

Aus der
Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische
Hirnforschung

Abteilung Kognitive Neurologie Tübingen

**Quantitativ zelluläre Untersuchung der Kleinhirnkerne von
Säugetieren
Ein Beitrag zur Untersuchung von Skalierungsmodellen
über die Abhängigkeit der Zelldichte von der Hirngröße**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Öksüz, Ayse (geb. Bozkurt)

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. F. Sultan
2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Hirt

Tag der Disputation: 06.06.2025

„[...] gewiss mit der Erschwernis kommt die Erleichterung. Wenn eine Aufgabe erledigt ist, gehe sofort zur nächsten über [...].“ (94:6,7)

Für meine Tochter, meinen Mann und meine Eltern, in Liebe und Dankbarkeit.

Inhaltsverzeichnis**INHALTSVERZEICHNIS** **IV****ABBILDUNGSVERZEICHNIS** **VI****TABELLENVERZEICHNIS** **VIII****ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS** **IX****1. EINLEITUNG** **1****1.1. DAS MENSCHLICHE GEHIRN** **1****1.2. DAS KLEINHIRN** **2****1.3. KLEINHIRNKERNE** **4**1.3.1. NUCLEUS DENTATUS **5**1.3.2. NUCLEUS EMBOLIFORMIS **5**1.3.3. NUCLEUS GLOBOSUS **6**1.3.4. NUCLEUS FASTIGII **6****1.4. DIE HOCHSPEZIALISIERTEN ZELLEN DES GEHIRNS – NEURON UND GLIAZELLEN** **7**1.4.1. NEURONE **7**1.4.2. GLIAZELLEN **9****1.5. ZIEL DER STUDIE** **10****2. MATERIAL UND METHODEN** **11****2.1. UNTERSUCHUNGSMATERIAL** **11**2.1.1. VERSUCHSTIERE **11**2.1.2. PRÄPARATHERSTELLUNG **11****2.2. TECHNIK UND INSTRUMENTARIUM FÜR DIE ZELLZÄHLUNG** **12**2.2.1. AUFBAU DES MIKROSKOPS ZUR ZELLZÄHLUNG **12**2.2.2. VOLUMENBESTIMMUNG **13****2.3. DATENERHEBUNG UND AUSWERTUNG** **14**2.3.1. STEREOINVESTIGATOR **14**2.3.2. DEFINITION DER ZÄHLEINHEITEN: UNTERSCHIEDUNG DER NEURONE UND
GLIAZELLEN **15**2.3.3. ABLAUF DER ZELLZÄHLUNG MIT DEM STEREOINVESTIGATOR **18**2.3.4. LASERKONFOKALE MIKROSKOPIE ZUR QUANTIFIZIERUNG DER DENDRITEN UND
AXONE **24****2.4. STATISTISCHE METHODEN** **24**

3. ERGEBNISSE	28
3.1. DCN-KLASSIFIZIERUNG	28
3.2. OBJEKTTRÄGERNUMMERIERUNG	30
3.3. VOLUMENBESTIMMUNG	32
3.4. NEURONENANZAHL	34
3.5. BESTIMMUNG DER FASERLÄNGENDICHTE	38
4. DISKUSSION	47
5. ZUSAMMENFASSUNG	56
5.1. ÜBERBLICK ÜBER DIE ZIELSETZUNG UND METHODIK	57
5.2. HAUPTBEFUNDE	58
5.2.1. UNTERSCHIEDE IN DER DENDRITISCHEN LÄNGENDICHTE	58
5.2.2. ANATOMISCHE UND FUNKTIONELLE UNTERSCHIEDE DER KLEINHIRNKERNE	58
5.2.3. EINFLUSS DER DENDRITISCHEN MORPHOLOGIE AUF DIE KERNSTRUKTUR	58
5.3. IMPLIKATIONEN UND ZUKÜNFTIGE FORSCHUNGSRICHTUNGEN	59
5.3.1. BEDEUTUNG FÜR DIE NEUROBIOLOGIE	59
5.3.2. ZUKÜNFTIGE FORSCHUNGSFRAGEN	63
5.4. SCHLUSSFOLGERUNGEN	64
6. LITERATURVERZEICHNIS	65
7. ERKLÄRUNGEN ZUM EIGENANTEIL	70
8. VERÖFFENTLICHUNGEN	71
DANKSAGUNG	72

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Gehirnschema mit einigen wichtigen Hirnstrukturen (In H. Beck, S. Anastasiadou, C. Meyer zu Reckendorf, <i>Faszinierendes Gehirn</i> , 2.Auflage, Springer-Verlag GmbH Deutschland 2018)	2
Abbildung 2: Neuronentypen mit unterscheidlicher Anzahl an Dendriten (In H. Beck, S. Anastasiadou, C. Meyer zu Reckendorf, <i>Faszinierendes Gehirn</i> , 2.Auflage, Springer-Verlag GmbH Deutschland 2018)	8
Abbildung 3: Mikroskop, Typ Axioplan 2 (Carl Zeiss, Jena, Deutschland)	12
Abbildung 4: Unterscheidung Neuron und Gliazelle	16
Abbildung 5: Unterscheidung Neuron und Gliazelle	17
Abbildung 6: Zählquadrat	18
Abbildung 7: Screenshot, Stereoinvestigator, Hertie-Institut Tübingen, Februar 2017	21
Abbildung 8: Gitternetz für die Ratte (aus Hamodeh et al. 2014 Abb. 1e)	22
Abbildung 9: Stereoinvestigator Zählformel, Hertie-Institut Tübingen, Februar 2017	23
Abbildung 10: Beispiel eines transversalen Kleinhirnschnittes des Rhesusaffen, der zur Zellzählung benutzt wurde	29
Abbildung 11: Kleinhirnerkerne (DCN) in der Nissl-Färbung.....	30
Abbildung 12: 3D-Modelle der DCN des Rhesusaffen und der Ratte, a) Rhesusaffe (oben rechts) und b) Ratte (unten links)	34
Abbildung 13: Beispiel für ein Gitternetz mit Zählquadraten in einem der DCN	35
Abbildung 14: Vergleich der DCN der Ratte (oben) und des Rhesusaffen (unten) (aus Hamodeh 2017 Abb. 1a).....	39
Abbildung 15: Vergleich der DCN der Ratte und des Rhesusaffen (aus Hamodeh 2017 Abb. 1b)	40
Abbildung 16: Neuronenzählung der Ratte (n = 4) und des Rhesusaffen (n = 2) mit der optischen Fraktionierungsmethode mit hochsignifikanten Dichteunterschieden zwischen den beiden Arten (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1c).	41

Abbildung 17: Doppelt logarithmisches Diagramm von der Abhängigkeit der Kleinhirnneuronendichte vom Gewebevolumen (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1d)	42
Abbildung 18: Quantifizierung der mit MAP2- markierten Dendritenfasern (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1e).....	43
Abbildung 19: Quantifizierung der mit PCP2- markierten Fasern der Axone der Purkinje-Zellen (PCax) zeigt höhere Werte für die Axone (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1f).....	44
Abbildung 20: Vergleich der Durchmesser der Einflussregion (dROI), die für dendritischen Bäume der Ratten und des Affen ermittelt wurden (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1h)	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Objektträger Nummerierung für die Nissl-Zählung vom T00- Affen..	31
Tabelle 2: Objektträger Nummerierung für die Nissl-Zählung vom B99-Affen ..	32
Tabelle 3: Ergebnisse der Volumenbestimmung der DCN der beiden Affen T00 und B99.....	33
Tabelle 4: Ergebnisse der Gliazellenzählung bei Affe T00 und Affe B99	36
Tabelle 5: Ergebnisse der Neuronenzählung bei Affe T00 und Affe B99	36
Tabelle 6: Quantitative Analyse der neuronalen Verdrahtung in den DCN von Nagetieren (aus Hamodeh et al. 2014 Tabelle 3)	37

Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
AIN	Anterior interpositus nucleus
ANOVA	analysis of variance
ASF	Stichprobenfraktion
CI	Konfidenzintervalle
DCN	tiefen Kleinhirnkerne
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EUVD	86/609 / EWG Richtlinien der Europäischen Gemeinschaft
FN	Nucleus fastigii
HSF	Probeentnahmebruchhöhe
LCN	Nucleus lateralis
LN	Lateral nucleus
LSM	Laserrastermikroskop
MAP2	Microtubule-associated protein 2a,b
MN	Medialer nucleus
PB	Phosphatpuffer
PCP2	Purkinje cell-specific protein 2
PIN	Posterior interpositus nucleus
SSF	Schnittentnahmefraktion
VDCN	Volume of DCN per side

1. Einleitung

1.1. Das menschliche Gehirn

Unser Gehirn ist das spektakulärste Organ in unserem Körper. Es unterscheidet sich grundlegend von allen anderen Organen des menschlichen Körpers. Bei anderen Organen des Menschen sind Form und Funktion oft kongruent. Man kann aus der Form des Herzens beispielsweise die Funktion des Pumpens ablesen. Im Unterschied zu anderen Organen jedoch kann man aus der Struktur des Nervengewebes nicht direkt auf die Funktion schließen (Beck et al., 2018). Ca. 100 Milliarden Nervenzellen (Neurone) und –fasern, verbunden durch ca. 100 Billionen Synapsen (Kontaktstellen zwischen Neuronen) bilden ein dichtes Netzwerk, welches für Sprache, Erinnerungen bis zu Gefühlen und Gedanken des menschlichen Geistes und Koordination und Regulation aller Organfunktionen und Bewegungen zuständig sind (Beck et al., 2018) (Bock & Braun, 2011). Die Hintergründe dieser Funktionen sind heute noch ein Rätsel und die große Herausforderung moderner Neurowissenschaften. Da auch beim Gehirn das Geheimnis seiner Funktion in der Struktur verborgen sein wird (Beck et al., 2018), ist es umso mehr interessant und erforderlich die Struktur und Zusammensetzung des Gehirns weiter zu erforschen. Das Gehirn besitzt im Durchschnitt ein Gewicht von 1400 g (Rushton, 1995). Somit beträgt sein Anteil am Körpergewicht 2%, es verbraucht jedoch 20% der Energiezufuhr (Herschkowitz, 2010).

Das Gehirn ist unterteilt in zwei Hirnhälften und durch eine dicke Nervenbahn, dem Balken in der Mitte verbunden. Außen wird es von dem Cortex, der Großhirnrinde umhüllt, diese besteht aus grauer Substanz. Unterhalb der Rinde befindet sich das Marklager, welches die weiße Substanz bildet. Direkt unterhalb des Balkens liegt in jeder Hirnhälfte ein Hippocampus, der Erfahrungen und Erinnerungen organisiert und so unser Gedächtnis strukturiert (Beck et al., 2018).

In der Mitte des Gehirns befindet sich ein Ventrikel, das mit der Hirnflüssigkeit, dem Liquor, gefüllt ist. Unterhalb dieses Ventrikels befindet sich wiederum der Thalamus, der aus Zellkernen und Nervenfasern besteht. Dieser Teil des Zwischenhirns steuert die meisten sensorischen Eingänge, sowie die Eingänge von anderen Hirnstrukturen wie das Kleinhirn (Beck et al., 2018).

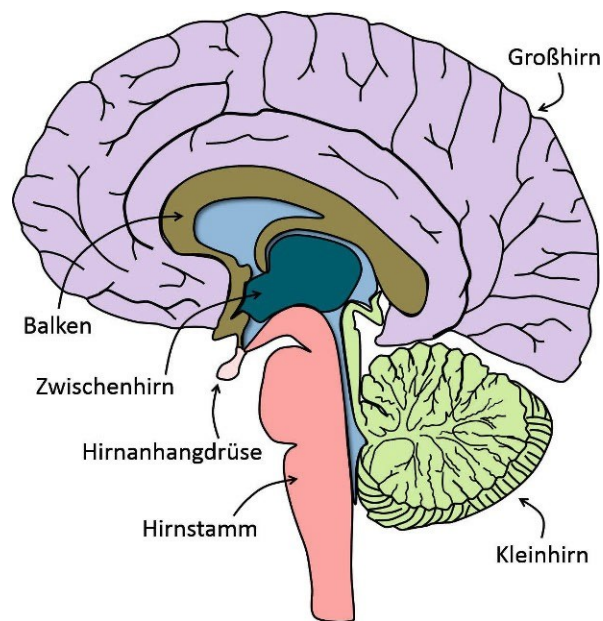


Abbildung 1: Gehirnschema mit einigen wichtigen Hirnstrukturen (In H. Beck, S. Anastasiadou, C. Meyer zu Reckendorf, *Faszinierendes Gehirn*, 2. Auflage, Springer-Verlag GmbH Deutschland 2018)

1.2. Das Kleinhirn

Unterhalb des Lobus occipitalis an der Hinterseite des Hirnstamms liegt das Kleinhirn. Es hat beim Menschen nach dem Großhirn das zweitgrößte Volumen als Gehirnteil (Urhahne et al., 2019). Das Kleinhirn besitzt nur ein Zehntel an Gewicht des Großhirns, enthält jedoch 80% der Neurone des Gehirns (Azevedo et al., 2009). Dank seiner Furchen wird die Oberfläche vergrößert und kann so viel dichter an Nervenzellen besiedelt werden als die restlichen Hirnregionen (Beck et al., 2018).

Die Gesamtgröße des menschlichen Gehirns kann zurückgeführt werden auf eine Zunahme seiner Bestandteile oder auf Zunahme der Größe der Elemente (Braitenberg & Schüz, 1991) (Schüz et al., 2009). Man würde jedoch erwarten dass die Neuronendichte abnehmen müsste, da eine erhöhte Anzahl an dendritischen und axonalen Verdrahtungen notwendig ist, um größere Gehirne zu vernetzen (Braitenberg, 2001). Im Säugetiergehirn sind verschiedene Netzwerkarchitekturen nachzuweisen. Im Kleinhirn befinden sich beispielsweise die Axone der Körnerzellen (die Parallelfasern), die unabhängig von der Hirngröße eine konstante Länge besitzen. Die Dichte der Körnerzellen bleibt somit trotz veränderter Hirngröße konstant (Schüz et al., 2009). Dieser Skalierungsunterschied sorgt dafür, dass das Kleinhirn etwa 15% des gesamten Hirnvolumens einnimmt, jedoch 80% der Neurone des Gehirns enthält (Azevedo et al., 2009). Diese eigenartige Besonderheit der Körnerzellen des Kleinhirns wurde bisher nicht näher erforscht. Wir erhoffen uns, wichtige Einblicke in die Netzwerkverknüpfung des Kleinhirns gewinnen zu können und die Gründe für außergewöhnliche Skalierung zwischen dem zerebralen und dem zerebellären Cortex an ihrem verbindenden Knotenpunkt herauszufinden.

Das Kleinhirn spielt eine besonders entscheidende Rolle für die Steuerung der Motorik, der Feinabstimmung von Körperbewegungen (Trepel & Elsevier GmbH, 2017), das Gleichgewicht, die Fortbewegung (Morton & Bastian, 2004) und stellt das Koordinationszentrum unserer Bewegungen dar (Flourens, 1842). Darüber hinaus ist es wichtig für das Erlernen von Bewegungsabläufen und deren Automatisierung (Meinhardt et al., 2019). Sie ist über eine Vielzahl an Nervenverbindungen mit dem Rückenmark und dem Großhirn verbunden und kann nicht bewusst gesteuert werden. Die Bewegungsprogramme des Großhirns werden vom Kleinhirn in die tatsächlichen Bewegungsabläufe der Muskeln eingegliedert (Beck et al., 2018). Das Kleinhirn spielt ebenfalls eine wichtige Rolle bei kognitiven und emotionalen Prozessen (Grimaldi & Manto, 2012).

Purkinje-Zellen sind spezielle, nur im Kleinhirn auffindbare Zelltypen des Kleinhirns, die komplexesten des Nervensystems und bilden eine zweidimensionale Verästelung mit bis zu 100.000 Kontakten zu den sogenannten Kletterfasern des Großhirns aus. Auf diese Weise werden die geplanten Bewegungsmuster des Großhirns in die tatsächlichen Bewegungszustände der Muskeln eingegliedert. Über die Dendriten der Purkinje-Zellen werden Signale des Bewegungsapparates empfangen und so die Lage der Gliedmaßen registriert. Die Purkinje-Zellen können über ihre Nervenfasern Einfluss auf die Bewegungsprogramme des Körpers nehmen. So fügt das Kleinhirn viele Bewegungsinformationen zum Gesamtbild zusammen. Diese komplexe Aufgabe des Kleinhirns beherbergt viele Geheimnisse, die man bis heute immer noch nicht ganz gelüftet hat (Beck et al., 2018).

1.3. Kleinhirnerne

Das Kleinhirn ist eine Struktur des Gehirns, die für die Koordination von Bewegungen, die Feinabstimmung von motorischen Abläufen und die Kontrolle von Gleichgewicht und Haltung verantwortlich ist. Eine wichtige Komponente des Kleinhirns sind die Kleinhirnerne, auch bekannt als Nuclei cerebellares.

Kleinhirnerne liegen in tieferen Schichten innerhalb des Kleinhirnmarks. Diese Kerne nehmen eine essenzielle Position bei der Verarbeitung und Weiterleitung von motorischen Informationen ein und tragen zur Feinabstimmung und Koordination von Bewegungen bei. Es gibt vier Hauptkerne: den Nucleus dentatus, den Nucleus emboliformis, den Nucleus globosus und den Nucleus fastigii. Jeder dieser Kerne hat spezifische Positionen, Verbindungen und Funktionen innerhalb des Kleinhirns (Bähr et al., 2003).

Die Kleinhirnerne sind integrale Bestandteile des Kleinhirns, die durch ihre spezifischen Positionen, Verbindungen und Funktionen eine wesentliche Rolle bei der motorischen Kontrolle und Koordination spielen. Der Nucleus dentatus ist für die Planung und Feinabstimmung von Bewegungen verantwortlich, während

der Nucleus emboliformis und der Nucleus globosus an der Anpassung und Korrektur von Bewegungen beteiligt sind. Der Nucleus fastigii hat eine bedeutende Funktion bei der Aufrechterhaltung von Gleichgewicht und Haltung. Durch die enge Zusammenarbeit dieser Kerne wird eine reibungslose und koordinierte motorische Funktion gewährleistet.

1.3.1. Nucleus dentatus

Der größte und lateralste Kleinhirnkern ist der Nucleus dentatus (Bröse et al., 2024). Er liegt in der lateralen Zone des Kleinhirns und ist gut sichtbar aufgrund seiner charakteristischen, zahnähnlichen Struktur (Bähr et al., 2003).

Der Nucleus dentatus erhält Eingänge hauptsächlich von der lateralen Hemisphäre des Kleinhirns. Er sendet Ausgänge über den oberen Kleinhirnstiel (Pedunculus cerebellaris superior) zu verschiedenen Zielen im zentralen Nervensystem, einschließlich des Thalamus und des motorischen Cortex (Bähr et al., 2003).

Der Nucleus dentatus ist entscheidend für die Planung, Initiierung und Kontrolle von feinmotorischen Bewegungen. Er beteiligt sich an der Koordination komplexer Bewegungsabläufe und spielt eine Rolle bei kognitiven Funktionen wie dem motorischen Lernen und der zeitlichen Abfolge von Bewegungen (Bähr et al., 2003).

1.3.2. Nucleus emboliformis

Der Nucleus emboliformis liegt medial vom Nucleus dentatus und lateral vom Nucleus globosus. Er hat eine längliche Form und befindet sich in der intermediären Zone des Kleinhirns (Bähr et al., 2003).

Dieser Kern erhält Eingänge hauptsächlich aus der paravermalen Zone des Kleinhirns. Er projiziert seine Ausgänge ebenfalls über den oberen Kleinhirnstiel zum Thalamus und zu den motorischen Arealen des Gehirns (Bähr et al., 2003).

Der Nucleus emboliformis ist an der Regulierung und Korrektur von Bewegungen beteiligt, die während ihrer Ausführung modifiziert werden müssen. Er spielt eine Rolle bei der Feinabstimmung von Zielbewegungen und der Anpassung von Bewegungen an sensorische Rückmeldungen (Bähr et al., 2003).

1.3.3. Nucleus globosus

Der Nucleus globosus liegt medial vom Nucleus emboliformis und ist ebenfalls in der intermediären Zone des Kleinhirns angesiedelt. Er besteht häufig aus zwei kleineren, kugelförmigen Untereinheiten. Er erhält Eingänge aus der paravermalen Zone des Kleinhirns und sendet seine Ausgänge, ähnlich wie der Nucleus emboliformis, über den oberen Kleinhirnstiel zum Thalamus und zu den motorischen Arealen des Gehirns. Der Nucleus globosus arbeitet eng mit dem Nucleus emboliformis zusammen und ist ebenfalls in die Feinabstimmung und Koordination von Bewegungen eingebunden. Beide Kerne zusammen unterstützen die Korrektur und Anpassung von Bewegungen basierend auf sensorischen Eingaben (Bähr et al., 2003).

1.3.4. Nucleus fastigii

Nahe dem Mittellinienbereich in der vermalen Zone des Kleinhirns ist der medialste Kleinhirnkern der Nucleus fastigii aufzufinden (Bröse et al., 2024). Dieser Kern erhält Eingänge hauptsächlich aus dem Vermis des Kleinhirns und sendet seine Ausgänge über den unteren Kleinhirnstiel (Pedunculus cerebellaris inferior) zu den vestibulären Kernen, dem Hirnstamm und dem Rückenmark. Der Nucleus fastigii nimmt einen elementaren Platz bei der Kontrolle von Gleichgewicht und Haltung ein. Er ist stark in die Regulation von axialen und proximalen Muskelbewegungen eingebunden und trägt zur Stabilität und Aufrechterhaltung der Körperhaltung bei (Bähr et al., 2003).

1.4. Die hochspezialisierten Zellen des Gehirns – Neuron und Gliazellen

Die Versorgung des Gehirns mit Nährstoffen, die Verteidigung gegenüber Fremdkörpern und die Aufrechterhaltung der Nervenfasearchitektur wird von vier verschiedenen Zelltypen im Nervensystem ausgeführt: von den Nervenzellen und drei verschiedenen Arten von Helferzellen, den sogenannten „Gliazellen“, die zwischen den Nervenzellen sitzen und den gesamten Raum auffüllen.

Die Nervenzellen sind für die Informationsverarbeitung im Nervensystem zuständig. Sie bilden ein neuronales Netzwerk und erzeugen so Nervenimpulse, verarbeiten und leiten diese über ihre Nervenfasern weiter. Über Kontaktstellen, den Synapsen werden andere Nervenzellen stimuliert und diverse Impulse zu einem neuen Impulsmuster verknüpft. Für die einwandfreie Funktion der Nervenzellen sind jedoch die Gliazellen unentbehrlich (Beck et al., 2018).

1.4.1. Neurone

Die Nervenzellen oder Neurone bilden die Grundlage für die Architektur des Nervensystems. Sie sind hermetisch von der Außenwelt abgeriegelt, umgeben von Helferzellen und werden von einem sterilen Nährmedium umspült. Anders als die meisten Zellen sind sie auch nicht teilungsfähig. Ihre einzige und essenzielle Aufgabe ist es Impulse zu empfangen, zu kombinieren und Impulse zu erzeugen.

Im Zentrum des Neurons befindet sich der Zellkörperbereich, das sogenannte Soma. Vom Soma gehen viele unterschiedlich lange Ausläufer aus, die Neuriten, die Kürzeren werden Dendriten genannt und können Impulse empfangen. Das Axon eines Neurons, der Hauptausläufer, über den auch Impulse entsendet werden, teilt sich in zahlreiche Verästelungen auf und ermöglicht so die Kommunikation über Synapsen mit anderen Nervenzellen.

Die verschiedenen Neurone werden in vier verschiedene Typen unterteilt je nach Spezialisierung und Aufgabengebiet. Jedes dieser Neuronentypen besitzt ein einziges Axon und unterschiedliche Anzahl an Dendriten. Multipolare Neurone

besitzen mehrere, bipolare nur einen verästelten Dendriten, unipolare hingegen haben keine Dendriten und nehmen Impulse direkt am Zellkörper oder am Axon auf.

Überwiegend kommt das multipolare Neuron vor, welches über ihre zahlreichen Dendriten Impulse von anderen Zellen kombiniert und im Axon zum Erzeugen eines neuen Impulses vereint. Beispielsweise sind sie als Motoneurone für die Steuerung der Muskelzellen zuständig, als Pyramidenzellen für den Aufbau der Großhirnrinde und als Purkinje-Zellen im Kleinhirn für das Sammeln von Impulsen von mehreren Hunderttausend anderen Nervenzellen verantwortlich. Die Purkinje-Zellen im Kleinhirn sind sehr komplex aufgebaut, denn sie bilden ein weit verzweigtes Netz aus Dendriten aus und empfangen Impulse von über 100.000 anderen Zellen.

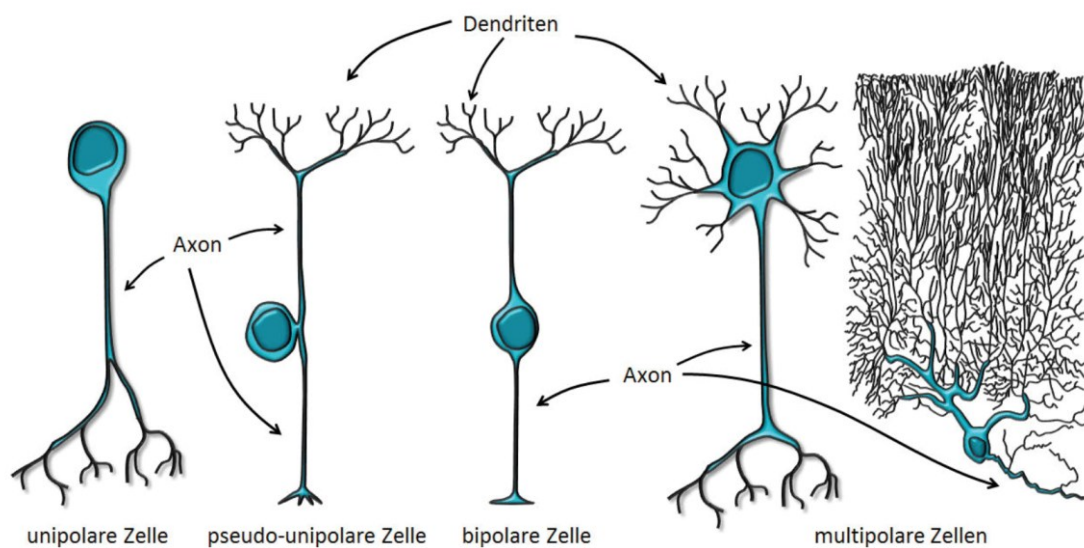


Abbildung 2: Neuronentypen mit unterschiedlicher Anzahl an Dendriten (In H. Beck, S. Anastasiadou, C. Meyer zu Reckendorf, *Faszinierendes Gehirn*, 2.Auflage, Springer-Verlag GmbH Deutschland 2018)

Im Soma der Zelle befindet sich der Zellkern, die zentrale Steuereinheit der Nervenzelle, der Nukleus. Dieser muss nicht immer im räumlichen Zentrum der Zelle auffindbar sein. Im Nukleus selber ist die Erbinformation, unsere DNA enthalten, welches im Soma vom umgebenden Zellmedium mit einer

Doppelmembran geschützt ist, über den das Ein- und Austreten von Molekülen kontrolliert wird.

Die DNA besteht aus Genen, den Bauanleitungen für die Proteinkonstruktion. Die für das Ablesen der Gene notwendigen Moleküle wiederum werden im Kern des Nukleus, im Nukleolus hergestellt. Am Axonhügel, dort wo das Axon das Soma verlässt befinden sich die Nissel'schen Schollen, in denen die Proteine für die Neurone fabriziert und per Transportmoleküle in das Axon befördert werden (Beck et al., 2018).

1.4.2. Gliazellen

In erster Linie übernehmen die Gliazellen die Aufgabe der Halte- und Stützfunktion im Nervensystem. Mit Hilfe laufender Forschung werden jedoch immer mehr neue Funktionen der Gliazellen festgestellt (Beck et al., 2018).

Astroglia

Die sternförmige Gliazelle, auch Astroglia genannt ist für die Nährstoffversorgung der angrenzenden Neurone zuständig. Gleichzeitig nimmt diese im Gehirn zahlenmäßig am häufigsten vorkommende Gliazelle auch die Abfallstoffe der Neurone auf. Darüber hinaus sind sie auch an der Informationsverarbeitung beteiligt und für die richtige Ionenkonzentration in Umgebung der Neurone verantwortlich. Im Gegensatz zu den Neuronen können sie sich vermehren und sind nicht polarisiert.

Außerdem bilden die Astroglia mit den Endothelzellen und Pericyten der Blutgefäßwand die Blut-Hirn-Schranke. Über diese undurchdringliche Barriere entscheiden Astroglia, welche Nährstoffe die Neurone erreichen dürfen und welche nicht (Beck et al., 2018).

Mikroglia

Die Mikroglia sind für den Schutz der Nervenzellen zuständig, indem sie in das Nervensystem eindringende Mikroben eruieren und beseitigen. Ansonsten

sorgen sie dafür, dass die Infrastruktur zwischen den Neuronen intakt bleibt und entsorgen die Zelltrümmer von abgestorbenen Nervenzellen (Beck et al., 2018).

Oligodendroglia

Für die elektrische Isolation der Nervenfasern sind die Oligodendroglia verantwortlich. Sie ummanteln die Neurone und bilden eine isolierende Schutzhülle, das Myelin (Beck et al., 2018).

1.5. Ziel der Studie

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der quantitativ zellulären Untersuchung der Kleinhirnkerne von Säugetieren. Hierbei haben wir die Kleinhirnkerne der Ratte und des Rhesusaffen miteinander verglichen, um folgende Fragen beantworten zu können:

1. Kann eine Abhängigkeit der Zelldichte der Kleinhirnkerne von der Hirngröße nachgewiesen werden? Welche Skalierungsmodelle erklären diese Abhängigkeit am besten?
2. Wie skalieren sich die Dendriten und Axone der Kleinhirnkernneurone? Folgen diese der Skalierung der Zelldichten?
3. Gibt es Unterschiede zwischen den Kleinhirnkernen (DCN)?

In unserer Arbeit haben wir systematisch und detailliert die vier Kleinhirnkerne (Nuclei fastigii, emboliformis, globosus und dentatus) untersucht und nach Unterschieden zwischen diesen Kernen gesucht. Geleitet ist die Arbeit von der Hypothese, dass der Nucleus dentatus möglicherweise Unterschiede zu den anderen Kernen aufweisen und dass diese mit seiner besonderen gefalteten Morphologie zusammenhängen könnte.

2. Material und Methoden

2.1. Untersuchungsmaterial

2.1.1. Versuchstiere

Das Material für diese Studie bestand aus Gehirnen von zwei erwachsenen (8 und 14 Jahre alt), männlichen Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) des Max-Planck-Institutes für biologische Kybernetik in Tübingen. Die Tiere, die ein Gewicht von 8 und 12 kg hatten, haben nach der Einleitung der Tiefenanästhesie (mit Barbituraten) zunächst eine Perfusion mit 4%iger Paraformaldehyd (hergestellt in 0,1 M Phosphatpuffer (PB), pH = 7,4) durch die aufsteigende Aorta bekommen. Diese Experimente und alle dazugehörigen Eingriffe wurden in Übereinstimmung mit den institutionellen, nationalen und NIH-Richtlinien über die Verwendung von Tieren in der Forschung durchgeführt. Darüber hinaus entsprach die Pflege und Handhabung der Affen den Richtlinien der Europäischen Gemeinschaft (EUVD 86/609 / EWG) und wurde vom Regierungspräsidium genehmigt.

2.1.2. Präparatherstellung

Die Kleinhirne der Affen wurden nach der Entnahme in 4% Paraformaldehyd nachfixiert (ca. 1-2 Stunden) und in aufsteigenden Konzentrationen von Saccharose kryokonserviert (10%, 15% und 30% Saccharose in 0.1M Phosphatpuffer (PB), pH = 7.4). Anschließend wurden Kleinhirngewebeblöcke mit der Hirnstamm zugewandten Seite auf ein Gefriermikrotom aufgetragen und transversale Schnitte hergestellt. Hierbei wurden unterschiedliche Schnittserien produziert. Für die Zellzählung wurden 60 µm dicke Schnitte gefertigt und auf die Objektträger für die Nissl-Färbung aufgebracht. Im Gegensatz hierzu wurde für die immunhistologische Färbung die Schnittdicke etwas reduziert und es wurden 40-60 µm dicke Präparate (Ratten 60 µm, Rhesusaffen 40-50 µm) angefertigt.

2.2. Technik und Instrumentarium für die Zellzählung

2.2.1. Aufbau des Mikroskops zur Zellzählung

Zur Zellzählung der Kleinhirnkernpräparate wurde ein Mikroskop Typ Axioplan 2 (Carl Zeiss, Jena, Deutschland) (Abb. 3) verwendet. Damit die bestmögliche Ausleuchtung des Mikroskopierpräparates erreicht wird, wurde zunächst nach Einschalten des Mikroskops die Köhlerische Beleuchtung eingestellt. Streulicht konnte somit vermieden werden und im Präparat wurde nur der gerade sichtbare Bereich beleuchtet (Linkenheld, 2001).

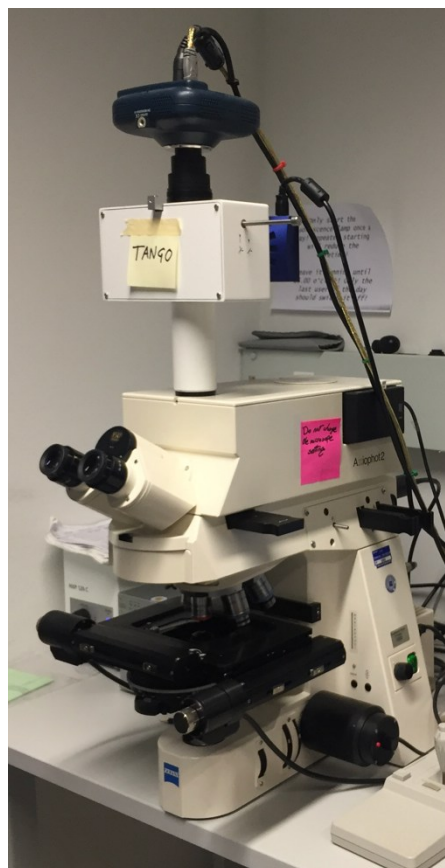


Abbildung 3: Mikroskop, Typ Axioplan 2 (Carl Zeiss, Jena, Deutschland)

Für die Köhlerische Beleuchtung wurde der Kondensor mittels des

Kondensortriebes in eine Position direkt unter dem Objektisch gebracht. Anschließend haben wir die Beleuchtung eingeschaltet und das, mit dem Deckglas nach oben aufgelegte Präparat fokussiert. Die Leuchtfeldblende im Stativfuß wurde ganz geschlossen, sodass beim Blick in das Mikroskop ein unscharfes Bild der Blende sichtbar wurde. Im Falle eines verdunkelten mikroskopischen Bildes befindet sich das Bild der Leuchtfeldblende außerhalb des Gesichtsfeldes und muss durch die Zentrierschrauben des Kondensors in das Gesichtsfeld gebracht werden. Die Leuchtfeldblende wurde dann scharf gestellt, indem der Kondensor so lange in der Höhe verstellt wurde, bis das Bild der Leuchtfeldblende scharf im Gesichtsfeld erscheint. Hierbei muss man beachten, dass bei manchen Mikroskopen die Gefahr besteht, dass man den Kondensor zu weit anhebt und es zu einer Kollision mit dem Objektträger kommt. Als nächstes wurde mit den Zentrierschrauben des Kondensorträgers das Bild der Leuchtfeldblende in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht und so zentriert. Daraufhin wurde die Leuchtfeldblende so weit geöffnet, bis sie gerade aus dem Gesichtsfeld verschwand (Linkenheld, 2001).

2.2.2. Volumenbestimmung

Für die Volumenbestimmung der Kleinhirnkerne (VDCN) wurde das Prinzip von Cavalieri angewendet: $VDCN = \sum P_i \times a_F \times T \times 1/ssf$, wobei $\sum P_i$ die Summe der Punkte pro Abschnitt, a_F die Fläche zwischen den Punkten, T den Vorschub innerhalb des Blocks und ssf das Probeentnahmefraktion (Stichprobensegment) darstellt. Es wurde jede achte horizontale Kleinhirnsektion (endgültiger Schnittabstand = $320\mu\text{m}$) zur Auswertung herangezogen und Proben in einem xy -Abstand von $800\mu\text{m}$ abgetastet. In unserer Studie haben wir insgesamt 605 Proben (361 MAP2, 244 PCP2) für die Bestimmung der dendritische und axonale Faserdichten aufgenommen und diese dann auch für die Volumenbestimmung benutzt.

2.3. Datenerhebung und Auswertung

2.3.1. Stereoinvestigator

Zur Erfassung der Zellzahlen wurde das Programm Stereoinvestigator (MicroBrightfield Inc. Williston, VT, USA) benutzt. Stereoinvestigator ist ein Programm, welches stereologische Methoden verwendet und die Analyseschritte automatisiert. Mit Hilfe solcher stereologischen Zählverfahren kann man Objekte, wie z.B. in unserer Arbeit Neurone und Gliazellen in einem definierten Bereich, beispielsweise in den Kleinhirnkernen zählen.

Die Gesamtzahl N wird mit folgender Gleichung abgeschätzt:

$$N = 1/SSF \times 1/ASF \times 1/HSF \times Q$$

Die Schnittentnahmefraktion (SSF) stellt das Verhältnis zwischen den analysierten Schnitten (beim Rhesusaffen wurden 14 einzelne Schnitte entnommen) und der Gesamtzahl der Schnitte (hier: 104) dar, die benötigt werden, um das gesamte Gewebe abzudecken. Das Verhältnis zwischen der Fläche des Zählrahmens und dem Bereich des Abtast-Gitters wird als Stichprobenfraktion (ASF) definiert. Vierzehn Messstellen sind im Durchschnitt pro Gewebeschnitt erforderlich. Die Flächengröße des gesamten Gitters entspricht gleich dem Gewebeschnitt. Die Querschnittsfläche des Zählrahmens wiederum erzeugt im Durchschnitt 4-6 diskrete Zählungen pro Rahmen, so dass insgesamt 400-600 Zählwerte zu Stande kommen. Das Verhältnis zwischen der Höhe des Zählrahmens und der mittleren Dicke des Gewebes wird als Probeentnahmebruchhöhe HSF bezeichnet, welches aus den Messungen der tatsächlichen Dicken der Probeentnahmestellen berechnet wird. Die Rahmenhöhe sollte etwa 25 μm betragen. Q wiederum ist die Gesamtanzahl der Objekte aus den Zählerrahmen. Ein wichtiger Aspekt ist, dass die zu zählenden Objekte vorher klar definiert sind (Bioscience, 2011). Unsere vorher definierten Bedingungen bzw. Zählmethoden werden im Folgenden erläutert.

2.3.2. Definition der Zählseinheiten: Unterscheidung der Neurone und Gliazellen

Als erstes müssen Neurone von Gliazellen unterschieden werden:

Neurone sind spezialisierte Zellen. Sie nehmen Reize auf, verarbeiten Nervenimpulse und leiten diese weiter (Graf von Westphalen et al., 2024). In ihrer Morphologie unterscheiden sie sich von den Gliazellen vor allem dadurch, dass sie viel größer sind. Vereinzelt kommen aber auch kleinere Neuronen vor. Sie besitzen jedoch ein hellgraues Soma und ein Zellkern mit einem einzigen dunklen Nucleolus (Beck et al., 2018).

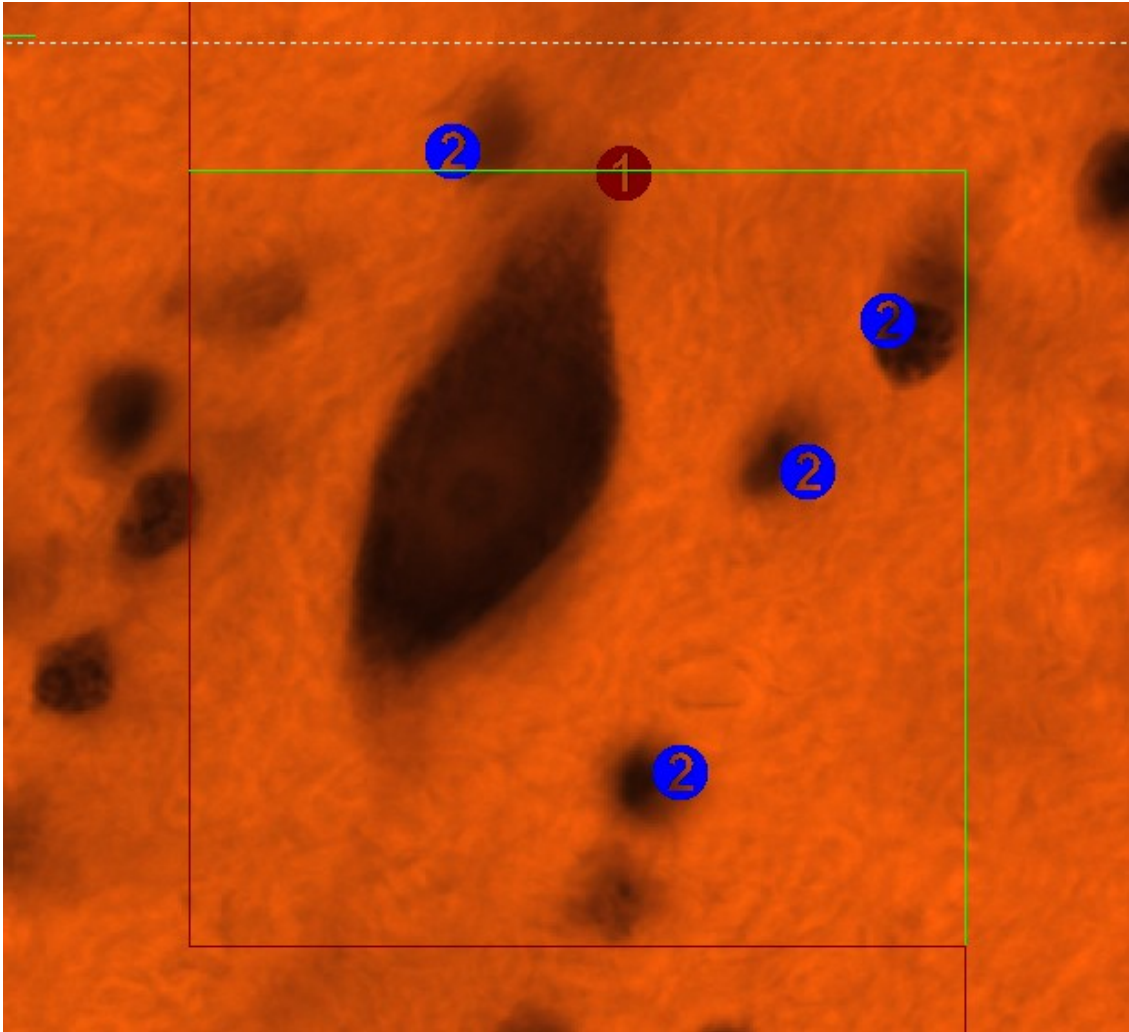


Abbildung 4: Unterscheidung Neuron und Gliazelle

(Erklärung: ① Neuron ② Gliazelle)

Die **Gliazellen** formen das Stützgewebe des Nervensystems und sind quantitativ ersichtlich stärker vertreten als die Neuronen (Koenitz et al., 2024). Sie besitzen einen, meistens jedoch mehrere sehr dunkle Zellkerne von unterschiedlicher Größe und um diesen nur ein dünnes helles Zytoplasma (Beck et al., 2018).

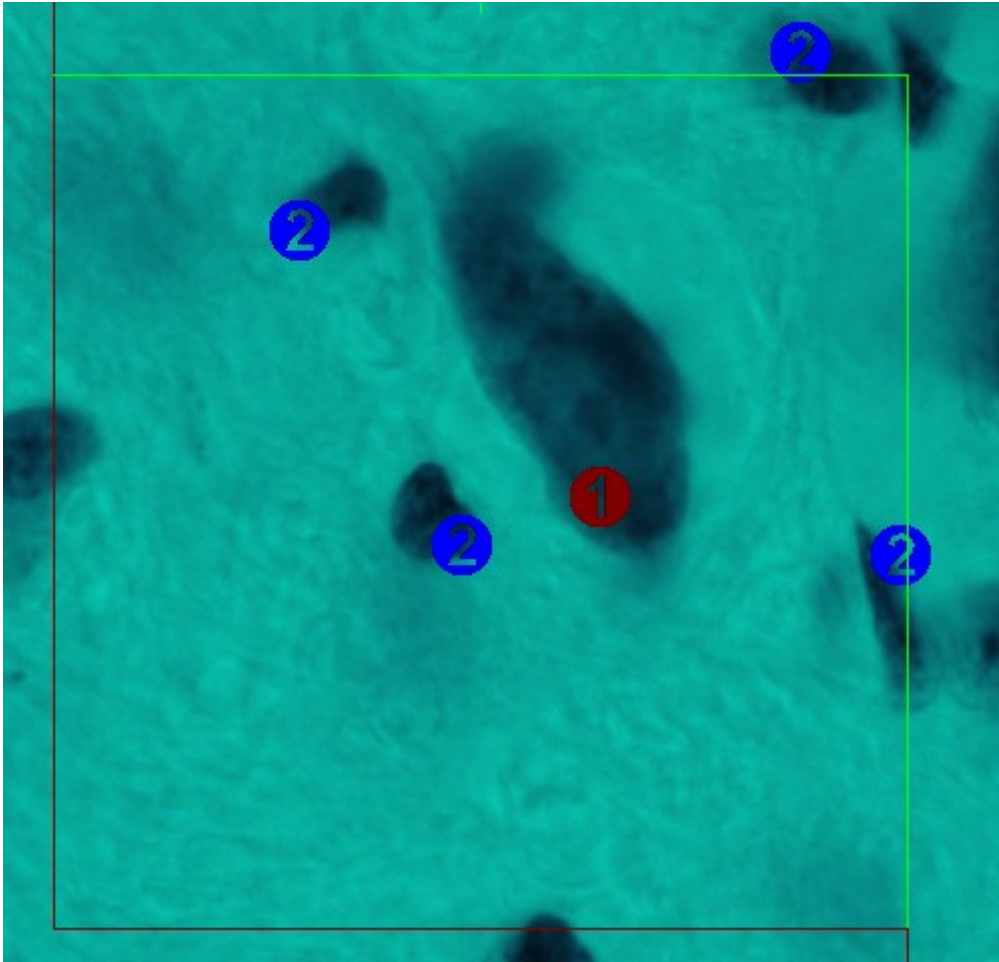


Abbildung 5: Unterscheidung Neuron und Gliazelle

(Erklärung: ① Neuron ② Gliazelle)

Weitere Regeln für die Zellzählung:

Bei der Zählung der Zellen müssen wir die Grenzen in den drei Ebenen beachten. Die Grenzen in der x- und y- Ebene sind durch das Quadrat mit den Maßen $x=50\mu\text{m}$ definiert. Die Zellen, die mit den grünen Linien des Quadrates in Berührung kamen durften gezählt werden. Die Zellen, die hingegen das Quadrat unten und links, d.h. die roten Linien berührten, wurden in der Zählung nicht berücksichtigt.

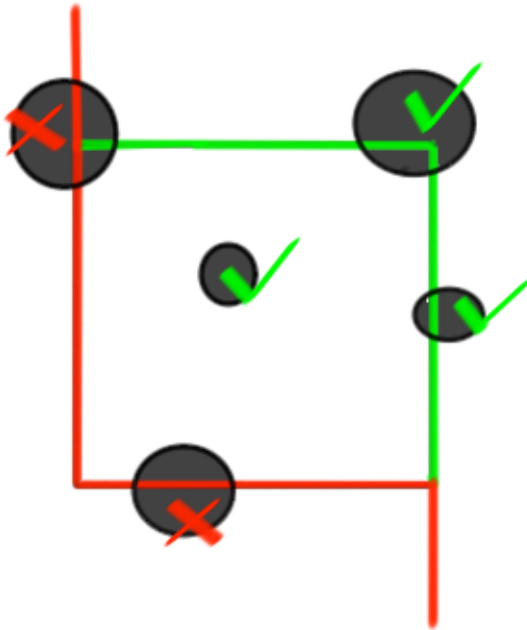




Abbildung 6: Zählquadrat

In der Z- Ebene, welches die Schnittdicke ($Z=25\eta\text{m}$) in der gezählt worden ist darstellt, ist diese Grenze überschritten, wenn das normalerweise erkennbaren

Zählkreuz  durch ein durchgestrichenes Symbol  ersetzt wird. Die Überschreitung in der z- Ebene ist auch durch die Unschärfe und Blässe der Zellen gut ersichtlich.

2.3.3. Ablauf der Zellzählung mit dem Stereoinvestigator

Voraussetzung für eine erfolgreiche stereologische Zählung ist eine gute Gewebepreparation. Schlechtes experimentelles Arbeiten in diesem Stadium kann zu Schwierigkeiten führen und sogar Fehler zum späteren Zeitpunkt hervorrufen.

Eine Mindestschnittdicke von etwa $25\ \mu\text{m}$ wird empfohlen. Hinzu kommen $5\ \mu\text{m}$

als obere und untere Schutzzonen. Jedoch muss man hierbei immer beachten, dass Hirngewebe dramatisch nach der Fixierung austrocknen und schrumpfen (50-75%!) kann (Bioscience, 2011). Daher haben wir, wie oben erwähnt eine Schnittdicke von 60 μm ausgewählt. Anschließend wurde ein Abschnitt in einer bestimmten Abtastfrequenz, ca. 10 Abschnitte pro Gewebeschnitt abgetastet. Hierbei wurde der erste Abschnitt zufällig ausgewählt.

Stereoinvestigator: Die ersten Schritte

- 1) Stereoinvestigator Mikroskop (hier: „Tango“) einschalten
- 2) Stage- Controller einschalten
- 3) Einschalten der Kamera
- 4) PC einschalten
- 5) Köhlerische Beleuchtung einstellen
- 6) Stereo Investigator Software öffnen
- 7) Axio Vision Software öffnen: Zur Einstellung der Bildschärfe „Multidimensional acquisition“ starten

Im Programm Stereoinvestigator wird zunächst auf „Probes“ gedrückt und dann der „Optical fractionator“ geöffnet.

Hier:

1. ‚Start new Object‘ markieren
2. Speichern bzw. aus vorherigen Experimenten aufrufen
3. Name vom Experimentator und vom jeweiligen Tier (hier M_T00 bzw. M_B99) eintragen

Am Axiovision Mikroskop haben wir als erstes das 5-fach Vergrößerungsobjektiv eingestellt und in der Menüleiste auch die 5-fach Vergrößerung ausgewählt. Nun haben wir mit dem Mauszeiger unseren Interessenbereich eingezeichnet.

Zum Markieren bewegt man den Cursor um die Probe herum und sucht einen geeigneten Referenzpunkt, den man zu einem späteren Zeitpunkt wieder umfahren kann. Man klickt mit dem Mauszeiger die, für den Referenzpunkt ausgewählte Stelle an. Anschließend wird der gesamte Bereich des Gewebes markiert, indem die Zählung durchgeführt wird (Bioscience, 2011).

Zunächst wurde der Nucleus fastigii/ Nucleus medialis cerebelli (FN/ MN), als nächstes die Nucleus emboliformis/ Nucleus interpositus anterior (AIN) und Nucleus globosus/ Nucleus interpositus posterior (PIN) und zu guter Letzt der Nucleus dentatus bzw. lateralis (LN) erfasst. Sobald die Kerne markiert worden sind, betätigt man mit der Maus einen Rechtsklick, drückt auf ‚Close contour‘ und speichert ab.

Um das Mikroskop auf eine höhere Vergrößerung einzustellen, wird ein Tropfen Mikroskop-Öl auf den Objektträger aufgebracht. Nun kann man mittels Axiovision das Objektiv auf die 63-fache Vergrößerung umstellen. Daraufhin wird die Lichtintensität erhöht und mit dem Focus das Bild scharf gestellt.

Am Bildschirm wird ‚measure the section while counting‘ gewählt und auf ‚next step‘ gedrückt.

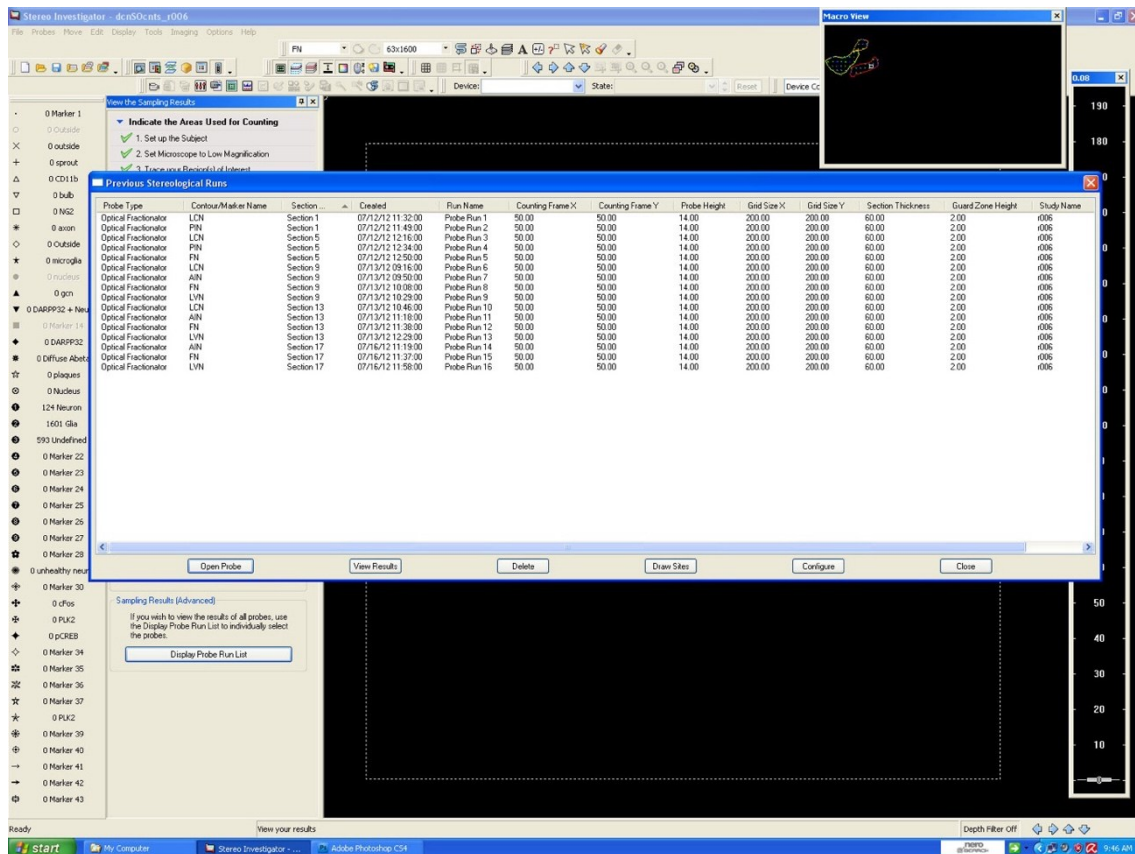


Abbildung 7: Screenshot, Stereoinvestigator, Hertie-Institut Tübingen, Februar 2017

Die Größe des Zählrahmens wurde auf $x = 50\mu\text{m}$ und für $y = 50\mu\text{m}$ festgelegt. Das Gitternetz SRS wird dann vom Stereoinvestigator über die markierten Regionen gezogen (Abb. 8).

Um Fehler, die mit der Schnittfläche zusammenhängen zu vermeiden sollte der Wert für die Entfernung von der Schnittoberseite zum optischen Abtaster etwa $2\mu\text{m}$ sein. Dies ist die sogenannte Guardzone. Die Höhe des optischen Abtastens sollte etwa $25\mu\text{m}$ betragen. Im Anschluss werden diese Parameter wieder unter dem Tiernamen M_T00 (bzw. M_B99) gespeichert.

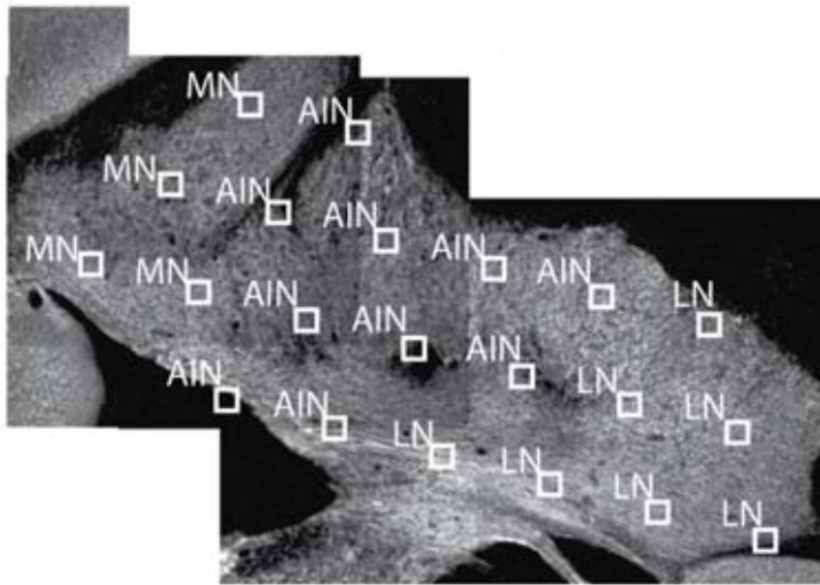


Abbildung 8: Gitternetz für die Ratte (aus Hamodeh et al. 2014 Abb. 1e)

Die Proben sind entsprechend ihrer Standorte innerhalb der vier DCN beschriftet: medialer Kern (MN), anterior interponierter Kern (AIN), posterior interponierter Kern (PIN) und lateraler Kern (LN).

Als nächstes werden die farblichen Markierungen zur Zellzählung bestimmt. Wir haben zwei Marker ausgewählt: den roten Farbmaler für die Neurone und die blaue Markierung für die Gliazellen.

Nun werden aufeinanderfolgend die Zellen in den Kleinhirnkernen ausgewertet. Auf dem ersten Objektträger (92- 1) des Affen M_T00 haben wir einen Kern zum Zählen abgebildet, den Nucleus fastigii (FN/ MN) (siehe Tabelle 1 Kapitel 3.2 Objektträgernummerierung). Wir haben mit der Auswertung des Nucleus fastigii begonnen. Zunächst markierten wir den FN und haben dann auf ‚click to start counting‘ gedrückt und mit der Zellzählung innerhalb des Nucleus fastigii gestartet. Zu Beginn mussten wir jedoch noch die Schärfe/ den Fokus vom oberen und unteren Rand des Abschnittes definieren. Schließlich konnten wir nun die Zellen innerhalb des erschienenen Quadrates zählen. Das Quadrat (s. Abb. 6) besteht aus zwei roten und zwei grünen Linien. Die Zellen, die mit den grünen Linien des Quadrates in Berührung kommen werden mitgezählt, die Zellen, die die roten Linien berühren hingegen werden nicht mitgezählt (s. Kapitel 2.3.2 Definition der Zählheiten: Unterscheidung der Neurone und Gliazellen).

Für das eigentliche Zählen der Zellen haben wir dann auf den Button Neuron (Button Nr.1, rot) gedrückt und dann mit der Maus das Neuron ausgewählt. Das Gleiche haben wir mit dem Button Gliazellen (Button Nr.2, blau) für das Markieren der Gliazellen durchgeführt. Nachdem wir das Zählen der Zellen im jeweiligen Quadrat beendet haben, betätigten wir die Taste ‚Next‘ um mit der Auswertung des nächsten Quadrates fortzuführen.

So haben wir die Zählung und Auswertung der Zellen für alle Gehirnabschnitte auf allen Objektträgern durchgeführt.

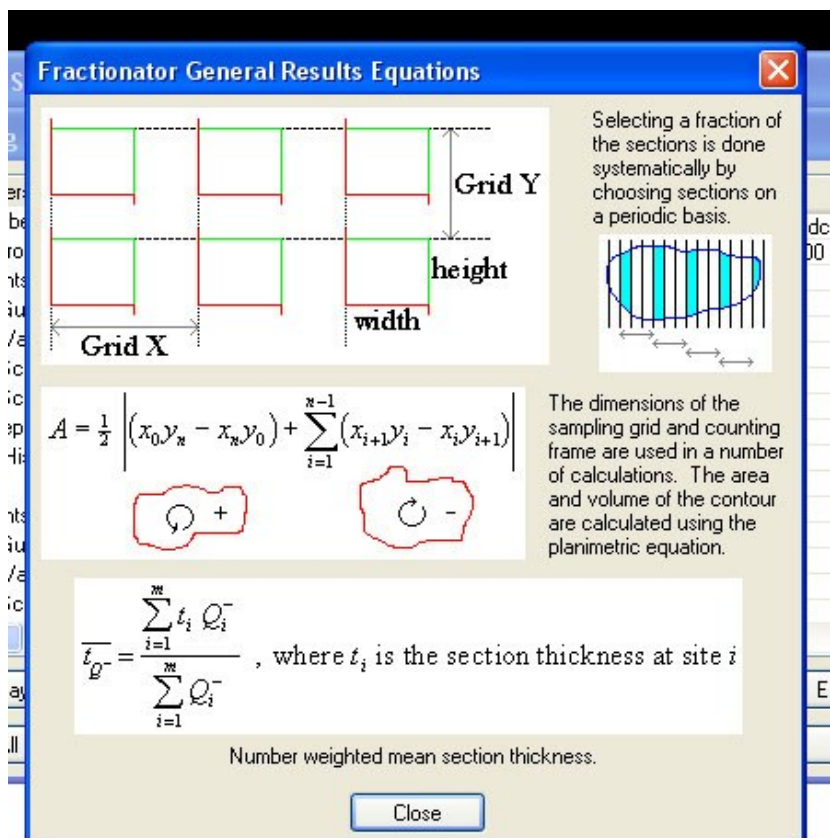


Abbildung 9: Stereoinvestigator Zählformel, (MicroBrightField, Williston, VT, USA)

2.3.4. Laserkonfokale Mikroskopie zur Quantifizierung der Dendriten und Axone

Die quantitative Analyse der immunhistologisch gefärbten Dendriten und Axone ist im Detail in der Arbeit von Hamodeh et al. (2014 und 2017) beschrieben. Im Folgenden folgt eine zusammenfassende Beschreibung.

Die Auswertung und fotografische Dokumentation der Schnitte erfolgte mit einem konfokalen Laserrastermikroskop (LSM 510, Carl Zeiss, Jena, Germany) unter Verwendung des Argonlasers mit einer Wellenlänge von 488nm. Dabei wurden Bildstapel erfasst und abgebildet. Um Gewebeartefakte, die durch das Schneideverfahren an der Schnittfläche entstehen zu minimieren wurden die ersten konfokalen Bilder in einer Entfernung unterhalb der Schnittfläche (ca. 3 μm) aufgenommen. Des Weiteren kam ein x40 Öl-Objektiv (Plan-Neofluar x40/1,3 Öl DIC) und ein x63 Öl-Objektiv (Plan-Apochromat x63/1,4 Öl) zum Einsatz. Die Proben wurden aus jedem der DCN nach einem systematischen Zufallsprinzip entnommen und mit folgenden Bildaufnahmeparameter aufgenommen: Lochdurchmesser von 0,6 μm für den dendritischen Marker Mikrotubuli-assoziiertes Protein 2 a,b (MAP2a,b) und 0,7 μm für den Marker der Axone der Purkinje-Zellen (PCP2), z-Stapelintervall zwischen 0,29 μm und 0,35 μm , z-Stapel mit durchschnittlich 41 optischen Abschnitten (sd = 11; mindestens 22), und Voxel xy-Größe von 0,15 x 0,15 μm (für die PCP2-Fälle verwendeten wir 0,093 x 0,093 μm) und Matrixgröße von 512 x 512 Pixeln.

2.4. Statistische Methoden

Mit Hilfe von Matlab wurden benutzerdefinierte Skripte und integrierte Routinen verwendet, um die statistische Analyse durchzuführen. Die univariaten Daten wurden mithilfe der Boxplot-Funktion visualisiert. Dabei zeigen fünf horizontale Linien die 10., 25., 50., 75. und 90. Perzentile an. Die Kerben repräsentieren die 95%-Vertrauensintervalle für den Median. Diese grafische Darstellung in Matlab ermöglicht eine übersichtliche und leicht verständliche Darstellung der

Datenverteilung sowie die Identifizierung von Ausreißern und besonderen Datenpunkten (Shardt et al., 2023).

Die statistische Relevanz innerhalb der Gruppe wurde mittels des Zwei-Wege-ANOVA-Tests (für Unterschiede innerhalb der Arten und DCN-Klassifikation) untersucht. Diese Methode ermöglicht die Untersuchung sowohl der Haupteffekte als auch der Interaktionen zwischen den beiden Faktoren. Um signifikante Unterschiede zu überprüfen, wurden Schätzungen der dendritischen Länge pro Neuron als Verhältnisse von zwei gemessenen Parametern verwendet. Dabei wurden die Konfidenzintervalle verglichen (Donner und Zou 2012). Ähnlich wurden Konfidenzintervalle (CI) zur Berechnung des Unterschieds zwischen Faserdistributionswerten berechnet.

Das Konfidenzniveau ergibt sich aus Formel 1:

Formel 1: Konfidenzniveau

$$\mu_{i1} - \mu_{i2} \pm t_1 - \frac{\alpha}{2n_{i1} + n_{i2}} * \left(2 * \frac{MSE_i}{n_{i2}} \right) * 0.5$$

μ_{i1} und μ_{i2} stellen die Mittelwerte im i-ten Bin dar,

n_{i1} und n_{i2} stellen die Stichprobengröße im i-ten Bin dar,

n_{i12} stellt die gemeinsame Stichprobengröße dar und

MSE_i stellt den geschätzten Standardfehler dar.

Die gemeinsame Stichprobengröße n_{i12} wird mittels folgender Formel berechnet:

Formel 2: Gemeinsame Stichprobengröße

$$\frac{2}{1/n_{i1} + 1/n_{i2}}$$

Der geschätzte Standardfehler MSE_i wird mittels folgender Formel berechnet:

Formel 3: Geschätzter Standardfehler

$$\frac{sd_{i12} + sd_{i22}}{2}$$

Desweiteren wurden die sonstigen statistischen Unterschiede mit dem Student-t-Test geprüft. Dieser Test ist besonders nützlich für den Vergleich der Mittelwerte von zwei Gruppen und stellt sicher, dass Unterschiede nicht zufällig, sondern bedeutsam sind. Die linearen Anpassungen wurden mit der Matlab Robustfit-Routine durchgeführt, die nicht empfindlich gegenüber Ausreißern ist und zuverlässige Schätzungen der Regressionskoeffizienten liefert (Rasch et al., 2021).

Zur Sicherstellung der Robustheit und Validität der Ergebnisse wurden ergänzende statistische Methoden und Kreuzvalidierungen angewendet. Um das Risiko von Fehlalarmen bei multiplen Tests zu minimieren, wurde beispielsweise die Bonferroni-Korrektur verwendet. Diese Korrektur ist besonders relevant bei der Durchführung zahlreicher Paarvergleiche, da sie das Signifikanzniveau entsprechend anpasst (Kowalski & Enck, 2010).

Die Bootstrap-Methode wurde verwendet, um die Stabilität der Schätzungen zu prüfen. Durch das Ziehen von Zufallsstichproben mit Zurücklegen aus den Originaldaten konnten empirische Verteilungen der statistischen Parameter generiert werden. Diese Technik erhöht die Zuverlässigkeit der Konfidenzintervalle und stellt sicher, dass die Ergebnisse nicht durch spezifische Stichprobenverteilungen verzerrt sind (Reimer, 2009).

Zusätzlich zu Boxplots wurden beispielsweise auch Heatmaps und Streudiagramme genutzt, um die räumliche Verteilung und die Beziehungen zwischen verschiedenen Messgrößen darzustellen. Heatmaps erleichtern die Identifikation von Mustern und Clustern in den Daten, während Streudiagramme die Korrelationen zwischen variablen Paaren verdeutlichen (Kraus et al., 2020).

Die statistischen Ergebnisse wurden ausführlich interpretiert, um deren Bedeutung und Implikationen für die zugrunde liegenden biologischen Prozesse zu erklären. Dies umfasste die Diskussion von signifikanten Unterschieden in der dendritischen Länge zwischen verschiedenen Spezies und deren mögliche Auswirkungen auf die neuronale Funktion und Konnektivität. Ebenso wurden die Ergebnisse der ANOVA-Tests detailliert besprochen, um die Interaktionen zwischen den untersuchten Faktoren zu beleuchten (Donner & Zou, 2012).

Die Verwendung von Matlab für die statistische Analyse gewährleistet eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Die benutzerdefinierten Skripte und Routinen wurden sorgfältig dokumentiert und stehen für weitere Analysen zur Verfügung. Dies ermöglicht anderen Forschern, die Analysen nachzuvollziehen und die Methoden auf eigene Datensätze anzuwenden.

Insgesamt bietet die umfassende statistische Analyse in dieser Studie eine solide Grundlage für die Bewertung der dendritischen Morphologie und ihrer Unterschiede zwischen verschiedenen Spezies. Durch die Kombination von verschiedenen statistischen Methoden und Visualisierungstechniken konnten aussagekräftige und robuste Ergebnisse erzielt werden, die wichtige Einblicke in die neuronalen Strukturen der Kleinhirnkerne liefern.

3. Ergebnisse

3.1. DCN-Klassifizierung

Für die quantitative Analyse der Kleinhirnkerne in der vorliegenden Studie sind zuverlässige Schätzungen der gesamten Anzahl von Neuronen und die Verteilung der Zellgrößen innerhalb jeder der tiefen cerebralen Nuclei der Rhesusaffen erforderlich. Zur Auswertung der tiefen cerebralen Nuclei auf den verschiedenen Objektträgern wurden diese zunächst in Nuclei fastigii/ Nucleus medialis cerebelli (MN), Nucleus emboliformis/ Nucleus interpositus anterior (AIN), Nucleus globosus/ Nucleus interpositus posterior (PIN), Nucleus dentatus/ Nucleus lateralis cerebelli (LN) klassifiziert. Auf der Abbildung 10 kann man ein Beispiel eines transversalen Kleinhirnschnittes des Rhesusaffen mit der Klassifizierung der vier DCN erkennen.

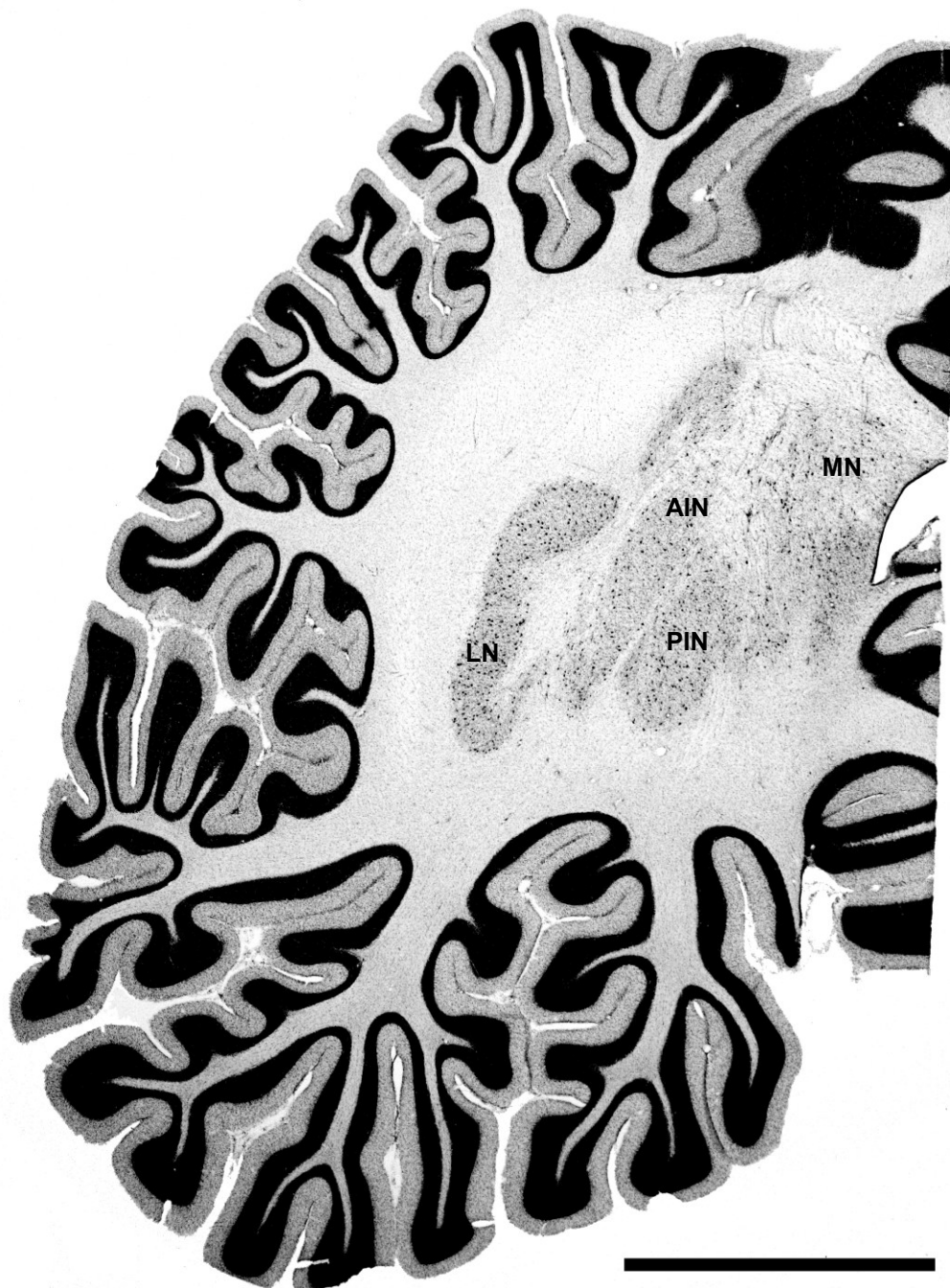


Abbildung 10: Beispiel eines transversalen Kleinhirnschnittes des Rhesusaffen, der zur Zellzählung benutzt wurde

Mit der Hilfe der Nissl-Färbung sind die Zellkerne dunkel, die weiße Substanz hell dargestellt. Am rechten Rand erkennt man den mediosagittalen Anschnitt mit Teilen der Vermis. Innerhalb der weißen Substanz kann man die Kleinhirnkern sehen: (am rechten Rand beginnend) Nuclei fastigii/ Nucleus medialis cerebelli (MN), Nucleus emboliformis/ Nucleus interpositus anterior (AIN), Nucleus globosus/ Nucleus interpositus posterior (PIN), Nucleus dentatus/ Nucleus lateralis cerebelli (LN); Maßstabsbalken entsprechen 1 mm (Hertie-Institut Tübingen, Februar 2017)

3.2. Objektträgernummerierung

Unsere Daten wurden aus Messungen von insgesamt 28 Objektträger erhoben. Die Objektträgernummerierungen für die Nissl-Zählung (s. Abb. 11) von den beiden Rhesusaffen sind in Tabelle 1 und 2 aufgeführt.

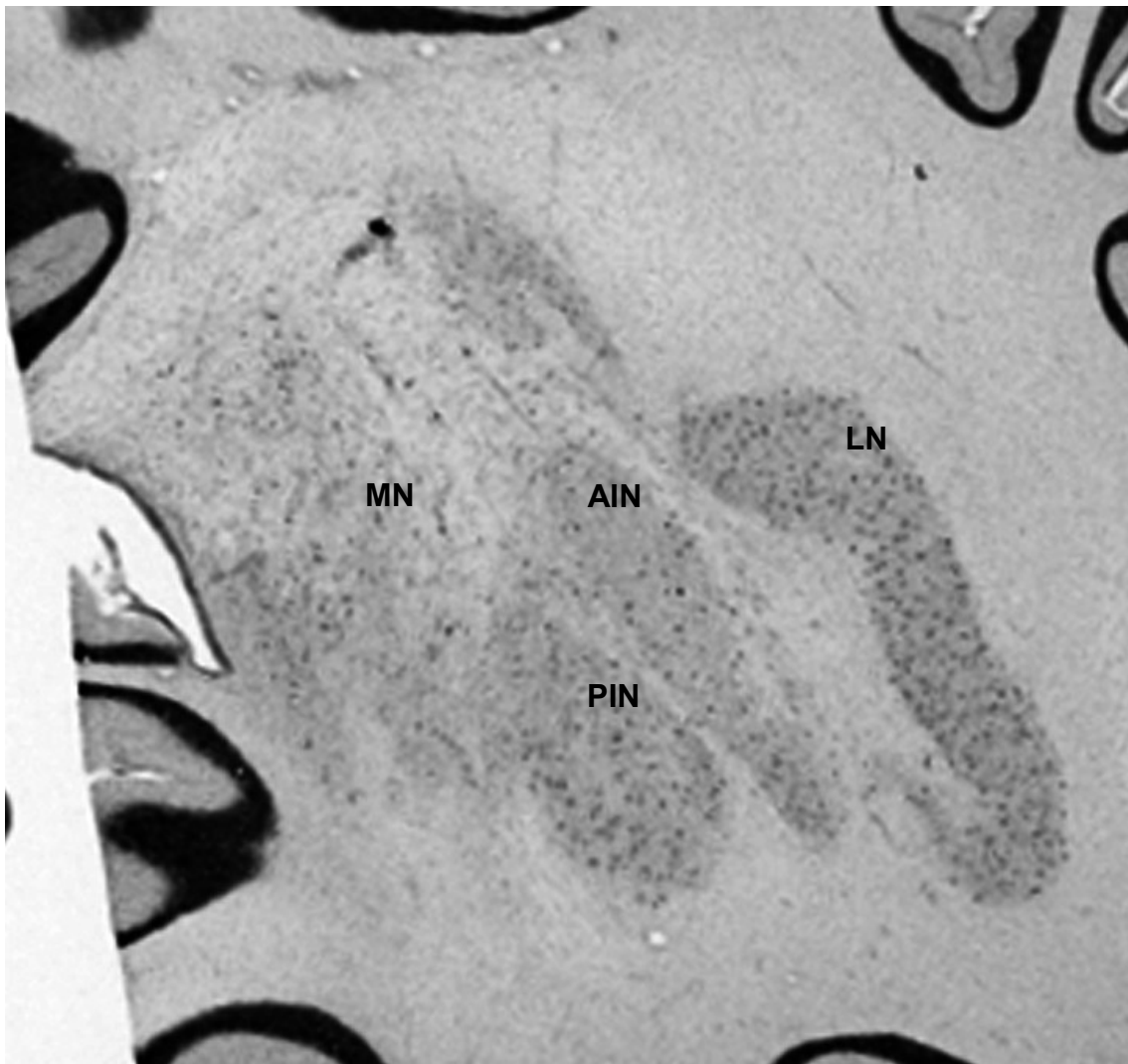


Abbildung 11: Kleinhirnkerne (DCN) in der Nissl-Färbung

(Nuclei fastigii/ Nucleus medialis cerebelli (MN), Nucleus emboliformis/ Nucleus interpositus anterior (AIN), Nucleus globosus/ Nucleus interpositus posterior (PIN), Nucleus dentatus/ Nucleus lateralis cerebelli (LN)) (Hertie-Institut Tübingen, Februar 2017)

OT Nr.	Nissl- Schnitte	Kleinhirnkerne	Hirnschnitt Nummer
92 – 1	107	FN	1
96 – 1	99	FN	2
100 – 1	91	FN+AIN+PIN	3
104 – 1	83	FN+AIN+PIN+LN	4
108 – 1	75	FN+AIN+PIN+LN	5
112 – 1	67	FN+AIN+PIN+LN	6
116 – 1	59	FN+AIN+PIN+LN	7
120 – 1	51	FN+AIN+PIN+LN	8
124 – 1	43	PIN+LN	9
128 – 1	35	PIN+LN	10
132 – 1	27	LN	11
136 – 1	19	LN	12
140 – 1	11	LN	13
144 – 1	3	LN	14

Tabelle 1: Objektträger Nummerierung für die Nissl-Zählung vom T00- Affen

Für diesen Rhesusaffen waren es insgesamt 14 OT, die zur Zellzählung verwendet wurden. Der FN erstreckt sich über 8 Schnitte, der AIN über 6, der PIN über 8 und letztlich der LN über 11 Schnitte.

OT Nr.	Kleinhirnkerne	Hirnschnitt Nummer
13 – 1	FN	1
17 – 3	FN + PIN	2
21 – 5	FN+AIN+PIN	3
25 – 7	FN+AIN+PIN	4
29 – 9	FN+AIN+PIN	5
33 – 11	FN+AIN+PIN+LN	6
37 – 13	FN+AIN+PIN+LN	7
41 – 15	FN+AIN+PIN+LN	8
45 – 17	PIN+LN	9
49 – 19	PIN+LN	10
53 – 21	LN	11
57 – 23	LN	12
61 – 25	LN	13
65 – 27	LN	14

Tabelle 2: Objektträger Nummerierung für die Nissl-Zählung vom B99-Affen

Für diesen Rhesusaffen waren es wieder insgesamt 14 OT die wir zur Zellzählung verwendet haben. Der FN erstreckt sich hier auch über 8 Schnitte, der AIN über 6, der PIN über 9 und letztlich der LN über 9 Schnitte.

3.3. Volumenbestimmung

Die Berechnung der Volumina der Kleinhirnkerne (VDCN) haben wir wie auch in Kapitel 2.2.2 beschrieben mit dem Prinzip von Cavalieri durchgeführt: $VDCN = \sum P_i \times aF \times T \times 1/ssf$. Die Ergebnisse für die vier tiefen cerebralen Nuclei der beiden Rhesusaffen T00 und B99 sind wie folgt in Tabelle 3 aufgeführt.

	T00	B99
	Volumen (mm³)	Volumen (mm³)
FN	25	23
AIN	16	16
PIN	14	19
LN	40	36

Tabelle 3: Ergebnisse der Volumenbestimmung der DCN der beiden Affen T00 und B99

(mit FN: Nucleus fastigii, AIN: Nucleus interpositus anterior, PIN: Nucleus interpositus posterior, LN: Nucleus lateralis cerebelli)

Mit Hilfe dieser Schnitte konnten wir ein 3D-Modell der DCN des Rhesusaffen erstellen (s Abb. 12). Das Volumen der einzelnen Kleinhirnerne wird in unserer Arbeit später für die Bestimmung der Neuronendichte von Bedeutung sein.

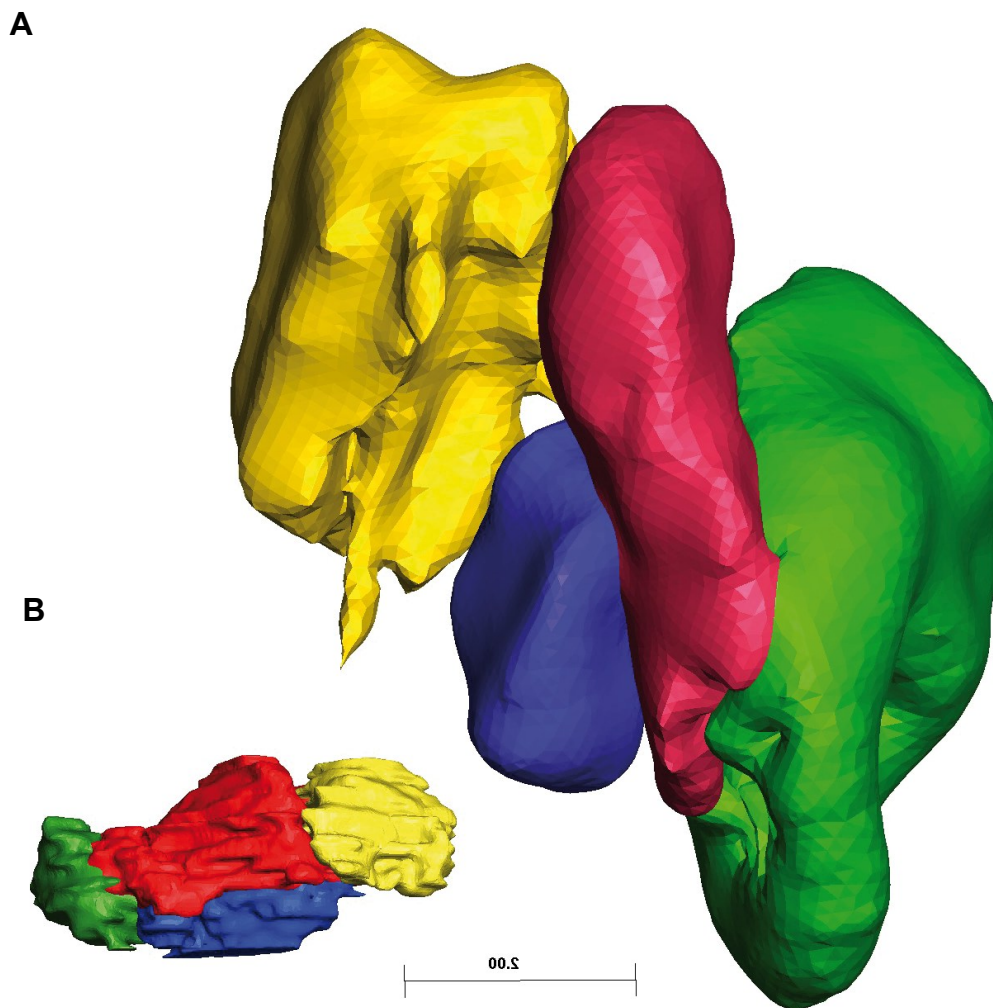


Abbildung 12: 3D-Modelle der DCN des Rhesusaffen und der Ratte, a) Rhesusaffe (oben rechts) und b) Ratte (unten links)

(DCN: Nucleus fastigii/ Nuclues medialis cerebelli (gelb), Nucleus emboliformis/ Nucleus interpositus anterior (rot), Nucleus globosus/ Nucleus interpositus posterior (blau), Nucleus dentatus/ Nucleus lateralis cerebelli (grün); Maßstabsbalken entsprechen 2 mm) (Hertie-Institut Tübingen, Februar 2017)

3.4. Neuronenzahl

Zur Bestimmung der neuronalen Dichte und Verteilung in den verschiedenen Kleinhirnkernen wurden die Ergebnisse der Gliazellen- und Neuronenzählung bei zwei Rhesusaffen (T00 und B99) ausgewertet. Hierfür wurden unsere Daten zur Zählung mit den Gitternetzen und Zählquadraten vom Stereoinvestigator (Abb.

13) bearbeitet und die Gesamtanzahl an Neuronen und Gliazellen in den vier DCN berechnet.

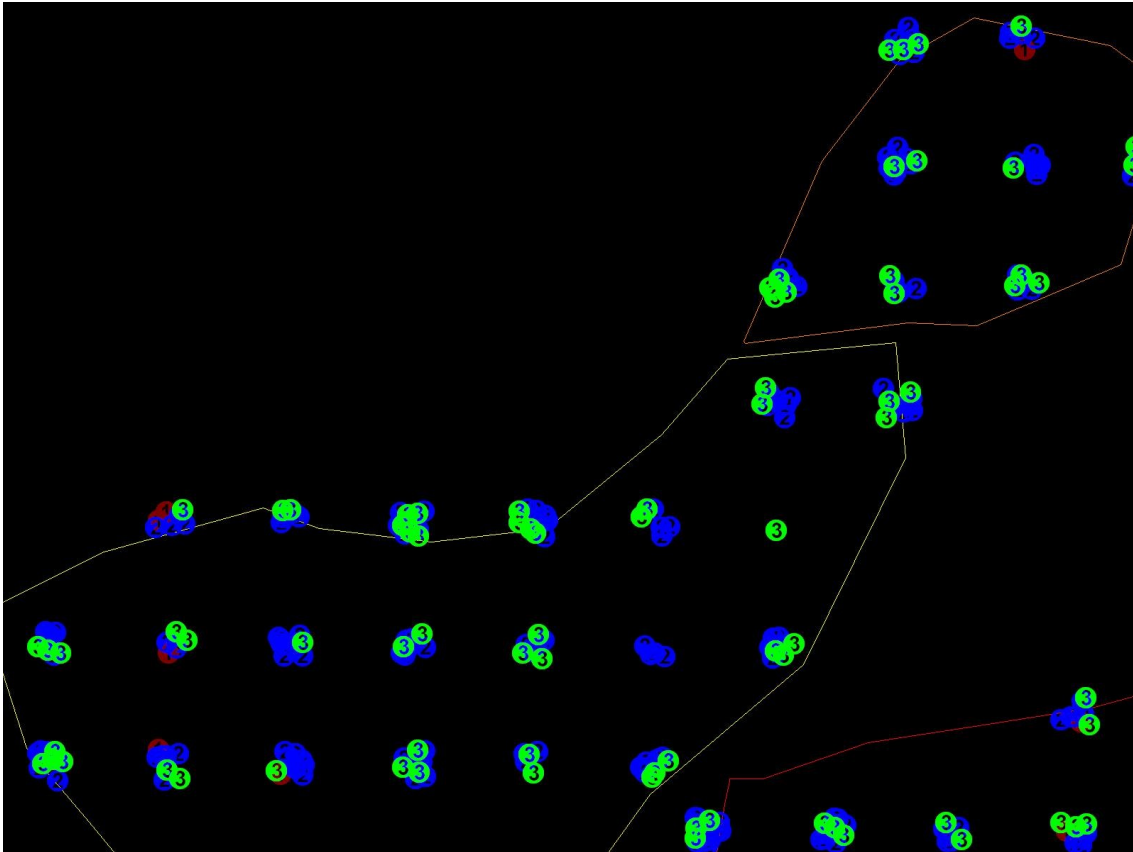


Abbildung 13: Beispiel für ein Gitternetz mit Zählquadraten in einem der DCN

(Nummerierung 1: große Neurone (rot), Nummerierung 2: Gliazelle (blau), Nummerierung 3: kleine Neurone (grün))

Die Resultate der Gliazellenzählung sind in Tabelle 4 dargestellt, während Tabelle 5 die Resultate der Neuronenzählung zeigt.

	T00			B99		
	Gesamt- anzahl	Volumen (mm ³)	Dichte (m/mm ³)	Gesamt- anzahl	Volumen (mm ³)	Dichte (m/mm ³)
FN	1087601	25	43044	912589	23	39741
AIN	592802	16	36409	574753	16	35807
PIN	650768	14	45072	764901	19	40160
LN	1924815	40	48290	1879946	36	51861

Tabelle 4: Ergebnisse der Gliazellenzählung bei Affe T00 und Affe B99

	T00			B99		
	Gesamt- anzahl	Volumen (mm ³)	Dichte (m/mm ³)	Gesamt- anzahl	Volumen (mm ³)	Dichte (m/mm ³)
FN	270705	25	10714	179072	23	7798
AIN	144017	16	8845	110151	16	6862
PIN	117126	14	8112	134765	19	7076
LN	375880	40	9430	294761	36	8131

Tabelle 5: Ergebnisse der Neuronenzählung bei Affe T00 und Affe B99

Tabelle 6 hingegen aus der Studie "Systematic Analysis of Neuronal Wiring of the Rodent Deep Cerebellar Nuclei Reveals Differences Reflecting Adaptations at the Neuronal Circuit and Internuclear Levels" von Hamodeh et al. (2014) liefert weitere wichtige Daten zur neuronalen Verdrahtung in den DCN von Nagetieren. Diese Informationen sind für den Vergleich und die Interpretation unserer Ergebnisse von Bedeutung.

	MN	AIN	PIN	LN	Gesamt-DCN
DCN Nissl-Volumen pro DCN- Seite (mm ³)	0.99	0.82	0.59	0.80	3.2
DCN MAP- Volumen pro DCN- Seite (mm ³)	0.95	0.86	0.47	0.64	2.9
Neuronenzahl pro DCN- Seite	22,697	17,700	11,978	17,471	69,846
Neuronendichte (pro mm ³)	27,007	27,365	23,881	23,137	25,347
Gliazellenanzahl pro DCN- Seite	66,335	41,395	37,605	52,046	197,380
Gliazellen Dichte (per mm ³)	75,063	75,129	69,158	68,067	71,854
Gliazellen im Verhältnis zur Neuronenzahl	2.79	2.75	2.9	2.94	2.83
Gesamt MAP2- Dendriten (mm) pro DCN- Seite	38,791	33,910	28,904	39,575	141,179
MAP2- Dendriten Dichte (m/mm ³)	38.4	45.8	60	62	48
MAP2- Dendriten pro Neuron (mm)	1.78	1.83	3.05	2.83	2.02
PCP2- Faserdichte (m/mm ³)	357	337	660	640	427

Tabelle 6: Quantitative Analyse der neuronalen Verdrahtung in den DCN von Nagetieren (aus Hamodeh et al. 2014 Tabelle 3)

Diese Tabelle 6 zeigt, dass die Dichte und Verteilung von Neuronen und Gliazellen sowie die dendritische Struktur innerhalb der verschiedenen DCN nach der statistischen Testung durchaus signifikante Variationen aufzeigen können. Die höheren dendritischen Dichten und Längen im LN und PIN weisen auf eine komplexere Verdrahtung hin, die für die funktionelle Spezialisierung dieser Kerne von Bedeutung sein könnte.

3.5. Bestimmung der Faserlängendichte

Es erfolgte eine systematische und quantitative Analyse der Axone der Purkinje-Zellen (PCax) und der Dendriten der Neurone des DCN. Mit Hilfe von Faserrekonstruktions- und Tracking-Algorithmen (Fouard et al., 2006) (Sultan et al., 2010) (Hamodeh et al., 2014) auf immunofluoreszenz gefärbtem Material (Abb. 14, Abb. 15) konnten wir die Faserlängendichte und die Faserdurchmesser bestimmen.

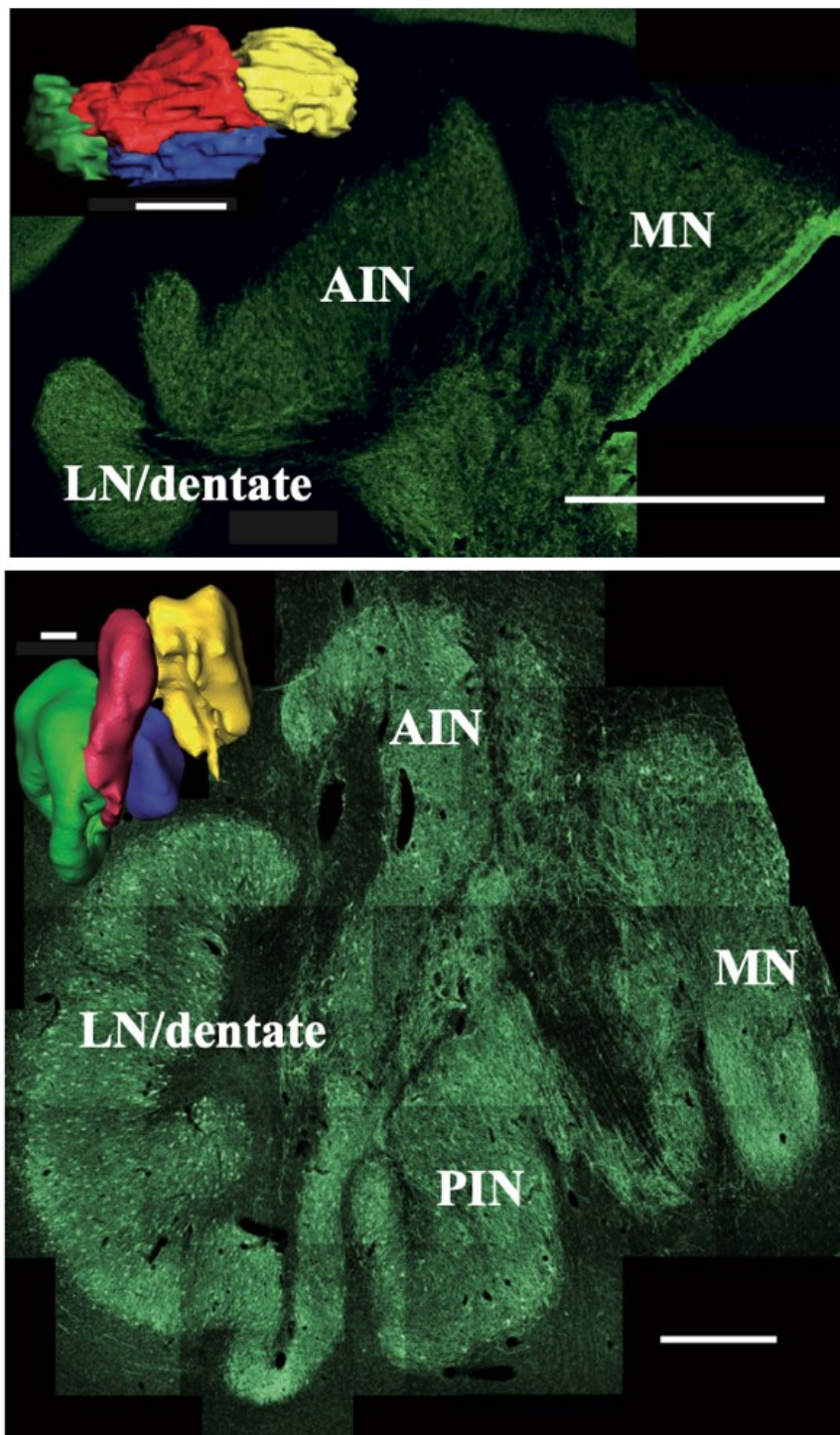


Abbildung 14: Vergleich der DCN der Ratte (oben) und des Rhesusaffen (unten) (aus Hamodeh 2017 Abb. 1a)

Zusammengesetzte Übersicht der fluoreszierenden MAP2-Immunhistochemie der Ratte (oben; koronaler Schnitt) und des Rhesusaffen (unten; horizontaler Schnitt); ebenso sind Oberflächenrekonstruktionen des DCN (MN gelb; AIN rot; PIN blau und LN/ dentate grün) der Ratte (oben) und des Rhesusaffen (unten) abgebildet; Maßstabsbalken entsprechen 1 mm.

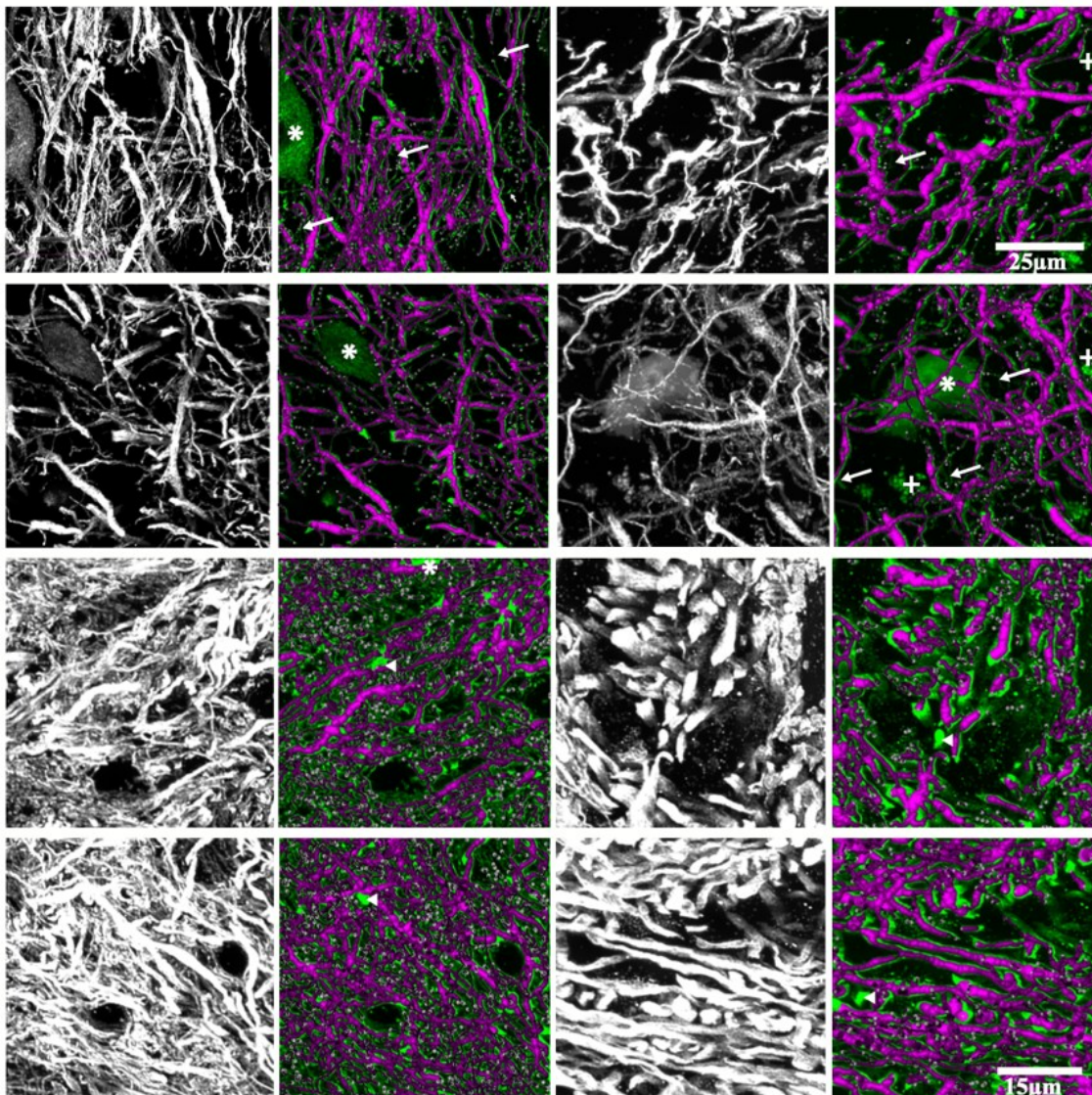


Abbildung 15: Vergleich der DCN der Ratte und des Rhesusaffen (aus Hamodeh 2017 Abb. 1b)

Beispiele für MAP2- (beide obere Reihen) und PCP2-Färbungen (zwei untere Reihen), aufgenommen mit dem Laser-Konfokalmikroskop, schwarz-weiß Bilder sind maximale Intensitätsprojektionen durch einen Stapel von Schnitten, magenta- und grün- gefärbte Bilder zeigen das Ergebnis der automatischen Faser- und Durchmesserrekonstruktion (in magenta), die maximale Intensitätsprojektion (in grün); die linken beiden Spalten zeigen Bilder von der Ratte (und die beiden rechten Spalten vom Rhesusaffen); der Maßstabsbalken für die oberen beiden Reihen beträgt 25 μm und für die unteren beiden Reihen 15 μm .

Zusätzlich wurden die Faserdichteschätzungen im Vergleich zu den Neuronendichteschätzungen in den verschiedenen DCN analysiert. Dabei zeigte sich, dass die Klassifizierung der DCN nur geringfügig zur Erklärung der

Variabilität der Neuronendichte beiträgt. Die Speziesklassifikation dahingegen hat einen großen Einfluss auf die Erklärung der Variabilität (zweifaktorielle ANOVA mit F-Werten 0,25 vs. 23,4 mit $p < 0,0001$ vs. $p = 0,86$ für die Faktoren DCN-Klasse vs. Artherkunft). Die geringere Neuronendichte beim Rhesusaffen entspricht einer regelmäßigen Abnahme der Neuronenzahl bei Tieren mit größerem Gehirn (Abb. 16, Abb. 17).

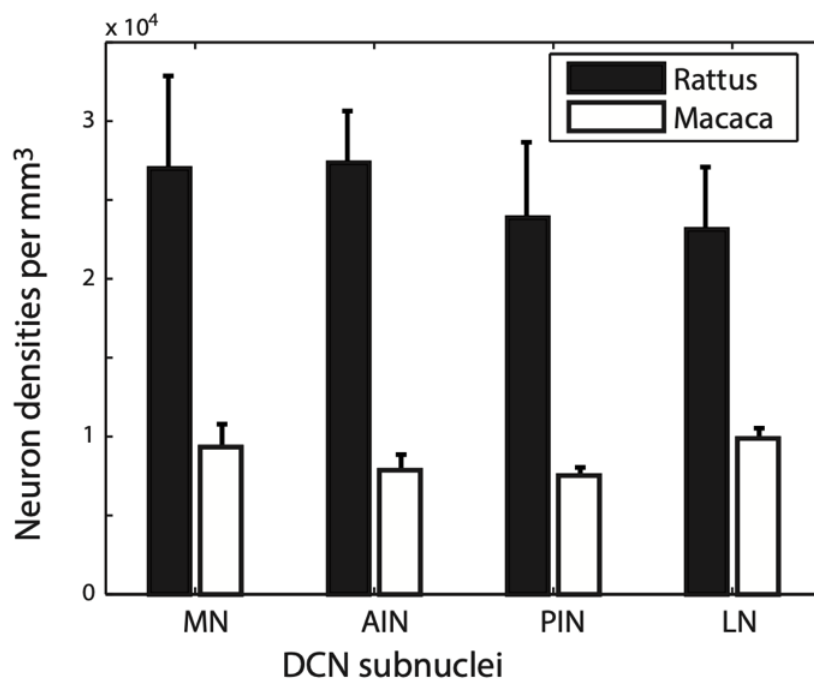


Abbildung 16: Neuronenzählung der Ratte (n = 4) und des Rhesusaffen (n = 2) mit der optischen Fraktionierungsmethode mit hochsignifikanten Dichteunterschieden zwischen den beiden Arten (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1c).

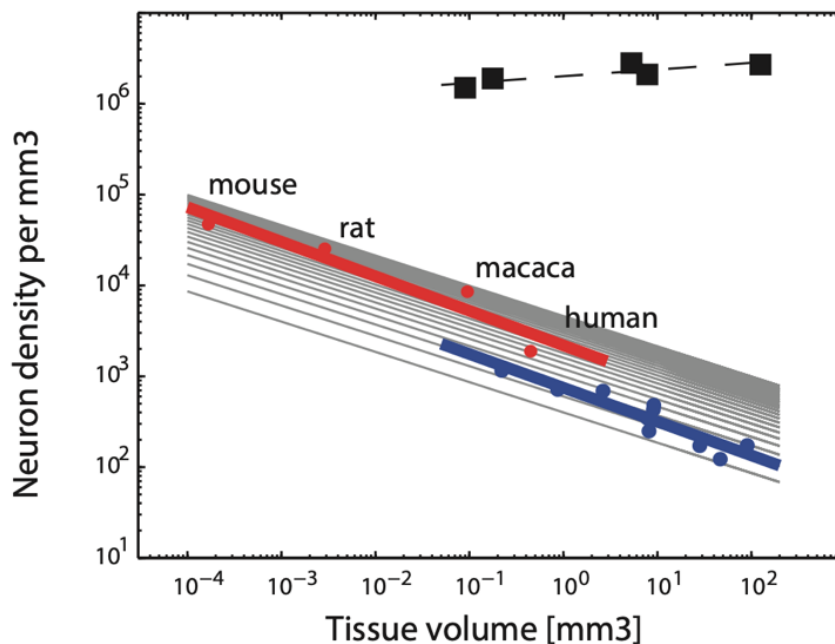


Abbildung 17: Doppelt logarithmisches Diagramm von der Abhängigkeit der Kleinhirneuronendichte vom Gewebevolumen (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1d)

DCN- Neuronen (rot) zeigen einen Dichteabfall in größeren Gehirnen, ähnlich dem der mit Purkinje-Zellen (blau) und im Gegensatz zu den Körnerzellen (schwarz). Die Reihe von schwarzen Linien haben eine Steigung von $-1/3$ und sind zum Vergleich dargestellt.

Die Resultate bezüglich der Neuronendichte in den verschiedenen DCN entsprechen den theoretisch erwarteten Skalierungsverhältnissen in Abhängigkeit vom Gewebevolumen, das mit dem Exponenten $-1/3$ angenommen wird (Braitenberg, 2001). Wir konnten eine Unterscheidung zwischen der Verdrahtung und der Neuronendichte vornehmen und stellten fest, dass die DCN-Klassifikation einen größeren Einfluss auf die Variabilität der dendritischen und axonalen Verdrahtung hat als auf die Variabilität der Neuronendichte (Abb. 18). Mit einer zweifaktorielle ANOVA konnten wir den Einfluss der DCN-Klassifikation auf die dendritische Längendichtevariabilität ersehen (zweifaktorielle ANOVA mit F-Werten 14,5 vs. 19,9, $df=1$ vs. $df=4$ und $p < 10^{-5}$ vs. $p < 10^{-11}$ für die Faktoren DCN-Klasse vs. Artherkunft). Auch in der Variabilität des PCax konnten wir dieselbe Auswirkung der DCN- Klassifikation entdecken (Abb. 19), mit ebenfalls einer zweifaktoriellen ANOVA f-Werte von 57,6 vs. 5,1 und $p = 10^{-37}$ vs. $p \leq 0,024$ für die Faktoren DCN-Klasse vs. spezifizierte Herkunft. Eine größere Bedeutung hat die höhere Anzahl von Dendriten und die PCax-Längendichte im PIN und im

LN, dem phylogenetisch neueren DCN auf die Variabilität in der DCN-Verdrahtung (Hamodeh et al., 2014). Im Allgemeinen haben die DCN eine geringere Faserlängendichte als der cerebrale Cortex (Hamodeh et al., 2014).

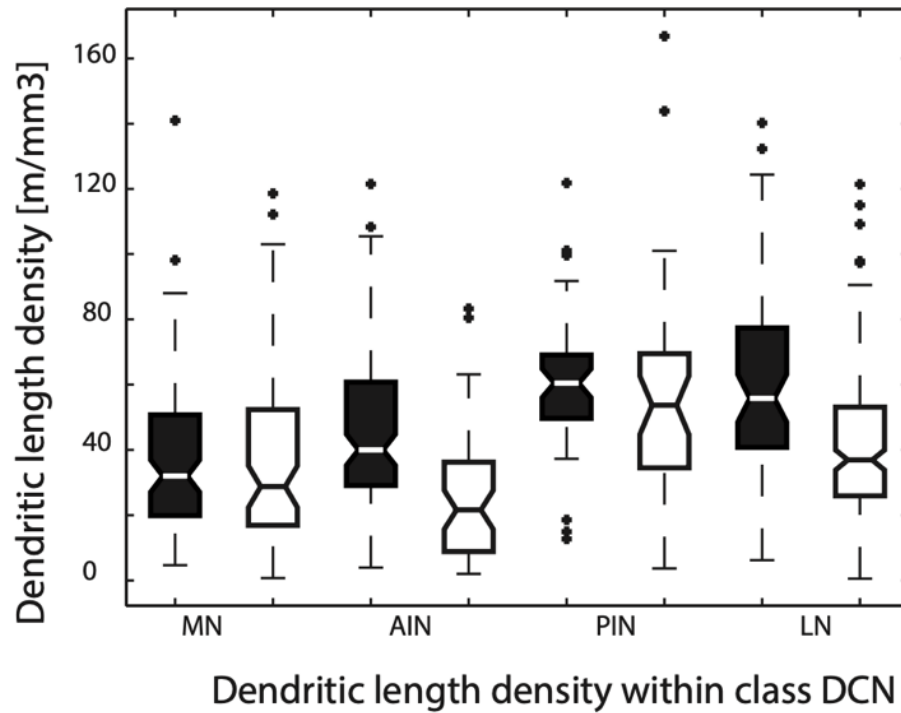


Abbildung 18: Quantifizierung der mit MAP2- markierten Dendriten (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1e)

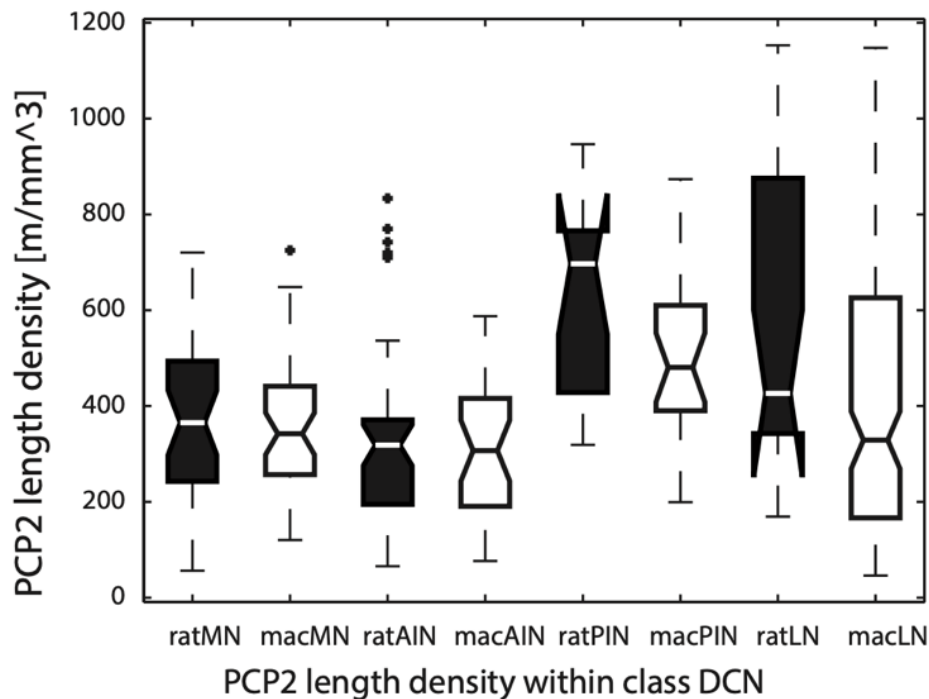


Abbildung 19: Quantifizierung der mit PCP2- markierten Fasern der Axone der Purkinje-Zellen (PCax) zeigt höhere Werte für die Axone (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1f)

Im Gegensatz zu den Neuronendichten hat die DCN-Klassifikation einen zusätzlichen signifikanten Effekt, der die Variabilität der Dendriten sowie die der Pcac in unseren Proben erklärt. Die durchschnittlichen Dendriten- und Pcac- Längendichten waren allgemein niedriger in den phylogenetisch älteren DCNs (d.h. dem MN und dem AIN).

Unsere Ergebnisse zeigen eine geringere dendritische Volumenfraktion in den DCN im Vergleich zu anderen Hirnregionen. Die durchschnittliche dendritische Dicke, die wir mit der 3D-QIHC-Methode erhalten haben (0,77 μm), war identisch mit der Dicke, die durch intrazelluläre Färbung ermittelt wurde (0,77 μm ; (Sultan et al., 2003).

Diese detaillierte Analyse liefert wichtige Einblicke in die neuronale Struktur und Verdrahtung der Kleinhirnerne und hebt die Bedeutung der dendritischen und axonalen Quantifizierung für das Verständnis der cerebellären Funktion hervor.

Als nächstes werteten wir die dendritische Längendichte aus. Dabei verglichen wir die durchschnittliche Menge der dendritischen Länge pro intrazellulär gefärbtes Neuron (Sultan et al., 2003) mit dem populationsbasierten Ansatz. Beim populationsbasierten Ansatz wird die dendritische Dichte durch die

Neuronendichte geteilt und man erhält die Dendritenlänge pro Neuron. Für die Ratte haben wir beim Vergleich der beiden Ansätze eine gute Übereinstimmung für die Menge an LN/ dentatus Dendriten pro Neuron erhalten: 2,83mm für den intrazellulären Ansatz und 2,65mm für den populationsbasierten Ansatz (wie in (Hamodeh et al., 2014) beschrieben). Beim DCN des Rhesusaffen haben wir eine größere Menge an Dendriten pro Neuron (Affe: 4,8 mm) als bei der Ratte (Ratte: 2,1mm) erhalten (Sultan et al., 2003).

Durch die Skalierung der Nageltierdaten um einen Faktor, der aus den einzelnen DCN-Volumina mit einer Potenz von $1/3$ abgeleitet wurde, haben wir die beiden Spezies miteinander verglichen. Unsere Prognosen für MN und PIN liegen eindeutig innerhalb der Konfidenzintervalle, die für die Primatenschätzung erhalten wurden. Beim Primaten LN/ dentatus haben wir eine Prognose von 10 mm dendritischer Länge pro Neuron errechnet und erhielten jedoch ein Ergebnis um die Hälfte von 4,8 mm. Damit ist die tatsächliche dendritischer Länge pro Neuron um die Hälfte geringer ausgefallen als projiziert.

Zur Verifizierung unserer Ergebnisse führten wir einen Vergleich mit einer anderen Schätzung der dendritischen Baumgröße durch. Wir untersuchten die Einflussregion (dROI), die als das Polygon definiert ist, welches als die Verbindung der entfernten dendritischen distalen Spitzen dargestellt. Hierfür nahmen wir die Daten, die in einer früheren Studie durch intrazelluläres Füllen von LN/ dentatus Neuronen bei Ratten (Sultan et al., 2003) gewonnen wurde und verglichen sie mit Golgi-gefärbten Neuronen von Ratten und Rhesusaffen (Chan-Palay, 1977). Das Ergebnis war, dass die unterschiedlich gefärbten LN/ dentatus Neurone der Ratte einen ähnlichen dROI-Durchmesser ergaben. Die Vorhersage für den Affen basierend auf der Skalierung des LN/ dentatus Volumens ergab einen Durchmesser von $\sim 850 \mu\text{m}$. Bei unserer Messung im Vergleich mit den Daten von Chan-Palay (Chan-Palay, 1977) bekamen wir jedoch ein deutlich kleineres Ergebnis für den Durchmesser als erwartet ($190\mu\text{m}$). So fiel auch die dendritischen Einflussregion kleiner aus und bestätigten die Ergebnisse der dendritischen Länge pro Neuron. Damit konnten wir schlussfolgern, dass die Mehrheit der Neuronen im LN/ dentatus der Primaten eine Hyposkalierung mit zwergartig gruppierten Dendriten aufweisen müssen (Abb. 20).

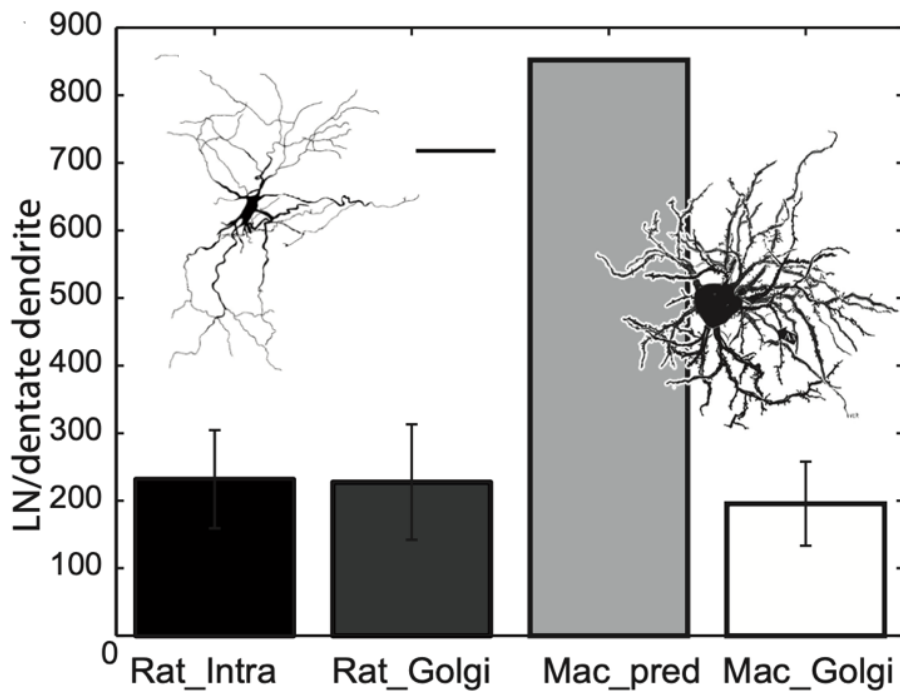


Abbildung 20: Vergleich der Durchmesser der Einflussregion (dROI), die für dendritischen Bäume der Ratten und des Affen ermittelt wurden (aus Hamodeh et al. 2017 Abb. 1h)

(Rat_intra bezeichnet die dROI-Durchmesser, die aus 3D-rekonstruierten intrazellulär gefüllten Neuronen (n=35) gewonnen wurden; Rat_golgi bezeichnet die Durchmesser, die von Golgi-gefärbten Neuronen (n=27 für Ratten; n=54 für den Affen) erhalten wurde; Mac_Golgi stellt den Unterschied zwischen Ratte und Affe dar (Mittelwert von 227 μm im Vergleich zu 196 μm , t-Test $p = 0,059$); Links ist ein intrazellulär gefärbtes Neuron von der Ratte dargestellt. Rechts sind Neuronen zu sehen, die eine kleine dROI mit gruppierten Dendriten aus dem LN/ dentate des Affen zeigen. Die Maßstabsleiste entspricht 100 μm für das linke und 50 μm für das rechte Neuron.)

4. Diskussion

Insgesamt können wir Abweichungen in der dendritischen Skalierung der Neurone im Nucleus lateralis/ dentatus feststellen. Diese Abweichungen zeigen sich sowohl in der dendritischen Länge pro Neuron als auch in einem kleineren als erwarteten dendritischen Einflussbereich dieser Neuronen. Darüber hinaus haben wir spezifische Veränderungen in der dendritischen Durchmesser- und Verzweigungsverteilung identifiziert, die auf eine einzigartige strukturelle Organisation in diesem Bereich des Primatenhirns hinweisen. Die Beobachtung einer veränderten dendritischen Skalierung deutet darauf hin, dass die LN/ dentatus Neuronen in Primaten möglicherweise spezifische Anpassungen aufweisen, die es von anderen Arten unterscheidet.

Die Erkenntnisse dieser Studie stehen im Einklang mit früheren Untersuchungen, die ähnliche strukturelle Unterschiede zwischen Primaten und anderen Tierarten aufzeigen (Clark et al., 2001; Haug, 1970; Watson et al., 2012). Die spezifischen Veränderungen in der dendritischen Morphologie legen nahe, dass das Primatenhirn einzigartige strukturelle Merkmale aufweist, die eng mit den komplexen und kognitiven Verhaltensfähigkeiten dieser Tiere verbunden sein könnten.

Diese Erkenntnisse tragen zu einem besseren Verständnis der funktionellen Unterschiede in der Hirnstruktur bei Primaten bei und betonen die Notwendigkeit weiterer Forschung, um die spezifischen Mechanismen und die funktionale Bedeutung dieser strukturellen Unterschiede vollständig zu verstehen.

Die Neurone im Nucleus lateralis/ dentatus des Kleinhirns wurden von Chan-Palay (Chan-Palay, 1977) eingehend untersucht und mit Golgi-Färbung qualitativ detailliert beschrieben. Diese Studie lieferte wertvolle Einblicke in die morphologischen Eigenschaften dieser Neuronen, insbesondere in Bezug auf ihre dendritischen Verzweigungen und ihre räumliche Organisation innerhalb des LN/ dentatus.

Später wurden diese Ergebnisse von Sultan und Kollegen (Sultan et al., 2003) durch quantitative Analysen mit intrazellulären Färbetechniken weiter verfeinert.

Dabei wurden nicht nur die morphologischen Merkmale der LN/ dentatus Neurone genauer untersucht, sondern auch ihre dendritische Architektur und ihre Verzweigungsmuster quantifiziert.

Besonders bemerkenswert war die Feststellung von Neuronen mit eingeschränkten und gebündelten Verzweigungen, die als "gehäufte Verzweigungsbäume" beschrieben wurden. Diese Strukturen könnten auf spezifische funktionelle Anpassungen der LN/ dentatus Neurone hinweisen, die möglicherweise mit ihrer Rolle in der Informationsverarbeitung und -integration im Kleinhirn zusammenhängen.

Die Kombination aus morphologischen Beschreibungen und quantitativen Analysen liefert ein umfassendes Bild der neuronalen Architektur im LN/ dentatus und trägt dazu bei, die komplexe Organisation dieser Hirnregion besser zu verstehen. Diese Erkenntnisse sind von großer Bedeutung für das Verständnis der funktionellen Rolle des LN/ dentatus im Kleinhirn und könnten auch wichtige Implikationen für neurologische Erkrankungen haben, die mit Veränderungen in dieser Region verbunden sind (Duch & Ryglewski, 2016).

In Ramon-Moliner, E. und W. J. Nauta (1966) "The isodendritic core of the brain stem" (Journal of Comparative Neurology 126(3): 311-335) (Ramón-Moliner & Nauta, 1966) wird darauf hingewiesen, dass die dendritischen Anpassungen in Form von idiodendritischer Verzweigung eine stärkere Kommunikation zwischen den synaptischen Eingängen ermöglichen, da die Synapsen näher beieinander liegen (Koch et al., 1983). Diese räumliche Nähe der synaptischen Verbindungen könnte die Effizienz der neuronalen Signalübertragung erhöhen und die synaptische Integration verbessern, was zu einer präziseren Verarbeitung von Informationen im Kleinhirn führt.

Dieses Phänomen der idiodendritischen Verzweigung könnte auch für die bekannten Rebound- Ausbrüche von Neuronen in den tiefen cerebellären Kernen (DCN) nach inhibitorischen Inputs von Purkinje-Zellen verantwortlich sein (Aizenman & Linden, 1999; Llinás & Mühlethaler, 1988). Diese Rebound-Aktivität, die als verstärkte neuronale Entladung nach einer vorübergehenden Hemmung auftritt, könnte durch die räumliche Nähe der synaptischen Verbindungen

begünstigt werden, was eine schnellere und synchronisierte neuronale Reaktion ermöglicht.

Die Erkenntnisse aus diesen Studien unterstützen die Hypothese, dass die dendritischen Veränderungen in den DCN eine wichtige Rolle bei den Rechenoperationen im Kleinhirn spielen. Sie könnten dazu beitragen, die gleichbleibende Funktion der Rechenoperationen in den verschiedenen zerebellären Subregionen zu erklären (De Zeeuw et al., 2011), indem sie die Netzwerkkonnektivität und die synaptische Effizienz verbessern. Diese Befunde unterstreichen die Bedeutung der dendritischen Morphologie für die funktionelle Organisation des Kleinhirns und bieten Einblicke in die Mechanismen, die der Informationsverarbeitung in dieser wichtigen Hirnregion zugrunde liegen.

Angesichts unserer Ergebnisse eröffnen sich neue Einblicke in die spezifischen funktionalen Fähigkeiten des primaten Kleinhirns und des LN/ dentatus. Diese Erkenntnisse bieten einen wichtigen Ausgangspunkt für weiterführende Forschungen zur einzigartigen Morphologie und Rolle dieser Hirnregion bei Primaten.

Die Identifizierung von dendritischen Anpassungen, synaptischen Dichten und neuronalen Verzweigungsmustern im LN/ dentatus liefert wertvolle Informationen darüber, wie diese Region in sensorimotorische und kognitive Prozesse involviert ist. Diese Einblicke können dazu beitragen, die Funktionsweise des primaten Kleinhirns genauer zu verstehen und die spezifischen Mechanismen zu identifizieren, die seiner Rolle bei der Informationsverarbeitung zugrunde liegen.

Durch diese Erkenntnisse kann das komplexe Zusammenspiel zwischen Hirnstruktur und Verhalten bei Primaten besser verstanden werden. Die Untersuchung der neuronalen Architektur und der synaptischen Organisation im LN/ dentatus ermöglicht es uns, die Grundlagen für die kognitiven und motorischen Fähigkeiten von Primaten zu erkennen und zu verstehen.

Diese Forschung kann auch dazu beitragen, die Grundlagen für die Entwicklung neuer Ansätze zur Behandlung von neurologischen Erkrankungen zu schaffen,

die mit Veränderungen im Kleinhirn verbunden sind. Indem wir die spezifischen Merkmale des primaten Kleinhirns und des LN/ dentatus besser verstehen, können wir möglicherweise innovative Therapien entwickeln, die auf diese Regionen abzielen, um die Funktionen des Gehirns zu verbessern und neurologische Erkrankungen zu behandeln.

Insgesamt eröffnen unsere Ergebnisse somit neue Wege für die Erforschung des primaten Kleinhirns und des LN/ dentatus und bieten einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der neuronalen Grundlagen von Verhalten und kognitiven Funktionen bei Primaten.

Außerdem ist es wichtig, den Gedanken aufzugreifen, dass eine Zunahme der Anzahl von Modulen im LN/ dentatus auf eine Zunahme der Anzahl von parasagittalen Streifen in der Hemisphäre hindeuten könnte (Jörntell, 2017). Diese Vorstellung legt nahe, dass mit einer größeren Oberflächenzunahme des LN/ dentatus in der mediolateralen Achse (Sultan et al., 2010) mehr unabhängige Module im Kleinhirn Platz finden könnten.

Diese Erkenntnis unterstützt die Hypothese, dass die Zunahme der Anzahl von Modulen im Kleinhirn entlang einer der beiden Hauptachsen erfolgt: entweder entlang der medio- lateralen oder der antero- posterioren Kleinhirnachse. Eine erhöhte Anzahl von Modulen könnte sich in einer erhöhten Komplexität der neuronalen Verbindungen und damit in einer verbesserten Fähigkeit zur Integration und Verarbeitung sensorischer und motorischer Signale manifestieren.

Diese Betrachtungsweise eröffnet neue Perspektiven für das Verständnis der funktionalen Organisation des Kleinhirns und des LN/ dentatus und bietet einen theoretischen Rahmen, um die Beziehung zwischen der neuronalen Architektur und der Funktionsweise dieser Hirnregionen zu erforschen. Durch die Untersuchung der zugrunde liegenden Mechanismen, die die Modulbildung im Kleinhirn steuern, können wir möglicherweise die evolutionären Anpassungen besser verstehen, die zu einer Vielzahl von motorischen und kognitiven Fähigkeiten bei Primaten geführt haben.

Insgesamt eröffnet diese Betrachtungsweise neue Möglichkeiten für die Erforschung der strukturellen und funktionellen Eigenschaften des primaten Kleinhirns und des LN/ dentatus und bietet einen vielversprechenden Ansatz, um die komplexe Beziehung zwischen Hirnstruktur und Verhalten bei Primaten weiter zu erforschen.

Mit diesen populationsbasierten Studien (Hamodeh et al., 2014) (Hamodeh et al., 2017) können wir keine direkten Schlussfolgerungen über die unterschiedliche Zusammensetzung der Neuronenklassen im LN/ dentatus ziehen. Die Analyse der gesamten neuronalen Population des DCN ist jedoch dennoch von großer Bedeutung, da es schwierig ist, ausreichende Informationen über einzelne Neuronen in Primaten zu erhalten.

Die Komplexität und Vielfalt der neuronalen Population im DCN machen es schwierig, einzelne Neuronenklassen zu identifizieren und zu charakterisieren. In populationsbasierten Studien können wir jedoch dennoch wichtige Informationen über die allgemeine Organisation und Funktion des DCN sammeln, indem wir die Gesamtheit der Neuronen analysieren und Trends und Muster auf Populationsebene identifizieren.

Durch die populationsbasierte Analyse können wir beispielsweise Trends in der Neuronendichte, der synaptischen Verbindungen und der morphologischen Merkmale der Neuronen im DCN erkennen, die uns wichtige Einblicke in die Funktionsweise dieser Hirnregion geben. Diese Informationen können wiederum dazu beitragen, Hypothesen zu generieren und zukünftige experimentelle Untersuchungen zu leiten, die spezifischere Fragen zur neuronalen Zusammensetzung und Funktion des DCN bei Primaten beantworten können.

Insgesamt liefern diese populationsbasierten Studien somit wertvolle Grundlageninformationen über das Kleinhirn und den DCN, die als Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen dienen können. Obwohl wir keine spezifischen Schlussfolgerungen über die unterschiedliche Zusammensetzung der Neuronenklassen ziehen können, trägt unsere Analyse dennoch dazu bei, das Verständnis der neuronalen Organisation und Funktion des DCN bei Primaten zu vertiefen.

Im Gegensatz zu Techniken wie Golgi-Färbung oder intrazellulärer Färbung (Hamodeh et al., 2014), die einen voreingenommenen Ansatz erfordern und möglicherweise nicht alle Neuronen erfassen können, ermöglicht der populationsbasierte Ansatz eine umfassende Analyse der gesamten neuronalen Population. Dadurch konnten wir Veränderungen im dendritischen Verzweigungsmuster der Neuronen im LN/ dentatus erkennen und wichtige Einblicke in die Organisation und Funktion dieses Gehirnareals gewinnen.

Durch die populationsbasierte Analyse sind wir in der Lage, eine größere Anzahl von Neuronen zu erfassen und so eine repräsentativere Stichprobe der neuronalen Population im DCN zu erhalten. Dies ermöglichte es uns, Muster und Trends aufzudecken, die möglicherweise bei einer begrenzten Anzahl von Einzelneuronen nicht erkennbar gewesen wären. Darüber hinaus konnten wir durch die quantitative Analyse der gesamten neuronalen Population statistisch signifikante Unterschiede und Zusammenhänge identifizieren, die wichtige Einblicke in die Funktionsweise des DCN liefern.

Die umfassende Natur dieses populationsbasierten Ansatzes erlaubte es uns, Veränderungen im dendritischen Verzweigungsmuster der DCN-Neuronen zuverlässig zu erfassen und zu charakterisieren. Diese Veränderungen könnten auf spezifische Anpassungen in der neuronalen Schaltungsebene hinweisen, die möglicherweise mit funktionellen Veränderungen im Kleinhirn verbunden sind. Indem wir diese Veränderungen verstehen, können wir besser verstehen, wie das Kleinhirn sensorische und motorische Signale verarbeitet und koordiniert, und möglicherweise neue Wege zur Behandlung von Erkrankungen entwickeln, die mit Dysfunktionen im Kleinhirn verbunden sind.

Insgesamt hat der populationsbasierte Ansatz es uns ermöglicht, eine umfassende Analyse der neuronalen Population im DCN durchzuführen und wichtige Einblicke in seine Organisation und Funktion zu gewinnen. Diese Erkenntnisse tragen dazu bei, unser Verständnis des Kleinhirns und seiner Rolle bei der Informationsverarbeitung und Koordination von Bewegungen und Verhalten zu vertiefen (Paulsen et al., 2023).

Fasst man die Ergebnisse unserer Studie zusammen, kann man sagen, dass die Verbindungen zwischen dem Kleinhirn und der Großhirnrinde komplexer sind als bisher angenommen. Denn mit unserer Analyse konnten wir sowohl vorhersehbare Skalierungen, wie die Abnahme der Neuronendichte und Zunahme der dendritischen/ axonalen Länge, als auch unvorhersehbare wie kleinere dendritische Regionen von Interesse (ROIs) und eine größere Anzahl von Modulen im am stärksten vergrößerten dorsalen LN/ dentatus der Primaten ermitteln (Hamodeh et al., 2014; Sultan et al., 2003). Diese Resultate korrelieren mit der einzigartigen Anatomie des Primaten LN/ dentatus. Die Abflachung und Faltung der grauen Materie zu einer zahnförmigen Struktur könnten aufgrund der dendritischen Durchmesserhältnisse der Neuronen im Primaten LN/ dentatus entstehen und so mechanische Spannungen reduzieren und es abflachen lassen (Sultan et al., 2003). Diese Entdeckungen zeigen erstmalig, dass die dendritische Morphologie der Neuronen im Primaten LN/ dentatus eng mit der spezifischen Anatomie und Funktion dieser Region verbunden ist. Die speziellen Verzweigungsmuster von gruppierten Dendritenbäumen im Primaten LN/ dentatus können ebenfalls auch zu einer Abflachung und Faltung der grauen Materie im dorsalen LN/ dentatum bei Makaken führen (Sultan et al., 2010). Diese Ergebnisse liefern einen wichtigen Beitrag, um die Verbindung zwischen dendritischer Morphologie und anatomischer Struktur und Funktion des Gehirns zu verstehen.

Des Weiteren unterstützen unsere Befunde die Hypothese, dass die strengere Konnektivität der idiodendritischen Neuronen des DCN dazu führen könnte, dass Regionen mit engmaschigen und weniger engmaschigen Geweben entstehen. Diese weniger engmaschigen Regionen könnten zu einer Verringerung der Spannung führen, was wiederum zu einer Eindellung und Faltung an diesen Stellen während des ontogenetischen und phylogenetischen Volumenwachstums des Kerns führen könnte. Diese Veränderungen könnten zunächst zur Entstehung eines torusartigen oder schalenförmigen Kerns führen, wie es tatsächlich beim seitlichen DCN des Rhesusaffen der Fall ist (Paxinos et al., 2000). Im Gegensatz dazu würde in der isodendritischen nukleären Organisation die Konnektivität im gesamten Kern im Wesentlichen gleich sein

und dazu beitragen, eine kugelförmige Struktur zu erhalten. Eine wichtige Voraussetzung für dieses Modell wäre dann, dass die idiodendritischen Neuronen bei höheren Primaten überwiegen und dass andererseits die isodendritischen Neuronen bei Arten mit mehr kugelförmigen DCN überwiegen. Leider liegen keine quantitativen Studien dazu vor, und weitere Analysen sind erforderlich, um dieses Modell des Wachstums des DCN in der Evolution zu untermauern.

Unsere Untersuchung wirft auch ein Licht auf mögliche Zusammenhänge zwischen der Anzahl von Modulen im LN/ dentatus und der Anzahl von parasagittalen Streifen in der Hemisphäre (Jörntell, 2017). Die größere Oberflächenzunahme des LN/ dentatus in der mediolateralen Achse könnte mehr unabhängige Module im Kleinhirn Platz finden lassen (Sultan et al., 2010). Dies wiederum bekräftigt die These, dass die Zunahme der Anzahl von Modulen entlang einer der beiden Hauptachsen des Kleinhirns erfolgt: der medio- lateralen oder der antero- posterioren Kleinhirnachse (Jörntell, 2017).

Zudem verdeutlicht die populationsbasierte Analyse die Vorzüge gegenüber herkömmlichen Techniken wie der Golgi-Färbung oder intrazellulärer Färbung (Hamodeh et al., 2014). Während diese Methoden einen voreingenommenen Ansatz erfordern und möglicherweise nicht alle Neuronen erfassen können, erlaubt der populationsbasierte Ansatz eine umfassende Analyse der gesamten neuronalen Population (Hamodeh et al., 2014). Dadurch konnten wir Veränderungen im dendritischen Verzweigungsmuster der DCN- Neuronen erkennen und wichtige Einblicke in die Organisation und Funktion dieses Gehirnareals gewinnen.

Populationsbasierte Analysen bieten im Vergleich zu herkömmlichen Techniken wie der Golgi-Färbung oder der intrazellulären Färbung einige entscheidende Vorzüge. Zunächst ermöglichen sie eine Skalierbarkeit und einen hohen Durchsatz, da sie die gleichzeitige Untersuchung vieler Zellen oder Moleküle ermöglichen, ähnlich wie bei Methoden wie der Durchflusszytometrie oder der Massenspektrometrie. Im Gegensatz dazu sind traditionelle Methoden wie die

Golgi-Färbung oder die intrazelluläre Färbung zeitaufwändig und erfordern viel manuelle Arbeit.

Ein weiterer wichtiger Vorteil ist die Möglichkeit, quantitative Messungen durchzuführen. Populationsbasierte Analysen liefern genaue quantitative Daten über die Verteilung von Zellen oder Molekülen, während die Ergebnisse bei der Golgi-Färbung oder der intrazellulären Färbung oft qualitativ und subjektiv sind.

Des Weiteren bieten populationsbasierte Analysen die Möglichkeit, multiparametrische Informationen zu gewinnen. Methoden wie die Durchflusszytometrie und die Massenspektrometrie ermöglichen die gleichzeitige Messung mehrerer Parameter, wie beispielsweise Oberflächenmarker, intrazelluläre Proteine und den DNA-Gehalt. Im Gegensatz dazu sind Golgi-Färbung und intrazelluläre Färbung normalerweise auf einen einzigen Aspekt beschränkt.

Ein weiterer Vorteil ist die Automatisierung und Reproduzierbarkeit von populationsbasierten Analysen. Durch ihre Automatisierung kann die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erhöht werden, während die manuelle Durchführung der Golgi-Färbung oder der intrazellulären Färbung zu Variabilität zwischen verschiedenen Experimenten führen kann.

Insgesamt bieten populationsbasierte Analysen eine effiziente, quantitative und multiparametrische Methode zur Untersuchung biologischer Proben. Sie sind besonders nützlich, wenn große Datensätze oder komplexe Zellpopulationen analysiert werden müssen.

5. Zusammenfassung

Umso größer ein Gehirn ist, desto größer sind ihre Elemente oder ihre Bestandteile nehmen quantitativ zu. Diese Skalierung ist jedoch nicht immer zutreffend. Im Säugetiergehirn sind verschiedene Netzwerkarchitekturen nachzuweisen. Im Kleinhirn befinden sich beispielsweise die Axone der Körnerzellen (die Parallelfasern), die unabhängig von der Hirngröße eine konstante Länge besitzen. Die Dichte der Körnerzellen bleibt somit trotz veränderter Hirngröße konstant (Schüz et al., 2009). Dieser Skalierungsunterschied sorgt dafür, dass das Kleinhirn etwa 15% des gesamten Hirnvolumens einnimmt, jedoch 80% der Neurone des Gehirns enthält (Azevedo et al., 2009). Diese Abweichung von den Skalierungsregeln ist nicht nur eine Besonderheit der Körnerzellen des Kleinhirns, sondern findet sich wieder im Nucleus dentatus des Kleinhirns, der wichtigsten Verbindungsstruktur zwischen dem zerebralen und dem zerebellären Cortex. Wir erhoffen uns mit unserer Arbeit, wichtige Einblicke in die Netzwerkverknüpfung des Kleinhirns gewinnen zu können und die Gründe für außergewöhnliche Skalierung zwischen dem zerebralen und dem zerebellären Cortex an ihrem verbindenden Knotenpunkt herauszufinden.

In unserer Studie zeigen die Dichte und die Verteilung von Neuronen und Gliazellen sowie die dendritische Struktur innerhalb der verschiedenen DCN nach der statistischen Testung signifikante Variationen auf. Die höheren dendritischen Dichten und Längen im LN und PIN weisen auf eine komplexere Verdrahtung hin, die für die funktionelle Spezialisierung dieser Kerne von Bedeutung sein könnte.

Außerdem trägt die Klassifizierung der DCN nur geringfügig zur Erklärung der Variabilität der Neuronendichte bei. Die Speziesklassifikation dahingegen hat einen großen Einfluss auf die Erklärung der Variabilität. Wir konnten herausfinden, dass die geringere Neuronendichte beim Rhesusaffen einer regelmäßigen Abnahme der Neuronenzahl bei Tieren mit größerem Gehirn entspricht. Des Weiteren zeigen unsere Ergebnisse eine geringere dendritische Volumenfraktion in den DCN im Vergleich zu anderen Hirnregionen.

Bei der Auswertung der dendritischen Längendichte haben wir für die Ratte mit verschiedenen Ansätzen eine gute Übereinstimmung für die Menge an LN/dentatus Dendriten pro Neuron erhalten. Beim DCN des Rhesusaffen haben wir eine größere Menge an Dendriten pro Neuron als bei der Ratte aufgrund linearer Skalierung projiziert und gemessen (Sultan et al., 2003). Unsere Messungen für MN und PIN liegen eindeutig innerhalb der Konfidenzintervalle unserer Schätzung. Beim Primaten LN/dentatus jedoch ist die tatsächliche dendritische Länge pro Neuron jedoch um die Hälfte geringer ausgefallen als erwartet.

Mit unseren Analysen in dieser Studie konnten wir sowohl vorhersehbare Skalierungen wie die Abnahme der Neuronendichte und Zunahme der dendritischen/ axonalen Länge, als auch unvorhersehbare wie kleinere dendritische Bäume im am stärksten vergrößerten LN/dentatus der Primaten feststellen (Hamodeh et al., 2014; Sultan et al., 2003).

Im Folgenden werden die wichtigsten Resultate dieser Dissertation wiedergegeben und die Signifikanz der Ergebnisse im Kontext der aktuellen Forschungslage hervorgehoben. Dabei werden sowohl die methodischen Ansätze als auch die zentralen Befunde und deren Implikationen für das Verständnis der Funktion und Struktur der Kleinhirnkerne dargestellt.

5.1. Überblick über die Zielsetzung und Methodik

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der quantitativ zellulären Untersuchung der Kleinhirnkerne von Säugetieren. Hierbei werden verschiedene Skalierungsmodelle untersucht, um die Abhängigkeit der Zelldichte von der Hirngröße herauszufinden. Ein zentrales Ziel war es, die dendritische Morphologie und deren Einfluss auf die Struktur und Funktion der Kleinhirnkerne bei unterschiedlichen Spezies zu analysieren. Mit einer Kombination aus populationsbasierten Analysen und traditionellen Färbetechniken wurde eine umfassende Charakterisierung der neuronalen Strukturen und ihrer funktionalen Relevanz angestrebt.

5.2. Hauptbefunde

5.2.1. Unterschiede in der dendritischen Längendichte

Eine populationsbasierte Analyse der dendritischen Längendichte zeigte signifikante Unterschiede zwischen Primaten und Nagetieren. Insbesondere wurde festgestellt, dass der Nucleus dentatus des Rhesusaffen eine größere dendritische Länge pro Neuron aufweist im Vergleich zur Ratte. Jedoch ist die dendritische Länge des Rhesusaffen hier weit unterhalb der erwarteten Länge, basierend auf linearen Skalierungsmodellen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Entwicklung der dendritischen Strukturen eine wichtige Rolle bei der funktionellen Spezialisierung der Kleinhirnkerne spielt.

5.2.2. Anatomische und funktionelle Unterschiede der Kleinhirnkerne

Die detaillierte Untersuchung der vier Hauptkerne - Nucleus dentatus, Nucleus emboliformis, Nucleus globosus und Nucleus fastigii - verdeutlichte ihre spezifischen Positionen, Verbindungen und Funktionen. Es wurde gezeigt, dass jeder dieser Kerne einzigartige Beiträge zur motorischen Kontrolle und Koordination leistet, wobei der Nucleus dentatus eine herausragende Rolle bei der Planung und Feinabstimmung von Bewegungen einnimmt.

5.2.3. Einfluss der dendritischen Morphologie auf die Kernstruktur

Die Studie gibt Hinweise, dass die dendritische Morphologie der Neuronen zur Form der Kleinhirnkerne beitragen könnte. Speziell im Primaten LN/ dentatus wurden besondere Verzweigungsmuster der Dendritenbäume und die daraus

resultierenden möglichen mechanischen Spannungen identifiziert, die zur charakteristischen Faltung und Abflachung der grauen Materie führen könnte.

5.3. Implikationen und zukünftige Forschungsrichtungen

Die Ergebnisse dieser Studie liefern wertvolle Einblicke in die komplexe Organisation der Kleinhirnkerne und deren entwicklungsbedingte Anpassungen. Sie bieten weitere Einblicke in die mögliche Bedeutung der dendritischen Architektur für die funktionelle Spezialisierung und bieten eine Grundlage für weiterführende Untersuchungen.

5.3.1. Bedeutung für die Neurobiologie

Die Studie zeigte, dass der Nucleus dentatus des Rhesusaffen eine etwas größere dendritische Länge pro Neuron aufweist als bei der Ratte. Diese Vergrößerung bleibt jedoch bei weitem hinter der projizierten Vergrößerung zurück und führt zu gebündelten/geclusterten Dendriten Bäumen. Diese „Verdichtung“ der Dendriten führt zu einem zwergartig Dendritenbaum und könnte zur höheren Verarbeitungskapazität und feineren motorischen Steuerung bei Primaten beitragen.

Die skalierte Vergleichsanalyse der dendritischen Länge pro Neuron hat gezeigt, dass die Zelldichte in den Kleinhirnkerne zwischen verschiedenen Spezies signifikant variiert, was auf spezialisierte Anpassungen an unterschiedliche motorische Anforderungen hinweist.

Die spezifischen Verzweigungsmuster der Dendriten im Primaten LN/ dentatus wurden mit mechanischen Spannungen und der resultierenden Faltung und Abflachung der grauen Materie in Verbindung gebracht. Diese morphologischen Anpassungen sind entscheidend für die effiziente Integration sensorischer und motorischer Signale.

Die komplexe dendritische Architektur ermöglicht eine erweiterte synaptische Konnektivität, die für die präzise zeitliche und räumliche Steuerung von Bewegungen notwendig sein könnte.

Diese Erkenntnisse könnten zum weiteren Verständnis der neuronalen Mechanismen beitragen, die der motorischen Kontrolle zugrunde liegen. Sie könnten verdeutlichen, wie strukturelle Anpassungen auf neuronaler Ebene die Funktion und Effizienz des cerebellären Netzwerks beeinflussen.

Die detaillierte Untersuchung der dendritischen Morphologie und der neuronalen Netzwerke in den Kleinhirnkernen kann helfen, die pathophysiologischen Mechanismen von Bewegungsstörungen wie Ataxie besser zu verstehen. Veränderungen in der dendritischen Struktur oder der synaptischen Konnektivität könnten zur Dysfunktion der cerebellären Netzwerke beitragen, die bei solchen Erkrankungen beobachtet wird.

Die Analyse der dendritischen Strukturen im Primaten LN/ dentatus legt nahe, dass die spezielle dendritische Architektur mechanische Spannungen reduziert und zur Abflachung und Faltung der grauen Materie beiträgt. Diese morphologischen Anpassungen sind wichtig für die effiziente Integration und Verarbeitung von sensorischen und motorischen Informationen. Eine Störung dieser Strukturen könnte die synaptische Konnektivität und somit die Funktionalität der cerebellären Netzwerke beeinträchtigen, was zu Bewegungsstörungen wie Ataxie führt.

Die komplexe Verzweigung der Dendriten ermöglicht eine erweiterte synaptische Konnektivität innerhalb der Kleinhirnerne. Diese Verbindungen sind entscheidend für die zeitliche und räumliche Präzision der motorischen Steuerung. Veränderungen oder Störungen in dieser dendritischen Struktur könnten zu einer fehlerhaften Signalverarbeitung und somit zu Bewegungsstörungen beitragen. Die Arbeit zeigt, dass eine reduzierte dendritische Länge oder abnormale Verzweigungsmuster die synaptische Effizienz beeinträchtigen könnten.

Die Untersuchung der dendritischen Morphologie im Kontext der entwicklungsbedingten Anpassungen bei verschiedenen Spezies gibt Hinweise,

wie spezialisierte neuronale Strukturen für spezifische motorische Anforderungen entwickelt wurden. Bei neurologischen Erkrankungen, die das Kleinhirn betreffen, könnten diese spezialisierten Strukturen durch pathologische Prozesse verändert werden. Ein tiefes Verständnis dieser Anpassungen ermöglicht es, die Auswirkungen solcher Veränderungen auf die neuronale Netzwerkfunktion und somit auf die Motorik zu untersuchen.

Die Nutzung quantitativer und populationsbasierter Methoden zur Untersuchung der dendritischen Strukturen liefert umfassende Daten über die Verteilung und Konnektivität von Neuronen. Diese Methoden ermöglichen es, systematische Veränderungen in der dendritischen Architektur zu erkennen, die mit Bewegungsstörungen in Verbindung stehen könnten. Solche detaillierten Analysen sind notwendig, um die Mechanismen hinter Erkrankungen wie Ataxie aufzuklären.

Bei neurodegenerativen Erkrankungen wie der spinocerebellären Ataxie (SCA) sind oft spezifische Neuronenpopulationen in den Kleinhirnkernen betroffen. Ein besseres Verständnis der dendritischen Struktur und ihrer funktionellen Bedeutung kann neue Ansatzpunkte für therapeutische Interventionen bieten, indem es ermöglicht, die frühen degenerativen Veränderungen zu erkennen und gezielt zu behandeln.

Die Untersuchung legt nahe, dass die dendritische Architektur im Primaten LN/dentatus mechanische Spannungen reduziert und zur strukturellen Integrität der grauen Materie beiträgt. Diese Anpassungen sind entscheidend für die effiziente neuronale Funktion. Bei SCA könnten frühe degenerative Veränderungen in diesen spezialisierten Strukturen zu einer Dysfunktion der neuronalen Netzwerke führen, was die Symptome der Ataxie erklärt. Ein detailliertes Verständnis dieser Anpassungen kann helfen, spezifische therapeutische Zielstrukturen zu identifizieren.

Die Arbeit hebt hervor, dass die dendritische Struktur eine wichtige Rolle bei der synaptischen Konnektivität und der Netzwerkeffizienz spielt. Neurodegenerative Erkrankungen wie SCA sind oft durch den Verlust oder die Dysfunktion von Synapsen gekennzeichnet. Das Verständnis der spezifischen dendritischen

Muster, die für eine effiziente synaptische Kommunikation erforderlich sind, kann dazu beitragen, frühe degenerative Veränderungen zu erkennen und gezielte Behandlungsstrategien zu entwickeln, um die Synapsenfunktion zu erhalten oder wiederherzustellen.

Die detaillierte Kenntnis der dendritischen Morphologie kann helfen, Biomarker für frühe degenerative Veränderungen zu identifizieren. Diese Biomarker könnten verwendet werden, um die Progression der Krankheit zu überwachen und die Wirksamkeit therapeutischer Interventionen zu bewerten. Darüber hinaus könnten therapeutische Ansätze entwickelt werden, die darauf abzielen, die dendritische Struktur und Funktion zu schützen oder zu regenerieren, um die Symptome der Ataxie zu lindern oder das Fortschreiten der Krankheit zu verlangsamen.

Durch die Anwendung quantitativer und populationsbasierter Methoden zur Untersuchung der dendritischen Strukturen liefert die Arbeit umfassende Daten, die systematische Veränderungen in der dendritischen Architektur aufzeigen können. Diese detaillierten Analysen sind notwendig, um die spezifischen neuronalen Populationen zu identifizieren, die bei SCA betroffen sind, und um die Mechanismen der Degeneration zu verstehen. Dieses Wissen kann direkt in die Entwicklung gezielter therapeutischer Ansätze einfließen.

Die Erkenntnisse über die Anpassungsfähigkeit der dendritischen Strukturen und ihre Rolle bei der synaptischen Plastizität können dazu beitragen, effektive Rehabilitationsstrategien zu entwickeln. Durch gezieltes Training und Stimulation könnten die plastischen Eigenschaften der Kleinhirnkerne genutzt werden, um die funktionelle Erholung nach cerebellären Läsionen zu fördern.

Die Untersuchung zeigt, dass die dendritische Länge und Struktur in den Kleinhirnkernen, insbesondere im Nucleus dentatus, variabel und anpassungsfähig ist. Diese strukturelle Flexibilität deutet auf eine hohe Kapazität für synaptische Plastizität hin, was bedeutet, dass die dendritischen Bäume in der Lage sind, sich an veränderte neuronale Aktivitätsmuster anzupassen. Diese Plastizität ist entscheidend für die Fähigkeit des Gehirns, auf Trainingsreize und

Stimulation zu reagieren, was eine Grundlage für die Entwicklung von Rehabilitationsstrategien bietet.

Die Arbeit betont die Bedeutung der dendritischen Struktur für die synaptische Konnektivität und die Effizienz neuronaler Netzwerke. Veränderungen in der synaptischen Stärke und Zahl sind zentrale Mechanismen der synaptischen Plastizität. Durch gezieltes Training und Stimulation könnten diese Mechanismen aktiviert werden, um die synaptische Konnektivität zu stärken und die funktionelle Erholung nach cerebellären Läsionen zu fördern. Die detaillierten Erkenntnisse über die dendritische Morphologie liefern wichtige Hinweise darauf, wie diese Prozesse gezielt moduliert werden können.

Die Erkenntnisse über die dendritische Plastizität und ihre funktionellen Auswirkungen bieten eine Grundlage für die Entwicklung neuer Rehabilitationsstrategien. Indem gezielte Übungen und Stimulationstechniken entwickelt werden, die die dendritische Anpassungsfähigkeit und synaptische Plastizität fördern, können die funktionellen Erholungsmöglichkeiten von Patienten mit cerebellären Läsionen verbessert werden. Diese Ansätze könnten beispielsweise spezifische motorische Trainingsprogramme oder neuartige neurostimulationstechniken umfassen, die darauf abzielen, die Plastizität der Kleinhirnkerne zu maximieren und die Erholung zu unterstützen.

Insgesamt zeigen diese Erkenntnisse, dass die strukturellen und funktionellen Eigenschaften der Kleinhirnkerne eine zentrale Rolle bei der motorischen Kontrolle und Koordination spielen. Ein tiefgehendes Verständnis dieser Mechanismen bietet neue Perspektiven für die Erforschung und Behandlung von neurologischen Erkrankungen, die das Kleinhirn betreffen.

5.3.2. Zukünftige Forschungsfragen

Zukünftige Studien sollten darauf abzielen, die molekularen Mechanismen zu erforschen, die die Entwicklung und Anpassung der dendritischen Strukturen beeinflussen. Darüber hinaus wäre eine Erweiterung der vergleichenden

Analysen auf weitere Spezies und Altersstufen sinnvoll, um die Entwicklungsdynamik der Kleinhirnkerne noch umfassender zu erfassen.

5.4. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Studie nicht nur zur Klärung der grundlegenden anatomischen Eigenschaften der Kleinhirnkerne beiträgt, sondern auch wichtige Erkenntnisse über die funktionelle Organisation des Kleinhirns liefert. Die Analyse der neuronalen Dichte, der Zellgrößenverteilung und der dendritischen Architektur bietet wertvolle Hinweise darauf, wie die Kleinhirnkerne zur Koordination und Feinabstimmung motorischer und kognitiver Prozesse beitragen. Zukünftige Forschungen könnten sich darauf konzentrieren, wie diese strukturellen Merkmale bei neurologischen Erkrankungen verändert sind, was neue Ansätze für therapeutische Interventionen ermöglichen könnte.

Insgesamt zeigt diese Arbeit, dass die Kleinhirnkerne nicht nur in ihrer Position und Struktur, sondern auch in ihrer Funktion hochdifferenziert und spezialisiert sind. Die populationsbasierten Analysen haben dabei entscheidend dazu beigetragen, die Komplexität und Vielfalt der dendritischen Morphologien zu erfassen und ihre Bedeutung für die neuronale Funktionalität zu beleuchten. Diese Erkenntnisse stellen einen wichtigen Schritt hin zu einem tiefergehenden Verständnis der cerebellären Neurobiologie dar und eröffnen neue Perspektiven für die Erforschung und Behandlung cerebellärer Dysfunktionen.

6. Literaturverzeichnis

- Aizenman, C. D., & Linden, D. J. (1999). Regulation of the rebound depolarization and spontaneous firing patterns of deep nuclear neurons in slices of rat cerebellum. *J Neurophysiol*, 82(4), 1697-1709.
<https://doi.org/10.1152/jn.1999.82.4.1697>
- Azevedo, F. A. C., Carvalho, L. R. B., Grinberg, L. T., Farfel, J. M., Ferretti, R. E. L., Leite, R. E. P., Filho, W. J., Lent, R., & Herculano-Houzel, S. (2009). Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *Journal of Comparative Neurology*, 513(5), 532-541.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cne.21974>
- Bähr, M., Frotscher, M., Küker, W., & Duus, P. (2003). *Duus' neurologisch-topische Diagnostik Anatomie, Funktion, Klinik* (8., komplett überarb. Aufl. ed.). Thieme. <http://www.gbv.de/dms/hebis-mainz/toc/114486271.pdf>
- Beck, H., Anastasiadou, S., & Meyer zu Reckendorf, C. (2018). *Faszinierendes Gehirn eine bebilderte Reise in die Welt der Nervenzellen* (2., erweiterte und überarbeitete Auflage ed.). Springer Spektrum.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-54756-4>
<http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-54756-4>
<https://swbplus.bsz-bw.de/bsz496904310cov.jpg>
- Bioscience, M. (2011). *Stereo Investigator Users Guide Version 10*
https://www.mbfbioscience.com/help/stereo_investigator_vault/si10.pdf
- Bock, J., & Braun, K. (2011). Chapter 9 - The impact of perinatal stress on the functional maturation of prefronto-cortical synaptic circuits: Implications for the pathophysiology of ADHD? In O. Braddick, J. Atkinson, & G. M. Innocenti (Eds.), *Progress in Brain Research* (Vol. 189, pp. 155-169). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53884-0.00023-3>
- Braitenberg, V. (2001). Brain Size and Number of Neurons: An Exercise in Synthetic Neuroanatomy. *Journal of Computational Neuroscience*, 10(1), 71-77. <https://doi.org/10.1023/A:1008920127052>
- Braitenberg, V., & Schüz, A. (1991). *Anatomy of the cortex statistics and geometry*. Springer.

- Bröse, S. A., van den Höfel, N., & Antwerpes, F. (2024). *Kleinhirnkern*. DocChec. Retrieved 25.11.2024 from <https://flexikon.doccheck.com/de/Kleinhirnkern>
- Chan-Palay, V. (1977). *Cerebellar dentate nucleus organization, cytology and transmitters*. Springer.
- Clark, D. A., Mitra, P. P., & Wang, S. S. (2001). Scalable architecture in mammalian brains. *Nature*, 411(6834), 189-193. <https://doi.org/10.1038/35075564>
- De Zeeuw, C. I., Hoebeek, F. E., Bosman, L. W., Schonewille, M., Witter, L., & Koekkoek, S. K. (2011). Spatiotemporal firing patterns in the cerebellum. *Nat Rev Neurosci*, 12(6), 327-344. <https://doi.org/10.1038/nrn3011>
- Donner, A., & Zou, G. (2012). Closed-form confidence intervals for functions of the normal mean and standard deviation. *Statistical Methods in Medical Research*, 21(4), 347-359. <https://doi.org/10.1177/0962280210383082>
- Duch, C., & Ryglewski, S. (2016). Struktur und Funktion neuronaler Dendriten. *e-Neuroforum*, 22(4), 110-123. <https://doi.org/doi:10.1515/s12269-016-0054-4>
- Flourens, P. (1842). *Recherches experimentales sur les proprietes et les fonctions du systeme nerveux dans les animaux vertebres*.
- Fouard, C., Malandain, G., Prohaska, S., & Westerhoff, M. (2006). Blockwise processing applied to brain micro-vascular network study. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 25(10), 1319-1328. <https://opus4.kobv.de/opus4-zib/frontdoor/index/index/docId/3834>
- Graf von Westphalen, G., Antwerpes, F., & Reh, F. (2024). *Nervenzelle*. DocCheck. Retrieved 25.11.2024 from <https://flexikon.doccheck.com/de/Nervenzelle>
- Grimaldi, G., & Manto, M. (2012). *Mechanisms and emerging therapies in tremor disorders*. Springer. <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10593570>
<http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=994594>
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/kxp/detail.action?docID=994594>
- Hamodeh, S., Baizer, J., Sugihara, I., & Sultan, F. (2014). Systematic analysis of neuronal wiring of the rodent deep cerebellar nuclei reveals differences reflecting adaptations at the neuronal circuit and internuclear

- levels. *J Comp Neurol*, 522(11), 2481-2497.
<https://doi.org/10.1002/cne.23545>
- Hamodeh, S., Bozkurt, A., Mao, H., & Sultan, F. (2017). Uncovering specific changes in network wiring underlying the primate cerebrotype. *Brain Structure and Function*, 222(7), 3255-3266.
<https://doi.org/10.1007/s00429-017-1402-6>
- Haug, H. (1970). Quantitative Data in Neuroanatomy**This work was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft. In J. P. Schadé & J. Smith (Eds.), *Progress in Brain Research* (Vol. 33, pp. 113-127). Elsevier.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)62446-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)62446-2)
- Herschkowitz, N. (2010). *Das Gehirn Wissen, was stimmt* (4. Aufl., Orig.-Ausg. ed.). Herder.
- Jörntell, H. (2017). Cerebellar physiology: links between microcircuitry properties and sensorimotor functions. *J Physiol*, 595(1), 11-27.
<https://doi.org/10.1113/jp272769>
- Koch, C., Poggio, T., & Torre, V. (1983). Nonlinear interactions in a dendritic tree: localization, timing, and role in information processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80(9), 2799-2802.
<https://doi.org/10.1073/pnas.80.9.2799>
- Koenitz, A., Ostendorf, N., & Antwerpes, F. (2024). *Gliazellen*. DocCheck. Retrieved 25.11.2024 from <https://flexikon.doccheck.com/de/Gliazelle>
- Kowalski, A., & Enck, P. (2010). Statistische Methoden bei Mehrfachtestung - die Bonferroni-Korrektur. *PPmP - Psychotherapie · Psychosomatik · Medizinische Psychologie*, 60, 286-287.
- Kraus, M., Angerbauer, K., Buchmüller, J., Schweitzer, D., Keim, D. A., Sedlmair, M., & Fuchs, J. (2020). *Assessing 2D and 3D Heatmaps for Comparative Analysis: An Empirical Study* Proceedings of the 2020 CHI Conference on Human Factors in Computing Systems, Honolulu, HI, USA. <https://doi.org/10.1145/3313831.3376675>
- Linkenheld, C. (2001). Die Köhlersche Beleuchtung am Mikroskop einstellen.
<http://www.mikroskopie.de/kurse/koehlerpraxis.htm>
- Llinás, R., & Mühlethaler, M. (1988). Electrophysiology of guinea-pig cerebellar nuclear cells in the in vitro brain stem-cerebellar preparation. *J Physiol*, 404, 241-258. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017288>

- Meinhardt, J., Urhahne, D. e., Dresel, M. e., & Fischer, F. e. (2019). *Gehirn und Lernen*. https://doi.org/10.1007/978-3-662-55754-9_5
- Morton, S. M., & Bastian, A. J. (2004). Cerebellar control of balance and locomotion. *Neuroscientist*, 10(3), 247-259. <https://doi.org/10.1177/1073858404263517>
- Paulsen, M., Rueda-Ordonez, D., & Paulsen, M. (2023). Grundlagen moderner Methoden in der Durchflusszytometrie: Hochparametrische Phänotypisierung von Zellen und Geweben mittels klassischer Durchflusszytometrie und antikörper- sowie DNA/RNA basierter Sequenzierung. In (pp. 251-284). https://doi.org/10.1007/978-3-662-62671-9_13
- Paxinos, G., Huang, X.-F., & Toga, A. W. (2000). *The rhesus monkey brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press. http://digitale-objekte.hbz-nrw.de/webclient/DeliveryManager?pid=1014205&custom_att_2=simpleviewer
- Ramón-Moliner, E., & Nauta, W. J. (1966). The isodendritic core of the brain stem. *J Comp Neurol*, 126(3), 311-335. <https://doi.org/10.1002/cne.901260301>
- Rasch, B., Friese, M., Hofmann, W., & Naumann, E. (2021). Der t-Test. In (pp. 35-86). https://doi.org/10.1007/978-3-662-63282-6_3
- Reimer, K. (2009). Bootstrapping und andere Resampling-Methoden. In S. Albers, D. Klapper, U. Konradt, A. Walter, & J. Wolf (Eds.), *Methodik der empirischen Forschung* (pp. 521-536). Gabler Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-322-96406-9_33
- Rushton, J. P. (1995). *Race, evolution, and behavior a life history perspective* (2. print. ed.). Transaction Publishers. <http://www.gbv.de/dms/hbz/toc/ht006548614.pdf>
- Schüz, A., Sultan, F., Squire, L., Albright, T., Bloom, F., Gage, F., & Spitzer, N. (2009). Brain Connectivity and Brain Size. *Encyclopedia of Neuroscience*, 317-326 (2009), 2.
- Shardt, Y. A. W., Gattermann, C., & Springer-Verlag GmbH. (2023). *Probleme der Statistik und Prozessanalyse mit Matlab lösen ein praktischer Ratgeber zum Buch "Methoden der Statistik und Prozessanalyse"*. Springer Vieweg. http://deposit.dnb.de/cgi-bin/dokserv?id=0ce0d225c2e143c8b2a4d60216188388&prov=M&dok_var=1&dok_ext=htm

<https://link.springer.com/978-3-662-67535-9>
<https://d-nb.info/1288532911/04>

Sultan, F., Czubayko, U., & Thier, P. (2003). Morphological classification of the rat lateral cerebellar nuclear neurons by principal component analysis. *J Comp Neurol*, 455(2), 139-155. <https://doi.org/10.1002/cne.10443>

Sultan, F., Hamodeh, S., & Baizer, J. S. (2010). The human dentate nucleus: a complex shape untangled. *Neuroscience*, 167(4), 965-968. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.007>

Trepel, M., & Elsevier GmbH. (2017). *Neuroanatomie Struktur und Funktion* (7. Auflage ed.). Elsevier. <http://d-nb.info/113872310x/04>

Urhahne, D., Dresel, M., & Fischer, F. (2019). *Psychologie für den Lehrberuf*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-55754-9>
<http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-55754-9>
<https://swbplus.bsz-bw.de/bsz518426696cov.jpg>

Watson, C., Provis, J., & Herculano-Houzel, S. (2012). What determines motor neuron number? Slow scaling of facial motor neuron numbers with body mass in marsupials and primates. *Anat Rec (Hoboken)*, 295(10), 1683-1691. <https://doi.org/10.1002/ar.22547>

7. Erklärungen zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Hertie-Institut für klinische Hirnforschung in der Abteilung für Kognitive Neurologie unter Betreuung von Prof. Dr. Fahad Sultan durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn Prof. Dr. Sultan in Zusammenarbeit mit Herrn Salah Hamodeh und Haian Mao und meiner Persönlichkeit.

Die Versuche wurden (nach Einarbeitung durch Labormitglied Salah Hamodeh und Prof. Dr. Fahad Sultan) von mir in Zusammenarbeit mit Salah Hamodeh und Haian Mao, mit Unterstützung durch Prof. Dr. Fahad Sultan bewerkstelligt. Die Histologie wurde durch Salah Hamodeh und Haian Mao erarbeitet. Die Tierversuche wurden von Salah Hamodeh durchgeführt.

Die mikroskopische Datenerhebung, die stereologische Erfassung der Zellzahlen zur Auswertung der Präparate erfolgte durch mich. Die statistische Auswertung und Analyse der Daten erfolgte durch Prof. Dr. Fahad Sultan.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Prof. Dr. Fahad Sultan verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 24.09.2024

[Unterschrift]

Ayse Öksüz (geb. Bozkurt)

8. Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Hamodeh, S., Bozkurt, A., Mao, H., & Sultan, F. (2017). Uncovering specific changes in network wiring underlying the primate cerebrotype. *Brain Structure and Function*, 222(7), 3255-3266.
<https://doi.org/10.1007/s00429-017-1402-6>

Danksagung

Insbesondere möchte ich meinem Doktorvater, Prof. Dr. Fahad Sultan für die geduldige und freundliche Betreuung der Arbeit und die Unterstützung vom Beginn der experimentellen Phase bis zur Fertigstellung der Dissertation danken.

Nicht zuletzt möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie, meiner Tochter, meinem Mann, meinen Eltern und Geschwistern bedanken, die mich bei allen Entscheidungen auf meinem Weg immer unterstützen und mir während allen Höhen und Tiefen des Lebens zur Seite stehen und ihr Vertrauen schenken.