DD	Dauer-Dunkelheit
DWLN	Dim Light at Night
mCry1/2	mCryptochrome 1/2
DBP	transkriptional activator-D site binding protein
DMH	Dorsomedialen Hypothalamuskern
DNA	Desoxiribonucleic acid, Desoxyribonucleinsäure
et al.	Et alli/ alliae, und weitere
E4BP4	E4 binding protein 4
GABA	gamma-Aminobutyric acid, γ -Aminobuttersäure
GFAP	Glial fibrillary acidic protein, saures Gliafaserprotein
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
GRP	Gastrin-releasing Peptid
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HPA	Hypothalamisch-hypophysär-adrenal
IGL	Intergeniculate leaflet
IR	Immunoreaktion
ipRGCs	Intrinsically photosensitive retinal ganglion cell
LANUV	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
Mrna	Messenger ribonucleic acid
NaCl	Natriumchloride
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NaOH	Natriumhydroxid
LD	Licht-Dunkel
RGCs	Retinalen Ganglienzellen
OT	Objektträger
PACAP	Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide
PBS	Phosphate buffered saline
PBS-T	Phosphate buffered saline+Titron-X100

PER1	Period Clock Protein 1
PFA	Paraformaldehyd
PhI	Peptid Histidin-Isoleucin
PKA	Protein kinase A
PSEN1/2	Presenilin-1/2
PVN	Paraventriculären Nukleus
RHT	Retinohypothalamic tract, Retinohypothalamischer Trakt
SCG	Obere zervikale Ganglion
SCN	Suprachiasmatischer Kern
TRH	Thyreotropin-Releasing-Hormon
VIP	Vasoaktives intestinales Polypeptid
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tier- schutzaufgaben
ZT02	Zeitgeber 02 = 2 Stunden nach dem Lichtansetzen
ZT14	Zeitgeber 14 = 2 Stunden nach dem Lichtausschalten

Einheiten

λ	Lambda, Wellenlänge
%	Prozent
°C	Grad Celsius
cm	Centimeter
min	Minute
ml	Milliliter
sec	Sekunde
V	Volt
μ l	Mikroliter

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Das zirkadiane System.....	1
1.1.1	Lichteingang in das zirkadiane System.....	1
1.1.2	Der Aufbau des SCN.....	5
1.1.3	Die zirkadiane Steuerung: Output des SCN.....	7
1.2	Das molekulare Uhrwerk.....	10
1.3	Alzheimer Erkrankung (AD).....	12
1.3.1	Der Zusammenhang zwischen AD und dem zirkadianen System.....	13
1.3.2	TgDimer- Maus-Modell.....	17
1.4	Hypothese.....	19
1.5	Material.....	20
1.5.1	Materialien.....	20
1.5.2	Versuchstiere und Versuchsaufbau.....	23
1.5.3	Lokomotorische Aktivitätsaufnahme mittels Infrarotdetektoren.....	24
1.5.4	Perfusion und Gehirnentnahme.....	25
1.5.5	Schneiden der Gehirne.....	26
1.6	Färbung.....	26
1.6.1	Immunhistochemische Färbungen.....	26
1.6.2	Immunofluoreszenz-Färbung.....	28
1.6.3	Bildaufnahme und -analyse.....	28
1.6.4	Statistische Analyse.....	30
2	Ergebnisse.....	31
2.1	Veränderung der spontanen lokomotorischen Aktivität in TgDimer-Mäusen.....	31
2.2	c-FOS-immunoreaktive Zellen als Marker für die lichtabhängige neuronale Aktivität im SCN in TgDimer-Mäusen.....	32
2.3	Veränderung des Uhrengenproteins PER1 im SCN von TgDimer-Mäusen.....	33
2.4	Veränderung der GFAP-Immunfluoreszenz im SCN als Marker für die Aktivität von Astrozyten in TgDimer-Mäusen.....	34
2.5	GFAP-Immunfluoreszenz im Neocortex und Hippocampus.....	36
3	Diskussion.....	39
3.1	Toxische Wirkung von löslichen A β	39
3.2	Rhythmus der spontanen lokomotorische Aktivität in TgDimer-Mäusen.....	40
3.3	Lichtinduzierte neuronale Aktivität im SCN.....	41
3.4	Rhythmische neuronale Aktivität im SCN.....	42
3.5	Astrozyten-Aktivität in TgDimer-Mäusen.....	43
4	Fazit.....	47

1 Einleitung

1.1 Das zirkadiane System

Zahlreiche Körperfunktionen unterliegen einem tageszeitlichen Rhythmus, der sich den umweltbedingten Schwankungen der Beleuchtungsverhältnisse anpasst (Korf & Gall, 2013). Dass der Rhythmus von Lebewesen nicht ausschließlich durch Sonnenlicht gesteuert wird, zeigte schon de Mairan, indem er beobachtete, dass Mimosa-Pflanzen auch dann weiterhin täglich in einem festen Rhythmus ihre Blätter bewegten, wenn sie von Licht- und Temperatursignalen isoliert waren (Ralph et al., 1990; Silver & Rainbow, 2013). Zwei Jahrhunderte später führten Wever und Aschoff ein Experiment durch, bei dem die freiwilligen Teilnehmer in unterirdischen Bunkern untergebracht wurden. Hier lebten sie wochenlang ohne Zugang zu Tageslicht, Uhren oder sozialen Zeitgebern. Die Ergebnisse zeigten, dass auch beim Menschen rhythmische Körperfunktionen auch ohne äußere Reize mit einer Periodenlänge von ungefähr 24 h weiterlaufen. Es zeigten sich Rhythmen in Körpertemperatur, Schlaf und Hormonspiegeln die bei den meisten Teilnehmenden etwa 25 Stunden betrugen (Von Aschoff & Wever, 1962). Dementsprechend scheint es auch beim Menschen eine innere Uhr zu geben, welche dem Organismus, unabhängig von äußeren Reizen, einen zirkadianen Rhythmus vorgibt. Bei Säugetieren ist diese innere Uhr eine zentrale Komponente im zirkadianen System, welches schon seit Jahrzehnten Gegenstand intensiver Forschung ist.

1.1.1 Lichteingang in das zirkadiane System

Bei Säugetieren ist das zirkadiane System hierarchisch organisiert und besteht aus einem zentralen zirkadianen Taktgeber, der den zirkadianen Rhythmus generiert, Lichteingangsstrukturen und Strukturen die rhythmische Signale erzeugen (Pittendrigh, 1993). Die Phasenlage und -länge der zirkadianen Rhythmen können vor allem durch Licht an die umweltbedingten Schwankungen der Beleuchtungsverhältnisse angepasst werden (Gooley et al., 2001), ein Vorgang der als Photoentrainment bezeichnet wird. Die Retina ist bei den Säugetieren das einzigelichtsensible Organ (Silver & Rainbow, 2013), welches Lichtreize aufnimmt und als elektrisches Signal weiter zum Gehirn leitet (Berson et al., 2002).

Die Retina beinhaltet Stäbchen und Zapfen als Lichtrezeptoren. Stäbchen enthalten Rhodopsin und sind darauf spezialisiert, Licht bei geringer Intensität zu detektieren. Sie sind somit für das Nachtsehen verantwortlich. Zapfen hingegen enthalten Photopsine und sind für das Tageslicht- und Farbsehen zuständig. Die Aktivierung beider Photorezeptortypen löst die Phototransduktion aus, woraufhin die Signale über das synaptische Endstück an bipolare und horizontale Zellen weitergeleitet werden und schließlich die retinalen Ganglienzellen (RGCs) erreichen (Fu & Yau, 2007). Die Axone der RGCs bilden den Sehnerv, der visuelle Informationen an verschiedene Zielstrukturen weiterleitet, darunter über das Corpus geniculatum laterale (LGN) an den visuellen Cortex, aber auch extragenikulär an den Nucleus suprachiasmaticus (SCN), an Mittelhirnareale und andere subkortikale Regionen (Hattar et al., 2002). Diese Strukturen verarbeiten extrinsische visuelle Reize und sind an der Deutung sowie der Verfolgung visueller Objekte und Muster beteiligt (Dhande & Huberman, 2014; Hattar et al., 2002). Daneben existieren extragenikuläre Projektionswege, die unabhängig von der bewussten visuellen Wahrnehmung wirken und primär nicht-visuelle Lichtinformationen verarbeiten. Hierzu zählen Projektionen zum SCN, der als zentraler zirkadianer Taktgeber fungiert, sowie zu weiteren subkortikalen Arealen wie der Oliva praetectalis (Pupillenlichtreflex), dem ventrolateralen präoptischen Areal (Schlaf-Wach-Regulation) und hypothalamischen sowie limbischen Strukturen (Hattar et al., 2002). Diese nicht-visuellen Signalwege werden durch melanopsinhaltige ipRGCs vermittelt, deren Axone neben dem SCN verschiedene Regionen des anterioren und lateralen Hypothalamus, das retrochiasmatische und perifornikale Areal sowie bestimmte thalamische Kerne erreichen. Außerdem enden einige ipRGCs im Nucleus habenularis, welcher wiederum in den präfrontalen Kortex projiziert und somit eine wichtige Rolle in der lichtbeeinflussten emotionalen Regulation spielt (Fernandez et al., 2018; Johnson et al., 1988; Mikkelsen & Vrang, 1994; Pickard, 1985).

Da bei einem Teil blinder Personen trotz fehlender Bildwahrnehmung weiterhin lichtabhängige physiologische Reaktionen beobachtet werden, wurde die Existenz zusätzlicher lichtempfindlicher retinaler Zellen unabhängig von Stäbchen und Zapfen postuliert. Nachfolgende Studien identifizierten eine kleine Subpopulation retinaler Ganglienzellen, die etwa 2 % aller Ganglienzellen ausmacht und selbstständig auf Licht reagieren kann.

Diese intrinsische Lichtempfindlichkeit beruht auf dem Photopigment Melanopsin, weshalb diese Zellen als intrinsisch photosensitive retinale Ganglienzellen bezeichnet werden (LeGates et al., 2014).

Eine Zellsubgruppe in RGCs (etwa 2%) enthalten das Photopigment Melanopsin und sind als Teil der zirkadianen Funktion in der Lage, unabhängig von Stäbchen und Zapfen, auf das Licht zu reagieren und werden daher als intrinsisch photosensitiven retinalen Ganglienzellen (ipRGCs) bezeichnet (LeGates et al., 2014).

Die ipRGCs lassen sich in fünf Subtypen (M1 bis M5) unterteilen, die sich in ihrer dendritischen Struktur, den Projektionszielen ihrer Axone, ihrem genetischen Ausdrucksmuster, ihrer elektrophysiologischen Eigenschaften sowie ihren jeweiligen Funktionen unterscheiden. M1-Zellen besitzen die höchste eigenständige Lichtempfindlichkeit, zeigen ein stärker depolarisiertes Ruhemembranpotenzial und feuern mit einer geringeren Frequenz. M2-Zellen zeichnen sich durch mittelgroße Somata und ausgedehnte, aber wenig verzweigte Dendriten, aus. Im Vergleich zu M1 zeigen sie kürzere Lichtantworten, verfügen jedoch über eine erhöhte Erregbarkeit, eine höhere Eingangsresistenz und eine ausgeprägtere Fähigkeit zur Frequenzmodulation, was sie gegenüber schwachen synaptischen Signalen empfindlicher macht. M3-Zellen ähneln bezüglich ihrer Soma-Größe und der dendritischen Komplexität den M2-Zellen, weisen jedoch moderate Lichtantworten mit anhaltender Depolarisation und wiederholtem Feuern auf. M4-Zellen sind durch große Somata und ausgedehnte, radial verzweigte Dendriten gekennzeichnet, während M5-Zellen kleinere Zellkörper sowie eine gleichmäßig verzweigte dendritische Arborisation aufweisen. Die Subtypen M3 bis M5 weisen eine größere elektrophysiologische Diversität auf, was auf spezialisierte Funktionen sowohl im nicht-bildgebenden Bereich als auch bei der Verarbeitung visueller Muster hindeutet (Ecker et al., 2010; Hu et al., 2013; Schmidt, Chen, et al., 2011; Schmidt & Kofuji, 2009). Neben der intrinsischen Lichtwahrnehmung integrieren ipRGCs auch Signale von Stäbchen und Zapfen und verbinden diese mit ihren langsameren, melanopsinvermittelten Antworten (Schmidt, Do, et al., 2011).

Die Axone der ipRGCs bilden unter anderem den retinohypothalamischen Trakt (RHT), welcher von Retina bis zum SCN, dem übergeordnetem Rhythmusgenerator, im Hypothalamus verläuft. Innerhalb des SCN enden die Fasern vorrangig im ventrolateralen Bereich, während der dorsomediale Anteil weniger stark innerviert ist (Moore et al., 1995).

Diese Projektionen übermitteln unabhängig von der visuellen Bildwahrnehmung Lichtinformationen, die für die Steuerung zirkadianer Prozesse von zentraler Bedeutung sind (Hannibal et al., 2002).

Genetisch veränderte Mäuse, denen Stäbchen und Zapfen fehlten, waren in der Lage Licht zu erkennen und ihre zirkadiane Funktion zu behalten. Bei Mäusen, denen zusätzlich Melanopsin fehlte, waren jedoch alle Lichtreaktionen aufgehoben, was die Rolle der Melanopsin-exprimierenden ipRGCs beim nicht bildgebenden Sehen bestätigt (Fu & Yau, 2007; Fu et al., 2005; Pickard & Sollars, 2012)

Die ipRGCs nutzen den Transmitter Glutamat und das pituitär adenylyl cyclase-aktivierende Polypeptid (PACAP), um das Lichtsignal zum SCN zu vermitteln (Korf & Gall, 2013). Bei Lichteinwirkung wird Glutamat aus den synaptischen Bläschen der Axonen der RHT freigesetzt (Reppert & Weaver, 2002). Im SCN führt die Bindung von Glutamat an den NMDA-Rezeptoren zur Aktivierung einer Signalkaskade, die den Einstrom von Kalziumionen (Ca^{2+}) in die Nervenzellen und damit deren Aktivierung auslöst. Parallel dazu aktiviert PACAP über PACAP-R1-Rezeptoren die Bildung von cAMP (Chen et al., 1999; Hannibal et al., 1997; Krajnak & Lillis, 2002). PACAP erhöht die Leitfähigkeit von L-Typ Kalziumkanälen in SCN-Neuronen, um die intrazelluläre Kalziumantwort auf Glutamat zu verstärken (Dziema & Obrietan, 2002). Das einströmende Kalzium aktiviert eine Reihe von Kinasen. Darunter fallen die Proteinkinase A (PKA), Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinase (MAPK) und Calcium/Calmodulin-abhängige Proteinkinase II (CamKII). In der Folge wird der p44/42 MAPK-Signalweg stimuliert, was zur Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors cAMP response element-binding protein (CREB) führt und die Expression von c-Fos, einem Marker für neuronale Aktivität, erhöht. Zusätzlich wird die Expression des Uhrengens Per1 angeregt, was zur lichtabhängigen Rückstellung der inneren Uhr in SCN-Neuronen beiträgt (von Gall, 2022).

Neben der direkten Weiterleitung des retinalen Signals über den RHT, gelangen ebenfalls indirekte photische Information vom IGL über den GHT, der Neuropeptid Y und Gamma-Aminobuttersäure (GABA) als Neurotransmitter einsetzt, zum SCN (Biello et al., 1997; Hannibal et al., 2002). Nicht-photische Signale werden an den SCN über die serotonergen Neuronen des dorsalen und medialen Raphekerns geleitet (Dibner et al., 2010). Durch diese Signalwege kann die Expression der Uhrengene moduliert und damit auch die Periodenlänge beeinflusst werden (Le Minh et al., 2001).

1.1.2 Der Aufbau des SCN

Das zirkadiane System ist hierarchisch aufgebaut, bei dem der SCN als übergeordneter zirkadianer Taktgeber fungiert (von Gall, 2022). Der SCN ist eine bilaterale Struktur, bestehend aus zwei symmetrischen beidseitig am dritten Ventrikel liegenden Kernen mit etwa 10.000 Neuronen, die eng miteinander verbunden sind und eine koordinierte Aktivität ermöglichen (Silver & Kriegsfeld, 2014). Funktionell und anatomisch wird der SCN in zwei Hauptregionen unterteilt.

Die Kern-Region befindet sich im ventralen SCN und erhält direkte Afferenzen vom RHT. Die Neuronen in diesem Bereich exprimieren vasoaktives intestinales Peptid (VIP) und Peptid Histidin-Isoleucin (PhI). Sie reagieren besonders sensibel auf äußere Lichtsignale und sind daher entscheidend für die Anpassung der inneren Uhr an die Umweltveränderungen. Die Lichtexposition führt zu einer gesteigerten Aktivität der VIP-produzierenden Neuronen im SCN und erhöht gleichzeitig die Freisetzung von VIP. VIP bindet an seine spezifischen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, VPAC 1,2 (Dickson & Finlayson, 2009), was zu einer lichtinduzierten Phasenverschiebung und der Aufrechterhaltung eines kohärenten rhythmischen Feuerns innerhalb der SCN-Neurone führt (Reghunandanan & Reghunandanan, 2006). Die lichtabhängige Aktivierung der VIP-Neurone ist bei Dämmerung besonders ausgeprägt. Eine chronische Lichtexposition hingegen kann zu Störungen des zirkadianen Rhythmus führen, wodurch die neuronale Aktivität der VIP-Zellen ihre Rhythmizität verliert (Dziema & Obrietan, 2002).

Die Schalen-Region, dessen Neuronen hauptsächlich Arginin-Vasopressin (AVP) exprimieren, liegt dorsolateral im SCN und erhält keine direkten Lichtsignale. Die AVP-Neurone zeigen einen robusten zirkadianen Ausdruck, der durch CLOCK/BMAL 1 über die E-Box vermittelte Transkription vermittelt wird. Die AVP-Neuronen spielen eine entscheidende Rolle bei der Regulierung der Koordination des SCN-Netzwerks und sorgen für die Weitergabe der zirkadianen Rhythmen, da sie Signale an nachgeschaltete Strukturen im Hypothalamus projizieren und die Verbindung zwischen der zentralen zirkadianen Uhr und den peripheren Oszillatoren im Körper herstellen (Inouye & Shibata, 1994). AVP-Neuronen haben auch nicht-uhrenabhängige Funktionen wie beispielsweise das Durstverhalten (Gizowski et al., 2016). Andere Neuronen im SCN exprimieren Calretinin, gastrinfreisetzendes Peptid (GRP), einige wenige auch Enkephalin, Somatostatin

oder Substanz P. Darüber hinaus enthalten fast alle SCN-Neuronen GABA als Neurotransmitter, das sowohl hemmende als auch erregende Wirkungen vermitteln kann (Reghunandanan, 2024).

Läsionen des SCN führen zu einer vollständigen Aufhebung zirkadianer Rhythmen (Silver & Rainbow, 2013). Eine SCN Transplantation von Wildtyp-Hamstern mit einem etwa 24-stündigen Rhythmus in transgene Hamster, die eine verkürzte zirkadiane Periode von ca. 20 Stunden aufwiesen, zeigte, dass sich nach der Transplantation bei den zuvor kurzperiodischen Tieren ein stabiler 24-Stunden-Rhythmus einstellte, was die führende Rolle des SCN bei der Steuerung der zirkadianen Zeitgebung verdeutlicht (Ralph et al., 1990). Der SCN weist, auch ohne externe Zeitgeber, eine endogene rhythmische Funktion auf (Silver & Rainbow, 2013). Obwohl die innere Uhr in Abwesenheit äußerer Reize einen annähernd 24-stündigen Rhythmus generiert, entspricht die endogene Periodenlänge nicht exakt der astronomischen Tagesdauer (Korf & Gall, 2013). Daher ist eine regelmäßige Synchronisation durch Umweltreize notwendig, um eine präzise Abstimmung zwischen innerem Zeitgeber und äußerem Tag-Nacht-Zyklus zu gewährleisten.

Nicht nur der SCN besitzt die Fähigkeit, die zirkadiane Rhythmik zu organisieren. Die zirkadiane Rhythmik ist ein Zusammenspiel aus neuronaler und astrozytärer zirkadianer Uhren. Astrozyten besitzen im SCN molekulare Uhren, die auf der gleichen Grundlage wie neuronale Uhren funktionieren, jedoch phasenverschoben arbeiten (Brancaccio et al., 2019; Brancaccio et al., 2017; Tso et al., 2017). Während die neuronale Aktivität und die Clock-Gen Expression im SCN vorwiegend tagsüber ihr Maximum erreicht, findet die astrozytäre Clock-Gen Expression wie von *Cry1* überwiegend in der Nacht statt (Brancaccio et al., 2019). Astrozyten tragen aktiv zur Rhythmogenese bei, indem sie eigenständige zirkadiane Signale erzeugen, die das neuronale Netzwerk des SCN stabilisieren und synchronisieren. Ein zentraler Mechanismus ist dabei die zeitabhängige Regulation der extrazellulären Neurotransmitter, insbesondere von GABA und Glutamat (Ness et al., 2024). Obwohl GABA der dominante Neurotransmitter im SCN ist, zeigen Experimente, dass zirkadiane GABA-Rhythmen unabhängig von synaptischer neuronaler Freisetzung entstehen. Astrozyten produzieren GABA überwiegend nachts und regulieren dessen tageszeitabhängige Clearance über astrozytäre GABA-Transporter wie GAT3 (Koh et al., 2023; Patton et al., 2023). Diese astrozytär generierte GABA-Oszillationen führt zu einem stabilen Tagesrhythmus, welcher etwa 24 h lang bleibt, ohne die exakte

Phase einzelner Neuronen festzulegen (Brancaccio et al., 2017; Hastings et al., 2018). Dies zeigt, dass Astrozyten zellautonome rhythmogene Eigenschaften besitzen und nicht nur passiv neuronale Signale modulieren. Vielmehr entsteht die zirkadiane Rhythmogenese im SCN aus einem Wechselspiel zwischen neuronalen und astrozytären Oszillatoren, wobei Astrozyten tendenziell kürzere Perioden fördern und Neurone längere Perioden stabilisieren (Murphy-Royal et al., 2023). Darüber hinaus tragen Astrozyten zur Resilienz und Anpassungsfähigkeit der zirkadianen Uhr bei. Aufgrund ihrer relativen Unabhängigkeit von der neuronalen Phasenverteilung können astrozytäre Oszillationen auch dann aufrechterhalten werden, wenn neuronale Rhythmen abgeschwächt oder desynchronisiert sind wie durch Lichtstörungen, Alterung oder neurodegenerative Prozesse (Brancaccio et al., 2019). Astrozyten spielen damit eine wichtige Rolle bei der stabilisierenden Oszillation im Hintergrund, während SCN-Neurone primär für die präzise zeitliche Strukturierung und die Weiterleitung zirkadianer Information an periphere Oszillatoren verantwortlich sind. Zusätzlich deuten Befunde darauf hin, dass Astrozyten die Lichtantwort und die Entrainment-Fähigkeit des SCN modulieren. Astrozyten umhüllen je nach Tageszeit unterschiedlich stark VIP-Neurone im SCN und könnten so die Sensitivität des SCN gegenüber retinalem Input regulieren (Girardet et al., 2010). Dadurch könnten Astrozyten aktiv an der zeitlichen Filterfunktion des SCN beteiligt sein und mitbestimmen, zu welchen Zeitpunkten Lichtreize besonders effektive Phasenverschiebungen auslösen. Insgesamt erweitern diese Befunde das klassische neuronenzentrierte Modell der zirkadianen Uhr zu einem gemischten Konzept der Rhythmogenese, in dem nicht nur neuronale Zellen, sondern auch Astrozyten als aktive Zeitgeber fungieren, die Periodenstabilität, Netzwerk-Synchronisation, Entrainment und Robustheit der zentralen zirkadianen Uhr maßgeblich mitbestimmen (Hastings et al., 2023).

1.1.3 Die zirkadiane Steuerung: Output des SCN

Zwar ist der SCN der Rhythmusgenerator, jedoch nicht das einzige rhythmusgebende Element des Organismus, da fast alle Zellen des Körpers eine innere Uhr und damit einen eigenen Rhythmus besitzen (von Gall, 2022). Der SCN synchronisiert die anderen Oszillatoren des Gehirns und des Körpers, was essenziell ist, da physiologische Ereignisse wie beispielsweise metabolische Prozesse täglich koordiniert werden müssen (Damiola et al., 2000; Korf & von Gall, 2006; Tasker & Herman, 2011). Die Information wird über

endokrine Neuronen, welche das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH), das Thyrotropin-Releasing-Hormon (TRH) und das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) enthalten, sowie über sympathischen oder parasympathischen Neuronen im Rückenmark oder Hirnstamm und über Interneuronen, die Informationen vom SCN und anderen hypothalamischen Zentren verarbeiten und somit eine Vielzahl von physiologischen Funktionen und Verhalten regulieren, weitergeleitet (Balsalobre et al., 2000; Korf & von Gall, 2006). Die wichtigsten Hormone für die Synchronisation des zirkadianen Rhythmus sind Glukokortikoide und Melatonin (Balsalobre et al., 2000). Cortisol wird über die hypothalamisch-hypophysär-adrenale Achse (HPA-Achse) und durch humorale Mechanismen als auch über direkte neuronale Verschaltungen sekretiert. AVP-exprimierende Neuronen des SCN projizieren zu zentralen Steuerzentren des Hypothalamus, insbesondere zum paraventriculären Nukleus (PVN) und zum dorsomedialen Hypothalamuskern (DMH) und modulieren deren Aktivität (Kalsbeek et al., 2006). In diesen Arealen erfolgt die Synthese und Freisetzung von CRH, insbesondere aus den parvocellulären und magnocellulären Neuronen des PVN und DMH. CRH wirkt stimulierend auf die Adenohypophyse, welche daraufhin das adrenocorticotropes Hormon (ACTH) freisetzt. ACTH wiederum induziert in der Nebennierenrinde die Synthese und Ausschüttung von Cortisol (Tasker & Herman, 2011). Der SCN kontrolliert die Sekretion von Melatonin aus der Zirbeldrüse, welche ebenfalls rhythmisch erfolgt. Die Information gelangt über den Nucleus paraventricularis über die präganglionäre sympathischen Neurone in der intermediolateralen Zellsäule des Rückenmarks und über das obere zervikale Ganglion (SCG) in die Zirbeldrüse. Im Dunkeln reduziert der SCN die inhibitorischen Signale und fördert somit die Melatoninsynthese und -freisetzung (Kalsbeek et al., 2006). Gleichzeitig übt Melatonin eine hemmende Wirkung auf die HPA-Achse aus, was zur Unterdrückung des Cortisolspiegels in der Nacht beiträgt (Hardeland et al., 2015). Somit erhöht der SCN beim Menschen nachts die Melatoninproduktion und unterdrückt das Cortisol, um den Schlaf zu fördern. Am frühen Morgen wird die HPA Achse gefördert, um morgens Aktivität vermitteln (Korf & von Gall, 2006). Die Dauer des Melatoninsignals nimmt mit der Länge der Nacht zu, sodass dieses Hormon nicht nur ein Signal für die Nachtphase ist, sondern auch wichtig für die Anpassung saisonaler Veränderungen (Korf & Gall, 2013). Mit dem Alter geht die Abnahme der Melatoninproduktion und die Empfindlichkeit mit einer zunehmenden Verschlechterung der zirkadianen Rhythmik einher (Korf & von Gall, 2006).

Darüber hinaus sind efferente Projektionen vom SCN zur medialen präoptischen Region (MPO) des Hypothalamus an der Regulation der Körpertemperatur, die ebenfalls eine wichtige Rolle in der Koordination von den peripheren Uhren spielt, entweder direkt oder indirekt durch seine Kontrolle der Ruhe- und Aktivitätszyklen, beteiligt (Silver & Kriegsfeld, 2014). Die Fressrhythmen und der Stoffwechsel werden über den lateralen Hypothalamus reguliert, die Wasseraufnahme über das subfornicale Organ, welche durch den SCN angesteuert werden. Diese Verhaltensweisen dienen als nicht-photische Zeitgeber und helfen, den SCN mit der Umgebung zu synchronisieren (Kalsbeek et al., 2006). Darüber hinaus moduliert der SCN die periphere Glukosehomöostase, indem er die Insulinsensitivität in der Skelettmuskulatur erhöht und somit die zelluläre Glukoseaufnahme fördert. Gleichzeitig vermittelt der SCN Signale, die die hepatische Glukoneogenese stimulieren, wodurch eine konstante Energieversorgung des Organismus sichergestellt wird (Kalsbeek et al., 2014). Weiterhin ist für die Kommunikation zwischen SCN und den peripheren zellulären Uhren das autonome Nervensystem von Bedeutung (Bartness et al., 2001). Die Neuronen des SCN vermitteln die Informationen über parasymphatische und sympathische Abteilungen des autonomen Nervensystems (Buijs et al., 2003). Daher ist der SCN sowohl in Ruhe als auch bei Aktivität beteiligt. Auf zellulärer Ebene erfolgt die Synchronisation aller Oszillatoren über natriumabhängigen Aktionspotenziale (Reppert & Weaver, 2001). Um zunächst die Zellen innerhalb des SCNs zu synchronisieren, spielt die Feuerungsrate der SCN-Neuronen eine wichtige Rolle. Denn die Rate der Aktionspotenziale ist mit den zentralen Uhrenkomponenten wie beispielsweise der Expression von Uhrengenen verbunden (Reppert & Weaver, 2001). Alle Neuronen des SCN verwenden als primären Transmitter GABA (Korf & Gall, 2013). Weitere bedeutende Transmitter ausgehend der Neuronen des SCNs sind VIP und GRP (Silver & Rainbow, 2013). Einmal synchronisiert, kann der SCN über neuronale Efferenzen mittels GABA und Glutamat zwischen unterschiedlichen Regionen im Gehirn vermitteln. Neben der direkten Übertragung kann der SCN auch diffusionsabhängige Signale nutzen, um den Rhythmus zu koordinieren. Wichtige Substanzen hier sind unter anderem AVP, TGF alpha, Prokinectin 2 und Cardiotrophin like Zytokin (CLC) (Silver & Rainbow, 2013). Die Regulation der lokomotorischen Aktivität erfolgt durch zwei Mechanismen, Entrainment und Masking (Mrosovsky, 1999). Entrainment beschreibt die Anpassung des endogenen zirkadianen Rhythmus an den externen Licht-Dunkel-Zyklus. Dabei wird das Lichtsignal über die

Retina an den SCN weitergeleitet. Da die intrinsische Periodenlänge der inneren Uhr geringfügig von der exakten 24-Stunden-Tagesdauer abweicht, ist eine kontinuierliche Synchronisation erforderlich. Der SCN ermöglicht es dem Organismus, auf Veränderungen im externen Lichtregime, etwa bei wechselnden Tageslängen über die Jahreszeiten antizipatorisch zu reagieren und die Aktivität entsprechend zeitlich anzupassen. Dies stellt einen adaptiven Vorteil dar, insbesondere für nachaktive Tiere, die den Großteil des Tages in dunklen Schutzräumen verbringen und Umweltlichtreizen nur während ihrer Aktivitätsphasen ausgesetzt sind (von Gall, 2022). Masking beschreibt die akute Beeinflussung durch Licht unabhängig vom zirkadianen System (Von Aschoff & Wever, 1962). Bei nachaktiven Arten kann Licht je nach Intensität entgegengesetzte Effekte auf das Aktivitätsniveau ausüben. Schwaches Licht führt häufig zu einer Erhöhung der Aktivität im Vergleich zur vollständigen Dunkelheit. Dieses Phänomen wird als positive Maskierung bezeichnet. Es wird angenommen, dass visuelle Reize in diesem Kontext die Bewegungsaktivität durch ein erhöhtes Sicherheitsgefühl fördern (Mrosovsky, 1999; Thompson et al., 2008). Umgekehrt resultiert helles Licht häufig in einer Suppression der Aktivität, auch ohne bewusste visuelle Wahrnehmung, was als negative Maskierung bezeichnet wird (Mrosovsky, 1999). Die zugrundeliegenden neuroanatomischen Strukturen der Maskierung sind noch nicht abschließend geklärt. Jedoch gelten insbesondere IGL sowie direkte Projektionen von der Retina zum SCN als relevante Schaltstellen in der Vermittlung dieser lichtinduzierten Verhaltensmodulation (Fernandez et al., 2016; Morin, 1994; L. P. Morin, 2013).

1.2 Das molekulare Uhrwerk

Das molekulare Uhrwerk von Säugetieren basiert auf positiven und negativen Transkriptions-/Translations-Rückkopplungsschleifen (TTLF) (Reppert & Weaver, 2002) (Korf & von Gall, 2006). Es sorgt für eine rhythmische Genexpression und somit für eine rhythmische Zellfunktion, die eine zirkadiane Periodenlänge aufweist. Die zentralen Elemente des molekularen Uhrwerks sind die Uhrengene und ihre Proteinprodukte, die in einem regelmäßigen Zyklus transkribiert und translatiert werden. Zu diesen Uhrengenen gehören mehrere Genfamilien beteiligt: Periodisoformen *Per1* und *Per2* (Shearman et al., 1997; Silver & Kriegsfeld, 2014; Tei et al., 1997), zwei Cryptchrom-Isoformen *mCry1* und *mCry2* (Kume et al., 1999; Mohawk et al., 2012; van der Horst et al., 1999), *Clock*

(King et al., 1997) sowie das Brain and muscle ARNT-like-1-Gen, Bmal1 (Bunger et al., 2000).

Der Zyklus beginnt damit, dass sich die beiden Transkriptionsfaktoren CLOCK und BMAL1 zu einem Heterodimer und damit zu einem Aktivatorkomplex zusammenlagern, der die rhythmische Transkription von drei Periodengenen (Per2-Per3 bei der Maus) und zwei Cryptochrom-Genen (mCry1 und 2) einleitet (Reppert & Weaver, 2002). Dieser Aktivatorkomplex bindet an E-Box Elemente in der Promotorregion fördert die rhythmische Transkription der Per und Cry-Gene aber auch von anderen uhrenkontrollierten Genen (ccg). Sobald die Konzentration der Genprodukte von Per und Cry hoch genug ist, bilden sie ebenfalls einen Komplex, den Repressorkomplex. Der Repressorkomplex gelangt dann in den Zellkern und hemmt dort die durch CLOCK und BMAL1 vermittelte Transkription der Per, Cry und ccg Gene. Auf diese Weise entsteht eine negative Rückkopplungsschleife. Letztlich wird der Repressorkomplex proteosomal abgebaut und der Zyklus beginnt erneut (Korf & Gall, 2013). Eine andere Schleife zeichnet sich dadurch aus, dass das CLOCK-BMAL1-Aktivatorkomplex die Transkription von Protein REV-ERB α aktiviert, welches dann am RAR-related orphan receptor (ROR) wirkt. Dadurch wird die Bmal1-Transkription gehemmt (Korf & Gall, 2013; Reppert & Weaver, 2002). Auf diese Weise wird der hemmende Effekt des Aktivatorkomplexes auf Per und Cry Gene aufgehoben. Dementsprechend handelt es sich hier um eine positive Rückkopplungsschleife (Reppert & Weaver, 2002). Während CRY und REV-ERB α die Transkription von Bmal1 hemmen, stimuliert PER2 die Transkription von Bmal1, indem es entweder einen Transkriptionsfaktor in den Kern transportiert oder einen Transkriptionskomplex koaktiviert. Zudem wird die Expression von Per von transcriptional activator-D site binding protein (DBP) und E4 binding protein 4 (E4BP4) gemeinsam reguliert. Damit sind die Uhrengene Per1/2, Cry1/2, Bmal1 und Clock für die ein funktionierendes molekulares Uhrwerk unerlässlich. Eine Störung von Per1 und 2, beider Cry Gene oder von Bmal1 oder Clock führt dazu, dass die zirkadianen Rhythmen zum Erliegen kommen (Reppert & Weaver, 2002).

1.3 Alzheimer Erkrankung (AD)

Die Alzheimer-Erkrankung (AD) ist eine langsam fortschreitende neurodegenerative Erkrankung, von der weltweit mehr als 40 Millionen Menschen betroffen sind (Esquerda-Canals et al., 2017). Die Zahl der Betroffenen steigt kontinuierlich an und wird bis zum Jahr 2050 voraussichtlich auf das Vierfache anwachsen (Breijyeh & Karaman, 2020). AD stellt den Großteil der Demenzerkrankungen dar und geht mit einem starkem Verlust der Lebensqualität der Patienten einher (Levy et al., 1999). Ebenso hat AD einen negativen Einfluss auf verschiedene sozialen und wirtschaftlichen Aspekte (Breijyeh & Karaman, 2020). Das Frühstadium der AD ist durch einen leichten Gedächtnisverlust und frühe pathologische Veränderungen im Neocortex und Hippocampus gekennzeichnet, jedoch ohne funktionelle Beeinträchtigungen im Alltag (De-Paula et al., 2012; Dubois et al., 2016). Mit dem Fortschreiten der Erkrankung können zusätzlich zum Gedächtnisverlust, Konzentrationsstörungen, zeitliche und räumliche Desorientierung, Sprachprobleme, Verhaltensänderungen wie auch Stimmungsschwankungen und Motivationsverlust bis hin zu Depressionen auftreten. Darüber hinaus kommt es zu Störungen im zirkadianen System, die den Krankheitsverlauf weiter antreiben (siehe nächstes Kapitel). Bei der AD handelt es sich um eine multifaktorielle Krankheit, bei der unterschiedliche Faktoren eine Rolle spielen, wobei das Alter als wichtigster Risikofaktor gilt. Darüber hinaus können genetische Faktoren, Gefäßerkrankungen, Infektionen und auch Umweltfaktoren von Relevanz sein (Armstrong, 2019).

Obwohl die genaue Pathogenese der AD bislang nicht vollständig geklärt ist (Cleary et al., 2005), werden insbesondere zwei Hypothesen dargestellt. Sowohl die Störung der cholinergen Neurotransmission, die als kritischer Risikofaktor für die Krankheitsentwicklung gilt, als auch Veränderungen in der Produktion und Verarbeitung von Amyloid- β ($A\beta$), welche derzeit die stärker akzeptierte Hypothese darstellt, werden als zentrale Mechanismen in der Pathogenese betrachtet (Anand & Singh, 2013; R, 2019). Dabei wird $A\beta$ fehlgefaltet und zu unlöslichen extrazellulären Plaques zusammengelagert (Thal et al., 2014). Der Abbau von $A\beta$, welches von dem Vorläuferprotein Amyloid-Precursor Protein (APP) durch die β - und γ -Sekretasen herausgeschnitten wird, nimmt mit dem Alter oder unter pathologischen Bedingungen ab, was zu einer Akkumulation von $A\beta$ Peptiden ($A\beta$ 40 und $A\beta$ 42) führt (Armstrong, 2009; Cras et al., 1991; Perl, 2010). Ablagerung von $A\beta$ sind auch im Alter beim gesunden Gehirn normal. Ist jedoch das Verhältnis

von A β 42/ A β 40 erhöht, kommt es zur Bildung von A β -Amyloidfibrillen, was zur Neurotoxizität und Induktion von Tau-Pathologien führt. Damit einher geht der neuronale Zelltod und die Neurodegeneration (Breijyeh & Karaman, 2020). Neben der Neurotoxizität und dem Verlust neuronaler Funktionen, kann die Anhäufung von Plaque auch eine Stimulation von Astrozyten und Mikroglia verursachen und so eine Schädigung von Axonen und Dendriten sowie den Verlust von Synapsen bewirken (Armstrong, 2009; Chen et al., 2017; Tabaton & Piccini, 2005). Der A β -Metabolismus kann durch die zuvor erwähnten typischen Risikofaktoren, aber auch durch Mutation verschiedener Gene wie APP, Präsenilin 1 und 2 (PSEN1 und PSEN2) beeinflusst werden und zu einer raschen Anhäufung von A β und damit zu einem schnelleren Fortschritt der Neurodegeneration führen (Paroni et al., 2019; Ricciarelli & Fedele, 2017). Neben A β trägt auch die Ablagerung von hyperphosphorylierten Tau-Proteins zum Pathomechanismus bei. Das Tau-Protein sammelt sich in Axonen und Dendriten zu sogenannten neurofibrillären Tangles an und bewirkt so einen Verlust von zytoskelettalen Mikrotubuli und Tubulin-assoziierten Proteinen (Breijyeh & Karaman, 2020). Die Bildung der Tau-Proteine und die Ablagerung der A β -Plaques stellen jedoch ein fortgeschrittenes Stadium in der Pathologie der AD dar. Schon vor der Bildung von A β -Plaques spielen die löslichen A β -Formen eine zentrale Rolle in der frühen Phase der AD, da sie neurotoxisch wirken und schon früh wichtige neuronale Funktionen stören (Palop & Mucke, 2010) (Cleary et al., 2005). Damit rücken lösliche A β -Formen ins Zentrum der Alzheimerforschung und sind auch Teil dieser Arbeit. Das Mausmodell, das lösliche A β -Formen exprimiert, wird im übernächsten Kapitel vorgestellt.

Bislang ist die AD nicht heilbar. Sie wird nur symptomatisch behandelt. Zur Zeit sind nur zwei Klassen von Medikamenten zugelassen, die am gestörten Neurotransmittergleichgewicht von ACh und Glutamat ansetzen (Francis, 2005). Dazu gehören die Cholinesterasehemmer und N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoragonisten (Kuns et al., 2022; Wang & Reddy, 2017).

1.3.1 Der Zusammenhang zwischen AD und dem zirkadianen System

Wie oben erwähnt, kann es bei der AD auch zur zeitlichen Desorientierung kommen, die als Störungen des zirkadianen Systems angesehen werden können (Witting et al., 1990).

Bereits im Frühstadium der AD zeigen Patienten deutliche Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus, die sich unter anderem in einer ausgeprägten nächtlichen Aktivität sowie einer verringerten Tagesaktivität manifestieren. Diese nächtliche Überaktivität, die oftmals mit Unruhe und Verwirrung einhergeht, wird als „Sundowning“ bezeichnet, wobei es zum Auftreten oder zur Verschlechterung von Verhaltensanomalien der AD am Nachmittag und Abend kommt (Volicer et al., 2001). Zudem ist eine verringerte Rhythmusamplitude, aber auch eine Phasenverzögerung zu erkennen. Denn der Aktivitätshöhepunkt liegt bei Alzheimer Patienten im Vergleich zu nicht erkrankten Personen deutlich später (Ancoli-Israel et al., 1997; Harper et al., 2005; Satlin et al., 1995). Darüber hinaus ist ebenfalls eine gestörte tageszeitliche Rhythmik der Melatoninausschüttung und der Körpertemperatur zu erkennen (Uchida et al., 1996). Patienten zeigen eine höhere Amplitude der Körpertemperatur und einen späteren Temperatur-Höhepunkt als Gesunde (Volicer et al., 2001) sowie eine veränderte Synchronisation der Rhythmen in der Uhrengenenexpression (PER1, PER2, BMAL1) in verschiedenen Hirnregionen. Als Grund für die gestörten Rhythmen bei der AD, werden Veränderungen des SCN angesehen (Musiek, 2017). Die AD scheint eine lange präsymptomatische Phase zu haben, in der zwar die Pathologie vorhanden ist, die klassischen Symptome jedoch noch ausbleiben (Sperling et al., 2011). Noch ist es unklar, zu welchem Zeitpunkt der Pathogenese sich der zirkadianen Rhythmus verschlechtert und ob eine zirkadiane Dysfunktion zur Pathogenese beiträgt oder umgekehrt (Musiek, 2017).

Chronodisruption beschreibt die Störung oder Desynchronisation des zirkadianen Systems, was physiologische Störungen verursacht und chronische Gesundheitszustände fördert. Ein zentraler Aspekt ist die Degeneration des SCN, die mit einer verminderten Synthese von Melatonin einhergeht und zu einer Dysregulation der zirkadianen Uhr führt (Jung-Hynes et al., 2010). Exogene Faktoren wie künstliches Licht verstärken die Desynchronisation und hemmen die nächtliche Melatoninsynthese (Hardeland et al., 2012), (Verma et al., 2021). Dies führt zur Störung zahlreicher zellulärer Prozesse, darunter zu einer beeinträchtigten neuronalen Plastizität (Belancio et al., 2014). Neurodegenerative Erkrankungen zeigen eine frühzeitige Chronodisruption, was gleichzeitig oxidativen Stress und neuroinflammatorische Prozesse verstärkt und die Tau-Pathologie sowie Amyloid- β -Ablagerungen fördern kann (Colwell, 2021).

Schlafmangel ist assoziiert mit einer erhöhten Akkumulation von Stoffwechselabfällen, was zu einer beschleunigten Neurodegeneration führen kann (Chen et al., 2017; Kang et al., 2009; Lei et al., 2017; Lucey et al., 2018; Shi et al., 2015; Shokri-Kojori et al., 2018). Während des Schlafs nimmt das Volumen des interstitiellen Flüssigkeitsraums um mehr als 60 % zu, was eine effektive Clearance von A β ermöglicht (Chen et al., 2019; Xie et al., 2013). Chronischer Schlafmangel könnte diese Clearance beeinträchtigen, da die Zirkulation von interstitieller Flüssigkeit über astrozytäre Wasserkanäle (Aquaporine) reduziert ist (Shetty & Zanirati, 2020). Besonders während der Slow-Wave-Schlafphasen (NREM-Stadien 3 und 4) erreicht die glymphatische Aktivität ihren Höhepunkt (Léger et al., 2018; Xie et al., 2013). Verkürzte Schlafdauer führt zu einer Reduktion dieser Slow-Wave-Phasen und damit zu einer geringeren Amyloid-Clearance (Guzeev et al., 2021; Lim et al., 2014; Petersen et al., 2001; Romanella et al., 2021).

Andererseits können neurodegenerative Erkrankungen eine zirkadiane Dysfunktion verursachen. AD Mausmodelle zeigen einen gestörten Schlaf-Wach-Rhythmus sowie einen Verlust der tageszeitlichen Schwankungen von A β in der interstitiellen Flüssigkeit des Gehirns. Zudem zeigte die Studie, dass eine erhöhte Wachzeit direkt mit dem Anstieg der A β -Konzentration in der interstitiellen Flüssigkeit korrelierte (Roh et al., 2012).

In Ratten führte die Injektion von A β /A4-überexprimierenden transgenen Zellen zu einer signifikanten Beeinträchtigung des zirkadianen Rhythmus, die sich sowohl in einer Fragmentierung als auch in einer Verlängerung der Rhythmusperiode und einer Abschwächung der Rhythmusstärke äußerte (Tate et al., 1992). Im APP23-Mausmodell, welches eine Überexpression des humanen Amyloid-Vorläuferproteins aufweist, wurden reduzierte Aktivitätsniveaus um die Dämmerungszeit dokumentiert, während die Aktivität in der Dunkelphase insgesamt erhöht war (Van Dam et al., 2003). Eine weitere Untersuchung des APP23-Modells offenbarte eine gesteigerte Aktivität in der zweiten Hälfte der aktiven Phase, was möglicherweise eine Parallele zum Sundowning-Syndrom bei Patienten mit AD darstellt, da auch dieses typischerweise in der zweiten Hälfte der Wachphase auftritt (Vloeberghs et al., 2004). Im Tg2576-Mausmodell konnte eine deutliche Verlängerung der Freilaufperiode unter konstanter Dunkelheit beobachtet werden, während unter einem Hell-Dunkel-Zyklus die Aktivität weitgehend auf die Dunkelphase beschränkt blieb, was eine Kompensation durch externe Zeitgeber impliziert (Wisor et al., 2005).

Eine weitere Untersuchung dieses Modells zeigte ultradiane Veränderungen in der Aktivitätsorganisation, was möglicherweise auf eine subtile Rhythmusinstabilität hindeutet, obwohl hier noch keine Hinweise auf eine Amyloidablagerung im oder in der Nähe des SCN vorlag, was darauf schließen lässt, dass solche Ablagerungen nicht zwingend für die Rhythmusstörung erforderlich sind (Gorman & Yellon, 2010).

Es wurde gezeigt, dass A β die molekulare Uhr stören und somit sowohl metabolische zirkadiane Rhythmen als auch die zelluläre Bioenergetik beeinflussen können (Schmitt et al., 2017). Angesichts der zentralen Rolle mitochondrialer Bioenergetik in der Pathogenese der AD sowie der Bedeutung zirkadianen Stoffwechselprozesse für Gesundheit und Krankheit (152) ist A β sowohl als potenzieller Auslöser als auch als Folge zirkadianer Allostase-Störungen zu betrachten (Yao et al., 2009), (Brown, 2016). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass pathologische Veränderungen der Tau-Physiologie zirkadiane Mechanismen sowohl auf molekularer als auch auf der Verhaltensebene modulieren können. Im Mausmodell der Tauopathie (Tg4510) konnte eine Tau-Ablagerung im SCN parallel zu einer gestörten Expression des Kernuhrproteins PER2 im Hypothalamus nachgewiesen werden (Stevanovic et al., 2017). Ähnliche Veränderungen wurden auch für die zirkadianen Schlüsselproteine PER2 und BMAL1 im Hippocampus beobachtet (Stevanovic et al., 2017).

Ein weiterer Mechanismus betrifft die inflammatorischen Prozesse, welche bereits als potenzielle Auslöser in der Alzheimer-Pathogenese diskutiert wurden und zugleich als Modulatoren des zirkadianen Systems bekannt sind. In diesem Zusammenhang kann Lipopolysaccharid (LPS), das experimentell häufig zur Induktion einer Entzündungsreaktion eingesetzt wird, über die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine eine Phasenverschiebung der zirkadianen Uhr im SCN bewirken (Leone et al., 2012). Oxidativer Stress kann die zirkadiane Uhr direkt beeinflussen, ohne Beteiligung von Licht oder der Retina. Sowohl in vitro (SCN-Explants und periphere Gewebe) als auch in vivo (Mausmodell) führt oxidativer Stress zu klaren Phasenverschiebungen der zirkadianen Genexpression (Tahara et al., 2016). Während eine kurzfristige zirkadiane Anpassung an oxidativen Stress eine adaptive Reaktion darstellen kann, kann eine chronische Desynchronisation der molekularen Uhren die Homöostase und Gesundheit langfristig beeinträchtigen (Tahara et al., 2016).

Darüber hinaus spielt das Insulinsystem, das zunehmend mit der Pathophysiologie der AD assoziiert wird, eine Rolle in der Modulation zirkadianer Prozesse (Correia et al., 2011; Guo et al., 2017; Salkovic-Petrisic & Hoyer, 2007). Insulin kann die hepatische zirkadiane Stoffwechseluhr resetten und so periphere Rhythmen an Nährstoffe und die hormonelle Umgebung anpassen (Dang et al., 2016). Außerdem reguliert es die Empfindlichkeit und Funktion sowohl zentraler als auch peripherer zirkadianer Uhren (Chaves et al., 2014; Zheng et al., 2007). Daher erscheint es plausibel, dass eine metabolische Dysregulation sowohl die Entstehung der AD fördert als auch zirkadiane Fehlanpassungen verstärken kann. Dies betrifft nicht nur Insulin, sondern auch den Stoffwechsel insgesamt, da eine bidirektionale Beziehung zwischen metabolischen Prozessen und dem zirkadianen System nachgewiesen wurde (Bailey et al., 2014).

Schließlich könnte eine Degeneration der für die zirkadianen Regulation verantwortlichen Neuronen zu einer Dysfunktion des zirkadianen Systems führen (Harper et al., 2008; Zhou et al., 2016).

Die enge bidirektionale Beziehung zwischen zirkadianen Störungen und Neurodegeneration zeigt sich darin, dass eine Beeinträchtigung der zirkadianen Amplitude die Entwicklung klassischer Symptome wie kognitive Defizite und Gedächtnisstörungen fördert und gleichzeitig degenerative Prozesse im SCN die zentrale Uhr schädigen, was wiederum die zirkadiane Rhythmik weiter destabilisiert (Abbott et al., 2020; Leng et al., 2019).

1.3.2 TgDimer- Maus-Modell

Dass A β -Plaques Teil der Pathogenese der AD beim Menschen sind, ist schon lange bekannt (Lorenzo & Yankner, 1994; Pike et al., 1991). Der Plaque besteht aus unlöslichen, aggregierten A β Peptiden, dessen Vorläufer unter anderem lösliche A β -Oligomere sind. Es gibt zunehmend Hinweise, dass nicht der unlösliche A β Plaque, sondern schon lösliche A β -Formen wie Dimere oder Oligomere neurotoxische Aktivität besitzen und die Kognition bereits vor der Neurodegeneration beeinträchtigen (Irizarry, McNamara, et al., 1997; Irizarry, Soriano, et al., 1997; Moechars et al., 1996; Müller-Schiffmann et al., 2011; Westerman et al., 2002). Dabei reichen große Mengen A β -Dimere sowohl bei der Maus als auch beim Menschen aus, um für die Neurotoxizität und die Auslösung der für die AD-typische Kaskade verantwortlich zu sein (Hashimoto et al., 2012; Kwarabayashi et

al., 2004; Mc Donald et al., 2015; Mc Donald et al., 2010; Brian O'Nuallain et al., 2010). Dieser Zustand entspricht dem frühen Stadium der AD (Cleary et al., 2005). Unterstützt wird diese Hypothese durch das transgene TgDimer-Mausmodell, welches lösliche A β -Dimere produziert. In dieser Maus enthält das Transgen für das vollständige humane APP751 die familiäre schwedische Mutation (APP-K670N/M671L) zur Induktion einer höheren A β -Prozessierungsrate (Cai et al., 1993) und die A β -Dimer-stabilisierende Mutation (APP-S679C), die hier als A β -S8C bezeichnet wird. In der TgDimer-Maus war das transgene mutierte APP unter der Kontrolle des neuronenspezifischen Thy1- Promoters im Vergleich zum endogenen APP altersentsprechender Wildtyp-Mäuse etwa 7-fach überexprimiert. Obwohl die Prozessierung von APP sowie die Aktivität von β - und α -Sekretasen in TgDimer-Mäusen im Vergleich zu APP23-Mäusen unverändert blieb, war die Produktion der intrazellulären APP-Domäne (AICD) in den Membranpräparaten des Gehirns reduziert. Unter nicht-reduzierenden Bedingungen zeigten Hirnhomogenate der TgDimer-Mäuse neben monomerem APP auch signifikante Mengen an dimerem APP sowie C-terminalen APP-Fragmenten in dimerer Form. Zudem produzierten TgDimer-Mäuse hohe Konzentrationen von Disulfid-stabilisierten A β -Dimeren, die durch Reduktionsmittel in Monomere zerlegt werden konnten. Es wurden hingegen keine A β -Monomere oder andere SDS-stabilen Oligomere (z. B. Trimere oder Tetramere) detektiert (Müller-Schiffmann et al., 2016). Die Dimere wurden durch eine intermolekulare Disulfidbrücke über eine Cysteinmutation im A β -S8C des APP stabilisiert, wodurch eine Bildung von unlöslichen A β oder Amyloid-Plaque nicht mehr möglich war (B. O'Nuallain et al., 2010; Schmechel et al., 2003; Yamaguchi et al., 2010).

Die TgDimer-Mäuse wiesen ebenfalls keine Induktion von Tau- Hyperphosphorylierung, Astroglie oder Neuroinflammation auf. Jedoch zeigen die Mäuse kognitive und nicht-kognitive Beeinträchtigungen, die den frühen Symptomen der AD entsprechen. Die TgDimer-Mäuse zeigten eine beschleunigte Abnahme der Langzeitpotenzierung (LTP) im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen, was auf eine beeinträchtigte synaptische Plastizität hindeutet. Im Morris-Wassermaze-Test zeigten die TgDimer-Mäuse Lernbeeinträchtigungen, die mit denen klassischer AD-Mausmodelle vergleichbar sind (Müller-Schiffmann et al., 2016).

Bislang konnte der isolierte Effekt der A β -Dimere nicht untersucht werden, da ein kinetisches Gleichgewicht verschiedener Multimere besteht und verschiedene Formen von

Amyloidablagerungen gleichzeitig auftreten (Abdel-Hafiz et al., 2018; Matsumura et al., 1989; Müller-Schiffmann et al., 2016). Somit ist es durch die TgDimer-Maus zum ersten Mal möglich, den spezifischen Effekt der A β -Dimere in Abwesenheit von A β Plaques zu untersuchen. Es scheint so, dass die A β -Dimere die unmittelbaren Vermittler der A β -Toxizität sind (B. O'Nuallain et al., 2010) und die ersten Stadien des kognitiven Verfalls bei AD unabhängig von der Pathologie des A β -Plaque repräsentieren (Müller-Schiffmann et al., 2011; Müller-Schiffmann et al., 2016).

1.4 Hypothese

Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, dass lösliche A β -Dimere verschiedene Hirnfunktionen bereits vor der sichtbaren Neurodegeneration beeinflussen und so eventuell zur Pathogenese der AD beitragen. Wie oben beschrieben, scheint es einen starken Zusammenhang zwischen der AD und Störungen des zirkadianen Systems zu geben. Unsere Hypothese lautet, dass lösliche A β -Dimere, die von den TgDimer-Mäusen gebildet werden, zu Störungen im zirkadianen System führen. Um diese Hypothese zu testen, wurde die spontane lokomotorische Aktivität der Mäuse sowohl in der Licht-/Ruhephase als auch in der Dunkel-/Aktivitätsphase kontinuierlich aufgezeichnet und entsprechend ausgewertet. Zusätzlich wurden im SCN c-FOS als Marker für die Licht-induzierte neuronale Aktivität, das Uhrengenprotein PER1 und der Astrozytenmarker GFAP analysiert.

1.5 Material

1.5.1 Materialien

Tab. 1: Chemikalien und Reagenzien mit Hersteller

Chemikalien und Reagenzien	Hersteller	Katalog Nummer	LOT/ CAS Nummer
Chromium(III) potassium sulfate dodecahydrate/ Chrom(III)-Kaliumsulfat-Dodecahydrat	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1.01036.0250	LOT: K40958736 CAS: 7788-99-0
DAPI Fluoromount-G	SouthernBiotech- Birmingham, AL 35260 USA	CAT: 0 100-20	LOT: J1720-X890
Diaminobenzidine tablets	Sigma-Aldrich- St. Louis, Missouri, USA	190774-58-4polyvi	LOT: 081M8228V
Di-Sodium hydrogen phosphate dihydrate (di-Natriumhydrogenphosphat)	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1.06580.1000	LOT: K49901880817
D (+) – Saccharose	VWR Chemicals- Pennsylvania, USA	27483.294	LOT: 19J094111 CAS: 57-50-1
Entellan® Neu	Merck KGaA, D-64293 Darmstadt, Germany	1.07961.0500	
Ethylene glycol	Sigma-Aldrich- St. Louis, Missouri, USA	1096211000	
Gelatine	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1.0470.0500	LOT: VM321970126
Heparin	ratiopharm- 89079 Ulm	X26038	
Ketaminhydrochlorid	Zoetis- Parsippany, New Jersey	582453	
Natriumdihydrogenphosphat Monohydrat	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	S9638	CAS: 10049-21-5
Polyvinylpyrrolidone (für Cyroprotect-solution)	Sigma-Aldrich- St. Louis, Missouri, USA	PVP40	LOT:#WXBD0775V CAS: 9003-39-8
Potassiumchlorid (Kaliumchlorid)	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1.04873.0250	LOT: K41789236 111
Potassium dihydrogen phosphate (Kaliumdihydrogenphosphat)	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1.04873.0250	LOT : A0185473 130
Reagenz A (Avidin, ABC Elite)	Vector Laboratories, Inc. 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010 USA	NC9313719	LOT: ZG0817
Reagenz B (Biotinylated HRP, ABC Elite)	Vector Laboratories, Inc. 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010 USA	NC9313719	LOT: ZG0824

Sodium chloride (Natriumchlorid)	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1.06404.1000	CAS: 7647-14-5
Sucrose	Sigma Aldrich	S9378	CAS: 57-50-1
Triton ® X-100	Sigma-Aldrich- St. Louis, Missouri, USA	T9284	
Wasserstoffperoxid 30% (H ₂ O ₂)	Merck KGaA, 64271 Darmstadt	1072091000	LOT: K52822910 040
Xylazin	Bayer AG- 51368 Leverkusen, Deutschland		

Tab. 2: Antikörper und Seren

Antikörper und Seren	Hersteller	Katalog Nummer	LOT und CAS Nummer	Konzentration
<u>Primäre Antikörper:</u>				
c-FOS (9F6) (rabbit mAb)	Cell Signaling Technology- Danvers, Massachusetts, USA	2250S		1:500
GFAP: Rabbit anti GFAP	Agilent-Santa Clara, CA 95051 United States	Z0334		1:500
Per1(Period Clock Protein 1): Rabbit anti Mouse IgG /Rb > PER1	US Biological, Massachusetts, USA	P3342-11	LOT: L12022244 C12050128	1:5000
<u>Sekundäre Antikörper:</u>				
GFAP:Alexa Flour 488 ,Goat anti rabbit IgG (H+L)	Life Technologies- Carlsbad, Kalifornien, USA	jREF: A11034	LOT: 1298480	1:500
Goat Serum (Normal Goat Serum)	Vector Laboratories- Burlingame, CA 94010 USA	REF: S-1000	LOT: ZG0805	3%

Tab. 3: Lösungen

Lösung	Zusammensetzung
4% Paraformaldehyd (PFA) in 1x PBS	mit 100 µl 5N NaOH titriert. PFA wurde filtriert und bei 4°C für maximal einen Tag aufbewahrt.
Heparinisierte 0,9%ige NaCl-Kochsalzlösung (100 IU/ml)	
Ketamin/Xylazin als Anästhetikum	Ketamin 100 mg/kg+ Xylazine 10 mg/kg (1:10)

1x PBS	200 ml PBS 10x+1800 ml A.dest
10x PBS	Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O (10 mM), KH ₂ PO ₄ (1,48 mM), KCL (2,68 mM), NaCl (137 mM) gelöst in 2 L Aqua
PSB-T	PSB + 0,2% Titron
Gelatine-Lösung	0,5 % Gelatine, 0,05% Chrom-(III)-Kaliumsulfatx12 H ₂ O , in ddH ₂ O bei 40 °C lösen und filtrieren
Cryoprotect-solution	620 mg NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O, 2,18 g Na ₂ HPO ₄ wasserfrei, 18 g NaCl,600 g Succrose, 20 g Polycinyl pyrrolidone, 600 ml Ethylen Glykol
1% ABC- Kit (Vectastain)	in PBS-T 0,2 %
DAB-Aliquots 20er:	DAB 0,5% in PBS, H ₂ O ₂ 30 % 1:5000 in PBS

Tab. 4: Geräte und Verbrauchsmaterialien

Geräte und Verbrauchsmaterialien	Hersteller	Katalog Nummer	LOT und CAS Nummer
Butterfly-Kanüle (21GX3/4"TW 0,8X19mm)	SARSTEDT AG&Co.KG-51588,Nümbrecht, Deutschland		
Chronoschrank Typ Beastmaster III	MHL GmbH		Seriennummer : 252502
Deckgläser 24 x 50 mm	Engelbrecht Medizin- und Labortechnik GmbH, 34295 Edermünde, Deutschland	Art.-Nr. k12450	
Gefriermikrotom	REICHERT-JUNG Made in West-Germany	42 249	
Mikroskop Keyence BZ-X810E	Keyence Corporation - Osaka,Japan		
Objektträger UniMark®	Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, 97922 Lauda-Königshofen, Deutschland	REF: 0703310	LOT: 48658
Pasteurpipette 1 mL (?) 3mL	Ratiolab-D-63303 Dreieich,Germany	Art. No: 2600111	
Peristaltische Pumpe	World Precision Instruments- Baoding, Hebei, China.		
Pipette	VWR/avantor, Darmstadt,Germany		Lot:A59060098
Pipettenspitze SurPhob ®	Biozym- Hessisch Oldendorf, Germany	Art. Nummer: VT0168	Lot:21063
Rührplatte IKAMAG ® RET	IKA Labortechnik Made in Staufen/Germany	661013	
Schüttler/ 3D Rocking Shaker	STAR LAB (SMART INSTRUMENTS)- Hamburg, Germany	Art. Nr : N2400-8020	

Waage	Kern & Sohn- D-72336 Balingen, Germany	KB 3600-2N	
Well-Platten	Nunc, Roskilde, Denmark		
Zentrifugierer	Carl ROTH, Karlsruhe, Germany		053312 (seriennummer)

Tab. 5: Software

Software	Hersteller
Clocklab software	Actimetrics-3700 Sagamore Pkwy N Lafayette, IN 47904
GraphPad Prism	GraphPad Software Boston, MA 02110 USA
Image J	National Institutes of Health (NIH), Bethesda, MD 20892, USA
Microsoft Office PowerPoint	Microsoft Corporation Redmond, WA, 98052 USA
Keyence Analyzer Version	

1.5.2 Versuchstiere und Versuchsaufbau

In der vorliegenden Arbeit wurden transgene Mäuse (TgDimer) mit C57BL/6N-Hintergrund, die von Prof. Dr. Carsten Korth (Institut für Neuropathologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) bereitgestellt wurden, sowie Wildtyp-Mäuse (C57BL/6N) des Zuchtunternehmens Janvier Lab (Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) verwendet. Es wurden ausschließlich männliche Tiere genutzt, um den Einfluss durch Hormonschwankungen im weiblichen Zyklus auszuschließen. Das Alter der Mäuse betrug vier bis sechs Monate. Die Mäuse wurden einzeln in Standardkäfigen, auf denen Infrarot Bewegungsdetektoren angebracht waren (Mouse-E-Motion, Hamburg, Deutschland), gehalten. Mittels dieser Detektoren und der Software Clocklab (Actimetrics, Wilmette, IL, USA) wurde die spontane lokomotorische Aktivität der Mäuse aufgezeichnet und gemessen. Alle Mäuse hatten durchgängig freien Zugang zu Wasser und Futter.

Die Mäuse sind in zwei experimentelle Gruppen aufgeteilt: TgDimer-Gruppe (n = 9) und Wildtyp-Gruppe (n = 10). Die Mäuse wurden im Chronoschrank (Beastmaster, Deutschland) unter kontrollierten Bedingungen: Standard-Photoperiode von 12h Licht-/12h Dunkel-Wechsel (LD), einer Temperatur von 22 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von

55% gehalten. Die Lichtintensität während der Licht-/Ruhephase betrug (600 Lux) und während der Dunkel-/Aktivitätsphase (0 Lux). Um 6 Uhr morgens (ZT00) ging das Licht an und um 12 Uhr (ZT12) wurde das Licht ausgeschaltet.

Sowohl die Wildtyp - als auch die TgDimer-Mäuse wurden in weitere zwei Gruppen unterteilt: eine Gruppe wurde während der Lichtphase um 8 Uhr (ZT02) (n = 5 Wildtyp Mäuse, n = 3 TgDimer-Mäuse) getötet. Die andere Gruppe wurde während der Dunkelphase um 20:00 Uhr (ZT14) (n = 5 Wildtyp-Mäuse, n = 6 TgDimer-Mäuse) getötet.

Die Durchführung aller Tierversuche erfolgte nach Genehmigung durch das Landesamt für Natur, Umwelt, Verbraucherschutz (LANUV) NRW in der Zentralen Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgabe (ZETT) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Aktenzeichen 81-02.04.2019.A239). Alle Versuche wurden in Übereinstimmung mit den EU-Richtlinien (68/609/EEC) durchgeführt.

1.5.3 Lokomotorische Aktivitätsaufnahme mittels Infrarotdetektoren

Die Bestimmung der kontinuierlichen Erfassung der spontanen lokomotorischen Aktivität erfolgte mittels Infrarotdetektoren, die jeweils an einem Käfig angebracht waren (Beastmaster III.). Die Aktivität des Bewegungsapparates wurde kontinuierlich in fünf Minuten Intervallen aufgezeichnet. Die Aufzeichnung erfolgt unter LD-Bedingungen (von ZT00 bis ZT12). Aktogramm, Aktivierungsprofile und Aktivitätsbeginn wurden mit der Clocklab-Software berechnet.

1.5.4 Perfusion und Gehirnentnahme

a) Intrakardiale Perfusion

1. Den Mäusen wurde intraperitoneal eine tödliche Dosis einer Ketamin/Xylazin-Mischung injiziert. Dann wartete man bis die Mäuse auf taktile Reize nicht mehr reagierten.
2. Von jedem Tier wurde eine Schwanzbiopsie entnommen, um die Genotypisierung zu überprüfen.
3. Die Pfoten der Tiere wurden mit vier Nadel auf der Perfusionsplattform fixiert.
4. Es wurde ein mittiger Hautschnitt vom Unterbauch bis zum Hals durchgeführt.
5. Die Leber wurde nach unten verschoben und das Zwerchfell vom Brustkorb getrennt.
6. Es wurden zwei seitliche Schnitte durch den Brustkorb durchgeführt, sodass sich zwei Lappen bildeten, die mit Klemmen nach oben fixiert wurden.
7. Das Herz wurde vorsichtig mit einer Pinzette gefasst. Dann wurde die Nadel der Kanüle in die linke Herzkammer eingeführt.
8. Daraufhin ließ man Kochsalz einfließen und der rechte Vorhof wurde eröffnet.
9. Kochsalz lief solange durch den Körper bis die Leber sich aufhellte. Ab dann lief 4 prozentige PFA-Lösung 7 Minuten durch bis die Denaturierung der Muskelproteine zu beobachten war.

b) Hirnentnahme:

Nachdem die Mäuse enthauptet wurden, wurde die Kopfhaut mittig geschnitten, um den Schädel freizulegen. Daraufhin wurde eine Schere seitlich durch das Foramen magnum eingeführt, um durch einen mittigen und zwei seitliche Schnitte die Schädeldecke, die das Kleinhirn bedeckt, herauszuschneiden. Es wurde ein Schnitt in der Schädeldecke vorgenommen, der Schädelknochen wurde entfernt und das Gehirn von der Schädelbasis befreit. Die Gehirne wurden bei -80 °C in Trockeneis in einer Styroporbox gelagert.

1.5.5 Schneiden der Gehirne

Zunächst wurde das Gehirn aus der Kühltruhe (-80 °C) entnommen und für den Schneidevorgang zurechtgeschnitten. Dabei wurde das Kleinhirn entfernt. Daraufhin wurde das Gehirn auf die auf -30 °C gekühlte Platte des Gefriermikrotoms aufgeblickt und so positioniert, dass die Hemisphären schräg zum Messer zeigen und das Gehirn mit der Seite zum Cerebellum auf der Platte gerade steht. Als Medium zwischen Platte und Gehirn wurde 30 prozentige Sucrose verwendet. Nach Abkühlen des Hirns und der Platte auf etwa -30 bis -35 °C wurde das Gehirn mit dem Messer in 30 µm dicke Schnitte geschnitten. Die Schnitte wurden mit dem Pinsel in 24er Wellplatten, die pro Well mit zwei ml Cryoprotect-solution befüllt wurden, eingelegt. Die Cryoprotect-solution wurde als Frostschutz verwendet. Schließlich wurden die Schnitte bei -20 °C gelagert.

1.6 Färbung

1.6.1 Immunhistochemische Färbungen

a) Färbeschritte c-FOS und PER1

Da beide monoklonale rabbit AK sind, folgten die Färbeschritte identisch.

Vorbereitung:

- Ein Tag vor Beginn der Färbung wurden die Schnitte mit SCN herausgesucht, in PBS kurz mit dem Sieb schüttelnd gewaschen und über Nacht nicht schüttelnd im Kühlschrank aufbewahrt

Tag 1:

1. Die Schnitte wurden 6 Mal je 15 Minuten mit 1x PBS-T 0,2% (2 ml/ Well) in einem Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
2. Im Folgenden wurde die Schnitte 30 min lang in 3 ml/ Well in 0,24 % H2O2+ PBS-T auf den Schüttler gestellt.
3. Danach wurden die Schnitte 3x 15 min mit 2 ml/Well in 1x PBS-T 0,2 % auf dem Schüttler gewaschen.
4. Es folgte eine 60-minütige Inkubation in 1 ml/Well PBS-T-Serum.

5. Im letzten Schritt des ersten Tages wurden die Schnitte über Nacht bei 4 °C mit dem primären AK (c-FOS, PER1) in 500 µl/Well PBS-T Serum im Dunkeln auf dem Schüttler inkubiert.

Tag 2:

1. Im ersten Schritt wurden die Schnitte erneut 3x 15 min mit 2ml/Well 1x PBS-T 0,2 % mit Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
2. Dann wurden sie 2 Stunden bei Raumtemperatur mit dem sekundärem AK (Goat > Rabbit biot.) in 500 µl PBS-T Serum/ Well auf dem Schüttler inkubiert.
3. Währenddessen wurde das ABC-Kit angesetzt und 30 min bei 4 °C im Dunkeln inkubiert.
4. Infolgedessen wurden die Schnitte erneut 3 x 10 min 2 ml/Well PBS-T 0,2% mit einem Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
5. Danach wurden die Schnitte etwa eine Stunde bei Raumtemperatur mit dem zuvor angesetzten ABC-Reagenz in 1 ml/ Well im Dunkeln auf dem Schüttler inkubiert.
6. Erneut wurden die Schnitte 3 x 15 min 2 ml/Well 1x PBS-T 0,2 % mit Sieb dem auf dem Schüttler gewaschen.
7. Dann folgte eine 10-minütige DAB-Entwicklung ohne Sieb. Dabei war es wichtig, darauf zu achten, dass DAB so lange aufgetaut ist bis es nicht mehr flockig war. Außerdem wurde das DAB im Dunkeln aufgetaut, da DAB lichtempfindlich ist.
8. Die Schnitte wurden dann in 1 ml/Well DAB-Lösung gelegt und alle 30 Sekunden wurde 1 ml/well H₂O₂ unter ständigem Schwenken der Platten hinzugefügt, um die Reaktion zu starten. Insgesamt wurden alle Schnitte 10 Minuten mit DAB gefärbt.
9. Im Anschluss wurden die Schnitte 6 x 10 min in 2 ml/Well 1x PBS-T 0,2 % mit dem Sieb gewaschen.

b) Aufziehen der Schnitte auf die Objektträger (OT)

1. Die Schnitte wurden aus der flüssigen Gelatine auf die OTs aufgezogen und über Nacht trocknen gelassen.
2. Nach dem Trocken wurden die OTs mit Entellan eingedeckelt.

1.6.2 Immunofluoreszenz-Färbung

Tag 1:

1. Die Schnitte wurden 6 x 15 Minuten in 2 ml/Well 1 x PBS mit dem Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
2. Dann wurden diese 10 Minuten in 2 ml/Well 1 x PBS-T mit dem Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
3. Daraufhin wurden die Schnitte 60-90 Minuten in 500 µl/Well 1x PBS-T-Serum inkubiert.
4. Eine Stunde lang wurden die Schnitte in beiden AK als Mischung in 500µl/Well PBS-T-Serum bei Raumtemperatur inkubiert.
5. Im Folgenden wurden diese über Nacht bei 4 °C auf dem Schüttler weiter inkubiert.

Tag 2:

1. Die Schnitte wurden 4 x 10 Minuten mit 2ml/Well 1x PBS-T 0,2% mit dem Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
2. Dann wurden die Schnitte eine Stunde in beiden sekundären AK als Mischung bei Raumtemperatur in 500 µl PBS-T Serum/Well auf dem Schüttler inkubiert. Ab diesem Zeitpunkt wurden die Schnitte abgedunkelt.
3. Im letzten Schritt wurden die Schnitte nochmals 3x10 Minuten in 2 ml/Well 1 x PBS mit dem Sieb auf dem Schüttler gewaschen.
4. Aufziehen der Schnitte auf OT
 1. Die Schnitte wurden bei gedämpftem Licht aus flüssiger Gelatine auf die OTs aufgezogen.
 2. Nachdem diese leicht angetrocknet waren, wurden sie mit Dapi-Fluoromount noch feucht eingedeckelt.
 3. Die OTs mit den Schnitten wurden zwei Tage bei 4 °C im Dunkeln trocknen gelassen.

1.6.3 Bildaufnahme und -analyse

Es ist zu beachten, dass die Proben in der durchgeführten Studie verblindet waren. Der SCN wird anhand anatomischer Landmarken im Mikroskop (KEYENCE BZ-X800/BZ-

X810) aufgesucht und fotografiert. In der Regel erfolgte die Aufnahme von zwei SCN-Schnitten pro Maus. Die c-FOS- und GFAP-IR wurden mit einem 10x Objektiv und die PER1-IR mit einem 20x Objektiv fotografiert. Die Einstellungen blieben für jede Färbung konstant (siehe Tab. 5 und 6). Bei der c-FOS und der PER1-Färbung erfolgte die Aufnahme im Hellfeld-Modus, bei der GFAP-Färbung im Fluoreszenz-Modus. Die Belichtungszeit betrug bei der c-FOS-Färbung 1/500 s und bei der PER1-Färbung 1/350s. Das Excitationslicht lag bei den GFAP-Bildern bei 40 %. Das Fluoreszenzlicht im grünen Spektralbereich hat eine Wellenlänge von ca. 500 – 570 nm. Genutzt wurde Alexa Fluor 488 mit einer Wellenlänge von ca. 519 nm. Die Bildverarbeitung erfolgte mit der Software BZ-II Analyzer. Die SCN Zellen wurden mittels des Programms Image J analysiert. Bei der c-FOS-Färbung zählte man die c-FOS -positiven Zellen (braune Zellkerne) pro mm². Dazu wurde mittels des Programms der SCN manuell umkreist. Daraufhin wurden die braun gefärbten Zellkerne in dem umkreisten Areal manuell gezählt. Die ermittelte Zellzahl wurde durch die Fläche dividiert, wodurch sich die Zelldichte ergab. Der Maßstab betrug hier 200µm. Bei der PER1-Färbung erfolgte eine Beurteilung der Immunreaktion. Da hier die SCN-Zellen nicht gut vom Hintergrund abgrenzbar waren, wurden die Zellen nicht gezählt. Die Bilder wurden mit dem Programm in ein schwarz/weiß-Bild invertiert (8 bit). Dann wurde der SCN umkreist und der Schwellenwert für die spezifische Immunreaktion definiert. Anschließend berechnete man die Fläche der gefärbten SCN-Zellen und setzte sie prozentual ins Verhältnis zur Gesamtfläche des SCN. Zu Beginn wurde die kleinste Zelle bzw. das kleinste Signal mit dem „Round Tool“ markiert, um die minimale Fläche zu bestimmen. Im Folgenden legte man den Schwellenwert mittels „Threshold“ fest, zunächst zur Überprüfung in Rot, danach wieder in Schwarz-Weiß. Daraufhin wurde das Bild in ein Binärbild umgewandelt und im Anschluss invertiert. Mit dem „Free hand tool“ wurde der SNC markiert und erneut in ein Binärbild umgewandelt. Um ein präziseres Ergebnis zu erhalten, nutze man die „watershed“-Funktion. Erst im Anschluss erfolgte die Partikelanalyse. Da das System nicht alle Zellen automatisch erfasst, ergänzte man fehlende Zellen durch manuelles Nachzählen. Das Binärbild wurde ebenfalls gespeichert und auch darauf wurde die „region of interest“ gemessen. Die Zelldichte wird dann mit einer Formel berechnet. Dazu multipliziert man die gezählten Zellen mit 1000000 und dividiert dies durch die gemessene Fläche in µm. Für die GFAP-Analyse ermittelte man die Intensität der Immunfluoreszenz. Dazu wurden zum einen der

SCN für das spezifische Signal und zum anderen ein zellfreier Bereich für die Hintergrundfluoreszenz markiert. Der Mittelwert der Hintergrundfluoreszenz wurde von dem Mittelwert der Fluoreszenz im SCN abgezogen. Daraus resultierte die Intensität der Immunofluoreszenz in arbitrary units (a.u.). Bei der GFAP-Färbung wurde mittels der gleichen genannten Methode ebenfalls Neocortex und Hippocampus gefärbt. Hierbei wurde stets die gleiche Lokalisation gewählt, entsprechend Bregma +1,42 mm.

Tab. 6. Einstellungen bei dem Hellfeld-Modus:

	c-FOS	PER1
Helligkeit	1/500s	1/350s
Farbe	In Farbe (braun)	In Farbe (braun)
Phase	CH4 BF/Phase	CH4 BF/Phase
Übertragenes Licht	50%	50%
Objektiv	10x	20x
Z-Stack	angewendet	/
Pitch	1,0µm	/

Tab.7. Einstellung bei dem Fluoreszenz-Modus:

	c-FOS	PER1
Excitation light	100 %	40 %
Helligkeit	1/7,5 s	1/15 s
Objektiv	10x	10x
Z-Stack	/	angewendet
Pitch	/	2,5µm

1.6.4 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen erfolgten mit der Software Graph Pad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, Kalifornien, USA). Zur Überprüfung der Normalverteilung kam der Shapiro-Wilk-Test zum Einsatz. Daten, die den Normalitätstest bestanden, wurden mittels parametrischer einfaktorieller ANOVA ausgewertet, gefolgt von einem Tukey-Post-hoc-Test zur Bestimmung gruppenspezifischer Unterschiede. Bei fehlender Normalverteilung erfolgte die Auswertung mit dem nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Test. Die Werte sind als Mittelwert $\pm$ Standardfehler des Mittelwerts (SEM) angegeben. Das Signifikanzniveau wurde bei 5% ($p\text{-Wert} \leq 5\%$) festgelegt.

2 Ergebnisse

2.1 Veränderung der spontanen lokomotorischen Aktivität in TgDimer-Mäusen

Es wurde die spontane lokomotorische Aktivität von Wildtyp- und TgDimer-Mäusen unter Standardlichtverhältnissen (12h Licht: 12h Dunkelheit) verglichen. Das dabei entstandene Aktogramm zeigt, dass es einen signifikanten Unterschied in der lokomotorischen Aktivität zwischen Tag und Nacht bei den Wildtyp-Mäusen und den TgDimer-Mäusen gibt (Abb. 1). Die Aktivitätsanzahl liegt bei beiden Gruppen in der Dunkel-/Aktivitätsphase höher (WT: Lichtphase 22723 ± 1432 , Dunkelphase 97648 ± 6509 , $p < 0.0001$; TgD: Lichtphase 27639 ± 872.0 , Dunkelphase 107726 ± 9860 , $p < 0.0001$) (Abb. 1A, B). Das entspricht dem physiologischen Aktivitätsmuster der Mäuse. Jedoch zeigt sich auch ein signifikanter Unterschied in der Licht-/Ruhephase zwischen den Wildtyp- und TgDimer-Mäusen, wobei die TgDimer-Mäuse in der Licht-/Ruhephase eine höhere spontane lokomotorische Aktivität als die Wildtyp-Mäuse aufweisen ($p = 0.0126$ ausgerechnet mittels ANOVA-Test und Tukey-Post-hoc-Test) (Abb. 1A, B).

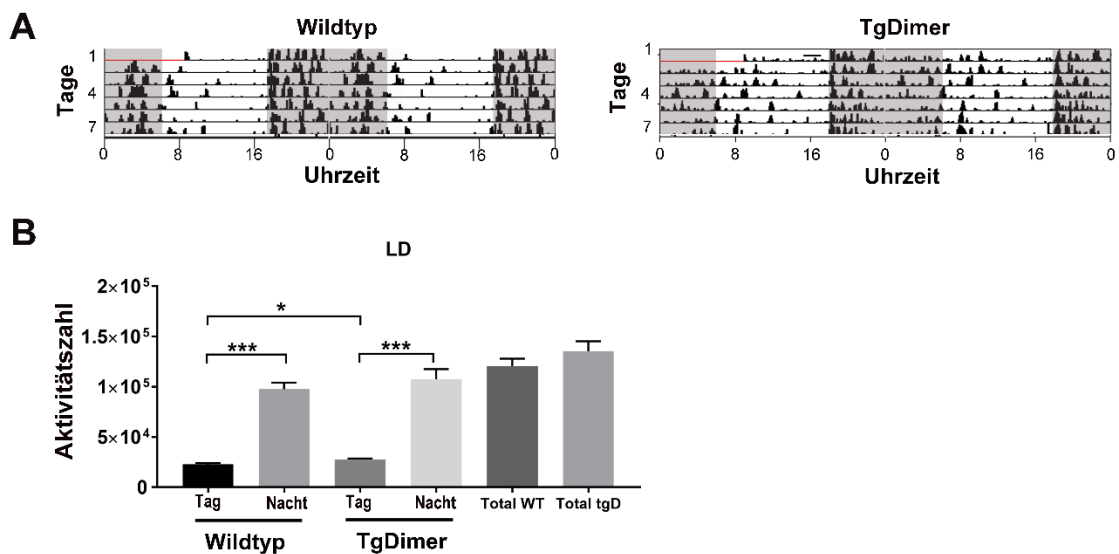


Abb. 1: Spontane lokomotorische Aktivität von Wildtyp- und TgDimer-Mäusen unter Standardlichtverhältnissen (12 h Licht: 12 h Dunkelheit). A) Repräsentative doppeltaufgetragene Aktogramme. Schwarze Balken zeigen summierte Aktivität in 10 min Intervallen. Dunkel-/Aktivitätsphase ist durch graue Balken angezeigt. B) Auswertung der Aktivität für die Licht-/Ruhephase (Day) und die Dunkelphase (Night) sowie Gesamtaktivität (total) *: $P < 0.05$, ***: $P < 0.001$. $n = 10-12$ pro Genotyp.

2.2 c-FOS-immunoreaktive Zellen als Marker für die lichtabhängige neuronale Aktivität im SCN in TgDimer-Mäusen

Um die lichtabhängige neuronale Aktivität im SCN nachzuweisen, wurde c-FOS analysiert. In beiden experimentellen Gruppen ist die Zahl der -FOS-immunoreaktiven Zellen in der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02) signifikant höher als in der frühen Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14) (Wildtyp: ZT02: 142 Zellen/ $\mu\text{m}^2 \pm 19$ Zellen/ μm^2 ; ZT14: 42 Zellen/ $\mu\text{m}^2 \pm 15$ Zellen/ μm^2 ; $P = 0,009$; TgDimer: ZT02: 175 Zellen/ $\mu\text{m}^2 \pm 40$ Zellen/ μm^2 ; ZT14: 61 Zellen/ $\mu\text{m}^2 \pm 13$ Zellen/ μm^2 ; $P = 0,01$). Es gab sowohl zur Licht-/Ruhephase als auch zur Dunkel-/Aktivitätsphase keinen signifikanten Unterschied zwischen Wildtyp- und TgDimer-Mäusen (ZT02: $P = 0,7$; ZT14: $P = 0,9$) (Abb. 2A, B).

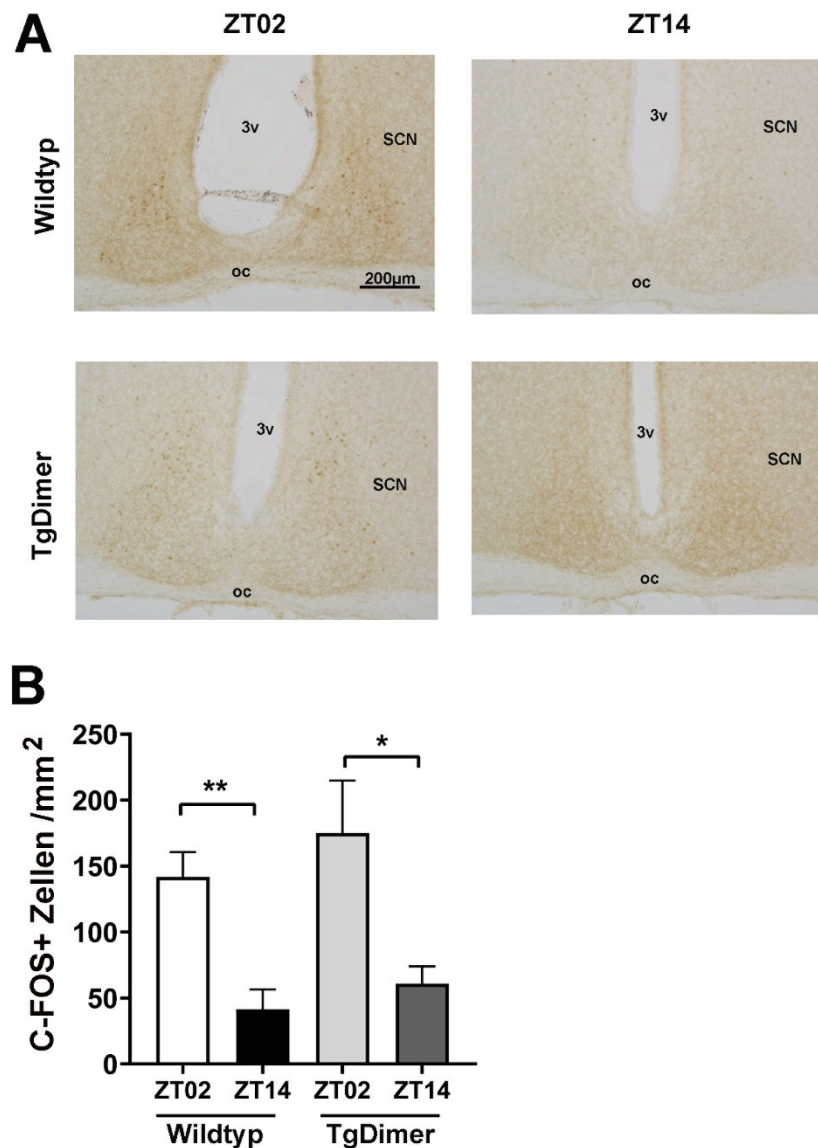


Abb.2: c-FOS-Immunreaktion im SCN als Marker für lichtinduzierte neuronale Aktivität. A) Repräsentative Mikrofotografien (Hellfeld) der c-FOS- Immunreaktion (braune Zellkerne) im SCN in der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02 = 2 Stunden nach Beginn der Lichtphase) und Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14 = 2 Stunden nach Beginn der Dunkelphase) in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen. Maßstab = 200µm. B) Auswertung der c-FOS Immunreaktion (Zellen pro mm²) im SCN von Wildtyp- und TgDimer-Mäusen zur Licht-/Ruhephase (ZT02) und zur Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14): *: P < 0.05, **: P < 0.01, ANOVA-Test und Tukey-Post-hoc-Test. n = 3-6 Mäuse pro Genotyp/Zeitpunkt.

2.3 Veränderung des Uhrenproteins PER1 im SCN von TgDimer-Mäusen

Anhand der PER1-Immunreaktion im SCN kann man Rückschlüsse über die Integrität des molekularen Uhrwerks im zirkadianen Rhythmusgenerator ziehen. Die PER1-Immunreaktion im SCN ist sowohl bei den Wildtyp- und den TgDimer-Mäusen in der frühen Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14) deutlich stärker ausgeprägter als in der frühen Ruhe-/Lichtphase (ZT02) (Wildtyp: ZT14: $5275 \pm 147,2$; ZT02: $554,2 \pm 113,4$; $P = < 0,0001$; TgDimer: ZT14: $4189 \pm 398,2$; ZT02: $409,5 \pm 214,9$; $P = < 0,0001$). Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen Wildtyp und TgDimer zum ZT02 ($P = 0,99$). Zum ZT14 liegt jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen Wildtyp und TgDimer vor (Wildtyp: $5275 \pm 147,2$; TgDimer: $4189 \pm 398,2$; $P = 0,048$) (Abb.3 A, B).

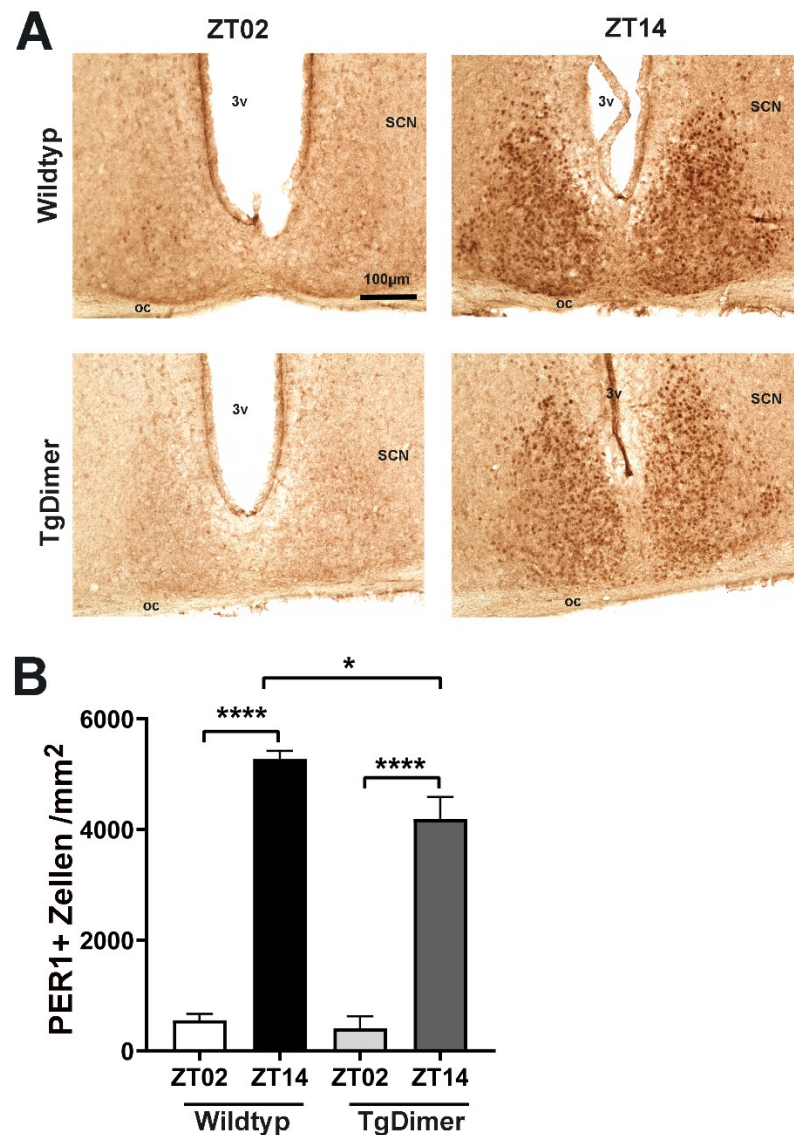


Abb. 3: PER 1 Immunreaktion im SCN. A) Repräsentative Mikrofotografien (Hellfeld) der PER1- Immunreaktion (braune Zellkerne) im SCN in der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02 = 2 Stunden nach Beginn der Lichtphase) und Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14 = 2 Stunden nach Beginn der Dunkelfase) in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen. Maßstab=100µm. B) Auswertung der PER1- Immunreaktion (Zellen pro mm²) im SCN von Wildtyp- und TgDimer-Mäusen zur Licht-/Ruhephase (ZT02) und zur Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14): *: P < 0.05, **: P < 0.01, ANOVA-Test und Tukey-Post-hoc-Test. n = 3-6 Mäuse pro Genotyp/Zeitpunkt.

2.4 Veränderung der GFAP-Immunfluoreszenz im SCN als Marker für die Aktivität von Astrozyten in TgDimer-Mäusen

Astrozyten sind wesentlicher Bestandteil der Verarbeitung der Lichtinformation im SCN. Um die Aktivität der Astrozyten zu überprüfen, wurde nun die GFAP Immunreaktion im SCN ausgewertet. Sowohl im SCN von Wildtyp-als auch bei den TgDimer-Mäusen gab

es keinen signifikanten Unterschied in der GFAP-Immunfluoreszenz zwischen der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02) und der frühen Dunkel-/Aktivitätsphase (Wildtyp: $P = 0,5$; TgDimer: $P = 0,5$). Die GFAP-Immunfluoreszenz war in TgDimer-Mäusen sowohl während der Licht-/Ruhephase als auch während der Dunkel-/Aktivitätsphase signifikant intensiver als in Wildtyp-Mäusen (Wildtyp: ZT02: $4,9 \text{ a.u.} \pm 0,2 \text{ a.u.}$; ZT14 $7,14 \text{ a.u.} \pm 0,47 \text{ a.u.}$, $P = 0,03$; TgDimer: ZT02: $6,4 \text{ a.u.} \pm 0,18 \text{ a.u.}$; ZT14: $5,5 \text{ a.u.} \pm 0,19 \text{ a.u.}$; $P = 0,009$) (Abb. 4 A, B).

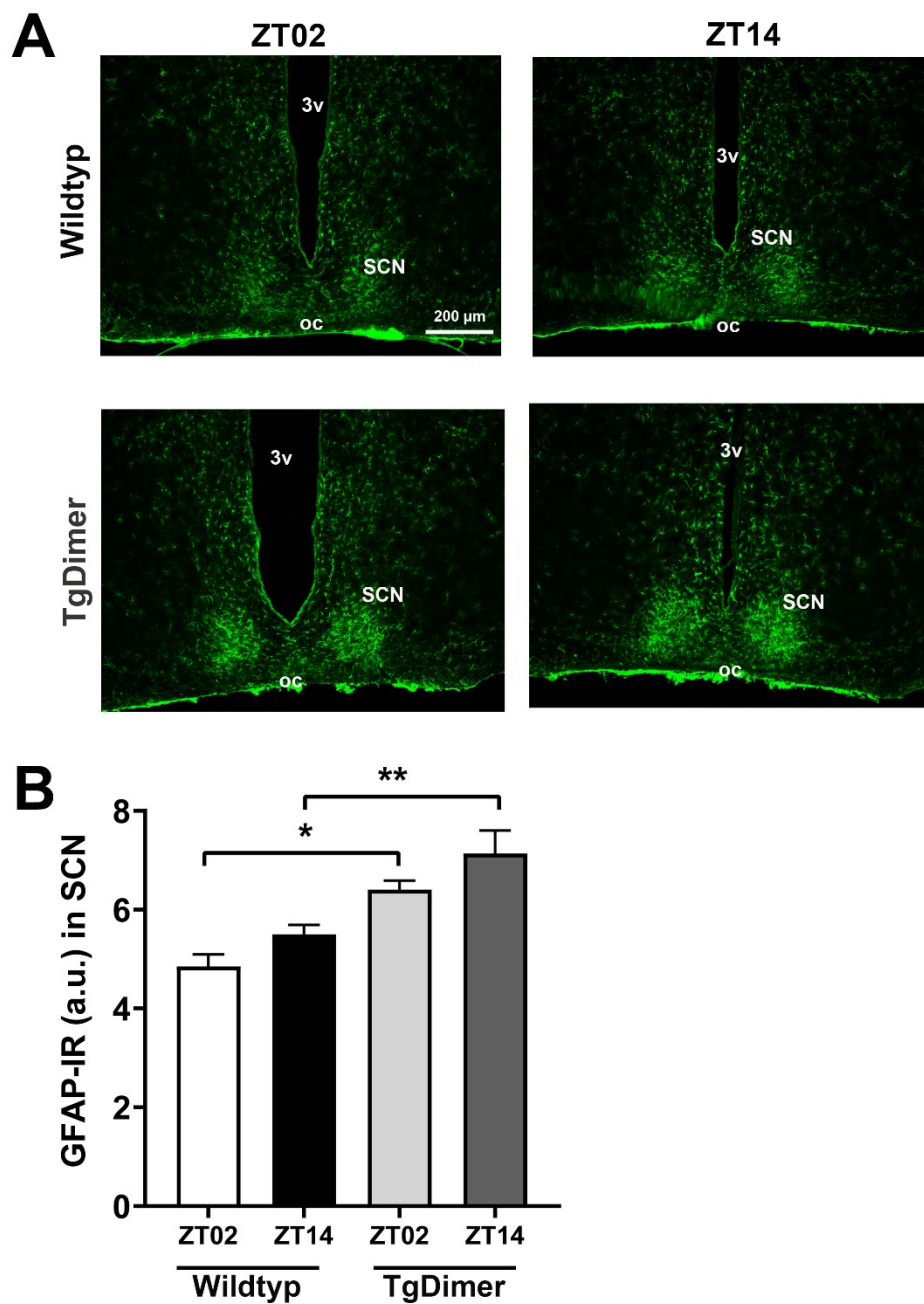


Abb. 4: GFAP-Immunreaktion im SCN als Marker für die Aktivität von Astrozyten. A) Repräsentative Mikrofotografien (Fluoreszenz) der GFAP-Immunreaktion (grüne Zellfortsätze) im SCN in der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02 = 2 Stunden nach Beginn der Lichtphase) und Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14 = 2 Stunden nach Beginn der Dunkelphase) in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen. Maßstab = 200µm. B) Auswertung der GFAP-Immunreaktion in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen in der Lichtphase (ZT02) und Dunkelphase (ZT14) *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ANOVA-Test und Tukey-Post-hoc-Test. $n = 3-6$ Mäuse pro Genotyp/Zeitpunkt.

2.5 GFAP-Immunfluoreszenz im Neocortex und Hippocampus

Um zu überprüfen, ob sich die erhöhte GFAP-Immunfluoreszenz nur auf den SCN beschränkt, wurde die GFAP-Immunfluoreszenz ebenfalls im Neocortex und Hippocampus beurteilt. Die genaue Lokalisation liegt bei Bregma +1,42 mm. Im Neocortex gibt es keine Unterschiede der GFAP-Immunfluoreszenz zwischen den Zeitpunkten bei beiden Genotypen (Wildtyp: $P = 0,54$; TgDimer: $P = 0,89$.) Zudem gibt es weder in der frühen Licht-/Ruhephase noch der frühen Dunkel-/Aktivitätsphase einen signifikanten Unterschied zwischen Wildtyp- und TgDimer-Mäusen (ZT02: $P = 0,99$, ZT14: $P = 0,81$) (Abb.5 A, B). Auch im Hippocampus gibt es keinen Unterschied in der GFAP-Immunfluoreszenz zwischen den Genotypen (Wildtyp: $P = 0,89$; TgDimer: $P = 1$) und den Zeitpunkten (ZT02: $P = 0,9$; ZT14: $P = 0,77$) (Abb.6 A, B).

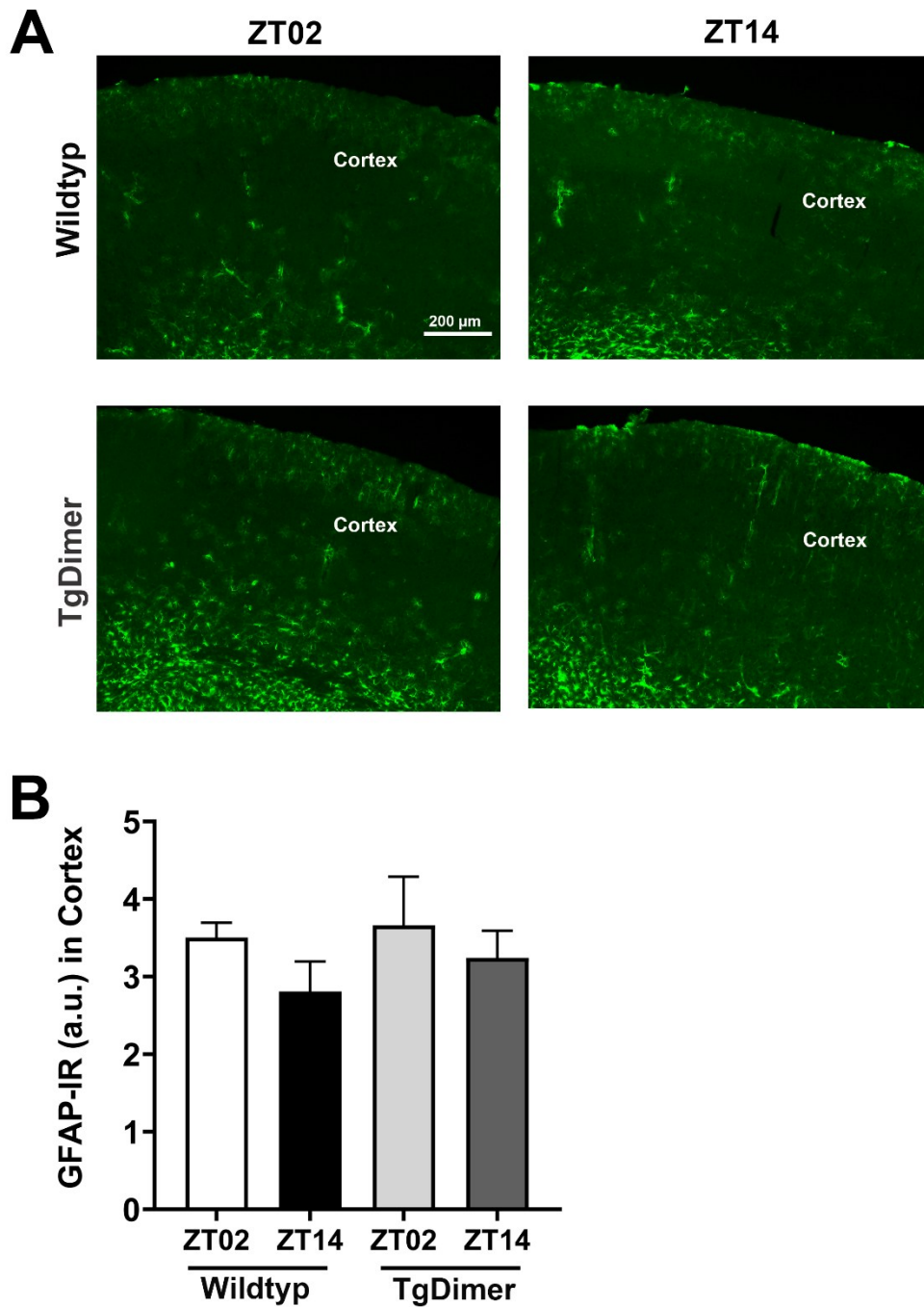


Abb. 5: GFAP-Immunreaktion im Neocortex als Marker für die Aktivität von Astrozyten. A) Repräsentative Mikrofotografien (Fluoreszenz) der GFAP-Immunreaktion (grüne Zellfortsätze) im Neocortex in der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02 = 2 Stunden nach Beginn der Lichtphase) und Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14 = 2 Stunden nach Beginn der Dunkelphase) in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen. Maßstab = 200 μ m. B) Auswertung der GFAP-Immunreaktion in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen in der Lichtphase (ZT02) und Dunkelphase (ZT14). *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$. ANOVA-Test und Tukey-Post-hoc-Test. n = 3-6 Mäuse pro Genotyp/Zeitpunkt.

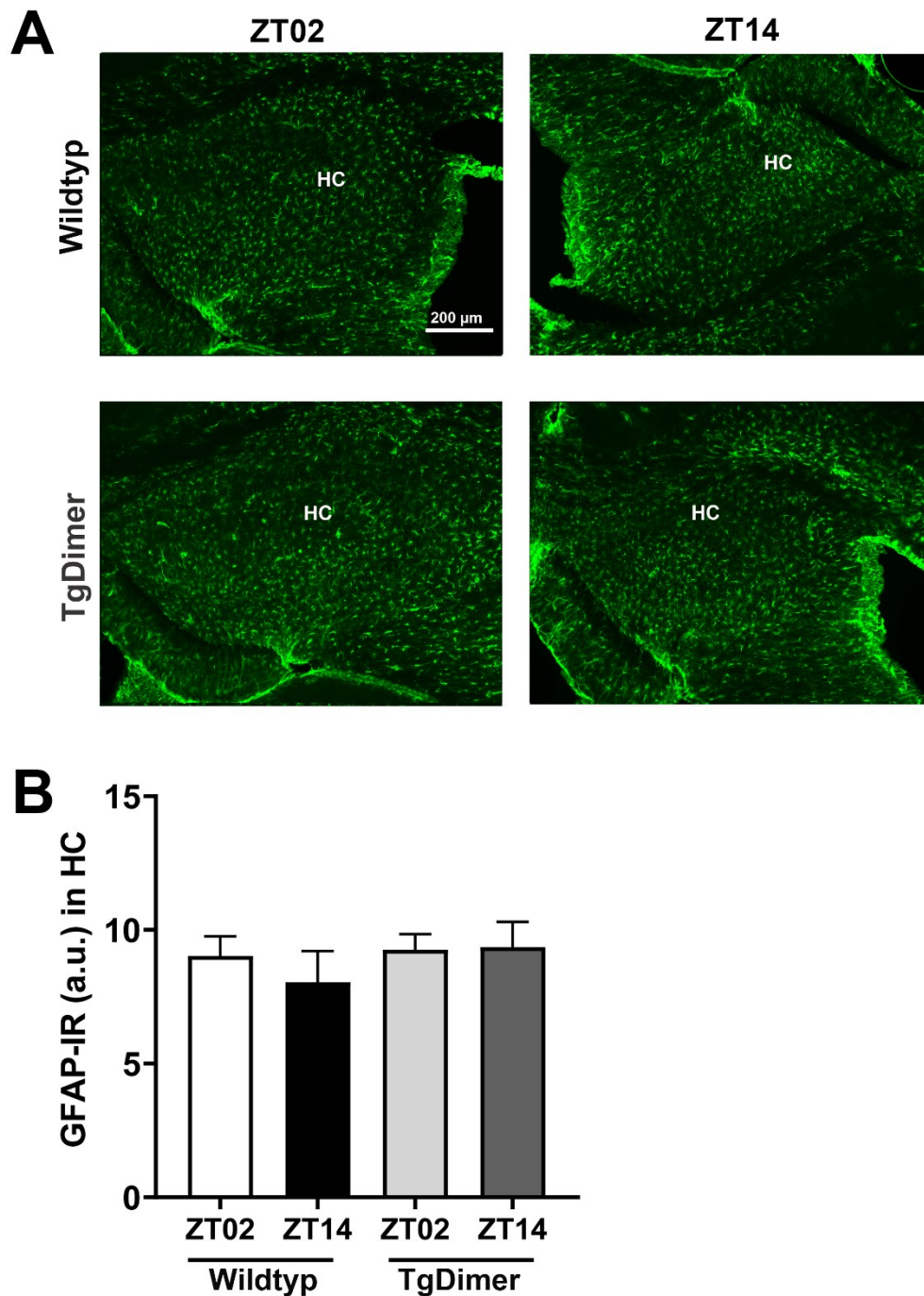


Abb. 6: GFAP-Immunreaktion im Hippocampus als Marker für die Aktivität von Astrozyten. A) Repräsentative Mikrofotografien (Fluoreszenz) der GFAP-Immunreaktion (grüne Zellfortsätze) im Hippocampus in der frühen Licht-/Ruhephase (ZT02 = 2 Stunden nach Beginn der Lichtphase) und Dunkel-/Aktivitätsphase (ZT14 = 2 Stunden nach Beginn der Dunkelfase) in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen. Maßstab = 200μm. B) Auswertung der GFAP-Immunreaktion in Wildtyp- und TgDimer-Mäusen in der Lichtphase (ZT02) und Dunkelfase (ZT14) *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$. ANOVA-Test und Tukey-Post-hoc-Test. $n = 3-6$ Mäuse pro Genotyp/Zeitpunkt.

3 Diskussion

Demenzerkrankungen wie der Morbus Alzheimer sind durch kognitive Einschränkungen charakterisiert. Im frühen Stadium der AD, noch bevor makroskopisch sichtbare strukturelle Veränderungen auftreten, können bereits milde kognitive sowie nicht-kognitive Störungen beobachtet werden (Videnovic et al., 2014). Dies spricht dafür, dass Gehirnfunktionen bereits vor der Bildung von Amyloid-Plaques und Tau-Fibrillen beeinträchtigt werden. Zu den nicht-kognitiven Veränderungen bei Demenzerkrankungen zählen auch Beeinträchtigungen des Schlaf-Wach-Rhythmus, die vermutlich auf Dysfunktionen des zirkadianen Systems zurückzuführen sind (Volicer et al., 2001).

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss löslicher A β -Dimere, die in TgDimer-Mäusen produziert werden, auf die lokomotorische Aktivität sowie auf die neuronale und gliale Aktivität des SCN in diesen Mäusen.

3.1 Toxische Wirkung von löslichen A β

Lösliche A β -Oligomere weisen neurotoxische Effekte auf und beeinflussen die Gehirnfunktion bereits vor dem Auftreten von Neurodegeneration. Transgene Mäuse, die APP mit der schwedischen Mutation (APP(SW)) exprimieren ohne A β -Ablagerungen im Gehirn zu entwickeln, wiesen kognitive Defizite auf, was auf die bedeutende pathophysiologische Rolle der löslichen A β hindeutet (King et al., 1999). Darüber hinaus zeigten einige Studien, dass A β -Dimere eine entscheidende Rolle bei der Entstehung früherer Beeinträchtigungen des Lernens und des Gedächtnisses spielen könnten. Dies weist darauf hin, dass die initialen kognitiven Defizite bei Alzheimer unabhängig von der Bildung von A β -Plaques auftreten können (Abdel-Hafiz et al., 2018; Müller-Schiffmann et al., 2016). Es wurde zudem gezeigt, dass lösliche A β -Dimere die Häufigkeit und die Amplitude der miniaturisierten exzitatorischen postsynaptischen Ströme (mEPSCs) in kultivierten kortikalen Neuronen signifikant reduzierten, was auf eine neurotoxische Wirkung hinweist (Müller-Schiffmann et al., 2011). Es wird angenommen, dass A β -Dimere die zentralen Vermittler der A β -Toxizität sind (O'Nuallain et al., 2010) und dass bereits hohe Konzentrationen von A β -Dimeren sowohl bei Mäusen als auch beim Menschen ausreichen, um neurotoxische Prozesse auszulösen und die für Alzheimer typische Krankheitskaskade in Gang zu setzen (Hashimoto et al., 2012; Kawarabayashi et al., 2004; Mc Donald et al., 2015; Mc Donald et al., 2010; Shankar et al., 2008).

Im Gegensatz dazu zeigen sechs Monate alte Tg2576-Mäuse, die ausschließlich lösliche A β produzieren, keine kognitiven Defizite. Dahingegen entwickeln die älteren Tiere, die zusätzlich unlösliche A β -Ablagerungen aufweisen, deutliche Gedächtnisverluste (Westerman et al., 2002). Dieser Unterschied könnte jedoch an den unterschiedlichen Mutationen in den Mauslinien liegen. Allerdings besteht nicht zwangsläufig ein Zusammenhang zwischen A β -Ablagerungen und dem Verlust von Neuronen. So zeigte sich in Untersuchungen an transgenen Mäusen, die das humane APP mit der schwedischen Mutation (APPSw) exprimieren, dass sich im Alter von 16 Monaten A β -Ablagerungen bildeten, die den senilen Plaques des Menschen ähneln. Diese Ablagerungen gingen mit einer ausgeprägten Gliose einher, jedoch ohne signifikanten neuronalen Verlust im CA1-Bereich des Hippocampus (Irizarry, McNamara, et al., 1997).

Ebenso wurden transgene FVB/N-Mäuse, die entweder menschliches (Hu) oder murines (Mo) APP695 überexprimierten, untersucht. Diese Mäuse zeigten eine verkürzte Lebensdauer und entwickelten eine zentrale Nervensystemstörung, die sich durch Neophobie (Angst vor Neuem) und beeinträchtigte räumliche Alternation äußerte. Die transgenen Mäuse zeigten Störungen im Lernen, Gedächtnis und in ihrem affektiven Verhalten. Es konnten jedoch keine extrazellulären Amyloidablagerungen nachgewiesen werden (Hsiao et al., 1995).

3.2 Rhythmus der spontanen lokomotorischen Aktivität in TgDimer-Mäusen

Sowohl die TgDimer- als auch die Wildtyp-Mäuse zeigten eine rhythmische lokomotorische Spontanaktivität. Allerdings wiesen die TgDimer-Mäuse eine höhere spontane lokomotorische Aktivität in der Licht-/Ruhephase auf. Dies erinnert an die erhöhte nächtliche Aktivität bei Personen mit AD, die mit Unruhe und Verwirrung einhergeht (Volicer et al., 2001).

Störungen des Rhythmus der lokomotorischen Aktivität wurden bereits in anderen AD-Mausmodellen nachgewiesen. So zeigten die APPSwe/PS1dE9-Mäuse, die sowohl lösliches A β als auch im Verlauf A β -Plaques produzierten, eine subjektiv nächtlich betonte Hyperaktivität (Oyegbami et al., 2017). Da in dieser Studie Mäuse im Alter von zwei Monaten untersucht wurden, befanden sich die Mäuse damit in der frühen Phase der AD-Pathogenese und produzierten daher hauptsächlich lösliche A β -Oligomere.

ApoE -/- Mäuse, welche Amyloid-Ablagerungen im SCN aufweisen, zeigten unter LD einen beeinträchtigten Masking-Effekt, was auf eine gestörte Lichtwahrnehmung oder eine veränderte Signalverarbeitung im SCN hindeuten könnte. Die Apo E-/- Mäuse wiesen bei Lichtimpulsen eine deutlich geringere Phasenverschiebung auf, was auf eine beeinträchtigte Reaktion des SCN auf Lichtreize hinweisen könnte. Unter schwachem Licht und konstanter Dunkelheit zeigte sich während der subjektiven Tageszeit eine signifikante Aktivitätssteigerung (Zhou et al., 2016). Des Weiteren veranschaulicht eine Studie mit Tg-SwDI-Mäusen, welche das humane APP tragen und A β -Plaques akkumulieren, dass diese Mäuse eine signifikant kürzere Freilaufzeit aufwiesen (Oyegbami et al., 2017; Paul et al., 2018; Sterniczuk et al., 2010). Die intertägliche Variabilität der Phasenverschiebung war bei Tg-SwDI-Mäusen erhöht, während die intertägliche Variabilität des Aktivitätsbeginns verringert war. Somit ist die zirkadiane Organisation der lokomotorischen Aktivität bei diesen Mäusen gestört, was auf eine Beeinträchtigung des zirkadianen Rhythmus und eine gestörte lokomotorische Aktivität hinweisen kann. Eine andere Arbeit zeigte, dass die Injektion von A β 25-35 im SCN bei syrischen Hamstern zu weniger Konsistenz im Tagesrhythmus führte (Furio et al., 2002). Zusammen genommen deuten unsere Ergebnisse und die in der Literatur beschriebenen Befunde darauf hin, dass bereits lösliche A β -Formen den Tag-Nacht-Rhythmus stören.

Es ist jedoch anzumerken, dass eine rhythmische Aktivität bei (nachtaktiven) Nagern in der Standard-Photoperiode von 12h Licht/12h Dunkelheit (LD) keine Aussage darüber erlaubt, ob es sich um eine Anpassung des endogenen zirkadianen Rhythmus („Entrainment“) handelt oder um eine Hemmung der Aktivität durch Licht („Masking“) (Mrosovsky, 1999), die unabhängig vom zirkadianen System abläuft (Redlin, 2001). Daher kann die gesteigerte Aktivität von Mäusen in der Lichtphase auf ein verändertes Entrainment aufgrund einer veränderten SCN-abhängigen Rhythmusgeneration hinweisen, oder auf ein gestörtes Masking aufgrund einer verminderten Lichtübertragung zum Gehirn (Hattar et al., 2002). Die immunhistochemischen Untersuchungen wurden durchgeführt, um dies zu differenzieren.

3.3 Lichtinduzierte neuronale Aktivität im SCN

c-FOS gehört zu den nuklearen Onkogenen, der als Marker für neuronale Aktivität angesehen wird. Im SCN wird c-FOS durch Licht induziert, somit ist bei intakter Lichtüber-

tragung an den SCN die c-FOS-Immunreaktion in der Lichtphase höher als in der Dunkelphase (Lara Aparicio et al., 2022; Munch et al., 2002). In dieser Arbeit wurde die c-FOS-Immunreaktion als Marker für die Lichtübertragung genutzt, die die Grundlage für das „Masking“ bildet. In beiden Genotypen war die c-FOS-Immunreaktion gleichermaßen höher in der frühen Lichtphase als in der frühen Dunkelphase. Dies weist darauf hin, dass die A β -Dimere in den TgDimer-Mäusen nicht den Lichteingang beeinträchtigen. Daher ist die gesteigerte lokomotorische Aktivität der TgDimer-Mäuse in der Lichtphase vermutlich nicht auf eine verringerte Lichtübertragung (gestörtes „Masking“) zurückzuführen.

3.4 Rhythmische neuronale Aktivität im SCN

Um die rhythmische neuronale Aktivität im SCN, die eine wichtige Grundlage für das „Entrainment“ bildet, zu untersuchen, haben wir das Uhrengenprotein PER1 untersucht. Dieses zeigt unabhängig vom Licht-Dunkelwechsel eine stärkere Immunreaktion in der frühen Nacht im Vergleich zum frühen Tag (Hastings et al., 1999; Öztürk et al., 2021). Ein gestörter Rhythmus der lokomotorischen Aktivität steht in Zusammenhang mit einer gestörten rhythmischen Expression der Uhrengene Per1, Per2 und Bmal1 im SCN (Zhou et al., 2016). Die PER1-Immunreaktion im SCN der TgDimer-Maus in der frühen Nacht war signifikant geringer als in der Wildtyp-Maus, was auf eine Störung der Rhythmusgeneration durch die löslichen A β -Dimere hinweist. Dies steht im Einklang mit anderen Studien, die eine Störung der neuronalen Aktivität im SCN bei AD-Mausmodellen zeigen. Zum Beispiel zeigte die Studie von Paul et al., dass der Rhythmus der spontanen Feuerraten bei den Tg-SwDI-Mäusen abgeschwächt und langsamer ist, insbesondere während des subjektiven Tages (Paul et al., 2018). Im APP/PS1-Mausmodell wurde der Rhythmus der mRNA-Expression verschiedener Uhrengene (Clock, Bmal1, Per1/2, Cry1/2, Rora, Rorb, Dec1/2, Nr1d1, Dbp) unter LD im SCN, Hippocampus und Neocortex untersucht (Yang et al., 2025). Bereits junge APP/PS1-Mäuse zeigten vor allem im SCN eine Dysregulation der rhythmischen Uhrengenexpression im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen. Im Einklang mit unserer Studie deutet das darauf hin, dass bereits frühe Formen der Pathologie bzw. lösliche Formen von A β das molekulare Uhrwerk im SCN stören. Bei älteren APP/PS1-Mäusen kam es zum kompletten Erliegen der rhythmischen Expression verschiedener Uhrengene im SCN (Yang et al., 2025), was für eine Progredienz der Störung des molekularen Uhrwerks spricht, die zu einer Chronodisruption führt.

Auch im Hippocampus und Neokortex zeigen AD Mausmodelle eine gestörte Expression verschiedener Uhrgene (Song et al., 2015) (Yang et al., 2025). Chronodisruption kann zum einen zu kognitiven Beeinträchtigungen beitragen und zum anderen die Neurodegeneration befeuern (Hood & Amir, 2017; Krishnan et al., 2012). Es scheint daher bidirektionale Wechselwirkungen zwischen Chronodisruption und Neurodegeneration zu geben (Duncan, 2020). Beispielweise zeigen einige Studien, dass die Fragmentierung der Ruhephase bei älteren Menschen ohne Demenz mit einem erhöhten Alzheimer Risiko assoziiert ist (Khapre et al., 2014; Kondratov et al., 2006; Musiek et al., 2013). Umgekehrt kann A β den zirkadianen Rhythmus beeinträchtigen.

A β kann zum einen aufgrund seiner Neurotoxizität (Breijyeh & Karaman, 2020) die normale Funktion einzelner Neuronen stören, was sich in der gestörten rhythmischen Uhrgenexpression auf Einzelzellebene äußert (Carrero et al., 2023). A β kann jedoch auch die Funktion neuronaler Netzwerke stören, da die interzelluläre Kopplung eine Voraussetzung für einen kohärenten Rhythmus darstellt, kann sich dies auch zu einer gestörten rhythmischen Uhrgenexpression in einer Hirnregion führen.

Auch spielt die Interaktion von Neuronen und Astrozyten eine wichtige Rolle für die Rhythmusgeneration im SCN.

3.5 Astrozyten-Aktivität in TgDimer-Mäusen

Auch Astrozyten verfügen über ein molekulares Uhrwerk, das rhythmische Zellfunktionen, wie beispielsweise eine rhythmische Freisetzung von ATP (Marpegan et al., 2011), steuern kann. Im SCN können Astrozyten auch in Mäusen mit einem defekten neuronalen molekulare Uhrwerk eine rhythmische Aktivitätsmuster wiederherstellen (Brancaccio et al., 2019). Eine Störung der Astrozytenfunktion kann die Rhythmogenese im SCN beeinträchtigen (Tso et al., 2017). Generell kann auch eine Störung des molekularen Uhrwerk in Astrozyten durch Altern, Entzündungen oder toxische Proteinaggregationen zur Neurodegeneration beitragen (McKee et al., 2020).

Sowohl im Wildtyp- als auch in TgDimer-Mäuse konnten keine signifikanten Unterschiede in der GFAP-Immunfluoreszenz zwischen frühem Tag und früher Nacht festgestellt werden. Studien in anderen Labornagern wie mit Ratten (Fernandez-Galaz et al., 1999) (Gerics et al., 2006) oder Hamstern (Lavialle & Servière, 1993) zeigen tageszeitli-

che Schwankungen der GFAP-Immunreaktivität. Allerdings war die GFAP-Immunfluoreszenz im SCN von TgDimer-Mäuse sowohl in der frühen Licht-/Ruhe- als auch in der frühen Dunkel-/Aktivitätsphase signifikant höher als in den Wildtyp-Mäusen. Dies deutet auf eine gesteigerte Aktivität von Astrozyten hin, die auch als Astrogliose bezeichnet wird (Tykhomyrov et al., 2016) und im Rahmen von neurodegenerativen Erkrankungen auftritt (Xiao et al., 2014). Daher kann vermutet werden, dass eine gestörte Astrozytenaktivität im SCN aufgrund von A β -Dimeren zur Störung des „Entrainment“ in TgDimer-Mäusen beiträgt.

Im Neocortex und im Hippocampus der TgDimer-Mäuse konnte keine gesteigerte GFAP-Immunfluoreszenz in TgDimer-Mäusen festgestellt werden. Dies ist im Einklang mit der Studie von Müller-Schiffmann, die gezeigt hat, dass TgDimer-Mäuse keinen GFAP-Anstieg im Hippocampus aufweist (Müller-Schiffmann et al., 2016). Das könnte darauf hindeuten, dass die Astrozyten im SCN vulnerabler gegenüber löslichem A β als kortikale Astrozyten (Son et al., 2023; Son et al., 2024).

Das zirkadiane System ist hochsensitiv gegenüber Lichtintensität, Dauer und Wellenlänge, wobei Licht als primärer Zeitgeber sowohl zentrale Oszillatoren im SCN als auch periphere Uhren synchronisiert (Albrecht & Eichele, 2003).

Unter Dauerdunkel (DD) zeigen Mäuse periodenverkürzte Rhythmen ($23,7 \pm 0,1$ h) mit niedrigerer Amplituden (Jud et al., 2005; Van Someren & Riemersma-Van Der Lek, 2007). Diese Kondition wird genutzt, um die Endogenität zirkadianer Rhythmen (ohne Zeitgeber) zu entmaskieren (González, 2018). Darüber hinaus zeigten Studien, in den Menschen über Wochen von allen externen Zeitgebern isoliert lebten (Bunker-Experimenten), dass die endogenen zirkadianen Rhythmen „free-running“ mit einer Periode von etwa 25 h liefen. Dabei zeigte sich, dass viele physiologische Prozesse, unter anderem der Schlaf-Wachzyklus und die Temperaturoszillation endogen gesteuert werden (Aschoff, 1960; Von Aschoff & Wever, 1962). Langanhaltende DD führt zu deutlichen Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus sowie zu depressionsähnlichen und stressassoziierten Verhaltensänderungen, einschließlich verzögerter Aktivitätsphasen, verminderter Rhythmusamplitude, erhöhter Immobilität und gesteigerter Stressreaktivität (González & Aston-Jones, 2006).

Durch Phasenverschiebungen kann die Entrainment-Fähigkeiten der SCN-Oszillatoren untersucht werden (Meijer et al., 1996; Lawrence P Morin, 2013; Piorz et al., 2016). Das Entrainment an einen neuen Licht-Dunkel-Zyklus gelingt nur, solange die täglichen Phasenverschiebungen groß genug sind, um die Differenz zwischen der endogenen Periodendauer und 24 h auszugleichen (Gronfier et al., 2007). Bei zu großer Differenz oder unzureichender Anpassung tritt ein Freilaufen („free running“) auf (Monecke, 2004). Bei den Mäusen können einzelne Lichtimpulse in der subjektiven Dunkelphase Verschiebungen von etwa 2–3 Stunden induzieren, abhängig von Zeit, Dauer und Intensität des Lichtreizes. Licht in der frühen subjektiven Nacht verursacht meist Phasenverzögerungen, während Licht in der späten subjektiven Nacht Phasenvorverlagerungen verursacht. Werden mehrere Tage hintereinander restriktive Lichtsignale gegeben, sind auch größere Verschiebungen möglich (Comas et al., 2006). Die Phasenverschiebung und die Möglichkeit des Entrainment ist jedoch abhängig von dem Tiermodell. Andere Mutanten sind widerstandsfähiger gegenüber Jetlag-artige Zyklen und können bei stärkerer Phasenverschiebung weiterhin ein Entrainment etablieren (Vajtay et al., 2017). Beim Menschen verschieben einzelne Lichtpulse den Rhythmus meist um 1–3 Stunden, stärkere oder längere Lichtbelichtungen können Verschiebungen bis ± 12 Stunden bewirken. Bei zu schwachem oder ungünstigem Licht läuft der Rhythmus wieder im freien Lauf („free run“) mit einer Eigenfrequenz von etwa 24 Stunden (Duffy et al., 1996). Die Untersuchung von Phasenverschiebungen in verschiedenen Modellen kann Einblicke in die Funktion des SCN und genetische Modulationen liefern und gleichzeitig Hinweise auf mögliche Strategien zur Korrektur zirkadianer Störungen geben.

Nächtliche Lichtexposition, besonders blaues Licht, stört zentrale und periphere Uhren, Schlaf sowie physiologische und Verhaltensrhythmen (Chronodisruption) (Cajochen et al., 2011). Schon sehr schwaches Licht in der Dunkelphase kann Phaseverschiebungen auslösen (Frank et al., 2010; Muindi et al., 2013; Stenvers et al., 2016). Ein chronisches Missverhältnis zwischen endogenem Rhythmus und sozialen Licht-Signalen („Social Jetlag“) stört die innere Synchronisation und schädigt auf Dauer die Gesundheit (Haus & Smolensky, 2006; Touitou et al., 2017; Zelinski et al., 2014).

Diese Erkenntnisse eröffnen für AD-Mausmodelle die Möglichkeit, gezielt zu untersuchen, wie gestörte Licht- und Zeitgeberinteraktionen die synaptische Plastizität, kognitive Funktionen und das affektive Verhalten modulieren.

4 Fazit

Die vorliegende Arbeit nutzt das TgDimer-Mausmodells, um den Einfluss der löslichen A β -Dimere auf den Rhythmus der Bewegungsaktivität und auf den SCN, die Schlüsselstruktur des zirkadianen Systems, zu untersuchen. TgDimer-Mäuse zeigten eine erhöhte Aktivität während der Licht-/Ruhephase, was auf eine Störung im zirkadianen System hinweist. Die Immunreaktivität des Licht-abhängigen Markers c-FOS im SCN der TgDimer-Mäuse war unverändert, was auf eine intakte photische Signalübertragung an den SCN hinweist. Allerdings war die Immunreaktivität des Uhrengenproteins PER1 im SCN der TgDimer-Mäuse vermindert, was auf ein beeinträchtigtes molekulares Uhrwerk deutet. Darüber hinaus war die Immunreaktivität des Astrozytenmarkers GFAP selektive im SCN der TgDimer-Mäuse erhöht, was auf eine besondere Vulnerabilität der SCN-Astrozyten schließen lässt. Da die SCN-Astrozyten zur Rhythmogenese beitragen, könnte die Aktivierung der SCN-Astrozyten durch A β -Dimere eine Ursache für die Beeinträchtigung im molekularen Uhrwerk darstellen. Die Ergebnisse stützen die Hypothese, dass lösliche A β -Formen das zirkadiane System auf Ebene des SCN beeinträchtigen und damit zur Entstehung nicht-kognitiver Symptome wie Schlaf- und Rhythmusstörungen im frühen Stadium der AD, noch bevor Amyloid-Plaques oder offensichtliche Neurodegeneration auftreten, beitragen können. Diese Erkenntnisse unterstreichen die besondere Vulnerabilität des SCN und die Relevanz der Interaktion zwischen löslichen A β -Spezies, zirkadianer Genregulation und astogliale Funktion als potenziellen frühen pathophysiologischen Angriffspunkt. Ein vertieftes Verständnis dieser Mechanismen könnte neue therapeutische Ansätze eröffnen, die auf die Stabilisierung zirkadianer Prozesse und eine Verzögerung der Krankheitsprogression abzielen.

Quellen

- Abbott, S. M., Malkani, R. G., & Zee, P. C. (2020). Circadian disruption and human health: A bidirectional relationship. *European Journal of Neuroscience*, 51(1), 567-583.
- Abdel-Hafiz, L., Müller-Schiffmann, A., Korth, C., Fazari, B., Chao, O. Y., Nikolaus, S., Schäble, S., Herring, A., Keyvani, K., Lamounier-Zepter, V., Huston, J. P., & de Souza Silva, M. A. (2018). A β dimers induce behavioral and neurochemical deficits of relevance to early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 69, 1-9.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.04.005>
- Albrecht, U., & Eichele, G. (2003). The mammalian circadian clock. *Curr Opin Genet Dev*, 13(3), 271-277. [https://doi.org/10.1016/s0959-437x\(03\)00055-8](https://doi.org/10.1016/s0959-437x(03)00055-8)
- Anand, P., & Singh, B. (2013). A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Arch Pharm Res*, 36(4), 375-399. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0036-3>
- Ancoli-Israel, S., Klauber, M. R., Jones, D. W., Kripke, D. F., Martin, J., Mason, W., Pat-Horenczyk, R., & Fell, R. (1997). Variations in circadian rhythms of activity, sleep, and light exposure related to dementia in nursing-home patients. *Sleep*, 20(1), 18-23.
- Armstrong, R. A. (2009). The molecular biology of senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol*, 47(4), 289-299.
- Armstrong, R. A. (2019). Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia neuropathologica*, 57(2), 87-105.
- Aschoff, J. (1960). Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology,
- Bailey, S. M., Udoh, U. S., & Young, M. E. (2014). Circadian regulation of metabolism. *Journal of Endocrinology*, 222(2), R75-R96.
- Balsalobre, A., Brown, S. A., Marcacci, L., Tronche, F., Kellendonk, C., Reichardt, H. M., Schutz, G., & Schibler, U. (2000). Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*, 289(5488), 2344-2347.
<https://doi.org/10.1126/science.289.5488.2344>
- Bartness, T. J., Song, C. K., & Demas, G. E. (2001). SCN efferents to peripheral tissues: implications for biological rhythms. *J Biol Rhythms*, 16(3), 196-204.
<https://doi.org/10.1177/074873040101600302>
- Belancio, V. P., Blask, D. E., Deininger, P., Hill, S. M., & Jazwinski, S. M. (2014). The aging clock and circadian control of metabolism and genome stability. *Front Genet*, 5, 455.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00455>
- Berson, D. M., Dunn, F. A., & Takao, M. (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*, 295(5557), 1070-1073.
<https://doi.org/10.1126/science.1067262>
- Biello, S. M., Golombek, D. A., & Harrington, M. E. (1997). Neuropeptide Y and glutamate block each other's phase shifts in the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Neuroscience*, 77(4), 1049-1057. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(96\)00547-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(96)00547-7)
- Brancaccio, M., Edwards, M. D., Patton, A. P., Smyllie, N. J., Chesham, J. E., Maywood, E. S., & Hastings, M. H. (2019). Cell-autonomous clock of astrocytes drives circadian behavior in mammals. *Science*, 363(6423), 187-192.
- Brancaccio, M., Patton, A. P., Chesham, J. E., Maywood, E. S., & Hastings, M. H. (2017). Astrocytes control circadian timekeeping in the suprachiasmatic nucleus via glutamatergic signaling. *Neuron*, 93(6), 1420-1435. e1425.
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24). <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>

- Brown, S. A. (2016). Circadian metabolism: from mechanisms to metabolomics and medicine. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 27(6), 415-426.
- Buijs, R. M., la Fleur, S. E., Wortel, J., Van Heyningen, C., Zuiddam, L., Mettenleiter, T. C., Kalsbeek, A., Nagai, K., & Nijima, A. (2003). The suprachiasmatic nucleus balances sympathetic and parasympathetic output to peripheral organs through separate preautonomic neurons. *J Comp Neurol*, 464(1), 36-48. <https://doi.org/10.1002/cne.10765>
- Bunger, M. K., Wilsbacher, L. D., Moran, S. M., Clendenin, C., Radcliffe, L. A., Hogenesch, J. B., Simon, M. C., Takahashi, J. S., & Bradfield, C. A. (2000). Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*, 103(7), 1009-1017. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00205-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00205-1)
- Cai, X.-D., Golde, T. E., & Younkin, S. G. (1993). Release of excess amyloid β protein from a mutant amyloid β protein precursor. *Science*, 259(5094), 514-516.
- Cajochen, C., Frey, S., Anders, D., Späti, J., Bues, M., Pross, A., Mager, R., Wirz-Justice, A., & Stefani, O. (2011). Evening exposure to a light-emitting diodes (LED)-backlit computer screen affects circadian physiology and cognitive performance. *Journal of applied physiology*, 110(5), 1432-1438.
- Carrero, L., Antequera, D., Alcalde, I., Megias, D., Ordoñez-Gutierrez, L., Gutierrez, C., Merayo-Llves, J., Wandosell, F., Municio, C., & Carro, E. (2023). Altered Clock Gene Expression in Female APP/PS1 Mice and Aquaporin-Dependent Amyloid Accumulation in the Retina. *Int J Mol Sci*, 24(21). <https://doi.org/10.3390/ijms242115679>
- Chaves, I., van der Horst, G. T., Schellevis, R., Nijman, R. M., Koerkamp, M. G., Holstege, F. C., Smidt, M. P., & Hoekman, M. F. (2014). Insulin-FOXO3 signaling modulates circadian rhythms via regulation of clock transcription. *Current Biology*, 24(11), 1248-1255.
- Chen, C., Tseng, Y., & Ward, J. (2019). A mathematical model demonstrating the role of interstitial fluid flow on the clearance and accumulation of amyloid β in the brain. *Mathematical Biosciences*, 317, 108258.
- Chen, D., Buchanan, G. F., Ding, J. M., Hannibal, J., & Gillette, M. U. (1999). Pituitary adenyl cyclase-activating peptide: a pivotal modulator of glutamatergic regulation of the suprachiasmatic circadian clock. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(23), 13468-13473. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.23.13468>
- Chen, G. F., Xu, T. H., Yan, Y., Zhou, Y. R., Jiang, Y., Melcher, K., & Xu, H. E. (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol Sin*, 38(9), 1205-1235. <https://doi.org/10.1038/aps.2017.28>
- Cleary, J. P., Walsh, D. M., Hofmeister, J. J., Shankar, G. M., Kuskowski, M. A., Selkoe, D. J., & Ashe, K. H. (2005). Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. *Nat Neurosci*, 8(1), 79-84. <https://doi.org/10.1038/nn1372>
- Colwell, C. S. (2021). Defining circadian disruption in neurodegenerative disorders. *J Clin Invest*, 131(19). <https://doi.org/10.1172/jci148288>
- Comas, M., Beersma, D. G., Spoelstra, K., & Daan, S. (2006). Phase and period responses of the circadian system of mice (*Mus musculus*) to light stimuli of different duration. *J Biol Rhythms*, 21(5), 362-372. <https://doi.org/10.1177/0748730406292446>
- Correia, S. C., Santos, R. X., Perry, G., Zhu, X., Moreira, P. I., & Smith, M. A. (2011). Insulin-resistant brain state: the culprit in sporadic Alzheimer's disease? *Ageing Research Reviews*, 10(2), 264-273.
- Cras, P., Kawai, M., Lowery, D., Gonzalez-DeWhitt, P., Greenberg, B., & Perry, G. (1991). Senile plaque neurites in Alzheimer disease accumulate amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88(17), 7552-7556. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.17.7552>
- Damiola, F., Le Minh, N., Preitner, N., Kornmann, B., Fleury-Olela, F., & Schibler, U. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central

- pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev*, 14(23), 2950-2961. <https://doi.org/10.1101/gad.183500>
- Dang, F., Sun, X., Ma, X., Wu, R., Zhang, D., Chen, Y., Xu, Q., Wu, Y., & Liu, Y. (2016). Insulin post-transcriptionally modulates Bmal1 protein to affect the hepatic circadian clock. *Nature communications*, 7(1), 12696.
- De-Paula, V. J., Radanovic, M., Diniz, B. S., & Forlenza, O. V. (2012). Alzheimer's disease. *Subcell Biochem*, 65, 329-352. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5416-4_14
- Dhande, O. S., & Huberman, A. D. (2014). Retinal ganglion cell maps in the brain: implications for visual processing. *Curr Opin Neurobiol*, 24(1), 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.08.006>
- Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The Mammalian Circadian Timing System: Organization and Coordination of Central and Peripheral Clocks. *Annual Review of Physiology*, 72(1), 517-549. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135821>
- Dickson, L., & Finlayson, K. (2009). VPAC and PAC receptors: From ligands to function. *Pharmacol Ther*, 121(3), 294-316. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.11.006>
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H. H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., Broich, K., Cavado, E., Crutch, S., Dartigues, J. F., Duyckaerts, C., Epelbaum, S., Frisoni, G. B., Gauthier, S., Genthon, R., . . . Jack, C. R., Jr. (2016). Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimers Dement*, 12(3), 292-323. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.02.002>
- Duffy, J. F., Kronauer, R. E., & Czeisler, C. A. (1996). Phase - shifting human circadian rhythms: influence of sleep timing, social contact and light exposure. *The Journal of physiology*, 495(1), 289-297.
- Dziema, H., & Obrietan, K. (2002). PACAP potentiates L-type calcium channel conductance in suprachiasmatic nucleus neurons by activating the MAPK pathway. *J Neurophysiol*, 88(3), 1374-1386. <https://doi.org/10.1152/jn.2002.88.3.1374>
- Ecker, J. L., Dumitrescu, O. N., Wong, K. Y., Alam, N. M., Chen, S. K., LeGates, T., Renna, J. M., Prusky, G. T., Berson, D. M., & Hattar, S. (2010). Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. *Neuron*, 67(1), 49-60. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.05.023>
- Esquerda-Canals, G., Montoliu-Gaya, L., Güell-Bosch, J., & Villegas, S. (2017). Mouse Models of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 57(4), 1171-1183. <https://doi.org/10.3233/jad-170045>
- Fernandez-Galaz, M. C., Martinez Munoz, R., Villanua, M. A., & Garcia-Segura, L. M. (1999). Diurnal oscillation in glial fibrillary acidic protein in a perisuprachiasmatic area and its relationship to the luteinizing hormone surge in the female rat. *Neuroendocrinology*, 70(5), 368-376. <https://doi.org/10.1159/000054498>
- Fernandez, D. C., Chang, Y. T., Hattar, S., & Chen, S. K. (2016). Architecture of retinal projections to the central circadian pacemaker. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113(21), 6047-6052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523629113>
- Fernandez, D. C., Fogerson, P. M., Lazzerini Ospri, L., Thomsen, M. B., Layne, R. M., Severin, D., Zhan, J., Singer, J. H., Kirkwood, A., Zhao, H., Berson, D. M., & Hattar, S. (2018). Light Affects Mood and Learning through Distinct Retina-Brain Pathways. *Cell*, 175(1), 71-84.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.004>
- Francis, P. T. (2005). The interplay of neurotransmitters in Alzheimer's disease. *CNS Spectr*, 10(11 Suppl 18), 6-9. <https://doi.org/10.1017/s1092852900014164>
- Frank, D. W., Evans, J. A., & Gorman, M. R. (2010). Time-dependent effects of dim light at night on re-entrainment and masking of hamster activity rhythms. *J Biol Rhythms*, 25(2), 103-112. <https://doi.org/10.1177/0748730409360890>

- Fu, Y., & Yau, K. W. (2007). Phototransduction in mouse rods and cones. *Pflugers Arch*, 454(5), 805-819. <https://doi.org/10.1007/s00424-006-0194-y>
- Fu, Y., Zhong, H., Wang, M. H., Luo, D. G., Liao, H. W., Maeda, H., Hattar, S., Frishman, L. J., & Yau, K. W. (2005). Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells detect light with a vitamin A-based photopigment, melanopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(29), 10339-10344. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501866102>
- Furio, A. M., Cutrera, R. A., Castillo Thea, V., Pérez Lloret, S., Riccio, P., Caccuri, R. L., Brusco, L. L., & Cardinali, D. P. (2002). Effect of melatonin on changes in locomotor activity rhythm of Syrian hamsters injected with beta amyloid peptide 25-35 in the suprachiasmatic nuclei. *Cell Mol Neurobiol*, 22(5-6), 699-709. <https://doi.org/10.1023/a:1021805023906>
- Gerics, B., Szalay, F., & Hajós, F. (2006). Glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the rat suprachiasmatic nucleus: circadian changes and their seasonal dependence. *J Anat*, 209(2), 231-237. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2006.00593.x>
- Girardet, C., Becquet, D., Blanchard, M. P., François - Bellan, A. M., & Bosler, O. (2010). Neuroglial and synaptic rearrangements associated with photic entrainment of the circadian clock in the suprachiasmatic nucleus. *European Journal of Neuroscience*, 32(12), 2133-2142.
- Gizowski, C., Zaelzer, C., & Bourque, C. W. (2016). Clock-driven vasopressin neurotransmission mediates anticipatory thirst prior to sleep. *Nature*, 537(7622), 685-688. <https://doi.org/10.1038/nature19756>
- González, M. M. (2018). Dim light at night and constant darkness: two frequently used lighting conditions that jeopardize the health and well-being of laboratory rodents. *Frontiers in neurology*, 9, 609.
- González, M. M., & Aston-Jones, G. (2006). Circadian regulation of arousal: role of the noradrenergic locus coeruleus system and light exposure. *Sleep*, 29(10), 1327-1336. <https://doi.org/10.1093/sleep/29.10.1327>
- Gooley, J. J., Lu, J., Chou, T. C., Scammell, T. E., & Saper, C. B. (2001). Melanopsin in cells of origin of the retinohypothalamic tract. *Nat Neurosci*, 4(12), 1165. <https://doi.org/10.1038/nn768>
- Gorman, M. R., & Yellon, S. (2010). Lifespan daily locomotor activity rhythms in a mouse model of amyloid-induced neuropathology. *Chronobiology international*, 27(6), 1159-1177.
- Gronfier, C., Wright Jr, K. P., Kronauer, R. E., & Czeisler, C. A. (2007). Entrainment of the human circadian pacemaker to longer-than-24-h days. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(21), 9081-9086.
- Guo, Z., Chen, Y., Mao, Y.-F., Zheng, T., Jiang, Y., Yan, Y., Yin, X., & Zhang, B. (2017). Long-term treatment with intranasal insulin ameliorates cognitive impairment, tau hyperphosphorylation, and microglial activation in a streptozotocin-induced Alzheimer's rat model. *Scientific Reports*, 7(1), 45971.
- Guzeev, M., Kurmazov, N., Simonova, V., Belan, D., Lapshina, K., Pazi, M., Ekimova, I., & Pastukhov, Y. (2021). 112 Chronic sleep restriction disrupts slow-wave sleep homeostatic regulation and damages monoaminergic structures in the rat brain. *Sleep*, 44, A46.
- Hannibal, J., Ding, J. M., Chen, D., Fahrenkrug, J., Larsen, P. J., Gillette, M. U., & Mikkelsen, J. D. (1997). Pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) in the retinohypothalamic tract: a potential daytime regulator of the biological clock. *J Neurosci*, 17(7), 2637-2644. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-07-02637.1997>
- Hannibal, J., Hindersson, P., Knudsen, S. M., Georg, B., & Fahrenkrug, J. (2002). The photopigment melanopsin is exclusively present in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-containing retinal ganglion cells of the retinohypothalamic tract. *J Neurosci*, 22(1), Rc191. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-01-j0002.2002>

- Hardeland, R., Cardinali, D. P., Brown, G. M., & Pandi-Perumal, S. R. (2015). Melatonin and brain inflammaging. *Prog Neurobiol*, 127-128, 46-63.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.02.001>
- Hardeland, R., Madrid, J. A., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2012). Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling. *J Pineal Res*, 52(2), 139-166. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2011.00934.x>
- Harper, D. G., Stopa, E. G., Kuo-Leblanc, V., McKee, A. C., Asayama, K., Volicer, L., Kowall, N., & Satlin, A. (2008). Dorsomedial SCN neuronal subpopulations subserve different functions in human dementia. *Brain*, 131(Pt 6), 1609-1617.
<https://doi.org/10.1093/brain/awn049>
- Harper, D. G., Volicer, L., Stopa, E. G., McKee, A. C., Nitta, M., & Satlin, A. (2005). Disturbance of endogenous circadian rhythm in aging and Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry*, 13(5), 359-368. <https://doi.org/10.1176/appi.ajgp.13.5.359>
- Hashimoto, T., Serrano-Pozo, A., Hori, Y., Adams, K. W., Takeda, S., Banerji, A. O., Mitani, A., Joyner, D., Thyssen, D. H., Bacskai, B. J., Frosch, M. P., Spires-Jones, T. L., Finn, M. B., Holtzman, D. M., & Hyman, B. T. (2012). Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid β peptide. *J Neurosci*, 32(43), 15181-15192. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.1542-12.2012>
- Hastings, M. H., Brancaccio, M., Gonzalez-Aponte, M. F., & Herzog, E. D. (2023). Circadian rhythms and astrocytes: the good, the bad, and the ugly. *Annual review of neuroscience*, 46(1), 123-143.
- Hastings, M. H., Field, M. D., Maywood, E. S., Weaver, D. R., & Reppert, S. M. (1999). Differential regulation of mPER1 and mTIM proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei: new insights into a core clock mechanism. *J Neurosci*, 19(12), Rc11.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-12-j0001.1999>
- Hastings, M. H., Maywood, E. S., & Brancaccio, M. (2018). Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(8), 453-469.
- Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M., & Yau, K. W. (2002). Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*, 295(5557), 1065-1070. <https://doi.org/10.1126/science.1069609>
- Haus, E., & Smolensky, M. (2006). Biological clocks and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects. *Cancer Causes Control*, 17(4), 489-500.
<https://doi.org/10.1007/s10552-005-9015-4>
- Hood, S., & Amir, S. (2017). Neurodegeneration and the circadian clock. *Frontiers in aging neuroscience*, 9, 170.
- Hu, C., Hill, D. D., & Wong, K. Y. (2013). Intrinsic physiological properties of the five types of mouse ganglion-cell photoreceptors. *J Neurophysiol*, 109(7), 1876-1889.
<https://doi.org/10.1152/jn.00579.2012>
- Inouye, S. T., & Shibata, S. (1994). Neurochemical organization of circadian rhythm in the suprachiasmatic nucleus. *Neurosci Res*, 20(2), 109-130. [https://doi.org/10.1016/0168-0102\(94\)90029-9](https://doi.org/10.1016/0168-0102(94)90029-9)
- Irizarry, M. C., McNamara, M., Fedorchak, K., Hsiao, K., & Hyman, B. T. (1997). APPSw transgenic mice develop age-related A β deposits and neuropil abnormalities, but no neuronal loss in CA1. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 56(9), 965-973.
- Irizarry, M. C., Soriano, F., McNamara, M., Page, K. J., Schenk, D., Games, D., & Hyman, B. T. (1997). A β deposition is associated with neuropil changes, but not with overt neuronal loss in the human amyloid precursor protein V717F (PDAPP) transgenic mouse. *Journal of Neuroscience*, 17(18), 7053-7059.

- Johnson, R. F., Morin, L. P., & Moore, R. Y. (1988). Retinohypothalamic projections in the hamster and rat demonstrated using cholera toxin. *Brain Res*, 462(2), 301-312. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90558-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90558-6)
- Jud, C., Schmutz, I., Hampp, G., Oster, H., & Albrecht, U. (2005). A guideline for analyzing circadian wheel-running behavior in rodents under different lighting conditions. *Biol Proced Online*, 7, 101-116. <https://doi.org/10.1251/bpo109>
- Jung-Hynes, B., Reiter, R. J., & Ahmad, N. (2010). Sirtuins, melatonin and circadian rhythms: building a bridge between aging and cancer. *J Pineal Res*, 48(1), 9-19. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2009.00729.x>
- Kalsbeek, A., la Fleur, S., & Fliers, E. (2014). Circadian control of glucose metabolism. *Mol Metab*, 3(4), 372-383. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2014.03.002>
- Kalsbeek, A., Palm, I. F., La Fleur, S. E., Scheer, F. A., Perreau-Lenz, S., Ruiter, M., Kreier, F., Cailotto, C., & Buijs, R. M. (2006). SCN outputs and the hypothalamic balance of life. *J Biol Rhythms*, 21(6), 458-469. <https://doi.org/10.1177/0748730406293854>
- Kang, J. E., Lim, M. M., Bateman, R. J., Lee, J. J., Smyth, L. P., Cirrito, J. R., Fujiki, N., Nishino, S., & Holtzman, D. M. (2009). Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science*, 326(5955), 1005-1007. <https://doi.org/10.1126/science.1180962>
- Kawarabayashi, T., Shoji, M., Younkin, L. H., Wen-Lang, L., Dickson, D. W., Murakami, T., Matsubara, E., Abe, K., Ashe, K. H., & Younkin, S. G. (2004). Dimeric amyloid beta protein rapidly accumulates in lipid rafts followed by apolipoprotein E and phosphorylated tau accumulation in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 24(15), 3801-3809. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5543-03.2004>
- Khapre, R. V., Kondratova, A. A., Patel, S., Dubrovsky, Y., Wrobel, M., Antoch, M. P., & Kondratov, R. V. (2014). BMAL1-dependent regulation of the mTOR signaling pathway delays aging. *Aging (Albany NY)*, 6(1), 48-57. <https://doi.org/10.18632/aging.100633>
- King, D. L., Arendash, G. W., Crawford, F., Sterk, T., Menendez, J., & Mullan, M. J. (1999). Progressive and gender-dependent cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Behav Brain Res*, 103(2), 145-162. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(99\)00037-6](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(99)00037-6)
- King, D. P., Zhao, Y., Sangoram, A. M., Wilsbacher, L. D., Tanaka, M., Antoch, M. P., Steeves, T. D., Vitaterna, M. H., Kornhauser, J. M., Lowrey, P. L., Turek, F. W., & Takahashi, J. S. (1997). Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell*, 89(4), 641-653. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80245-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80245-7)
- Koh, W., Kwak, H., Cheong, E., & Lee, C. J. (2023). GABA tone regulation and its cognitive functions in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 24(9), 523-539.
- Kondratov, R. V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Vykhovanets, O. V., & Antoch, M. P. (2006). Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. *Genes Dev*, 20(14), 1868-1873. <https://doi.org/10.1101/gad.1432206>
- Korf, H.-W., & Gall, C. (2013). Circadian Physiology. In (pp. 1813-1845). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1997-6_65
- Korf, H. W., & von Gall, C. (2006). Mice, melatonin and the circadian system. *Mol Cell Endocrinol*, 252(1-2), 57-68. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.03.005>
- Krajnak, K., & Lillis, T. O. (2002). Aging alters light- and PACAP-induced cAMP accumulation in the suprachiasmatic nucleus of female rats. *Brain Research*, 950(1-2), 297-303.
- Krishnan, N., Rakshit, K., Chow, E. S., Wentzell, J. S., Kretschmar, D., & Giebultowicz, J. M. (2012). Loss of circadian clock accelerates aging in neurodegeneration-prone mutants. *Neurobiology of disease*, 45(3), 1129-1135.
- Kume, K., Zylka, M. J., Sriram, S., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Jin, X., Maywood, E. S., Hastings, M. H., & Reppert, S. M. (1999). mCRY1 and mCRY2 are essential components

- of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell*, 98(2), 193-205.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81014-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81014-4)
- Kuns, B., Rosani, A., & Varghese, D. (2022). StatPearls.
- Lara Aparicio, S. Y., Laureani Fierro Á, J., Aranda Abreu, G. E., Toledo Cárdenas, R., García Hernández, L. I., Coria Ávila, G. A., Rojas Durán, F., Aguilar, M. E. H., Manzo Denes, J., Chi-Castañeda, L. D., & Pérez Estudillo, C. A. (2022). Current Opinion on the Use of c-Fos in Neuroscience. *NeuroSci*, 3(4), 687-702.
<https://doi.org/10.3390/neurosci3040050>
- Lavialle, M., & Servière, J. (1993). Circadian fluctuations in GFAP distribution in the Syrian hamster suprachiasmatic nucleus. *Neuroreport*, 4(11), 1243-1246.
<https://doi.org/10.1097/00001756-199309000-00008>
- Le Minh, N., Damiola, F., Tronche, F., Schütz, G., & Schibler, U. (2001). Glucocorticoid hormones inhibit food-induced phase-shifting of peripheral circadian oscillators. *Embo j*, 20(24), 7128-7136. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.24.7128>
- LeGates, T. A., Fernandez, D. C., & Hattar, S. (2014). Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(7), 443-454.
<https://doi.org/10.1038/nrn3743>
- Léger, D., Debellemanniere, E., Rabat, A., Bayon, V., Benchenane, K., & Chennaoui, M. (2018). Slow-wave sleep: from the cell to the clinic. *Sleep medicine reviews*, 41, 113-132.
- Lei, Y., Han, H., Yuan, F., Javeed, A., & Zhao, Y. (2017). The brain interstitial system: Anatomy, modeling, in vivo measurement, and applications. *Progress in neurobiology*, 157, 230-246.
- Leng, Y., Musiek, E. S., Hu, K., Cappuccio, F. P., & Yaffe, K. (2019). Association between circadian rhythms and neurodegenerative diseases. *The Lancet Neurology*, 18(3), 307-318.
- Leone, M. J., Marpegan, L., Duhart, J. M., & Golombek, D. A. (2012). Role of proinflammatory cytokines on lipopolysaccharide-induced phase shifts in locomotor activity circadian rhythm. *Chronobiology international*, 29(6), 715-723.
- Levy, M. L., Cummings, J. L., & Kahn-Rose, R. (1999). Neuropsychiatric symptoms and cholinergic therapy for Alzheimer's disease. *Gerontology*, 45 Suppl 1, 15-22.
<https://doi.org/10.1159/000052760>
- Lim, M. M., Gerstner, J. R., & Holtzman, D. M. (2014). The sleep–wake cycle and Alzheimer's disease: what do we know? *Neurodegenerative disease management*, 4(5), 351-362.
- Lorenzo, A., & Yankner, B. A. (1994). Beta-amyloid neurotoxicity requires fibril formation and is inhibited by congo red. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(25), 12243-12247.
- Lucey, B. P., Hicks, T. J., McLeland, J. S., Toedebusch, C. D., Boyd, J., Elbert, D. L., Patterson, B. W., Baty, J., Morris, J. C., Ovod, V., Mawuenyega, K. G., & Bateman, R. J. (2018). Effect of sleep on overnight cerebrospinal fluid amyloid β kinetics. *Ann Neurol*, 83(1), 197-204. <https://doi.org/10.1002/ana.25117>
- Marpegan, L., Swannstrom, A. E., Chung, K., Simon, T., Haydon, P. G., Khan, S. K., Liu, A. C., Herzog, E. D., & Beaulé, C. (2011). Circadian regulation of ATP release in astrocytes. *J Neurosci*, 31(23), 8342-8350. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.6537-10.2011>
- Matsumura, M., Signor, G., & Matthews, B. W. (1989). Substantial increase of protein stability by multiple disulphide bonds. *Nature*, 342(6247), 291-293.
<https://doi.org/10.1038/342291a0>
- Mc Donald, J. M., O'Malley, T. T., Liu, W., Mably, A. J., Brinkmalm, G., Portelius, E., Wittbold, W. M., 3rd, Frosch, M. P., & Walsh, D. M. (2015). The aqueous phase of Alzheimer's disease brain contains assemblies built from ~4 and ~7 kDa A β species. *Alzheimers Dement*, 11(11), 1286-1305. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.01.005>

- Mc Donald, J. M., Savva, G. M., Brayne, C., Welzel, A. T., Forster, G., Shankar, G. M., Selkoe, D. J., Ince, P. G., & Walsh, D. M. (2010). The presence of sodium dodecyl sulphate-stable Abeta dimers is strongly associated with Alzheimer-type dementia. *Brain*, 133(Pt 5), 1328-1341. <https://doi.org/10.1093/brain/awq065>
- McKee, C. A., Lananna, B. V., & Musiek, E. S. (2020). Circadian regulation of astrocyte function: implications for Alzheimer's disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(6), 1049-1058. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03314-y>
- Meijer, J., Watanabe, K., Detari, L., De Vries, M., Albus, H., Treep, J., Schaap, J., & Rietveld, W. (1996). Light entrainment of the mammalian biological clock. *Progress in brain research*, 111, 175-190.
- Mikkelsen, J. D., & Vrang, N. (1994). A direct pretectosuprachiasmatic projection in the rat. *Neuroscience*, 62(2), 497-505. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90382-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90382-4)
- Moechars, D., Lorent, K., De Strooper, B., Dewachter, I., & Van Leuven, F. (1996). Expression in brain of amyloid precursor protein mutated in the alpha - secretase site causes disturbed behavior, neuronal degeneration and premature death in transgenic mice. *The EMBO Journal*, 15(6), 1265-1274.
- Mohawk, J. A., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2012). Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annual review of neuroscience*, 35, 445-462.
- Monecke, S. (2004). Saisonale Rhythmen und ihre Synchronisation beim Europäischen Feldhamster (*Cricetus cricetus*).
- Moore, R. Y., Speh, J. C., & Card, J. P. (1995). The retinohypothalamic tract originates from a distinct subset of retinal ganglion cells. *J Comp Neurol*, 352(3), 351-366. <https://doi.org/10.1002/cne.903520304>
- Morin, L. P. (1994). The circadian visual system. *Brain Res Brain Res Rev*, 19(1), 102-127. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(94\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0165-0173(94)90005-1)
- Morin, L. P. (2013). Neuroanatomy of the extended circadian rhythm system. *Exp Neurol*, 243, 4-20. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.06.026>
- Morin, L. P. (2013). Nocturnal light and nocturnal rodents: similar regulation of disparate functions? *Journal of biological rhythms*, 28(2), 95-106.
- Mrosovsky, N. (1999). Masking: history, definitions, and measurement. *Chronobiol Int*, 16(4), 415-429. <https://doi.org/10.3109/07420529908998717>
- Muindi, F., Zeitzer, J. M., Colas, D., & Heller, H. C. (2013). The acute effects of light on murine sleep during the dark phase: importance of melanopsin for maintenance of light - induced sleep. *European Journal of Neuroscience*, 37(11), 1727-1736.
- Müller-Schiffmann, A., Andreyeva, A., Horn, A. H., Gottmann, K., Korth, C., & Sticht, H. (2011). Molecular engineering of a secreted, highly homogeneous, and neurotoxic aβ dimer. *ACS Chem Neurosci*, 2(5), 242-248. <https://doi.org/10.1021/cn200011h>
- Müller-Schiffmann, A., Herring, A., Abdel-Hafiz, L., Chepkova, A. N., Schäble, S., Wedel, D., Horn, A. H., Sticht, H., de Souza Silva, M. A., Gottmann, K., Sergeeva, O. A., Huston, J. P., Keyvani, K., & Korth, C. (2016). Amyloid-β dimers in the absence of plaque pathology impair learning and synaptic plasticity. *Brain*, 139(Pt 2), 509-525. <https://doi.org/10.1093/brain/awv355>
- Munch, I. C., Møller, M., Larsen, P. J., & Vrang, N. (2002). Light-induced c-Fos expression in suprachiasmatic nuclei neurons targeting the paraventricular nucleus of the hamster hypothalamus: phase dependence and immunochemical identification. *J Comp Neurol*, 442(1), 48-62. <https://doi.org/10.1002/cne.1421>
- Murphy-Royal, C., Ching, S., & Papouin, T. (2023). A conceptual framework for astrocyte function. *Nature neuroscience*, 26(11), 1848-1856.
- Musiek, E. S. (2017). Circadian Rhythms in AD pathogenesis: A Critical Appraisal. *Curr Sleep Med Rep*, 3(2), 85-92. <https://doi.org/10.1007/s40675-017-0072-5>

- Musiek, E. S., Lim, M. M., Yang, G., Bauer, A. Q., Qi, L., Lee, Y., Roh, J. H., Ortiz-Gonzalez, X., Dearborn, J. T., Culver, J. P., Herzog, E. D., Hogenesch, J. B., Wozniak, D. F., Dikranian, K., Giasson, B. I., Weaver, D. R., Holtzman, D. M., & Fitzgerald, G. A. (2013). Circadian clock proteins regulate neuronal redox homeostasis and neurodegeneration. *J Clin Invest*, 123(12), 5389-5400. <https://doi.org/10.1172/jci70317>
- Ness, N., Díaz-Clavero, S., Hoekstra, M. M., & Brancaccio, M. (2024). Rhythmic astrocytic GABA production synchronizes neuronal circadian timekeeping in the suprachiasmatic nucleus. *The EMBO Journal*, 44(2), 356.
- O'Nuallain, B., Freir, D. B., Nicoll, A. J., Risse, E., Ferguson, N., Herron, C. E., Collinge, J., & Walsh, D. M. (2010). Amyloid beta-protein dimers rapidly form stable synaptotoxic protofibrils. *J Neurosci*, 30(43), 14411-14419. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3537-10.2010>
- O'Nuallain, B., Freir, D. B., Nicoll, A. J., Risse, E., Ferguson, N., Herron, C. E., Collinge, J., & Walsh, D. M. (2010). Amyloid β -protein dimers rapidly form stable synaptotoxic protofibrils. *Journal of Neuroscience*, 30(43), 14411-14419.
- Oyegbami, O., Collins, H. M., Pardon, M. C., Ebling, F. J. P., Heery, D. M., & Moran, P. M. (2017). Abnormal Clock Gene Expression and Locomotor Activity Rhythms in Two Month-Old Female APPSwe/PS1dE9 Mice. *Curr Alzheimer Res*, 14(8), 850-860. <https://doi.org/10.2174/1567205014666170317113159>
- Öztürk, M., Ingenwerth, M., Sager, M., von Gall, C., & Ali, A. A. H. (2021). Does a Red House Affect Rhythms in Mice with a Corrupted Circadian System? *Int J Mol Sci*, 22(5). <https://doi.org/10.3390/ijms22052288>
- Palop, J. J., & Mucke, L. (2010). Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci*, 13(7), 812-818. <https://doi.org/10.1038/nn.2583>
- Paroni, G., Bisceglia, P., & Seripa, D. (2019). Understanding the Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 68(2), 493-510. <https://doi.org/10.3233/jad-180802>
- Patton, A. P., Morris, E. L., McManus, D., Wang, H., Li, Y., Chin, J. W., & Hastings, M. H. (2023). Astrocytic control of extracellular GABA drives circadian timekeeping in the suprachiasmatic nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(21), e2301330120.
- Paul, J. R., Munir, H. A., van Groen, T., & Gamble, K. L. (2018). Behavioral and SCN neurophysiological disruption in the Tg-SwDI mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 114, 194-200. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.03.007>
- Perl, D. P. (2010). Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med*, 77(1), 32-42. <https://doi.org/10.1002/msj.20157>
- Petersen, R. C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R. C., Morris, J. C., Rabins, P. V., Ritchie, K., Rossor, M., Thal, L., & Winblad, B. (2001). Current concepts in mild cognitive impairment. *Archives of neurology*, 58(12), 1985-1992.
- Pickard, G. E. (1985). Bifurcating axons of retinal ganglion cells terminate in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet of the thalamus. *Neurosci Lett*, 55(2), 211-217. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(85\)90022-9](https://doi.org/10.1016/0304-3940(85)90022-9)
- Pickard, G. E., & Sollars, P. J. (2012). Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 162, 59-90. https://doi.org/10.1007/112_2011_4
- Pike, C. J., Walencewicz, A. J., Glabe, C. G., & Cotman, C. W. (1991). Aggregation-related toxicity of synthetic beta-amyloid protein in hippocampal cultures. *European journal of pharmacology*, 207(4), 367-368.
- Pilorz, V., Tam, S. K., Hughes, S., Potheary, C. A., Jagannath, A., Hankins, M. W., Bannerman, D. M., Lightman, S. L., Vyazovskiy, V. V., & Nolan, P. M. (2016). Melanopsin regulates

- both sleep-promoting and arousal-promoting responses to light. *PLoS biology*, 14(6), e1002482.
- Pittendrigh, C. S. (1993). Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annu Rev Physiol*, 55, 16-54. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.55.030193.000313>
- R, A. A. (2019). Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol*, 57(2), 87-105. <https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929>
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C., & Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science*, 247(4945), 975-978. <https://doi.org/10.1126/science.2305266>
- Redlin, U. (2001). Neural basis and biological function of masking by light in mammals: suppression of melatonin and locomotor activity. *Chronobiol Int*, 18(5), 737-758. <https://doi.org/10.1081/cbi-100107511>
- Reghunandanan, V. (2024). Functional interactions between neurotransmitters and neuropeptides in regulating suprachiasmatic nucleus function and circadian rhythms. *Exploration of Neuroscience*, 3(5), 434-477. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00059>
- Reghunandanan, V., & Reghunandanan, R. (2006). Neurotransmitters of the suprachiasmatic nuclei. *J Circadian Rhythms*, 4, 2. <https://doi.org/10.1186/1740-3391-4-2>
- Reppert, S. M., & Weaver, D. R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annual Review of Physiology*, 63(1), 647-676.
- Reppert, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935-941. <https://doi.org/10.1038/nature00965>
- Ricciarelli, R., & Fedele, E. (2017). The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: It's Time to Change Our Mind. *Curr Neuroparmacol*, 15(6), 926-935. <https://doi.org/10.2174/1570159x15666170116143743>
- Roh, J. H., Huang, Y., Bero, A. W., Kasten, T., Stewart, F. R., Bateman, R. J., & Holtzman, D. M. (2012). Disruption of the sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of β -amyloid in mice with Alzheimer's disease pathology. *Sci Transl Med*, 4(150), 150ra122. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004291>
- Romanella, S., Roe, D., Tatti, E., Cappon, D., Paciorek, R., Testani, E., Rossi, A., Rossi, S., & Santarnecchi, E. (2021). The sleep side of aging and Alzheimer's disease. *Sleep medicine*, 77, 209-225.
- Salkovic-Petrisic, M., & Hoyer, S. (2007). *Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: an experimental approach*. Springer.
- Satlin, A., Volicer, L., Stopa, E. G., & Harper, D. (1995). Circadian locomotor activity and core-body temperature rhythms in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 16(5), 765-771. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(95\)00059-n](https://doi.org/10.1016/0197-4580(95)00059-n)
- Schmechel, A., Zentgraf, H., Scheuermann, S., Fritz, G., Pipkorn, R., Reed, J., Beyreuther, K., Bayer, T. A., & Multhaup, G. (2003). Alzheimer beta-amyloid homodimers facilitate A beta fibrillization and the generation of conformational antibodies. *J Biol Chem*, 278(37), 35317-35324. <https://doi.org/10.1074/jbc.M303547200>
- Schmidt, T. M., Chen, S. K., & Hattar, S. (2011). Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. *Trends Neurosci*, 34(11), 572-580. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.07.001>
- Schmidt, T. M., Do, M. T., Dacey, D., Lucas, R., Hattar, S., & Matynia, A. (2011). Melanopsin-positive intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: from form to function. *J Neurosci*, 31(45), 16094-16101. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.4132-11.2011>
- Schmidt, T. M., & Kofuji, P. (2009). Functional and morphological differences among intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Neurosci*, 29(2), 476-482. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.4117-08.2009>

- Schmitt, K., Grimm, A., & Eckert, A. (2017). Amyloid- β -Induced Changes in Molecular Clock Properties and Cellular Bioenergetics [Original Research]. *Frontiers in Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00124>
- Shankar, G. M., Li, S., Mehta, T. H., Garcia-Munoz, A., Shepardson, N. E., Smith, I., Brett, F. M., Farrell, M. A., Rowan, M. J., Lemere, C. A., Regan, C. M., Walsh, D. M., Sabatini, B. L., & Selkoe, D. J. (2008). Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med*, 14(8), 837-842. <https://doi.org/10.1038/nm1782>
- Shearman, L. P., Zylka, M. J., Weaver, D. R., Kolakowski, L. F., Jr., & Reppert, S. M. (1997). Two period homologs: circadian expression and photic regulation in the suprachiasmatic nuclei. *Neuron*, 19(6), 1261-1269. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80417-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80417-1)
- Shetty, A. K., & Zanirati, G. (2020). The interstitial system of the brain in health and disease. *Aging and disease*, 11(1), 200.
- Shi, C., Lei, Y., Han, H., Zuo, L., Yan, J., He, Q., Yuan, L., Liu, H., Xu, G., & Xu, W. (2015). Transportation in the interstitial space of the brain can be regulated by neuronal excitation. *Scientific Reports*, 5(1), 17673.
- Shokri-Kojori, E., Wang, G.-J., Wiers, C. E., Demiral, S. B., Guo, M., Kim, S. W., Lindgren, E., Ramirez, V., Zehra, A., & Freeman, C. (2018). β -Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(17), 4483-4488.
- Silver, R., & Kriegsfeld, L. J. (2014). Circadian rhythms have broad implications for understanding brain and behavior. *Eur J Neurosci*, 39(11), 1866-1880. <https://doi.org/10.1111/ejn.12593>
- Silver, R., & Rainbow, M. (2013). The Suprachiasmatic Nucleus and the Circadian Timekeeping System of the Body. In (pp. 1847-1888). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1997-6_66
- Son, G., Mladinov, M., Pereira, F. L., Tu, C. L., Li, S. H., Suemoto, C. K., Leite, R. E. P., Paes, V. R., Pasquallucci, C. A., & Jacob - Filho, W. (2023). Selective vulnerability of the suprachiasmatic nucleus in progressive Alzheimer's Disease: A human postmortem study using spatial in - situ proteomics. *Alzheimer's & Dementia*, 19, e074494.
- Son, G., Neylan, T. C., & Grinberg, L. T. (2024). Neuronal and glial vulnerability of the suprachiasmatic nucleus in tauopathies: evidence from human studies and animal models. *Molecular Neurodegeneration*, 19(1), 4.
- Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., Iwatsubo, T., Jack, C. R., Jr., Kaye, J., Montine, T. J., Park, D. C., Reiman, E. M., Rowe, C. C., Siemers, E., Stern, Y., Yaffe, K., Carrillo, M. C., Thies, B., Morrison-Bogorad, M., . . . Phelps, C. H. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 7(3), 280-292. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003>
- Stenvers, D. J., van Dorp, R., Foppen, E., Mendoza, J., Opperhuizen, A. L., Fliers, E., Bisschop, P. H., Meijer, J. H., Kalsbeek, A., & Deboer, T. (2016). Dim light at night disturbs the daily sleep-wake cycle in the rat. *Sci Rep*, 6, 35662. <https://doi.org/10.1038/srep35662>
- Sterniczuk, R., Antle, M. C., LaFerla, F. M., & Dyck, R. H. (2010). Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: Part 2. Behavioral and cognitive changes. *Brain Research*, 1348, 149-155. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.06.011>
- Stevanovic, K., Yunus, A., Joly-Amado, A., Gordon, M., Morgan, D., Gulick, D., & Gamsby, J. (2017). Disruption of normal circadian clock function in a mouse model of tauopathy. *Experimental neurology*, 294, 58-67.

- Tabaton, M., & Piccini, A. (2005). Role of water-soluble amyloid-beta in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Int J Exp Pathol*, 86(3), 139-145. <https://doi.org/10.1111/j.0959-9673.2005.00428.x>
- Tahara, Y., Yokota, A., Shiraishi, T., Yamada, S., Haraguchi, A., Shinozaki, A., & Shibata, S. (2016). In vitro and in vivo phase changes of the mouse circadian clock by oxidative stress. *Journal of Circadian Rhythms*, 14(1), 4.
- Tasker, J. G., & Herman, J. P. (2011). Mechanisms of rapid glucocorticoid feedback inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Stress*, 14(4), 398-406. <https://doi.org/10.3109/10253890.2011.586446>
- Tate, B., Aboody-Guterman, K. S., Morris, A. M., Walcott, E. C., Majocha, R. E., & Marotta, C. A. (1992). Disruption of circadian regulation by brain grafts that overexpress Alzheimer beta/A4 amyloid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(15), 7090-7094.
- Tei, H., Okamura, H., Shigeyoshi, Y., Fukuhara, C., Ozawa, R., Hirose, M., & Sakaki, Y. (1997). Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature*, 389(6650), 512-516. <https://doi.org/10.1038/39086>
- Thal, D. R., Attems, J., & Ewers, M. (2014). Spreading of amyloid, tau, and microvascular pathology in Alzheimer's disease: findings from neuropathological and neuroimaging studies. *J Alzheimers Dis*, 42 Suppl 4, S421-429. <https://doi.org/10.3233/jad-141461>
- Thompson, S., Philp, A. R., & Stone, E. M. (2008). Visual function testing: a quantifiable visually guided behavior in mice. *Vision Res*, 48(3), 346-352. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2007.07.020>
- Touitou, Y., Reinberg, A., & Touitou, D. (2017). Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption. *Life sciences*, 173, 94-106.
- Tso, C. F., Simon, T., Greenlaw, A. C., Puri, T., Mieda, M., & Herzog, E. D. (2017). Astrocytes Regulate Daily Rhythms in the Suprachiasmatic Nucleus and Behavior. *Curr Biol*, 27(7), 1055-1061. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.037>
- Tykhomyrov, A. A., Pavlova, A. S., & Nedzvetsky, V. S. (2016). Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP): on the 45th Anniversary of Its Discovery. *Neurophysiology*, 48(1), 54-71. <https://doi.org/10.1007/s11062-016-9568-8>
- Uchida, K., Okamoto, N., Ohara, K., & Morita, Y. (1996). Daily rhythm of serum melatonin in patients with dementia of the degenerate type. *Brain Res*, 717(1-2), 154-159. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00086-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00086-8)
- Vajtay, T. J., St Thomas, J. J., Takacs, T. E., McGann, E. G., & Weber, E. T. (2017). Duration and timing of daily light exposure influence the rapid shifting of BALB/cJ mouse circadian locomotor rhythms. *Physiol Behav*, 179, 200-207. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.06.010>
- Van Dam, D., d'Hooge, R., Staufenbiel, M., Van Ginneken, C., Van Meir, F., & De Deyn, P. P. (2003). Age - dependent cognitive decline in the APP23 model precedes amyloid deposition. *European Journal of Neuroscience*, 17(2), 388-396.
- van der Horst, G. T., Muijtjens, M., Kobayashi, K., Takano, R., Kanno, S., Takao, M., de Wit, J., Verkerk, A., Eker, A. P., van Leenen, D., Buijs, R., Bootsma, D., Hoeijmakers, J. H., & Yasui, A. (1999). Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. *Nature*, 398(6728), 627-630. <https://doi.org/10.1038/19323>
- Van Someren, E. J., & Riemersma-Van Der Lek, R. F. (2007). Live to the rhythm, slave to the rhythm. *Sleep Med Rev*, 11(6), 465-484. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2007.07.003>
- Verma, A. K., Singh, S., & Rizvi, S. I. (2021). Age-dependent effect of continuous 'artificial light at night' on circadian rhythm in male rats: neuroprotective role of melatonin. *Biogerontology*, 22(5), 531-545. <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09933-y>

- Videnovic, A., Lazar, A. S., Barker, R. A., & Overeem, S. (2014). 'The clocks that time us'—circadian rhythms in neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology*, 10(12), 683-693. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.206>
- Vloeberghs, E., Van Dam, D., Engelborghs, S., Nagels, G., Staufenbiel, M., & De Deyn, P. P. (2004). Altered circadian locomotor activity in APP23 mice: a model for BPSD disturbances. *European Journal of Neuroscience*, 20(10), 2757-2766.
- Volicer, L., Harper, D. G., Manning, B. C., Goldstein, R., & Satlin, A. (2001). Sundowning and circadian rhythms in Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry*, 158(5), 704-711. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.5.704>
- Von Aschoff, J., & Wever, R. (1962). Spontanperiodik des Menschen bei Ausschluß aller Zeitgeber. *Naturwissenschaften*, 49(15), 337-342. <https://doi.org/10.1007/BF01185109>
- von Gall, C. (2022). The Effects of Light and the Circadian System on Rhythmic Brain Function. *Int J Mol Sci*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/ijms23052778>
- Wang, R., & Reddy, P. H. (2017). Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 57(4), 1041-1048. <https://doi.org/10.3233/jad-160763>
- Westerman, M. A., Cooper-Blacketer, D., Mariash, A., Kotilinek, L., Kawarabayashi, T., Younkin, L. H., Carlson, G. A., Younkin, S. G., & Ashe, K. H. (2002). The relationship between A β and memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 22(5), 1858-1867.
- Wisor, J., Edgar, D., Yesavage, J., Ryan, H., McCormick, C., Lapustea, N., & Murphy Jr, G. (2005). Sleep and circadian abnormalities in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a role for cholinergic transmission. *Neuroscience*, 131(2), 375-385.
- Witting, W., Kwa, I. H., Eikelenboom, P., Mirmiran, M., & Swaab, D. F. (1990). Alterations in the circadian rest-activity rhythm in aging and Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 27(6), 563-572. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(90\)90523-5](https://doi.org/10.1016/0006-3223(90)90523-5)
- Xiao, Q., Yan, P., Ma, X., Liu, H., Perez, R., Zhu, A., Gonzales, E., Burchett, J. M., Schuler, D. R., Cirrito, J. R., Diwan, A., & Lee, J. M. (2014). Enhancing astrocytic lysosome biogenesis facilitates A β clearance and attenuates amyloid plaque pathogenesis. *J Neurosci*, 34(29), 9607-9620. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3788-13.2014>
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiagarajan, M., O'Donnell, J., Christensen, D. J., Nicholson, C., & Iiff, J. J. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 342(6156), 373-377.
- Yamaguchi, T., Yagi, H., Goto, Y., Matsuzaki, K., & Hoshino, M. (2010). A disulfide-linked amyloid-beta peptide dimer forms a protofibril-like oligomer through a distinct pathway from amyloid fibril formation. *Biochemistry*, 49(33), 7100-7107. <https://doi.org/10.1021/bi100583x>
- Yang, H., Niu, L., Tian, L., Hu, Y., Cheng, C., Li, S., & Le, W. (2025). Circadian rhythm disturbances in Alzheimer's disease: insights from plaque-free and plaque-burdened stages in APPSWE/PS1dE9 mice. *Alzheimer's Research & Therapy*, 17(1), 76.
- Yao, J., Irwin, R. W., Zhao, L., Nilsen, J., Hamilton, R. T., & Brinton, R. D. (2009). Mitochondrial bioenergetic deficit precedes Alzheimer's pathology in female mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14670-14675.
- Zelinski, E. L., Deibel, S. H., & McDonald, R. J. (2014). The trouble with circadian clock dysfunction: multiple deleterious effects on the brain and body. *Neurosci Biobehav Rev*, 40, 80-101. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.007>
- Zheng, X., Yang, Z., Yue, Z., Alvarez, J. D., & Sehgal, A. (2007). FOXO and insulin signaling regulate sensitivity of the circadian clock to oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(40), 15899-15904.

Zhou, L., Gao, Q., Nie, M., Gu, J.-L., Hao, W., Wang, L., & Cao, J.-M. (2016). Degeneration and energy shortage in the suprachiasmatic nucleus underlies the circadian rhythm disturbance in ApoE^{-/-} mice: implications for Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 6(1), 36335. <https://doi.org/10.1038/srep36335>

Danksagung

Am Ende dieser Dissertation möchte ich all jenen von Herzen danken, die mich auf diesem herausfordernden und zugleich bereichernden Weg begleitet und unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt Frau Professorin Dr. von Gall, meiner Doktormutter, für die Möglichkeit, meine Promotion in ihrem Institut durchführen zu dürfen. Ihre wissenschaftliche Expertise, die Offenheit für neue Ideen und die Förderung meiner eigenständigen Entwicklung haben meine Zeit als Doktorandin maßgeblich geprägt. Ebenso bedanke ich mich für ihre Mühe, viele Festlichkeiten am Institut gemeinsam feiern zu können. Mein tief empfundener Dank gilt zudem Amira Ali – meiner Betreuerin, Wegbegleiterin und inzwischen mehr als nur einer Kollegin. Sie war während der gesamten Promotionszeit nicht nur fachlich eine Stütze, sondern auch menschlich eine unermüdliche Quelle der Zuversicht, Motivation und insbesondere Geduld. Dem gesamten labortechnischen Team – insbesondere Angelika Hallenberger, Ulla Lammersen, Hanna Bellert – gilt mein herzlicher Dank. Durch ihre geduldige und kompetente Einführung in den Versuchsaufbau sowie ihrer Anleitung bei der Durchführung der Experimente konnte ich eine fundierte wissenschaftliche Arbeitsweise erlernen. Ihre fachliche Unterstützung war von zentraler Bedeutung für den erfolgreichen Verlauf dieser Doktorarbeit. Nicht zuletzt danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre endlose mentale Unterstützung, ihrem Zuspruch in Zweifeln und ihrer Geduld.