

Aus dem Institut für Neuropathologie

(Prof. Dr. med. C. Stadelmann-Nessler)

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Charakterisierung von BCAS1-positiven Oligodendrozyten während der menschlichen Gehirnentwicklung

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Linda Selma Elfriede Böckhaus, geb. Vogel

aus
Bremen

Göttingen 2023

Dekan: Herr Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuer/in Frau Prof. Dr. med. C. Stadelmann-Nessler
Frau Prof. Dr. med. J. Gärtner

Prüfungskommission

Referent/in Frau Prof. Dr. med. C. Stadelmann-Nessler

Ko-Referent/in: Frau Prof. Dr. med. J. Gärtner

Drittreferent/in:

Datum der mündlichen Prüfung: 08.02.2024

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Charakterisierung von BCAS1-positiven Oligodendrozyten während der menschlichen Gehirnentwicklung" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	III
TABELLENVERZEICHNIS.....	IV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Das zentrale Nervensystem.....	1
1.2 Entwicklung des menschlichen Gehirns.....	2
1.2.1 Programmierter Zelltod.....	4
1.3 Oligodendrozyten.....	5
1.3.1 Oligodendrogenese.....	5
1.3.2 Oligodendrozytenmarker.....	7
1.3.2.1 PDGFR.....	9
1.3.2.2 NG2.....	9
1.3.2.3 BCAS1.....	10
1.3.2.4 TPPP/p25.....	10
1.3.2.5 MBP.....	11
1.4 Myelin.....	12
1.4.1 Astrozyten.....	13
1.5 Multiple Sklerose.....	14
1.6 Fragestellung/ Ziel der Arbeit.....	16
2 MATERIAL UND METHODEN.....	18
2.1 Untersuchtes Gewebe.....	18
2.2 Immunhistochemische Färbungen.....	20
2.2.1 Lichtmikroskopische Färbungen.....	20
2.2.2 Immunfluoreszenzfärbung.....	21
2.2.3 Verwendete Antikörper.....	24
2.3 Histologische Auswertung.....	28
2.3.1 Statistische Auswertung.....	29
3 ERGEBNISSE.....	30
3.1 Oligodendrozyten während der menschlichen ZNS-Entwicklung nach Lokalisation.....	30
3.1.1 Myelinisierende Oligodendrozyten während der Entwicklung im Kleinhirn.....	31
3.1.2 Prämyelinisierende und reife Oligodendrozyten während der Entwicklung im zervikalen Rückenmark.....	32
3.1.3 Prämyelinisierende und reife Oligodendrozyten während der Entwicklung im Kleinhirn.....	35
3.1.4 Prämyelinisierende und reife Oligodendrozyten während der Entwicklung im Frontalhirn.....	37
3.1.5 Vergleichende Analysen prämyelinisierender und reifer Oligodendrozyten während der Entwicklung im Rückenmark, Klein- und Frontalhirn.....	39

3.2	NG2+ Oligodendrozytenvorläuferzellen im Vergleich zu BCAS1+ Oligodendrozyten während der menschlichen ZNS-Entwicklung	41
3.2.1	BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten während der menschlichen ZNS-Entwicklung.....	42
3.3	Vergleichende Analyse von NG2+ und PDGFRα+ Oligodendrozytenvorläuferzellen im Frontalhirn	45
3.3.1	NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen im Vergleich zu BCAS1+ prämyelinisierenden und myelinisierenden Oligodendrozyten im Frontalhirn	46
3.3.1.1	Vergleichende Analysen von BCAS1+ Oligodendrozyten zu NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen.....	48
4	DISKUSSION	49
4.1	Myelinisierung im zentralen Nervensystem	50
4.2	Oligodendrozyten während der Entwicklung.....	51
4.3	Pathogenese der Multiplen Sklerose	53
4.4	Adaptive Myelinisierung.....	54
4.5	Ausblick	54
5	ZUSAMMENFASSUNG	57
6	ANHANG	58
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	59

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Markerproteine für Entwicklungsstadien von Oligodendrozyten	8
Abbildung 2: Oligodendrozyten im Rückenmark eines Feten in der 16. SSW	11
Abbildung 3: BCAS1+, TPPP/p25+ und MBP+ Oligodendrozyten im Kleinhirn im Verlauf der Entwicklung	32
Abbildung 4: Oligodendrozyten im zervikalen Rückenmark von der 11. SSW bis zur Geburt	33
Abbildung 5: Quantifizierung von Oligodendrozyten im Rückenmark von der 11. SSW bis zur Geburt	34
Abbildung 6: Oligodendrozyten im Kleinhirn von der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre)	35
Abbildung 7: Quantifizierung von Oligodendrozyten im Kleinhirn von der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr	36
Abbildung 8: Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre)	37
Abbildung 9: Quantifizierung von Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr	38
Abbildung 10: Oligodendrozytenpopulationen im Rückenmark von der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre)	39
Abbildung 11: Oligodendrozytenpopulationen im Kleinhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr	40
Abbildung 12: Oligodendrozytenpopulationen im Frontalhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr	40
Abbildung 13: BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten im Rückenmark der 17. SSW	41
Abbildung 14: BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten im Frontalhirn in der 17. SSW und um die Geburt	41
Abbildung 15: Quantifizierung von BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr	42
Abbildung 16: BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten im Rückenmark der 17. SSW	43
Abbildung 17: BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten im Frontalhirn der 17. SSW und um die Geburt	44
Abbildung 18: Quantifizierung von BCAS1+ und PDGFR α + Zellen im Frontalhirn in der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr	44
Abbildung 19: NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen im Frontalhirn	46
Abbildung 20: Quantifizierung von NG2+, PDGFR α + und BCAS1+ im Frontalhirn von der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr	47
Abbildung 21: BCAS1+, NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr	48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Fälle.....	18
Tabelle 2: Lösungen.....	22
Tabelle 3: Reagenzien.....	23
Tabelle 4: Verwendete monoklonale Antikörper.....	24
Tabelle 5: Verwendete biotinylierte sekundäre Antikörper.....	26
Tabelle 6: Verwendete sekundäre Fluoreszenz-Antikörper.....	27
Tabelle A1: Analysierte Bereiche im Rückenmark, Klein- und Frontalhirn in Immunfluoreszenz-Doppelfärbung mit BCAS1 und TPPP/p25.....	58
Tabelle A2: Analysierte Bereiche im Frontalhirns in Doppelfärbung mit BCAS1, PDGFR α und NG2.....	58

Abkürzungsverzeichnis

A	Autopsie
aOL	adulter Oligodendrozyt
AP	Aktionspotential
APP	Amyloid-Vorläufer-Protein
BCAS1	aus Brustkrebs-Gewebe amplifizierte Sequenz 1 (<i>breast cancer-amplified sequence 1</i>)
CC1	Anti-Adenomatosis polyposis coli (APC) Antikörper (<i>anti-APC antibody</i>)
DAPI	4', 6'-diamidino-2-phenylindole
ENPP6	Ektonucleotid-Pyrophosphatase/Phosphodiesterase-6-Protein
ER	Endoplasmatisches Retikulum
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktor (<i>fibroblast growth factor</i>)
HE	Hämatoxylin-Eosin
HGF	Hepatozytenwachstumsfaktor (<i>hepatocyte growth factor</i>)
IGF1	Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1 (<i>insulin-like growth factor 1</i>)
MAG	Myelin-assoziiertes Glykoprotein
MAP	Mikrotubulus-assoziiertes Protein
MBP	Myelin-Basisches Protein
MOG	Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
NG2	neuron-glia antigen 2
Olig2	Oligodendrozyten Transkriptionsfaktor
OPC	Oligodendrozytenvorläuferzellen
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PDGFRα	von Blutplättchen abgeleiteter Wachstumsfaktorrezeptor α (<i>platelet-derived growth factor receptor α</i>)
PLP	Proteolipidprotein
PNS	peripheres Nervensystem
preOL	prämyelinisierende Oligodendrozyten
RGs	radiale gliale Stammzellen
RT	Raumtemperatur
CSPG4/NG2	Chondroitinsulfat Proteoglycan 4

sog.	sogenannt
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswoche
SVZ	subventrikuläre Zone
TNF	Tumornekrosefaktor
TPPP/p25	<i>Tubulin polymerisation-promoting protein</i>
VZ	ventrikuläre Zone
ZNS	zentrales Nervensystem
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

1 Einleitung

1.1 Das zentrale Nervensystem

Das zentrale Nervensystem (ZNS) der Wirbeltiere besteht aus Gehirn und Rückenmark (Ransohoff und Engelhardt 2012). Ein adultes Gehirn besitzt mehr als 100 Milliarden Nervenzellen, Neuronen genannt, und ist im Aufbau eines der komplexesten biologischen Systeme (Pakkenberg und Gundersen 1997). Im Rahmen der Entwicklung durchläuft es zahlreiche Differenzierungs-, Migrations- und Anpassungsprozesse. Ebenso müssen unzählige Verknüpfungen geschaffen werden, um untereinander, aber auch mit dem Rest des Körpers, kommunizieren zu können (Rao 1999). Neuronen dienen der Informationsweiterleitung innerhalb des ZNS und existieren in unterschiedlicher Größe, Form und Anzahl an Verbindungen, wodurch die Grundlage für die Übernahme vielfältiger Funktionen geschaffen wird. Über sogenannte (sog.) Synapsen sind mehrere Neurone miteinander verbunden und können so Kommunikationsnetzwerke bilden. Ein Neuron kann bis zu 1000 Synapsen ausbilden, so ergeben sich schätzungsweise mehr als 60 Billionen neuronale Verknüpfungen in einem erwachsenen Gehirn (Stiles und Jernigan 2010).

Im mikroskopischen Aufbau des ZNS werden anhand morphologischer und funktioneller Aspekte zwei unterschiedliche Zellpopulationen unterschieden: Die erregungsleitenden und -übertragenden Neurone und die heterogene Gruppe der Gliazellen (Jessen 2004). Nervenaufläufer, Axone genannt, dienen der Weiterleitung von elektrischen Impulsen, den sog. Aktionspotentialen (AP) (Hartline und Colman 2007). Um eine schnelle Erregungsübertragung zu erreichen, sind viele Axone spiralförmig mit Myelinscheiden ummantelt, was jedoch nicht bei allen Axonen der Fall ist (Cohen et al. 2020; Snaidero und Simons 2017). Durch die Umhüllung mit zahlreichen Lamellen wird eine schnellere Ausbreitung von Nervenimpulsen ermöglicht, wobei die Lamellen dicht beieinander liegen, um Stromverluste innerhalb des Komplexes zu vermeiden (Stadelmann et al. 2019; Simons und Nave 2016). Zwischen den Internodien befinden sich unmyelinisierte Bereiche, welche als Ranviersche Schnürringe bezeichnet werden. Durch sie werden die Anordnungen der Myelinscheiden, von Natrium- und Kaliumkanälen sowie die Knotenregionen gebildet. Ein AP kann über die Internodien von Schnürring zu Schnürring „springen“, wodurch die Weiterleitung des Impulses schneller ist als ohne Myelinscheiden (Rasband und Peles 2016; Cohen et al. 2020).

1.2 Entwicklung des menschlichen Gehirns

Das menschliche Gehirn ist ein hoch komplexes Netzwerk, welches während der Entwicklung durch eine Vielzahl an Formänderungen und Neuorganisationen gebildet wird (Zatorre et al. 2012). Die permanente Abspeicherung neuer Informationen benötigt ein neuronales Substrat, welches sowohl formbare als auch konstante Eigenschaften haben muss (Pan et al. 2020).

Die Entwicklung des fetalen Gehirns lässt sich zunächst in drei Stadien einteilen (Tortori-Donati et al. 2000). Sie beginnt mit dem ersten Stadium in der dritten Schwangerschaftswoche (SSW), der Gastrulation, bei der die anfängliche Embryonalscheibe in drei Keimblätter aufgeteilt wird: Ektoderm, Mesoderm und Endoderm (Stiles und Jernigan 2010; Rufener et al. 2010). Hierbei entsteht ebenfalls die Kopf-Schwanz-Achse sowie eine ventrale und dorsale Anordnung des Embryos (Lagercrantz 2019). Das zweite Stadium umfasst die primäre Neurulation, in welcher eine neurale Platte ausgebildet wird, die sich anschließend zu einem Neuralrohr biegt (Rufener et al. 2010). Aus dem mit Neuroepithel ausgekleideten Neuralrohr entstehen zudem alle späteren Hirnstrukturen des Embryos (Stiles und Jernigan 2010). Die Enden des Neuralrohrs verschließen sich ungefähr in der vierten SSW, danach verlängert sich die kraniale Seite, um die ersten Hirnanlagen zu bilden (Lagercrantz 2019). Es entstehen die ersten drei primären Hirnausstülpungen, welche sich anschließend, gegen Ende der Embryonalperiode, zu fünf sekundären Hirnbläschen ausbilden. Diese stellen die primäre Anordnung des zentralen Nervensystems dar (Stiles und Stiles 2008). In der fünften bis sechsten SSW lässt sich das dritte und letzte Stadium durch die sekundäre Neurulation beschreiben. Es entsteht ein sekundäres Neuralrohr durch den kaudalen Zellanteil (Rufener et al. 2010). Von der neunten SSW an bis zur Geburt wird der Embryo als Fetus bezeichnet, und es beginnt die Ausbildung von Stammzelllinien. Stammzellen sind dazu in der Lage, sich identisch zu teilen, ohne sich während des Prozesses zu verändern, weshalb die neuronalen Vorläuferzellstammzellen auch als mitotische Populationen beschrieben werden (Lagercrantz 2019; Stiles und Jernigan 2010). Die neuronalen Stammzellen des Neuroepithels des Neuralrohrs vermehren sich und entwickeln sich anschließend zu radialen glialen Stammzellen (RGs) (Götz und Huttner 2005). Aus diesen RGs entstehen alle Neuronen, Oligodendrozyten, Astrozyten, Makroglia und Ependymzellen (Falk und Götz 2017). Mikroglia hingegen entstehen nicht aus neuro-ektodermalen Stammzellen, sondern aus fetalen Dottersackmakrophagen (Hoeffel et al. 2015). Zur Besiedelung des Neuralrohrs und dessen umgebenden Mesenchyms gelangen sie in der frühen Embryonalzeit über die Blutzirkulation (Lenz und Nelson 2018). Die RGs teilen sich innerhalb der apikalen Oberfläche der ventrikulären Zone (VZ),

um Neuronen und Zwischenvorläufer zu bilden. Die Zwischenvorläuferzellen besiedeln die angrenzende subventrikuläre Zone (SVZ), die Neuronen migrieren durch die Zwischenzone, um so die verschiedenen Schichten innerhalb des Kortex zu erreichen (Lancaster et al. 2013). Die SVZ bei menschlichen und nichtmenschlichen Primaten ist ähnlich aufgebaut (Akter et al. 2020). Im Unterschied zu den übrigen Säugetieren lässt sich jedoch die SVZ in eine schmalere innere (iSVZ) und eine breitere äußere (oSVZ) einteilen (Ortega et al. 2018). Im ventralen Telencephalon existiert eine zweite proliferative Zone, welche den Kortex mit Zellen ausstattet und später die Basalganglien bildet (Anderson et al. 2001). Während die mitotischen Vorläuferzellen in der proliferativen Zone verbleiben, migrieren die postmitotischen Neuronen in den sich neu bildenden Kortex (Clancy et al. 2001). Dabei wenden sie mehrere Leitmoleküle an, um den Migrationsweg in den Kortex zu steuern (Valiente und Marín 2010). Durch die Migration der Neuronen entsteht die charakteristische Sechsschichtung des Neokortex (Cooper 2008).

Die Neuronen beginnen zu diesem Zeitpunkt bereits damit, Zellausläufer zu bilden, um Verbindungen mit anderen Neuronen herzustellen, wobei über Dendriten und Axone die Informationsnetzwerke der Neuronen entstehen (Stiles und Jernigan 2010). Am Ende einer aussprossenden Nervenzelle befindet sich ein Wachstumskegel, wodurch das sog. axonale Wachstum ermöglicht wird. Die jeweiligen Wachstumskegel werden durch Leitmoleküle aus der Umgebung angezogen oder abgestoßen und wachsen so in die verschiedenen Richtungen. Ist ein Ziel erreicht, werden Synapsen ausgebildet, um die Verbindung von Neuron zu Neuron zu festigen. Synapsen geben ihre Informationen über Signalmoleküle, sog. Neurotransmitter, an das nächst verschaltete Neuron weiter (Stiles und Jernigan 2010). Die Vermehrung der Synapsen nimmt im letzten Trimester der Schwangerschaft (SS) deutlich zu. Ihren Höhepunkt erreicht die Synaptogenese gegen Ende des ersten Lebensjahres. Zu diesem Zeitpunkt können sich bis zu einer Million neue Synapsen pro Sekunde verknüpfen (Lagercrantz 2019).

Die neurosensorische Entwicklung des Gehirns entwickelt sich im letzten Trimenon ab der 16.-20. SSW. Dies ist im Vergleich zu den Sinnesrezeptoren, welche sich zum Beispiel in Augen und Ohren befinden und sich innerhalb der ersten Wochen ausbilden, relativ spät. Neben der sensorischen Entwicklung werden ebenso motorische, soziale und kognitive Bereiche ausgebildet. Diese werden noch während der SS miteinander in Verbindung gesetzt und verschaltet. Die weitere Entwicklung und Ausbildung der Neuronen werden von Faktoren wie genetischer Ausstattung, Umwelteinflüssen, Schlaf und Stimulation der Sinnesorgane sowie der sozialen und emotionalen Umgebung beeinflusst (Graven und Browne 2008).

Das Gehirn ist innerhalb dieser Zeit zahlreichen makroskopisch sichtbaren Formveränderungen ausgesetzt: Initial zeigt sich eine glatte Oberfläche, welche sich im Laufe der SS nach einem festgelegten Ablauf verändert und letztendlich aus Gyri und Sulci besteht. Gyri sind ausladende Windungen der Gehirnmasse, Sulci sind die daraus resultierenden Einziehungen. Primäre Sulci entwickeln sich zwischen der 8.-22. SSW, weitere zwischen der 14.-16. SSW, sekundäre Sulci zwischen der 30.-35. SSW und tertiäre ab der 36. SSW bis über die postnatale Zeit hinaus. Der größte Informationsfluss geschieht im Neokortex, auch kortikale graue Substanz genannt, welcher wie eine Rinde dem Gehirn aufliegt. Diese Schicht ist zwei bis fünf Millimeter (mm) dick und enthält überwiegend Neuronen. Subkortikale Kerne dienen zur Signalübertragung und Kommunikation zwischen dem Neokortex und dem Rest des Nervensystems. Um elektrische Nervenimpulse zu übertragen, bilden Neuronen die Axone aus. Umgeben sind Axone von einer lipidreichen, membranösen Isolierschicht namens Myelin. Bereiche des ZNS, in denen Axone dominieren, werden weiße Substanz genannt und sind im Gehirn innen und im Rückenmark außen gelegen (Stiles und Jernigan 2010). Insgesamt macht sie ca. die Hälfte der Gehirn- sowie der Rückenmarksmasse aus (Filley und Fields 2016).

Die Hirnentwicklung setzt sich auch postnatal fort: Mit etwa sechs Jahren ist das Gehirn etwa viermal so groß wie bei der Geburt und erreicht ca. 90 % des Volumens eines erwachsenen Menschen (Lenroot und Giedd 2006). Postnatal findet die Neurogenese nur noch stark vermindert statt. Im Erwachsenen wird ein gewisser Prozentsatz an neuen Neuronen in der SVZ gebildet und migriert anschließend beispielsweise zum Riechkolben oder zum Hippocampus. Die Proliferation und Migration von Glia-Vorläuferzellen finden, anders als bei den Neuronen, bis weit über die postnatale Zeit hinaus statt. Ebenso können weitere biologische Aktivitäten dieser Zellen wie Differenzierung und Reifung bis zur Adoleszenz andauern (Cayre et al. 2009).

1.2.1 Programmierter Zelltod

Während der Entwicklung nimmt der programmierte Zelltod einen hohen Stellenwert ein. Dieser physiologische Prozess tritt meist in Form von Apoptose auf und wird unter anderem durch die Aktivierung intrazellulärer Caspasen ausgelöst und gesteuert (Reed 2000). Da während der Gehirnentwicklung des Menschen weitaus mehr synaptische Verbindungen geschaffen werden als benötigt, werden mit natürlich vorkommendem Zelltod und gezielter systematischer Beseitigung durch Apoptose bis zu 50 % der erst kürzlich erstellten Verbindungen wieder gelöst. Beide Prozesse laufen jedoch nicht unbedingt gleichzeitig ab. Der natürlich vorkommende Zelltod findet hauptsächlich pränatal, selten postnatal statt (Stiles und

Jernigan 2010). Abgesehen von der Verminderung des Zellüberschusses kann durch diesen Prozess ebenso die Korrektur von Fehlern in der neuronalen Produktion bzw. Migration vorgenommen werden (Buss und Oppenheim 2004). Des Weiteren existieren Zellpopulationen, die nur eine zeitlich begrenzte Aufgabe in der Gehirnentwicklung spielen. Auch diese werden durch den programmierten Zelltod im Anschluss beseitigt (de la Rosa und de Pablo 2000).

1.3 Oligodendrozyten

Oligodendrozyten sind myelinisierende Gliazellen, welche erstmals im 16. Jahrhundert beschrieben wurden. Dieser Zelltyp bildet die Myelinscheiden, die zahlreiche Axone des ZNS umhüllen (Boullerne 2016; Montani 2020). Heute ist bekannt, dass Oligodendrozyten plastisch und adaptiv sind (Michalski und Kothary 2015). Die Zellmembran besteht aus einer großen Anzahl an Lipiden, welche zur charakteristischen „weißen Substanz“ führt (Boullerne 2016). Abgesehen von der mechanischen Stabilisierung reguliert sie den Proteingehalt sowie weitere Transportprozesse in und um die Axone, welche sie umhüllen (Poitelon et al. 2020). Im ZNS gibt es mehr als 100 unterschiedliche Axondurchmesser, die zwischen ca. 0,1-10 μm liegen können (Klingseisen und Lyons 2018). Oligodendrozyten bevorzugen Axone ab einem Durchmesser von 0,4 μm . Abhängig von der Dicke des Axons variiert somit die Dicke der Myelinscheide (Klingseisen und Lyons 2018). Einem Oligodendrozyt ist es möglich, bis zu 60 unterschiedliche axonale Internodien auszubilden und bis zu 160 Umwindungen pro Internodium zu bilden und dabei eine Länge von bis zu 1,7 mm zu erreichen (Stadelmann et al. 2019). Bis ein Oligodendrozyt die Myelinisierung um ein Axon abgeschlossen hat, dauert es ca. fünf Stunden (Czopka et al. 2013).

1.3.1 Oligodendrogenese

Die Entwicklung von Oligodendrozyten beginnt mit Oligodendrozytenorläuferzellen (OPC) aus Keimzonen, welche von neuralen Stammzellen im ventralen periventriculären Abschnitt des Rückenmarks auf der jeweiligen Segmenthöhe stammen (Tsai et al. 2016). Von dort aus migrieren sie weiter Richtung Rückenmark, ebenso von kaudal nach rostral Richtung Kleinhirn und in den sich entwickelnden Kortex (de Castro et al. 2013; Choe et al. 2014). Die OPCs des Großhirns hingegen stammen aus den periventriculären Abschnitten des Telencephalons, welche allerdings erst zu einem späteren Zeitpunkt nachweisbar sind und somit zeitlich versetzt mit der Migration und Differenzierung im Vergleich zum Rückenmark starten (Naruse et al. 2017). Die ventral gebildeten OPCs in der VZ und SVZ migrieren

tangential zu den dorsalen Anteilen des Kortex (Naruse et al. 2017). Nicht ganz geklärt ist dabei, ob alle OPCs aus der kortikalen VZ oder auch aus den Seitenkanten dieser stammen (Bergles und Richardson 2016). Während der Migration legen sie eine weite Strecke hinter sich bis sie am endgültigen Ziel angekommen sind. Währenddessen beginnen sie bereits mit der ersten Stufe der Differenzierung in Form von Oligodendrozytenvorläuferzellen (Sock und Wegner 2019). Sie folgen dabei einem festgelegten Migrationsweg, um durch das lokalisatorische Schema die Bereiche nach und nach zu besiedeln (Mecklenburg et al. 2011). Durch eine überschüssige Proliferation von OPCs wird gewährleistet, dass Myelin an mehreren Regionen gleichzeitig innerhalb kurzer Zeit gebildet wird (Snaidero und Simons 2017). Ein gewisser Anteil an OPCs verbleibt im Vorläuferstadium. Sie werden als „adulte OPCs“ bezeichnet, welche weiterhin proliferieren und so Nachschub für myelinisierende Oligodendrozyten bilden (Dimas et al. 2019; Pan et al. 2020). Bei Läsionen wird die verbleibende Menge an OPCs im adulten ZNS aktiviert und es kommt zur Proliferation, Differenzierung und anschließend zur Remyelinisierung der demyelinisierten Axone (Franklin und ffrench-Constant 2017; Berghoff et al. 2021).

Die Migration der OPCs in das gesamte ZNS wird von Wachstumsfaktoren wie dem „Blutplättchen-Wachstumsfaktor“ (PDGF, *engl. „Platelet-derived growth factor“*) und dem Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF, *engl. fibroblast growth factor*) kontrolliert, welche von Neuronen und Astrozyten freigesetzt werden (Baron et al. 2000). Die Fortbewegung der OPCs geschieht auf zwei verschiedenen Arten entlang des Gefäßnetzes: Entweder „krabbeln“ sie entlang der endothelialen Oberfläche der Gefäße oder sie „hüpfen“ von Gefäß zu Gefäß (Tsai et al. 2012). Sichtbar werden sie durch die Bildung des Proteoglycans Chondroitinsulfat Proteoglycan 4 (CSPG4/NG2), der α -Untereinheit des von Blutplättchen abgeleiteten Wachstumsfaktorrezeptors (PDGFR α) und der Transkriptionsfaktoren Olig1/2 und Sox10, welche sich durch Antikörper anfärben lassen (Bergles und Richardson 2016).

Nach der Migration differenzieren sich OPCs irreversibel zu postmitotischen, myelinbildenden Oligodendrozyten, indem sie eine festgelegte Reihenfolge an Entwicklungsschritten durchlaufen (Dimas et al. 2019; Snaidero und Simons 2017). Im ersten Schritt werden sie zu prämyelinisierenden Oligodendrozyten (präOL). Danach entwickeln sie sich weiter zu myelinisierenden, adulten Oligodendrozyten (aOL). Der gesamte Prozess der Migration sowie Differenzierung ist abhängig von vielen Signalmolekülen, Regelungen von Transkriptionsfaktoren, Aktivierungs-, Steuerungs-, Reifungs- und Wachstumsprozessen sowie Wechselwirkungen mit exogenen Faktoren (Bergles und Richardson 2016). Ebenfalls spielt Cholesterin eine wichtige Rolle, welches auch für die Myelinsynthese essentiell ist (Hubler et al. 2018). Da über die Blut-Hirn-Schranke kein systemisches Cholesterin in das ZNS gelangen

kann, muss das Gehirn das benötigte Cholesterin selbst herstellen (Poitelon et al. 2020). Ein Großteil der Myelinisierung findet postnatal statt, sodass Oligodendrozyten zu diesem Zeitpunkt einen hohen Cholesterinbedarf haben (Pan et al. 2020; Saher und Stumpf 2015). Ein paar Tage nach der Differenzierung der Oligodendrozyten wird bei einer Vielzahl der überschüssigen Zellen Apoptose induziert. Das Signal hierzu erhalten sie von den Axonen ihrer unmittelbaren Umgebung, abhängig von deren axonaler Oberfläche (McTigue und Tripathi 2008).

Oligodendrozyten können durch Hypoxie und oxidativen Stress leicht geschädigt werden, insbesondere während der Differenzierung und Myelinisierung (Roth und Núñez 2016). Myelinschädigung geschieht nicht nur im Rahmen des Zelltodes, sondern auch durch verminderte Myelinbildung, Abbau einer zuvor produzierten Myelinscheide oder Bildung einer abnormen Myelinscheide in Form von Dysmyelinisierung (Montani 2020).

1.3.2 Oligodendrozytenmarker

Durch den immunhistochemischen Nachweis verschiedener Markerproteine können die einzelnen Entwicklungsstadien von Oligodendrozyten voneinander unterschieden werden. Die in dieser Dissertation verwendeten Marker sind in Abbildung 1 dargestellt. Der Vollständigkeit halber sind ergänzend weitere Marker im Text beschrieben.

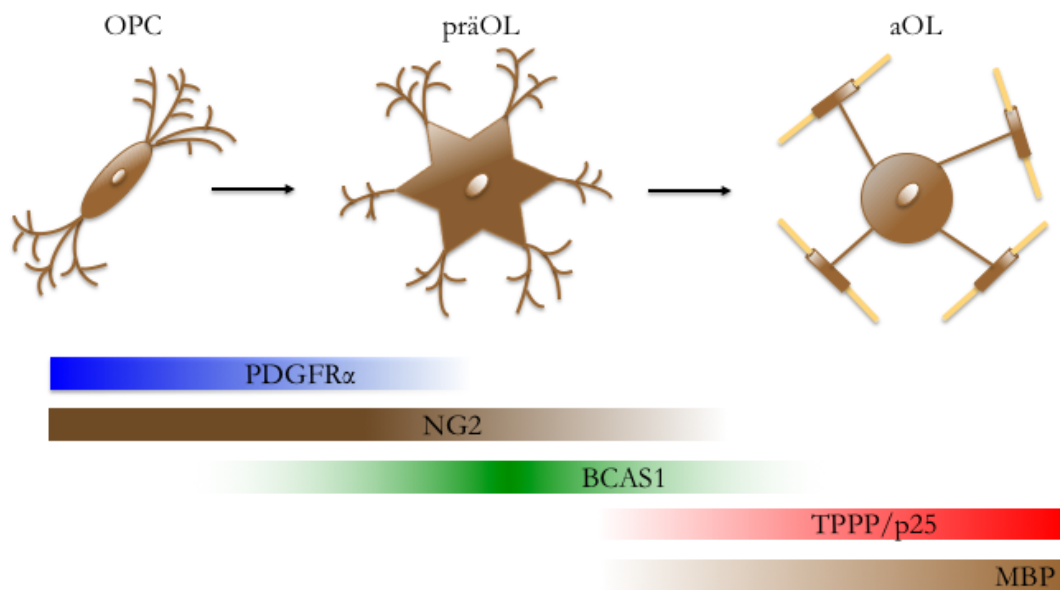


Abbildung 1: Markerproteine für Entwicklungsstadien von Oligodendrozyten

Die Grafik zeigt die Entwicklungsstadien von Oligodendrozyten in zwei Schritten: Die OPCs entwickeln sich durch die Übergangsstufe der präOLs zu den reifen, myelinbildenden aOL. Die Markerproteine PDGFR α , NG2, BCAS1, TPPP/p25 sowie MBP sind durch die langgezogenen Balken repräsentiert und zeigen den Zeitraum der Expression bzgl. der Entwicklungsstufen der Oligodendrozyten an. Die OPCs werden mit Hilfe der Markerproteine PDGFR α (blauer Balken) und NG2 (oberer brauner Balken) identifiziert, die präOLs hingegen über BCAS1 (grüner Balken) und die aOLs über TPPP/p25 (roter Balken). Myelin lässt sich durch das Markerprotein MBP (unterer brauner Balken) nachweisen.

PDGFR α : Oligodendrozytenvorläuferzellen, NG2: Oligodendrozytenvorläuferzellen bis prämyelinisierende Oligodendrozyten, BCAS1: prämyelinisierende Oligodendrozyten, TPPP/p25: adulte Oligodendrozyten, MBP: Myelinscheiden. (Eigene Grafik in Anlehnung an Silbereis 2010)

OPCs exprimieren den Blutplättchen Wachstumsfaktorrezeptor α (PDGFR) und das Neuron-Glia Antigen 2 (NG2), durch deren Nachweis sie sich identifizieren lassen. Die Weiterentwicklung zu den präOL ist an eine Änderung der Morphologie geknüpft. Hier erfolgt der Nachweis durch eine Expression der aus Brustkrebs-Gewebe-amplifizierten Sequenz 1 (BCAS1, engl. „breast cancer-amplified sequence 1“). PräOL produzieren außerdem das Mikrotubulus-assoziierte Protein (MAP), welches für die Bildung der Myelinscheiden eine wichtige Rolle spielt (Vouyiouklis und Brophy 1995). Die finale Differenzierung zu adulten, myelin-erhaltenden Oligodendrozyten ist mit der Expression von Tubulin polymerization-promoting protein (TPPP/p25) verbunden. Da die adulten Oligodendrozyten Myelin produzieren, lässt sich in diesem Stadium das Myelin durch einen Bestandteil der Myelinscheiden, das Myelin-Basische Protein (MBP), nachweisen.

1.3.2.1 PDGFR

PDGFR ist der Rezeptor für einen fundamentalen Proliferations-, Überlebens- und Differenzierungsfaktor für Oligodendrozyten. Er befindet sich nur auf Zellen, die sich zu Oligodendrozyten differenzieren sollen und gewährleistet somit eine zuverlässige Zuordnung der OPCs (Grinspan 2002). Ebenso wichtig ist PDGFR für das richtige Zeitfenster der Proliferation der Oligodendrozyten, da es eine vorzeitige Reifung hemmt (Nishiyama et al. 2009). Die proliferationsfördernde Eigenschaft bleibt jedoch auch im Erwachsenen Gehirn bestehen und trägt so zur adulten Oligodendrogenese und Myelinproduktion bei (Dang et al. 2019). Neu gebildete Oligodendrozyten im erwachsenen Organismus können also ebenfalls Myelin bilden und tragen so zu Reparaturprozessen bei (Young et al. 2013).

1.3.2.2 NG2

NG2 Zellen wurden erstmals von Chang et al. sowie Dawson et al. im Jahr 2000 in der weißen Substanz menschlicher Gewebeschnitte des Gehirns entdeckt (Bedner et al. 2020). Sie sind bedeutende proliferative Gliazellen und gelten als fünfte Hauptzellpopulation im ZNS (Du et al. 2021). Sie machen ca. 5-10 % der gesamten Zellen im fetalen sowie erwachsenen Gehirn aus und bilden im sich entwickelnden Gehirn mehr als 90 % der Oligodendrozyten der weißen Substanz (Hill und Nishiyama 2014; Huang et al. 2018).

Aus diesem Grund werden sie generell auch als OPCs beschrieben, da sie eine Produktionsgrundlage der im ZNS für die Entwicklung benötigten Oligodendrozyten bilden und somit als repräsentativ für OPCs gelten (Young et al. 2013; Song et al. 2017). Die Dichte der NG2+ Zellen in humanem Gewebe ist ähnlich der Dichte der Astrozyten (Bedner et al. 2020). NG2 Zellen sind auch im adulten ZNS zu finden, da ein Großteil der Zellen in einem Vorläuferstadium verbleibt und während ihrer gesamten Lebensspanne in der Lage ist, erneut Oligodendrozyten zu produzieren. Die Proliferationsrate ist dabei abhängig von der Entwicklungsperiode sowie von den unterschiedlichen Hirnregionen (Dawson et al. 2003; Sánchez-González et al. 2020; Young et al. 2013). NG2 Zellen stellen ebenfalls eine Subpopulation dar, welche unterschiedliche Eigenschaften aufweisen (Sánchez-González et al. 2020). Daher werden sie auch als multipotente Polydendrozyten bezeichnet, da sie sich beispielsweise nach Verletzungen zu Astrozyten differenzieren können (Hill und Nishiyama 2014; Huang et al. 2018). Ebenfalls können sie auf Neurotransmitter reagieren und Rezeptoren und Ionenkanäle produzieren, welche der Modulation neuronaler Aktivitäten und der Informationsweiterleitung durch Synapsen zu peripheren Neuronen dienen (Hill und Nishiyama 2014; Du et

al. 2021). Diese Rezeptoren sind beispielsweise ionotrope Glutamat- und GABA-Rezeptoren, welche direkte Verbindungen von Synapsen ermöglichen (Sánchez-González et al. 2020).

Anders als die restlichen Gliazellen stellen NG2 Zellen direkte Verknüpfungen mit den Neuronen her, indem sie Synapsen ausbilden. So sind sie an der Modifizierung neuronaler Aktivität beteiligt und weisen darüber hinaus neuroprotektive Eigenschaften auf (Parolisi und Boda 2018).

1.3.2.3 BCAS1

BCAS1+ Oligodendrozyten sind prämyelinisierende und frühe, aktiv myelinisierende Oligodendrozyten, welche als Zwischenstufe zwischen den OPCs und den aOL eingeordnet werden. In Mäusen exprimieren prämyelinisierende Oligodendrozyten sowohl NG2 als auch BCAS1 und das Ektonucleotid-Pyrophosphatase/Phosphodiesterase-6-Protein (ENPP6), beim Menschen hingegen wird kaum eine Überlappung mit NG2+ Zellen beobachtet (Fard et al. 2017). BCAS1 war eines der am höchsten exprimierten Proteine in einem Proteomanalysenansatz in einer bestimmten oligodendroglialen Zellpopulation (Sharma et al. 2015). Ursprünglich wurde es in humanen Brustkrebszellen charakterisiert, weist aber auch eine hohe und im ZNS selektive Expression in Oligodendrozyten auf (Collins et al. 1998; Zhang et al. 2014). BCAS1+ Oligodendrozyten sind in der weißen Substanz nur während der Embryonalentwicklung und für eine kurze Zeit postnatal nachweisbar, können aber in der kortikalen grauen Substanz bis ins hohe Alter gefunden werden (Fard et al. 2017). Die Expression von BCAS1 ist rückläufig, sobald die Oligodendrozyten reif werden. Kürzlich veröffentlichte Studien haben BCAS1+ Zellen identifiziert, welche während der gesamten Lebensspanne in der grauen Substanz und auch am Rande chronischer Multiple Sklerose (MS)-Läsionen in der weißen Substanz auftreten können. Da diese Zellen oligodendrogliale Antigene exprimieren, konnten sie den Oligodendrozyten zugeordnet werden. Jedoch exprimieren BCAS1+ Oligodendrozyten weder OPC-spezifische noch aOL-spezifische Antigene, sodass BCAS1+ Oligodendrozyten wohl eine Zwischenstufe zwischen den beiden Differenzierungsstadien darstellen. Es besteht dennoch die Möglichkeit, dass sich die BCAS1+ Oligodendrozyten aus unreifen oligodendroglialen Stammzellen, die sich in der grauen Substanz befinden, entwickeln (Fard et al. 2017).

1.3.2.4 TPPP/p25

TPPP/p25 ist ein ZNS-spezifisches Phosphoprotein, welches reife Oligodendrozyten exprimieren. Es ist durch das Tubulin-bindende Protein an der Verankerung des Mikrotubuli-

Netzwerks in den Zellen beteiligt (Lehotzky et al. 2010). TPPP/p25 finden sich nur bei Oligodendrozyten, nicht aber bei Neuronen und Astrozyten. Eine optimale Dichte der TPPP/p25 Zellen ist wichtig für die Differenzierung der Oligodendrozyten sowie dadurch bedingt die Bildung der Myelinscheiden (Oláh et al. 2020). Sie entstehen unter anderem durch die Verlängerung der Mikrotubuli, wodurch TPPP/p25 eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung sowie Aufrechterhaltung und Plastizität der Myelinscheiden spielt (Fu et al. 2019).

1.3.2.5 MBP

Das Myelin-basische Protein (MBP) wird zur Identifizierung von Myelin im Gewebeschnitt genutzt, da es auch als „Exekutivmolekül“ von Myelin bezeichnet werden kann (Friess et al. 2016). MBP reguliert die Verpackung des Myelins, welche von außen nach innen stattfindet (Snaidero und Simons 2017). Die gegenüberliegenden inneren Membranen werden miteinander verbunden, indem sie sich zu einem dichten fibrillären Netzwerk gruppieren (Michalski und Kothary 2015). Dies wird auch als Classic-MBP bezeichnet. Darüber hinaus gibt es noch das Golli-MBP, welches in Neuronen, Oligodendrozyten und T-Zellen zu finden ist (Siu et al. 2015).

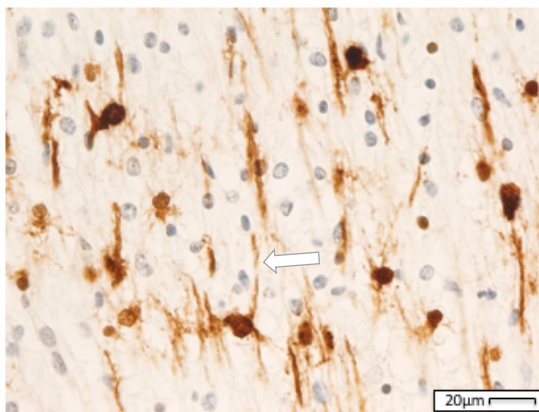


Abbildung 2: Oligodendrozyten im Rückenmark eines Feten in der 16. SSW

Die lichtmikroskopische Aufnahme zeigt myelinbildende Oligodendrozyten (braun) in der weißen Substanz des Rückenmarks eines Feten in der 16. SSW. Die Oligodendrozyten zeigen deutliche Fortsätze, z. T. sind neu gebildete zu erkennen (siehe weißer Pfeil). Färbung: MBP, Originalvergrößerung 400x

Die Abbildung 2 zeigt einen Ausschnitt aus der weißen Substanz des Rückenmarks eines menschlichen Feten in der 16. SSW. Zu sehen sind Oligodendrozyten (braune Zellen), welche erste Internodien bilden, um dadurch Axone zu umhüllen. Oligodendrozyten sind in der Lage, mehrere Axone gleichzeitig zu umhüllen.

1.4 Myelin

Seit 1854 wird der Begriff Myelin, welches griechisch „Mark“ (Myelos) bedeutet, von Rudolf Virchow verwendet (Boullerne 2016). Myelin ist neben der Senkung des Energiebedarfs in der Lage, Laktat als Energiequelle zu liefern, und hat im Vergleich zu Zellen des ZNS einen hohen Lipidgehalt (Fünfschilling et al. 2012; Poitelon et al. 2020). Aus diesem Grund ist Myelin makroskopisch weiß und wird deshalb als „weiße Substanz“ bezeichnet (Mallucci et al. 2015). Der Wasseranteil des Myelins beträgt 40 % und ist gegenüber der grauen Substanz mit 80% schlecht hydratisiert (Simons und Nave 2016). Es besteht zu ca. 70 % aus Lipiden und zu ca. 30% aus Proteinen und hat einen großen Anteil gesättigter und langkettiger Fettsäuren (Min et al. 2009; Schmitt et al. 2015). Dies hat Auswirkungen auf die Anordnung der Lipide innerhalb der Membranen sowie deren Dicke (Imgrund et al. 2009). Um den enormen Lipidbedarf bei der Bildung der Myelinscheiden zu decken, kommt es zu einer verstärkten Expression lipogener Enzyme durch die im ZNS vorhandenen Oligodendrozyten (Montani 2020). Die meisten hierfür benötigten Lipide sowie Proteolipidproteine werden in deren endoplasmatischem Retikulum (ER) synthetisiert (Baron et al. 2015). Durch den Golgi Apparat gelangen sie in Vesikel verpackt zur sich bildenden Myelinscheide (Snaidero et al. 2014). Sie durchqueren zytosolische Kanäle, welche röhrenförmig zwischen den Myelinschichten verlaufen (Lappe-Siefke et al. 2003). Die Hauptproteine sind zum einen MBP, welches über Kinesine aus dem Zellkörper der Oligodendrozyten zur Myelinmembran gebracht wird, und zum anderen das Proteolipidprotein (PLP) (Mallucci et al. 2015; Snaidero und Simons 2017). Ebenfalls innerhalb der Membran befinden sich Glycosphingolipide sowie Cholesterin (Schmitt et al. 2015). Weiterhin sind das an der Oberfläche der Myelinscheide exprimierte Myelin-Oligodendrozyten-Glykoprotein (MOG) und das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG), welches unmittelbar ad-axonal gelegen ist, bekannt (Quarles et al. 1979).

Die Myelinisierung beginnt ab dem Zeitpunkt, wenn ein Oligodendrozytenmembranausläufer ein Axon erreicht hat und eine sogenannte Punktschweißung eingeht (Fields 2014). Sie läuft immer in einer abgestimmten und aufeinanderfolgenden Reihenfolge ab (Michalski und Kothary 2015). Der gesamte Prozess geschieht durch Polymerisation und Depolymerisation von Aktin an der Spitze der Myelinscheiden, von wo aus die Myelinscheide nach innen wächst (Klingseisen und Lyons 2018). Durch das Hinzufügen neuer Membranen, welches auch als radiales Myelinwachstum bezeichnet wird, gewinnt die Myelinscheide nach und nach an Größe. Das Umwickeln der Axone durch das Myelin verläuft von außen nach innen, was bedeutet, dass sich unterhalb der zuvor gebildeten Myelinscheide die nächste Schicht bildet und sich um das Axon windet (Snaidero et al. 2014). Während dieser Zeit dehnt sie sich

ebenfalls seitlich, also in Richtung der Ranvierscher Schnürringe, aus, um auch longitudinal an Größe zu gewinnen (Domènech-Estévez et al. 2016; Snaidero et al. 2014). Durch diese seitliche Verbindung mit der axonalen Oberfläche entwickelt sich nach und nach das spiralförmige Muster der Myelinscheiden (Snaidero und Simons 2017). Die innerste und äußerste Schicht bestehen beide aus einer nicht verdichteten Zunge, und die Seitenkanten bestehen aus zytoplasmatischen paranodalen Schleifen, wodurch die Grenze zu den Ranvierschen Schnürringen gebildet wird (Nave 2010). Über die nicht verdichteten Bereiche wird Laktat zu dem darunter liegenden Axon transportiert (Saab et al. 2013). Die Ausdehnung der Myelinisierung unterscheidet sich nicht nur durch den Axondurchmesser, sondern auch durch die Lebenszeit des Axons, den Gehirnbereich, den neuronalen Subtyp und die lokale zelluläre und molekulare Mikroumgebung (Klingseisen und Lyons 2018). Bevor das Myelin reif ist, bilden sich Septinfilamente aus, welche direkt unter der innersten Lamelle liegen (Snaidero und Simons 2017). Ist das Wachstum abgeschlossen, wird ihre Position durch Ankyrin-G, welches von den Oligodendrozyten produziert wird, fixiert (Chang et al. 2014).

1.4.1 Astrozyten

Astrozyten wurden erstmalig 1871 von Camillo Golgi beschrieben und haben im Vergleich zu Neuronen im Durchschnitt die größere Zelldichte im ZNS (Palmer und Ousman 2018). Insgesamt machen sie ca. 30 % der gesamten Zellen im ZNS aus und sind für viele neuronale Entwicklungs- sowie Organisationsschritte wie beispielsweise die Bildung von Synapsen wichtig (Liddel und Barres 2017). Sie entstammen ektodermal bzw. neuroepithelial und sind für die Bildung vieler Rezeptoren, Kanäle und Membrantransporter verantwortlich (Verkhatsky und Nedergaard 2017). Ebenfalls halten sie das extrazelluläre Ionengleichgewicht aufrecht und verwerten Neurotransmitter und andere Metaboliten (Molofsky et al. 2012). Sie tragen zur Aufrechterhaltung der physiologischen ZNS-Funktion bei, indem sie die Neuronen mit Nährstoffen versorgen, die Integrität der Blut-Hirn-Schranke regulieren und synaptische Schaltkreise steuern (Chen et al. 2020). Sie leisten einen wichtigen Beitrag zur Plastizität, indem sie bei der Informationsverarbeitung, Gedächtnisbildung und -stabilisierung eine Rolle spielen (Adamsky und Goshen 2018). Astrozyten helfen beim synaptischen Informationsfluss, indem sie Neurotransmittervorläufer an die Neuronen liefern. Sie steuern die metabolische Homöostase durch Glykogenfreisetzung, welche den Neuronen Energie liefert (Burda et al. 2016). Sie regulieren außerdem den Energiehaushalt, den pH-Wert des Blutes sowie die Natriumkonzentration (Pekny et al. 2016). Das ZNS ist sehr anfällig für oxidativen Stress, was an dem hohen Stoffwechsel und der damit einhergehenden

Bildung von freien Radikalen liegt (Chen et al. 2020). Da Astrozyten über reichlich Cytochrom P450 und andere antioxidative Abwehrmechanismen verfügen, leisten sie einen großen Beitrag zum Abwehrsystem des ZNS (Roth und Núñez 2016).

1.5 Multiple Sklerose

MS ist eine chronisch entzündliche Erkrankung, die das Myelin des ZNS betrifft und welche zu den häufigsten autoimmunen Erkrankungen des ZNS zählt (Aktas et al. 2018). Bei der MS wird im Rahmen einer fokalen lympho-monozytären Infiltration das Myelin geschädigt. Konsekutiv nehmen auch die Axone Schaden. Die Ätiologie der MS ist bis heute ungeklärt (Cunniffe und Coles 2021). Erstmanifestation einer MS ist meistens das junge Erwachsenenalter, die Erkrankung kann sich jedoch prinzipiell in jeder Altersgruppe manifestieren (Reich et al. 2018). Die Erstsymptomatik tritt oftmals in Form von Sehstörungen durch eine Optikusneuritis mit einer verminderten Sehschärfe auf oder manifestiert sich durch andere sensorische und motorische Störungen wie Dysarthrie, Dysphagie, Ataxie oder Blasenfunktionsstörungen (Aktas et al. 2018; Cunniffe und Coles 2021). Diese und viele weitere Symptome schränken die Lebensqualität der Patienten enorm ein.

Bislang gibt es keinen kurativen Therapieansatz. Die Therapie besteht bisher aus einer Kombination von verschiedenen immunsuppressiven bzw. immunmodulierenden Substanzen sowie einer symptomatischen Behandlung möglicher Symptome. Die Patienten haben im Durchschnitt eine um etwa sechs Jahre reduzierte Lebenserwartung im Vergleich zur Normalbevölkerung (Franklin 2002; Edan 2018). Von der MS existieren unterschiedliche Verlaufsformen. Eine mit plötzlich auftretenden (schwerer) Symptomatik einhergehendem Verlauf wird als schubförmig bezeichnet, wovon insbesondere jungen Patienten häufig betroffen sind. Die primär progrediente Form hingegen geht mit einer schleichenden, nicht schubartigen klinischen Verschlechterung der Symptome einher und betrifft häufiger ältere Patienten. Bei dieser Verlaufsform zeigen sich die neurologischen Ausfälle meist an der unteren Extremität. In ca. 70 % der Patienten mit einem schubförmigen Verlauf kommt es nach ungefähr 10-15 Jahren zu einem Übergang zu einem progressiven Verlauf. Diese Verlaufsform wird als sekundär progrediente Form bezeichnet (Lublin et al. 2014).

Um MS zu diagnostizieren, ist die Magnetresonanztomographie (MRT) von Gehirn und Rückenmark ein wesentliches diagnostisches Hilfsmittel (Filippi et al. 2016). Hierbei zeigen sich in der weißen Substanz des ZNS zunächst fokale Läsionen, auch Plaques genannt (Cairns et al. 2022; McGinley et al. 2021). Plaques entstehen durch eine Demyelinisierung und damit

einhergehende verminderte Axondichte (Dobson und Giovannoni 2019). Eine typische Lokalisation dieser, auch als T2-hyperintense Bereiche bezeichneten Läsionen, ist die unmittelbare Nachbarschaft zu den Hirnventrikeln. Zusätzlich kann es durch ein Kontrastmittel in gewissen Bereichen zu einer Kontrastverstärkung kommen, was auf eine Störung der Blut-Hirnschranke hinweist (Filippi et al. 2016). Hier Auch histopathologisch ist das Hirnparenchym dieser Regionen verändert. Es zeigen sich kortikal entmarkte Regionen, welche ebenfalls als Plaques bezeichnet werden. Diese sog. Plaques können als histopathologisches Korrelat der Progression der Erkrankung gelten (Albert et al. 2007; Junker et al. 2020).

Mehrere Studien beschäftigten sich bereits mit der Möglichkeit einer axonalen Remyelinisierung, welche die entzündliche Demyelinisierung der Axone rückgängig machen könnte (Patani et al. 2007). Man geht davon aus, dass während der Remyelinisierung die zellulären und molekularen Prozesse der Myelinisierung während der Entwicklung rekapituliert werden. Hierbei soll durch eine Remyelinisierung versucht werden, das ursprüngliche Leitungssystem wieder herzustellen (Cunniffe und Coles 2021). Dies geschieht durch erneute Myelinisierung der entmarkten Axone (Franklin und ffrench-Constant 2017). Unterstützt wird dieser Prozess durch Mikroglia, welche Myelinreste abtransportieren und dadurch die OPCs zur Rekrutierung und zur Differenzierung in myelinisierende Oligodendrozyten anregen (Neumann et al. 2009; Lloyd und Miron 2019). Ebenfalls benötigt es Cholesterin für die Bildung neuer Myelinscheiden (Berghoff et al. 2021).

Interessanterweise lassen sich BCAS1+ Oligodendrozyten im chronischen Läsions- und Erkrankungsstadium der MS nachweisen. Es befinden sich somit aktiv myelinisierende Oligodendrozyten innerhalb bzw. am Rand der Läsionen (Fard et al. 2017).

Über viele Oligodendrozytenmarker gibt es bereits Erkenntnisse über den Expressionsverlauf während der Oligodendrozytenentwicklung und das Vorhandensein bzw. die Migration der entsprechenden Zellpopulationen im ZNS. Allerdings basieren diese Erkenntnisse überwiegend auf Untersuchungen des Hirngewebes von Nagetieren. Daher konnte beispielsweise bislang die Frage noch nicht beantwortet werden, ob und in welchem Ausmaß auch adulte Oligodendrozyten zur Remyelinisierung bei der MS beitragen (Fard et al. 2017).

Die Studie von Glezer et al beschreibt eine Remyelinisierung in den demyelinisierten Bereichen des ZNS durch eine Rekrutierung von OPCs, welche dort zur Zellteilung angeregt werden (Glezer et al. 2006). Wenn ein erneuter Entmarkungsschub innerhalb einer Läsion zunächst ausbleibt, können die remyelinisierten Axone bis zu einer erneuten Entzündungsreaktion bestehen bleiben (Patrikios et al. 2006).

Die Studie von Yeung et al zeigte ebenfalls eine Migration von Oligodendrozyten bei Patienten mit MS. Ein möglicher Therapieansatz könnte daher sein den Abbau von Oligodendrozyten zu hemmen und somit bessere Bedingungen zur Remyelinisierung zu erreichen. Außerdem wird aus den Ergebnissen dieser Studie nochmal der Unterschied von tierischen zu humanen Oligodendrozyten in demyelinisierten Bereichen deutlich, weshalb es für mögliche Therapien umso wichtiger ist, Oligodendrozyten in gesunden sowie MS-erkrankten Patienten zu untersuchen (Yeung et al. 2019).

Wichtig ist es daher, die genauen Prozesse und Mechanismen der Differenzierung von BCAS1+ Oligodendrozyten in gesunden humanen Hirngeweben zu charakterisieren, um die Myelinisierung und Remyelinisierung besser zu verstehen und dadurch mögliche neue Therapieansätze der MS finden zu können. Studien belegen zum Beispiel, dass eine Myelinisierung auch im adulten gesunden Gehirn noch induzierbar ist und unter anderem physiologisch bei Lernprozessen stattfindet (Zatorre et al. 2012). So könnten die Mechanismen charakterisiert werden, die eine Steuerung der Remyelinisierung erlauben würden.

1.6 Fragestellung/ Ziel der Arbeit

BCAS1 wurde kürzlich in unserer Arbeitsgruppe als Markerprotein für präOL und aktiv myelinisierende Oligodendrozyten charakterisiert. Das genaue Expressionsmuster während der physiologischen Myelinisierung ist jedoch noch unbekannt. Der Fokus dieser Dissertation liegt insbesondere auf der Myelinisierung während der menschlichen Hirnentwicklung. Hierzu soll zuerst die Expression von BCAS1+ auf Oligodendrozyten in humanem Gewebe untersucht werden. Des Weiteren soll der Frage nachgegangen werden, ob BCAS1+ Zellen eine eigene Vorläuferpopulation darstellen oder eine Zwischenstufe zwischen NG2+ Polydendrozyten und TPPP/p25+ adulten, Myelin-erhaltenden Oligodendrozyten darstellen. Für OPCs werden die Marker PDGFR α und NG2, für präOL BCAS1 und für aOL TPPP/p25 verwendet. Durch Doppelfärbungen der Gewebeschnitte werden mehrere Entwicklungsstufen der Oligodendrozyten gleichzeitig sichtbar gemacht und hinsichtlich der Zelldichte und Lokalisation ausgewertet. Zusätzlich werden die Gewebe auf den Grad des vorhandenen Myelins hin untersucht, um eine Korrelation zwischen der Oligodendrozytenentwicklung und der stattfindenden Myelinisierung zu ermöglichen. Dabei werden verschiedene Hirnregionen mit der MBP Immunhistochemie (IHC) zu unterschiedlichen Zeitpunkten ausgewertet, die die Migration und regionsabhängige Differenzierung der Zellen abbilden sollen. Ziel ist es, die oligodendroglialen Differenzierungsstadien mit der Myelinisierung in

Zusammenhang zu bringen, um so einen zeitlichen und örtlichen Zusammenhang während der menschlichen Embryonalentwicklung zu definieren.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchtes Gewebe

In dieser Dissertation wurde im Rahmen der Routinediagnostik asserviertes Autopsiegewebe aus dem Archiv des Instituts für Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen untersucht. Um die zellulären Mechanismen der Myelinisierung während der menschlichen Entwicklung zu studieren, wurde ZNS-Gewebe von Feten und Säuglingen von der elften Gestationswoche bis zu 13 Lebensmonaten ohne pathologischen Befund im Gehirn untersucht (Tabelle 1). Für die Auswertung wurden die Feten in folgende Gestationswochen gruppiert: a) 11.-17. SSW, b) 28.-36. SSW, c) 0 Jahre und d) 1-2 Jahre. In die Analyse eingeschlossen wurden Gewebestücke aus dem Bereich des zervikalen Rückenmarks, des Klein- und des Frontalhirns. Zusammenfassend sind klinische Angaben, Lebensalter, Geschlecht und verfügbare Hirnregionen in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Fälle

(n. b.= nicht bekannt), *(in den Ergebnissen mit 0 Jahren zusammengefasst), **(in den Ergebnissen mit 1 Jahr zusammengefasst)

Fallnummer	Untersuchte Hirnregionen	Alter	Geschlecht	Todesursache
1	Rückenmark Kleinhirn Frontalhirn	11. SSW	weiblich	Abort
2	Rückenmark Kleinhirn Frontalhirn	12. SSW	n. b.	Abort
3	Rückenmark Okzipitallappen Frontalhirn	16. SSW	weiblich	Abort
4	Rückenmark Kleinhirn + Hirnstamm Frontalhirn	17. SSW	weiblich	Schwangerschaftsabbruch

Fallnummer	Untersuchte Hirnregionen	Alter	Geschlecht	Todesursache
5	Rückenmark Kleinhirn + Hirnstamm Frontal links	27. SSW	n. b.	Intrauteriner Fruchttod
6	Rückenmark Kleinhirn + Hirnstamm Frontal links	27. SSW	weiblich	n. b.
7	Rückenmark Kleinhirn Frontalhirn	32.+1 SSW	weiblich	n. b.
8	Rückenmark Gyrus cinguli	34. SSW	männlich	Lungenhypoplasie/ Hypotrophie
9	Rückenmark zervikal Rückenmark thorakal Rückenmark lumbal Pons Gyrus cinguli	34.-36. SSW	männlich	n. b.
10	Rückenmark zervikal Rückenmark thorakal Rückenmark lumbal Kleinhirn links Kleinhirn rechts Frontalhirn	38.+6 SSW	weiblich	Intrauteriner Fruchttod
11	Kleinhirn Frontalhirn	wenige Stunden	weiblich	Peripartale Hypoxie *
12	Rückenmark Kleinhirn links Kleinhirn rechts Frontal links	1 Tag	männlich	Lungenblutung *

Fallnummer	Untersuchte Hirnregionen	Alter	Geschlecht	Todesursache
13	Rückenmark zervikal Rückenmark thorakal Rückenmark lumbal Kleinhirn rechts Frontalhirn links	2 Tage	weiblich	Sepsis *
14	Kleinhirn Frontalhirn	3 Wochen	männlich	Plötzlicher Kindstod *
15	Kleinhirn Frontalhirn	11 Monate	weiblich	Unfall (Tod nach Sturz) **
16	Rückenmark Frontalhirn	13 Monate	weiblich	Atemstillstand **

2.2 Immunhistochemische Färbungen

Für die Untersuchung des Autopsiegewebes wurden Hirnschnittpräparate angefertigt, welche für die unterschiedlichen Auszählungsmethoden spezifischen Färbungen unterzogen wurden.

2.2.1 Lichtmikroskopische Färbungen

Nach Anfertigen von etwa 5 mm dicken Serienschnitten aus den Paraffinblöcken von Gehirn und Rückenmark unter Zuhilfenahme eines Mikrotoms wurden diese auf einen Objektträger aufgebracht und mit Xylol entparaffiniert. Anschließend wurden sie in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert. Es folgte die Antigendemaskierung, hierfür wurden die Paraffinschnitte drei Minuten lang in kochendem 10 mM Citratpuffer inkubiert. Es folgte eine Spülung mit einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung (PBS). Dieser Schritt wurde insgesamt fünf Mal wiederholt. Danach wurde für 20 min eine H₂O₂-Lösung, welche aus 45 ml PBS und 5 ml H₂O₂ 30% bestand, hinzugegeben, um die endogene Peroxidase zu hemmen. Daraufhin wurde erneut mit PBS gespült. Um die unspezifische Antikörperbindung zu vermindern, folgte eine 20-minütige Inkubation mit einem Blockierungspuffer (10 % fetales Kälberserum in PBS). Es folgte eine Vorbereitung der Präparate für die Inkubation mit dem primären Antikörper. Primäre Antikörper wurden zunächst mit einem Blockierungspuffer verdünnt und bis zum nächsten Morgen bei 4°C inkubiert und anschließend dreimal mit PBS

gespült. Danach konnten die biotinylierten, entsprechend verdünnten sekundären Antikörper bei Raumtemperatur aufgetragen werden. Zur Entfernung der nicht gebundenen sekundären Antikörper wurde nach einer Stunde das Präparat erneut mit PBS gespült. Da an das Biotin des sekundären Antikörpers Extravidin-Peroxidase bindet, wurde diese auf die Schnitte aufgetragen und nach einer Stunde mit PBS abgespült. Anschließend wurde der Schnitt mit 3-3-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid (DAB) unter Zugabe von H_2O_2 inkubiert. Durch Oxidation entstand eine braune Farbreaktion, die am Ort der Antikörper-Antigenbindung präzipitierte. Danach wurde 30 s mit einer Mayers Hämalaun-Lösung gefärbt und mit einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert. Als letztes folgte eine Inkubation in Xylol und die Eindeckelung der Schnitte auf den Objektträgern.

Die für die immunhistochemische Färbung verwendeten Lösungen sind der Tabelle 2, die verwendeten Reagenzien der Tabelle 3 zu entnehmen.

2.2.2 Immunfluoreszenzfärbung

Es wurden aus Gehirn- und Rückenmarksgewebe Paraffinblöcke hergestellt und durch die Bearbeitung mit Hilfe eines Mikrotoms 1 μ m dicke Paraffinschnitte hergestellt. Diese wurden auf Objektträger aufgebracht, über Nacht bei 56°C „angebacken“ und anschließend durch das Einbringen in Xylol und eine absteigenden Alkoholreihe entparaffiniert bzw. rehydriert. Es folgte die Antigendemaskierung mit Hilfe eines Steamers/Dampfgeräts, hierfür wurden die Paraffinschnitte 15 min lang in 10 mM Citratpuffer pH 6 bei 99°C inkubiert und anschließend, nach kurzem Abkühlen, mit 1x PBS gespült.

Die Gewebeschnitte wurden nach der Inkubation nicht gespült, sondern der Blockierungspuffer wurde dekantiert und der unkonjugierte Primärantikörper in der entsprechenden Verdünnung auf den Gewebeschnitt aufgebracht. Die Inkubation erfolgte über Nacht bei 4°C in einer feuchten Kammer. Nach der Inkubation wurden die Schnitte dreimal mit 1x PBS gespült. Der nächste Schritt war die Inkubation mit dem biotinylierten Sekundärantikörper für eine Stunde bei Raumtemperatur, ebenfalls in der feuchten Kammer.

Zur Entfernung des im Überschuss aufgetragenen Sekundärantikörpers wurde der Gewebeschnitt dreimal mit 1x PBS gespült. Da der mit Biotin markierte Sekundärantikörper und das Streptavidin - Peroxidase - Konjugat (ExtraAvidin-Peroxidase) eine hohe Affinität zueinander haben, wurde dieses auf die Schnitte aufgetragen. Nach einer Stunde Inkubationszeit wurde der Gewebeschnitt mit 1x PBS gespült.

Sowohl der primäre als auch der sekundäre Antikörper und auch die ExtraAvidin-gekoppelte Peroxidase werden in 10% Goat-Serum/1xPBS Blockierungspuffer angesetzt bzw. verdünnt.

Die Zellkerne wurden 30 s mit einer Mayers Hämalaun-Lösung gefärbt und der Objektträger bzw. das Gewebe mit einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert. Als letztes folgte eine Inkubation in Xylol und die Eindeckelung der Schnitte auf den Objektträgern.

Die für die Immunfluoreszenzfärbung verwendeten Lösungen sind der Tabelle 2, die verwendeten Reagenzien der Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 2: Lösungen

Lösung	Zusammensetzung
HCl-Alkohol	1 % HCl absolut in 70 % Isopropanol
DAB Stammlösung: 1g DAB in 40ml 1x PBS lösen	49 ml 1x PBS 1 ml DAB Stammlösung 20 µl Wasserstoffperoxid
Citratpuffer, 10mM, pH 6,0	2,1 g Citronensäure in 1 l Aqua bidest lösen und mit NaOH auf pH 6 einstellen
Paraformaldehyd (PFA), 4 % Lösung	40g Paraformaldehyd in 1 Liter 1x PBS auf pH 7,4 einstellen
Tris-EDTA Puffer, pH 8,0	12,10g Tris + 2,920g EDTA + 900ml Aqta dest lösen und mit HCl auf pH 8,0 einstellen
10x PBS (phosphatgepufferte Salzlösung)	95,5g PBS in 1 Liter Aqua dest
1x PBS	10x PBS Stammlösung 1:10 mit Aqua dest verdünnen

Tabelle 3: Reagenzien

Reagenzien	Bezugsquelle
DAB (3,3'-Diaminobenzidin)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt dihydrate)	Firma: Fluka, St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten
Essigsäure	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
Ethanol, absolut	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
ExtrAvidin-Peroxidase	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Goat Serum (Sterile Filtered)	Biowest, Nuailé, Frankreich
H ₂ O ₂ (Wasserstoffperoxid), 30 %	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
HCl (Salzsäure)	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
Mayer's Hämalaun	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland
Paraffin (Paraplast Plus®)	Tyco Healthcare, Neustadt, Deutschland
Xylol	Chemsolute, Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland
Zitronensäure	Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland

2.2.3 Verwendete Antikörper

Als lichtmikroskopische immunhistochemische Färbungen wurden für prämyelinisierende und aktiv myelinisierende Oligodendrozyten BCAS1 (NABC1), für Oligodendrozytenvorläuferzellen NG2 und PDGFR α , für adulte Oligodendrozyten TPPP/p25 und für Myelin MBP und MAG verwendet. Die Antikörper sind in Tabelle 4 beschrieben.

Zur Mehrfachmarkierung wurden die Schnitte mit BCAS1 und TPPP/p25, BCAS1 und NG2, BCAS1 und PDGFR sowie PDGFR und NG2 in Immunfluoreszenz durch Tyramide SuperBoostTM-Kits (Invitrogen) angefertigt, indem Anti-Digoxigenin-Rhodamin-Fragmente verwendet wurden. Somit wurden die Objektträger mit den jeweiligen Antikörpern, welche der Tabelle 5 und 6 zu entnehmen sind, doppelt gefärbt.

Tabelle 4: Verwendete monoklonale Antikörper

Antikörper	Antigen/Zielstruktur, Klonnummer	Ursprungsspezies	Verdünnung/Vorbereitung	Firma, Herstellungsort
MBP	Myelin-basisches Protein (Myelinprotein), 12	Kaninchen	1:2000	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland
MAG	Myelin-assoziiertes Glykoprotein (Myelinprotein), 513	Maus	1:2 1:10 MW Citrat	Abcam, Cambridge, United Kingdom
NG2	OPC	Kaninchen	1:200 MW EDTA EDTA Steamer MW Citrat	Millipore (früher Chemicon), Burlington, Massachusetts, Vereinigte Staaten

Antikörper	Antigen/Zielstruktur, Klonnummer	Ursprungsspezies	Verdünnung/Vorbereitung	Firma, Herstellungsort
Olig2	alle oligodendroglialen Zellen	Kaninchen	1:500 1:1000 MW Citrat	Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd., Gunma, Japan
TPPP/P25	Adulte Oligodendrozyten, EPR22059-270	Kaninchen	Großhirn (1:700), Rückenmark (1:2000) MW Citrat	Abcam, Cambridge, United Kingdom
PDGFRα	OPC	Kaninchen	1:500 MW TE 1:250 MW Citrat	Abcam, Cambridge, United Kingdom
NABC1 mk	BCAS1 (breast cancer-amplified sequence 1) prämyelinisierende und aktiv myelinisierende Oligodendrozyten	Maus	1:500 MW Citrat 1:200	Santa Cruz, <u>Dallas, Texas, Vereinigte Staaten</u>
NABC1 pk	BCAS1 (breast cancer-amplified sequence 1) prämyelinisierende und aktiv myelinisierende Oligodendrozyten	Kaninchen	1:100 MW Citrat	Abcam, Cambridge, United Kingdom

MBP=Myelin-Basisches Protein, MAG=Myelin-assoziiertes Glykoprotein, NG2=Neuron-Glia Antigen 2, Olig2=Oligodendrozyten Transkriptionsfaktor 2, TPPP/p25= Tubulin polymerization-promoting protein, PDGFR α =platelet-derived growth factor receptor α , NABC=BCAS1= aus Brustkrebs-Gewebe amplifizierte Sequenz 1

Tabelle 5: Verwendete biotinylierte sekundäre Antikörper

Antikörper	Bestellnummer	Lot	Firma, Herstellungsort
Biotin-SP-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)	111-065-144	115681	Jackson Immuno-Research, Baltimore Pike, West Grove, Vereinigte Staaten
Goat anti-Rat IgG (H+L)	GtsRt-003-DBIO	77-137-011922	Biotin Conjugate, ImmunoReagents, Santa Cruz, <u>Vereinigte Staaten</u>
Anti-mouse IgG, biotinylated species-whole antibody (from sheep)	RPN1001V	16892857	GE Healthcare / Merck Millipore, Burlington, Massachusetts, Vereinigte Staaten
Envision Kit (EV)	K5007	20075976	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland
Alkaline Phosphatase AffiniPur Goat Anti-Rat IgG (H+L)	112-055-003	146890	Jackson Immuno-Research, Baltimore Pike, West Grove, Vereinigte Staaten
Polyclonal Goat Anti-Mouse Immunoglobulins/AP	D0486	20055465	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland
Polyclonal Goat Anti-Rabbit Immunoglobulins/AP	D0487	20080001	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland

Tabelle 6: Verwendete sekundäre Fluoreszenz-Antikörper

Antikörper	Bestellnummer	Lot	Firma, Herstellungsort
Ziege IgG anti-Maus (H+L) - Alexa 488	115-545-003	134736	Dianova, Hamburg, Deutschland
Ziege IgG anti-Kaninchen (H+L) - Alexa 488	111-545-003	140018	Dianova, Hamburg, Deutschland
Ziege anti-Ratte IgG (H+L) - Alexa 488	112-545-003	135322	Dianova, Hamburg, Deutschland
Goat anti-Rabbit IgG (H+L) AlexaFluor 555	A21429	2015563	invitrogen
Goat anti-Mouse IgG (H+L) Alexa Fluor 555	A21424	2390715	invitrogen
Ziege IgG anti-Maus IgG (H+L) Alexa 647	115-605-003	135862	Dianova, Hamburg, Deutschland
Ziege IgG anti-Kaninchen IgG (H+L) Alexa 647	111-605-003	129201	Dianova, Hamburg, Deutschland
Goat anti-Rat IgG (H+L) Alexa Fluor 647	A21247	2005938	invitrogen
Ziege IgG anti-Ratte IgG (H+L) - Cy3	112-165-143	118559	Dianova, Hamburg, Deutschland

Antikörper	Bestellnummer	Lot	Firma, Herstellungsort
Ziege IgG anti-Maus IgG (H+L) - Cy3	115-165-146	155748	Dianova, Hamburg, Deutschland
Cy3-Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)	111-165-144	94787	Jackson Immuno-Research
Cy2-Goat Anti-Rat IgG (H+L)	112-225-143	48849	Jackson Immuno-Research
Ziege IgG anti-Maus IgG (H+L) - Cy2	115-225-14	133889	Dianova, Hamburg, Deutschland
Esel IgG anti-Kaninchen IgG (H+L)-Cy2	711-225-152	142845	Dianova, Hamburg, Deutschland

2.3 Histologische Auswertung

Mikroskopiert und quantifiziert wurde mit Hilfe eines Lichtmikroskops (BX-41, Olympus, Tokio, Japan). Für die Morphometrie wurden Bereiche der weißen Substanz analysiert, die eine gleichmäßige Zelldichte innerhalb des Präparates aufwiesen. Dies erfolgte bei 40x Objektivvergrößerung und 10x Okularvergrößerung mit einem Gitterokular mit standardisierten Gesichtsfeldern (Zellzählgitter mit einer Seitenlänge des Quadrats von 0,0245 mm, WH10X-H/22 Olympus, Japan). Es wurden mind. 20 und max. 40 Grids pro Präparat betrachtet und direkt nebeneinandergelegt. Dies entspricht einer minimalen Fläche von 0,12 mm² und einer maximalen Fläche von 0,24 mm². Bei der Quantifizierung wurden nur immunhistochemisch angefärbte Oligodendrozyten mit erkennbarem Zellkern in der Schnittebene berücksichtigt. Die Einzelwerte pro Gesichtsfeld wurden pro Gewebeareal als Mittelwert der angefärbten Zellen pro mm² unter Zuhilfenahme des Tabellenkalkulationsprogrammes „Microsoft Office Excel2021[®]“ Version 16.46 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim) verzeichnet.

Die Immunfluoreszenzbilder der Gewebeschnitte wurden unter Verwendung eines Fluoreszenzmikroskops (BX63, Olympus, Tokio, Japan) aufgenommen, welches mit einer Digitalkamera (DP80, CellSens Dimension v.2.3, Olympus, Tokio, Japan) ausgestattet war, und anschließend mit einem Objektträgerscanner (VS120, Olympus, Tokio, Japan) eingescannt. Bei diesen Gewebeschnitten wurden ebenfalls die Zellen pro mm^2 unter Zuhilfenahme des Tabellenkalkulationsprogrammes „Microsoft Office Excel 2021“[®] Version 16.46 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim) verzeichnet. Es wurde eine Fläche von mind. $0,07 \text{ mm}^2$ und max. $13,7 \text{ mm}^2$ unter Angabe von Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) ausgewertet. Die Auswertung der Bilder erfolgte am Computer mit der Bildanalysesoftware „cellSense“[®] (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Deutschland Münster). Diese Software wurde für die Aufnahme und Bearbeitung der Bilder am Lichtmikroskop durch die angeschlossene 12,5 Megapixel-Kamera (Typ DP/71) verwendet. Die Fotos wurden mit dem Programm „Microsoft PowerPoint“[®] 2021“ Version 16.46 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim) weiterverarbeitet.

2.3.1 Statistische Auswertung

Die Zelldichte wurde durch manuelles Zählen markierter Zellen/ mm^2 unter Verwendung des ImageJ-Bildverarbeitungsprogramms bestimmt. Durch das An- bzw. Ausschalten der verschiedenen Kanäle waren nur die Zellen des jeweiligen Kanals zu sehen – bei BCAS1+ Zellen bspw. waren nur grüne Zellen sichtbar, bei TPPP/p25+ Zellen nur rote Zellen. Durch das gleichzeitige Aktivieren der Kanäle konnten doppelt-positive Zellen identifiziert werden. Die Graphen wurden mit der Statistiksoftware Graph PadPrism 6[®] (Graph Pad Software, Inc., San Diego, CA, USA) für Windows erstellt und bearbeitet. Die deskriptive Statistik wurde mit dem Programm „Microsoft Office Excel 2021“[®] Version 16.46 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim) berechnet.

3 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Dissertation untersuchte ich ZNS-Schnittpräparate von insgesamt 16 Feten, Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern von der elften Gestationswoche bis zum 13. Lebensmonat, um die verschiedenen Oligodendrozytendifferenzierungsstadien während der menschlichen Entwicklung unter besonderer Berücksichtigung von BCAS1+ Zellen zu charakterisieren. Ich verglich repräsentativ verschiedene ZNS-Regionen (zervikales Rückenmark, Klein- und Frontalhirn) in unterschiedlichen Entwicklungsstufen. Die untersuchten Gewebe habe ich je nach Lebensalter in verschiedenen Gruppen zusammengefasst: 11.-17. SSW, 28.-36. SSW, wenige Stunden bis drei Wochen alt (zusammengefasst als „Neugeborene“ bzw. 0 Jahre) und 11-13 Monate (zusammengefasst als „ein Lebensjahr“).

3.1 Oligodendrozyten während der menschlichen ZNS-Entwicklung nach Lokalisation

Die Migration von Oligodendrozytenvorläuferzellen (OPCs) beginnt im Rückenmark. Von hier aus migrieren diese Zellen zum Kleinhirn sowie über den Kortex zum Frontalhirn. Die quantitative Analyse der immunhistochemischen Färbungen von BCAS1 und TPPP/p25 in den verschiedenen Hirnregionen ergab viele prämyelinisierende BCAS1+ Zellen in den frühen Wochen der Entwicklung im zervikalen Rückenmark, während gleichzeitig in den Regionen des Klein- und Frontalhirns noch keine Zellen nachweisbar sind. Hier zeigen sich BCAS1+ Oligodendrozyten erst ab einem späteren Zeitpunkt der Entwicklung. Im zervikalen Rückenmark sind außerdem in den frühen Schwangerschaftswochen bereits TPPP/p25+, also adulte Oligodendrozyten vorhanden, welche im Verlauf zunehmen. Diese Zellen zeigen sich im Klein- und Frontalhirn ebenso erst ab einem späteren Zeitpunkt, etwa ab der 28.-36. SSW. Zusammenfassend sind BCAS1+ Zellen vor allem in den ZNS-Regionen vorhanden, in denen aktive Myelinisierung stattfindet. Die numerischen Werte sind weiter unten bei den jeweiligen Hirnregionen angegeben und graphisch dargestellt.

In der 11.-17. SSW fand ich im zervikalen Rückenmark viele BCAS1+ Oligodendrozyten, während zu diesem Zeitpunkt im Klein- und Frontalhirn nur wenige Zellen zu finden waren. Ebenfalls in der 11.-17. SSW fand ich im zervikalen Rückenmark bereits einige TPPP/p25+ Oligodendrozyten, welche im Vergleich in diesen SSW weder im Klein- noch im Frontalhirn zu finden waren. Hier ließen sich wenige TPPP/p25+ Zellen erst ab der 28.-36. SSW zählen. Um den Zeitpunkt der Geburt fand ich im zervikalen Rückenmark nur noch TPPP/p25+ Zellen und keine BCAS1+ Oligodendrozyten mehr, gleichzeitig fand ich im Kleinhirn in der

28.-36. SSW nahezu gleichviel BCAS1+ Oligodendrozyten und TPPP/p25+ Zellen; ein ähnliches Ergebnis ergab sich im Frontalhirn. Zum Zeitpunkt der Geburt konnte ich im Kleinhirn nur sehr wenige bis keine BCAS1+ Zellen identifizieren, aber viele TPPP/p25+ Zellen. Im Frontalhirn fand ich mehr BCAS1+ Zellen als TPPP/p25+ Zellen. Nach einem Jahr konnte ich sowohl im Kleinhirn als auch im Frontalhirn viel mehr TPPP/p25+ als BCAS1+ Oligodendrozyten finden.

Die Rohdaten der Zellquantifizierungen sind den Tabellen A1 und A2 des Anhangs zu entnehmen.

3.1.1 Myelinisierende Oligodendrozyten während der Entwicklung im Kleinhirn

Um die Myelinisierung während der Entwicklung darzustellen, verglich ich exemplarisch lichtmikroskopische Aufnahmen von Hirnschnitten des Kleinhirns von der 32. SSW bis zu einem Lebensjahr in den immunhistochemischen Färbungen BCAS1 und TPPP/p25.

Ich fand eine geringe Dichte an BCAS1+ Zellen im Kleinhirn in der 32. SSW, welche anschließend bis zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) zunahm. Ab einem Jahr nahmen diese wieder ab (Abb. 3). Die TPPP/p25+ reifen Oligodendrozyten hatten bereits in der 32. SSW eine hohe Dichte und zeigten eine stetige Zunahme bis zur Geburt, und eine ebenso hohe Dichte nach einem Lebensjahr. MBP+ Oligodendrozyten waren bereits in der 32. SSW nachweisbar und nach einem Jahr nicht mehr zu sehen, wobei jedoch Myelin in hoher Dichte zu finden war.

Zusätzlich zu den Oligodendrozyten-Färbungen habe ich auch MBP ausgewertet – um neben myelinisierenden und Myelin-erhaltenden Oligodendrozyten auch die Myelinscheiden zu beurteilen. MBP kann zur Identifikation von Myelin genutzt werden, da sobald BCAS1+ Oligodendrozyten zu sehen sind auch MBP+ Myelinscheiden zu identifizieren sind.

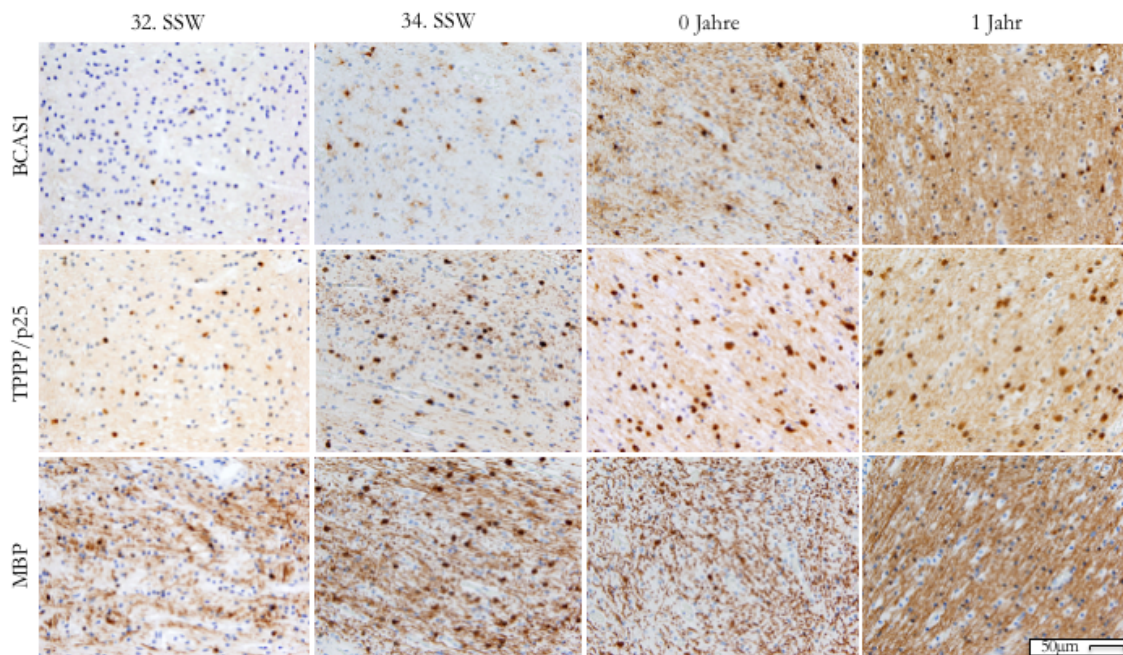


Abbildung 3: BCAS1+, TPPP/p25+ und MBP+ Oligodendrozyten im Kleinhirn im Verlauf der Entwicklung

Repräsentative Aufnahmen von BCAS1+, TPPP/p25+ und MBP+ Oligodendrozyten im Kleinhirn von der 32. SSW bis zum ersten Lebensjahr. BCAS1+ Zellen (braun) nehmen von der 32. SSW bis zur 34. SSW an Dichte zu und nehmen über den Zeitpunkt der Geburt bzw. bis zu einem Lebensjahr wieder ab – siehe auch Abb. 7. Gleichzeitig mit der Zunahme dieser Zellen färbt sich das durch die Oligodendrozyten gebildete Myelin zunehmend an (braune Fasern). Auch TPPP/p25+ Oligodendrozyten (braune Zellen) sind in der 32. SSW im Kleinhirn bereits vorhanden und nehmen über die 34. SSW und den Zeitpunkt der Geburt bis zum ersten Lebensjahr nochmal an Dichte zu - siehe auch Abb. 7. Die höchste Dichte an MBP+ Oligodendrozyten (semiquantitativ) fand sich in der 32. SSW; in späteren Entwicklungsstadien war im Wesentlichen kompaktes Myelin angefärbt, wohingegen kaum zytoplasmatisch MBP+ Oligodendrozyten zu erkennen waren.

braun: BCAS1+ Oligodendrozyten, TPPP/p25+ Oligodendrozyten und MBP+ Oligodendrozyten sowie Myelin, Originalvergrößerung 200x

3.1.2 Prämyelinisierende und reife Oligodendrozyten während der Entwicklung im zervikalen Rückenmark

Ich verglich Schnittpräparate des zervikalen Rückenmarks von der 11. SSW bis zur Geburt in Immunfluoreszenz-Doppelmarkierungen (Abb. 4) und fand eine hohe Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche in der 28.-36. SSW abnahmen und um den Zeitpunkt der Geburt nicht mehr nachweisbar waren. TPPP/p25+ Oligodendrozyten fand ich bereits ab der 11.-17. SSW in geringer Dichte, welche in der 28.-36. SSW zunahm und dann bis zur Geburt abnahm. BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Oligodendrozyten waren sowohl in der 11.-17. SSW als auch in der 28.-36. SSW kaum und zum Zeitpunkt der Geburt gar nicht nachweisbar.

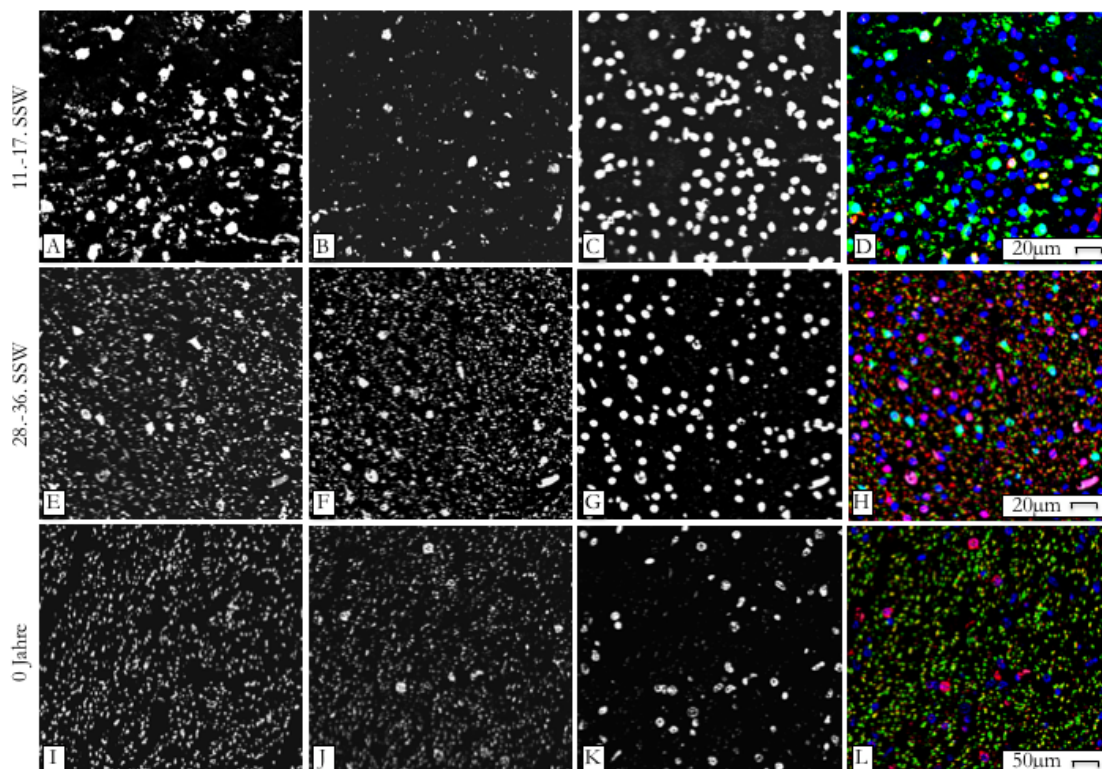


Abbildung 4: Oligodendrozyten im zervikalen Rückenmark von der 11. SSW bis zur Geburt

Die in der weißen Substanz des zervikalen Rückenmarks mittels Immunfluoreszenz gefärbten BCAS1+ Oligodendrozyten nahmen nach anfänglich hoher Zellzahl in der 11.-17. SSW (A) bis zur 28.-36. SSW hin ab (E), bis sie um die Geburt kaum mehr nachweisbar waren (I). TPPP/p25+ Oligodendrozyten nahmen von der 11.-17. SSW (B) bis zur 28.-36. SSW hin zu (F) und anschließend bis zur Geburt wieder ab (J). (C), (G) und (K) Zellkernfärbung, DAPI. Es zeigen sich wenige bis keine BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Zellen (D, H und L).

A, E und I: BCAS1+ Oligodendrozyten in grün, B, F und J: TPPP/p25+ Oligodendrozyten in rot, C, G und K: Kernfärbung: 4', 6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI) in blau, D, H und L: alle Kanäle

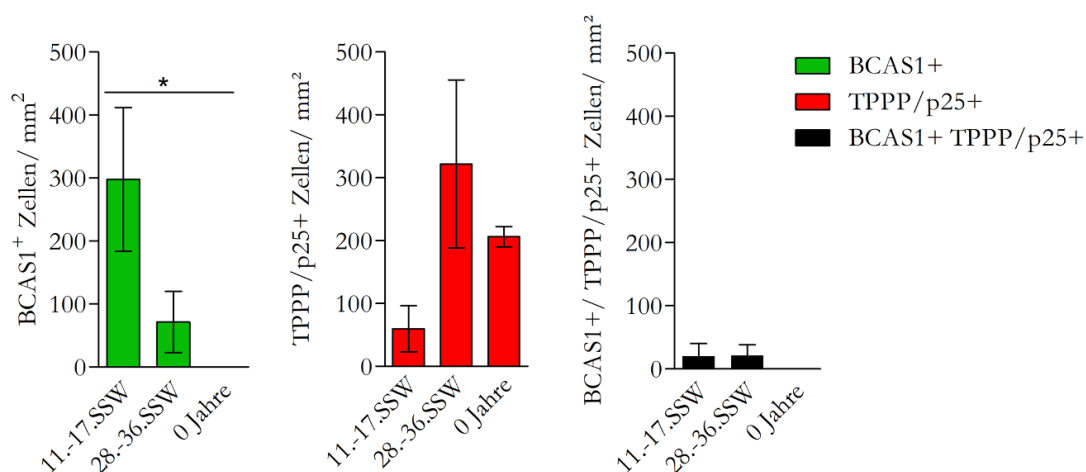


Abbildung 5: Quantifizierung von Oligodendrozyten im Rückenmark von der 11. SSW bis zur Geburt

Die Quantifizierung von Oligodendrozyten in der weißen Substanz des Rückenmarks zeigt viele BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche zur 28.-36. SSW hin abnehmen. Zum Zeitpunkt der Geburt sind im Rückenmark keine BCAS1+ Zellen mehr nachweisbar. TPPP/p25+ Oligodendrozyten zeigen eine Zunahme von der 11.-17. SSW bis zur 28.-36. SSW und nehmen anschließend bis zur Geburt wieder leicht ab. Sowohl in der 11.-17. SSW als auch in der 28.-36. SSW zeigen sich vereinzelte doppelt-positive Zellen. Zum Zeitpunkt der Geburt sind keine doppelt-positiven Zellen nachweisbar.

BCAS1: 11.-17. SSW n=4, 28.-36. SSW n=4, 0 Jahre n=3, TPPP/p25: 11.-17. SSW n=4, 28.-36. SSW n=4, 0 Jahre n=3, BCAS1 TPPP/p25: 11.-17. SSW n=4, 28.-36. SSW n=4, 0 Jahre n=3

Im zervikalen Rückenmark waren in der 11.-17. SSW $297,63 \pm 197,72$ (Mittelwert \pm SD) BCAS1+ Oligodendrozyten/mm², in der 28.-36. SSW $71,25$ Zellen/mm² ($\pm 84,29$) und zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) 0 Zellen/mm² zu finden. Die anfänglich hohe Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW nimmt über die 28.-36. SSW hin ab, bis zum Zeitpunkt der Geburt keine Zellen mehr zu finden sind (Abb. 5). TPPP/p25+ Oligodendrozyten ließen sich in der 11.-17. SSW $59,81$ Zellen/mm² ($\pm 63,37$), in der 28.-36. SSW $321,99$ Zellen/mm² ($\pm 231,44$) und zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $206,28$ ($\pm 22,52$) Zellen/mm² analysieren. Nach einer Zunahme der Zellen von der 11.-17. SSW bis zur 28.-36. SSW zeigt sich eine anschließende Abnahme bis zur Geburt, wobei die Zellen immer noch in hoher Anzahl zu analysieren waren (Abb. 5). Von BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Oligodendrozyten waren in der 11.-17. SSW 20 Zellen/mm² ($\pm 34,64$), in der 28.-36. SSW $21,26$ Zellen/mm² ($\pm 29,09$) und zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) 0 Zellen/mm² zu finden. Von der 11.-17. SSW bis zur 28.-36. SSW fanden sich wenig doppelt-positive Zellen, zum Zeitpunkt der Geburt waren keine entsprechenden Zellen zu finden (Abb. 5).

3.1.3 Prämyelinisierende und reife Oligodendrozyten während der Entwicklung im Kleinhirn

Ich verglich Schnittpräparate des Kleinhirns von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr in Immunfluoreszenz-Doppelmarkierungen (Abb. 6) und fand eine sehr geringe Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche in der 28.-36. SSW zunahm, bis zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) nahezu konstant blieb und bis zum ersten Lebensjahr wieder stark abnahm. In der 11.-17. SSW waren im Kleinhirn noch keine TPPP/p25+ Oligodendrozyten nachweisbar. Erst in der 28.-36. SSW fand ich entsprechende Zellen, welche bis zum ersten Lebensjahr zunahmen. In der 11.-17. SSW fand ich keine, in der 28.-36. SSW sowie zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) nur wenige BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Oligodendrozyten. Zum ersten Lebensjahr waren wiederum keine BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Oligodendrozyten nachweisbar.

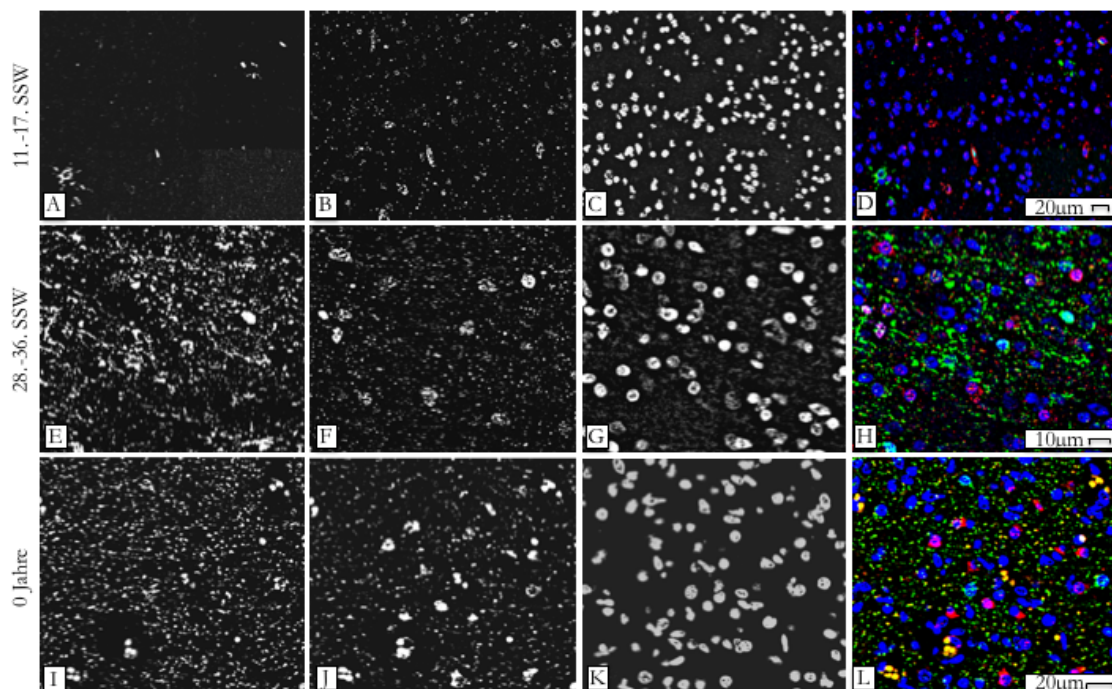


Abbildung 6: Oligodendrozyten im Kleinhirn von der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre)

Die in der weißen Substanz des Kleinhirns durch Immunfluoreszenz gefärbten BCAS1+ Oligodendrozyten nehmen nach anfänglich geringer Zellzahl von der 11.-17. SSW (A) bis zur 28.-36. SSW hin leicht zu und bleiben bis zur Geburt (0 Jahre) nahezu konstant (I). TPPP/p25+ Oligodendrozyten sind in der 11.-17. SSW im Kleinhirn noch nicht nachweisbar (B). Diese sind ab der 28.-36. SSW in geringer Zellzahl zu finden (F). Sie nehmen bis zur Geburt (0 Jahre) zu (J). (C), (G) und (K) Zellkernfärbung, DAPI. Es zeigen sich wenige bis keine BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Zellen (D, H und L).

A, E und I: BCAS1+ Oligodendrozyten in grün, B, F und J: TPPP/p25+ Oligodendrozyten in rot, C, G und K: Kernfärbung: 4', 6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI) in blau, D, H und L: alle Kanäle

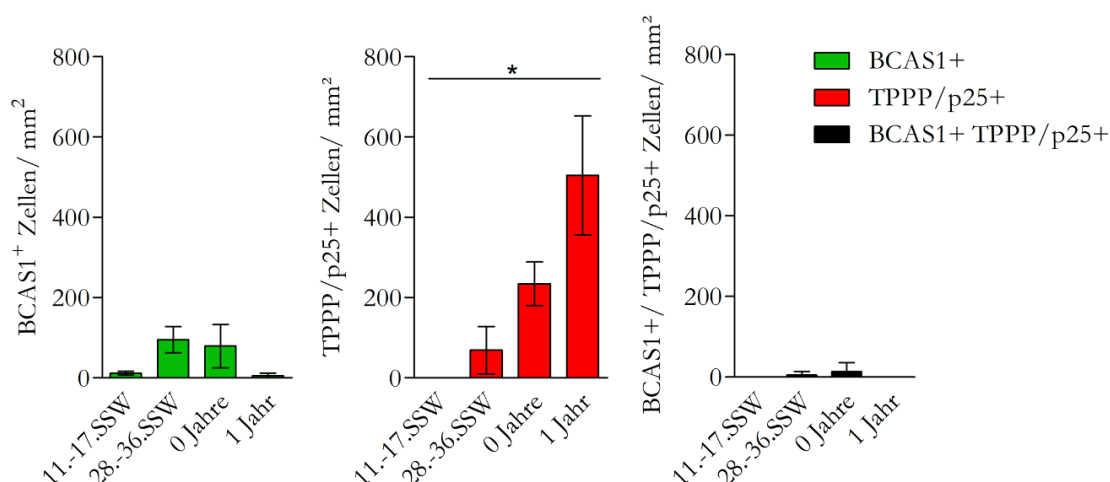


Abbildung 7: Quantifizierung von Oligodendrozyten im Kleinhirn von der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr

Die Quantifizierung der Oligodendrozyten in der weißen Substanz des Kleinhirns zeigt wenige BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche zur 28.-36. SSW hin zunehmen und zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) leicht abnehmen. Bei einem Jahr ist die Dichte der Zellen wieder stark rückläufig. TPPP/p25+ Oligodendrozyten sind in der 11.-17. SSW keine Zellen nachweisbar, erst ab der 28.-36. SSW sind entsprechende Zellen zu finden und nehmen über den Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) bis zum ersten Lebensjahr stark zu. In der 11.-17. SSW zeigen sich keine, in der 28.-36. SSW sowie um die Geburt zeigen sich wenige doppelt-positive Zellen. Bei einem Jahr sind keine doppelt-positive Zellen nachweisbar. BCAS1: 11.-17. SSW n=4, 28.-36. SSW n=3, 0 Jahre n=4, 1 Jahr n=2, TPPP/p25: 11.-17. SSW n=4, 28.-36. SSW n=3, 0 Jahre n=4, 1 Jahr n=2, BCAS1 TPPP/p25: 11.-17. SSW n=4, 28.-36. SSW n=3, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2

Im Kleinhirn waren in der 11.-17. SSW $11,66 \pm 4,042$ (Mittelwert +/- SD) BCAS1+ Oligodendrozyten/mm², in der 28.-36. SSW $94,90$ Zellen/mm² ($\pm 26,63$), zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $79,12$ Zellen/mm² ($\pm 46,95$) und bei einem Lebensjahr $4,76$ Zellen/mm² ($\pm 4,76$) zu finden. Nach einer anfänglich niedrigen Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten zeigte sich bis zur 28.-36. SSW eine Zunahme und zum Zeitpunkt der Geburt eine geringe Abnahme. Bei einem Lebensjahr waren kaum noch Zellen nachweisbar (Abb. 7). In der 11.-17. SSW waren keine TPPP/p25+ Oligodendrozyten, in der 28.-36. SSW $68,71$ Zellen/mm² ($\pm 48,26$), zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $234,28$ Zellen/mm² ($\pm 47,15$) und bei einem Lebensjahr $504,76$ ($\pm 104,76$) zu finden. Es zeigte sich nach anfänglich keinen TPPP/p25+ Zellen eine kontinuierliche Zunahme ab der 28.-36. SSW über die Geburt bishin zu einem Lebensjahr (Abb. 7). Von BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positiven Oligodendrozyten waren in der 11.-17. SSW keine Zellen, in der 28.-36. SSW 5 doppelt-positive Zellen/mm² ($\pm 7,07$), zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $13,53$ Zellen/mm² ($\pm 18,06$) und bei einem Lebensjahr keine doppelt-positiven Zellen nachweisbar (Abb. 7).

3.1.4 Prämyelinisierende und reife Oligodendrozyten während der Entwicklung im Frontalhirn

Ich verglich Schnittpräparate des Frontalhirns von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr in Immunfluoreszenz-Doppelmarkierungen (Abb. 8) und fand eine sehr geringe Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche von der 28.-36. SSW bis zur Geburt (0 Jahren) zu und zum ersten Lebensjahr wieder abnahm. TPPP/p25+ Oligodendrozyten waren in der 11.-17. SSW nicht nachweisbar. Erst in der 28.-36. SSW fand ich TPPP/p25+ Zellen, welche bis zur Geburt (0 Jahre) leicht zunahmten und nach einem Lebensjahr eine sehr hohe Dichte aufwiesen. In der 11.-17. SSW fand ich keine BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Oligodendrozyten, in der 28.-36. SSW sowie um die Geburt fand ich wenige und nach einem Lebensjahr wiederum keine BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positiven Oligodendrozyten.

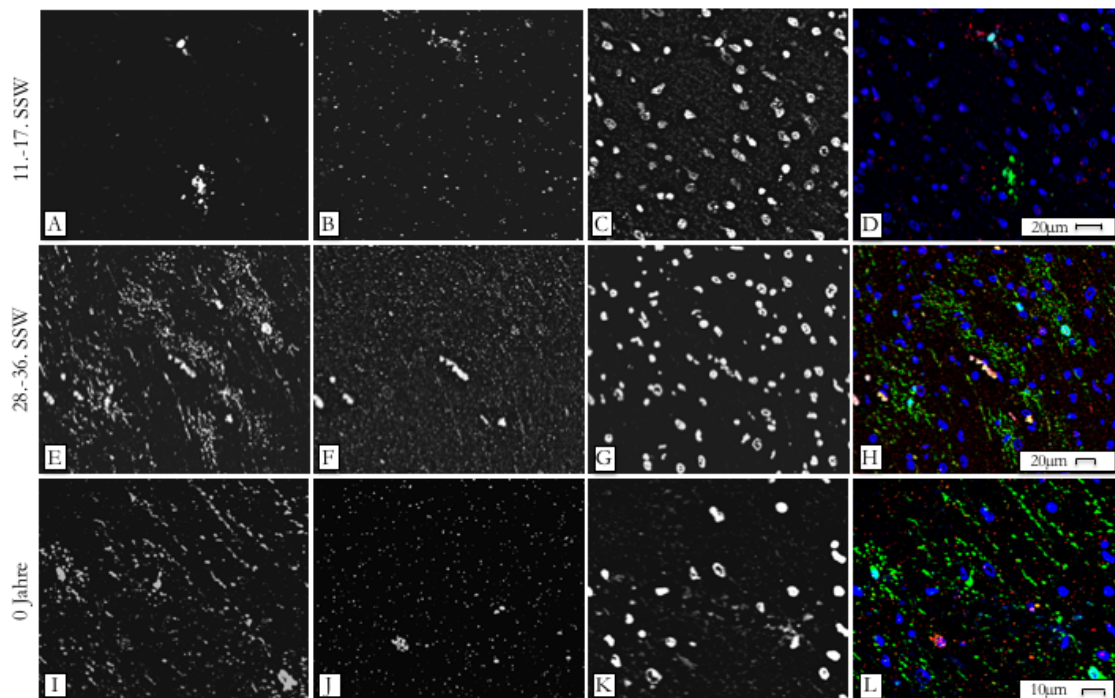


Abbildung 8: Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre)

Die in der weißen Substanz des Frontalhirns durch Immunfluoreszenz gefärbten BCAS1+ Oligodendrozyten nehmen nach anfänglich geringer Zellzahl von der 11.-17. SSW (A) über die 28.-36. SSW (E) bis zur Geburt (0 Jahre) zu (I). TPPP/p25+ Oligodendrozyten sind in der 11.-17. SSW noch nicht nachweisbar (B) und erst ab der 28.-36. SSW in geringer Zellzahl zu analysieren (F). Sie nehmen bis zur Geburt (0 Jahre) nochmals leicht zu (J). (C), (G) und (K) Zellkernfärbung, DAPI. Es zeigen sich wenige bis keine BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Zellen (D, H und L).

A, E und I: BCAS1+ Oligodendrozyten in grün, B, F und J: TPPP/p25+ Oligodendrozyten in rot, C, G und K: Kernfärbung: 4', 6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI) in blau, D, H und L: alle Kanäle

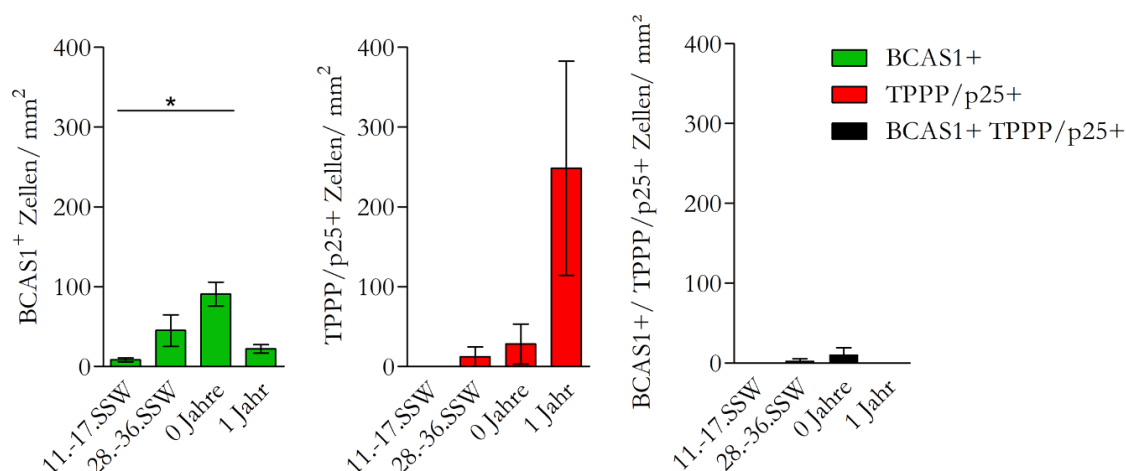


Abbildung 9: Quantifizierung von Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr

Die Quantifizierung der Oligodendrozyten in der weißen Substanz des Frontalhirns zeigt wenige BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche über die 28.-36. SSW bis zur Geburt (0 Jahre) zunehmen. Nach einem Lebensjahr ist die Dichte der Zellen wieder rückläufig. TPPP/p25+ Oligodendrozyten sind in der 11.-17. SSW nicht nachweisbar. Sie sind erst ab der 28.-36. SSW zu analysieren und nehmen in der 28.-36. SSW und um die Geburt (0 Jahre) leicht zu. Nach einem Lebensjahr sind sie in hoher Zellzahl zu finden. In der 11.-17. SSW zeigen sich keine, in der 28.-36. SSW sowie um die Geburt (0 Jahre) nur wenige BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positive Zellen. Nach einem Lebensjahr sind keine doppelt-positiven Zellen mehr nachweisbar.

BCAS1: 11.-17. SSW n=3, 28.-36. SSW n=3, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2, TPPP/p25: 11.-17. SSW n=3, 28.-36. SSW n=3, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2, BCAS1 TPPP/p25: 11.-17. SSW n=3, 28.-36. SSW n=3, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2

Im Frontalhirn waren in der 11.-17. SSW $8,39 \pm 3,54$ (Mittelwert +/- SD) BCAS1+ Oligodendrozyten/mm², in der 28.-36. SSW 45 Zellen/mm² ($\pm 27,87$), um die Geburt (0 Jahre) 90,81 Zellen/mm² ($\pm 21,27$) und bei einem Lebensjahr 22,25 Zellen/mm² ($\pm 5,34$) zu finden. Nach anfänglich wenig BCAS1+ Zellen in der 11.-17. SSW zeigt sich eine kontinuierliche Zunahme der Zellen bis zur Geburt (0 Jahre) bis sie zum Zeitpunkt von einem Lebensjahr wieder stark abnehmen (Abb. 9). In der 11.-17. SSW waren keine TPPP/p25+ Oligodendrozyten zu finden, in der 28.-36. SSW wurden 12,21 Zellen/mm² ($\pm 17,27$), zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) 28,05 ($\pm 35,41$) Zellen/mm² und nach einem Jahr 248,38 Zellen/mm² ($\pm 134,38$) analysiert. In der 11.-17. SSW konnten keine TPPP/p25+ Oligodendrozyten gefunden werden. Ab der 28.-36.SSW waren wenige Zellen nachweisbar, welche über den Zeitpunkt der Geburt bis zu einem Lebensjahr stark zunahm (Abb. 9). Von BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positiven Oligodendrozyten waren in der 11.-17. SSW keine Zellen, in der 28.-36. SSW 2,71 Zellen/mm² ($\pm 3,84$), um den Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) 10,36 Zellen/mm² ($\pm 12,54$) und bei einem Lebensjahr keine Zellen zu finden (Abb. 9).

3.1.5 Vergleichende Analysen prämyelinisierender und reifer Oligodendrozyten während der Entwicklung im Rückenmark, Klein- und Frontalhirn

Um die Entwicklungsstufen der Oligodendrozyten in den verschiedenen Hirnregionen direkt miteinander zu vergleichen, erstellte ich Liniendiagramme (Abb. 10, 11 und 12). Im Rückenmark werden die gegensätzlichen Expressionsmuster der BCAS1+ und TPPP/p25+ Oligodendrozyten deutlich. Ebenfalls zeigte sich ein ähnliches Expressionsmuster der Zellen im Klein- sowie im Frontalhirn. Zeitlich betrachtet lassen sich reife Oligodendrozyten im Kleinhirn eher darstellen als im Frontalhirn, was sich mit dem Migrationsmuster von Oligodendrozyten erklären lässt.

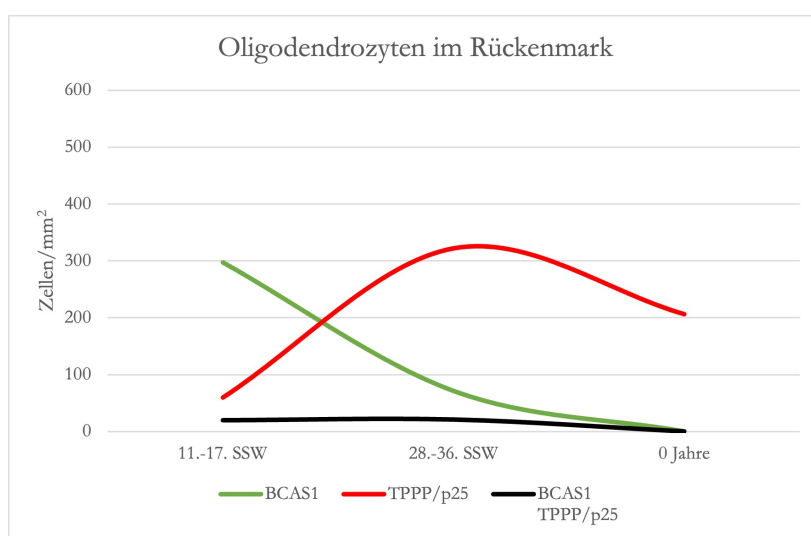


Abbildung 10: Oligodendrozytenpopulationen im Rückenmark von der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre)

Die graphische Darstellung zeigt den Verlauf der Dichte BCAS1+ Oligodendrozyten (grüne Linie) im Rückenmark, welche in der 11.-17. SSW zahlreich vorhanden sind und über die 28.-36. SSW bis hin zur Geburt abflachen. Die reifen Oligodendrozyten, dargestellt durch die rote Linie, lassen sich erstmals in der 11.-17. SSW nachweisen und nehmen bis zur 28.-36. SSW hin zu. Es zeigt sich eine leichte Abnahme TPPP/p25+ Zellen um die Geburt. Die schwarze Linie zeigt die doppelt-positiven BCAS1 und TPPP/p25 Zellen, wovon wenige in den frühen Wochen bis zur Geburt vorhanden sind.

Grüne Linie: BCAS1+ Oligodendrozyten, rote Linie: TPPP/p25+ Oligodendrozyten, schwarze Linie: doppelt-positive BCAS1 und TPPP/p25 Oligodendrozyten

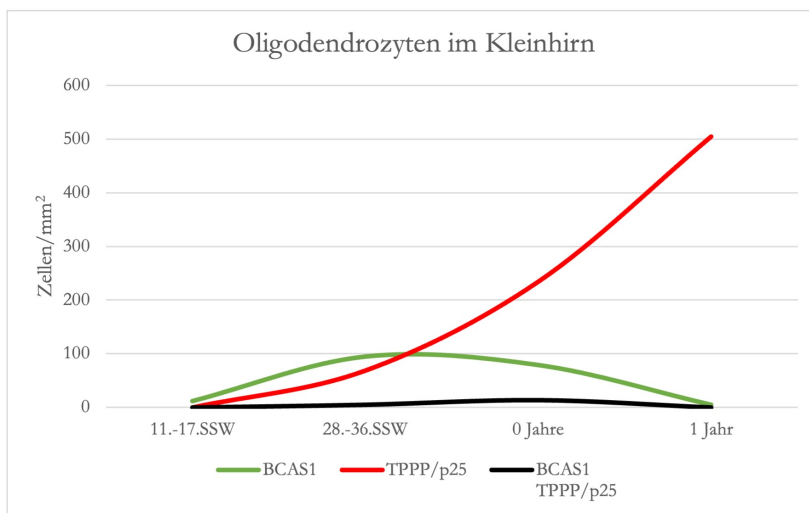


Abbildung 11: Oligodendrozytenpopulationen im Kleinhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr

Die graphische Darstellung zeigt durch die grüne Linie BCAS1+ Oligodendrozyten, welche in der 11.-17. SSW langsam beginnen, in ihrer Dichte zu wachsen und nach einer Zunahme um die 28.-38. SSW zum Zeitpunkt der Geburt bzw. einem Lebensjahr wieder abnehmen und in geringer Anzahl zu finden sind. Die reifen Oligodendrozyten, dargestellt durch die rote Linie, beginnen ebenfalls in der 11.-17. SSW mit einer geringen Anzahl und steigen über die 28.-36. SSW über die Geburt bis zu einem Lebensjahr rasant an, bis sie in hoher Anzahl vorhanden sind. Die schwarze Linie zeigt die BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positiven Zellen, wovon wenige in den frühen Wochen bis zur Geburt vorhanden sind.

Grüne Linie: BCAS1, rote Linie: TPPP/p25, schwarze Linie: doppelt-positive BCAS1 und TPPP/p25

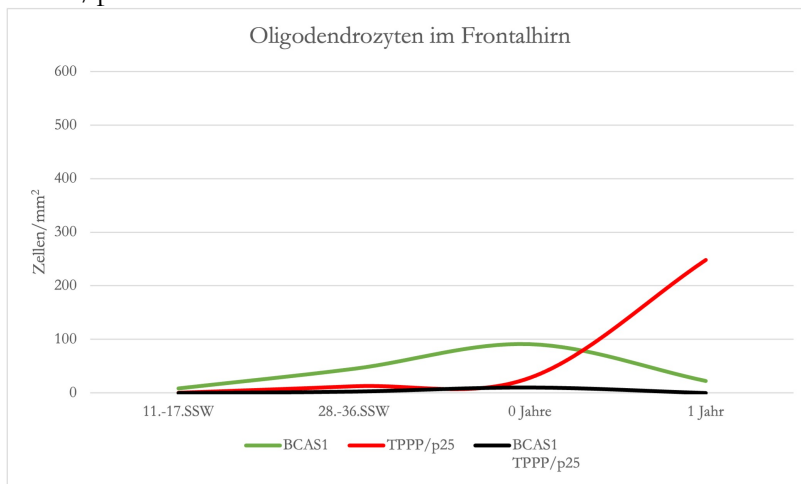


Abbildung 12: Oligodendrozytenpopulationen im Frontalhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr

Die graphische Darstellung zeigt durch die grüne Linie BCAS1+ Oligodendrozyten, welche in der 11.-17. SSW ähnlich wie im Kleinhirn (siehe Abb. 11) langsam zunehmen, ihren Höhepunkt jedoch nicht in der 28.-36. SSW, sondern um die Geburt haben. Danach nehmen diese wieder ab. Die reifen Oligodendrozyten, gezeigt durch die rote Linie, steigen erst ab der Geburt rasant an. Die schwarze Linie zeigt die BCAS1 und TPPP/p25 doppelt-positiven Zellen, wovon wenige in den frühen Wochen bis zur Geburt vorhanden sind.

Grüne Linie: BCAS1, rote Linie: TPPP/p25, schwarze Linie: doppelt-positive BCAS1 und TPPP/p25

3.2 NG2+ Oligodendrozytenvorläuferzellen im Vergleich zu BCAS1+ Oligodendrozyten während der menschlichen ZNS-Entwicklung

NG2 Zellen sind proliferative Gliazellen. Da sich mehr als 90 % der Oligodendrozyten der weißen Substanz aus NG2 Zellen entwickeln, ist es wichtig, diese zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Entwicklung sowie vergleichend mit BCAS1+ Oligodendrozyten zu charakterisieren. Ich fand entsprechend der vorherigen Ergebnisse im Rückenmark in der 17. SSW eine hohe Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten, gleichzeitig bestimmte ich die Dichte der sich im selben Präparat befindenden NG2+ Zellen (Abb. 13).

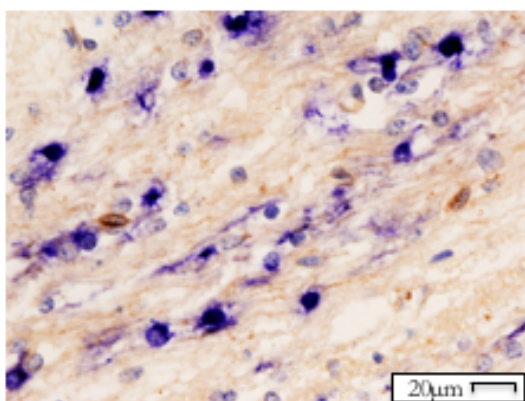


Abbildung 13: BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten im Rückenmark der 17. SSW
Der lichtmikroskopische Ausschnitt aus einem Rückenmark der 17. SSW zeigt zahlreiche BCAS1+ Oligodendrozyten (blau) im Vergleich zu einigen wenigen NG2+ Oligodendrozyten (braun).
blau: BCAS1+ Oligodendrozyten, braun: NG2+ Oligodendrozyten, Originalvergrößerung 400x

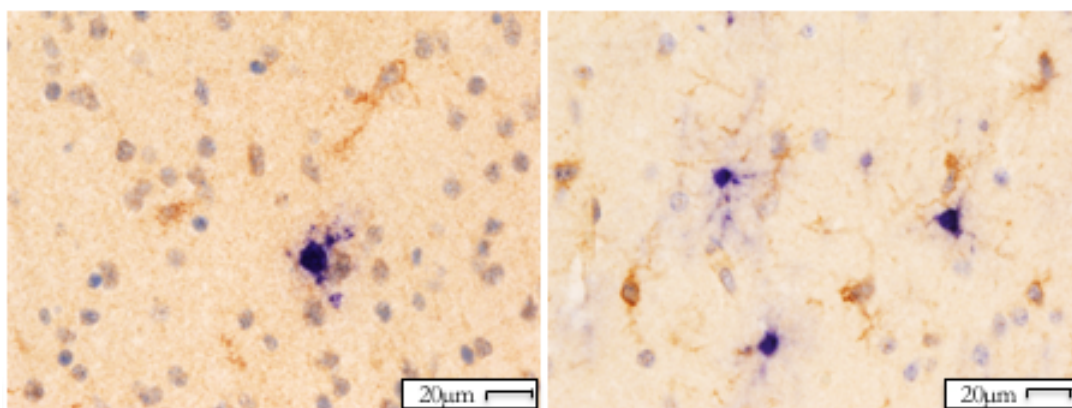


Abbildung 14: BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten im Frontalhirn in der 17. SSW und um die Geburt
Der lichtmikroskopische Ausschnitt aus einem Frontalhirn der 17. SSW zeigt links wenige BCAS1+ Oligodendrozyten (blaue Zellen) im Vergleich zu vielen NG2+ Oligodendrozyten (braune Zellen). Rechts zeigt ebenfalls ein Frontalhirn um den Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre). Hier ist im Vergleich zu den frühen Wochen eine höhere Anzahl an BCAS1+ Zellen (blau) zu erkennen, NG2+ Zellen (braun) zeigen sich in hoher Dichte - siehe auch Abb. 15.
blau: BCAS1+ Oligodendrozyten, braun: NG2+ Oligodendrozyten, Originalvergrößerung 400x

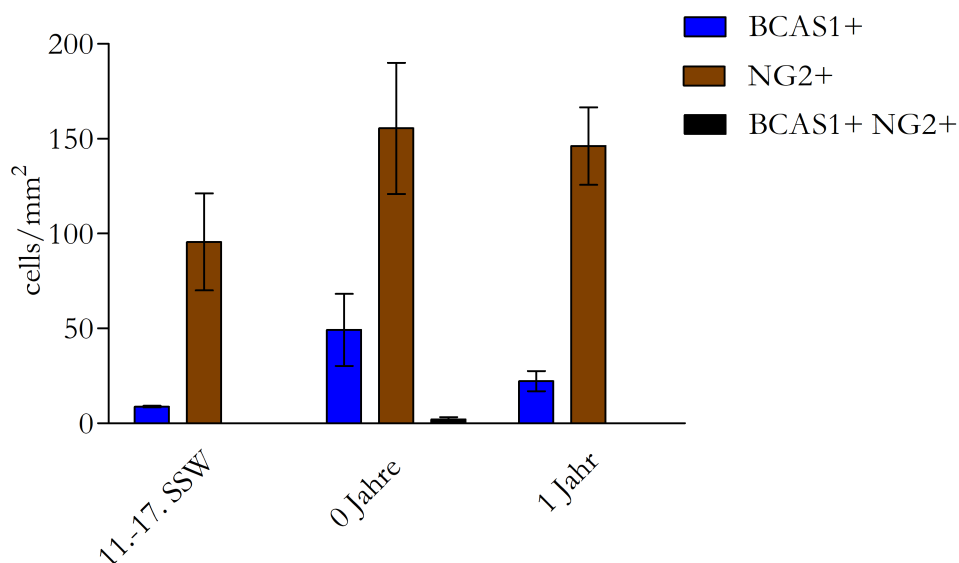


Abbildung 15: Quantifizierung von BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr

Die Quantifizierung der BCAS1+ und NG2+ Oligodendrozyten in der weißen Substanz des Frontalhirns zeigt wenige BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche bis zur Geburt hin zunehmen und bei einem Lebensjahr wieder abnehmen (blaue Balken). NG2+ Zellen sind ab der 11.-17. SSW in hoher Dichte vorhanden, nehmen bis zur Geburt hin zu und zeigen nur eine geringe Abnahme bei einem Lebensjahr (braune Balken). Es zeigen sich nur um die Geburt wenig BCAS1 und NG2 doppelt-positive Zellen (schwarzer Balken).

BCAS1: 11.-17. SSW n=4, 0 Jahre n=6, 1 Jahr n=2, NG2: 11.-17. SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2, BCAS1 NG2: 11.-17.SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=0

Im Frontalhirn waren in der 11.-17. SSW $8,8 \pm 0,4$ (Mittelwert \pm SD) Zellen/mm² und um die Geburt $49,24$ Zellen/mm² ($\pm 26,83$) BCAS1+ Oligodendrozyten zu finden (Abb. 15). Die BCAS1+ Oligodendrozyten bei einem Lebensjahr wurden mit den Daten auf S. 38 verglichen. Wie auch in den vorherigen Präparaten stiegen die BCAS1+ Zellen bis zur Geburt kurz an und fielen anschließend ab. In der 11.-17. SSW waren $95,6$ Zellen/mm² ($\pm 25,6$), um die Geburt $155,53$ Zellen/mm² ($\pm 48,94$) und bei einem Jahr $146,19$ Zellen/mm² ($\pm 20,48$) NG+ Oligodendrozyten zu finden. Die Dichte der NG2+ Zellen blieb auf konstantem Niveau. Es fanden sich keine BCAS1 und NG2 doppelt-positiven Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, zum Zeitpunkt der Geburt $2,07$ Zellen/mm² ($\pm 1,57$) und bei einem Jahr erneut keine Zellen (Abb. 15).

3.2.1 BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten während der menschlichen ZNS-Entwicklung

PDGF ist ein Proliferations-, Überlebens- und Differenzierungsfaktor für Oligodendrozyten. Der Nachweis von PDGFR α ermöglicht somit eine Zuordnung von Zellen zu OPCs, da er sich auf Zellen befindet, die sich später zu Oligodendrozyten differenzieren. Hierbei

ist eine ähnliche Verteilung wie bei NG2+ Oligodendrozyten zu erwarten, da beide Marker für den Nachweis von OPCs verwendet werden. Ich fand in der 11.-17. SSW einige PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen, im Vergleich dazu waren mehr BCAS1+ Oligodendrozyten zu finden (Abb. 16).

Im Frontalhirn fand ich in der 11.-17. SSW eine hohe Dichte an BCAS1+ sowie PDGFR α + Zellen. Zum Zeitpunkt um die Geburt überwogen BCAS1+ Zellen gegenüber den PDGFR α + Zellen, wobei die PDGFR α + Zellen immer noch eine hohe Dichte aufwiesen. Zum ersten Lebensjahr fand ich deutlich weniger BCAS1+ Zellen und keine PDGFR α + Oligodendrozyten (Abb. 17). Nur zum Zeitpunkt der Geburt waren einige wenige doppelt-positive BCAS1+ Zellen und PDGFR α + Oligodendrozyten zu finden (Abb. 18).

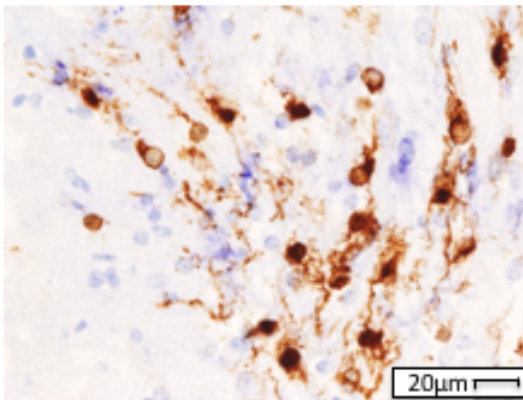


Abbildung 16: BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten im Rückenmark der 17. SSW

Der lichtmikroskopische Ausschnitt aus der weißen Substanz eines Rückenmarks in der 17. SSW zeigt viele BCAS1+ Oligodendrozyten (braun) im Vergleich zu etwas weniger PDGFR α + Oligodendrozyten (blau). Die PDGFR α + Zellen erscheinen hier als separate BCAS1-negative Zellpopulation.

braun: BCAS1+ Oligodendrozyten, blau: PDGFR α + Oligodendrozyten, Originalvergrößerung 400x

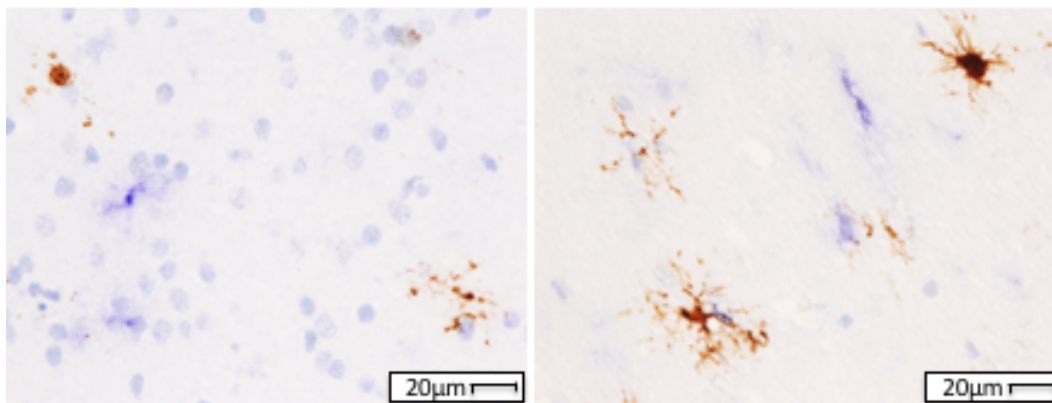


Abbildung 17: BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten im Frontalhirn der 17. SSW und um die Geburt

Der lichtmikroskopische Ausschnitt aus der weißen Substanz eines Frontalhirns zeigt links BCAS1+ Oligodendrozyten (braune Zellen), welche im Vergleich PDGFR α + Oligodendrozyten (blaue Zellen) in der 17. SSW in ähnlicher Anzahl zu finden sind. Rechts zeigt das Frontalhirn um den Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre). Hier sind ebenfalls ähnlich viele BCAS1+ Zellen wie PDGFR α + Zellen zu finden.

braun: BCAS1+ Oligodendrozyten, blau: PDGFR α + Oligodendrozyten, Originalvergrößerung 400x

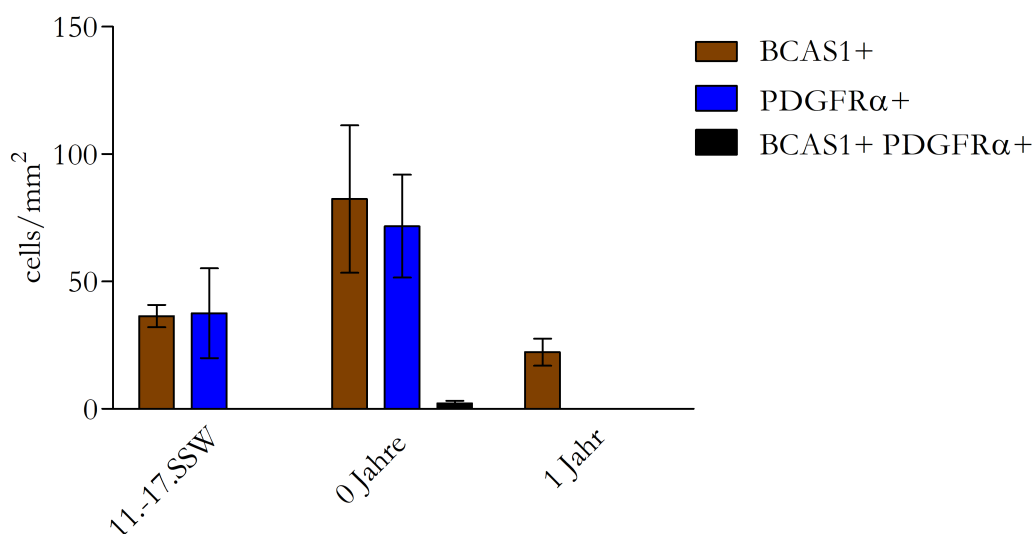


Abbildung 18: Quantifizierung von BCAS1+ und PDGFR α + Zellen im Frontalhirn in der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr

Die Quantifizierung von BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten in der weißen Substanz des Frontalhirns pro mm² zeigt einige BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW, welche bis zur Geburt hin zunehmen und bis zum ersten Lebensjahr wieder abnehmen (braune Balken). PDGFR α + Zellen sind ab der 11.-17. SSW in ähnlicher Dichte wie die BCAS1+ Zellen vorhanden, nehmen auch bis zur Geburt, sind jedoch ab einem Jahr nicht mehr nachweisbar (blaue Balken). Es zeigen sich nur um den Zeitpunkt der Geburt wenige BCAS1 und PDGFR α doppelt-positive Zellen (schwarzer Balken).

BCAS1: 11.-17.SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2, PDGFR α : 11.-17. SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=1, BCAS1 PDGFR α : 11.-17. SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=0

Im Frontalhirn waren in der 11.-17. SSW $36,4 \pm 4,4$ (Mittelwert \pm SD) BCAS1+ Oligodendrozyten/ mm^2 und um die Geburt $82,4$ Zellen/ mm^2 ($\pm 40,92$) zu finden (Abb. 18). Die BCAS1+ Oligodendrozyten bei einem Lebensjahr wurden mit den Daten auf S. 38 verglichen. Die BCAS1+ Zellzahl stieg bis zur Geburt an und fiel anschließend wieder ab. In der 11.-17. SSW waren $37,6$ Zellen/ mm^2 ($\pm 17,6$), um die Geburt $71,53$ Zellen/ mm^2 ($\pm 28,51$) und nach einem Lebensjahr keine PDGFR α + Oligodendrozyten zu finden. PDGFR α + Zellen waren somit ab dem ersten Lebensjahr nicht mehr nachweisbar. BCAS1 und PDGFR α doppelt-positive Oligodendrozyten fanden sich nicht in der 11.-17.SSW, um die Geburt fanden sich $2,13$ Zellen/ mm^2 ($\pm 1,51$) und nach einem Lebensjahr konnten erneut keine doppelt-positiven Zellen nachgewiesen werden (Abb.18).

3.3 Vergleichende Analyse von NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen im Frontalhirn

Um NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen miteinander zu vergleichen, untersuchte ich dieselben Schnitte um den Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) sowie nach einem Lebensjahr. NG2+ Oligodendrozytenvorläuferzellen waren um die Geburt sowie nach einem Lebensjahr in hoher Dichte zu finden (Abb. 19, oben). PDGFR α + Zellen waren um die Geburt ebenfalls in hoher Dichte nachweisbar, nach einem Lebensjahr konnten jedoch keine Zellen mehr nachgewiesen werden (Abb. 19, unten).

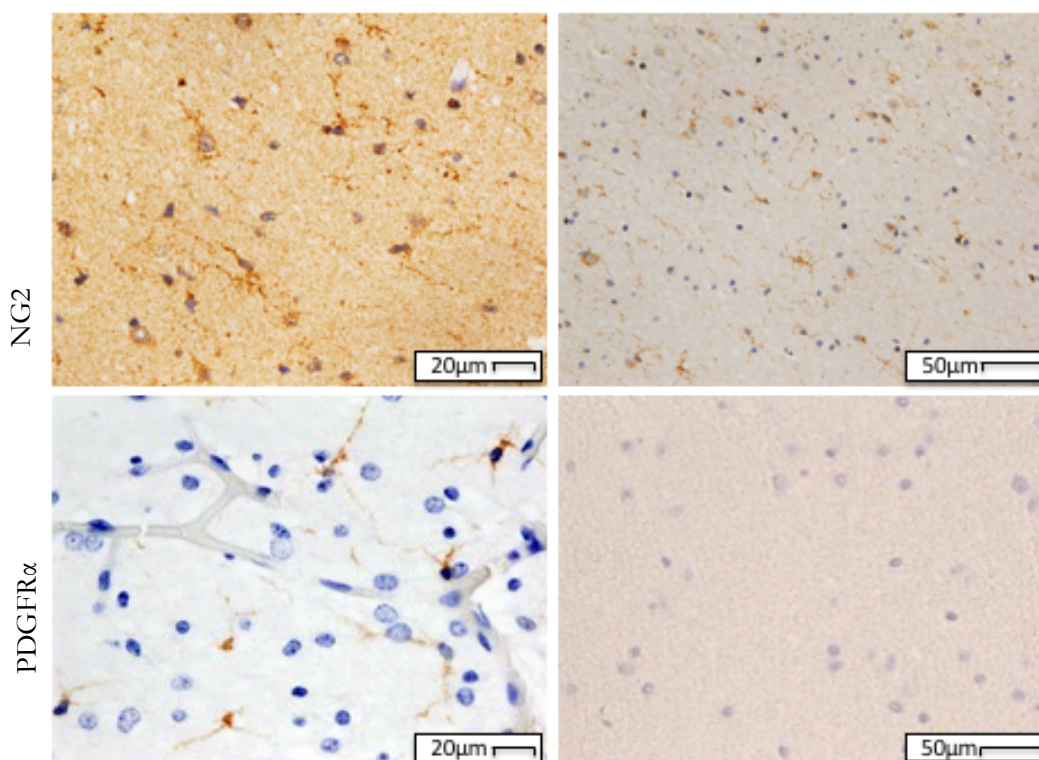


Abbildung 19: NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen im Frontalhirn

Die lichtmikroskopische Darstellung der weißen Substanz des Frontalhirns zeigt links einen Ausschnitt um den Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre). Hier lassen sich viele NG2+ Zellen (braune Zellen oben links) und ebenfalls viele PDGFR α + Zellen (braune Zellen unten links) erkennen. Rechts ist das Frontalhirn nach einem Lebensjahr dargestellt. Hier sind ebenfalls viele NG2+ Zellen zu finden (braune Zellen oben rechts). Es zeigen sich jedoch keine PDGFR α + Zellen (unten rechts).

braun: NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen, links Originalvergrößerung 400x, rechts Originalvergrößerung 200x

3.3.1 NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen im Vergleich zu BCAS1+ prämyelinisierenden und myelinisierenden Oligodendrozyten im Frontalhirn

Um den Vergleich zwischen den verschiedenen Oligodendrozytenpopulationen zu vervollständigen, analysierte ich NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen im Vergleich zu BCAS1+ prämyelinisierenden und myelinisierenden Oligodendrozyten auf denselben Schnittpräparaten. Hierbei fand ich nahezu gleiche Dichten an PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen und BCAS1+ Oligodendrozyten in der 11.-17. SSW sowie um die Geburt (0 Jahre). Nach einem Lebensjahr sind NG2+ Zellen leicht rückläufig, aber immer noch in einer hohen Dichte zu finden. Die Dichte an BCAS1+ Zellen war wie auch in den vorherigen Präparaten rückläufig und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen waren nach einem Lebensjahr nicht mehr zu finden (Abb. 20).

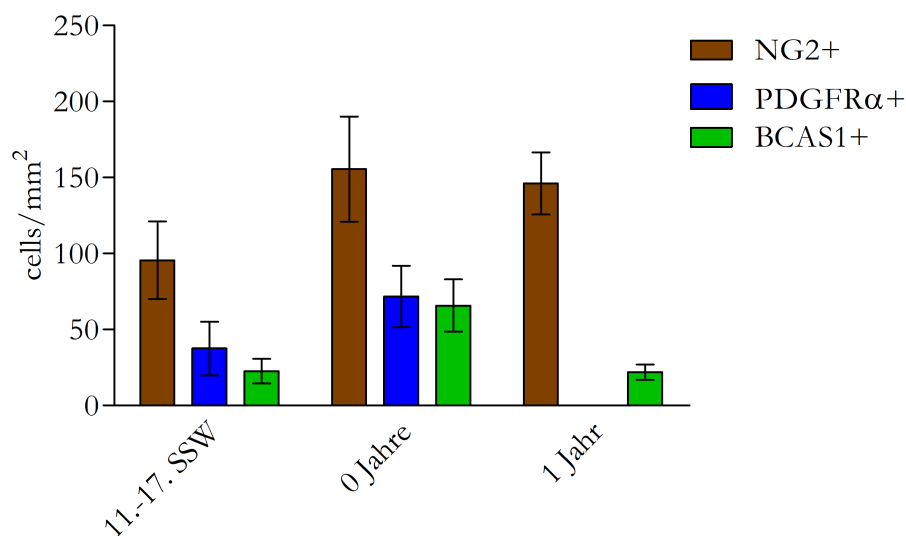


Abbildung 20: Quantifizierung von NG2+, PDGFR α + und BCAS1+ im Frontalhirn von der 11. SSW bis zu einem Lebensjahr

Die Quantifizierung von NG2+, BCAS1+ und PDGFR α + Oligodendrozyten in der weißen Substanz des Frontalhirns pro mm² zeigt, dass die NG2+ Zellen sowohl in der 11.-17. SSW, zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) und bei einem Jahr in hoher Dichte vorhanden sind (braune Balken). Von PDGFR α + Zellen sind in der 11.-17. SSW einige Zellen zu finden, welche bis zur Geburt nochmal zunehmen. Zum Zeitpunkt „ein Jahr“ sind keine PDGFR α + Zellen mehr nachweisbar (blaue Balken). BCAS1+ Zellen sind in der 11.-17. SSW etwas weniger als PDGFR α + Zellen vorhanden, nehmen zur Geburt hin zu und nehmen dann bis zu einem Lebensjahr wieder ab (grüne Balken).

NG2: 11.-17. SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=2, PDGFR α : 11.-17. SSW n=2, 0 Jahre n=3, 1 Jahr n=1, BCAS1: 11.-17. SSW n=4, 0 Jahre n=6, 1 Jahr n=2

Im Frontalhirn waren in der 11.-17. SSW $95,5 \pm 25,5$ (Mittelwert +/- SD) Zellen/mm², zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $155,53$ Zellen/mm² ($\pm 48,94$) und bei einem Jahr $146,19$ Zellen/mm² ($\pm 20,48$) NG2+ Oligodendrozyten zu finden (Abb. 20). Die Anzahl der NG2+ Zellen stieg zum Zeitpunkt der Geburt an und war auch postpartal hoch. In der 11.-17. SSW waren $37,6$ Zellen/mm² ($\pm 17,6$), zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $71,53$ Zellen/mm² ($\pm 28,51$) und nach einem Lebensjahr keine Zellen PDGFR α + Oligodendrozyten zu finden. Von den BCAS1+ Oligodendrozyten fanden sich in der 11.-17.SSW $22,6$ Zellen/mm² ($\pm 14,15$), zum Zeitpunkt der Geburt (0 Jahre) $65,82$ Zellen/mm² ($\pm 38,37,51$) und nach einem Lebensjahr $21,96$ Zellen/mm² ($\pm 5,05$). Somit sank die Zahl der BCAS1+ Zellen nach einem Jahr wieder ab (Abb. 20).

3.3.1.1 Vergleichende Analysen von BCAS1+ Oligodendrozyten zu NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen

Um ähnlich wie in 3.3.1 BCAS1+, NG2+ und PDGFR α + Zellen direkt miteinander zu vergleichen, erstellte ich ein Liniendiagramm (Abb. 21). Deutlich wird, dass die NG2+ Zellen in allen Entwicklungsstufen bis zum ersten Lebensjahr in hoher Anzahl zu finden waren und BCAS1+ bzw. PDGFR α + Oligodendrozyten einen nahezu identischen Verlauf zeigen mit Reduktion zum ersten Lebensjahr hin. Interessant ist die Tatsache, dass PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen mit einem Lebensjahr nicht mehr nachweisbar sind.

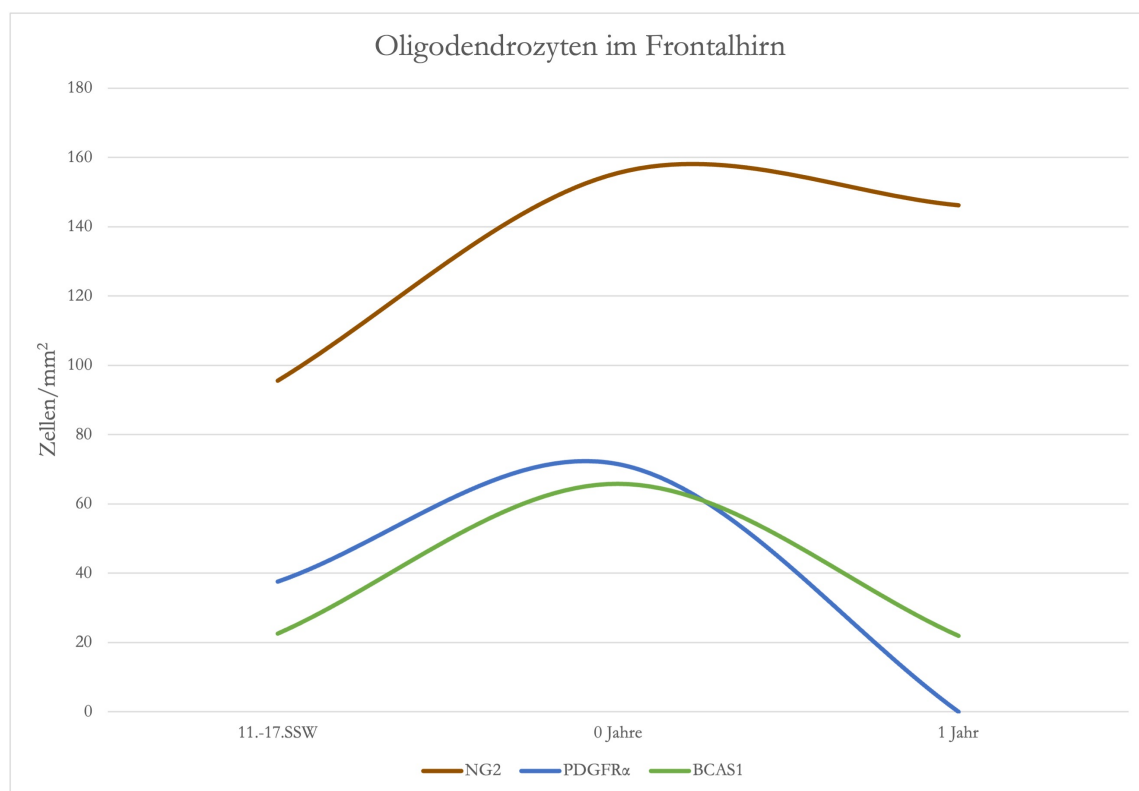


Abbildung 21: BCAS1+, NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozyten im Frontalhirn von der 11. SSW bis zum ersten Lebensjahr

Die graphische Darstellung von BCAS1+, NG2+ und PDGFR α + Oligodendrozyten zeigt zum einen die hohe Anzahl an NG2+ Zellen (braune Linie) ab der 11. SSW, welche bis zur Geburt (0 Jahre) weiter ansteigt und bis zum ersten Lebensjahr nahezu konstant bleibt. BCAS1+ (grüne Linie) und PDGFR α + (blaue Linie) Oligodendrozyten verlaufen in ähnlichen Kurven: Ab der 11. SSW bis zur Geburt (0 Jahre) steigt die Anzahl der Zellen und fällt bis zum ersten Lebensjahr stark ab. Der Unterschied ist jedoch, dass von BCAS1+ Zellen bei einem Lebensjahr noch einige vorhanden sind während von den PDGFR α + Oligodendrozytenvorläuferzellen keine mehr zu finden sind.

braune Linie: NG2, grüne Linie: BCAS1, blaue Linie: PDGFR α

4 Diskussion

Oligodendrozyten sind Gliazellen des menschlichen Gehirns, welche für die Myelinisierung der Axone verantwortlich sind (Montani 2020). Die Bildung und Differenzierung der Oligodendrozyten beginnt mit der Proliferation von Oligodendrozytenvorläuferzellen, welche als OPCs bezeichnet werden. OPCs können aufgrund der Expression von PDGFR α und NG2 identifiziert werden (Tsai et al. 2016; Du et al. 2021). OPCs entwickeln sich weiter zur Zwischenstufe der präOL, welche prämyelinisierende und frühe, aktiv myelinisierende Oligodendrozyten darstellen und sich durch BCAS1 nachweisen lassen (Fard et al. 2017). Anschließend reifen sie zu adulten Oligodendrozyten und exprimieren TPPP/p25 (Oláh et al. 2020).

Myelin wird für eine schnelle Erregungsübertragung im ZNS benötigt. Es ist spiralförmig um die Axone gewickelt und lässt sich durch den Marker MBP nachweisen (Friess et al. 2016). Die unmyelinisierten Bereiche zwischen den Myelinscheiden werden als Ranviersche Schnürringe bezeichnet. Durch diese kann die Information von Schnürring zu Schnürring schnell, auch „saltatorisch“ genannt, fortgeleitet werden. Die Myelinisierung der Axone im ZNS läuft sowohl chronologisch als auch topographisch nach einem festen Schema ab. Wie der Ablauf der Myelinisierung im Menschen verläuft, ist bislang erst wenig erforscht (Snaidero und Simons 2017). Die Entwicklungsschritte der Myelinisierung konnte bislang nur in Mauspräparaten beschrieben werden (Simons und Nave 2016). So konnte z. B. gezeigt werden, dass der Myelinisierungsgrad nicht in allen Bereichen des ZNS gleich ausgeprägt ist und sogar die Myelinisierung entlang eines Axons zeitlich versetzt ausfallen kann (Snaidero und Simons 2017). Die Mehrheit an Daten über Oligodendrozyten bezieht sich auf Gewebe von Mäusen. Hier entstehen die OPCs wie auch beim Menschen im ventralen Rückenmark. Im zeitlichen Vergleich zeigt sich jedoch, dass dieser Prozess bei Mäusen deutlich schneller abläuft (Douvaras und Fossati 2015). Dies könnte mit der unterschiedlichen Größe der Gehirne zusammenhängen (Tilborg et al. 2018). Im Vergleich zum Nagetier hat der Mensch ein fast 300-fach größeres Gehirnvolumen (Yeung et al. 2014).

Die Zellzahl der Oligodendrozyten im ZNS erhöht sich bis zum fünften Lebensjahr und bleibt ab diesem Zeitpunkt konstant. Der Zeitpunkt, an dem die umfangreichste Myelinisierung stattfindet, ist das erste Lebensjahr, wobei sich das Volumen der myelinisierten weißen Substanz bis zu ca. einem Alter von 40 Jahren vermehrt (Yeung et al. 2014).

Werden Myelinscheiden geschädigt oder gehen zu Grunde, reagiert der Körper mit einer Remyelinisierung des Bereiches. Eine entscheidende Rolle bei der Remyelinisierung spielen

die OPCs, da sie sich nach Aktivierung in reife Oligodendrozyten differenzieren und die demyelinisierten Axone mit Myelin versorgen (Crawford et al. 2016). Allerdings ist dies nicht so effizient wie die Myelinisierung während der Entwicklung des ZNS (Franklin und Goldman 2015). Neuere Studien ergaben Nachweise von Oligodendrozyten bei Patienten mit MS, welche direkt an der Remyelinisierung der durch MS geschädigten Areale beteiligt sein können (Yeung et al. 2019).

In der vorliegenden Arbeit lag der Schwerpunkt auf präOl. Es sollte die Hypothese untersucht werden, ob NG2+ Zellen zu BCAS1+ Zellen differenzieren, die daraufhin Myelin bilden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob anschließend die Expression von BCAS1 wieder abnimmt und zunehmend Marker reifer Oligodendrozyten, wie TPPP/p25, exprimiert werden. Daher wurden BCAS1+ präOL im zervikalen Rückenmark, Kleinhirn und Frontalhirn zwischen der 11. SSW und einem Lebensjahr charakterisiert (Abb. 4-9). Außerdem wurden OPCs durch PDGFR α und NG2 und aOL durch TPPP/p25 untersucht (Abb. 13-20). Des Weiteren erfolgte der Nachweis von Myelin durch MBP (Abb. 3).

4.1 Myelinisierung im zentralen Nervensystem

Schon während der frühen Entwicklung beginnt das menschliche Gehirn mit der Myelinproduktion. So sind beispielweise im Kleinhirn ab der 28. SSW BCAS1+ Oligodendrozyten nachweisbar (Abb. 3). Die Untersuchungen von Großhirnpräparaten nach einem Lebensjahr zeigen außerdem, dass mittels der BCAS1-Immunhistochemie auch das jetzt schon vorhandene Myelin stark angefärbt wird, was BCAS1+ auch zu einem guten Marker für Myelin macht (Abb. 3). Es zeigen sich auch Parallelen im Vorhandensein von BCAS1+ Zellen und MBP, wodurch deutlich wird, dass aktiv myelinisierende Oligodendrozyten während der Myelinisierung besonders häufig vorkommen. In der 32. SSW sind nur wenige MBP Zellen nachweisbar, bis zum Zeitpunkt der Geburt vermehren sie sich und fallen dann postnatal ab, möglicherweise auch technisch bedingt durch die starke Myelinfärbung, die die Identifizierung MBP+ oligodendroglialer Zellkörper erschwert. Das bereits gebildete Myelin verbleibt und wird während zunehmend vielschichtiger und kompakter. Interessant wäre es, BCAS1+ und MBP im direkten Vergleich in einer Doppelfärbung zu untersuchen, um den genauen Zeitpunkt zu erfassen, an dem es keine MBP+ Zellen mehr gibt und nur noch das Myelin angefärbt wird, BCAS1+ Zellen jedoch noch vorhanden sind.

Die Myelinisierung der Axone findet nicht nur während der Entwicklung, sondern auch nach der Geburt in einem reduzierten Umfang und während des gesamten Erwachsenenalters

statt. Hierbei wird Myelin nicht nur neu gebildet, sondern bereits vorhandenes Myelin umgebaut und modifiziert (Kang et al. 2010). Diese Prozesse sind Teil einer stetigen Plastizität neuronaler Netzwerke (Purger et al. 2016).

Es gibt bereits viele wissenschaftliche Daten über myelinisierende Oligodendrozyten von Nagetieren, da entsprechende Präparate zahlreich verfügbar sind und sich ebenso eine große Anzahl an genetisch manipuliertem Gewebe erstellen lässt. Die Bildung neuer Myelinscheiden im ZNS findet bei Mäusen bis ins Erwachsenenalter statt. Bei Menschen dauert die Myelinisierung länger als bei Nagetieren. Nach Abschluss der primären Myelinisierung findet die weitere Myelinbildung als Antwort auf Hirnaktivität statt (Fard et al. 2017).

4.2 Oligodendrozyten während der Entwicklung

Bereits um die 11. SSW gibt es im menschlichen Rückenmark Zellen, welche aus den VZ des Rückenmarks stammen (Tsai et al. 2016). Bei Vögeln findet die OPC-Entwicklung ähnlich statt: Als erstes entstehen sie in der VZ des Rückenmarks und migrieren von dort aus in die dorsalen Regionen. Ebenfalls stammen die OPCs des Vorderhirns aus dem ventralen Telencephalon (Olivier et al. 2001). BCAS1+ Oligodendrozyten in humanem Gewebe lassen sich beispielsweise bereits ab der 11. SSW im Rückenmark nachweisen (Abb. 5). Das Frontalhirn, welches hoch komplexe Funktionen erfüllen muss, wird zeitlich gesehen später als das restliche ZNS myelinisiert (Fard et al. 2017), so lässt es sich erklären, dass im Rückenmark kaum noch BCAS1+ Zellen vorhanden sind während zeitgleich im Frontalhirn noch aktiv myelinisierende BCAS1+ Oligodendrozyten nachweisbar sind (Abb. 5 und 9). Bei Mäusen hingegen sind sowohl bei jungen also auch bei erwachsenen Tieren BCAS1+ Oligodendrozyten in hoher Dichte nachweisbar. Nur bei sehr alten Tieren zeigt sich eine deutlich reduzierte Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten. BCAS1+ Zellen können somit v. a. im menschlichen ZNS als Hinweis dienen, Bereiche im Gehirn zu identifizieren, in denen aktiv Myelin produziert wird (Fard et al. 2017).

TPPP/p25+ Oligodendrozyten sind ab der 11. SSW in hoher Dichte im Rückenmark nachweisbar (Abb. 5). Da TPPP/p25 ein Marker für adulte Oligodendrozyten ist, bedeutet dies, dass bereits ausgereifte und somit differenzierte Oligodendrozyten vorhanden sind. Das Rückenmark hat also ab der 11. SSW myelinisierte Nervenfasern. Im Vergleich zum Klein- und Frontalhirn setzen die gleichen Entwicklungsstufen früher in. Der genaue Zeitpunkt, an dem die OPCs das Rückenmark besiedeln, könnte bei bereits vorhandenen TPPP/p25+ Zellen noch früher als ab der 11. SSW sein. Für diese Untersuchung wären allerdings noch jüngere Gewebeschnitte zum Beispiel ab der 10. SSW nötig. Nur so könnte der genaue Zeitpunkt

der ersten Besiedelung durch OPCs in Form von NG2+ oder PDGFR α + Zellen zu bestimmen sein bzw. der Übergang dieser Zellen zu BCAS1+ prämyelinisierenden und myelinisierenden Oligodendrozyten darstellbar sein.

NG2+ Zellen sind Stammzellen des ZNS und überwiegend Oligodendrozytenvorläuferzellen, die sich nach Teilung aber auch, wenn auch zu geringerem Teil, in andere Zellen, z. B. Astrozyten, differenzieren können (Du et al. 2021; Boda et al. 2015). Sie sind sowohl während der menschlichen Gehirnentwicklung als auch im adulten Gehirn zu finden (Kirdajova und Anderova 2020). Sowohl Nagetiere als auch Menschen haben im adulten Gehirn eine hohe Dichte an NG2 Zellen. Jedoch wurde beispielsweise nur im menschlichen Hippocampus das Ca²⁺-Bindungsprotein S100 β in NG2+ Zellen bzw. nur in einer NG2-Untergruppe der Maus gefunden (Bedner et al. 2020).

PDGFR α ist ein Markerprotein von OPCs und für deren Differenzierungen relevant (Grinspan 2002). Festgestellt wurde dies durch Experimente, bei denen durch das Fehlen von PDGFR α die Dichte von Oligodendrozyten und Myelin enorm beeinträchtigt war (Nishiyama et al. 2009). Durch Inaktivierung von PDGFR α kann es ebenfalls zur kompletten Eliminierung von OPCs kommen (Dang et al. 2019). Die Expression von PDGFR α reguliert somit das Zeitfenster der Proliferation von Oligodendrozytenvorläuferzellen, da es eine vorzeitige Reifung hemmt. In der pränatalen Phase ist eine ähnliche Dichte von NG2+ und PDGFR α + Zellen nachweisbar, postnatal lassen sich deutliche Unterschiede feststellen: Während die NG2+ Zellen eine nahezu konstante Dichte aufweisen, sind die PDGFR α + Zellen nach der Geburt, sprich nach dem Zeitpunkt der stattgehabten Differenzierung, nicht mehr nachweisbar (Abb. 20). Die Frage, ob die PDGFR α + einen Subtyp der NG2+ Zellen darstellen, müsste mit einer Doppelfärbung für PDGFR α und NG2 geprüft werden. Lassen sich dadurch viele doppeltpositive Zellen identifizieren, würde dies diese Hypothese stützen. Studien aus Hirnschnitten der Maus zeigen hierbei z. B., dass sowohl NG2+ als auch PDGFR α + postnatal relativ rasch herunterreguliert werden (Rivers et al. 2008). Interessanterweise werden ohne Expression von PDGFR α kein NG2 produziert, was die Theorie stützt, dass OPCs PDGFR α benötigen, um ebenfalls NG2 zu exprimieren. Bei einer übermäßigen PDGFR α Stimulation kommt es dementsprechend zu einem Anstieg von NG2 Zellen (Hill et al. 2013). Es gibt Hinweise darauf, dass die Bildung von NG2 erst nach der Expression von PDGFR α startet (Dawson et al. 2003). In Mäusen sind die OPCs am Ende der ersten postnatalen Woche in höchster Dichte zu finden. Die Expression von NG2 und PDGFR α nimmt parallel ab, sobald die OPCs rückläufig sind (Nishiyama et al. 2021). Es wurde bereits eine Subpopulation von NG2 Zellen identifiziert, welche als multipotente Vorläuferzellen agiert. Diese Subpopulation bildet neue Astrozyten und OPCs und kann nach

Läsionen des ZNS neue Zellen bilden (Valny et al. 2018; Huang et al. 2018). In Bereichen aktiver MS-Läsionen wurden sowohl NG2+ als auch PDGFR α + OPCs gefunden, bei chronisch inaktiven Läsionen waren diese jedoch nicht nachweisbar (Wilson et al. 2006).

4.3 Pathogenese der Multiplen Sklerose

Durch die Funktion des Myelins wird im erwachsenen ZNS eine schnelle Informationsweitergabe aufrechterhalten. Im Rahmen der MS kommt es zu fehlenden Myelinabschnitten und somit zur Störung neuronaler Schaltkreise, woraus symptomatische Veränderungen resultieren (Nickel and Gu 2018).

Ein Teil der Entmarkungsherde bei Gewebeschnitten aus dem ZNS von Patienten mit MS zeigt Zeichen der Remyelinisierung durch schwächer angefärbte Bereiche. Diese scharf abgegrenzten Herde mit regenerierten Myelinscheiden werden auch als sog. Markschatthenherde bezeichnet werden (Kuhlmann et al. 2017). Die optisch blasse Farbe kommt durch die dünneren Myelinhüllen sowie die Tatsache, dass meist nicht jedes Axon remyelinisiert ist, zustande (Patrikios et al. 2006).

Bevor BCAS1+ Zellen mit der Remyelinisierung beginnen können, ist das Einwandern von OPCs in das Läsionsgebiet vonnöten: In Läsionsgebieten finden Differenzierungsvorgänge statt, um die Axone mit Myelin zu versorgen (Crawford Abbe H. et al. 2016). Von großer Bedeutung ist hierbei eine Astrozyten-Oligodendrozyten-Wechselwirkung, da Oligodendrozytenvorläuferzellen durch von Astrozyten sezernierte Faktoren aktiviert werden müssen (Lohrberg et al. 2020).

Es gibt enorme Unterschiede in der Ausprägung der Remyelinisierung bei MS-Patienten, z. B. ist sie bei jüngeren Menschen viel effizienter als bei älteren (De La Fuente et al. 2017). Eine höhere Remyelinisierung geht mit weniger körperlicher Behinderung einher (Bodini et al. 2016). Zudem ist der Grad der Remyelinisierung abhängig von der jeweiligen Region innerhalb des ZNS. Während eine vermehrte Remyelinisierung im Frontallappen zu beobachten ist, werden die periventrikulären Regionen, der Hirnstamm und das Rückenmark eher eingeschränkt remyelinisiert (Bradl und Lassmann 2010). Das Ausmaß der Remyelinisierung ist bei MS-Patienten unterschiedlich: Patienten mit längerer Krankheitsdauer und höherem Sterbealter zeigten eine stärker ausgeprägte Remyelinisierung also Patienten mit geringerer Krankheitsdauer und niedrigerem Sterbealter (Patrikios et al. 2006).

4.4 Adaptive Myelinisierung

Bei der adaptiven Myelinisierung werden durch intensive Nutzung bestimmter Hirnareale, auch Assoziationsgebiete genannt, OPCs aktiviert, um noch nicht myelinisierte Axone zu myelinisieren (Baraban et al. 2016). Wenn Gehirne von Nagetieren und Menschen miteinander verglichen werden, zeigen sich einige Unterschiede: Die Assoziationsgebiete einer Maus sind verglichen mit einem humanen Gehirn deutlich kleiner. Umgekehrt ist die für das Riechen zuständige Region bei Nagetieren viel größer als beim Menschen. Andererseits haben Menschen größere Hirnareale, welche der Sprechmotorik und dem Sprachverständnis zugeordnet sind. Verschieden ist ebenso die zeitliche Abfolge der Myelinisierung. Beim Menschen dauert diese bedingt durch die größere Komplexität des ZNS länger als bei Nagetieren. Möglicherweise trägt auch die beim Menschen beobachtete höhere Dichte an Oligodendrozyten zur Leistungsfähigkeit des ZNS bei (Bradl und Lassmann 2010).

4.5 Ausblick

Obwohl die Mechanismen der Myelinisierung des ZNS bereits gut erforscht sind, sind die detaillierten Abläufe, insbesondere beim Menschen, noch nicht im Detail bekannt. Teilweise gibt es sogar noch unentdeckte bzw. unzureichend erforschte Zellpopulationen, die gerade in den Entwicklungsprozessen eine wichtige Rolle einnehmen können. Es gibt bereits eine Vielzahl an Studien über die Gehirnentwicklung, welche allerdings oftmals auf Tiermodellen wie z. B. der Maus basieren (Di Lullo und Kriegstein 2017). So werden beispielsweise allein zwölf verschiedene Oligodendrozytensubpopulationen im sich entwickelnden Maushirn beschrieben (Marques et al. 2016). Um die Differenzierungs- und Migrationsprozesse bei der Myelinisierung im Menschen nachvollziehen zu können, sind Studien an humanen Gewebeschnitten notwendig (Di Lullo und Kriegstein 2017).

Ein Ansatz für weitere Arbeiten bzw. Forschungsprojekte könnte die genaue Überprüfung der Myelinbildung parallel zur Oligodendrozytendifferenzierung sein. Dazu stellt sich die Frage, ob die Myelinisierung tatsächlich parallel zu dem Verlauf der BCAS1+ Oligodendrozyten stattfindet, und ob die Dichte an MBP+ Zellen in der Summe tatsächlich ähnlich den BCAS1+ Zellen verlaufen. Interessanterweise wird durch die Färbung für die BCAS1+ Zellen das Myelin ebenso angefärbt, was dafür spricht, dass sich im Myelin auch BCAS1 befindet. Zusammengefasst zeigt sich, dass BCAS1+, aktiv myelinisierende Zellen während der Myelinisierung in hoher Dichte vorkommen, weshalb BCAS1 auch als Marker für adaptive Myelinisierung genutzt werden könnte.

Da BCAS1+ Zellen außerdem in den Läsionsbereichen von MS auftreten, ist es wichtig, diese Beobachtung weiter zu erhärten und zu präzisieren. Einige der publizierten Studien über MS konnten nachweisen, dass Oligodendrozyten in frühen MS-Läsionen destruiert und abgebaut werden (Love et al. 2008). Zudem unterliegt der Grad der Remyelinisierung der MS-Läsionen einer signifikanten Heterogenität innerhalb der Patienten. Nichtsdestotrotz könnte eine Remyelinisierung demyelinisierter Axone einen vielversprechenden Therapieansatz in der Behandlung der MS darstellen, wodurch sowohl Studien zu den Mechanismen der Remyelinisierung als auch zur Identität der myelinisierenden Oligodendrozyten immer mehr an Bedeutung gewinnen. Daher bieten Erkenntnisse über den physiologischen Prozess und die Steuerung der Myelinisierung, welche vorwiegend während der Embryonalentwicklung stattfindet, die Grundlage für ein Verständnis der Pathogenese der MS und insbesondere der regenerativen Prozesse.

Um mögliche Therapieansätze bei neurologischen Erkrankungen entwickeln zu können, sind Rückschlüsse auf die grundlegende Physiologie und die genauere Beschreibung der betroffenen Zellen notwendig. Seitdem Erkenntnisse in der MS-Forschung darüber vorliegen, dass möglicherweise eine Fehldifferenzierung der Oligodendrozyten zu einer limitierten Remyelinisierung in entmarkten Läsionen führen, spielen Grundkenntnisse über die Entwicklung des Nervensystems und der Oligodendrozyten eine immer wichtiger werdende Rolle. Die Oligodendrozytendifferenzierung läuft nach einem standardisierten Schema ab, wobei der Zeitpunkt durch interne sowie externe Signale beeinflusst wird (Klingseisen und Lyons 2018). Die Differenzierung der in MS-Läsionen eingewanderten OPCs ist beeinträchtigt, was eine Erklärung dafür liefern könnte, warum die Remyelinisierung bei MS Patienten nicht effektiv genug ist. Ebenfalls könnte damit zusammenhängen, dass bei chronischen Läsionen die Anzahl der OPCs verringert ist (Kuhlmann et al. 2008). In aktiv entmarkten Läsionen konnten ebenfalls BCAS1+ Zellen nachgewiesen werden, was dafür spricht, dass sie früh nach Läsionsbeginn aktiviert werden (Fard et al. 2017).

Ein weiterer Fokus könnte auf der Charakterisierung von Perizyten liegen. Perizyten sind kontraktile Zellen, welche entlang des Gefäßnetzes der Kapillaren im Körper verteilt sind. Sie regulieren unter anderem den zerebralen Blutfluss, sind an der Blut-Hirn-Schranke beteiligt und spielen eine Rolle bei der Angiogenese (Brown et al. 2019). Perizyten sind ebenfalls in der Nähe von reifen Oligodendrozyten zu finden und werden nach einer Demyelinisierung in der weißen Substanz aktiviert. In einem Mausmodell zeigte sich, dass bei einer geringen Anzahl an Perizyten die Bildung von reifen Oligodendrozyten und somit die Remyelinisierung verlangsamt abläuft (De La Fuente et al. 2017).

Ebenfalls könnte ein weiteres Augenmerk auf Astrozyten in Bezug auf Oligodendrozyten gelegt werden, da sie über Gap Junctions miteinander verbunden sind und somit zum Transport der für die Myelinisierung benötigten Lipide beitragen (Molina-Gonzalez und Miron 2019). Ein gestörter bzw. unzureichender Transport kann ebenfalls Ursache von Remyelinisierungsstörungen sein.

Ebenfalls könnten weitere Tiermodelle Klarheiten schaffen: In Mäusen ließ sich beispielsweise zeigen, dass körperliche Bewegung die Oligodendrozytendifferenzierung von OPCs zu präOL verbessert (Simon et al. 2011). Mögliche Komponente hierbei könnte sein, dass MS-Patienten sich durch die körperlichen Symptome nicht mehr ausreichend bewegen und dies Einfluss auf die Differenzierung der OPCs nimmt.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Dissertation wurden Oligodendrozyten in der weißen Substanz des ZNS in verschiedenen Stadien der menschlichen prä- und frühen postnatalen Entwicklung in verschiedenen ZNS-Regionen miteinander verglichen. Der Fokus lag dabei auf BCAS1+ Oligodendrozyten, welche prämyelinisierende beziehungsweise aktiv myelinisierende Oligodendrozyten sind.

Es wurde die Hypothese untersucht, dass NG2+ Zellen zu BCAS1+ Zellen differenzieren, welche daraufhin Myelin bilden. Des Weiteren wurde untersucht, ob die Expression von BCAS1 anschließend wieder abnimmt und diese Zellen nachfolgend TPPP/p25 exprimieren. Hierfür wurden die Bereiche des menschlichen Rückenmark, des Klein- und des Großhirns eingeschlossen, um prototypische ZNS-Areale mit sehr früher (Rückenmark) und später (frontales Marklager) Myelinisierung zu vergleichen. Dies wurde anhand von Doppelmarkierungen ausgewertet, die auf demselben Präparat angefertigt wurden. Die in dieser Dissertation für die Oligodendrozytenvorläuferzellen benutzten immunhistochemischen Marker waren PDGFR α und NG2, für prämyelinisierende Oligodendrozyten BCAS1 und für adulte Oligodendrozyten TPPP/p25.

Während im Rückenmark um die elfte Schwangerschaftswoche bereits viele BCAS1+ Oligodendrozyten und TPPP/p25 Oligodendrozyten nachgewiesen werden konnten, sind zeitgleich im Großhirn lediglich eine geringe Dichte an BCAS1+ Oligodendrozyten vorhanden. Um den Zeitpunkt der Geburt lässt sich im Rückenmark eine hohe Dichte an TPPP/p25+ Oligodendrozyten, jedoch keine BCAS1+ Zellen, während sich im Großhirn eine hohe Dichte an BCAS1+ Zellen und wenige TPPP/p25+ Zellen nachweisen lassen.

Hieraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass es sich bei BCAS1+ Oligodendrozyten um einen Subtyp der bisherigen Oligodendrozytenpopulation handelt. Sie dienen als Nachweis prämyelinisierender und aktiv myelinisierender Oligodendrozyten, welche sich zu adulten Oligodendrozyten differenzieren.

6 Anhang

Tabelle A1: Analyierte Bereiche im Rückenmark, Klein- und Frontalhirn in Immunfluoreszenz-Doppelfärbung mit BCAS1 und TPPP/p25

Rückenmark	11.-17.SSW	28.-36.SSW	0 Jahre	Kleinhirn	11.-17.SSW	28.-36.SSW	0 Jahre	1 Jahr	Frontal	11.-17.SSW	28.-36.SSW	0 Jahre	1 Jahr
BCAS1	535	71,43	0	BCAS1	6,8	91,69	34	0	BCAS1	10,3	29,64	60,83	16,91
	138,59	208,84	0		14,37	64	50,46	9,52		3,43	21,25	103,59	27,59
	69,15	1,43	0		16,74	129	156,25			11,43	84,12	108	
	447,76	3,33			8,73		75,76						
TPPP/p25	90	685,71	206,67	TPPP/p25	0	5,14	200	400	TPPP/p25	0	0	0	114
	0	43,09	178,51		0	122	178,9	609,52		0	0	6,15	382,76
	0	262,48	233,67		0	79	296,86			0	36,64	78	
	149,25	296,67			0	261,36							
BCAS1	80	71,43	0	BCAS1	0	0	0	0	BCAS1	0	0	0	0
TPPP/p25	0	8,84	0	TPPP/p25	0	0	1,53	0	TPPP/p25	0	0	3,08	0
	0	1,43	0		0	15	39,06			0	8,14	28	
	0	3,33			0								

Analysiert wurden Zellen/mm² in zwei bis vier Präparaten der weißen Substanz des Rückenmarks, des Klein- und des Frontalhirns. Hierfür wurden Immunfluoreszenz-Doppelfärbungen mit BCAS1 und TPPP/p25 angefertigt, um gleichzeitig mehrere Entwicklungsstufen sichtbar zu machen und hinsichtlich der Zelldichte auszuwerten. Für die statistischen Berechnungen wurden der Mittelwert mit der Standardabweichung verwendet.

Tabelle A2: Analyierte Bereiche im Frontalhirn in Doppelfärbung mit BCAS1, PDGFR α und NG2

Frontalhirn	11.-17.SSW	0 Jahre	1 Jahr	Frontalhirn	11.-17.SSW	0 Jahre	1 Jahr	Frontalhirn	11.-17.SSW	0 Jahre	1 Jahr
BCAS1	8,4	37,33	16,91	BCAS1	32	58,4	16,91	NG2	121	139	125,71
	9,2	24	27,59		40,8	48,8	27,59		70	105,6	166,66
		86,4			140				222		
BCAS1 NG2	0	3,8	0	BCAS1 PDGFR α	0	3,2		PDGFR α	20	40,8	0
		0			0	0			55,2	64,8	
		2,4			3,2				109		
NG2	121,2	139	125,71	PDGFR α	20	40,8	0	BCAS1	8,4	86,4	16,91
	70	105,6	166,66		55,2	64,8			9,2	58,4	27
		222				109,6			32	37,33	
									40,8	24	
									48,8		
									140		

Analysiert wurden Zellen/mm² in ein bis sechs Präparaten der weißen Substanz des Frontalhirns. Durch Doppelfärbungen mit BCAS1, PDGFR α und NG2 wurden gleichzeitig mehrere Entwicklungsstufen sichtbar gemacht und hinsichtlich der Zelldichte ausgewertet. Für die statistischen Berechnungen wurden der Mittelwert mit der Standardabweichung verwendet.

7 Literaturverzeichnis

Adamsky A, Goshen I (2018): Astrocytes in Memory Function: Pioneering Findings and Future Directions. *Neuroscience* 370, 14–26

Aktas O, Wattjes MP, Stangel M, Hartung HP (2018): Diagnose der Multiplen Sklerose: Revision der McDonald-Kriterien 2017. *Nervenarzt* 89, 1344–1354

Akter M, Kaneko N, Herranz-Pérez V, Nakamura S, Oishi H, García-Verdugo JM, Sawamoto K (2020): Dynamic Changes in the Neurogenic Potential in the Ventricular–Subventricular Zone of Common Marmoset during Postnatal Brain Development. *Cereb. Cortex* 30, 4092–4109

Anderson SA, Marin O, Horn C, Jennings K, Rubenstein JL (2001): Distinct cortical migrations from the medial and lateral ganglionic eminences. *Development* 128, 353–363

Baraban M, Mensch S, Lyons DA (2016): Adaptive myelination from fish to man. *Brain Res* 1641, 149–161

Baron W, Metz B, Bansal R, Hoekstra D, de Vries H (2000): PDGF and FGF-2 Signaling in Oligodendrocyte Progenitor Cells: Regulation of Proliferation and Differentiation by Multiple Intracellular Signaling Pathways. *Mol Cell Neurosci* 15, 314–329

Baron W, Ozgen H, Klunder B, Jonge JC de, Nomden A, Plat A, Trifilieff E, Vries H de, Hoekstra D (2015): The Major Myelin-Resident Protein PLP Is Transported to Myelin Membranes via a Transcytotic Mechanism: Involvement of Sulfatide. *Mol Cell Biol* 35, 288–302

Bedner P, Jabs R, Steinhäuser C (2020): Properties of human astrocytes and NG2 glia. *Glia* 68, 756–767

Berghoff SA, Spieth L, Sun T, Hosang L, Schlaphoff L, Depp C, Düking T, Winchenbach J, Neuber J, Ewers D, et al. (2021): Microglia facilitate repair of demyelinated lesions via post-squalene sterol synthesis. *Nat Neurosci* 24, 47–60

Bergles DE, Richardson WD (2016): Oligodendrocyte Development and Plasticity. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8, a020453

Boda E, Maria SD, Rosa P, Taylor V, Abbracchio MP, Buffo A (2015): Early phenotypic asymmetry of sister oligodendrocyte progenitor cells after mitosis and its modulation by aging and extrinsic factors. *Glia* 63, 271–286

Bodini B, Veronese M, García-Lorenzo D, Battaglini M, Poirion E, Chardain A, Freeman L, Louapre C, Tchikviladze M, Papeix C, et al. (2016): Dynamic Imaging of Individual Remyelination Profiles in Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* 79, 726–738

Boullerne AI (2016): The history of myelin. *Exp Neurol* 283, 431–445

Bradl M, Lassmann H (2010): Oligodendrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 119, 37–53

Brown LS, Foster CG, Courtney JM, King NE, Howells DW, Sutherland BA (2019): Pericytes and Neurovascular Function in the Healthy and Diseased Brain. *Front Cell Neurosci* 13

Burda JE, Bernstein AM, Sofroniew MV (2016): Astrocyte roles in traumatic brain injury. *Exp Neurol* 275, 305–315

- Buss RR, Oppenheim RW (2004): Role of programmed cell death in normal neuronal development and function. *Anato Sci Int* 79, 191–197
- Cairns J, Vavasour IM, Traboulsee A, Carruthers R, Kolind SH, Li DKB, Moore GRW, Laule C (2022): Diffusely abnormal white matter in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 32, 5–16
- Chang K-J, Zollinger DR, Susuki K, Sherman DL, Makara MA, Brophy PJ, Cooper EC, Bennett V, Mohler PJ, Rasband MN (2014): Glial ankyrins facilitate paranodal axoglial junction assembly. *Nat Neurosci* 17, 1673–1681
- Chen Y, Qin C, Huang J, Tang X, Liu C, Huang K, Xu J, Guo G, Tong A, Zhou L (2020): The role of astrocytes in oxidative stress of central nervous system: A mixed blessing. *Cell Prolif* 53, e12781
- Choe Y, Huynh T, Pleasure SJ (2014): Migration of Oligodendrocyte Progenitor Cells Is Controlled by Transforming Growth Factor β Family Proteins during Corticogenesis. *J Neurosci* 34, 14973–14983
- Clancy B, Darlington RB, Finlay BL (2001): Translating developmental time across mammalian species. *Neurosci* 105, 7–17
- Cohen CCH, Popovic MA, Klooster J, Weil M-T, Möbius W, Nave K-A, Kole MHP (2020): Saltatory Conduction along Myelinated Axons Involves a Periaxonal Nanocircuit. *Cell* 180, 311–322.e15
- Collins C, Rommens JM, Kowbel D, Godfrey T, Tanner M, Hwang S, Polikoff D, Nonet G, Cochran J, Myambo K, et al. (1998): Positional cloning of ZNF217 and NABC1: Genes amplified at 20q13.2 and overexpressed in breast carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 8703–8708
- Cooper JA (2008): A mechanism for inside-out lamination in the neocortex. *Trends Neurosci* 31, 113–119
- Crawford Abbe H., Tripathi RB, Richardson WD, Franklin RJM (2016): Developmental Origin of Oligodendrocyte Lineage Cells Determines Response to Demyelination and Susceptibility to Age-Associated Functional Decline. *Cell Rep* 15, 761–773
- Crawford Abbe H., Tripathi RB, Foerster S, McKenzie I, Kougioumtzidou E, Grist M, Richardson WD, Franklin RJM (2016): Pre-Existing Mature Oligodendrocytes Do Not Contribute to Remyelination following Toxin-Induced Spinal Cord Demyelination. *Am J Pathol* 186, 511–516
- Cunniffe N, Coles A (2021): Promoting remyelination in multiple sclerosis. *J Neurol* 268, 30–44
- Czopka T, French-Constant C, Lyons DA (2013): Individual Oligodendrocytes Have Only a Few Hours in which to Generate New Myelin Sheaths In Vivo. *Dev Cell* 25, 599–609
- Dang TC, Ishii Y, Nguyen VD, Yamamoto S, Hamashima T, Okuno N, Nguyen QL, Sang Y, Okawa N, Saitoh Y, et al. (2019): Powerful Homeostatic Control of Oligodendroglial Lineage by PDGFR α in Adult Brain. *Cell Rep* 27, 1073–1089.e5
- Dawson MRL, Polito A, Levine JM, Reynolds R (2003): NG2-expressing glial progenitor cells: an abundant and widespread population of cycling cells in the adult rat CNS. *Mol Cell Neurosci* 24, 476–488
- de Castro F, Bribián A, Ortega MC (2013): Regulation of oligodendrocyte precursor migration during development, in adulthood and in pathology. *Cell Mol Life Sci* 70, 4355–4368
- De La Fuente AG, Lange S, Silva ME, Gonzalez GA, Tempfer H, van Wijngaarden P, Zhao C, Di

- Canio L, Trost A, Bieler L, et al. (2017): Pericytes Stimulate Oligodendrocyte Progenitor Cell Differentiation during CNS Remyelination. *Cell Rep* 20, 1755–1764
- de la Rosa EJ, de Pablo F (2000): Cell death in early neural development: beyond the neurotrophic theory. *Trends in Neurosci* 23, 454–458
- Di Lullo E, Kriegstein AR (2017): The use of brain organoids to investigate neural development and disease. *Nat Rev Neurosci* 18, 573–584
- Dimas P, Montani L, Pereira JA, Moreno D, Trötz Müller M, Gerber J, Semenkovich CF, Köfeler HC, Suter U (2019): CNS myelination and remyelination depend on fatty acid synthesis by oligodendrocytes. *eLife* 8, e44702
- Dobson R, Giovannoni G (2019): Multiple sclerosis – a review. *Eur J Neurol* 26, 27–40
- Domènech-Estévez E, Baloui H, Meng X, Zhang Y, Deinhardt K, Dupree JL, Einheber S, Chrast R, Salzer JL (2016): Akt Regulates Axon Wrapping and Myelin Sheath Thickness in the PNS. *J Neurosci* 36, 4506–4521
- Douvaras P, Fossati V (2015): Generation and isolation of oligodendrocyte progenitor cells from human pluripotent stem cells. *Nat Protoc* 10, 1143–1154
- Du X, Zhang Z, Zhou H, Zhou J (2021): Differential Modulators of NG2-Glia Differentiation into Neurons and Glia and Their Crosstalk. *Cell Mol Neurobiol* 41, 1–15
- Edan G (2018): Multiple Sclerosis over the last 25 years: an introduction. *Rev Neurol* 174, 353–354
- Falk S, Götz M (2017): Glial control of neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 47, 188–195
- Fard MK, Meer F van der, Sánchez P, Cantuti-Castelvetri L, Mandad S, Jäkel S, Fornasiero EF, Schmitt S, Ehrlich M, Starost L, et al. (2017): BCAS1 expression defines a population of early myelinating oligodendrocytes in multiple sclerosis lesions. *Sci Transl Med* 9
- Fields RD (2014): Myelin Formation and Remodeling. *Cell* 156, 15–17
- Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, De Stefano N, Evangelou N, Kappos L, Rovira A, Sastre-Garriga J, Tintorè M, Frederiksen JL, et al. (2016): MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines. *Lancet Neurol* 15, 292–303
- Filley CM, Fields RD (2016): White matter and cognition: making the connection. *J Neurophysiol* 116, 2093–2104
- Franklin RJM (2002): Why does remyelination fail in multiple sclerosis? *Nat Rev Neurosci* 3, 705–714
- Franklin RJM, Goldman SA (2015): Glia Disease and Repair—Remyelination. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7, a020594
- Franklin RJM, ffrench-Constant C (2017): Regenerating CNS myelin — from mechanisms to experimental medicines. *Nat Rev Neurosci* 18, 753–769
- Friess M, Hammann J, Unichenko P, Luhmann HJ, White R, Kirischuk S (2016): Intracellular ion signaling influences myelin basic protein synthesis in oligodendrocyte precursor cells. *Cell Calcium* 60, 322–330
- Fu M, McAlear TS, Nguyen H, Oses-Prieto JA, Valenzuela A, Shi RD, Perrino JJ, Huang T-T, Bur-

- lingame AL, Bechstedt S, Barres BA (2019): The Golgi Outpost Protein TPPP Nucleates Microtubules and Is Critical for Myelination. *Cell* 179, 132-146.e14
- Fünfschilling U, Supplie LM, Mahad D, Boretius S, Saab AS, Edgar J, Brinkmann BG, Kassmann CM, Tzvetanova ID, Möbius W, et al. (2012): Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. *Nature* 485, 517–521
- Glezer I, Lapointe A, Rivest S (2006): Innate immunity triggers oligodendrocyte progenitor reactivity and confines damages to brain injuries. *FASEB J* 20, 750–752
- Götz M, Huttner WB (2005): The cell biology of neurogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6, 777–788
- Graven SN, Browne JV (2008): Sensory Development in the Fetus, Neonate, and Infant: Introduction and Overview. *Newborn Infant Nurs Rev* 8, 169–172
- Grinspan J (2002): Cells and Signaling in Oligodendrocyte Development. *J Neuropathol Exp Neurol* 61, 297–306
- Hartline DK, Colman DR (2007): Rapid Conduction and the Evolution of Giant Axons and Myelinated Fibers. *Curr Biol* 17, R29–R35
- Hill RA, Nishiyama A (2014): NG2 cells (polydendrocytes): Listeners to the neural network with diverse properties. *Glia* 62, 1195–1210
- Hill RA, Patel KD, Medved J, Reiss AM, Nishiyama A (2013): NG2 Cells in White Matter But Not Gray Matter Proliferate in Response to PDGF. *J Neurosci* 33, 14558–14566
- Hoeffel G, Chen J, Lavin Y, Low D, Almeida FF, See P, Beaudin AE, Lum J, Low I, Forsberg EC, et al. (2015): C-Myb+ Erythro-Myeloid Progenitor-Derived Fetal Monocytes Give Rise to Adult Tissue-Resident Macrophages. *Immunity* 42, 665–678
- Huang W, Bai X, Stopper L, Catalin B, Cartarozzi LP, Scheller A, Kirchhoff F (2018): During Development NG2 Glial Cells of the Spinal Cord are Restricted to the Oligodendrocyte Lineage, but Generate Astrocytes upon Acute Injury. *Neuroscience* 385, 154–165
- Hubler Z, Allimuthu D, Bederman I, Elitt MS, Madhavan M, Allan KC, Shick HE, Garrison E, T. Karl M, Factor DC, et al. (2018): Accumulation of 8,9-unsaturated sterols drives oligodendrocyte formation and remyelination. *Nature* 560, 372–376
- Imgrund S, Hartmann D, Farwanah H, Eckhardt M, Sandhoff R, Degen J, Gieselmann V, Sandhoff K, Willecke K (2009): Adult Ceramide Synthase 2 (CERS2)-deficient Mice Exhibit Myelin Sheath Defects, Cerebellar Degeneration, and Hepatocarcinomas*. *J Biol Chem* 284, 33549–33560
- Jessen KR (2004): Glial cells. *Int J of Biochem Cell Biol* 36, 1861–1867
- Junker A, Wozniak J, Voigt D, Scheidt U, Antel J, Wegner C, Brück W, Stadelmann C (2020): Extensive subpial cortical demyelination is specific to multiple sclerosis. *Brain Pathol* 30, 641–652
- Kang SH, Fukaya M, Yang JK, Rothstein JD, Bergles DE (2010): NG2+ CNS Glial Progenitors Remain Committed to the Oligodendrocyte Lineage in Postnatal Life and following Neurodegeneration. *Neuron* 68, 668–681
- Kirdajova D, Anderova M (2020): NG2 cells and their neurogenic potential. *Curr Opin Pharmacol* 50, 53–60
- Klingseisen A, Lyons DA (2018): Axonal Regulation of Central Nervous System Myelination: Structure and Function. *Neuroscientist* 24, 7–21

- Kuhlmann T, Miron V, Cuo Q, Wegner C, Antel J, Brück W (2008): Differentiation block of oligodendroglial progenitor cells as a cause for remyelination failure in chronic multiple sclerosis. *Brain* 131, 1749–1758
- Kuhlmann T, Ludwin S, Prat A, Antel J, Brück W, Lassmann H (2017): An updated histological classification system for multiple sclerosis lesions. *Acta Neuropathol* 133, 13–24
- Lagercrantz H: Strukturierung des Gehirns, neuronale Proliferation und Migration. In: Lagercrantz H (Hrsg.): Die Geburt des Bewusstseins: Über die Entwicklung des frühkindlichen Gehirns. Springer, Berlin, Heidelberg 2019
- , 19–38
- Lancaster MA, Renner M, Martin C-A, Wenzel D, Bicknell LS, Hurles ME, Homfray T, Penninger JM, Jackson AP, Knoblich JA (2013): Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 501, 373–379
- Lappe-Siefke C, Goebbels S, Gravel M, Nicksch E, Lee J, Braun PE, Griffiths IR, Nave K-A (2003): Disruption of *Cnp1* uncouples oligodendroglial functions in axonal support and myelination. *Nat Genet* 33, 366–374
- Lehotzky A, Lau P, Tökési N, Muja N, Hudson LD, Ovádi J (2010): Tubulin polymerization-promoting protein (TPPP/p25) is critical for oligodendrocyte differentiation. *Glia* 58, 157–168
- Lenroot RK, Giedd JN (2006): Brain development in children and adolescents: Insights from anatomical magnetic resonance imaging. *Neurosci Biobehav Rev* 30, 718–729
- Lenz KM, Nelson LH (2018): Microglia and Beyond: Innate Immune Cells As Regulators of Brain Development and Behavioral Function. *Front Immunol* 9
- Liddel SA, Barres BA (2017): Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity* 46, 957–967
- Lloyd AF, Miron VE (2019): The pro-remyelination properties of microglia in the central nervous system. *Nat Rev Neurol* 15, 447–458
- Lohrberg M, Winkler A, Franz J, van der Meer F, Ruhwedel T, Sirmipilatz N, Dadarwal R, Handwerker R, Esser D, Wiegand K, et al. (2020): Lack of astrocytes hinders parenchymal oligodendrocyte precursor cells from reaching a myelinating state in osmolyte-induced demyelination. *Acta Neuropathol Commun* 8, 224
- Love S, Louis D, Ellison DW: Greenfield's Neuropathology, 2-Volume Set, Eighth Edition. CRC Press 2008
- Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, Wolinsky JS, Balcer LJ, Banwell B, Barkhof F, et al. (2014): Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions. *Neurology* 83, 278–286
- Mallucci G, Peruzzotti-Jametti L, Bernstock JD, Pluchino S (2015): The role of immune cells, glia and neurons in white and gray matter pathology in multiple sclerosis. *Prog Neurobiol* 127–128, 1–22
- Marques S, Zeisel A, Codeluppi S, Bruggen D van, Falcão AM, Xiao L, Li H, Häring M, Hochgerner H, Romanov RA, et al. (2016): Oligodendrocyte heterogeneity in the mouse juvenile and adult central nervous system. *Science* 352, 1326–1329

- McGinley MP, Goldschmidt CH, Rae-Grant AD (2021): Diagnosis and Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *JAMA* 325, 765–779
- McTigue DM, Tripathi RB (2008): The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. *J Neurochem* 107, 1–19
- Mecklenburg N, Garcia-López R, Puelles E, Sotelo C, Martínez S (2011): Cerebellar oligodendroglial cells have a mesencephalic origin. *Glia* 59, 1946–1957
- Michalski JP, Kothary R (2015): Oligodendrocytes in a Nutshell. *Front Cell Neurosci* 9
- Min Y, Kristiansen K, Boggs JM, Husted C, Zasadzinski JA, Israelachvili J (2009): Interaction forces and adhesion of supported myelin lipid bilayers modulated by myelin basic protein. *PNAS* 106, 3154–3159
- Molina-Gonzalez I, Miron VE (2019): Astrocytes in myelination and remyelination. *Neurosci Lett* 713, 134532
- Molofsky AV, Krennick R, Ullian E, Tsai H, Deneen B, Richardson WD, Barres BA, Rowitch DH (2012): Astrocytes and disease: a neurodevelopmental perspective. *Genes Dev* 26, 891–907
- Montani L (2020): Lipids in regulating oligodendrocyte structure and function. *Seminars in Cell & Developmental Biology*
- Naruse M, Ishizaki Y, Ikenaka K, Tanaka A, Hitoshi S (2017): Origin of oligodendrocytes in mammalian forebrains: a revised perspective. *J Physiol Sci* 67, 63–70
- Nave K-A (2010): Myelination and support of axonal integrity by glia. *Nature* 468, 244–252
- Neumann H, Kötter MR, Franklin RJM (2009): Debris clearance by microglia: an essential link between degeneration and regeneration. *Brain* 132, 288–295
- Nickel M, Gu C (2018): Regulation of Central Nervous System Myelination in Higher Brain Functions. *Neural Plast* 2018, e6436453
- Nishiyama A, Komitova M, Suzuki R, Zhu X (2009): Polydendrocytes (NG2 cells): multifunctional cells with lineage plasticity. *Nat Rev Neurosci* 10, 9–22
- Nishiyama A, Shimizu T, Sherafat A, Richardson WD (2021): Life-long oligodendrocyte development and plasticity. *Semin Cell Dev Biol*
- Oláh J, Lehotzky A, Szunyogh S, Szénási T, Orosz F, Ovádi J (2020): Microtubule-Associated Proteins with Regulatory Functions by Day and Pathological Potency at Night. *Cells* 9, 357
- Olivier C, Cobos I, Villegas EMP, Spassky N, Zalc B, Martínez S, Thomas JL (2001): Monofocal origin of telencephalic oligodendrocytes in the anterior entopeduncular area of the chick embryo. *Development* 128, 1757–1769
- Ortega JA, Memi F, Radonjic N, Filipovic R, Bagasrawala I, Zecevic N, Jakovcevski I (2018): The Subventricular Zone: A Key Player in Human Neocortical Development. *Neuroscientist* 24, 156–170
- Pakkenberg B, Gundersen HJG (1997): Neocortical neuron number in humans: Effect of sex and age. *J Comp Neurol* 384, 312–320
- Palmer AL, Ousman SS (2018): Astrocytes and Aging. *Front Aging Neurosci* 10

- Pan S, Mayoral SR, Choi HS, Chan JR, Kheirbek MA (2020): Preservation of a remote fear memory requires new myelin formation. *Nat Neurosci* 23, 487–499
- Parolisi R, Boda E (2018): NG2 Glia: Novel Roles beyond Re-/Myelination. *Neuroglia* 1, 151–175
- Patani R, Balaratnam M, Vora A, Reynolds R (2007): Remyelination can be extensive in multiple sclerosis despite a long disease course. *Neuropathol and Appl Neurobiol* 33, 277–287
- Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H, Sorensen PS, Brück W, Lucchinetti C, Lassmann H (2006): Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* 129, 3165–3172
- Pekny M, Pekna M, Messing A, Steinhäuser C, Lee JM, Parpura V, Hol EM, Sofroniew MV, Verkhratsky A (2016): Astrocytes: a central element in neurological diseases. *Acta Neuropathol* 131, 323–345
- Poitelon Y, Kopec AM, Belin S (2020): Myelin Fat Facts: An Overview of Lipids and Fatty Acid Metabolism. *Cells* 9, 812
- Purger D, Gibson EM, Monje M (2016): Myelin plasticity in the central nervous system. *Neuropharmacology* 110, 563–573
- Quarles RH, McIntyre LJ, Pasnak CF (1979): Lectin-binding proteins in central-nervous-system myelin. Binding of glycoproteins in purified myelin to immobilized lectins. *Biochem J* 183, 213–221
- Ransohoff RM, Engelhardt B (2012): The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 12, 623–635
- Rao MS (1999): Multipotent and restricted precursors in the central nervous system. *Anat Rec* 257, 137–148
- Rasband MN, Peles E (2016): The Nodes of Ranvier: Molecular Assembly and Maintenance. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8, a020495
- Reed JC (2000): Mechanisms of Apoptosis. *Am J Pathol* 157, 1415–1430
- Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA (2018): Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 378, 169–180
- Rivers LE, Young KM, Rizzi M, Jamen F, Psachoulia K, Wade A, Kessaris N, Richardson WD (2008): PDGFRA/NG2 glia generate myelinating oligodendrocytes and piriform projection neurons in adult mice. *Nat Neurosci* 11, 1392–1401
- Roth AD, Núñez MT: Oligodendrocytes: Functioning in a Delicate Balance Between High Metabolic Requirements and Oxidative Damage. In: von Bernhardi R (Hrsg.): *Glial Cells in Health and Disease of the CNS (Advances in Experimental Medicine and Biology)*. Springer International Publishing, Cham 2016, 167–181
- Rufener SL, Ibrahim M, Raybaud CA, Parmar HA (2010): Congenital Spine and Spinal Cord Malformations—Pictorial Review. *Am Journal Roentgenol* 194, S26–S37
- Saab AS, Tzvetanova ID, Nave KA (2013): The role of myelin and oligodendrocytes in axonal energy metabolism. *Curr Opin Neurobiol* 23, 1065–1072
- Saher G, Stumpf SK (2015): Cholesterol in myelin biogenesis and hypomyelinating disorders. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1851, 1083–1094

- Sánchez-González R, Bribián A, López-Mascaraque L (2020): Cell Fate Potential of NG2 Progenitors. *Sci Rep* 10, 9876
- Schmitt S, Cantuti Castelvetti L, Simons M (2015): Metabolism and functions of lipids in myelin. *Biochim Biophys Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1851, 999–1005
- Sharma K, Schmitt S, Bergner CG, Tyanova S, Kannaiyan N, Manrique-Hoyos N, Kongi K, Cantuti L, Hanisch UK, Philips M-A, et al. (2015): Cell type- and brain region-resolved mouse brain proteome. *Nat Neurosci* 18, 1819–1831
- Simon C, Götz M, Dimou L (2011): Progenitors in the adult cerebral cortex: Cell cycle properties and regulation by physiological stimuli and injury. *Glia* 59, 869–881
- Simons M, Nave KA (2016): Oligodendrocytes: Myelination and Axonal Support. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8, a020479
- Siu CR, Balsor JL, Jones DG, Murphy KM (2015): Classic and Golli Myelin Basic Protein have distinct developmental trajectories in human visual cortex. *Front Neurosci* 9
- Snaidero N, Simons M (2017): The logistics of myelin biogenesis in the central nervous system. *Glia* 65, 1021–1031
- Snaidero N, Möbius W, Czopka T, Hekking LHP, Mathisen C, Verkleij D, Goebbels S, Edgar J, Merkler D, Lyons DA, et al. (2014): Myelin Membrane Wrapping of CNS Axons by PI(3,4,5)P3-Dependent Polarized Growth at the Inner Tongue. *Cell* 156, 277–290
- Sock E, Wegner M (2019): Transcriptional control of myelination and remyelination. *Glia* 67, 2153–2165
- Song FE, Huang J-L, Lin S-H, Wang S, Ma G-F, Tong X-P (2017): Roles of NG2-glia in ischemic stroke. *CNS Neurosci Ther* 23, 547–553
- Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, Simons M (2019): Myelin in the Central Nervous System: Structure, Function, and Pathology. *Physiol Rev* 99, 1381–1431
- Stiles J, Stiles EP of CSJ: The Fundamentals of Brain Development: Integrating Nature and Nurture. Harvard University Press 2008
- Stiles J, Jernigan TL (2010): The Basics of Brain Development. *Neuropsychol Rev* 20, 327–348
- Tilborg E van, Theije CGM de, Hal M van, Wagenaar N, Vries LS de, Benders MJ, Rowitch DH, Nijboer CH (2018): Origin and dynamics of oligodendrocytes in the developing brain: Implications for perinatal white matter injury. *Glia* 66, 221–238
- Tortori-Donati P, Rossi A, Cama A (2000): Spinal dysraphism: a review of neuroradiological features with embryological correlations and proposal for a new classification. *Neuroradiology* 42, 471–491
- Tsai HH, Li H, Fuentealba LC, Molofsky AV, Taveira-Marques R, Zhuang H, Tenney A, Murnen AT, Fancy SPJ, Merkle F, et al. (2012): Regional Astrocyte Allocation Regulates CNS Synaptogenesis and Repair. *Science* 337, 358–362
- Tsai HH, Niu J, Munji R, Davalos D, Chang J, Zhang H, Tien A-C, Kuo CJ, Chan JR, Daneman R, Fancy SPJ (2016): Oligodendrocyte precursors migrate along vasculature in the developing nervous system. *Science* 351, 379–384

-
- Valiente M, Marín O (2010): Neuronal migration mechanisms in development and disease. *Curr Opin Neurobiol* 20, 68–78
- Valny M, Honsa P, Waloschkova E, Matuskova H, Kriska J, Kirdajova D, Androvic P, Valihrach L, Kubista M, Anderova M (2018): A single-cell analysis reveals multiple roles of oligodendroglial lineage cells during post-ischemic regeneration. *Glia* 66, 1068–1081
- Verkhratsky A, Nedergaard M (2017): Physiology of Astroglia. *Physiol Rev* 98, 239–389
- Vouyiouklis DA, Brophy PJ (1995): Microtubule-associated proteins in developing oligodendrocytes: Transient expression of a MAP2c isoform in oligodendrocyte precursors. *J Neurosci Res* 42, 803–817
- Wilson HC, Scolding NJ, Raine CS (2006): Co-expression of PDGF α receptor and NG2 by oligodendrocyte precursors in human CNS and multiple sclerosis lesions. *J Neuroimmunol* 176, 162–173
- Yeung MSY, Zdunek S, Bergmann O, Bernard S, Salehpour M, Alkass K, Perl S, Tisdale J, Possnert G, Brundin L, et al. (2014): Dynamics of Oligodendrocyte Generation and Myelination in the Human Brain. *Cell* 159, 766–774
- Yeung MSY, Djelloul M, Steiner E, Bernard S, Salehpour M, Possnert G, Brundin L, Frisén J (2019): Dynamics of oligodendrocyte generation in multiple sclerosis. *Nature* 566, 538–542
- Young KM, Psachoulia K, Tripathi RB, Dunn SJ, Cossell L, Attwell D, Tohyama K, Richardson WD (2013): Oligodendrocyte Dynamics in the Healthy Adult CNS: Evidence for Myelin Remodeling. *Neuron* 77, 873–885
- Zatorre RJ, Fields RD, Johansen-Berg H (2012): Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. *Nat Neurosci* 15, 528–536
- Zhang Y, Chen K, Sloan SA, Bennett ML, Scholze AR, O’Keeffe S, Phatnani HP, Guarnieri P, Caneda C, Ruderisch N, et al. (2014): An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex. *J Neurosci* 34, 11929–11947

Danksagung

Als erstes möchte ich mich herzlich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. med. Christine Stadelmann-Nessler bedanken für die Möglichkeit meine Dissertation in der Abteilung für Neuropathologie der Universitätsmedizin Göttingen schreiben zu dürfen.

Des weiteren möchte ich ein riesengroßes Dankeschön an meine Betreuerin Frau Dr. rer. nat. Franziska von der Meer richten. Danke für eine stets tatkräftige, umfangreiche und fachliche Unterstützung, Beantwortung meiner vielen Fragen und Hilfe bei den mir gestellten Aufgaben. Danke für die Motivation und das Feedback, Zeit, Geduld und Kritik innerhalb der Projektzeit. Eine bessere Betreuerin hätte ich nicht finden können.

Außerdem gilt mein Dank dem tatkräftigen MTA Team der Neuropathologie Göttingen, welche unermüdlich alle Färbungen angefertigt und nachgefertigt haben. Ich danke somit Olga Kowatsch, Heidi Brodmerkel, Katja Schulz, Angela Dettmar, Jasmin Reichl und Brigitte Maruschak.

Zu guter Letzt danke ich der IT-Koordination von Bernd Zirk, der mir alles für meine Dissertation wichtigen Programme mit Geduld und Mühe erklärt hat, sowie meinen Laptop für diese Herausforderung gewappnet hat.