

Aus der Abteilung Neuroanatomie  
(Direktor: Prof. Dr. med. Jochen Staiger)

im Zentrum Anatomie  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

---

**Postnatale Gliogenese und Synaptogenese  
im somatosensorischen Cortex  
der Maus**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von  
Frau Thi Kim Loan NGUYEN  
aus Phuoc Tuy/Vietnam

Göttingen 2011

**Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel**

**I. Berichterstatter: PD Dr. med. M. Rickman**

**II. Berichterstatter/in: PD Dr. med. Sereda**

**II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. rer. nat. Virsik-Köpp**

**Tag der Mündlichen Prüfung: 07.11.2011**

## Inhaltsverzeichnis:

1.	Einleitung.....	5
2.	Physiologische und anatomische Grundlagen des ZNS.....	10
2.1.	Gliazellen .....	10
2.1.1.	Klassifikation der Gliazellen .....	10
2.1.2.	Synapsen .....	14
2.1.3.	Klassifikation der Synapsen .....	15
2.1.3.1.	Klassifikation nach der Art der Informationsübertragung .....	15
2.1.3.2.	Morphologische Klassifikation .....	16
2.1.4.	Synapsen und Glia.....	17
2.1.5.	Synaptische Verbindungen zwischen Neuronen und Glia.....	18
2.2.	Der Cortex cerebri.....	19
2.2.1.	Isocortex und Allocortex.....	19
2.2.2.	Der Isocortex.....	19
2.2.3.	Der somatosensorische Cortex.....	20
2.2.4.	Lage des somatosensorischen Cortex.....	20
2.2.5.	Somatosensorische Kern- und Gürtelfelder .....	21
2.2.6.	Aufbau des somatosensorischen Cortex der Maus.....	21
2.2.7.	Topographische Repräsentation des Körperschemas .....	22
2.2.8.	Lamination.....	23
2.2.8.1.	Lamina molecularis, I.....	23
2.2.8.2.	Lamina corpuscularis, II.....	24
2.2.8.3.	Lamina pyramidalis, III.....	25
2.2.8.4.	Lamina granularis, IV.....	25
2.2.8.5.	Lamina ganglionaris, V .....	26
2.2.8.6.	Lamina multiformis, VI .....	27
2.2.9.	Vertikale Strukturen des Cortex .....	28
2.3.	Entwicklung des Cortex.....	29
3.	Ziel der Arbeit .....	31
4.	Material und Methoden.....	32
4.1.	Verzeichnis der verwendeten Chemikalien und Reagenzien .....	32
4.2.	Versuchstiere .....	33
4.3.	Narkose.....	33

4.4.	Transkardiale Perfusionsfixierung .....	33
4.5.	Entwässerung und Einbettung .....	34
4.6.	Semidünnschnitte .....	34
4.7.	Ultradünnschnitte .....	35
4.8.	Transmissions-Elektronenmikroskopie .....	35
4.8.1.	Festlegung der zu untersuchenden Punkte .....	37
5.	Ergebnisse .....	38
5.1.	Einteilung der Synapsen .....	38
5.2.	Einteilung der synaptischen Astrozytenkontakte der Glia-Beteiligung .....	41
5.3.	Quantitative Ergebnisse .....	43
5.4.	Synapsenentwicklung im Verlauf von P5 bis P30 .....	63
5.5.	Verlauf der Entwicklung der drei verschiedenen Synapsentypen .....	65
5.6.	Verlauf der Entwicklung der verschiedenen Gliatypen .....	68
5.7.	Verlauf der Entwicklung des Verhältnisses von Synapsen zu Glia über die untersuchten Schichten von P5 bis P30 .....	69
6.	Diskussion .....	71
6.1.	Eigene Methoden .....	71
6.1.1	Ermittelte Synapsenzahlen und Vergleichbarkeit mit anderer Literatur ..	72
6.1.2.	Überschussbildung und Umbau von Synapsen .....	72
6.1.3.	Neurogliöse Wechselwirkung an stabilen Synapsen .....	76
7.	Zusammenfassung .....	81
8.	Literatur .....	82
9.	Abkürzungsverzeichnis .....	93

## 1. Einleitung

Die medizinische Forschung ist so alt wie die Menschheit selbst. In der westlichen Hemisphäre gehen die Aufzeichnungen und Überlieferungen über die Vorgänge im menschlichen Körper bis in die Antike zurück.

Die vorliegende Arbeit gehört in das Gebiet der Zellbiologie, das in der Mitte des 19. Jahrhunderts von Rudolf Virchow begründet wurde. Virchow selbst konnte sich nicht vorstellen, dass der wissenschaftliche Zugang zur Zelle über das hinausgehen könnte, was das menschliche Auge mit Hilfe eines Mikroskops erfassen kann. Aus der heutigen Sicht ist jedoch die Zelle als kleinste Einheit von Leben und Krankheit längst überholt durch den Einsatz von Elektronenmikroskopen, die subzelluläre Strukturen sichtbar werden lassen und durch die Techniken in der Molekularbiologie, welche die genetische Aufschlüsselung der Zellzusammensetzung möglich machen.

Mit der Erfindung des Elektronenmikroskops durch Ernst Ruska in Zusammenarbeit mit dem Ingenieur Bodo von Borries 1938/39 (Shampo und Kyle 1997) eröffneten sich in der Zellforschung vollkommen neue Möglichkeiten. Auch für das hier vorliegende Teilgebiet der Erforschung der Gliazellen und ihrer Wirkungsweise hinsichtlich der sie umgebenden Synapsen und Neurone konnten mit Hilfe des Elektronenmikroskops weitreichende Erkenntnisse gewonnen werden.

Die vorliegende Arbeit basiert auf einer elektronenmikroskopischen Untersuchung von Hirngewebe, welches Mäusen postnatal in einer bestimmten zeitlichen Abfolge entnommen wurde. Eine besondere Rolle spielte dabei der Zusammenhang zwischen Neuronen und Gliazellen.

Die Funktion und Wirkungsweise der Glia wurde in der Nachfolge Virchows gleich von mehreren Fachgebieten untersucht, diese reichen von Morphologie, Elektrophysiologie bis hin zur Biochemie und Molekularbiologie.

Ein Ergebnis der Molekularbiologie ist der Nachweis, dass Astrozyten und Oligodendrozyten über ein ähnlich breites Repertoire an Ionenkanälen und Membranrezeptoren verfügen wie Nervenzellen. Weitere Befunde der letzten Jahre

zeigen, dass Subtypen von Gliazellen von Nervenzellen direkt synaptisch innerviert werden. Gliazellen, hier insbesondere Astrozyten, sind andererseits aber auch in der Lage, Transmitter zu synthetisieren, freizusetzen und dadurch benachbarte Neurone zu aktivieren und die Durchblutung zu regulieren. Astrozyten benutzen bei der Freisetzung Mechanismen, die bisher als typisch neuronale Eigenschaft angesehen wurden. Die Funktion des Neurotransmitters Gamma-Aminobuttersäure (GABA) auf die synaptischen Funktionen untersuchten Andre et al. 1994; Chmielowska et al. 1988 und Knott et al. 2002. Der Glutamat-Stoffwechsel der Synapsen wurde von Cornell-Bell et al. 1990; Voutsinos-Porche et al. 2003; Gan: 2003 und Itami et al. 2000 untersucht.

Auf die vielfältigen Untersuchungen der Moleküle, die bei der Adhäsion der prä- und postsynaptischen Elemente wirken wie beispielsweise SynCAM (Biederer et al. 2002) und die Sdks-Moleküle, wird hier nicht weiter eingegangen.

Auf die Forschungsarbeiten über den Einfluss des extrazellulären Matrix-Glycoproteins Tenascin-T (TN-T) und Tenascin-R (TN-R) auf perineuronale Netze von Schachner et al. (2008) und die Forschung von Brückner et al. (1993), Carvell und Simons (1987), Greilich (1984), Hubel und Wiesel (1977), Krieg (1946 a und b), Scheibel und Scheibel (1954) sei an dieser Stelle hingewiesen. Neben der Erforschung der Astroglia werden ergänzend die chemischen Vorgänge in der Prä- und Postsynapse untersucht.

Virchows Vermutung, dass Gliazellen alleine das Stützmaterial für Neuronen bieten, hat auch im 20. Jahrhundert lange die Forschung bestimmt. So wurde die These, dass synaptische Aktivitäten alleine von Neuronen gesteuert werden, eine der leitenden Forschungsansätze bis zum Ende des 20. Jahrhunderts.

Prieger und Barres stellten 1996 die Ergebnisse der letzten Jahre in der Glia-Forschung vor und wiesen darauf hin, dass Gliazellen bei Entstehung und Funktion von Synapsen eine wichtige Rolle spielen: Zwar würden Gliazellen mit den Synapsen im ganzen Nervensystem in Kontakt stehen, aber die Rolle der Gliazellen sei bislang noch unklar. Jüngere Studien geben einen Hinweis darauf, dass Gliazellen selbst die Bildung von Synapsen und deren Funktionen durch die Bereitstellung von Energiesubstraten und Vorstufen von Glutamat aufrechterhalten. Dieser Artikel

markiert eine Veränderung in der Glia-Forschung, rückten doch nun die Gliazellen, vor allem die Astrozyten, mehr in den Mittelpunkt des Interesses.

Inwieweit bestimmen Transmitter und Hormone die Funktions- und Wirkungsweise der Astroglia? Hierzu konnten Whitaker-Azmitia et al. (1990) zeigen, dass bei einer Stimulation von Astroglia 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren einen oder mehrere Wachstumsfaktoren freisetzen, die das Wachstum von Neuronen innerhalb des Serotoninsystems fördern. Es konnte nachgewiesen werden, dass zumindest einer dieser Wachstumsfaktoren das Protein S-100 ist, das spezifisch von der Astroglia produziert wird. Diese Erkenntnis ist deshalb so interessant, da das Protein S-100 eine bedeutende Rolle bei Erkrankungen wie dem Down Syndrom oder Alzheimer spielt. Eine andere Studie fand heraus, dass Astrozyten neuroaktive Substanzen absondern, die an der Regulierung der Östrogen-induzierten Plastizität von Synapsen und an der Östrogen-vermittelten neuroendokrinen Kontrolle beteiligt sind. (Garcia-Segura et al. 1999). Es konnte auch nachgewiesen werden, dass die pränatale Beeinflussung durch Nikotin bei erwachsenen Mäusen eine hyperaktive Störung im motorischen Ablauf und einen Mangel an kognitiven Fähigkeiten bedingt. Hierfür sind unter anderem die nikotinischen Acetylcholinrezeptoren im Zusammenwirken mit Gliazellen verantwortlich (Zolles: 2002):

Eine andere Forschungsrichtung beschäftigte sich mit der Synaptogenese. Die Ausbildung von synaptischen Zellkontakten (Synaptogenese) erfordert eine räumlich und zeitlich koordinierte Spezialisierung der Plasmamembran der beteiligten Zellen. Die Mechanismen, die eine funktionelle synaptische Verschaltung hervorbringen, sind am Besten für die neuromuskuläre Endplatte, die Synapse zwischen Motoneuron und Muskelfaser beschrieben (Williams: 2000; LeRoy et al. 1999; Wahlsten: 1975).

Untersuchungen in der jüngeren Vergangenheit fokussieren etwa die vernetzte Architektur der Glia im zentralen Nervensystem (Gutiérrez-Ospina et al. 2004, Goodhill et al. 2002, Mountcastle 1997, Horton und Hocking 1996, Bitner et al. 1987 oder Blümcke et al. 1995). Die Kopplung zwischen Astrozytenfortsätzen untersuchten Saez et al. 2003; Rouach et al. 2001; Rohlmann und Wolff 1996).

Aldskogius et al. (1999) konnten zeigen, dass Astrozyten eine bedeutende Rolle sowohl beim Abbau von Synapsen als auch beim Prozess der Vermittlung der Wiederherstellung von Nervensignalen nach Läsionen spielen. Dabei wurde vermutet, dass die Makroglia sich eher lokal an ihre Umgebung anpasst als direkt auf die Synapse ausgerichtet ist.

Eine gute Zusammenfassung über den Stand der Glia-Forschung zu Beginn des 21. Jahrhunderts bietet die Zusammenstellung „The tripartite synapse. Glia in synaptic transmission“ von Andrea Volterra et al. (2002). Das hierin enthaltene Kapitel „Behavioural experience-dependent plasticity of glial-neuronal interactions“ von Theresa A. Jones und William T. Greenough stellt im Abschnitt „Summary and perspectives“ heraus: „Glia clearly plays important roles in brain plasticity via the regulation of synapse addition and elimination, control over neuronal metabolism, the provision of trophic and tropic factors, the myelination of axons, and the ongoing regulation of synaptic efficacy.“ (S. 259)

Für die vorliegende Untersuchung ist besonders die Tatsache wichtig, dass Gliazellen mit verantwortlich sind für die Neubildung und Reduzierung von Synapsen. Obwohl in den letzten Jahren ein enormer Wandel in der Glia-Forschung eingetreten ist, und obwohl inzwischen Studien vorliegen, die einzelne Aspekte in diesem Vorgang untersuchen, liegen bis heute aber noch keine ausreichenden Kenntnisse darüber vor, inwieweit die pränatale Vermehrung der Gliazellen Einfluss auf die Bildung und Reduzierung von Synapsen hat. Als gesichert können Erkenntnisse angesehen werden, die belegen, dass Gliazellen

- eine entscheidende Rolle bei der Vermehrung und Reduzierung von Synapsen innehaben
- bei der Kontrolle des neuronalen Metabolismus mitwirken
- Wachstumsfaktoren produzieren
- an der Bildung der Myelinschicht der Axone beteiligt sind
- die Effizienz der Synapsen beeinflussen.

Damit bietet die vorliegende Analyse eine Basis für weiterführende in-vivo-Untersuchungen und eine Vergleichsmöglichkeit für in-vitro-Untersuchungen.



Auch kann diese Arbeit eine Basis für verhaltensabhängige Plastizität von Neuroglia bieten.

## **2. Physiologische und anatomische Grundlagen des ZNS**

Das Nervengewebe besteht aus Nervenzellen und Gliazellen. Nervenzellen stehen über Synapsen in Verbindung, und auch zwischen Gliazellen und Nervenzellen kommt es zu synaptischen Interaktionen. Allein das menschliche Gehirn enthält etwa  $10^{10}$  bis  $10^{12}$  Nervenzellen (Neurone). Für das Gehirn der Maus wies Robert W. Williams (2000) in seiner quantitativen Untersuchung etwa 75 Millionen Neurone und 23 Millionen Gliazellen nach.

### **2.1. Gliazellen**

Neurone und Gliazellen bilden zwei grundsätzlich verschiedene Zelltypen des Nervensystems. Neurone sind durch ihre elektrochemische Erregungsbildung und Erregungsleitung für die Informationsverarbeitung zuständig und gelten somit als die eigentlichen Funktionsträger des Nervensystems. Gliazellen sprach man ursprünglich als "Nervenkleister" – so die wörtliche Übersetzung von Neuroglia – nur eine Stützfunktion für die Neurone zu. Nach näheren Untersuchungen (vgl. State-of-the-art-Zusammenfassung von Volterra et al. 2002) schreibt man ihnen weitreichendere Funktionen im Sinne der neuronalen Homöostase zu.

#### **2.1.1. Klassifikation der Gliazellen**

Seit der Entdeckung von Gliazellen werden verschiedene Typen von Glia analog zur Klassifikation der Neurone unterteilt. Cuadras und Marti-Subirana (1987) zeichnen diese Analogiebildung nach, bei der Bezeichnungen wie perineurale Glia, neuropilare Glia, adaxonale Glia und zusätzlich eine Klasse jener Glia, die extrazelluläre Räume ausfüllt, Zellverbindungen bildet und die Begrenzungen der blutführenden Räume im Nervengewebe formt, entstanden.

Bignami (1991) unterscheidet als Haupttypen der Glia die Astrozyten und die Myelin bildenden Oligodendrozyten und weist darauf hin, dass diese beiden Typen unter den Oberbegriff "Neuroglia" fallen. Als dritte Form benennt er die residenten

Makrophagen oder Mikroglia. Astrozyten können mittels Antikörper gegen ihr "glial fibrillary acid protein" (GFAP) immunhistochemisch als GFAP-positiv nachgewiesen werden. Oligodendrozyten bilden Myelin. Dies kann mittels Antikörper eingefärbt und nachgewiesen werden. Für die Identifikation von Mikroglia werden Lectine und Antikörper, die Makrophagen auch an anderen Stellen des Körpers markieren, benutzt. Bignami (1991) gibt an, dass bislang noch keine speziellen Antigene für die Identifikation von Mikroglia bekannt sind.

Daneben finden sich in der Literatur weitere Klassifikationen und Differenzierungen, die im Folgenden kurz zusammengestellt werden.

Unterscheidung nach Lage und Morphologie:

- Protoplasmatische Astrozyten: Sie liegen häufiger in der grauen Substanz des ZNS, haben vergleichsweise kurze Fortsätze, mit denen sie die Perikaryen der Neurone und die Hirnkapillaren berühren.
- Laminäre Astrozyten: Sie sind eine Unterart der protoplasmatischen Astrozyten und kommen vor allem in der Körnerschicht des Kleinhirns vor, aber auch im Stratum glomerulosum des Bulbus olfactorius. Ihre Fortsätze sind segelartig. Damit umgeben sie einerseits Hirnkapillaren, andererseits Synapsen in den Glomeruli cerebellares.
- Fibrilläre oder faserige Astrozyten: Sie liegen häufiger in der weißen Substanz des ZNS, haben vergleichsweise lange Fortsätze, die sowohl die Hirnkapillaren als auch die Myelinscheiden von Axonen sowie die Axone an den Ranvier'schen Schnürringen berühren.

Unterarten von Astrozyten:

- Astrozyten an der Membrana limitans gliae superficialis (äußere Gliagrenzschicht) bilden die äußere Begrenzung der Hirnoberfläche und stehen in direktem Kontakt mit der Pia mater.
- Radiärglia: Sie spielt während der Hirnentwicklung eine prominente Rolle und ist im adulten Gehirn nur noch an wenigen Stellen vorhanden. Sie durchspannt die Wand des Neuralrohrs komplett und berührt so mit ihrem einen Ende das Neuralrohlumen und mit dem anderen die

Neuralrohroberfläche. Im adulten Gehirn wandeln sich die meisten Radiärgliazellen zu Astrozyten um.

- Müllerzellen: Eine Unterart von Radiärglia, die vor allem in der Retina vorkommt.
- Bergmann-Glia: eine Unterart von Radiärglia, die vor allem im Kleinhirn vorkommt.
- Pituizyten: spezielle protoplasmatische Gliazellen der Neurohypophyse. Sie schließen Kontakt mit Nervenendigungen.
- Ependymzellen: Sie kleiden die inneren Liquorräume aus, überziehen den Plexus choroideus und produzieren GFAP. Das Ependym besteht aus einer einfachen Schicht iso- bis hochprismatischer Zellen, die die Ventrikelräume des Gehirns und den Zentralkanal des Rückenmarks auskleiden. Meist tragen Ependymzellen apikal auf ihrer Oberfläche aktiv bewegliche Kinozilien und kurze Mikrovilli. Während der frühen Entwicklung tragen Ependymzellen basale Fortsätze, die im adulten Gehirn meist degeneriert sind.
- Tanyzyten: Dies sind Ependymzellen, die über basale Fortsätze mit subependymal verlaufenden Blutkapillaren in Berührung treten.

Eine internationale Forschergruppe (Volterra et al. 2002) hat eine Untersuchung vorgelegt, in der sie bei Astrozyten chemische Erregungsbildung und Erregungsleitung nachweisen konnte. Sie unterscheidet Gliazellen nach ihren strukturellen und funktionalen Eigenschaften. Im Zentralnervensystem (ZNS) differenziert auch sie zwei verschiedene Hauptklassen: die Mikro- und die Makroglia. Die Mikroglia ist beteiligt an phagozytischen Vorgängen und gilt damit als das Immunorgan des Nervensystems. Die Makroglia unterteilt die Forschergruppe in zwei weitere Subtypen: in die Oligodendrozyten und die Astrozyten. Die Oligodendrozyten haben im ZNS eine ähnliche Rolle inne wie sonst die peripheren myelinisierenden Schwann-Zellen: Sie dienen der Isolation der Axone. Für die Astrozyten konnte die Forschergruppe hingegen nachweisen, dass sie Informationen empfangen, verarbeiten und chemische Signale an benachbarte Zellen aussenden können und damit an der Informationsübermittlung im ZNS beteiligt sind. Chao et al. (2002) definieren Astrozyten als Gliazellen des ZNS mit einem Durchmesser von nicht mehr als 50 µm, die intensiven Kontakt zu umliegenden Synapsen, dem Endothel kleinster Blutgefäße des Gehirns und zu weiteren Gliazellen unterhalten. So sehen sie die

Astrozyten als wichtige Schaltstelle für die Informationsübertragung zwischen all diesen Zellen im Gehirn.

Der Begriff Ependymoastrozytäre Zellen, wie er für die im Rückenmark und im Gehirn vorkommenden verschiedenen Formen der Glia verwendet wird, stellt einen Oberbegriff dar. Er beinhaltet Astroglia, Bergmann-Glia, Müllerzellen, Tanyzyten, Pituizyten und ependymale Zellen. Der häufigste Zelltyp sind die Astrozyten, die vor allem im zentralen Nervensystem, in den Gefäßen der Netzhaut und in den periventrikularen Organen (Reichenbach et al. 1995) vorkommen. Es existieren aber noch keine Daten, die belegen, dass die Ergebnisse für die Astroglia-Synapse-Interaktion für alle Gliatypen übertragbar sind. Die einzelnen Gliaformen weisen deutliche Unterschiede auf: So bilden die Bergmann-Glia einzelne Glia-Bereiche (domains), die sich durch lamellen- und fingerartige Oberflächen auszeichnen, und die sich um synaptische Schnittstellen herum gruppieren. In der Netzhaut haben die Müllerzellen zahlreiche lamellenartige Ausformungen, die teilweise Kontakte zur Synapse haben. Dennoch weisen die unterschiedlichen Gliazellen viele Gemeinsamkeiten auf. Hier sind zu nennen die Fähigkeit lamellenartige und fingerförmige Oberflächen auszubilden, die bevorzugt mit Synapsen Kontakt aufnehmen, und die Fähigkeit, Rezeptoren und Transporter für Neurotransmitter zu generieren. Alle ependymo-astroglösen Zelltypen sind in der Lage, GFAP zu generieren, wobei allerdings der Umfang der GFAP-Immunreaktion von den Bedingungen abhängig ist, welche die Plastizität der Synapsen und Umformung der Synapsen durch das sie umgebende Gewebe bestimmen (Wolff et al. 1995). Die Vermutung, dass Astroglia mit freiwerdenden Bereichen von synaptischen Transmittern interagieren, wird unterstützt durch die Freisetzung einer Vielzahl von Molekülen, die mit der synaptischen Transmission im Zusammenhang stehen. Ein Beispiel ist die Wiederaufnahme von Barrieren von Astrozyten, in den Bereichen, welche die Synapse umgeben. Diese Moleküle sind wahrscheinlich in ihrer Aktivität begrenzt auf die Lamellenausformung und nicht auf den ganzen Astrozyt. Dies unterstützt die These, dass es eine subzelluläre „chemische Glia Anatomie“ gibt, die jenseits der Unterschiede der verschiedenen Gliazellen funktioniert, da sie vom Zentralnervensystem abgeleitet ist.

Im postnatalen Neocortex der Maus sind Astrozyten der vorherrschende Typ ependymo-astroglöser Zellen.

## 2.1.2. Synapsen

Synapsen sind spaltförmige Verbindungen zwischen Nervenzellen und anderen Nervenzellen oder Erfolgs gewebe wie Muskel- oder Drüsenzellen. Der Begriff der Synapse wurde 1897 von Charles Sherrington eingeführt. Mit Sherrington begann auch die Erforschung der Funktionsweise dieser Schaltstellen. Musste sich die Lichtmikroskopie noch damit begnügen, Nervenfaserverendigungen an Oberflächen von Erfolgszellen mit Hilfe von Metallimprägnierungen darzustellen oder die Aktivität bestimmter Enzyme, die beim Mechanismus der Impulsübertragung eine Rolle spielen, auf histochemischem Wege sichtbar zu machen, so blieb es erst elektronenmikroskopischer Forschung vorbehalten, den Bauplan dieser Schaltstellen sichtbar zu machen. Die wichtigste Erkenntnis war, dass Synapsen Grenzstellen von Neuronen zu anderen Neuronen oder Erfolgszellen sind, an denen die Zellmembranen in besondere Beziehung zueinander treten. Synapsen dienen nicht nur der Übermittlung von Erregungen auf nachgeschaltete Neurone oder Zielorgane, sie spielen auch bei trophischen Wechselwirkungen eine Rolle: Das heißt, ein Neuron vermag eine nachgeschaltete Zelle trophisch, also über Stoffwechselforgänge, zu beeinflussen. Andererseits können trophische Signale von der postsynaptischen zur präsynaptischen Zelle übermittelt werden, Signale, die letztlich retrograd zum Zellkörper des innervierenden Neurons gelangen, wo sie – etwa in Beantwortung einer Situationsänderung im Zielgebiet – den Stoffwechselapparat beeinflussen können.

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen elektrischen und chemischen Synapsen. Die hier stattfindende Übertragung von Impulsen kann also entweder auf chemischem Weg über Neurotransmitter oder elektrisch über direkte Spannungsübertragung geschehen. Gemessen an der Richtung der Erregungsleitung besteht jede chemische Synapse aus einer präsynaptischen Membran, dem synaptischen Spalt und einer subsynaptischen Membran, die Teil der postsynaptischen Membran ist.

Erkennbar in chemischen Synapsen ist die präsynaptische Membran an der Verdichtung des Endes des innervierenden Axons in dessen Bouton, Durchmesser etwa 0,5  $\mu\text{m}$ , oder Synapsenkolben. In dieser proteinreichen Verdichtung an der Innenseite der Plasmamembran finden sich hexagonale Räume, in die synaptische

Vesikeln, die Überträgerstoffe speichern, eintreten und mit der Oberfläche Kontakt aufnehmen können. Hier sind verschiedene Formen – etwa runde, abgeflachte; helle mit dichtem Zentrum oder stachelsaumförmige – nachgewiesen, denen je spezifische Neurotransmitter und erregende oder hemmende Funktionen zugeschrieben werden.

Der Synapsenspalt ist etwa 20 nm breit. Er bildet den Zwischenraum zwischen prä- und subsynaptischen Membranen und hat Verbindungen zum extrazellulären Raum. Die subsynaptische Membran enthält viele Rezeptoren für die präsynaptisch ausgeschütteten Neurotransmitter. Auch sie ist leicht verdickt durch Substanzanlagerungen, in die Filamente aus dem Protein Aktin einstrahlen.

### **2.1.3. Klassifikation der Synapsen**

#### **2.1.3.1. Klassifikation nach der Art der Informationsübertragung**

Nach Art der Informationsübertragung unterscheidet man zwischen elektrischen Synapsen und chemischen Synapsen. Im ZNS von Säugern sind die chemischen Synapsen die am meisten und besten untersuchten.

Die chemische Synapse stellt jenen Synapsentyp dar, mit dem wir es im zentralen und peripheren Nervensystem der Säuger vorwiegend zu tun haben. An ihr werden elektrische in chemische Signale umgewandelt, indem aus Vesikeln im Neuron Transmitter (z.B. biogene Amine) in den synaptischen Spalt freigesetzt werden. Die Transmitter lagern sich an membranständige Rezeptoren der Erfolgswelle an und erregen so die Membran. Chemische Synapsen sind überwiegend durch unidirektionale Übertragung gekennzeichnet. Der unidirektionalen Übertragungsrichtung entspricht die asymmetrische Bauweise, bei der die präsynaptische Membran an der Verdichtung des Endes des innervierenden Axons in dessen Bouton oder Synapsenkolben erkennbar ist. Die Lage der darin eingelagerten synaptischen Vesikeln zeigt also, welches das vor- und welches das nachgeschaltete neuronale Element einer Synapse ist. Zur Asymmetrie von Synapsen können auch bestimmte Differenzierungseigentümlichkeiten der prä- und postsynaptischen Membran beitragen.

### 2.1.3.2. Morphologische Klassifikation

An der Oberfläche der meisten Nervenzellen findet sich jeweils eine große Zahl von Synapsen: erregende (exzitatorische) und hemmende (inhibitorische). Die laufend errregenden bzw. hemmenden postsynaptischen Potenziale werden von der Empfängerzelle integriert. Überwiegen die erregenden Potentiale, so kommt es bei Erreichen eines Schwellenwertes zur Auslösung eines Aktionspotentials.

Bei der erregenden exzitatorischen Synapse wird die Zellmembran der Erfolgszelle depolarisiert und die Erfolgszelle leitet das Aktionspotential weiter, bei der hemmenden inhibitorischen Synapse wird sie hyperpolarisiert und so die Weiterleitung der Erregung unterdrückt.

Gray (1959 a) unterschied folgende beide Typen:

- Typ-I-Synapsen. Sie sollen erregende Funktion haben. Sie werden auch asymmetrische Synapsen genannt. Der synaptische Spalt ist hier mit etwa 30 nm etwas breiter als beim Typ II. Membranverdichtungen sind an der ganzen Synapsenfläche vorhanden. Die Verdichtung ist allerdings an der subsynaptischen Membran dicker als an der präsynaptischen. Die in ihnen enthaltenen synaptischen Bläschen sind rund und hell.
- Typ-II-Synapsen. Sie sollen hemmende Funktion haben. Sie werden auch symmetrische Synapsen genannt. Die Membranverdichtungen sind nicht durchgehend, dann aber symmetrisch. Ihr Synapsenspalt ist mit etwa 20 nm schmaler als bei Typ I.

Weiterhin können Synapsen nach Art der nachgeschalteten Zelle klassifiziert werden, diese sind unter anderem: neuroglanduläre Synapsen, en-passant-Synapsen, myoneurale oder neuromuskuläre Synapsen, interneuronale Synapsen, neurogliöse Synapsen und Synapsen zwischen Sinneszellen und Dendriten von Nervenzellen.

Außerdem werden Synapsen danach klassifiziert, mit welchen Abschnitten von Neuronen sie in Kontakt treten. Im Einzelnen unterscheidet man zwischen axo-dendritischen Synapsen, axo-somatischen Synapsen, axo-axonalen Synapsen, somatosomatischen Synapsen, dendrodendritischen Synapsen, en-passant-Synapsen und reziproken Synapsen.



Anhand der Morphologie von Synapsen können folgende verschiedene Synapsenformen unterschieden werden: Dornsynapsen, verzweigte oder komplexe Dornsynapsen, verzahnte Synapsen, glomerulusartige oder glomeruläre Synapsen, Ribbonsynapsen und Synapsen à distance en passant.

#### **2.1.4. Synapsen und Glia**

Chao et al. (2002) haben diverse Interaktionen von Gliazellen und verschiedenen Synapsentypen im Zentralnervensystem von Säugetieren dargestellt. Ihrer Nomenklatur folgend, werden Zellen, die um Synapsen herum liegen, "perisynaptische Zellen" genannt. Die Forschergruppe konnte in elektronenmikroskopischen Aufnahmen und folgender dreidimensionaler Rekonstruktion zeigen, dass Astroglia auf ihren Auswüchsen weitere Differenzierungen, nämlich lamellenartige (Lamellae) und fingerähnliche (Filopodia) Ausformungen bildet. Peters et al. (1991) wiesen bereits nach, dass der Zellkörper und die Fortsätze alle Organellen und zytoskeletalen Elemente der Zelle enthalten. Im Gegensatz dazu finden sich in Lamellae und Filopodia keine Organellen oder zytoskeletalen Elemente wie Mikrotuben, aber sie enthalten zytosolische Proteine, die denen des Perikaryons und der Fortsätze ähneln.

Chao et al. (2002) wiesen folgende Variationen von Synapsen und perisynaptischer Astroglia im cerebralen Cortex von ausgewachsenen Ratten nach:

- Synapsen, die komplett von Astroglia umgeben sind;
- Synapsen, die nur auf einer Seite von Astroglia berührt werden;
- Synapsen, die keinen Kontakt zu Astroglia haben.
  
- Glia, deren Ausstülpungen und Lamellen sich von allen Teilen der Zelloberfläche und sogar aus dem Zellkörper heraus erheben. Dabei kommt es zu verschiedenen Kontakten zwischen Glia und nicht-myelinisierten Teilen von Axonen und Synapsen.

- Glia, die nicht-synaptische neuronale Ausstülpungen umkleidet und zu beiden Seiten Kontakt zu einem synaptischen Spalt hat, wobei die Abdeckung der prä- und postsynaptischen Elemente jedoch nicht komplett ist.
- Glia, deren Lamellen aus derselben Ausstülpung stammen und untereinander Kontakt herstellen, umgeben einen Teil einer nicht-synaptischen Ausformung.
- Glia, die zwar einen peripheren Kontakt zur Synapse hat, aber nicht direkt zur aktiven Zone.
- Glia, bei der das Ausmaß der Abdeckung synaptischer Perimeter von komplett über teilweise bis zu gar nicht mehr reicht.
- Glia, bei der nebeneinanderliegende Lamellen, die von verschiedenen Fortsätzen stammen, untereinander Kontakt herstellen und eine Spaltverbindung (gap junction) herstellen.

Die Untersuchung von Rohlmann und Wolff (1996) legt nahe, dass Astrozyten die große Anzahl von 30.000 Gap Junctions pro Zelle oder  $10^8$  bis  $10^9$  pro Kubikmillimeter des kortikalen Neuropils bilden und davon ein großer Teil nahe an Synapsen liegt. Es sind jedoch auch Areale im Neuropil des ZNS nachgewiesen worden, die keine Glia enthalten (etwa von Chao et al. 1997 oder Hurd et al. 1999). Gleichzeitig stellen Chao et al. (2002) fest, dass die Verbindungen von Astroglia und neuronalen Somata eine enorme Variationsbreite zeigen, deren Regelmäßigkeit noch nicht geklärt ist.

### **2.1.5. Synaptische Verbindungen zwischen Neuronen und Glia**

Chao et al. (2002) zeigen auf, dass es außerdem verhältnismäßig seltene synaptische Verbindungen zwischen Axonen und Glia gibt. Auf sie treffen die morphologischen Kriterien für chemische Synapsen zu: Die Bläschen enthaltende Präsynapse – meist eines Axons – ist über eine paramembrane Verdichtung und Spaltmaterial mit einer als postsynaptisch zu wertenden gliösen Ausformung verbunden. In der ontogenetischen Entwicklung sind chemischen Synapsen ähnliche Gap Junctions bekannt. Sie finden sich beispielsweise bei radialen Gliazellen im Rückenmark von Mäuseembryos (Chao et al. 2002). Im erwachsenen Nervensystem hingegen sind solche Gap Junctions selten. Die Untersuchung von Soffer und Raine

(1980) legt die Vermutung nahe, dass diese Verbindungen auf pathologische Vorgänge im Gehirn hinweisen. Dennoch finden sich in bestimmten Hirnregionen regelmäßig solche synaptischen Verbindungen. Während für viele Gap Junctions zwischen Axonen und Glia keine synaptische Übertragungsaktivität nachgewiesen werden konnte, gilt eine solche synaptische Aktivität im Hippocampus als bewiesen (Bergles: 2002). Die Verbindung eines Astrozyten mit Dendriten über Gap Junctions konnten Edmunds und Parnavelas (1983) im visuellen Cortex der Ratte nachweisen.

## **2.2. Der Cortex cerebri**

"Where is the Cortex?" Mit dieser provokanten Frage eröffneten Braitenberg und Schüz ihre Untersuchung "Anatomy of the Cortex" (1991), die sie hauptsächlich am Modell des Mäusehirns vornehmen.

So sollen im Folgenden wichtige Merkmale des Cortex – insbesondere des somatosensorischen Cortex – beim Menschen und bei der Maus dargestellt werden.

### **2.2.1. Isocortex und Allocortex**

Wie bei allen Säugetieren kann auch der Cortex der Maus in Isocortex und Allocortex unterteilt werden. Bestimmte Regionen des Cortex weisen eine sechsschichtige Lamination auf. Sie werden Isocortex oder Neocortex genannt. Andere, wesentlich heterogener strukturierte Areale im Gehirn bilden den Allocortex, der auch Paleocortex oder Archicortex genannt wird. Der somatosensorische Cortex von Säugern wie der Maus gehört zum Isocortex.

### **2.2.2. Der Isocortex**

Der Isocortex ist im Gehirn von Säugern die dominierende Struktur. Die Gesamtzahl der Nervenzellen der menschlichen Endhirnrinde wird auf 10 bis 18 Milliarden geschätzt. Ein Mäusehirn enthält nach Williams (2000) etwa 75 Millionen Neurone;

hinzu kommen etwa 23 Millionen Gliazellen und weitere 10 bis 11 Millionen anderer Zellen.

Etwa die Hälfte der Rindenneurone ist auffällig klein und wird als Körnerzellen bezeichnet. Bei näherer Betrachtung handelt es sich hierbei zumeist um eine Mischung aus kleinen Pyramidenzellen und Nicht-Pyramidenzellen. Im Allgemeinen gehören 85 Prozent aller am Aufbau der isokortikalen Rinde beteiligten Neurone zur Klasse der Pyramidenzellen und modifizierten Pyramidenzellen. 15 Prozent der Neurone sind Nicht-Pyramidenzellen (kortikale Interneurone). Bei den Gliazellen des Isocortex entfällt der Hauptanteil von etwa 90 Prozent auf Astrozyten und Oligodendrogliazellen, nur etwa 10 Prozent der Rindenglia sind Mikrogliazellen.

### **2.2.3. Der somatosensorische Cortex**

Über histologische Merkmale der Hirnrinde lässt sich auch der Isocortex in einzelne Areale einteilen. Bereits 1909 veröffentlichte der Mediziner Korbinian Brodmann seine über Nissl-Präparate erstellte Gliederung des Isocortex als Hirnkarte. Weitere solcher Publikationen, etwa die von v. Economo und Koskinas (1925), folgten. Sie alle bedienten sich keiner einheitlichen Nomenklatur und führten eine verwirrende Vielfalt von funktionalen Arealen und Gebietsabgrenzungen im Gehirn ein. Die Forschung bestätigte jedoch viele Erkenntnisse der Hirnkarte von Brodmann (1909), so dass seine numerische Bezeichnung der Hirnareale bis heute Verwendung findet.

### **2.2.4. Lage des somatosensorischen Cortex**

Bereits Brodmann (1909) markierte im Gyrus postcentralis ein Gebiet, dessen Ausfall zur taktilen Agnosie führt. Dieses Gebiet gehört zu den sensorischen Primärgebieten, die besonders intensive afferente Verbindungen von thalamischen Kerngebieten her erhalten. Direkt an dieses Gebiet angrenzend liegt im Gyros praecentralis ein Areal, das als motorisches Primärgebiet bezeichnet wird.

### **2.2.5. Somatosensorische Kern- und Gürtelfelder**

Das somatosensorische Kernfeld (Area postcentralis granulosa, Brodmann-Feld 3) und die anschließenden Gürtelfelder (Area postcentralis paragrulosa, Brodmann-Felder 1 und 2) liegen beim Menschen also größtenteils in der Tiefe des Sulcus centralis verborgen. Im Bereich der Mantelkante ist die Rinde des Kernfeldes sehr dünn. In Richtung auf das frontoparietale Operculum verbreitert sie sich kontinuierlich. Die Rinde ist kleinzellig, mit großer Myelindichte und allgemein geringer Pigmentierung. Die vierte Schicht ist besonders breit und zelldicht. Die Brodmann-Felder 1 und 2 sind deutlich weniger stark verkörnelt als Feld 3 und bilden den Übergang zu den ausgedehnten homotypischen Assoziationsgebieten des Parietallappens. Nahe der Mantelkante liegen in den Feldern 1 und 2 kleine Gruppen von Betz-Pyramidenzellen in Schicht V5, die wie die entsprechenden Neuronen des primären motorischen Gebietes zum Aufbau der Pyramidenbahn beitragen. Die Brodmann-Felder 3, 1 und 2 empfangen den Hauptanteil der thalamokortikalen Fasern aus der Radiatio somatosensoria. Informationen aus verschiedenartigen Rezeptoren, die unterschiedliche Sinnesmodalitäten repräsentieren, erreichen in antero-posteriorer Richtung hintereinander angeordnet die Hirnrinde. So entsteht eine komplizierte somatosensorische Repräsentation der Körperoberfläche. Neurone, die auf eine bestimmte Sinnesmodalität ansprechen, sind in Säulen von etwa 200-500 Mikrometer Durchmesser übereinander angeordnet.

### **2.2.6. Aufbau des somatosensorischen Cortex der Maus**

Zilles und Wree (1995) haben für die Ratte gezeigt, dass deren Aufbau des Isocortex von dem etwa bei Brodmann dargelegten Aufbau des menschlichen Cortex abweicht. Zwar findet sich auch bei Nagern eine sechsschichtige Lamination, doch die Oberflächenstruktur des Hirns von Ratte wie Maus ist verhältnismäßig glatt und konturlos (engl.: lissencephalic). So zeigt sich bei ihnen kein zentraler Sulcus. Entsprechend nehmen Zilles und Wree in Übereinstimmung mit Paxinos und Watson (1982) und anderen (vgl. Krieg: 1946 a und b oder Caviness: 1975) eine topographische Grobeinteilung des Rattenhirns in die Bereiche frontal (Fr), parietal (Par), temporal (Te) und occipital (Oc) vor, deren weitere unterscheidbaren Gebiete

durch nachgestellte Zahlen gekennzeichnet werden. So gehört das so genannte Barrel- oder Tönnchen-Feld in Lamina IV, in dem sich bei Nagern die somatotopische Entsprechung der Tasthaare findet, zum Gebiet Par1. Dieses Barrel-Feld benennen die Autoren mit "inner granular layer IV" (innerer Bereich der Lamina granularis, IV) und grenzen davon in Par1 je nach der Packungsdichte der Perikarya granuläre ("granular") und dysgranuläre ("dysgranular") Areale ab. Die Bereiche, die Vorderglieder (fore-limbs) und Hinterglieder (hind-limbs) der Ratte somatosensorisch in ihrem Gehirn repräsentieren, werden bei Zilles und Wree mit den Kürzeln FL und HL bezeichnet.

Im Cortex findet sich in Regionen zur Verarbeitung sensorischer Informationen eine räumliche Anordnung der funktionellen Bereiche, die die Topographie der zugehörigen sensorischen Organe, insbesondere des Tastsinns auf der Körperoberfläche, widerspiegeln. Ein deutliches Beispiel für solche somatotopischen Karten findet sich in den "barrel fields" der Mäuse und Ratten, einem Teilbereich des primären somatosensorischen Cortex (Woolsey und Van der Loos 1970). Die Anordnung dieser "barrel fields" weist eine auffällige Übereinstimmung mit den Tasthaaren auf der Schnauze der Maus auf (Woolsey und Van der Loos 1970).

Die "barrel fields" im somatosensorischen Cortex der Maus bilden sich während der ersten postnatalen Woche.

### **2.2.7. Topographische Repräsentation des Körperschemas**

Jedes Areal der Körperhülle – aber auch bestimmter innerer Organe – hat eine somatosensorische Entsprechung im Gehirn. Informationen aus verschiedenartigen Rezeptoren, die unterschiedliche Sinnesmodalitäten repräsentieren, erreichen in antero-posteriorer Richtung angeordnet die Hirnrinde. So entsteht eine komplizierte somatosensorische Repräsentation der Körperoberfläche. Dabei zeigen sich für Gebiete, die für die einzelne Art besonders wichtig sind – beim Menschen etwa der Zeigefinger oder die Sprechwerkzeuge, bei der Maus die Tasthaare – im Gehirn eine quantitative Entsprechung. So sind die Gebiete, die beim Menschen für die somatosensorische Entsprechung des Zeigefingers zuständig sind, größer als die, die für die somatosensorische Entsprechung des anatomisch längeren Mittelfingers zuständig sind. Deshalb findet anatomisch die funktionelle Bedeutung einzelner Teile

des Körpers ihre Entsprechung in der Größe der jeweils zuständigen Rindenbereiche. Damit entsteht eine Projektion mit einem verzerrten Körperschema.

Besonders eindrucksvoll haben Woolsey und van der Loos (1970) die anatomische Übereinstimmung bei den so genannten Barrels oder Tönnchen in Lamina IV des somatosensorischen Cortex der Maus mit der Wichtigkeit einzelner Tastaare gezeigt und präsentieren dazu eine Hirnkarte mit einem verzerrten Körperschema der Maus. Auch Caviness (1975) benannte in Anlehnung an Brodmann (1909) und Krieg (1946 a und b) bereits Areale im Mäusecortex, in denen Augen und Augenlider, Körper, Kopf, äußere Extremitäten und Schwanz ihre somatosensorische Entsprechung finden. Paxinos (1995) zeigt in seiner breit angelegten Untersuchung über Gehirn und Nervensystem der Ratte ebenfalls Hirnkarten. Rempel et al. (2003) wiesen für bestimmte Bereiche des lateralen somatosensorischen Zentrums bei der Ratte eine komplette verzerrte topographische Repräsentation ihres Körpers und besonders des Zahn-, Zungen- und Schnauzenbereiches nach.

### **2.2.8. Lamination**

Der laminäre Aufbau des Isocortex bei Mäusen wird hauptsächlich von Braitenberg und Schüz (1991) untersucht. Von der freien Oberfläche in Richtung auf das Marklager werden folgende sechs Schichten unterschieden:

#### **2.2.8.1. Lamina molecularis, I**

Beim Menschen zeigt die Molekularschicht zur Pia mater hin einen dichten Filz aus kegelförmig verbreiterten Endfüßchen von Faserastrozyten. In den übrigen Bereichen der Schicht kommen nur wenige Nervenzellen vor. Viele von ihnen sind verlagerte Neurone aus Schicht II. Im Markscheidenpräparat ist im mittleren Drittel der Schicht ein Faserplexus zu erkennen.

Braitenberg und Schüz (1991) untersuchten bei der Albino-Maus die Synapsendichte in fünf der sechs Laminae für die nach Brodmann benannten Areale 6, 8 und 17. Sie

konnten in Lamina I für das Brodmann-Gebiet 6 eine Synapsendichte von etwa  $8 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 8 eine Synapsendichte von etwa  $9 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter und für das Brodmann-Areal 17 eine Synapsendichte von etwa  $9,5 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter nachweisen. Bei dieser Untersuchung ist allerdings zu beachten, dass Braitenberg und Schüz nur solche Synapsen gezählt haben, deren prä- wie postsynaptische Membran deutlich erkennbar waren und bei denen mindestens drei Vesikel auf der präsynaptischen Seite auszumachen waren. So ähnelt ihr Auswahlkriterium dem, was in dieser Arbeit "asymmetrische Synapsen" genannt wird.

Die Länge der verdickten Synapsenmembran ist nach Braitenberg und Schüz (1991) über alle untersuchten Laminae hinweg relativ gleich und bewegt sich zwischen etwa 320 und 380 nm.

#### **2.2.8.2. Lamina corpuscularis, II**

Die Corpuscularschicht besteht beim Menschen aus dicht gedrängt liegenden kleinen Pyramidenzellen mit kurzen und schlanken, oft auch gegabelten Apikaldendriten. Die Schicht ist arm an Markfasern. Im Pigmentpräparat sind stark pigmentierte Nicht-Pyramidenzellen vorzufinden.

Caviness (1975) berichtet für Laminae II und III jener Areale, die er nach Brodmann numerisch mit 3, 3a, 2, 1 und 40 benennt und die mit dem somatosensorischen Cortex gleichgesetzt werden können: "In general there is no differentiation of separate layers II und III in the supragranular zone". Für die Ratte ist eine solche kaum sichtbare Grenze von Wise und Jones (1978) und Tracey und Waite (1995) bestätigt.

Für das nach Brodmann Areal 8 genannte Gebiet bei der Albino-Maus konnten Braitenberg und Schüz (1991) in Lamina II eine Neuronendichte von etwa  $8,5 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 6 eine Neuronendichte von etwa  $13 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter und für das Brodman-Areal 17 eine Neuronendichte von knapp  $16 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter nachweisen.



### **2.2.8.3. Lamina pyramidalis, III**

Die Pyramidenzellschicht enthält beim Menschen in lockerer Anordnung Pyramidenzellen die von außen nach innen an Größe zunehmen. Lamina IIIc enthält besonders große Pyramidenzellen, so genannte Riesenzellen. In den oberflächlich gelegenen Abschnitten kann ein unscharf begrenzter Markfaserplexus auftreten.

Für das nach Brodmann Areal 8 genannte Gebiet bei der Albino-Maus konnten Braitenberg und Schüz (1991) in Lamina III eine Neuronendichte von etwa  $7 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 6 eine Neuronendichte von etwa  $9 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter und für das Brodmann-Areal 17 eine Neuronendichte von etwa  $12,5 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter nachweisen.

Braitenberg und Schüz (1991) konnten in Lamina III für das Brodmann-Gebiet 6 eine Synapsendichte von etwa  $9 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 8 eine Synapsendichte von etwa  $8 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter und für das Brodmann-Areal 17 eine Synapsendichte von etwa  $10 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter nachweisen.

### **2.2.8.4. Lamina granularis, IV**

Beim Menschen finden sich hier dicht gelagerte kleine pigmentierte Pyramidenzellen mit schlanken Apikaldendriten. Die kurzen Basaldendriten ziehen sternförmig in alle Richtungen. Die Bedornung ist spärlich. Die ersten Kollateralen des Axons steigen nahezu senkrecht auf und erreichen die Neurone der supragranulären Schichten.

Caviness (1975) berichtet für Laminae IV jener Areale, die er nach Brodmann numerisch mit 3, 3a, 2, 1 und 40 benennt und die mit dem somatosensorischen Cortex gleichgesetzt werden können, dass sie wesentlich prominenter ausgebildet ist als in allen anderen Arealen des Cortex der Maus. Hier sind die Zellen dicht gepackt, klein und dunkel gefärbt.

Für Ratte und Maus haben viele Autoren, darunter Zilles und Wree (1995), in Lamina IV der parietalen Region ebenfalls eine granuläre Struktur nachgewiesen. Auffällig in

diesem Bereich ist besonders das so genannte Barrel-Feld, das deutschsprachige Autoren (vgl. etwa Leonhardt et al. 1987) auch Tönnchen-Feld nennen. Unter einem Barrel oder Tönnchen wird eine anatomische Ausformung durch das Arrangement von Neuronen verstanden, bei dem ein perikaryenarmes Zentrum von einem zellichten Rand umgeben wird. In Durchmesser und Höhe misst ein solches Barrel etwa 200 bis 400  $\mu\text{m}$  (Woolsey und van der Loos 1970). Woolsey und van der Loos (1970) konnten nachweisen, dass diese Barrels der somatosensorischen Topographie der Vibrissae der Maus anatomisch entsprechen. Die Anzahl der Barrels im somatosensorischen Cortex stimmt also genau mit der Anzahl der Tastaare bei Nagetieren überein. Viele Autoren haben diese Erkenntnisse bestätigt und weiter untersucht (für die Maus vgl. etwa Gutiérrez-Ospina et al. 2004).

Für das nach Brodmann Areal 8 genannte Gebiet bei der Albino-Maus konnten Braitenberg und Schüz (1991) in Lamina IV eine Neuronendichte von etwa  $7,5 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 6 eine Neuronendichte von etwa  $13 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter und für das Brodmann-Areal 17 eine Neuronendichte von fast  $20 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter nachweisen. Woolsey und van der Loos (1970) sprechen von einer hohen synaptischen Dichte in den Barrels.

Braitenberg und Schüz (1991) konnten in Lamina IV für das Brodmann-Gebiet 6 eine Synapsendichte von etwa  $8,5 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 8 eine Synapsendichte von etwa  $8,5 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter und für das Brodmann-Areal 17 eine Synapsendichte von etwa  $9 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter nachweisen.

#### **2.2.8.5. Lamina ganglionaris, V**

Die Ganglienzellschicht enthält beim Menschen Pyramidenzellen aller Größenklassen. Meist liegen die Zellen weit auseinander, so dass die Schicht insgesamt zellarm erscheint. Häufig kann eine zell dichtere Sublamina Va von einer zellärmeren Sublamina Vb unterschieden werden. In einigen Feldern können Vb-Riesenpyramidenzellen auftreten. Der Markfaserplexus in Vb wird als innerer Streifen von Baillager bezeichnet.

Auch Caviness (1975) unterscheidet in Laminae V jener Areale im Mäusehirn, die er nach Brodmann nummerisch mit 3, 3a, 2, 1 und 40 benennt und die mit dem somatosensorischen Cortex gleichgesetzt werden können, die Sublaminae Va, Vb und Vc. In Vb findet sich eine Konzentration von Pyramidenzellen, die von medialer nach lateraler Richtung kleiner werden.

Für das nach Brodmann Areal 8 genannte Gebiet bei der Albino-Maus konnten Braitenberg und Schüz (1991) in Lamina V eine Neuronendichte von gut  $6 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 6 eine Neuronendichte von etwa  $8 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter und für das Brodman-Areal 17 eine Neuronendichte von etwa  $8,5 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter nachweisen.

Braitenberg und Schüz (1991) konnten in Lamina V für das Brodmann-Gebiet 6 eine Synapsendichte von etwa  $8 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 8 eine Synapsendichte von etwa  $7 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter und für das Brodman-Areal 17 eine Synapsendichte von etwa  $8,5 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter nachweisen.

#### **2.2.8.6. Lamina multiformis, VI**

Diese Schicht besteht beim Menschen hauptsächlich aus modifizierten Pyramidenzellen, viele mit spindelförmigem oder dreieckigem Zelleib. Bei Betrachtung des gesamten Rindenbandes zeigt sich, dass die Pyramidenzellen zu etwa gleichen Teilen auf die supragranulären (I-III) und tiefen (IV-VI) Schichten verteilt sind. Die nicht-pyramidalen Zellen erreichen supragranulär eine höhere Packungsdichte als in den tiefen Schichten. Sind alle sechs Schichten vorhanden, so liegt ein homotypisches isokortikales Areal vor. Heterotypische Felder zeichnen sich demgegenüber durch mehr oder weniger durchgreifende Abweichungen in der Lamination aus.

Für das nach Brodmann Areal 8 genannte Gebiet bei der Albino-Maus konnten Braitenberg und Schüz (1991) in Lamina VI eine Neuronendichte von etwa  $9 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 6 eine Neuronendichte von etwa  $13 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter und für das Brodman-Areal 17 eine Neuronendichte von gut  $14 \times 10^4$  pro Kubikmillimeter nachweisen. Braitenberg und Schüz (1991) konnten in

Lamina VI für das Brodmann-Gebiet 6 eine Synapsendichte von etwa  $6 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter, für das Brodmann-Gebiet 8 eine Synapsendichte von etwa  $5 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter und für das Brodman-Areal 17 eine Synapsendichte von etwa  $7,5 \times 10^8$  pro Kubikmillimeter nachweisen.

### **2.2.9. Vertikale Strukturen des Cortex**

Die Aufteilung in Laminae beschreibt die horizontale Aufteilung des Cortex. Jede Lamina enthält unterschiedliche Zellen und bildet unterschiedliche Verbindungen mit anderen Neuronen. Mountcastle (1957) beschrieb nach elektrophysiologischen Untersuchungen an der Katze zusätzlich eine vertikale Organisation kortikaler Zellen. Er zeigte, dass die Stimulation peripherer Rezeptoren gleichgeartete Reaktionen in solchen Neuronen des Gehirns hervorruft, die in engen vertikalen Kolumnen von Lamina II bis zu Lamina VI liegen. Weitere Untersuchungen folgten (für die Maus vgl. etwa Greilich: 1984; Meyer et al. 1986; Braitenberg und Schüz: 1991; Miller et al. 2001; Gutiérrez-Ospina et al. 2004) und bestätigten diese elektrophysiologisch, chemisch oder anatomisch nachweisbare Organisationsform des Cortex in miteinander synaptisch verbundenen, immer wiederkehrenden kortikale Neuronengruppen, die alle sechs der auch weniger Laminae umfassen (vgl. etwa Schiebler et al. 1999 oder Leonhardt et al. 1987). Besonders im somatosensorischen, aber auch im primären visuellen Cortex sind sie deutlich erkennbar. Jede Zellsäule hat einen Durchmesser von 30-1000  $\mu\text{m}$ . Allerdings beeinflussen sich benachbarte Säulen gegenseitig. Stimulationen an spezifischen Rezeptoren der Haut gelangen als afferente Impulse im somatosensorischen Cortex bevorzugt zu Interneuronen der Schicht IV. Deren Axone treten vor allem an apikale oder basale Dendriten von Pyramidenzellen heran. Die Dendriten dieser Pyramidenzellen bilden vertikale Bündel. So breitet sich die Erregung zunächst in einem begrenzten Cortexbereich aus. Allerdings sind die vertikalen Zellsäulen durch kurze neuronale Verbindungen auch untereinander verknüpft. So werden die Signale auch in horizontaler Richtung ausgebreitet. Deshalb beeinflussen sich benachbarte Säulen gegenseitig. Efferente Signale einer vertikalen Säule berücksichtigen also die hemmenden oder erregenden Signale anderer Zellsäulen.

Für den primären visuellen Cortex ist für verschiedene Spezies nachgewiesen, dass Kolumnen, die Signale vom rechten Auge erhalten, direkt neben Kolumnen liegen, die Signale vom linken Auge erhalten (vgl. etwa Hubel und Wiesel 1977 oder Goodhill und Carreira-Perpiñán 2002). Die Ausformung dieser abwechselnden Kolumnen ist nicht nur von Spezies zu Spezies, sondern auch bei verschiedenen Exemplaren einer Art sehr unterschiedlich (Horton und Hocking 1996).

Die Untersuchung von Maier et al. (1999) an transgenen GAP-43-Knockout-Mäusen legt nahe, dass das präsynaptische Protein GAP-43 einen großen Einfluss auf die Bildung solcher vertikalen Strukturen hat. Deprivationsexperimente zeigen, dass in der postnatalen Entwicklung äußere Einflüsse die Ausbildung der vertikalen Strukturen deutlich bestimmen (vgl. etwa Leonhardt et al. 1987). Goodhill und Carreira-Perpiñán (2002) weisen darauf hin, dass die genaue Funktion dieser columnaren Strukturen bislang noch nicht erforscht ist.

### **2.3. Entwicklung des Cortex**

Beim Menschen benötigt die pränatale Entwicklung von der Befruchtung bis zur Geburt neun Monate, bei der Hausmaus nur etwa 19 bis 23 Tage. Die Morphogenese verläuft trotz der zeitlichen Unterschiede jedoch bei allen Säugetieren sehr ähnlich (Rugh 1990). Im Nachfolgenden werden ggf. zu den Ergebnissen für Mäuse die bekannten Werte für den Menschen als Referenz angegeben.

In der Entwicklungsphase des Zentralnervensystems findet die Produktion und Wachstum der Neuronen pränatal im Cortex der Maus statt. Die entgültige Differenzierung und Kontaktaufnahme von Neuronen erfolgt jedoch erst in der postnatalen Phase. Im Gegensatz hierzu wird die überwiegende Mehrzahl von Makrogliazellen im Cortex postnatal gebildet wobei die Synthese von Astrozyten früher als die von Oligodendrozyten stattfindet.

Die zahlreichen Filopodien eines Wachstumskegels berühren die Oberflächenmembran einer Partnerzelle und breiten sich auf der Zelloberfläche aus. Die übrigen Filopodien werden eingezogen. In der Partnerzelle kommt es zu

Änderungen im Golgi-Komplex, es bilden sich umhüllte Bläschen aus, die zu der Membranstelle wandern, an der das Filopodium Kontakt hat. Dieses Phänomen wird als erster Hinweis auf die folgende Synaptogenese angesehen, da es zu einer Verdichtung an der subsynaptischen Membran führt. An der präsynaptischen Seite tauchen synaptische und große Vesikel mit einem dichten Kern auf. Sie häufen sich im Bereich der präsynaptischen Membran. Allmählich wird auch die präsynaptische Membran verdichtet, der Spalt zwischen Prä- und Postsynapse erweitert und mit Spaltmaterial versehen.

Die Endform der Dendriten und das axonale Verzweigungsmuster hängt von der synaptischen Interaktion beider Strukturen ab. Regelmäßig bilden sich zuerst axodendritische Synapsen und später die übrigen Formen von Synapsen. Hat die Synaptogenese erst einmal eingesetzt, nimmt die Synapsenzahl in einem bestimmten System sehr rasch zu. In verschiedenen Zielgebieten kommt es vorübergehend zu einer Überproduktion von Synapsen, die später wieder abgebaut wird.

Für die vorliegende Arbeit ist wichtig, dass bei jungen Mäusen erst etwa zwischen dem 10 bis 15. postnatalen Tag die auditiven und visuellen Organe ihre Funktion voll aufnehmen. Das somatosensorische System jedoch funktioniert von Geburt an.

Die meisten Synapsen des Zentralnervensystems bilden sich erst nach der Geburt. Ihre Entstehung wird durch Einflüsse (Afferenzen) aus den Sinnesorganen und dem Bewegungsapparat stark gefördert. Auch bei erwachsenen Menschen oder Tieren kommt es weiterhin zur Synapsenbildung. Gleichzeitig können Synapsen auch wieder abgebaut werden (Hinds and Hinds 1976).

### **3. Ziel der Arbeit**

Angesichts der neuen Untersuchungsmethoden sind quantitative morphologische Ansätze, wie sie vermehrt bis in die 1990-er Jahren verfolgt wurden (Braitenberg und Schüz: 1991; Bähr und Wolff 1985; Schüz und Palm 1989; Grab et al. 1983; Vrensen et al. 1977; Kristt und Molliver 1976; Haddara 1956), in den Hintergrund gerückt. Dennoch bietet quantitative Morphometrie eine wichtige Basis.

Ziel der Arbeit ist die quantitative Bestimmung der Beziehung zwischen Gliazellen und Synapsen. Untersucht wurden Mäusehirne von behaarten NMRI-Mäusen (Neval Medical Research Institute, USA), am 5., 10., 15., 20. und 30. postnatalen Tag. Zusätzlich wurden die Ausformung der Synapsen, die verschiedenen Gliatypen sowie deren unterschiedliche kortikale Tiefe bestimmt. So lassen sich auf der Grundlage von quantitativ erarbeitetem Datenmaterial funktionelle Modelle aufbauen. Deshalb möchte die vorliegende Untersuchung an diesen Forschungsbereich anschließen mit einem quantitativen Beitrag und Datenmaterial für weitere Studien zur Verfügung stellen.

## 4. Material und Methoden

### 4.1. Verzeichnis der verwendeten Chemikalien und Reagenzien

Chemikalien/Reagenzien	Herkunft
Ether	Carl Roth, Karlsruhe,
Aqua bidest.	destilliert
Entionisiertes Wasser.	Hausleitung
Azur II	Serva, Heidelberg
Bleinitrat	Merck, Darmstadt
Boraxlösung (1 %)	Merck, Darmstadt
Diglycidether	Serva, Heidelberg
Dimethylaminoethanol	Merck, Darmstadt
Ethanol	Merck, Darmstadt
Glutaraldehyd	Merck, Darmstadt
Isopropanol	Merck, Darmstadt
Kaliumchlorid	Merck, Darmstadt
Ketavet® (Ketaminhydrochlorid)	Curamed Pharma GmbH, Karlsruhe
Methylenblau	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	Merck, Darmstadt
Natriumcitrat	Merck, Darmstadt
Natriumdihydrogenphosphat	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt
Nonenylsuccinidanhydrid	Merck, Darmstadt
Osmiumtetroxid	Merck, Darmstadt
Paraformaldehyd	Merck, Darmstadt
Propylenoxid	Serva, Heidelberg
Rompun® (2%)	Bayer, Leverkusen
Uranylacetat	Merck, Darmstadt
Vinylcyclohexen	Serva, Heidelberg



## **4.2. Versuchstiere**

Als Versuchstiere für diese Untersuchung wurden behaarte NMRI-Albino-Mäuse (Neval Medical Research Institute, USA) verwendet. Die Tiere wurden bei 21 - 23 °C, 50 - 70 % Luftfeuchtigkeit und natürlichem Hell-Dunkel-Rhythmus gehalten. Sie erhielten eine Standarddiät aus Futterkonzentrat und Wasser nach eigenem Bedarf. Die Tiere entstammten verschiedenen Würfen und sind in der Gruppe aufgewachsen. Es wurden Tiere beiderlei Geschlechts verwendet.

## **4.3. Narkose**

Am postnatalen Tag (P) 5, 10, 15, 20 und 30 wurde je eine NMRI-Maus mit einer Mischung aus Ketavet und Rompun narkotisiert. Die Dosierung betrug 227,4 mg Ketaminhydrochlorid und 18,4 mg von 2,6-dihydro-2-(2,6-Xylidino)-4H-1,3-Thiazinhydrochlorid pro Kilogramm Körpergewicht.

## **4.4. Transkardiale Perfusionsfixierung**

Nach eingetretenem Atemstillstand wurden die Tiere wie folgt transcordial perfusionsfixiert:

- Der Thorax wurde mit einem parasternalen Schnitt eröffnet und der Herzbeutel mit dem linken Ventrikel freigelegt. Eine Knopfkanüle wurde durch den Ventrikel in die Aorta vorgeschoben und anschließend wurde sofort der rechte Vorhof am Herzohr inzidiert. Zunächst wurde mit ca. 10 ml von 0,9 % NaCl das Blut möglichst vollständig aus dem Gefäßsystem gespült, wobei als Abfluss der rechte Vorhof diente.
- Um postmortale Strukturveränderungen und Autolyse so gering wie möglich zu halten, wurden, als nur noch klare Spülflüssigkeit austrat, die Gehirne der Albino-Mäuse mit 10 ml eines schnell wirkenden Fixativs (Karnovsky 1965, 3%igen Glutaraldehyd-Lösung, 3%iger Paraformaldehyd in 0,1 molaren N-Phosphatpuffer ) perfundiert.

- Die Temperatur betrug 20°C und der Perfusionsdruck 140 cm Wassersäule.
- Optimal perfundierte und fixierte Gehirne wurden vorsichtig mit einer kleinen Knochenzange aus der Kalotte und mit einer kleinen Schere aus der Dura mater befreit, dem Schädel entnommen und für eine Stunde im obigen Fixativ nachfixiert.
- Danach wurden auf der rostrokaudalen Ebene des septalen Hippocampuspols 2 mm dicke frontale Scheiben geschnitten.
- Dieses Gewebe wurde zweimal in 0,1 molarem Na-Phosphat bei pH 7,2 gewaschen.
- Anschließend wurde das Gewebe in 1%-igem OsO<sub>4</sub> in Na-Phosphat bei pH 7,2 für eine Stunde nachfixiert.
- Zum Abschluss wurde das Gewebe 3 Mal in Na-Phosphat für jeweils 20 Min gewaschen.

#### **4.5. Entwässerung und Einbettung**

Die Entwässerung erfolgte in einer aufsteigenden Alkoholreihe, beginnend mit 30 %, 50 %, 70 %, 90 %, dann mit 2 x 100 % Ethanol und anschließend mit Isopropanol und 2 x Propylenoxid.

Hiernach folgt die Einbettung nach Spurr (1969).

#### **4.6. Semidünnschnitte**

Bei der Untersuchung des Alterseinflusses wurde je ein Tier postnatal im Alter von 5 Tagen (P5), 10 Tagen (P10), 15 Tagen (P15), 20 Tagen (P20) und 30 Tagen (P30) topographisch bzw. quantitativ ausgewertet. Dazu wurden zunächst ungefähr sechs mal ein bis zwei Mikrometer dicke Semidünnschnitte angefertigt und mit Richardson's Stain (Richardson et al. 1960, 1 % Azur II in entionisiertem Wasser zu gleichen Teilen mit 1 % Methylenblau in 1-prozentiger Boraxlösung gemischt) gefärbt.

Da Gewebe vom primären somatosensorischen Cortex gewonnen werden sollte, wurde bei den Proben nach Anhäufungen und Strukturen von Neuronen gesucht, die

den Barrels in Lamina IV entsprechen. Diese fanden sich in der rostrocaudalen Ebene des septalen Hippocampuspols.

Pro Maus und Tag wurden zunächst 2 µm starke Semidünnschnitte gemacht und davon drei Bildserien mit dem Lichtmikroskop Zeiss Axioskop bei 40-facher Vergrößerung mit der Kamera Zeiss AxioCam angefertigt. Danach wurde die Pyramide auf Ultradünnschnittgröße von ca. 1 mm x 0,5 mm zugespitzt. Davon wurden erneut Semidünnschnitte zur Kontrolle der Regionen gemacht.

Diese Vorgehensweise war notwendig um den somatosensorischen Cortex auszuwählen.

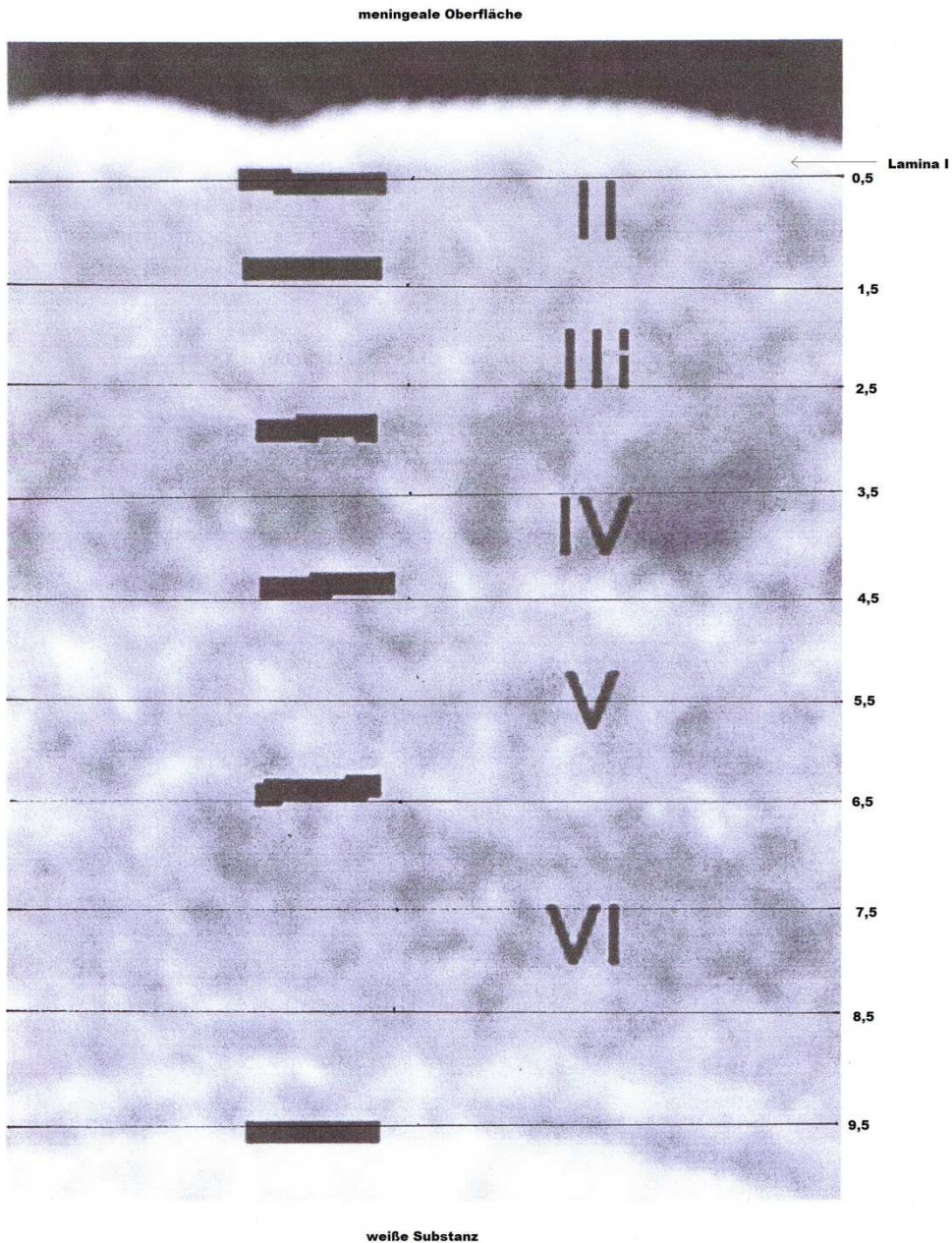
#### **4.7. Ultradünnschnitte**

Von der so gewählten Region wurden mit einem Mikrotom (Reichert-Jung Ultracut, jetzt Leica, Wien) zwölf 60 bis 80 nm dicke Ultradünnschnitte angefertigt. Diese wurden auf Formvar befilmte Blenden aufgezogen.

#### **4.8. Transmissions-Elektronenmikroskopie**

Die Schnitte wurden unter dem Transmissions-Elektronenmikroskop LEO 906 E (LEO Elektronenmikroskopie, Oberkochen; umbenannt in Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen) bei 10.000-facher Vergrößerung untersucht und mit dem PC-Programm Vario Vision aufgenommen.

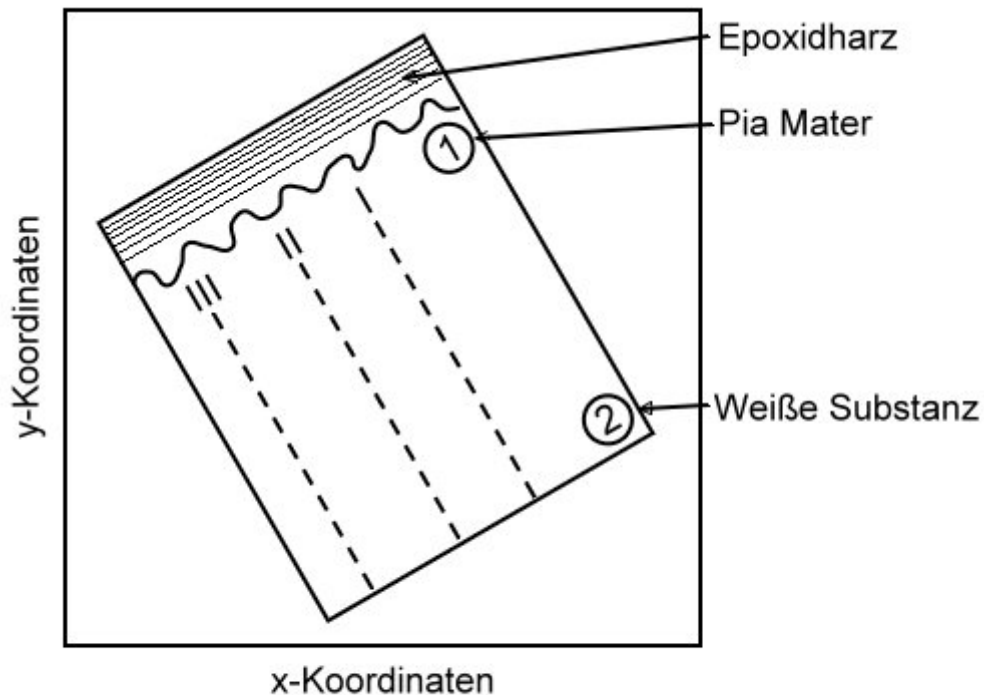
Diese Bilder wurden von der meningealen Oberfläche (als Ordnungszahl ist hier 0 gewählt) bis hin zur weißen Substanz (als Ordnungszahl ist hier 10 gewählt) in zehn equidistante Bereiche unterteilt. In jedem der unterteilten Bereiche wurden pro Serie zehn Einzelbilder untersucht. Ein Einzelbild umfasst die Fläche von 17,17 Quadratmikrometern.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Aufteilung der Mäusehirne mit der bekannten Lamination von der meningealen Oberfläche bis zur weißen Substanz in zehn equidistante Bereiche.

#### 4.8.1. Festlegung der zu untersuchenden Punkte

Ein auf eine Blende aufgezogener kontrastierter Schnitt wurde unter dem Elektronenmikroskop mit 10.000-facher Vergrößerung betrachtet.



#### Bildausschnitt unter dem Elektronenmikroskop

**Abbildung 2:** Schematische Ansicht einer Probe unter dem Elektronenmikroskop mit Festlegung der Bildpunkte

Da die Schnitte notwendigerweise im EM mit zufälliger Ausrichtung untersucht werden müssen, wir aber eine ausgerichtete Bildserie von der pialen Oberfläche bis zur weißen Substanz ( siehe obiges Bild) benötigen, müssen die Punkte der Aufnahmen berechnet werden.

Hierzu wurden zunächst die Koordinaten der Piaoberfläche und der weißen Substanz mit einer Schnittkante bestimmt. Danach wurden die Koordinaten der benötigten Bildmittelpunkte mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogramms berechnet.

Für die eigentlichen Aufnahmen wurden diese Punkte dann angefahren.

## **5. Ergebnisse**

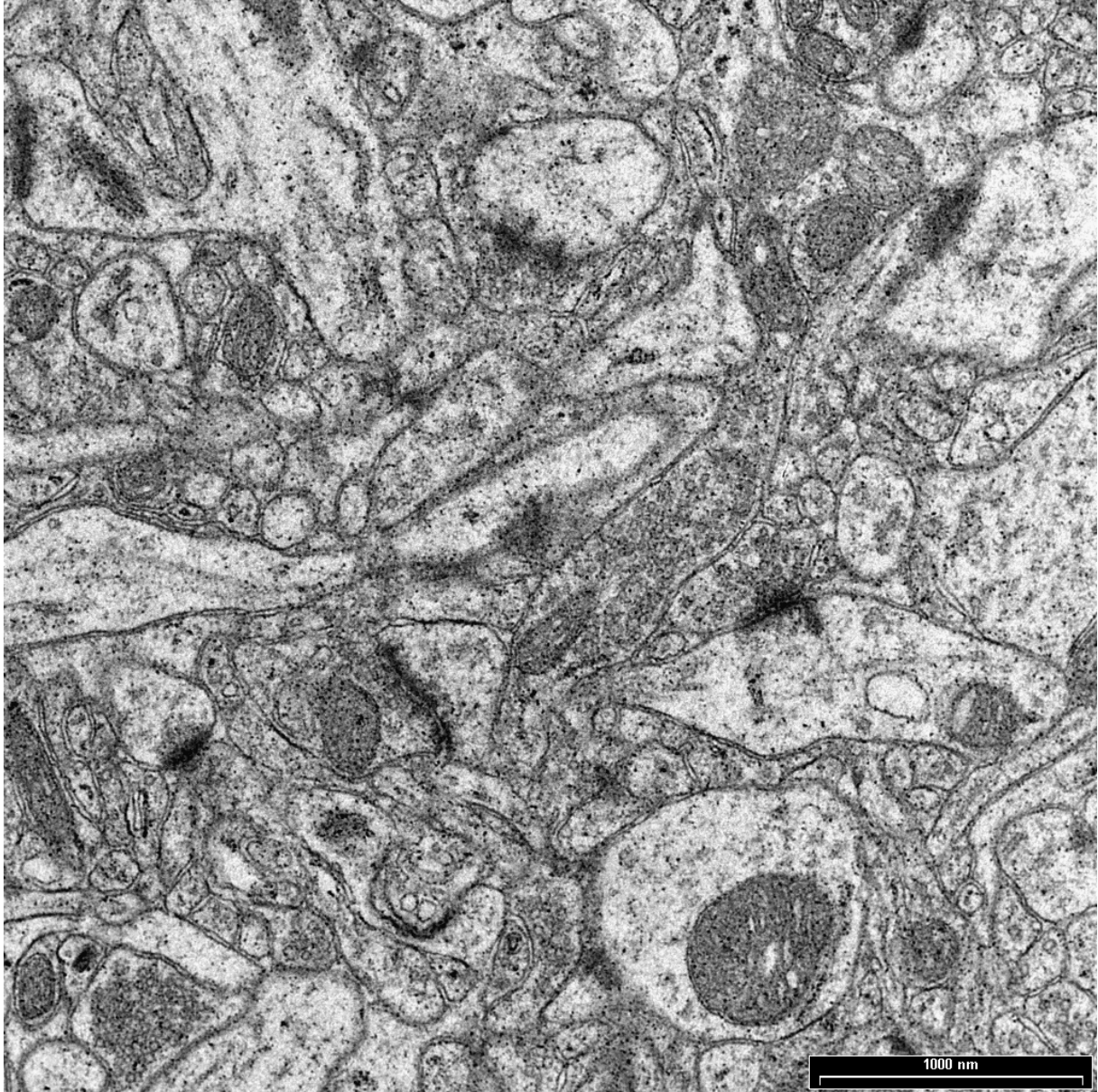
### **5.1. Einteilung der Synapsen**

Für jeden der zehn equidistant aufgeteilten Bereiche des somatosensorischen Cortex wurde zunächst die Gesamtzahl der Synapsen ermittelt (rot). Dann wurde untersucht, wie viele dieser Synapsen eine asymmetrische Verdichtung aufwiesen (grün), wie viele dieser Synapsen eine symmetrische Verdichtung aufwiesen (gelb) und wie viele dieser Synapsen keine Verdichtung aufwiesen (lila). Ein Teil aller Synapsen ließ sich keiner dieser drei Untergruppen zuordnen. Sie gelten als undefiniert (schwarz).

Hierbei werden zur Synapsenunterscheidung folgende Merkmale festgelegt:

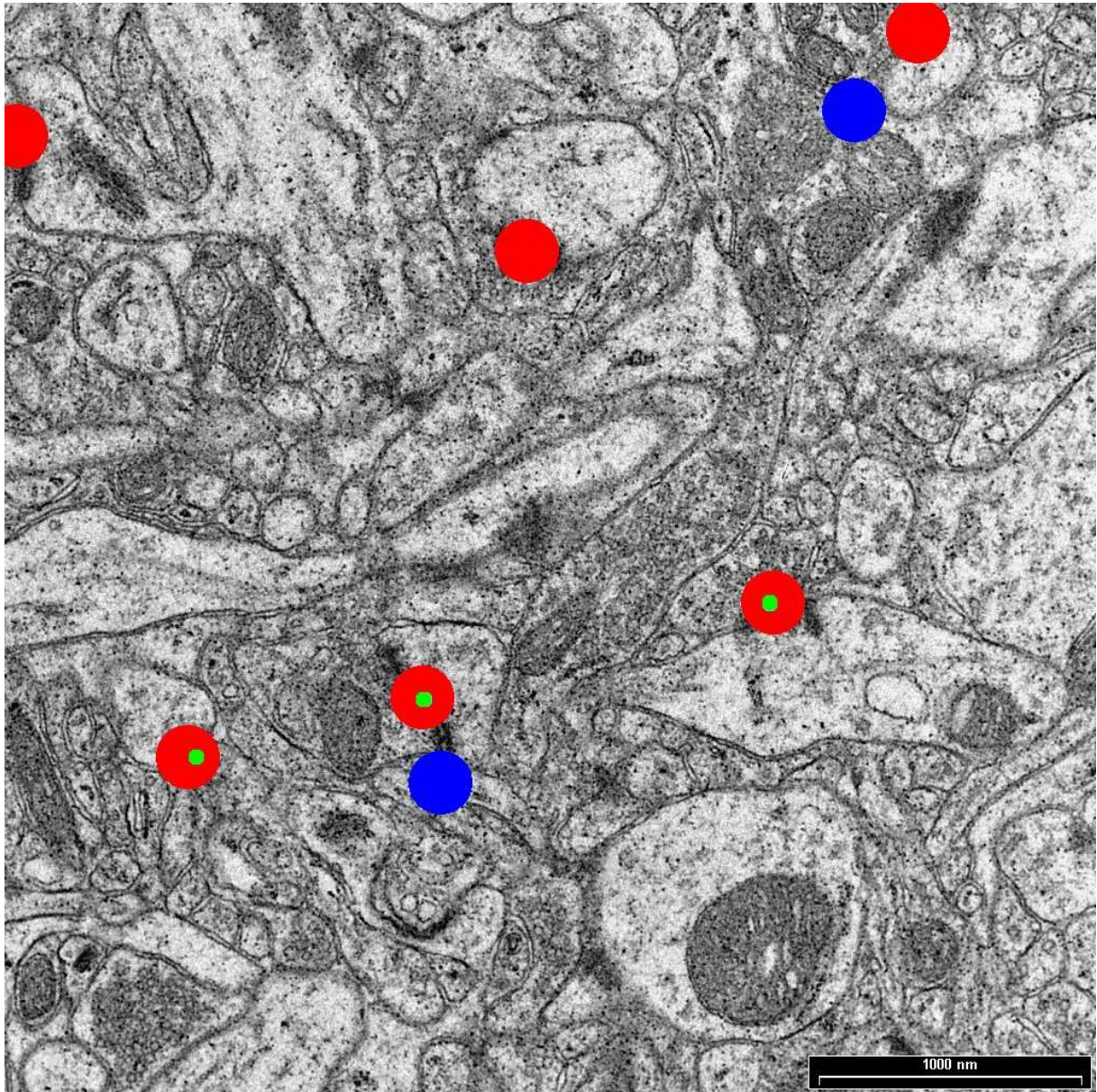
- Membranverdichtung.
- Mindestens drei synaptische Vesikel, die rund und hell erscheinen (auf parallelen Membranen).

Die hier angegebenen Farben beziehen sich auf die nachfolgenden Grafiken.



**Abbildung 3:** Beispiel eines unter dem EM aufgenommenen Bildes zur Klassifizierung von Synapsen.





**Abbildung 4:** Beispiel eines unter dem EM aufgenommenen Bildes mit Auszeichnung der jeweiligen gesuchten Synapsen.



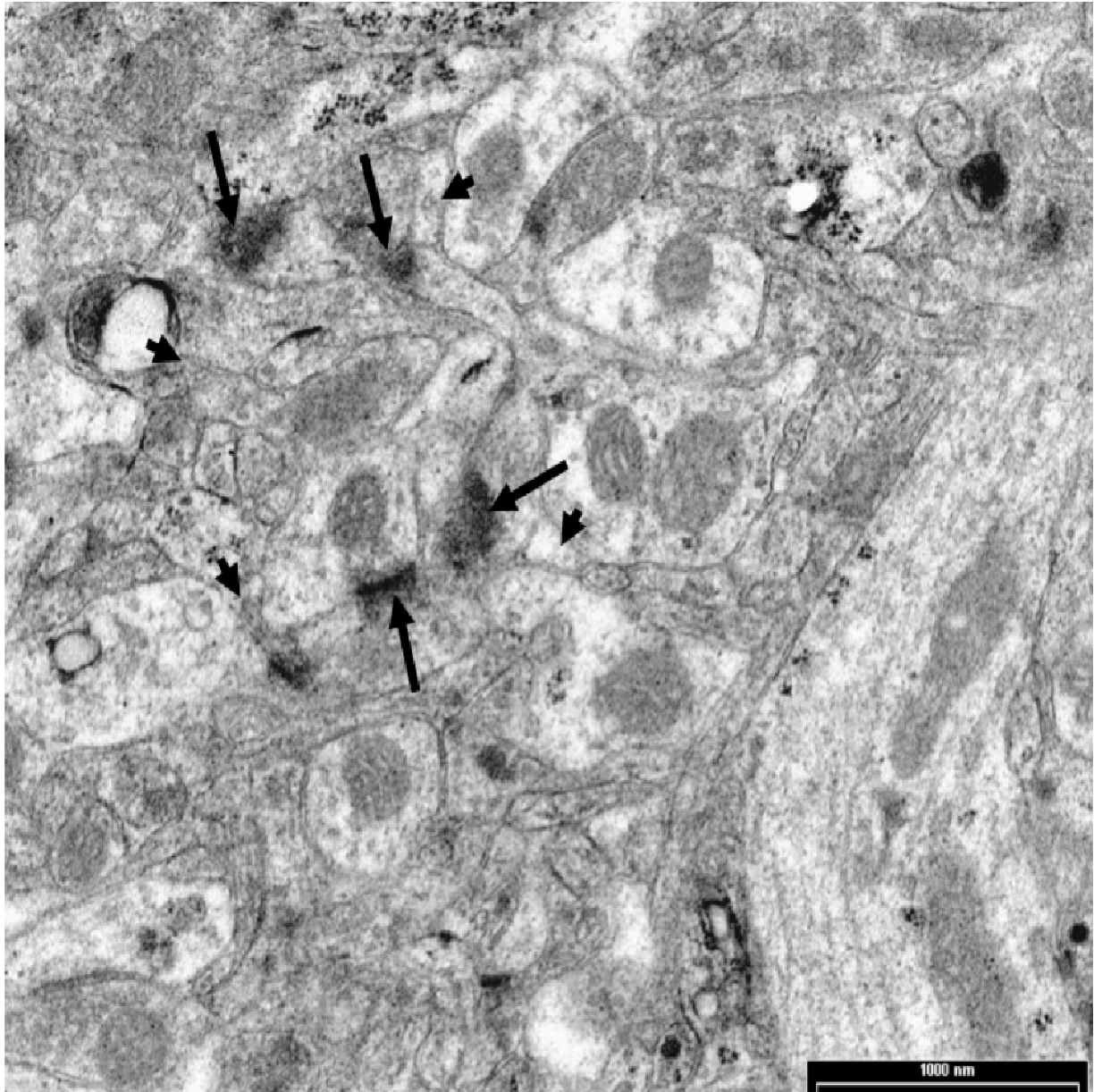
## 5.2. Einteilung der synaptischen Astrozytenkontakte der Glia-Beteiligung

Die Gesamtzahl aller Synapsen wurde auf ihre Beteiligung von Glia hin untersucht. Hierbei gelten in den folgenden Tabellen Synapsen, bei denen Glia an einer Seite der Synapse den Synapsenspalt bedeckt, als "Spalt einseitig Glia" (blau), Synapsen, bei denen Glia an beiden Seiten, den synaptischen Spalt bedeckt als "Spalt zweiseitig Glia" (gelb) und Glia, die in der Nähe einer Synapse liegt, jedoch nicht in den Synapsenspalt erreicht, als "Peripher" (grün).

Zur Identifikation von Astrozytenausläufern werden folgende Merkmale festgelegt:

Als Astrozytenausläufer wurden solche Elemente identifiziert, die eine konkav verlaufende Plasmamembran besaßen oder mit einem Fortsatz in Verbindung standen der an anderer Stelle konkave Profile zeigte. Dadurch sahen Astrozytenlamellen häufig eckig aus wenn sie sich in benachbarte neuronale Elemente anpassen.

Die hier angegebenen Farben beziehen sich auf die nachfolgenden Grafiken.



**Abbildung 5:** Beispiel eines unter dem EM aufgenommenen Bildes vom somatosensorischen Kortex der Maus (lange Pfeile: Synapsen, kurze Pfeile: Astrozytenausläufer).

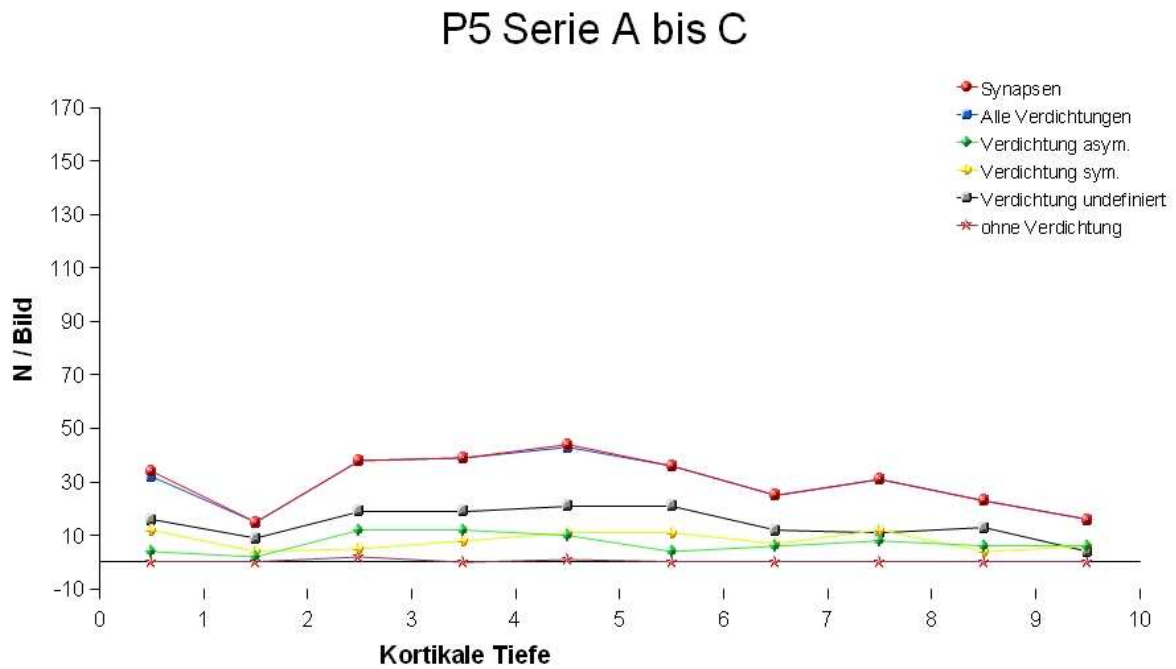
### 5.3. Quantitative Ergebnisse

**Tabelle 1.: Einteilung der Synapsen am 5. postnatalen Tag**

Postnatal 5. Tag (Bildserie A bis C)						
	Synapsen	Alle Verdichtungen	Verdichtung asym.	Verdichtung sym.	Verdichtung undefiniert	ohne Verdichtung
	(rot)	(blau)	(grün)	(gelb)	(schwarz)	(lila)
0,5	34	32	4	12	16	0
1,5	15	15	2	4	9	0
2,5	38	38	12	5	19	2
3,5	39	39	12	8	19	0
4,5	44	43	10	11	21	1
5,5	36	36	4	11	21	0
6,5	25	25	6	7	12	0
7,5	31	31	8	12	11	0
8,5	23	23	6	4	13	0
9,5	16	16	6	6	4	0
<b>Summe</b>	<b>301</b>	<b>298</b>	<b>70</b>	<b>80</b>	<b>145</b>	<b>3</b>

Am **5. postnatalen Tag** wurden 301 Synapsen ausgewertet. Dabei konnte die Art der Verdichtung bei 145 Synapsen, also fast der Hälfte, nicht definiert werden. Beim Rest verteilten sich die Verdichtungen mit 70 zu 80 Synapsen fast gleichmäßig auf asymmetrisch zu symmetrisch ausgestalteten Synapsen. Nur bei drei Synapsen wurde keinerlei Verdichtung festgestellt.

**Abb.6: Verteilung der verschiedenen Synapsentypen**



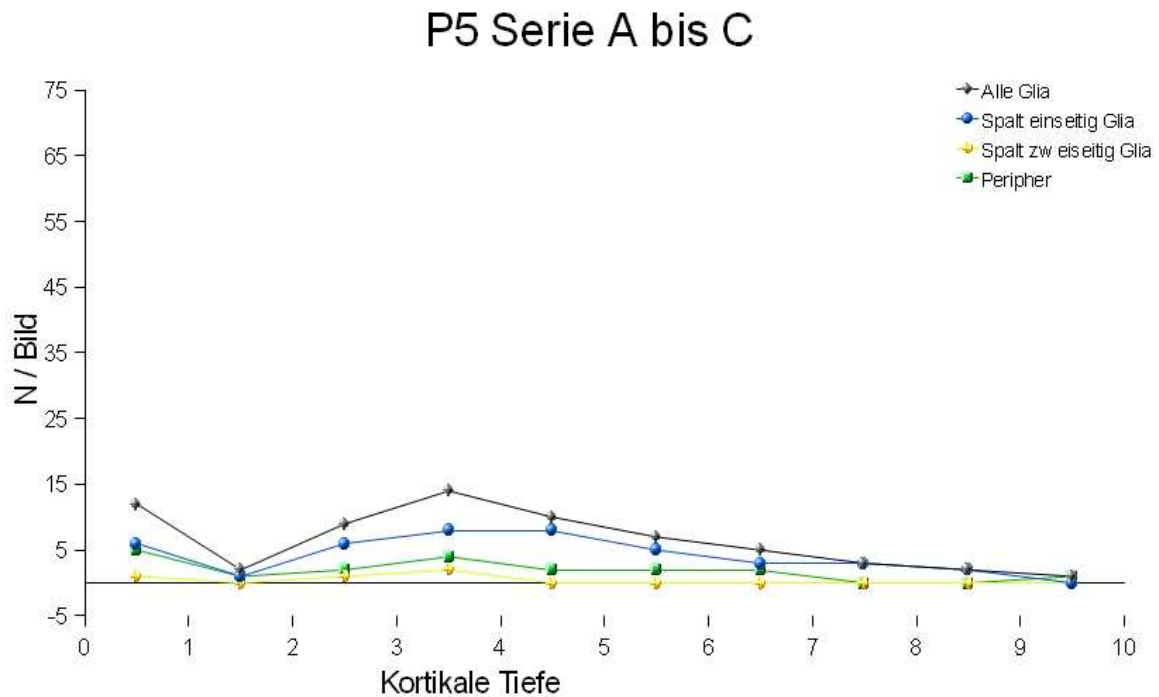
Die Verteilung der verschiedenen Synapsentypen in der kortikalen Tiefe ist relativ regelmäßig mit Häufungen direkt am Anfang, gefolgt von einem Tief um später zur Mitte hin langstreckig wieder anzusteigen. Hiernach ist, außer einem mäßigen Anstieg um die Tiefe 7,5, eine Tendenz zur Verminderung der Synapsenzahl sichtbar.

**Tabelle 2.: Einteilung der Gliabedeckungstypen am 5. postnatalen Tag**

Postnatal 5. Tag (Bildserie A bis C)				
	Alle Glia	Spalt einseitig Glia	Spalt zweiseitig Glia	Peripher
	(schwarz)	(blau)	(gelb)	(grün)
0,5	12	6	1	5
1,5	2	1	0	1
2,5	9	6	1	2
3,5	14	8	2	4
4,5	10	8	0	2
5,5	7	5	0	2
6,5	5	3	0	2
7,5	3	3	0	0
8,5	2	2	0	0
9,5	1	0	0	1
<b>Summe</b>	<b>65</b>	<b>42</b>	<b>4</b>	<b>19</b>

Am **5. postnatalen Tag** konnten von 301 Synapsen 46 Synapsen mit Beteiligung von Glia ausgemacht werden. Dies entspricht etwa 15,28 Prozent. Dabei waren 42 Synapsen mit einseitigem Gliakontakt des Spaltes und nur vier Synapsen mit zweiseitigem Gliakontakt am Synapsenspalt sichtbar. 19 Gliabedeckungstypen, also fast 30 Prozent, konnten keiner dieser beiden Gruppen zugeordnet werden, weil sie nicht direkt am synaptischen Spalt, sondern in Nähe der Post- oder Präsynapse lagen.

Abb. 7: Kortikale Tiefe der perisynaptischen Glia



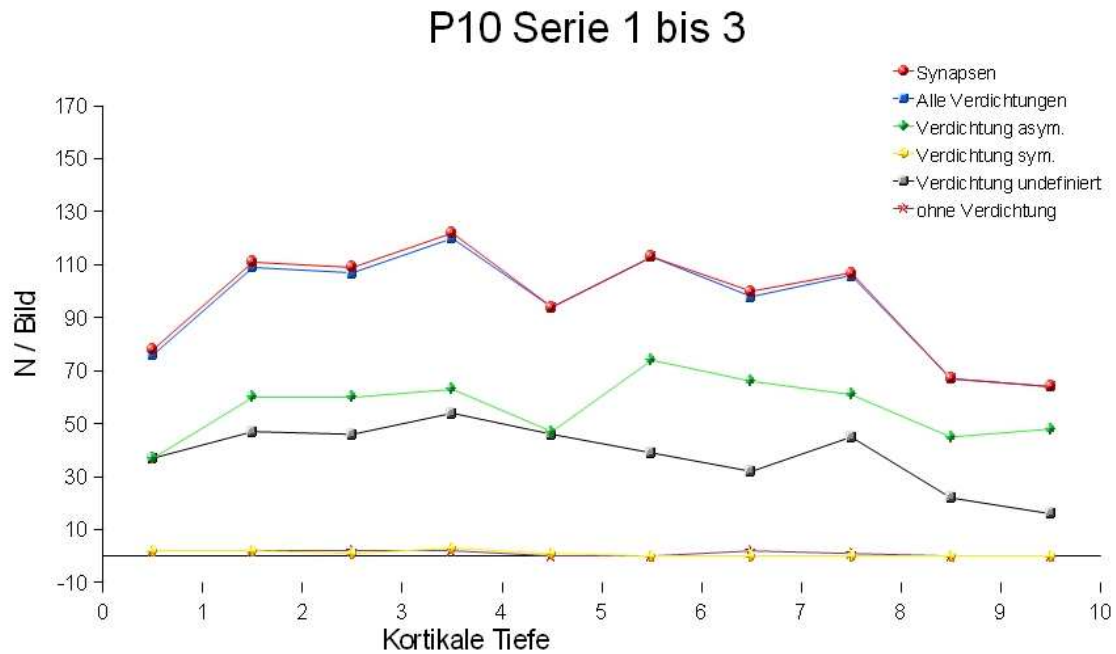
Eine deutliche Häufung der nachgewiesenen Gliabedeckungen lag am Anfang und zum anderen im mittleren Bereich der kortikalen Tiefe. Später bis zum Ende hin nahm sie für alle Glia-Ausformungen kontinuierlich ab; zweiseitige Gliabedeckungstypen am Synapenspalt konnten hier überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden.

**Tabelle 3: Einteilung der Synapsen am 10. postnatalen Tag**

Postnatal 10. Tag (Bildserie 1 bis 3)						
	Synapsen	Alle Verdichtungen	Verdichtung asym.	Verdichtung sym.	Verdichtung undefiniert	Ohne Verdichtung
	(rot)	(blau)	(grün)	(gelb)	(schwarz)	(lila)
0,5	78	76		2	37	2
1,5	111	109	60	2	47	2
2,5	109	107	60	1	46	2
3,5	122	120	63	3	54	2
4,5	94	94	47	1	46	0
5,5	113	113	74	0	39	0
6,5	100	98	66	0	32	2
7,5	107	106	61	0	45	1
8,5	67	67	45	0	22	0
9,5	64	64	48	0	16	0
<b>Summe</b>	<b>965</b>	<b>954</b>	<b>561</b>	<b>9</b>	<b>384</b>	<b>11</b>

Am **10. postnatalen Tag** wurden 965 Synapsen nachgewiesen. Dabei konnte die Art der Verdichtung bei 384 Synapsen, also knapp 40 Prozent, nicht definiert werden. Beim Rest waren mit 561 Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung deutlich dominant über nur 9 symmetrische Synapsen. Nur bei 11 Synapsen wurde keinerlei Verdichtung festgestellt.

**Abb. 8: Verteilung der verschiedenen Synapsentypen**



Die symmetrisch verdichteten Synapsen verteilen sich relativ gleichmäßig auf geringem Niveau über alle kortikalen Schichten. Auffällig ist ein Minimum in der oberen Mitte des Cortex bei 4,5 hervorgerufen durch asymmetrische Verdichtungen. Auf Grund schräg angeschnittener Synapsen konnten viele Verdichtungen nicht bestimmt werden. Diese verteilen sich am Anfang anzahlmäßig zwischen dem Mittelwert von 40, gefolgt von einem unregelmäßigem Verlauf mit einem Abfall bei 6,5 und anschließendem Anstieg bei 7,5, wobei bis zum Ende hin weiter absteigende Tendenzen zeigte.

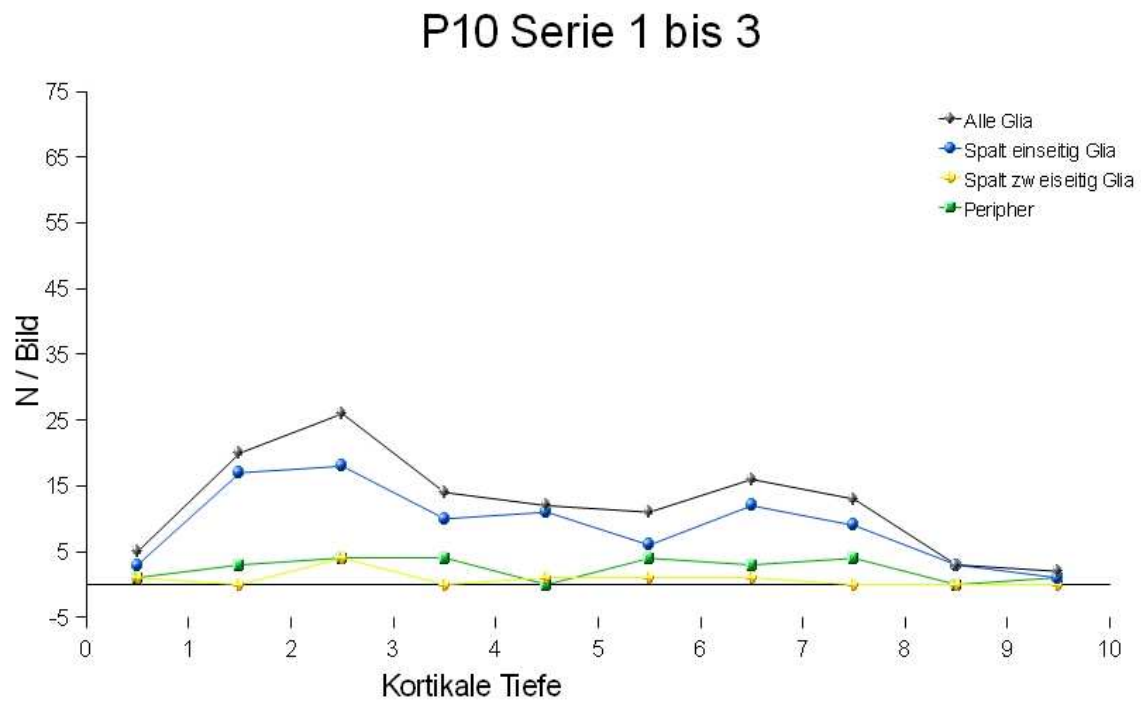


**Tabelle 4: Einteilung der Gliabedeckungstypen am 10. postnatalen Tag**

Postnatal 10. Tag (Bildserie 1 bis 3)				
	Alle Glia	Spalt einseitig Glia	Spalt zweiseitig Glia	Peripher
	(schwarz)	(blau)	(gelb)	(grün)
0,5	5	3	1	1
1,5	20	17	0	3
2,5	26	18	4	4
3,5	14	10	0	4
4,5	12	11	1	0
5,5	11	6	1	4
6,5	16	12	1	3
7,5	13	9	0	4
8,5	3	3	0	0
9,5	2	1	0	1
<b>Summe</b>	<b>122</b>	<b>90</b>	<b>8</b>	<b>24</b>

Am **10. postnatalen Tag** konnten von 965 Synapsen 98 Synapsen mit Beteiligung von Glia ausgemacht werden. Bei einer deutlichen Zunahme der Synapsen entspricht die Glia-Beteiligung etwa 10 Prozent und zeigt damit einen Rückgang um fast die Hälfte zum 5. postnatalen Tag. Dabei lag bei 90 Synapsen eine deutliche Häufung der Gliabedeckung mit einem einseitigen Spalt. Nur 8 Synapsen wiesen einen zweiseitigen Gliabedeckung auf. 24 Synapsen, also 19,67 Prozent, konnten keiner dieser beiden Gruppen zugeordnet werden, weil die Gliabedeckung nicht direkt am synaptischen Spalt, sondern in Nähe der Post- oder Präsynapse lagen.

Abb. 9: Kortikale Tiefe der perisynaptischen Glia



Eine deutliche Häufung der nachgewiesenen Glia wurde am Anfang der kortikalen Tiefe gefunden. Im weiteren Verlauf nahm sie für alle Gliabedeckungstypen, außer einem geringem Anstieg bei 6,5, kontinuierlich ab.

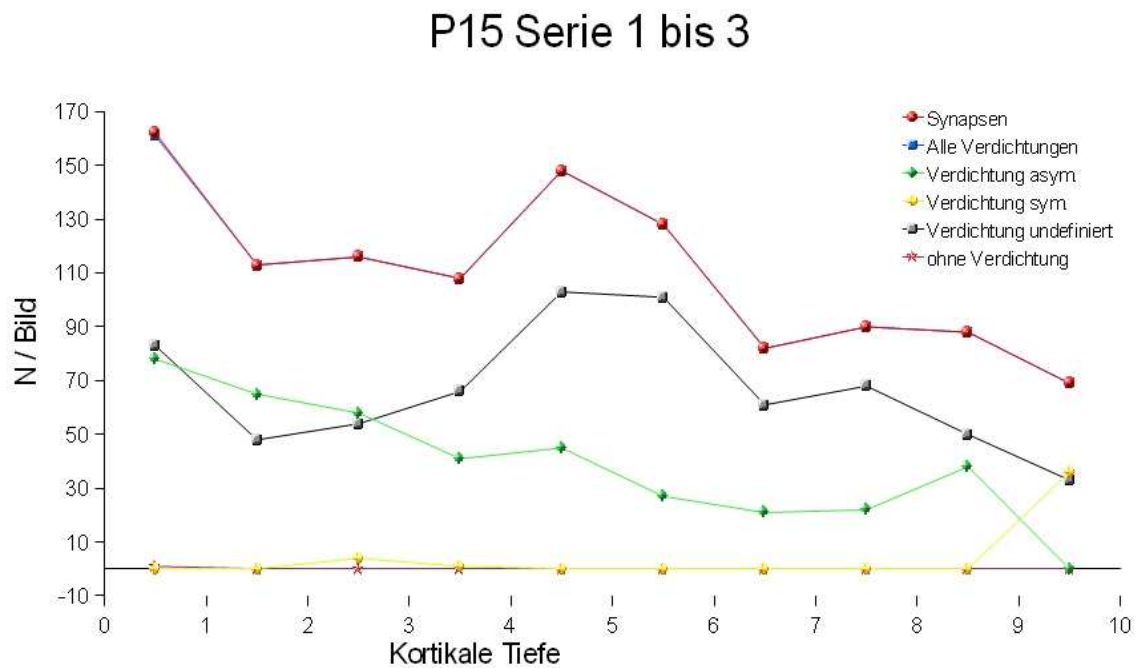
Synapsen, an denen die Glia beidseitig an einem Spalt lag, konnten ab der kortikalen Tiefe von 8,5 überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden.

**Tabelle 5: Einteilung der Synapsen am 15. postnatalen Tag**

Postnatal 15. Tag (Bildserie 1 bis 3)						
	Synapsen	Alle Verdichtungen	Verdichtung asym.	Verdichtung sym.	Verdichtung undefiniert	ohne Verdichtung
	(rot)	(blau)	(grün)	(gelb)	(schwarz)	(lila)
0,5	162	161	78	0	83	1
1,5	113	113	65	0	48	0
2,5	116	116	58	4	54	0
3,5	108	108	41	1	66	0
4,5	148	148	45	0	103	0
5,5	128	128	27	0	101	0
6,5	82	82	21	0	61	0
7,5	90	90	22	0	68	0
8,5	88	88	38	0	50	0
9,5	69	69	0	36	33	0
<b>Summe</b>	<b>1104</b>	<b>1103</b>	<b>395</b>	<b>41</b>	<b>667</b>	<b>1</b>

Am **15. postnatalen Tag** wurden 1104 Synapsen nachgewiesen. Dabei konnte die Art der Verdichtung bei 667 Synapsen, also gut 60,4 Prozent, nicht definiert werden. Beim Rest waren mit 395 Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung deutlich dominant über 41 Nachweise von symmetrisch ausgeformten Synapsen. Nur bei einer Synapse wurde keinerlei Verdichtungen gefunden.

**Abb. 10: Verteilung der verschiedenen Synapsentypen**



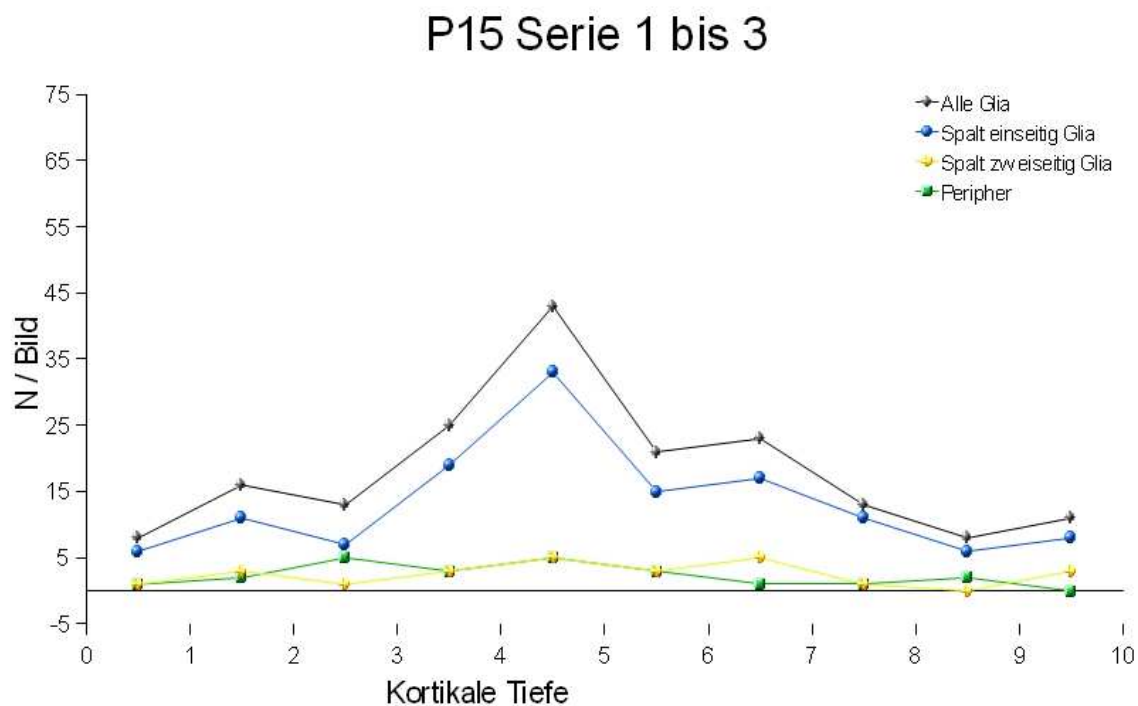
Auffällig im Vergleich zum 5. und 10. postnatalen Tag ist hier die Häufung der Synapsen in einer Tiefe von 0,5, besonders für die asymmetrischen Synapsen. Darüber hinaus kommt es zu Häufungen im Bereich von 4,5 bis 5,5. Ab 6,5 nimmt die Dichte deutlich ab. Während die asymmetrischen Synapsen ihre größte Häufigkeit im Bereich 0,5 zeigen, liegt für die Synapsen mit symmetrischer Verdichtung die größte Häufigkeit in einem plötzlichen Ansteigen von sonst durchschnittlich etwa 0,5 auf die Anzahl von 36 im Bereich 9,5.

**Tabelle 6: Einteilung der Gliabedeckungstypen am 15. postnatalen Tag**

Postnatal 15. Tag (Bildserie 1 bis 3)				
	Alle Glia	Spalt einseitig Glia	Spalt zweiseitig Glia	Peripher
	(schwarz)	(blau)	(gelb)	(grün)
0,5	8	6	1	1
1,5	16	11	3	2
2,5	13	7	1	5
3,5	25	19	3	3
4,5	43	33	5	5
5,5	21	15	3	3
6,5	23	17	5	1
7,5	13	11	1	1
8,5	8	6	0	2
9,5	11	8	3	0
<b>Summe</b>	<b>181</b>	<b>133</b>	<b>25</b>	<b>23</b>

Am **15. postnatalen Tag** konnten von 1104 Synapsen nur 158 Synapsen mit Beteiligung von Glia ausgemacht werden. Dies entspricht etwa 14,31 Prozent. Dabei lag bei 133 Synapsen eine deutliche Häufung der Gliabedeckung mit einseitig am Spalt. Nur bei 25 Synapsen wiesen eine zweiseitige Spaltbedeckung auf. 23 Synapsen, also fast 7,9 Prozent, konnten keiner dieser beiden Gruppen zugeordnet werden, weil sie nicht direkt unmittelbar am synaptischen Spalt, sondern peripher in der Umgebung des Synapsenspaltes lagen.

Abb. 11: Kortikale Tiefe der perisynaptischen Glia



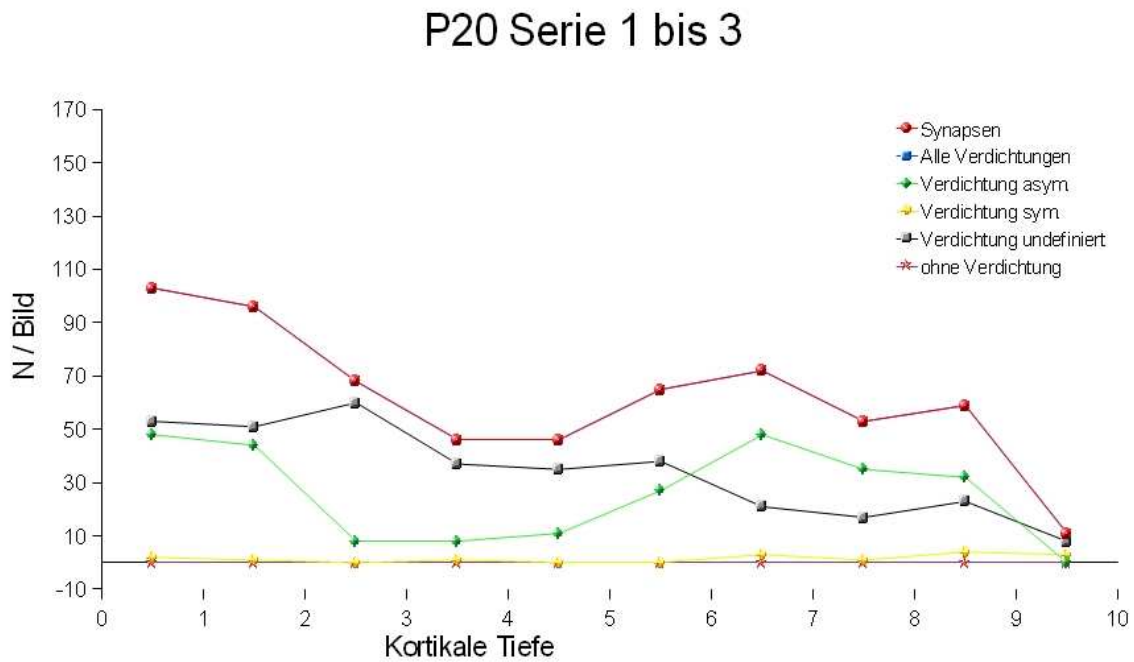
Eine deutliche Häufung der nachgewiesenen Glia lag in einer Tiefe von 4,5. Reduzierte, aber trotzdem gehäufte Werte fanden sich in einer Tiefe von 5,5 bis 6,5. In den anderen kortikalen Schichten waren Synapsen deutlich weniger von Glia bedeckt. Dabei folgte die Verteilung der Synapsen mit zweiseitiger Beteiligung von Glia der Verteilung der Synapsen mit einseitiger Beteiligung von Glia auf deutlich niedrigerem und abgeschwächtem Niveau.

**Tabelle 7: Einteilung der Synapsen am 20. postnatalen Tag**

<b>Postnatal 20. Tag (Bildserie 1 bis 3)</b>						
	<b>Synapsen</b>	<b>Alle Verdichtungen</b>	<b>Verdichtung asym.</b>	<b>Verdichtung sym.</b>	<b>Verdichtung undefiniert</b>	<b>ohne Verdichtung</b>
	<b>(rot)</b>	<b>(blau)</b>	<b>(grün)</b>	<b>(gelb)</b>	<b>(schwarz)</b>	<b>(lila)</b>
0,5	103	103	48	2	53	0
1,5	96	96	44	1	51	0
2,5	68	68	8	0	60	0
3,5	46	46	8	1	37	0
4,5	46	46	11	0	35	0
5,5	65	65	27	0	38	0
6,5	72	72	48	3	21	0
7,5	53	53	35	1	17	0
8,5	59	59	32	4	23	0
9,5	11	11	0	3	8	0
<b>Summe</b>	<b>619</b>	<b>619</b>	<b>261</b>	<b>15</b>	<b>343</b>	<b>0</b>

Am **20. postnatalen Tag** wurden 619 Synapsen nachgewiesen. Dabei konnte die Art der Verdichtung bei 343 Synapsen, also 55,41 Prozent, nicht definiert werden. Beim Rest waren mit 261 Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung deutlich dominant über nur 15 Synapsen mit symmetrischer Verdichtung. Synapsen ohne Verdichtung wurden nicht gefunden.

Abb. 12: Verteilung der verschiedenen Synapsentypen



Die Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung zeigen am 20. postnatalen Tag ihre Höhepunkte zum Anfang und zum Ende der kortikalen Tiefe. Auffällig ist hierbei die Minimierung der Synapsenzahlen im Bereich von 3,5 bis 4,5.

Die Synapsen mit symmetrischer Verdichtung bleiben im gesamten Verlauf auf geringem Niveau.

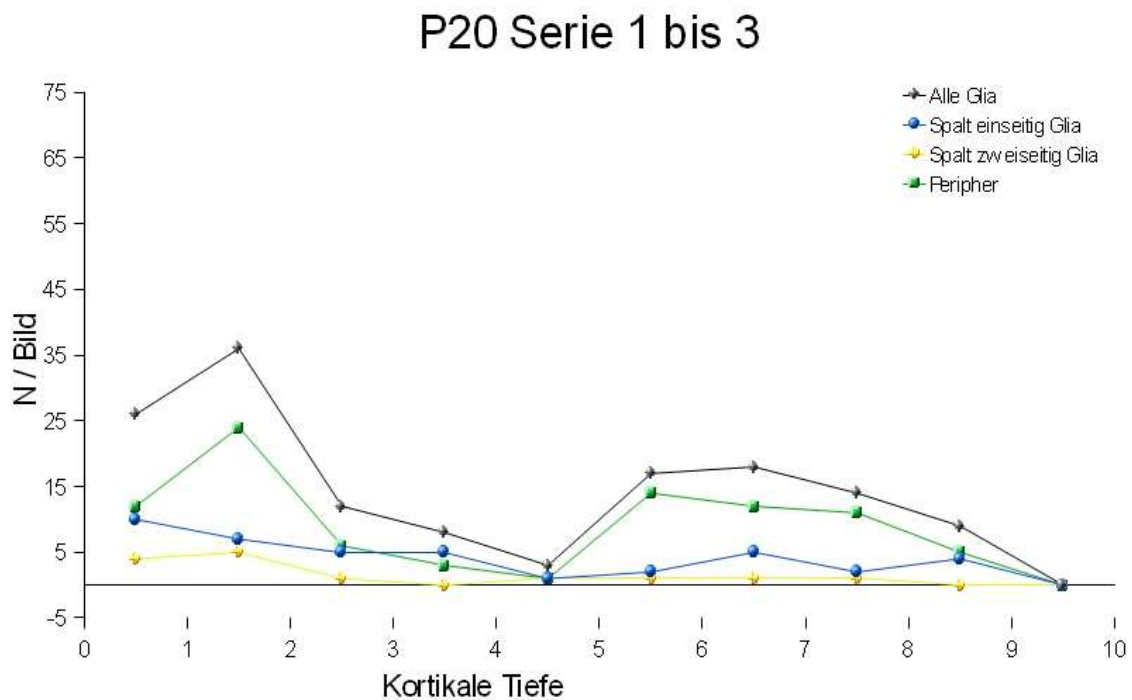


**Tabelle 8: Einteilung der Gliabedeckungstypen am 20. postnatalen Tag**

Postnatal 20. Tag (Bildserie 1 bis 3)				
	Alle Glia	Spalt einseitig Glia	Spalt zweiseitig Glia	Peripher
	(schwarz)	(blau)	(gelb)	(grün)
0,5	26	10	4	12
1,5	36	7	5	24
2,5	12	5	1	6
3,5	8	5	0	3
4,5	3	1	1	1
5,5	17	2	1	14
6,5	18	5	1	12
7,5	14	2	1	11
8,5	9	4	0	5
9,5	0	0	0	0
<b>Summe</b>	<b>143</b>	<b>41</b>	<b>14</b>	<b>88</b>

Am **20. postnatalen Tag** konnten von 619 Synapsen 55 Synapsen mit Beteiligung von Glia ausgemacht werden. Dies entspricht etwa 8,9 Prozent. Dabei lag bei 41 Synapsen eine deutliche einseitige Gliabedeckung des Spalts. Nur 14 Synapsen wiesen eine zweiseitige Gliabedeckung auf. 88 Synapsen, also etwa 61,54 Prozent, konnten keiner dieser beiden Gruppen zugeordnet werden, weil sie nicht direkt am synaptischen Spalt, sondern in Nähe der Post- oder Präsynapse lagen.

**Abb. 13: Kortikale Tiefe der perisynaptischen Glia**



Eine deutliche Häufung der nachgewiesenen Glia lag am 20. postnatalen Tag am Anfang und im Bereich von 6,5 der kortikalen Tiefe. Ab diesem Bereich nahm jedoch alle Gliabedeckungstypen kontinuierlich ab; Synapsen, an denen die Glia beidseitig an einem Spalt lag, konnten hier in diesen Bereichen überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden.

Auffällig hierbei ist der steile Abfall aller Gliabedeckungstypen ab dem Bereich 4, um sein Minimum bei 4,5 zu erreichen und im weiteren Verlauf wieder anzusteigen.

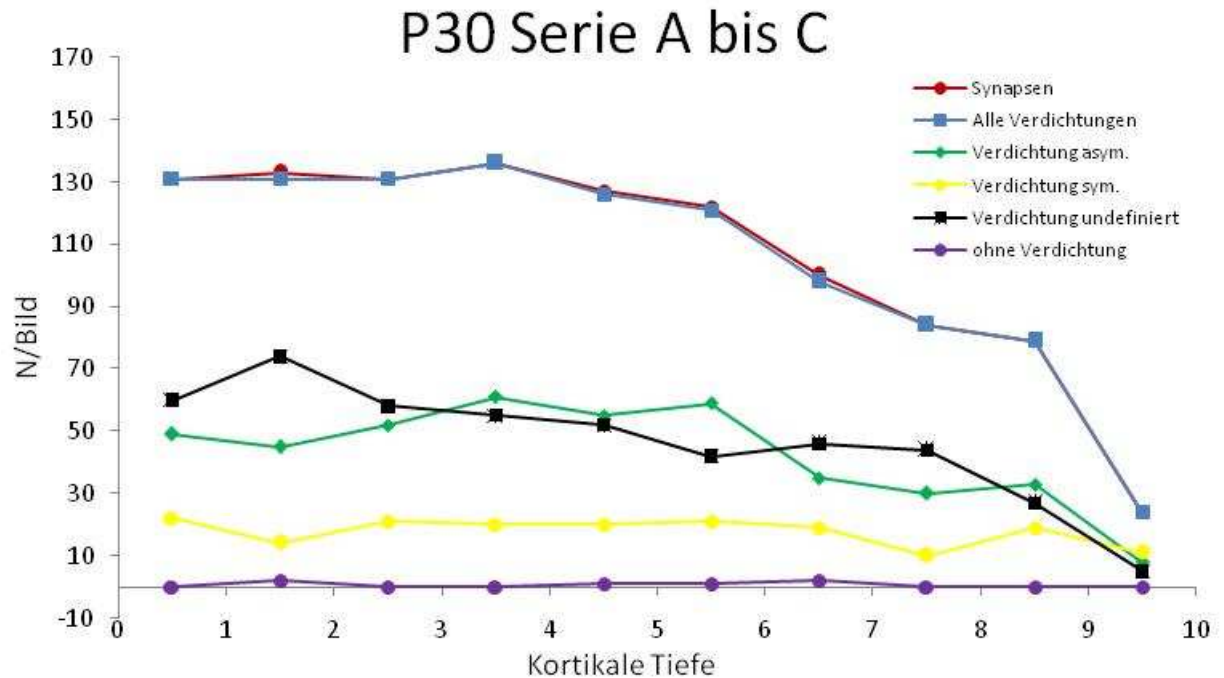
Im Vergleich zu P10 und P15 ist das Niveau von Synapsen mit einseitiger Beteiligung von Glia im Verhältnis zum Niveau von Synapsen mit zweiseitiger Beteiligung von Glia deutlich nivelliert.

**Tabelle 9: Einteilung der Synapsen am 30. postnatalen Tag**

Postnatal 30. Tag (Bildserie A bis C)						
	Synapsen	Alle Verdichtungen	Verdichtung asym.	Verdichtung sym.	Verdichtung undefiniert	ohne Verdichtung
	(rot)	(blau)	(grün)	(gelb)	(schwarz)	(lila)
0,5	131	131	49	22	60	0
1,5	133	131	45	14	74	2
2,5	131	131	52	21	58	0
3,5	136	136	61	20	55	0
4,5	127	126	55	20	52	1
5,5	122	121	59	21	42	1
6,5	100	98	35	19	46	2
7,5	84	84	30	10	44	0
8,5	79	79	33	19	27	0
9,5	24	24	8	11	5	0
<b>Summe</b>	<b>1067</b>	<b>1061</b>	<b>427</b>	<b>177</b>	<b>463</b>	<b>6</b>

Am **30. postnatalen Tag** wurden 1067 Synapsen nachgewiesen. Dabei konnte die Art der Verdichtung bei 463 Synapsen nicht definiert werden. Beim Rest waren mit 177 Synapsen mit symmetrischer Verdichtung deutlich geringer als 427 Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung. Nur sechs Synapsen wiesen keine Verdichtung auf.

Abb. 14: Verteilung der verschiedenen Synapsentypen



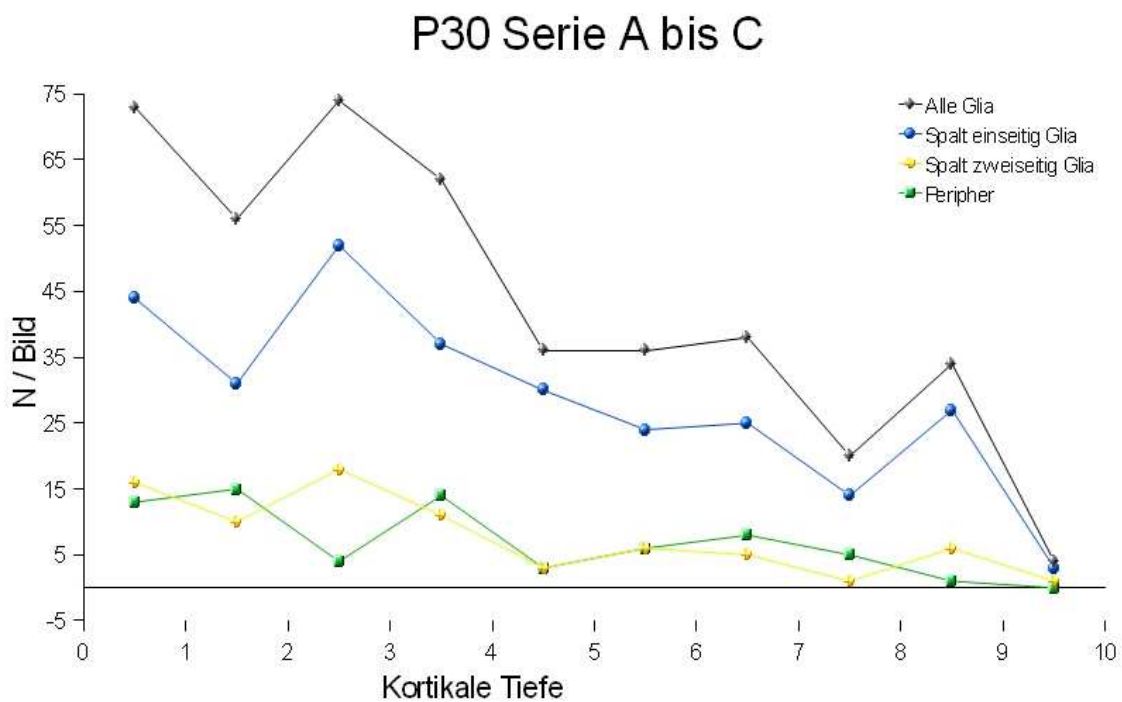
Auffällig im Vergleich zu allen vorherigen Tagen ist am 30. postnatalen Tag der plötzliche Anstieg der Anzahl von Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung, die nun die Anzahl der Synapsen mit symmetrischer Verdichtung erstmalig deutlich übersteigt. Während die Anzahl der Synapsen mit symmetrischer Verdichtung über alle Schichten mit leichten Einbrüchen relativ konstant ist, zeigen sich die Synapsen mit asymmetrischer Verdichtung auf deutlich höherem Niveau mit Höhepunkten in den mittleren Bereichen, um von dort aus kontinuierlich abzufallen.

**Tabelle 10: Einteilung der Gliabedeckungstypen am 30. postnatalen Tag**

<b>Postnatal 30. Tag (Bildserie A bis C)</b>				
	<b>Alle Glia</b>	<b>Spalt einseitig Glia</b>	<b>Spalt zweiseitig Glia</b>	<b>Peripher</b>
	<b>(schwarz)</b>	<b>(blau)</b>	<b>(gelb)</b>	<b>(grün)</b>
0,5	73	44	16	13
1,5	56	31	10	15
2,5	74	52	18	4
3,5	62	37	11	14
4,5	36	30	3	3
5,5	36	24	6	6
6,5	38	25	5	8
7,5	20	14	1	5
8,5	34	27	6	1
9,5	4	3	1	0
<b>Summe</b>	<b>433</b>	<b>287</b>	<b>77</b>	<b>69</b>

Am **30. postnatalen Tag** konnten von 1071 Synapsen 433 Synapsen mit Beteiligung von Glia ausgemacht werden. Dies entspricht etwa 40,43 Prozent. Dabei lag deutlich die Mehrheit bei Synapsen mit einseitiger Gliabedeckung. Nur bei 77 Synapsen kamen zweiseitige Gliabedeckung vor. 69 Synapsen konnten keiner dieser beiden Gruppen zugeordnet werden, weil sie nicht direkt am synaptischen Spalt, sondern in Nähe der Post- oder Präsynapse lagen.

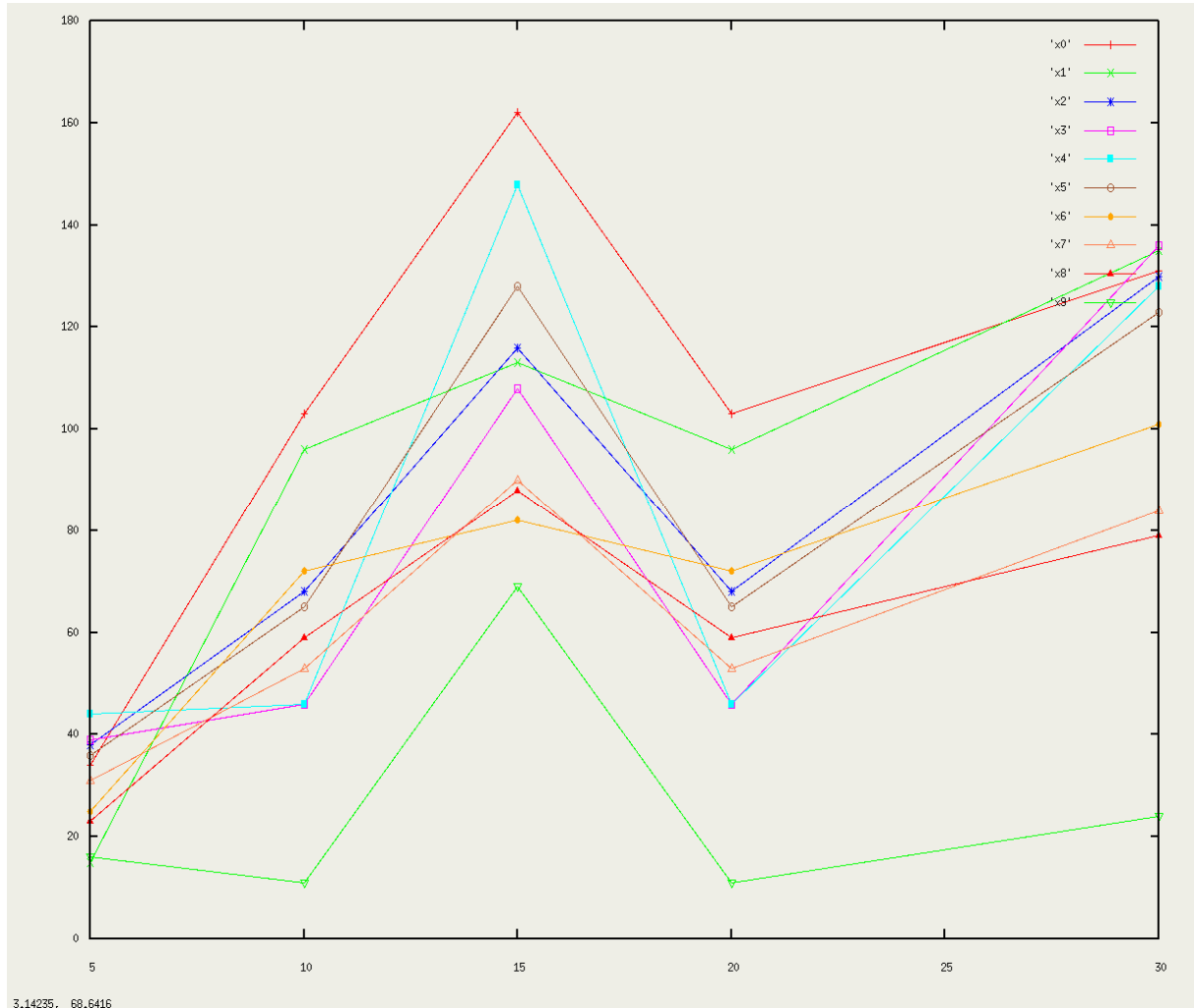
Abb. 15: Kortikale Tiefe der perisynaptischen Glia



Hier ist auffällig, dass wir zu den vorherigen Tagen eine starke Zunahme der Gliakontakte sowohl bei einseitig als auch bei zweiseitig bedeckenden Glia haben. Besonders stark ist dieser Zuwachs in den oberflächlichen kortikalen Schichten (Tag 30 Lamina I bis IV).

## 5.4. Synapsenentwicklung im Verlauf von P5 bis P30

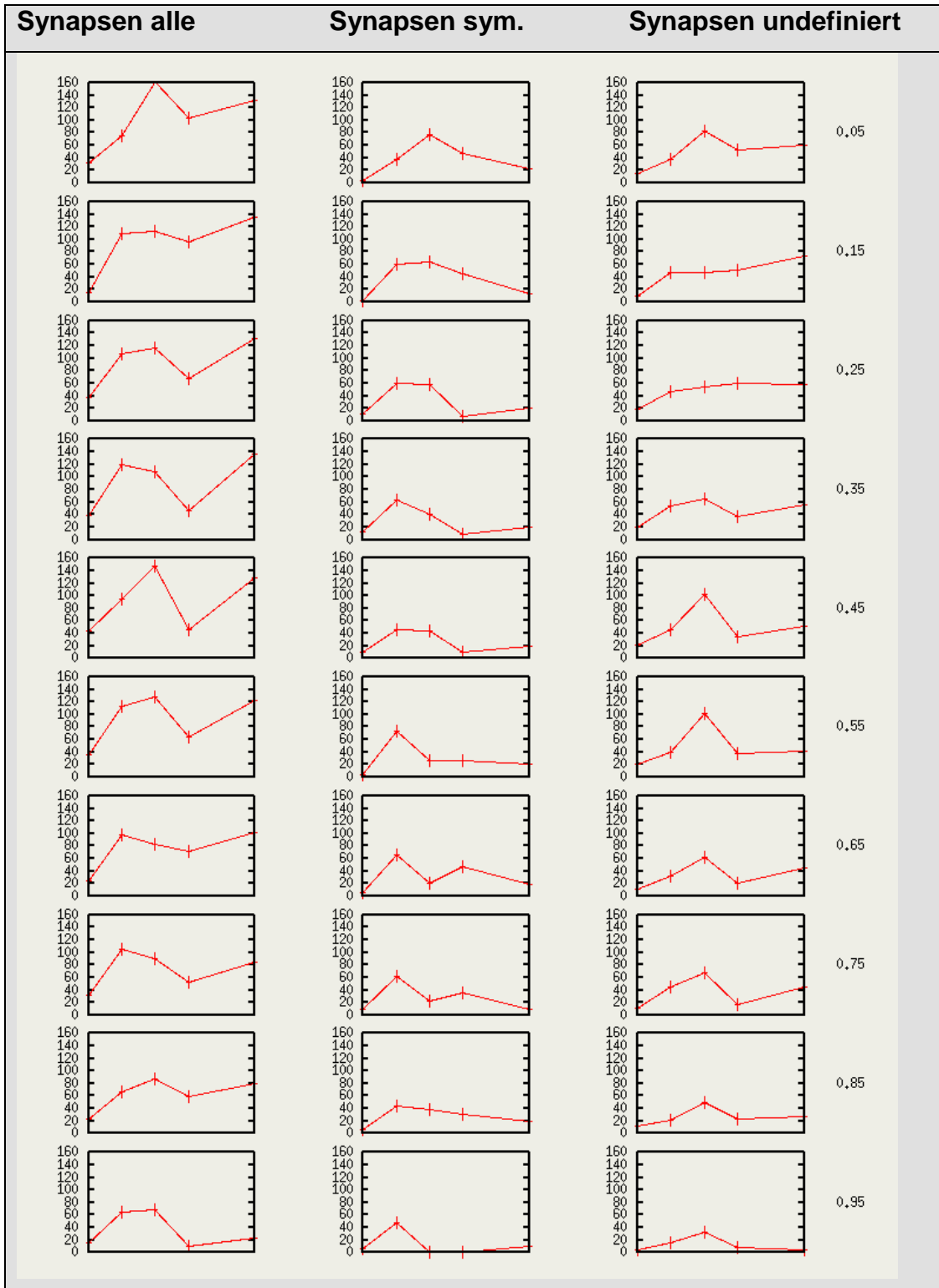
**Abb.16:** Synapsenentwicklung im Verlauf von P5 bis P30



Die verschiedenen Farben bezeichnen die verschiedenen untersuchten Schichten, die in obiger Aufstellung mit „x0“ (Messpunkt 0,5) bis x9 (Messpunkt 9,5) bezeichnet sind.

Im Prinzip zeigen diese Verteilungen, dass es in allen kortikalen Laminae einen Überschuss an Synapsendichte am postnatalen Tag15 gibt, der dann zum postnatalen Tag 20 absinkt, um anschließend am postnatalen Tag 30 adulte Werte zu erreichen.

**Abb. 17:** Verlauf der Entwicklung der drei verschiedenen Synapsentypen (mit asymmetrischer, symmetrischer oder ohne Verdichtung) über die zehn untersuchten Schichten von P5 bis P30



x-Achse: Verlauf von P5 bis P30, dargestellt durch die roten Striche in der Verlaufskurve

y-Achse: Anzahl der Synapsen

Zeilen: Schichten von 0,5 (oberste Zeile) bis 9,5 (unterste Zeile)



## **5.5. Verlauf der Entwicklung der drei verschiedenen Synapsentypen (mit asymmetrischer, symmetrischer oder ohne Verdichtung) über die zehn untersuchten Schichten von P5 bis P30**

### **Asymmetrische Synapsen**

Bei den asymmetrischen Synapsen zeigt sich vom Ausgang auf einem niedrigen Niveau an P5 ein steiler Anstieg, der seinen Höhepunkt zwischen den Tagen P10 und P15 findet, an P20 abfällt, um bis P30 noch einmal anzusteigen.

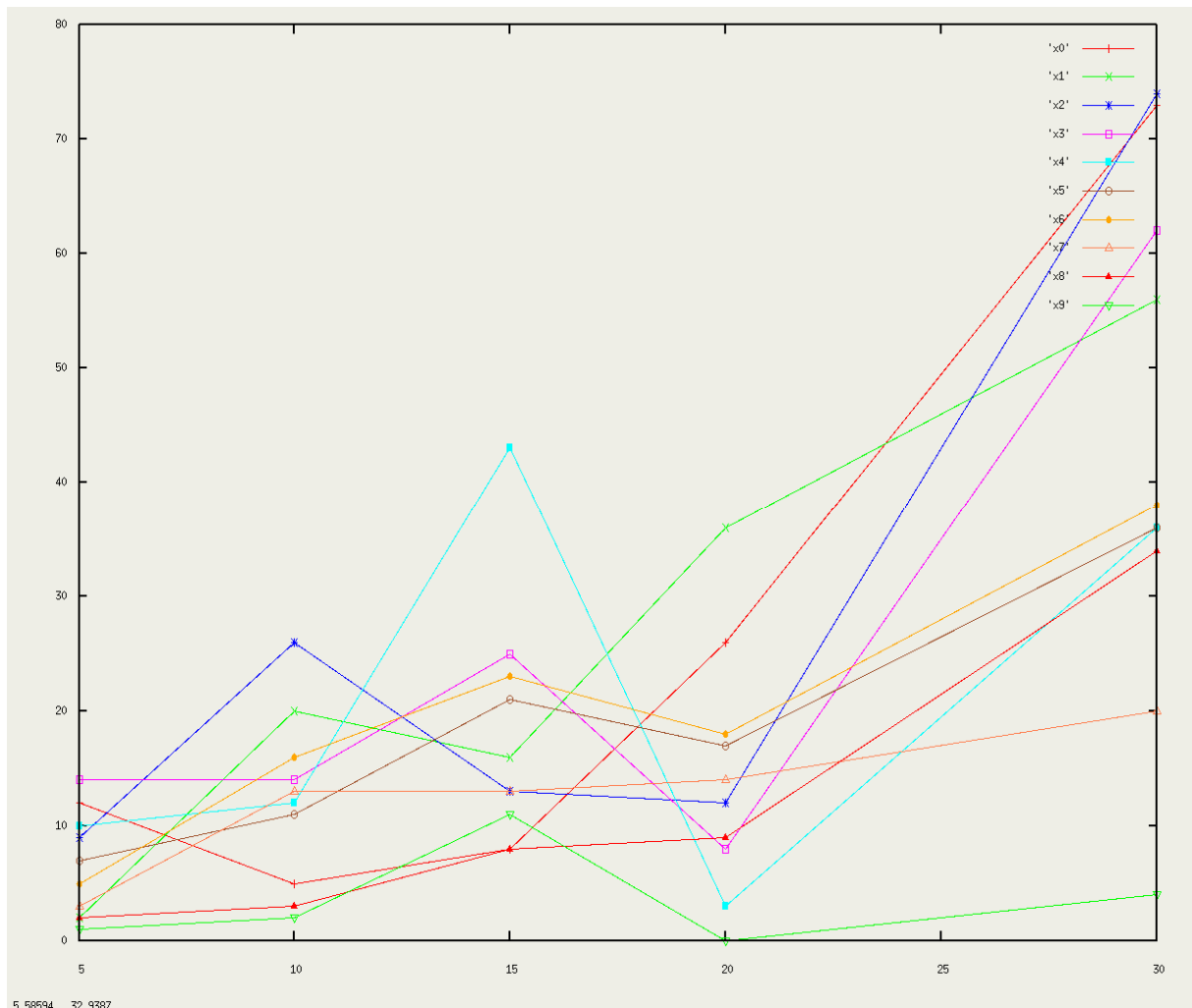
### **Symmetrische Synapsen**

Bei den symmetrischen Synapsen zeigt sich vom Ausgang auf einem niedrigen Niveau an P5 ein weniger steiler Anstieg, der seinen Höhepunkt zwischen P10 und P15 mit einer höheren Gewichtung an P10 erreicht. Auch hier erfolgt danach ein Abfall, der jedoch nicht so homogen verläuft wie bei den asymmetrischen Synapsen, sondern in manchen Schichten noch einen erneuten leichten Anstieg zwischen P20 und P30 zeigt, in anderen konstant abfällt. Insgesamt liegt das durchschnittliche Niveau niedriger als bei den asymmetrischen Synapsen.

### **Synapsen ohne Verdichtung**

Bei den Synapsen ohne Verdichtung zeigt sich vom Ausgang auf einem niedrigen Niveau an P5 ein Anstieg, der seinen Höhepunkt am Tag P15 findet, um mit der Ausnahme der Schichten 1,5 und 2,5 bis zu P20 deutlich abzufallen. Von P20 bis P30 findet wieder ein leichter Anstieg statt.

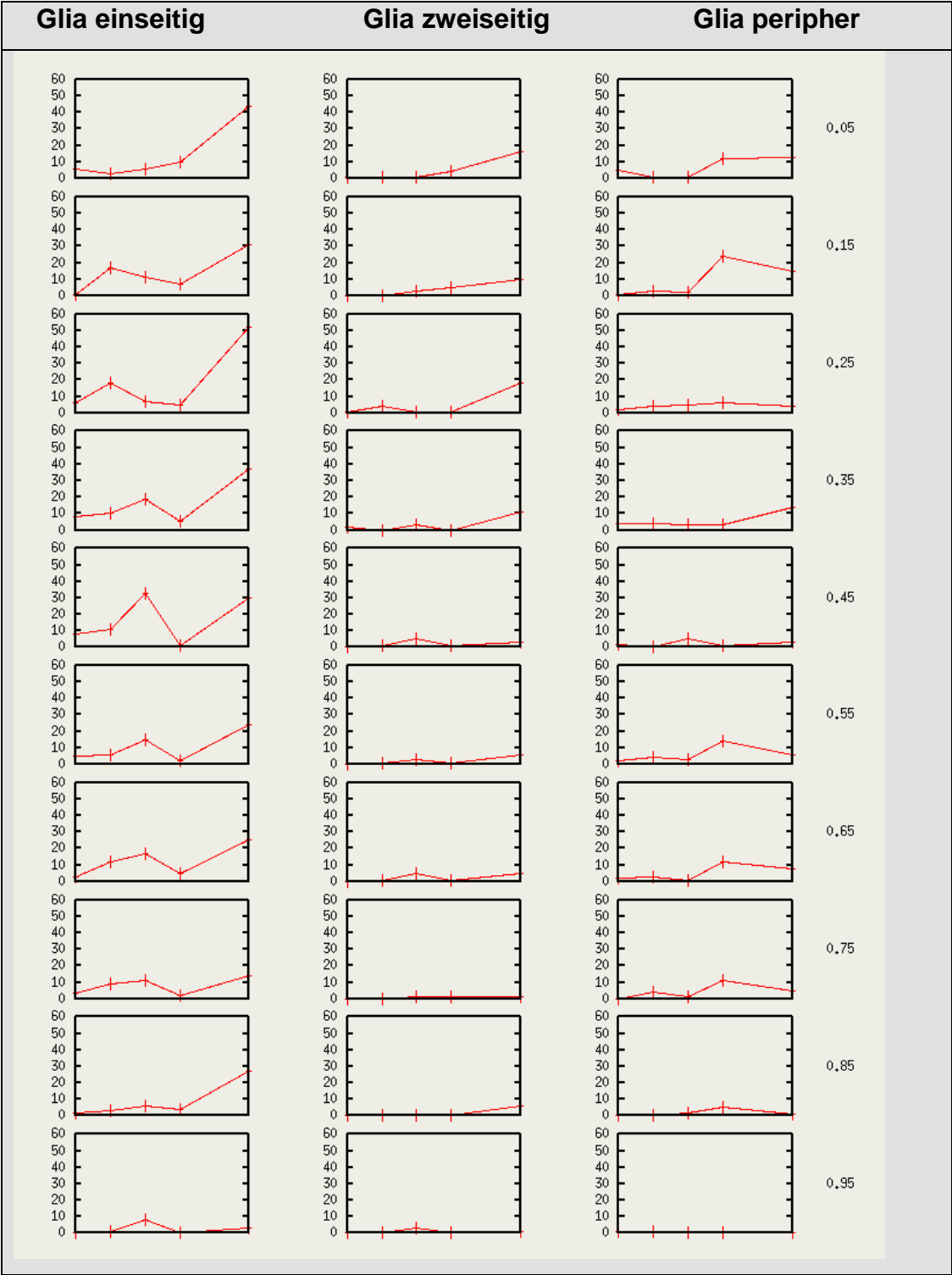
**Abb. 18: Gliabedeckungstypen im Verlauf von P5 bis P30**



Die verschiedenen Farben bezeichnen die verschiedenen untersuchten Schichten, die in obiger Aufstellung mit „x0“ (Messpunkt 0,5) bis x9 (Messpunkt 9,5) bezeichnet sind.

In der Summe zeigt sich gleichbleibendes Niveau bis P20, danach ein steiler Anstieg auf adulte Werte. Im Detail jedoch zeigen alle Laminae ein zu unterschiedlichen Zeitpunkten lokalisiertes frühes Maximum und eine anschließende Abnahme der Gliabedeckung, bevor der Anstieg auf adulte Werte einsetzt.

**Abb. 19:** Verlauf der Entwicklung der verschiedenen Gliabedeckungstypen (Spalt einseitig, zweiseitig, peripher) über die zehn untersuchten Schichten von P5 bis P30



x-Achse: Verlauf von P5 bis P30, dargestellt durch die roten Striche in der Verlaufskurve

y-Achse: Anzahl der Gliabedeckungstypen

Zeilen: Schichten von 0,5 (oberste Zeile) bis 9,5 (unterste Zeile)

## **5.6. Verlauf der Entwicklung der verschiedenen Gliatypen (Spalt einseitig, zweiseitig, peripher) über die zehn untersuchten Schichten von P5 bis P30**

### **Glia einseitig am Spalt**

Für alle untersuchten Schichten zeigt sich bei der Gliabeteiligung am einseitigen Spalt ein deutlicher Anstieg von P20 bis 30. Zwischen den Messpunkten 1,5 und 2,5 liegt der Höhepunkt an P10, um bis P20 abzufallen und danach auf das in allen Schichten nachweisbare hohe Niveau von P30 anzusteigen. An den Messpunkten 3,5 bis 9,5 befindet sich der Höhepunkt an P15, um dann ebenfalls bis P20 abzufallen und bis P30 wieder anzusteigen.

### **Glia zweiseitig am Spalt**

Insgesamt befindet sich die Anzahl der Gliabedeckungstypen hier auf deutlich niedrigerem Niveau als bei der einseitig am synaptischen Spalt liegenden Glia. Für die meisten der untersuchten Schichten zeigt sich bei der zweiseitigen Bedeckung von Glia am synaptischen Spalt ein leichter Anstieg von P20 bis 30.

Insgesamt sind die Zahlen von beidseitig von Glia bedeckten synaptischen Spalten zu gering, um feine Unterschiede machen zu können.

### **Periphere Glia**

Für Glia, die nicht direkt an den synaptischen Spalt angrenzt, sondern sich in seiner unmittelbarer Nähe befindet, liegt der quantitative Höhepunkt in den meisten Schichten an P20. Ausnahmen bilden hier die Schicht 3,5, bei der die Anzahl der Gliabedeckungstypen von P5 bis P20 auf einem Niveau bleibt, um bis P30 anzusteigen, und Schicht 4,5, bei der ein kleiner Höhepunkt an P15 liegt und der Anstieg von P20 bis P30 wenig signifikant ist.

## 5.7. Verlauf der Entwicklung des Verhältnisses von Synapsen zu Glia über die untersuchten Schichten von P5 bis P30

Vergleicht man den Verlauf der Entwicklung aller Synapsen mit dem Verlauf der Entwicklung aller Glia-Typen, sieht man eine deutliche Parallel-Entwicklung: Haben die Synapsen ihren quantitativen Höhepunkt an P15, wie in den Schichten 3,5 bis 9,5, so hat auch die quantitative Anzahl der Glia hier ihren Höhepunkt – mit den beiden Ausnahmen von Schicht 7,5 und 8,5. Sowohl bei den Synapsen als auch bei der Glia nimmt die Anzahl an P30 deutlich zu. Nahe liegt außerdem die Annahme einer Parallel-Entwicklung der Schichten 3,5 bis 6,5, die von der Entwicklung der Schichten 0,5 bis 1,5 einerseits und 7,5 bis 9,5 andererseits abweicht.

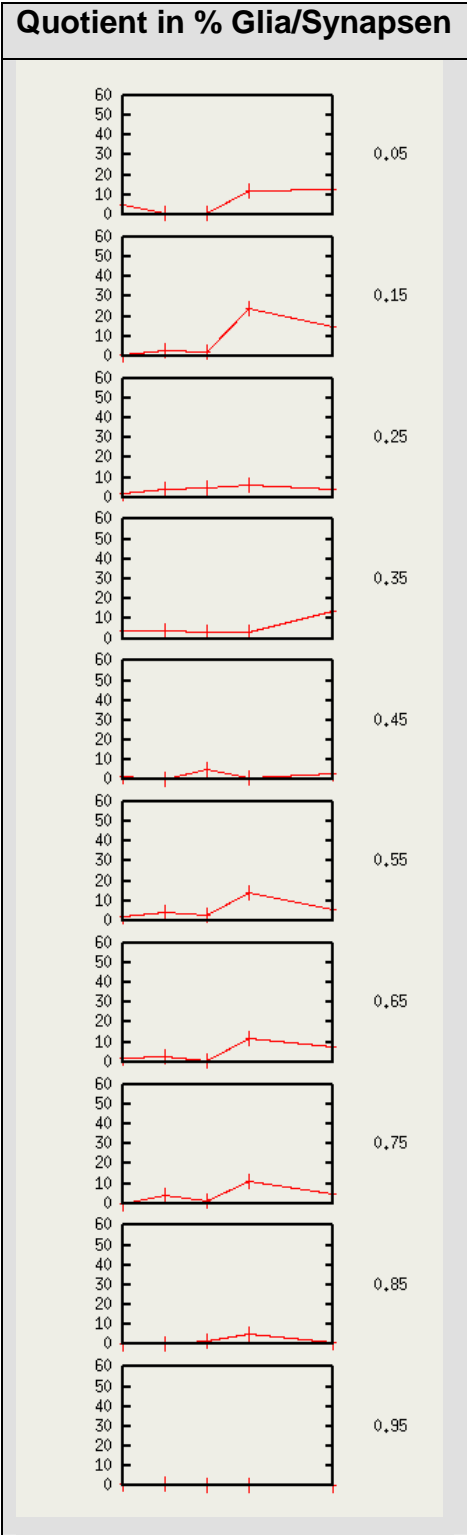
Die Aufschlüsselungen der Synapsen-Typen und der Glia-Typen im Vergleich lieferte eine Fülle von Einzeldaten. Bei diesen lässt sich die Parallel-Entwicklung, wie sie für die Gesamtzahl von Synapsen und Glia nachweisbar ist, bis auf wenige Ausnahmen nicht mehr deutlich nachweisen:

Übereinstimmungen zwischen **asymmetrischen Synapsen** und einseitiger Glia lassen sich in den Schichten 4,5 und 5,5 erkennen, während sich im Vergleich mit der zweiseitigen Glia oder der peripher am Spalt liegenden Glia bei den asymmetrischen Synapsen keine Parallelen feststellen lassen.

Ein Zusammenhang zwischen der Entwicklung der **symmetrischen Synapsen** und den drei untersuchten Gliabedeckungstypen ist bei keinem der drei Gliatypen erkennbar.

Bei den **Synapsen ohne Verdichtung** ergibt sich die Annahme einer Parallel-Entwicklung zu einseitig am Spalt liegender Glia in den Schichten 3,5 bis 9,5. Eine ähnliche Parallel-Entwicklung zeigt sich zwischen den Synapsen ohne Verdichtung und zweiseitig am Spalt liegender Glia durchgehend von Schicht 1,5 bis 9,5. Im Vergleich zwischen Synapsen ohne Verdichtung und peripher am Spalt liegender Glia zeigt sich bis auf die Entwicklung in Schicht 4,5 keine signifikante Übereinstimmung.

**Abb.20:** Verlauf der Entwicklung des Verhältnisses von Synapsen zu Glia über die untersuchten Schichten von P5 bis P30



x-Achse:Verlauf von P5 bis P30,dargestellt durch die roten Striche in der Verlaufskurve

y-Achse: Anzahl von Glia bzw. Synapsen.

Zeilen: Schichten von 0,5 (oberste Zeile) bis 9,5 (unterste Zeile)Der Quotient von Glia durch Synapsen wurde berechnet als alle Gliabedeckungstypen durch alleSynapsen x 100.

## **6. Diskussion**

### **6.1. Eigene Methoden**

Die Entwicklung von Synapsen zusammen mit ihrer Bedeckung mit astroglösen Zellfortsätzen insgesamt konnte gezeigt werden, dass im somatosensorischen Cortex der Maus die Synapsenzahl bis zum P15 einen steilen Anstieg verzeichnet, bis zum P20 wieder zurückgeht um dann am P30 annähernd adulte Werte zu erreichen.

Als Ausgangsthese unserer Studie hatten wir angenommen, dass die Astrogliakontakte am Anfang der Synaptogenese sehr hoch sind, da ihre Aufgabe wahrscheinlich darin bestehen würde, die Synaptogenese zu stimulieren, da Pfrieger 2002 zeigte, dass von Glia freigesetztes Cholesterin über Apo E die Synaptogenese beschleunigt. Die vorliegenden Daten konnten diese Annahme nicht bestätigen. Dagegen zeigten unsere Ergebnisse, dass am postnatalen Tag 15 die Astrogliakontakte ungefähr bei Lamina IV und V hoch und in einer anderen Region wie bei Tag 20 zahlenmäßig sehr gering sind. Dabei war nur der primäre somatosensorische Cortex untersucht worden, um vergleichbare Zahlen zu erhalten. Dies wurde erreicht, indem die zytoarchitektonischen Charakteristika mit durch Richardson`s Stain gefärbten Semidünnschnitten überprüft wurden.

In der vorliegende Arbeit wurden Synapsen- und Gliaentwicklung auch nach den unterschiedlichen kortikalen Schichten differenziert. Hierbei ergab sich die Schwierigkeit, dass im somatosensorischen Cortex die Laminae zu unterschiedlichen Zeitpunkten an Dicke zunehmen.

Um nachvollziehbare Ergebnisse zu erhalten, wurde deshalb die Einteilung nach kortikaler Tiefe in 10 äquidistanten Schichten vorgenommen. Nach dem postnatalen Tag 15 kam es zu keinen relevanten Veränderungen der relativen Dicke der einzelnen Schichten mehr. Daher kann davon ausgegangen werden, dass ab dem postnatalen Tag 15 die Lamina 4 den hier dargestellten Schichten 2,7 bis 4,4 entspricht.

### **6.1.1 Ermittelte Synapsenzahlen und Vergleichbarkeit mit anderer Literatur**

Unsere Studie zeigte einen Overshoot am Tag 15 mit der Folge einer Tiefenregulation am Tag 20. Auch konnte die Studie die Zahlen der Synapsenneubildung, wie sie bereits de Lima et al. (2004) berichteten, bestätigen. Die Zahlen, bezogen auf die gleiche Fläche, gleichen sich nahezu. Im Vergleich heißt es, wobei die Ergebnisse aus unserer Studie zuerst genannt werden: Tag 5: 301 Synapsen und 65 Glia (Tag 5: kleiner als 300 Synapsen); Tag10: ca. 965 Synapsen und 122 Glia (Tag10: ca. 1000 Synapsen); Tag 15: ca. 1104 Synapsen und 181 Glia (Tag 15: ca. 1100 Synapsen); Tag 20: 619 Synapsen und 143 Glia (Tag 20: weniger als 700 Synapsen); Tag 30: 1071 Synapsen und 433 Glia (Tag 30: mehr als 700 Synapsen). Die einzige Differenz in diesem Vergleich besteht am Tag 5, da in unserer Studie 301 Synapsen ausgezählt wurden im Vergleich zu weniger als 300. Diese Differenz ist aber nicht signifikant.

Für die Lamina IV widersprechen unsere Ergebnisse zum Teil der bisherigen Forschung. Woolsey und van der Loos (1970) sprechen von einer hohen synaptischen Dichte in den Barrels von Lamina IV. Dies konnte in vorliegender Untersuchung nicht bestätigt werden; die Anzahl der gefundenen Synapsen ist nicht signifikant höher als die der benachbarten Schichten. Unsere Werte entsprechen eher denen von Braitenberg und Schüz (1991) ermittelten.

### **6.1.2. Überschussbildung und Umbau von Synapsen**

Seit einigen Jahren haben Untersuchungen das Phänomen bestätigt, dass Synapsen während der postnatalen Entwicklung von Säugetieren, innerhalb von Tagen und Wochen mehrmals auf- und abgebaut werden. Die Bildung der Synapsen ist wahrscheinlich ein zeitlicher wie lokaler Prozess, der durch vor- und nachsynaptischen Kontakt mit Neuronen entsteht. Wolff et al. (1995) haben bereits darauf hingewiesen, dass mögliche Konsequenzen des Synapsen-Auf- und -Abbaus eine zentrale Rolle für die adaptiven Funktionen des Gehirns einnehmen, besonders in den Charakteristiken der schnellen Anpassung während des Lernens. Der Abbau der Synapsen tritt wahrscheinlich eher am Ende der Synaptogenese auf, und dient dazu die neuronalen Schnittstellen an die Funktionen des erwachsenen neuronalen



Systems anzugleichen (Missler et al. 1993). Studien konnten zeigen, dass es in der Dynamik der Synapsenbildung zu Phasen des Overshoots, gefolgt von Phasen der Elimination kommt. In einer früheren Untersuchung konnten Bähr und Wolff (1985) bereits zeigen, dass die Synapsenbildung im visuellen Cortex der Ratte von P5 bis P17 rapide zunahm, so dass es zu einem Overshoot kam, dem eine leichte Rückbildung der Synapsen zwischen P17 und P20 folgte. Danach kam es zu einer erneuten starken Ausbildung der Synapsen, wiederum gefolgt von einer Eliminierung, die bis auf 1%, bezogen auf das sie umgebende Gewebe, zurückging.

Die in unserer Studie beobachtete Veränderung am Tag 20 mit deutlichem Abfall der Synapsendichte ist wahrscheinlich durch die Regulationsprozesse der Synapsen zu erklären: Während der Reifung der Synapsen und während des Overshoots kann man auf Grund des Lysosomengehaltes in Synapsen, die als Marker dienen, die Entwicklung und Reifung der Synapsen abschätzen. So kann als ein Ergebnis gelten, dass jede Synapse im Kortex fünf Mal auf und abgebaut wird. Hier wird ein Massenphänomen sichtbar, das im generellen Auf- und Abbau von Synapsen abhängig zur Lage und zum Zeitpunkt der Entwicklung des Gehirns besteht.

Während in der vorliegenden Arbeit das somatosensorische Zentrum der Maus Gegenstand der Untersuchung ist, forschten Missler et al. (1993) über das visuelle Zentrum (Brodmann Areal 17) des Weißbüschelaffen *Callithrix jacchus* an unterschiedlichen pränatalen und postnatalen Tagen und Monaten.

In der vorliegenden Untersuchung wird die neugeborene Maus an den postnatalen Tagen 5, 10, 15, 20 und 30 untersucht. So unterscheiden sich die beiden Studien sowohl durch die Auswahl der Versuchstiere als auch durch die unterschiedlichen Zeitpunkte. Hierdurch alleine stellt sich die Frage nach der Vergleichbarkeit der Daten. Bekannt ist, dass ähnliche Phänomene in der Hirnentwicklung bei verschiedenen Säugetieren und sogar Nicht-Säugetiere auftreten, durch die Arbeiten von Zilles (1987) über das Spitzhörnchen (*Tupaia belangeri*), von Heumann et al. (1977, 1978) für den Neocortex der Maus, Vrensens et al. (1977) für Hasen, oder Bähr und Wolff (1985) für die Ratte. Dennoch stellt sich die Frage, welche postnatalen Entwicklungstage bei Maus und Weißbüschelaffe gleichgesetzt werden können. Rakic et al. (1986) zeigten aber, dass die Synaptogenese in verschiedenen neokortikalen Arealen sehr ähnlich verläuft.

Nach Missler et al. (1993) wird der Weißbüschelaffe nach 140 bis 145 Tagen Schwangerschaft behaart, sehend und hörend geboren. Die Maus hingegen ist bei der Geburt nach einer Tragezeit von 21 bis 23 Tagen zunächst nackt, blind und taub. Der Krallenaffe wird nach etwa zwei Monaten entwöhnt und ist mit 14 bis 18 Monaten geschlechtsreif. Die Maus stellt zwischen dem elften bis 14. Tag von der Muttermilch auf feste Kost um. Im Alter von etwa 25 bis 46 Tagen werden die Mäusejungen geschlechtsreif, Weibchen früher als Männchen. Die Augen öffnen sich bei der Maus erst zwischen dem zwölften und 14. Tag, und das Hörvermögen ist durch die synchrone morphogenetische, neuronale und zelluläre Differenzierung des Cortischen Organs auch erst um den 12. postnatalen Tag voll vorhanden.

Missler et al. (1993) stellten beim Weißbüschelaffen ein deutliches Maximum von Synapsendichte nach drei Monaten fest. Hier hat die kortikale Dicke ihre größte Ausdehnung, an der besonders die Schichten II und IVc beteiligt sind. Vom ersten bis dritten Monat stellen die Autoren ein tangenciales Wachstum fest, dass nach dem Höhepunkt vom vierten bis neunten Monat wieder zurückgeht.

Im Hinblick auf die postnatale Entwicklung der Maus lässt sich feststellen, dass bei jungen Mäusen erst etwa zwischen dem 10 bis 15. postnatalen Tag die auditiven und visuellen Organe ihre Funktion voll aufnehmen. Das somatosensorische System jedoch funktioniert von Geburt an. Asaf Keller (2002) etwa hat für Synapsen an Dendriten bei Nagetieren nachgewiesen, dass deren Anzahl je nach Gebrauch schwankt. Seine Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass Synapsen, besonders diejenigen mit dendritischen Fortsätzen kontinuierlich geformt und entfernt werden in Abhängigkeit zu den Veränderungen in neuronalen Aktivitätsmustern.

Die hier gezeigte Dynamik der Synapsenentwicklung mit Überschussproduktion und später Angleichung an adulten Werten gilt auch für andere Spezies z.B. Hasen, Affen oder Spitzhörnchen und andere funktionelle Systeme, die dann aber einen unterschiedlichen Zeitverlauf haben.

Missler et al. untersuchten bei Affen (marmoset monkeys) die Synaptogenese in Area 17 (Il/1993) und kamen zu folgenden Ergebnissen: Nur in der letzten Phase der Synapsenentwicklung wird die Elimination der Synapsen in einigen Gehirnregionen sichtbar. Sie schlussfolgern, dass insgesamt drei von vier Synapsen zwischen den

ersten drei postnatalen Monaten und dem erwachsenem Stadium umgebaut werden. Wahrscheinlich ist aber die Anzahl der Synapsen, die eliminiert werden weit höher, wenn der wachstumsbedingte Auf- und Abbau von Synapsen noch hinzugerechnet wird. Die Häufigkeit von Lysosomen ist in Vorstufen der Synapsen am höchsten bevor eine starke Elimination erfolgt.

Bereits 1991 untersuchte eine Forschergruppe um Teuchert (Teuchert-Nodt et al. 1991) den Lysosomgehalt im Gehirn von Enten Embryonen. Sie fanden heraus, dass in verschiedenen Bereichen der Lysosomengehalt sehr hoch war, was einen Einblick in den Abbau und die Degeneration von Synapsen während kurzer Perioden der Synaptogenese erlaubte. In sensorisch-motorischen Signalwegen wurde sowohl der zeitliche wie örtliche Wechsel im Lysosomengehalt in zurückgebildeten Synapsen während des ganzen Entwicklungsprozesses beobachtet. Der Lysosomengehalt konnte signifikant in präparierten Embryos nachgewiesen werden. Hier wurde eine Bewegung des hohen Lysosomengehalt von den sensorischen Feldern der vorderen Gehirnhälfte hin zu den limbischen Regionen und schließlich in Teilen des motorischen Feldes sichtbar. Nach 4-6 Wochen konnte kein hoher Lysosomengehalt mehr nachgewiesen werden. Die Schlussfolgerung lautete, dass Lysosomen nur in ausgewählten transienten Synapsen angereichert wurde. So kann die Hypothese aufgestellt werden, dass das Lysosomphänomen hinsichtlich der irreversiblen Eliminierung und Veränderung der Synapsen ein wichtiger Faktor während der Synaptogenese darstellt, der zur Anpassung im Prozess an das somatosensorischen System dient. Diese Ergebnisse sind besonders wertvoll innerhalb der Diskussion um die Entwicklung der Gehirnfunktionen hinsichtlich der Adaption der Verhaltensmuster. Neuere Untersuchungen (Kanju et al. 2007) bestätigen die Ergebnisse, indem sie nachweisen konnten, dass eine Dysfunktion des Lysosommechanismus zur Funktionsstörung von Rezeptoren führt, die wiederum der Elimination von Synapsen vorhergeht.

Die Frage, welche Mechanismen die Elimination von Synapsen initiieren, ist erst in Ansätzen beantwortet. Dies scheint ein notwendiger Vorgang zu sein, um Synapsenbildung anzuregen aber auch um fehlerhafte synaptische Verbindungen auszuschneiden. Einzelne Forschergruppen untersuchen verschiedene Botenstoffe wie die Proteine C1 und C3. Eine Studie (Stevens et al. 2007) konnte zeigen, dass C1q

als initiierendes Protein von postnatalen Neuronen ausgeschüttet wird, in Reaktion auf nicht entwickelte Astrozyten und dass es nahe an Synapsen gefunden wurde. Mäuse, denen das C1q oder das C3 Protein fehlte, zeigten große Defekte in der ZNS Synapsen Elimination.

Unsere Resultate zeigen, dass zum Zeitpunkt des Synapsenüberschusses die Synapsen von Glia bedeckt sind. Infolgedessen können astroglöse Zellen bei der Elimination von Synapsen eine Rolle spielen. In dieser Hinsicht ist auffallend, dass unsere Daten von P15 in der Tiefe Lamina IV ein örtliches Maximum an Synapsen und Gliabedeckung zeigen. Dagegen finden wir am P20 in der Tiefe Lamina IV ein örtliches Minimum der Synapsendichte.

### **6.1.3. Neuroglöse Wechselwirkung an stabilen Synapsen**

In der Vergangenheit wurden die Transporter als ein wichtiger aber als nahezu passiver, einfacher Faktor angesehen. Die Aufgabe der Transporter besteht darin, Transmitter aus dem extrazellulären Raum zu entfernen. Die Ergebnisse von Danbolt (2001) haben gezeigt, dass diese Transporter eine aktive Rolle in der synaptischen Transmission übernehmen. Das zentrale Nervensystem produziert eine Reihe von verschiedenen Neurotransmitter Transportern, wobei alle Transporter für Neurotransmitter als Ko-Transporter fungieren, da die sowohl den Transport von Substrat als auch von Ionen katalysieren, die den Transport begleiten. Die Transporter sind ebenso wie die Neurotransmitter in zwei Hauptgruppen aufgeteilt. Bei den Neurotransmittern umfasst die erste Gruppe einfache Aminosäuren wie das erregend (exzitatorisch) wirkende Glutamat und die beiden hemmend (inhibitorisch) wirkenden Neurotransmitter GABA und Glyzin. Vertreter dieser Gruppe sind für eine rasche Erregungsbildung zuständig und kommen im Mikromol Bereich im Gehirn vor. Sie sind die am weitesten verbreiteten Neurotransmitter. Die entsprechenden Transporter sind an die  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Weitergabe gebunden.

Beim heutigen Stand der Forschung gilt es als gesichert, dass die Astroglia Glutamat während der synaptischen Transmission aufnimmt. Der Mechanismus erscheint als eine Barriere gegen eine Glutamat-Überstimulation zu wirken, die Epilepsie und

Exzitotoxizität verhindern kann. Die Tatsache, dass synaptisches Glutamat von Astrozyten aufgenommen wird, durch einen Prozess, der Veränderungen im Membran-Potential bewirkt, hier sind die  $CA^+$  - und pH-Mechanismen gemeint, lässt vermuten, dass Glutamat-Transporter Informationen für exzitatorische Übermittlungswege übersetzen können, die aktive Signale in Gliazellen aussenden. Die Reaktion der Gliazellen enthüllt nicht nur die Neuron-Glia-Interaktion, sondern bringt auch neue Erkenntnisse über die Dynamik des Glutamats im synaptischen extrazellulären Raum. Bergles (2002) fasst die bisherigen Ergebnisse zu Glutamat zusammen und bestätigt, dass das Glutamat im extrazellulären Raum eine Konzentration von mehreren hundert Mikromol erreichen kann. Diese Konzentration ist in der Lage, alle Klassen von Glutamat-Rezeptoren zu aktivieren. Die Aktivierung von Glia-Rezeptoren durch einen einzigen Botenstoff lässt vermuten, dass es möglich ist, ebenso präsynaptische Rezeptoren über Glutamat von einem einzigen Vesikel zu aktivieren. Diese Rezeptoren werden bei jedem Ausstoß aktiviert, nicht nur in Perioden hoher Aktivität. Anatomische Studien (Spacek 1985) haben ergeben, dass nicht alle Synapsen von einer Astroglia-Lamelle umgeben sind, was bedeutet, dass durch die Unmöglichkeit, die Diffusion zu begrenzen, Glutamat in nur gering vermindelter Konzentration an benachbarte Rezeptoren herantritt und diese aktiviert, auch an diejenigen, die in weiterer Entfernung sind. Der Überschuss an Glutamat für angrenzende Synapsen hat einen weitreichenden Effekt auf den Transfer und die Informationen für Synapsen. Auch neueste Studien konnten den Effekt von Glutamat auf die Synapsen feststellen (Vargová und Syková 2008). Es konnte gezeigt werden, dass die Parameter für Diffusion sich je nach Lage der Astrozyten innerhalb des Gehirns verändern, und insofern inhomogen sind. Darüber wurde die These aufgestellt, dass Barrieren die Diffusion der Moleküle im synaptischen extrazellulären Raum in bestimmte Bahnen leiten.

Augustin et al. (2007) untersuchten Gene der Drosophila-Fliege hinsichtlich des extrazellulären Glutamat-Levels im Nervensystem, wobei sie davon ausgingen, dass das Ungleichgewicht des Glutamat-Pools entscheidende Auswirkungen auf die Neurophysiologie und ebenso auf das Verhalten der Drosophila hat. Bei einem Experiment, bei dem der Glutamat-Transporter xCTs eliminiert wurde, konnte festgestellt werden, dass der Glutamatgehalt im extrazellulären Bereich um 50 Prozent sank. Damit wurde bewiesen, dass der Glutamat-Transporter xCTs eine

wichtige Rolle bei der Glutamat-Regulation einnimmt. Diese Ergebnisse stimmten mit früheren Studien überein, die belegten, dass extrazelluläres Glutamat das Clustering von postsynaptischen Glutamatrezeptoren regelt. Die Genveränderten Mutanten zeigten eine deutliche Steigerung (200 bis 300 Prozent) der postsynaptischen Glutamat-Rezeptoren. Der Überschuss an postsynaptischen Rezeptoren wird aber nicht begleitet von anderen synaptischen Veränderungen. Darüber hinaus vermutete die Forschergruppe, dass das, durch Glutamat bewirkte, Clustering der Glutamatrezeptoren auf der Desensibilisierung der Rezeptoren beruht. Zusammengefasst kann dies bedeuten, dass xCT Transporter eine entscheidende Rolle in der Regulation des sie umgebenden extrazellulären Glutamats in vivo haben, und die Desensibilisierung der Ionentrophischen Gluatamat Rezeptoren die Fähigkeit der Gliazellen an Synapsen zu clustern unterdrückt.

Diese Ergebnisse konnte auch die Forschergruppe Fellin et al. (2006) bestätigen, die als Ausgangsthese die Glutamat- und Purin-Signale als wichtige Transmitter in der Synapsen-Aktivität und in der Modulation des Zentralen Nervensystems sahen. Auch sie konnten zeigen, dass Gliazellen, besonders Astrozyten eine aktive Rolle in der ATP- und Glutamat-Signaltransmission im Gehirn einnehmen. Sie bestätigten die Signalfunktion durch die Beeinflussung des internen  $\text{Ca}^{2+}$  -Gehalts, welcher wiederum Astrozyten befähigt, verschiedene neuroaktive Moleküle auszustoßen, eingeschlossen ATP und Glutamat. In den letzten Jahren hat sich allmählich für diese Signalstoffe der Begriff Gliatransmitter durchgesetzt (Koizumi et al. 2005). Dieses Gliatransmitter-Signal gelangt entweder zu den Astrozyten, die  $\text{Ca}^{2+}$  -Wellen generieren, oder zu Neuronen, wo sie die synaptische Transmission und die Anregung der Nervenzellen stimulieren. Diese Gruppe (Fellin et al. 2006) bestätigte ebenso den Mechanismus der Diffusion, mit dessen Hilfe die  $\text{Ca}^{2+}$  -Wellen transportiert werden und sie konnten zeigen, dass ATP und Glutamat mit dem  $\text{Ca}^{2+}$  -Signal kooperieren. Astrozyten lösen aktiv sowohl anregende wie hemmende Effekte durch die  $\text{Ca}^{2+}$  -abhängige Ausschüttung von Glutamat auf die benachbarten Neurone aus, was wiederum auf die extrasynaptischen neuronalen Rezeptoren einwirkt. In diesem Prozess regen Astrozyten Neuronen an, während dagegen ATP, welches von Astrozyten ausgeschüttet wird, nach einer verschobenen späteren Umwandlung zu Adenosin, die neuronale Hemmung bewirkt.

Ein wichtiger Grund für das Interesse an der Wechselwirkung zwischen GABA, Glia, Neuronen und Synapsen liegt wohl auch darin, dass 15-25 Prozent aller Neurone GABAerg sind. So ist GABA der wichtigste hemmende Neurotransmitter im Zentralnervensystem. Die bisher gefundenen Ergebnisse lassen vermuten, dass die GABA-Aktivität eine wichtige Rolle in der Heranreifung der Neurone hinsichtlich ihrer synaptischen Funktion einnimmt. De Lima et al. (2004) konnten bei einer in vitro Studie zeigen, dass in der frühen kortikalen Entwicklung eine Aktivitätsblockade der synaptischen Funktionen, die Subpopulation von GABAergen Neuronen stark dezimierten. In einer sehr kurzen Zeitspanne, in der eine synchrone Netzwerkaktivität beginnt, wurde die Überlebensrate und die morphologische Ausdifferenzierung der GABA-abhängigen Neuronen durch eine Langzeit-Blockade der synaptischen Aktivität beeinflusst. Während die GABA-Rezeptor-Antagonisten wenig bis keinen Effekt auf das Überleben der Interneuronen in der zweiten Woche besaßen, zeigte sich, dass Antagonisten von Ionenkanal-gekoppelten Glutamat-Rezeptoren deutlich das Überleben und die Differenzierung von unreifen GABA-abhängigen Interneuronen beeinträchtigten. Der Verlust der Interneuronen war höher, wenn NMDA- Rezeptoren blockiert wurden als nach der Blockade von AMPA-Rezeptoren. Die Dezimierung der GABAergen Neuronen war irreversibel, konnte aber durch gleichzeitige Stimulation mit dem Faktor BDNF aufgehoben werden. Diese Befunde lassen vermuten, dass glutamatbedingte Aktivitäten, speziell die NMDA-Rezeptoren-Stimulation, die Überlebenschancen und die Heranbildung der Subpopulation von GABA-abhängigen Interneuronen sichern können.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Astrozyten eine Reihe von Funktionen enthalten, die es ihnen ermöglichen, mit der synaptischen Aktivität in Interaktion zu treten. Es ist gesichert, dass Astrozyten vor allem durch Rezeptoren und durch die Aufnahme von Transmittern, besonders GABA und Glutamat, welche die synaptische Aktivität begleiten, hierzu in der Lage sind. Abschließend soll noch darauf hingewiesen werden, dass die Aktivitäten der Astrozyten im Zusammenhang mit Glutamat und synaptischer Aktivität hauptsächlich in vitro erforscht wurden, dennoch haben erste Versuche in vivo (Magistretti et al. 2002) die bisherigen Annahmen bestätigen können.

Die hier erhobenen Daten zeigen die stärkste Zunahme der Gliabedeckung von Synapsen während des endgültigen Anstiegs der Synapsenzahlen auf adulte Werte.

Damit korreliert der späte starke Anstieg der perisynaptischen Glia mit der endgültigen Funktionsaufnahme von Synapsen und mit der Interaktion von Astrozyten mit ausdifferenzierten Synapsen.



## 7. Zusammenfassung

Die vorliegende quantitative Studie untersuchte an Hand von elektronenmikroskopischen Bildern, die von dem somatosensorischen Cortex von NMRI-Mäusen aufgenommen wurden, folgende Aufgabenstellungen: Ausgezählt und deskriptiv erfasst wurde die Anzahl und der Typ von Synapsen, die Anzahl der verschiedenen Gliabedeckungstypen und deren relative Position zueinander. Die Zählungen wurden am Cortex der Maus während der Entwicklung an den postnatalen Tagen P5, P10, P15, P20 und P30 durchgeführt.

Als wichtigstes Ergebnis kann die Parallelentwicklung zwischen Synapsen und Gliabedeckungstypen genannt werden. Sowohl die Anzahl der Synapsen als auch die der Glia ist am P15 am höchsten, um danach bis P20 in der Menge deutlich abzunehmen. Von P20 bis P30 stieg die Zahl der Synapsen wie der Glia wieder kontinuierlich an. In der Literatur ist dieser „Overshoot“ für die Synapsenbildung alleine gezeigt. Die hier vorgenommenen Aufschlüsselungen der unterschiedlichen Synapsentypen und ihrer Bedeckung durch Glia hat zu einer Fülle von Daten geführt. Dabei fiel eine frühe Phase mit dem stattgefundenen Umbau von Synapsen zusammen. Die späte Phase der Zunahme der Gliabedeckung von Synapsen schien mit der Stabilisierung adulter Funktionen zu korrelieren.

Die vorliegende Untersuchung setzte einen anderen Schwerpunkt mit ihren quantitativen Ergebnissen. Sie unterstützt die neueren Forschungen durch das bereitgestellte Material und bietet außerdem für die vergleichende Forschung einen guten Ausgangspunkt. So kann mit dem vorliegenden Material die Entwicklung der Glia-Beteiligung an Synapsen bei der postnatalen Entwicklung von anderen Spezies verglichen werden. Auch kann diese Arbeit eine Basis für die vergleichende Verhaltensforschung bieten, wie sie etwa von Jones TA und Greenough (2002) für Ratten vorgestellt wurde. Ausgehend von unserer Untersuchung können weitere Antworten auf offene Fragen nach Beziehungen zwischen bekannten Variablen gefunden werden.

## 8. Literatur

Aldskogius H, Liu L, Svensson M (1999): Glial responses to synaptic damage and plasticity. *J Neurosci Res* 58:33-41.

Andre P, Fascetti F, Pompeiano O, White SR (1994): The muscarinic agonist, bethanechol, enhances GABA-induced inhibition of Purkinje cells in the cerebellar cortex. *Brain Res* 637,1-9.

Augustin H, Grosjean Y, Chen K, Sheng Q, Featherstone DE (2007): Nonvesicular release of glutamate by glial xCT transporters suppresses glutamate receptor clustering in vivo. *J Neurosci* 27(1):111-23.

Bähr S, Wolff JR (1985): Postnatal development of axo-somatic synapses in the rat visual cortex: Morphogenesis and quantitative evaluation. *J Com Neurol* 233:405-420.

Bergles DE: Synaptic transmitter at the glial cell plasma membrane; in: *The Tripartite Synapse. Glia in synaptic transmission*. Hrsg.: A. Volterra; P. J. Magistretti; P. G. Haydon. Oxford University Press, New York 2002, 62-74

Biederer T, Sara Y, Mozhayeva M, Atasoy D, Liu X, Kavalali ET, Sudhof TC (2002): SynCAM, a synaptic adhesion molecule that drives synapse assembly. *Science* 297: 1525–1531.

Bignami A (1991): Glial Cells in the Central Nervous System. *Discussions in Neuroscience VIII*: 1, 11-45.

Bitner C, Benjelloun-Touimi S, Dupouey P (1987): Palisading pattern of subpial astroglial processes in the adult rodent brain: relationship between the glial palisading pattern and the axonal and astroglial organization. *Brain Res*; 465: 167-178.

Blümcke I, Egli P, Celio MR (1995): Relationship between astrocytic process and "perineuronal nets" in rat neocortex. *Glia* 15: 131-140

Braitenberg V, Schüz A: *Anatomy of the Cortex: Statistics and Geometry*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1991

Brodman K: *Vergleichende Localisationslehre der Großhirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellbaues*. Barth, Leipzig 1909

Brückner G, Brauer K, Härtig W, Wolff JR, Rickmann MJ, Derouiche A, Delpech B, Girard N, Oertel WH, Reichenbach A. (1993): Perineuronal nets provide a polyanionic, glia-associated form of microenvironment around certain neurons in many parts of the rat brain. *Glia* 8:183-200.

Carvell GE, Simons DJ (1987): Thalamic and corticocortical connections of the second somatic sensory area of the mouse. *J. Comp. Neurol* 265:409-427.

Caviness VS (1975): Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *J Comp Neurol* 164:247-264.

Chao TI, Kasa P, Wolff JR (1997): Distributions of astroglia in glomeruli of the rat main olfactory bulb: Exclusion from the sensory synaptic subcompartment of neuropil. *J Comp Neurol* 388:191-210.

Chao TI, Rickmann M, Wolff JR: The synapse-astrocyte boundary: an anatomical basis for an integrative role of glia in synaptic transmission; in: *The Tripartite Synapse. Glia in synaptic transmission*. Hrsg.: Volterra A, Magistretti PJ, Haydon PG. Oxford University Press, New York 2002, 3-23

Chmielowska J, Stewart MG, Bourne RC (1988):  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) immunoreactivity in mouse and rat first somatosensory (SI) cortex: Description and comparison. *Brain Res* 439:155-168.

Cornell-Bell AH, Thomas PG, Smith SJ (1990): The excitatory neurotransmitter glutamate causes filopodia formation in cultured hippocampal astrocytes. *Glia* 3: 322-334.

Cuadras J, Marti-Subirana A (1987): Glial cells of the crayfish and their relationships with neurons. An ultrastructural study. *J Physiol, Paris* 82:196-217.

Danbolt NC (2001): Glutamat uptake. *Prog Neurobiol* 65:1-105.

Deitmer JW, Kreutzberg G (2000): Die Glia des Nervensystems - Funktion und Leistungen. *Biologen heute* 3/2000. 1-5.

de Lima AD, Opitz T, Voigt T (2004): Irreversible loss of a subpopulation of cortical interneurons in the absence of glutamatergic network activity. *Eur J Neurosci* 19(11): 2931-43.

Economo C, Koskinas GN: Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen. Springer-Verlag, Wien 1925

Edmunds SM, Parnavelas JG (1983): 'Presynaptic astrocytes' in rat visual cortex. *Brain Res* 259:285-287.

Fellin T, Sul JY, D'Ascenzo M, Takano H, Pascual O, Haydon PG (2006): Bidirectional astrocyte-neuron communication: the many roles of glutamate and ATP. *Novartis Found Symp* 276:208-17.

Gan WB (2003): Glutamate-dependent stabilization of presynaptic terminals. *Neuron* 38:677-678.

Garcia-Segura IM, Naftolin F, Hutchinson JB, Azcoitia I, Chowen JA (1999): Role of astroglia in estrogen regulation of synaptic plasticity and brain repair. *J. Neurobiol* 40: 574-584.

Goodhill GJ, Carreira-Perpiñán MA: Cortical Columns; in: Encyclopedia of Cognitive Science (MacMillan Publishers Ltd.). Oxford University Press, London 2002

Grab D, Reisert I, Pilgrim C (1983): Volumendichte und spezifische Oberflächen neuronaler und gliöser Gewebelemente in verschiedenen Regionen des Rattenhirns. *Verh Anat Ges* 77:255-256.

Gray EG (1959a): Electron microscopy of synaptic contacts on dendritic spines of the cerebral cortex. *Nature* 183:1592-1593.

Greilich H: Quantitative Analyse der cortico-corticalen Fernverbindungen bei der Maus. Med. Diss. Tübingen 1984

Gutiérrez-Ospina G, Uribe-Querola E, Sánchez N, Geovanninia H, Padillaa P, Hernández-Echeagara E (2004): Similar Synapse Density in Layer IV Columns of the Primary Somatosensory Cortex of Transgenic Mice with Different Brain Size: Implications for Mechanisms Underlying the Differential Allocation of Cortical Space. *Brain Behav Evol* 64(2):61-69 (Karger)

Haddara M (1956): A quantitative study of the postnatal changes in the packing density of the neurons in the visual cortex of the mouse. *J Anat* 90:494-501.

Heumann D, Leuba G, Rabinowicz T (1977): Postnatal development of the mouse cerebral neocortex. II. Quantitative cytoarchitectonics of visual and auditory areas. *J Hirnforsch* 18:483-500.

Heumann D, Leuba G, Rabinowicz T (1978): Postnatal development of the mouse cerebral neocortex. IV. Evolution of the total cortical volume, of the population of neurons and glial cells. *J Hirnforsch* 19:385-393.

Hinds JW, Hinds PL (1976): Synapse formation in the mouse olfactory bulb. Qualitative studies. *J Comp Neurol* 169 (1):15-35.

Horton JC, Hocking DR (1996): Intrinsic variability of ocular dominance column periodicity in normal macaque monkeys. *J Neurosci* 16 (22):7228–7339.

Hubel DH, Wiesel TN (1977): Functional architecture of the macaque monkey visual cortex. *Proc R Soc London B* 198(1130):1–59.

Hurd LB, Hutson KA, Morest DK. (1999): Cochlear nerve projections to the small cell shell of the cochlear nucleus: the neuroanatomy of extremely thin sensory axons. *Synapse* 33(2):83-117.

Itami C, Mizuno K, Kohno T, Nakamura S( 2000): Brain-derived neurotrophic factor requirement for activity-dependent maturation of glutamatergic synapse in developing mouse somatosensory cortex. *Brain Res* 28:857(1-2),141-50.

Jones TA, Greenough WT: Behavioural experience-dependent plasticity of glial-neuronal interactions; in: *The Tripartite Synapse. Glia in synaptic transmission.* Hrsg.: A. Volterra; P. J. Magistretti; P. G. Haydon. Oxford University Press, New York 2002, 248-265

Kanju PM, Parameshwaran K, Vaithianathan T, Sims CM, Huggins K, Bendiske J, Ryzhikov S, Bahr BA., Suppiramaniam V (2007): Lysosomal dysfunction produces distinct alterations in synaptic alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazolepropionic acid and N-methyl-D-aspartate receptor currents in hippocampus. *J Neuropathol Exp Neurol* 66(9):779-88.

Karnovsky M J (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27:137A-138A.

Keller A (2002): Use-dependent inhibition of dendritic spines. *Trends Neurosci* 25 (11):541-543.

Knott GW, Quairiaux C, Genoud C, Welker E (2002): Formation of dendritic spines with GABAergic synapses induced by whisker stimulation in adult mice. *Neuron* 34: 265-273.

Koizumi S, Fuijshita K, Inoue K (2005): Regulation of cell-to-cell communication mediated by astrocytic ATP in the CNS. *Purinergic Signal* 1(3):211-7.

Krieg WJS (1946 a): Connections of the the cerebral cortex. I. The albino rat. A. Topography of the cortical areas. *J Comp Neurol* 84:221-275.

Krieg WJS (1946 b): Connections of the the cerebral cortex. I. The albino rat. B. Structure of the cortical areas. *J Comp Neurol* 84:277-324.

Kristt DA, Molliver ME (1976): Synapses in newborn rat cerebral cortex: A quantitative ultrastructural study. *Brain Res* 108:180-186.

Leonhardt H, Töndury G, Zilles K: Nervensystem und Sinnesorgane; in: Rauber/Kopsch: Anatomie des Menschen. Bd. III. Georg-Thieme-Verlag. Stuttgart, New York 1987

LeRoy I, Perez-Diaz F, Cherfouh A, Roubertoux PL (1999): Preweanling sensorial and motor development in laboratory mice: quantitative trait loci mapping. *Dev Psychobiol* 34:139-158.

Magistretti P, Chatton JY, Pellerin L: The role of astrocytes in coupling synaptic activity to glucose utilization; in: The Tripartite Synapse. Glia in synaptic transmission. Hrsg.: Volterra A, Magistretti PJ, Haydon PG. Oxford University Press, New York 2002

Maier DL, Mani S, Donovan SL, Soppet D, Tessarollo L, McCasland JS, Meiri KF (1999): Disrupted cortical map and absence of cortical barrels in growth-associated protein (GAP)-43 knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96(16):9397–9402.

Meyer G, Galindo-Mireles D, Gonzales-Hernandez T, Castaneyra-Perdomo A, Ferres-Torres R (1986): Direct projections form the reticular formation of the medulla oblongata to the anterior cingulate cortex in the mouse and the rat. *Brain Res* 398: 208-211.

Miller B, Blake NM, Erinjeri JP, Reistad CE, Sexton T, Admire P, Woolsey TA (2001): Postnatal growth of intrinsic connections in mouse barrel cortex. *J Comp Neurol* 436 (1):17-31.

Missler M, Wolff A, Merker HJ, Wolff JR (1993): Pre- and postnatal development of the primary visual cortex of the common marmoset. II. Formation, remodelling, and elimination of synapses as overlapping processes. *J Comp Neurol* 333:53-67.

Mountcastle VB (1997): The columnar organization of the neocortex. *Brain* 120: 701-722.

Mountcastle VB (1957): Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J Neurophysiol* 20: 408–434.

Paxinos G: The rat nervous system. 2. Auflage. Academic Press, San Diego, London 1995

Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. Sydney 1982

Peters A, Palay SL, Webster H de F: The fine structure of the nervous system: Neurons and their supporting cells . 3. Auflage. Oxford Univ Press, New York 1991

Pfrieger FW (2002): Role of glia in synapse development. *Curr Opin Neurobiol* 12: 486-490.

Rakic P, Bourgeois JP, Eckenhoff MF, Zecevic N, Goldmann-Rakic PS (1986): Concurrent overproduction of synapses in diverse regions of the primate cerebral cortex. *Science* 232:232-234.

Reichenbach A, Siegel A, Rickmann M, Wolff JR, Noone D, Robinson SR (1995): Distribution of Bergmann glial somata and processes: implications for function. *J Hirnforsch* 36 (4):509-517.



Richardson KC, Jarret L, Finke EH (1960): Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain Technol* 35:313

Rickmann M, v. Fischer-Weikersthal L, Wolff JR (1990). The shape of astrocytes. *Verh Anato Ges* 83:451-452.

Remple MS, Henry EC, Catania KC (2003) : Organization of somatosensory cortex in the laboratory rat (*Rattus norvegicus*): Evidence for two lateral areas joined at the representation of the teeth. *J Comp Neurol* 467(1):105-118

Rohlmann A, Wolff HR: Subcellular topography and plasticity of gap junction distribution on astrocytes; in: *Gap junctions in the nervous system*. Hrsg.: D. C. Spray und R. Dermietzel. Academic Press, New York 1996, 175-192

Rugh R: *The mouse. Its reproduction and development*. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo 1990

Rouach N, Glowinski J, Giaume C (2001). Activity-dependent neuronal control of gap-junctional communications in astrocytes. *J Cell Biol* 149, 1513-1526

Schachner M, Bernreuther C, Hargus G, Cui Y, Schmid JS, Xu J, Glatzel M (2008): Tenascin-R promotes neuronal differentiation of embryonic stem cells and recruitment of host-derived neural precursor cells after excitotoxic lesion of the mouse striatum. *Stem Cells* 26(8):1973-84.

Scheibel ME, Scheibel AB (1954): Observations on the intracortical relations of the climbing fibres of the cerebellum. *J Comp Neurol* 101:733-763.

Schiebler TH, Schmidt W, Zilles K: *Anatomie. Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen*. Unter Berücksichtigung des Gegenstandskatalogs. Achte, vollständig überarbeitete und aktualisierte Auflage. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Shampo MA, Kyle RA (1997): Ernst Ruska – inventor of the electron microscope. Mayo Clin Proc 72(2):148.

Soffer D, Raine CS (1980): Morphologic analysis of axo-glia membrane specializations in the demyelinated central nervous system. Brain Res 186:301-313.

Spacek J (1985): Three-dimensional analysis of dendritic spines. III. Glia sheath. Anat Embryol Berl 172:45-52.

Spurr AR (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J Ultrastruct Res 26:31-43.

Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehalow AK, Hubermann AD, Stafford B, Litke AM, Lambris JD, Schmith SJ, John SW, Barres BA (2007): The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. Cell 131(6):1164-78.

Teuchert-Nodt G, Breuker KH, Dawirs RP (1991): Neuronal lysosome accumulation in degrading synapses of sensory-motor and limbic subsystems in the duck *Anas platyrhynchos*: indication of rearrangements during avian brain development? Dev Neurosci 13(3):151-63.

Tracey DJ, Waite PME: Somatosensory System; in: G. Paxinos: The rat nervous system. 2. Auflage. Academic Press, San Diego, London 1995, 689-704.

Vargová L, Syková E (2008): Extracellular space diffusion and extrasynaptic transmission. Physiol Res 57 Suppl 3:89-99.

Virchow R: Die Zellulärpathologie in ihrer Begründung auf physiologischer und pathologischer Gewebelehre. A. Hirschwald Verlag, Berlin 1858.

Volterra A, Magistretti PJ, Haydon PG: The Tripartite Synapse. Glia in synaptic transmission. Oxford University Press, New York 2002.

Voutsinos-Porche B, Knott G, Tanaka K, Quairiaux C, Welker E, Bonvento G (2003): Glial Glutamate Transporters and Maturation of the Mouse Somatosensory Cortex. *Cereb Cortex* 13:1110-1121.

Vrensen G, DeGroot D, Nunes-Cardozo J (1977): Postnatal development of neurons and synapses in the visual and motor cortex of rabbits: a quantitative light and electron microscopic study. *Brain Res Bull* 2:405-416.

Wahlsten D (1975): Genetic variation in the development of mouse brain and behavior: evidence from the middle postnatal period. *Dev Psychobiol* 8:371-380.

Whitaker-Azmitia PM, Murphy R, Azmitia EC (1990): Stimulation of astroglial 5-HT<sub>1A</sub> receptors releases the serotonergic growth factor, protein S-100, and alters astroglial morphology. *Brain Res* 528:155-158.

Wise SP, Jones EG (1978): Developmental studies of thalamocortical and commissural connections in the rat somatic sensory cortex. *J Comp Neurol* 178: 187-208.

Williams RW: Mapping genes that modulate mouse brain development: A quantitative genetic approach; in: *Mouse Brain Development*. Hrsg.: Goffinet AM, Rakic P. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 2000, 21-49.

Wolff JR, Laskawi R, Spatz WB, Missler M (1995): Structural dynamics of synapses and synaptic components. *Behav Brain Res* 66:13-20.

Woolsey TA, Loos H van der (1970): The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. *Brain Res* 17(2), 205-242.

Zilles K, Wree A: Cortex: Areal and Laminar Structure; in: *The rat nervous system*. Hrsg.: Paxinos G. 2. Auflage. Academic Press San Diego, London 1995, 649-685

Zolles G: Funktion und entwicklungsabhängige Expression neuronaler nikotinischer Acetylcholinrezeptoren (nAChR) im Neocortex der Ratte. Tierärztl. Diss. München 2002.

## 9. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
asym.	asymmetrisch
°C	Grad Celcius
et al.	et alii
ff.	und folgende
g	Gramm
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
µm <sup>2</sup>	Mikroquadratmeter
nm	Nanometer
pH	pondus Hydrogenii
sym.	symmetrisch
tif	Tagged Image File
undef.	undefiniert
vgl.	vergleiche
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent

## **Danksagung**

Herrn PD. Dr. med. Michael Rickmann danke ich für die Gewährleistung und Durchführung der Promotionsarbeit im Institut der Neuroanatomie und für die herausragende Betreuung sowie hilfreiche Anregungen zu meiner gesamten Doktorarbeit.

Ich danke Frau Wolff für die professionelle Einarbeitung in die Vorbereitung und Unterstützung bei der Fertigstellung von Präparaten und Einführung in die Elektronenmikroskopie.

Frau Bömer danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Mauspräparation.

Dem Histologieinstitut danke ich für die Bereitstellung des Elektronenmikroskops.