

Multimodale Kartierung und Funktion des Sulcus frontalis inferior des menschlichen Gehirns

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Sabine Helene Bradler

aus Dormagen

Düsseldorf, Juli 2014

aus dem Institut für Neurowissenschaften und Medizin (INM-1)
des Forschungszentrums Jülich GmbH

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Katrin Amunts
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Christine Rose

Tag der mündlichen Prüfung: 08.12.2014

meinen Eltern gewidmet

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Poster „Receptorarchitectonic mapping of four new areas in the inferior frontal sulcus of the human brain“ bei der 19. Konferenz der Organization for Human Brain Mapping (OHBM) in Peking am 10.-14.06.2012

Vortrag „Rezeptorarchitektonische Kartierung vier neuer Areale im Sulcus frontalis inferior des menschlichen Gehirns“ bei der 29. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft in Würzburg am 26.-28.10.2012

Poster „Multimodal mapping of the inferior frontal sulcus and inferior frontal junction of the human brain“ bei der 20. Konferenz der Organization for Human Brain Mapping (OHBM) in Hamburg am 8.-12.06.2014

Das Manuskript „Multimodal mapping and function of the inferior frontal sulcus and junction area of the human brain“ wird in Kürze bei Nature Neuroscience submitted.

Danksagung

Ganz besonders möchte ich mich an dieser Stelle bei meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Katrin Amunts, für die Vergabe dieses spannenden Promotionsthemas sowie für ihre ständige Betreuung und Förderung wie die Teilnahme an verschiedenen Förderprogrammen bedanken.

Weiterhin danke ich Frau Prof. Dr. Christine Rose, dass sie sich nach der Betreuung meiner Diplomarbeit weiterhin bereit erklärt hat meine Doktorarbeit als Zweitbetreuerin zu begleiten.

Mein großer Dank gilt meiner Büropartnerin Dr. Nicola Palomero-Gallagher, für die Unterstützung bei methodischen Problemen und den zahlreichen wissenschaftlichen Diskussionen.

Zudem danke ich Prof. Dr. Karl Zilles für die hilfreichen Anregungen vor allem zu den rezeptorautoradiographischen Ergebnissen.

Prof. Dr. Simon Eickhoff und Dr. Felix Hoffsteadter danke ich für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der funktionellen Metaanalyse sowie Hartmut Mohlberg für die Berechnung der Wahrscheinlichkeitskarten.

Für die technische Unterstützung möchte ich mich recht herzlich bei René Hübbers und dem Laborteam aus Jessica Teske-Bausch, Sabrina Buller, Markus Cremer und Ferdag Kocaer bedanken.

Mein größter Dank gebührt meinen Eltern, Erika und Ulrich Bradler, für ihre immerwährende, vor allem emotionale Unterstützung in allen Lebenslagen.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Lokalisation und Funktion des Sulcus frontalis inferior	1
1.2 Klassische Hirnkarten und die moderne Betrachter-unabhängige Kartierungsmethode ..	3
1.3 Die rezeptorarchitektonische Kartierung	5
1.4 Ziel der Arbeit	6
2 Material und Methoden	8
2.1 Rezeptorarchitektur - Quantitative in-vitro Rezeptorautoradiographie	8
2.1.1 Herstellung der Hirnschnitte.....	8
2.1.2 Bindungsprotokoll	9
2.1.3 Erstellung der Rezeptorautoradiogramme	11
2.2 Zytoarchitektur – Nissl-Färbung	13
2.2.1 Herstellung der Hirnschnitte und Zellkörperfärbung	13
2.2.2 Bestimmung der Zellkörperdichte (Grey Level Index, GLI)	14
2.3 Betrachter-unabhängige Grenzbestimmung.....	16
2.4. Mittlere und laminäre Zellkörper- und Rezeptordichten.....	17
2.4.1 Hierarchische Clusteranalyse	19
2.5 3D-Rekonstruktion und Auftrittswahrscheinlichkeitskarten.....	19
2.5.1 3D-Rekonstruktion und Anpassung an das Referenzgehirn.....	19
2.5.2 Berechnung der Auftrittswahrscheinlichkeiten	20
2.5.3 Berechnung der Volumina.....	21
2.6 Funktionelle Metaanalyse	21
2.6.1 BrainMap Datenbank.....	21
2.6.2 Funktionelle Charakterisierung	22
2.6.3 Metaanalytische Konnektivitätsmodellierung.....	22
3 Ergebnisse	24
3.1 Rezeptorarchitektur	24
3.1.1 Rezeptorarchitektonische Grenzen	24

3.1.2 Anordnung der Areale <i>ifs1</i> bis <i>ifs4</i> , <i>iff1</i> und <i>iff2</i> innerhalb des IFS und der IFJ	26
3.1.3 Rezeptorarchitektonische Charakteristika der <i>ifs</i> - und <i>iff</i> -Areale	28
3.2. Zytoarchitektur	34
3.2.1 Abgrenzung der <i>ifs</i> - und <i>iff</i> -Areale von Nachbararealen.....	34
3.2.2 Zytoarchitektonische Charakteristika der <i>ifs</i> - und <i>iff</i> -Areale	36
3.3 Hierarchische Clusteranalyse	38
3.4 Auftrittswahrscheinlichkeitskarten und Volumina	39
3.5 Interhemisphärische Unterschiede	41
3.6 Funktionelle Metaanalyse	42
3.6.1 Funktionen der Areale <i>ifs1</i> bis <i>ifs4</i> , <i>iff1</i> und <i>iff2</i>	43
3.6.2 Konnektivität der Areale <i>ifs1</i> bis <i>ifs4</i> , <i>iff1</i> und <i>iff2</i> mit anderen Hirnregionen ...	44
4 Diskussion	52
5 Zusammenfassung	59
Literatur	61

1 Einleitung

1.1 Lokalisation und Funktion des Sulcus frontalis inferior

Der menschliche präfrontale Kortex weist im Vergleich mit anderen Spezies die höchste Entwicklungsstufe auf und gilt als das anatomische Korrelat des Bewusst- und Selbstbewusstsein, der Fähigkeit zur Entwicklung von Konzepten und Perspektiven als Antwort auf geänderte Umweltbedingungen und der Steuerung sozialer Interaktionen wie die verbale Kommunikation (Karnath 2012).

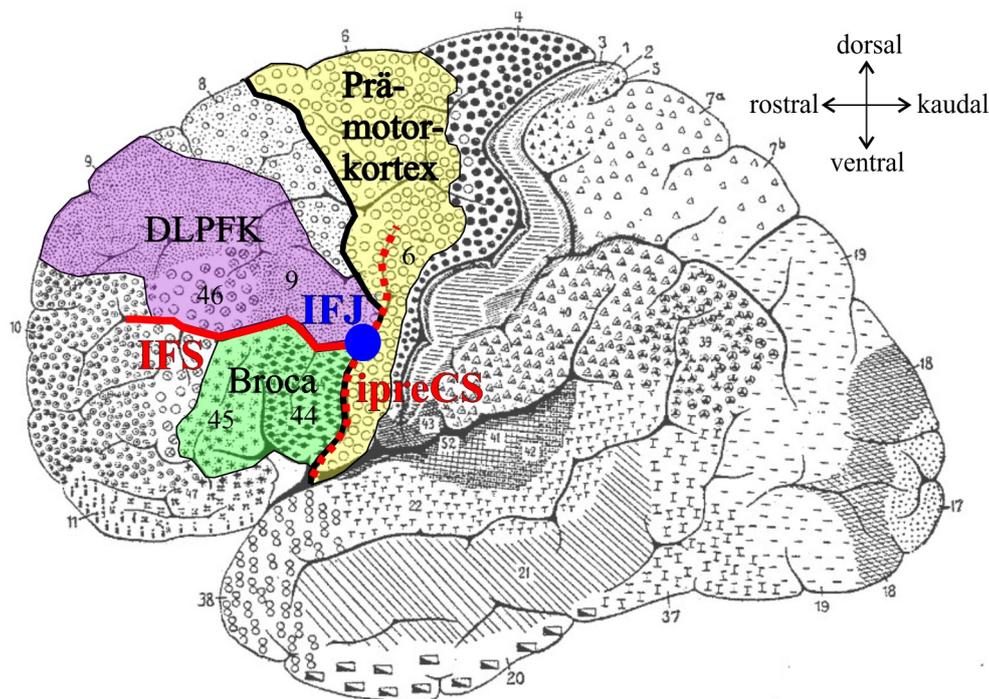


Abbildung 1: An den Sulcus frontalis inferior angrenzende funktionelle Domänen und zytoarchitektonische Brodmann-Areale. Die Hirnkarte nach Brodmann (1909) wurde um die an den Sulcus frontal inferior angrenzenden funktionellen Domänen erweitert. Die 52 Brodmann-Areale sind mit Nummern gekennzeichnet. Die kaudale Grenze des präfrontalen Kortex ist durch die dicke, schwarze Linie markiert. IFS (inferior frontal sulcus), Sulcus frontalis inferior; ipreCS (inferior precentral sulcus), Sulcus precentralis inferior; IFJ (inferior frontal junction), Verbindung von IFS und ipreCS; DLPFK, dorsolateraler präfrontaler Kortex.

Als präfrontaler Kortex wird der vorderste Teil des Frontallappens bezeichnet, welcher kaudal durch den Prämotorkortex, der für die Steuerung von Bewegungen zuständig ist, begrenzt wird. Dieser lässt sich zum einen in funktionelle Domänen und zum anderen in strukturelle Kortexareale untergliedern. Der Sulcus frontalis inferior (IFS), der in rostrokaudaler Orientierung durch den präfrontalen Kortex verläuft, galt lange lediglich als

1 Einleitung

makroanatomische Grenze zwischen zwei funktionell unterschiedlichen Domänen, nämlich dem ventrolateralen und dorsolateralen präfrontalen Kortex, (VLPFK und DLPFK, Karnath 2012, Abb. 1). Der VLPFK wird seit der Entdeckung der Broca-Region mit der motorischen Sprachverarbeitung assoziiert. Paul Broca beobachtete bereits 1861 das Auftreten eines Sprachverlusts (Aphasie) bei einem Patienten mit einer Hirnläsion im linken unteren Frontallappen bei einem intakten Sprachverständnis und postulierte diese Hirnregion als das Zentrum der Sprachproduktion (Broca 1861). Dagegen wird der DLPFK mit für die Handlungsplanung wichtigen Exekutivfunktionen wie z.B. dem Arbeitsgedächtnis in Zusammenhang gebracht (Levy 2000). Das Arbeitsgedächtnis, auch oft als Kurzzeitgedächtnis bezeichnet, „beinhaltet die kurzfristige und unmittelbare Speicherung von Information, die nicht mehr perzeptuell in der Umwelt verfügbar ist, sowie deren aktive Manipulation“ (Schneider 2007). Die Brodmann-Areale 45 und 44 sowie 46 und 9 der berühmten Hirnkarte des Neuroanatomen Korbinian Brodmann (Brodmann 1909, Abb. 1) gelten als die strukturellen Korrelate der Broca-Region (Amunts 1999) und des DLPFK (Toga 2000). Brodmanns Hirnkarte ist bis heute die Standardreferenz für die Lokalisation von Hirnaktivierungen, die mittels moderner funktioneller Studien wie der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) detektiert werden. Seine Kartierung der menschlichen Großhirnrinde in 52 Areale basiert auf der Größe, Form und Dichte der Zellen in den verschiedenen Schichten des zerebralen Kortex (Zytoarchitektur, Abb. 2C).

Der Auffassung eines „funktionslosen“ IFS, der lediglich als makroanatomische Landmarke die Broca-Region und den DLPFK separiert, wirken neueste funktionelle Studien entgegen, die distinkte Aktivierungen in der Tiefe dieses Sulcus berichten und damit auf die Existenz mehrerer Areale hinweisen. Während einer fMRT-Studie zum verbalen Arbeitsgedächtnis wurden drei distinkte Aktivierungen identifiziert, die in einer rostrokaudalen Orientierung innerhalb des IFS angeordnet waren (Makuuchi 2009). Dazu wurden den Probanden lange Sätze präsentiert, bei denen die sinngemäß zusammengehörigen Nebensätze ungewöhnlich weit auseinander gestellt wurden. Zum Verständnis des Satzes mussten die dafür wichtigen Wörter im Gedächtnis gehalten, andere jedoch kurzzeitig in den Hintergrund gedrängt werden. Eine weitere funktionelle Aktivierung beschrieben Brass und Derrfuss in der Verbindungsregion des IFS mit dem dorsoventral orientierten ipreCS (Sulcus precentralis inferior), die an kognitiver Kontrolle, genauer an der Verarbeitung von Aufgabenwechseln beteiligt war (Brass 2002, 2004; Derrfuss 2004, 2009). Diese aktivierte Hirnregion nannten sie IFJ (inferior frontal junction area, Abb. 1), in Anlehnung an ihre anatomische

Lokalisation. Die strukturellen Areale, denen diese Aktivierungen zugrunde liegen sind bisher weitgehend unbekannt. Selbst Brodmanns Hirnkarte beinhaltet keine Information über die Lage von Arealen oder Arealgrenzen in der Tiefe von Sulci (Brodmann 1909). Hinweise auf die Existenz distinkter Areale im IFS gibt jedoch eine zyto- und rezeptorarchitektonische Pilotstudie von Amunts et al. (Amunts 2010). Eine systematische Kartierung dieser komplexen Hirnregion steht jedoch weiterhin aus.

1.2 Klassische Hirnkarten und die moderne Betrachter-unabhängige Kartierungsmethode

Bereits im 20. Jahrhundert wurden die klassischen Hirnkarten zur Aufklärung der mikroanatomischen Struktur des menschlichen Gehirns entwickelt. Die Unterteilung der Großhirnrinde in kortikale Areale basierte auf Unterschieden in der Zytoarchitektur (Abb. 2C) sowie der Anordnung der myelinisierten Nervenfasern (Myeloarchitektur). Neben der bereits erwähnten Hirnkarte von Brodmann (1909, Abb. 1) sind die Karten von Vogt und Vogt (1919), von Economo und Koskinas (1925, Abb. 2A) und Sarkissov (1955, Abb. 2B) die bedeutendsten klassischen Hirnkarten. Die einzelnen Hirnkarten weisen jedoch erhebliche Unterschiede in der Anzahl, Lage und Ausbreitung der beschriebenen kortikalen Areale auf, welche auf methodische Limitationen zurückzuführen sind. Zum einen basieren die Kartierungen auf Untersuchungen von nur ein bis zwei Gehirnen, wodurch die Variabilität zwischen den Individuen völlig vernachlässigt wurde. Zum anderen wählten die verschiedenen Autoren rein subjektive Kriterien zur Abgrenzung der kortikalen Areale, ohne jeglichen objektiven Nachweis. Ein weiteres Defizit der Hirnkarten ist das bereits in 1.1 angesprochene Fehlen von Arealgrenzen oder Arealen in den Sulci, obwohl die Kortexoberfläche in den Sulci doch immerhin ein Drittel der Gesamtoberfläche einnimmt (Zilles 1988). Zur Lösung der genannten Probleme der klassischen Hirnkarten wurde eine Methode entwickelt, die es ermöglicht, einen dreidimensionalen Atlas des menschlichen Gehirns zu erstellen (Amunts 2007, Zilles 2002b), der auf einer Betrachter-unabhängigen zytoarchitektonischen Kartierung von zehn individuellen Gehirnen basiert. Die Grenzen zwischen den kortikalen Arealen werden in digitalisierten zellkörper-gefärbten Hirnschnitten mittels eines Computer-Algorithmus bestimmt, welcher signifikante Änderungen der Zellpackungsdichten in den einzelnen Kortexschichten erkennt (Schleicher 1999, 2000). Die Gehirne und kartierten Areale werden 3D-rekonstruiert, auf ein Referenzgehirn angepasst und

1 Einleitung

überlagert. Auf diese Weise wird eine Auftrittswahrscheinlichkeitskarte jedes kortikalen Arealen in diesem Referenzgehirn generiert, die angibt, wie wahrscheinlich es ist, dieses Areal an einer bestimmten Position im Referenzgehirn zu finden (Mohlberg 2012). Somit repräsentieren diese Karten nicht nur die Lage und Ausbreitung der Areale, die für die Lokalisation von Aktivierungen in funktionellen Studien genutzt werden können, sondern verdeutlichen ebenfalls den Grad der interindividuellen Variabilität dieser Hirnregion. Mittels der Betrachter-unabhängigen zytoarchitektonischen Kartierungsmethode konnten bereits 60% des Gehirns in ca. 100 zytoarchitektonische Gyrus- und Sulcus-Areale unterteilt und im JuBrain Atlas (<https://www.jubrain.fz-juelich.de>) der wissenschaftlichen Gemeinschaft zur Verfügung gestellt werden. Dieser Atlas soll als neue Quelle zur Identifikation der strukturellen Korrelate funktioneller Aktivierungen genutzt werden und die Hirnkarte von Brodmann Stück für Stück ersetzen.

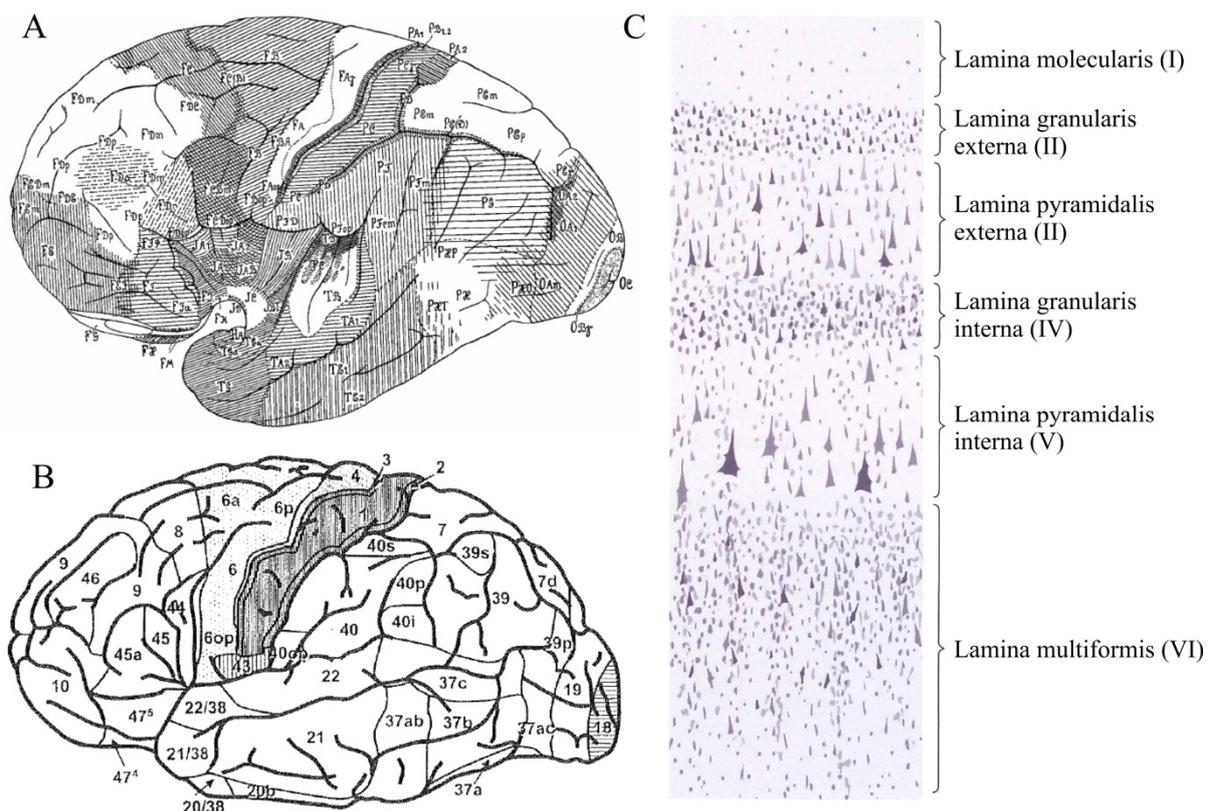


Abbildung 2: Klassische Hirnkarten (A) Lateralansicht der Hirnkarte von Economo und Koskinas (1925). (B) Hirnkarte von Sarkissov (1955). (C) Histologischer Aufbau des Kortex (Zytoarchitektur). In dieser schematischen Zeichnung eines zellkörper-gefärbten Schnitts werden die sechs Kortexschichten (Laminae I-VI) sichtbar, die durch die unterschiedlichen Packungsdichten der verschiedenen Zelltypen wie Körner- und Pyramidenzellen charakterisiert sind (Schünke 2009).

1.3 Die rezeptorarchitektonische Kartierung

Die Kartierung des zerebralen Kortex auf Grundlage der regionalen Verteilung von funktionalen Neurotransmitterrezeptoren wurde innerhalb des letzten Jahrzehnts zu einer vielversprechenden Methode, um neben der zytoarchitektonischen Kartierung funktionell relevante Parzellierungen des menschlichen Gehirns aufzudecken (Zilles 2009). Denn Neurotransmitterrezeptoren stehen als Mediatoren der Informationsübertragung zwischen den Nervenzellen in direktem Zusammenhang mit der Hirnfunktion. Durch ein Aktionspotential werden Transmitter aus dem präsynaptischen Neuron in den synaptischen Spalt entlassen, die nicht-kovalent an spezifische Rezeptoren binden und somit die Grundlage der Erregungsübertragung (Neurotransmission) bilden. Je nach Rezeptortyp kann ein Neurotransmitter inhibitorisch (hemmend) oder exzitatorisch (erregend) wirken. Dabei unterscheidet man ionotrope und metabotrope Rezeptoren. Ionotrope Rezeptoren enthalten Ionenkanäle, die nach der Bindung eines Transmitters die Konformation ändern und für bestimmte Ionen durchgängig werden. Die metabotropen Rezeptoren sind über G-Proteine mit Second-messenger-Systemen gekoppelt. Der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter ist Glutamat. Dieser bindet an ionotrope AMPA-, Kainat-, NMDA- und metabotrope Rezeptoren. AMPA- und Kainat-Rezeptoren sind unspezifische Kationenkanäle (vor allem permeabel für Kalium und Natrium), die eine schnelle Depolarisation hervorrufen. Diese „Vorpolarisation“ und die Bindung von Glutamat bedingt eine Konformationsänderung des NMDA-Rezeptors, einen Kationenkanal mit hoher Ca^{2+} -Leitfähigkeit, der eine noch stärkere Depolarisation auslöst. Die metabotropen Glutamatrezeptoren (z.B. mGlu2/3-Rezeptoren) öffnen indirekt über Signalkaskaden nicht-ligandengesteuerte Ionenkanäle. Der wichtigste inhibitorische Transmitter ist die γ -Aminobuttersäure (GABA). Die Bindung an den GABA_A -Rezeptor öffnet den integrierten Chloridionenkanal für einen kurzen Zeitraum. Der metabotrope GABA_B -Rezeptor verringert die Leitfähigkeit der Membran für Calciumionen und bewirkt durch die Öffnung von Kaliumkanälen eine Hyperpolarisation. Benzodiazepine können an die GABA_A -Rezeptoren binden und damit die Affinität zu GABA erhöhen. Die Acetylcholinrezeptoren werden anhand der spezifischen Bindung der Agonisten Nikotin und Muskarin in nikotinische und muskarinische Acetylcholinrezeptoren unterteilt. Nikotinische Acetylcholinrezeptoren sind Ionenkanäle und wirken meist exzitatorisch. Dagegen sind die muskarinischen Acetylcholinrezeptoren G-Protein gekoppelt. Weitere für das zentrale Nervensystem wichtige und G-Protein gekoppelte Rezeptoren sind die Adrenalin (α_1 , α_2)-, Serotonin- (5-HT_{1A} , 5-HT_2), Adenosin (A_1)- und die vor allem im präfrontalen Kortex

1 Einleitung

wichtigen Dopamin (D₁)-Rezeptoren. (Schneider 2007). Aufgrund von Unterschieden in der Verteilung der genannten Rezeptoren über den Kortexquerschnitt wurden bereits einige Hirnregionen in verschiedene rezeptoarchitektonische Areale eingeteilt (z.B. Amunts 2010, Caspers S 2013, Geyer 1997, Morosan 2005, Palomero-Gallagher 2009). Grenzen zwischen Arealen wurden entsprechend der zytoarchitektonischen Kartierung mittels einer Betrachter-unabhängigen Grenzfindungsmethode bestätigt. Die rezeptoarchitektonischen Grenzen bestätigten nicht nur die zytoarchitektonisch definierten Grenzen, sondern erlauben eine noch detailliertere Parzellierung der zytoarchitektonischen Areale durch die Definition weiterer unbekannter rezeptoarchitektonischer Arealgrenzen. Zudem gibt die Rezeptorarchitektur Hinweise auf die funktionelle Verwandtschaft von Arealen. Denn Hirnregionen mit ähnlichen Rezeptorverteilungen führen ähnliche Funktionen aus (Amunts 2010, Zilles 2009). Mittels der rezeptoarchitektonischen Kartierungsmethode konnten bereits die zytoarchitektonischen Areale 44 und 45 in jeweils zwei rezeptoarchitektonische Areale, 44d und 44v (44 dorsal und ventral) sowie 45a und 45p (45 anterior und posterior), weiter unterteilt werden. In dieser Arbeit weisen die Autoren weiterhin darauf hin, dass innerhalb des IFS, in der Nachbarschaft zu den Arealen 44 und 45, mehrere rezeptoarchitektonisch distinkte Areale zu finden sind.

1.4 Ziel dieser Arbeit

Die funktionellen Aktivierungen innerhalb des IFS und der IFJ bei fMRT-Studien zum verbalen Arbeitsgedächtnis und der kognitiven Kontrolle weisen auf die Existenz kortikaler Areale in diesen Regionen hin. Zudem zeigten bereits Amunts et al. (2010) in einer Pilotstudie, dass im IFS mehrere strukturell unterschiedliche Areale zu finden sind. Ziel dieser Arbeit ist es deshalb die strukturelle Organisation des IFS mittels der Betrachter-unabhängigen zyto- und rezeptoarchitektonischen Kartierungsmethoden systematisch und an Serienschnitten mehrerer Gehirne zu untersuchen und vollständig zu kartieren. Die laminären Rezeptor- und Zelldichten dieser neu kartierten Areale sollen in einer Clusteranalyse Hinweise auf die funktionellen Verwandtschaftsbeziehungen der Areale untereinander und zu den benachbarten Hirnregionen geben. Die Lage, Ausbreitung und interindividuelle Variabilität der zytoarchitektonisch kartierten Areale soll anhand von Auftrittswahrscheinlichkeitskarten visualisiert werden, die als Referenz für die Lokalisation von funktionellen Aktivierungen in dieser Region dienen sollen. Zuletzt sollen mittels einer

Metaanalyse funktionell bildgebender Studien die Funktionen der Areale sowie deren Konnektivität mit anderen Hirnregionen untersucht werden.

2 Material und Methoden

Der Sulcus frontalis inferior (IFS, inferior frontal sulcus) und die Verbindung zwischen dem Sulcus frontalis inferior und dem Sulcus precentralis inferior (IFJ, inferior frontal junction) wurden sowohl rezeptorarchitektonisch mittels quantitativer in-vitro Rezeptorautoradiographie, als auch zytoarchitektonisch (Nissl-Zellkörperfärbung) kartiert. Die in den 10 Gehirnen zytoarchitektonisch kartierten Areale wurden 3D-rekonstruiert, auf ein Referenzgehirn projiziert und die Auftrittswahrscheinlichkeiten in jedem Voxel berechnet. Zum Schluss wurden mittels einer Metaanalyse die Funktionen jedes Areals und die dabei koaktivierten Hirnareale identifiziert.

2.1 Rezeptorarchitektur - Quantitative in-vitro Rezeptorautoradiographie

2.1.1 Herstellung der Hirnschnitte

Für die rezeptorautoradiographische Analyse wurden sieben Hemisphären (Tab. 1) von 4 menschlichen Gehirnen rezeptorautoradiographisch markiert. Die *post mortem* Gehirne wurden über das Anatomische Institut der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen bezogen. Weiterhin wurden bei den Körperspendern weder neurologische, noch psychiatrische Erkrankungen diagnostiziert. Die *post mortem* Zeit wurde so gering wie möglich gehalten (zwischen 12 und 18 Stunden), um Veränderungen der Rezeptordichten durch den Stillstand des Stoffwechsels zu verhindern.

Protokollnummer	Hemisphäre	Alter (Jahre)	Geschlecht	Todesursache	<i>post mortem</i> Zeit (Stunden)
A	rechts	78	männlich	Multiorganversagen	12
B	rechts/links	75	weiblich	Bronchialkarzinom	16
C	rechts/links	79	männlich	Herzstillstand	12
D	rechts/links	77	weiblich	Lungenödem	18

Tabelle 1: Für die Rezeptorautoradiographie verwendete *post mortem* Hemisphären.

Nach der Autopsie wurden die Gehirne fotografiert, die beiden Hemisphären voneinander getrennt und das Kleinhirn, sowie der Hirnstamm entfernt. Die Hirnhäute und Blutgefäße wurden an der Hemisphäre belassen, um die Hirnoberfläche nicht zu beschädigen. Danach wurde jede Hemisphäre in fünf bis sechs 2-3 cm dicke, koronare Scheiben geschnitten (Abb. 3A, B). Diese Scheiben wurden zunächst für 10-15 Min. in -50°C *N*-Methylbutan getaucht

und anschließend bei -70°C in luftdichten Plastikbeuteln gelagert. Die Scheiben wurden mit Hilfe eines Mikrotoms bei -20°C in $20\ \mu\text{m}$ dicke koronare Serienschnitte geschnitten, auf Kalium-Gelatine-beschichteten Objektträgern aufgeschmolzen und über Nacht gefriergetrocknet.

2.1.2 Bindungsprotokoll

Die autoradiographische Markierung der Rezeptorbindungsstellen erfolgte nach standardisierten und bereits publizierten Protokollen (Zilles 2001, Zilles 2002a,b, Zilles 2004). Es wurden 17 Rezeptorbindungsstellen unterschiedlicher Transmittersysteme mittels radioaktiv markierter Liganden untersucht (Tab. 2): Die Bindungsstellen der AMPA-, Kainat-, NMDA- und mGlu2/3-Rezeptoren des glutamatergen Transmittersystems, der GABA_A-, GABA_B- und BZ (Benzodiazepin)-Rezeptoren des GABAergen Systems, der M₁-, M₂-, M₃- und nACh-Rezeptoren des acetylcholinergen Systems, der α_1 - und α_2 -Rezeptoren des adrenergen Systems, der 5-HT_{1A}- und 5-HT₂-Rezeptoren des serotonergen Systems, der D₁-Rezeptoren des dopaminergen Systems und der A₁-Rezeptoren des adenosinergen Systems. Dazu wurden die Serienschnitte zunächst in Gruppen von 72 aufeinanderfolgenden Schnitten eingeteilt. Jeder Schnitt wurde mit einem anderen radioaktiv markierten Liganden (Gesamtbindung) oder einem markierten Liganden und dem passenden Kompetitor (unspezifische Bindung) inkubiert. Mit Ausnahme zweier Schnitte, die einer Nissl-Färbung (s. 2.2) unterzogen wurden und einigen Reserveschnitten (Tab. 3). Somit lag die Distanz zwischen zwei Schnitten, die mit dem gleichen Liganden markiert wurden bei 1,44 mm. Das Bindungsprotokoll (Tab. 2) umfasste die Vor- und Hauptinkubation sowie abschließende Waschvorgänge. Bei der Vorinkubation im Inkubationspuffer wurden zunächst die an den Rezeptoren gebundenen endogenen Substanzen ausgewaschen, um die Bindungsstellen für die markierten Liganden zugänglich zu machen. Während der Hauptinkubation wurden die Schnitte mit dem jeweiligen Tritium-markierten Liganden inkubiert. Dabei konnte der Ligand nicht nur an die zu untersuchenden Bindungsstellen an den Rezeptoren binden, sondern auch an unspezifische Bindungsstellen (spezifische und unspezifische Bindung ergeben die Gesamtbindung (GB)). Dies wurde mittels der unspezifischen Bindung (UB) an einem Nachbarschnitt überprüft. Hierbei wurde die Hauptinkubationslösung durch den entsprechenden Kompetitor (Agonist oder Antagonist des zu untersuchenden Rezeptors) ergänzt, welcher mit dem markierten Liganden um die Bindungsstelle am Rezeptor konkur-

Transmitter	Rezeptor	³ H-Ligand	Kompetitor	Pharmakologie	Inkubationspuffer	Vorinkubation	Hauptinkubation	Wachsvorgang	Expositionszeit
Glutamat	AMPA	AMPA [10 nM]	Quisqualat [10 µM]	Agonist	50 mM Tris-acetat (pH7,2) + 100 mM KSDN* 50 mM Tris-citrat (pH7,1) + 10 mM Ca-acetat* 50 mM Tris-HCl (pH7,2) + 50 µM Glutamat + 30 µM Glycin* + 50 µM Spermidin* 10 mM Phosphatpuffer (pH7,6) + 100 mM KBr*	3 x 10 Min. bei 4°C	45 Min. bei 4°C	4 x 4 Sek. in Puffer bei 4°C 2 x 2 Sek. fixieren** bei 4°C	15 Wochen
	Kainat	Kainat [9,4 nM]	SYM 2081 [100 µM]	Agonist	50 mM Tris-citrat (pH7,1) + 10 mM Ca-acetat* 50 mM Tris-HCl (pH7,2) + 50 µM Glutamat + 30 µM Glycin* + 50 µM Spermidin* 10 mM Phosphatpuffer (pH7,6) + 100 mM KBr*	3 x 10 Min. bei 4°C	45 Min. bei 4°C	3 x 4 Sek. in Puffer bei 4°C 2 x 2 Sek. fixieren** bei RT	12 Wochen
GABA	NMDA	MK-801 [3,3 nM]	(+) MK-801 [100 µM]	Antagonist	50 mM Tris-citrat (pH7,2) + 50 µM Glutamat + 30 µM Glycin* + 50 µM Spermidin* 10 mM Phosphatpuffer (pH7,6) + 100 mM KBr*	15 Min. bei 4°C	60 Min. bei RT	2 x 5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	12 Wochen
	mGlu2/3	LY 341495 [1 nM]	L-Glutamat [1 mM]	Antagonist	10 mM Phosphatpuffer (pH7,6) + 100 mM KBr*	2 x 5 Min. bei RT	60 Min. bei 4°C	2 x 5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	10 Wochen
Acetylcholin	GABA _A	Muscimol [7,7 nM]	GABA [10 µM]	Agonist	50 mM Tris-citrat (pH7,0)	3 x 5 Min. bei 4°C	40 Min. bei 4°C	3 x 3 Sek. in Puffer bei 4°C	12 Wochen
	GABA _B	CGP 54626 [2 nM]	CGP 54626 [100 µM]	Antagonist	50 mM Tris-HCl (pH7,2) + 2,5 mM CaCl ₂	3 x 5 Min. bei 4°C	60 Min. bei 4°C	1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C 3 x 2 Sek. in Puffer bei 4°C	10 Wochen
	BZ	Flumazenil [1 nM]	Clonazepam [2 µM]	Antagonist	170 mM Tris-HCl (pH7,4)	15 Min. bei 4°C	60 Min. bei 4°C	1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C 2 x 1 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	9 Wochen
	M ₁	Prenzeplin [8 nM]	Prenzeplin dihydrochlorid [2 µM]	Antagonist	mod. Krebs-Ringer (pH7,4)	15 Min. bei 4°C	60 Min. bei 4°C	2 x 1 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	12 Wochen
	M ₂	Oxotremorin-M [1,7 nM]	Carbachol [10 µM]	Agonist	20 mM Hepes-Tris (pH7,5) + 10 mM MgCl ₂	20 Min. bei RT	60 Min. bei RT	2 x 2 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
Adrenalin	M ₃	4-DAMP [1 nM]	Atropinsulfat [10 µM]	Antagonist	50 mM Tris-HCl (pH7,4) + 0,1 mM PSMF + 1 mM EDTA	15 Min. bei RT	45 Min. bei RT	2 x 5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	9 Wochen
	nAch	Epibatidin [0,5 nM]	Nicotin-di- hydrogen-tertrat [100 µM]	Agonist	15 mM Hepes-Tris (pH7,5) + 120 mM NaCl + 5,4 mM KCl + 0,8 mM MgCl ₂ + 1,8 mM CaCl ₂	20 Min. bei RT	90 Min. bei RT	5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
Serotonin	α ₁	Prazosin [0,2 nM]	Phentolaminsesylat [10 µM]	Antagonist	50 mM N/K-Phosphatpuffer (pH7,4)	15 Min. bei RT	60 Min. bei RT	2 x 5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
	α ₂	UK 14.304 [0,64 nM]	Phentolaminsesylat [10 µM]	Agonist	50 mM Tris-HCl (pH7,7) + 100 µM MnCl ₂	15 Min. bei RT	90 Min. bei RT	5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
Dopamin	5-HT _{1A}	8-OH-DPAT [1 nM]	Serotonin [1 µM]	Agonist	170 mM Tris-HCl (pH7,7) + 4 mM CaCl ₂ + 0,01% Ascorbat	30 Min. bei RT	60 Min. bei RT	1 x 5 Min. in Puffer bei 4°C 3 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
	5-HT ₂	Ketanserin [1,14 nM]	Mianserin HCL [10 µM]	Antagonist	170 mM Tris-HCl (pH7,7)	30 Min. bei RT	120 Min. bei RT	2 x 10 Min. in Puffer bei 4°C 3 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
Adenosin	D ₁	SCH-23390 [1,67 nM]	SKF 83566 [1 µM]	Antagonist	50 mM Tris-HCl (pH7,4) + 120 mM NaCl + 5 mM KCl + 2 mM CaCl ₂ + 1 mM MgCl ₂ + 1 µM Mianserin*	20 Min. bei RT	90 Min. bei RT	2 x 10 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen
	A ₁	CPEPX [4,4 nM]	R-PIA [100 µM]	Antagonist	170 mM Tris-HCl (pH7,4) + 2 U/l Adenosindeaminase + 1 mM MgCl ₂	15 Min. bei 4°C	120 Min. bei RT	2 x 5 Min. in Puffer bei 4°C 1 ↓ in Aqua dest. bei 4°C	15 Wochen

Tabelle 2: Übersicht über die in der Rezeptorautoradiographie verwendeten Liganden, Bindungsprotokolle und Inkubationszeiten (* Zusätze nur im Hauptinkubationspuffer, ** Fixieren in Aceton/Glutaraldehyd (100ml/2,5ml), RT Raumtemperatur).

rierte. Da der Kompetitor jedoch weitaus höher konzentriert war, verdrängte dieser den markierten Liganden von den Rezeptorbindungsstellen, sodass der Ligand nur noch unspezifisch binden konnte. Die unspezifische Bindung war kleiner als 5% der Gesamtbindung. Zum Schluss erfolgten die Waschvorgänge, welche dazu dienten die Bindungsprozesse zu stoppen und ungebundene Liganden sowie Puffersalze aus dem Gewebe auszuwaschen.

Snr.	Bindung	Snr.	Bindung	Snr.	Bindung
1	AMPA GB	16	Oxotremorin-M GB	32	Nissl-Färbung
2	AMPA UB	17	Oxotremorin-M UB	33	SCH-23390 GB
3	Kainat GB	18	4-DAMP GB	34	SCH-23390 UB
4	Kainat UB	19	4-DAMP UB	⋮	
5	MK-801 GB	⋮		45	LY 341495 GB
6	MK-801 UB	21	Epibatidin GB	46	LY 341495 UB
7	Muscimol GB	22	Epibatidin UB	47	CPFPX GB
8	Muscimol UB	23	Prazosin GB	48	CPFPX UB
9	CGP 54626 GB	24	Prazosin UB	⋮	
10	CGP 54626 UB	25	UK 14.304 GB	51	Ketanserin GB
11	Flumazenil GB	26	UK 14.304 UB	52	Ketanserin UB
12	Flumazenil UB	⋮		⋮	
13	Nissl-Färbung	28	8-OH-DPAT GB	72	Reserve
14	Pirenzepin GB	29	8-OH-DPAT UB		
15	Pirenzepin UB	⋮			

Tabelle 3: Gruppenbindungsplan (Snr. Schnittnummer, GB Gesamtbindung, UB unspezifische Bindung, ⋮ für diese Arbeit nicht verwendete Bindungen).

2.1.3 Erstellung der Rezeptorautoradiogramme

Die Tritium-markierten Schnitte wurden zusammen mit Plastikstandards (Microscales, Amersham), die bekannte Radioaktivitätskonzentrationen aufwiesen, auf β -sensitive Filme (Hyperfilm, Amersham) gelegt und für die dem Liganden entsprechende Zeit bei 4°C im Dunkeln (Tab. 2) exponiert. Nach der Filmentwicklung stellten die Grauwerte im Autoradiogramm (Abb. 3C) die Höhe der Radioaktivitätskonzentrationen dar. Das heißt, je dunkler der Film an einer bestimmten Stelle, desto höher die Radioaktivität und damit auch die Dichte der Rezeptoren. Die Plastikstandards und Autoradiogramme wurden mittels einer über einem Lichtpult angebrachten CCD-Kamera (Sony, Japan; 1924 x 1459 Pixel; 27,2 $\mu\text{m}/\text{Pixel}$; 256 Graustufen) digitalisiert. Zur quantitativen Bestimmung der Rezeptordichten wurde zunächst für die Grauwerte des Standards eine Transformationskurve erstellt, welche

2 Material und Methoden

einen nicht-linearen Zusammenhang zwischen den Grauwerten und der Radioaktivitätskonzentration darstellt (Abb. 3D, Zilles 1995).

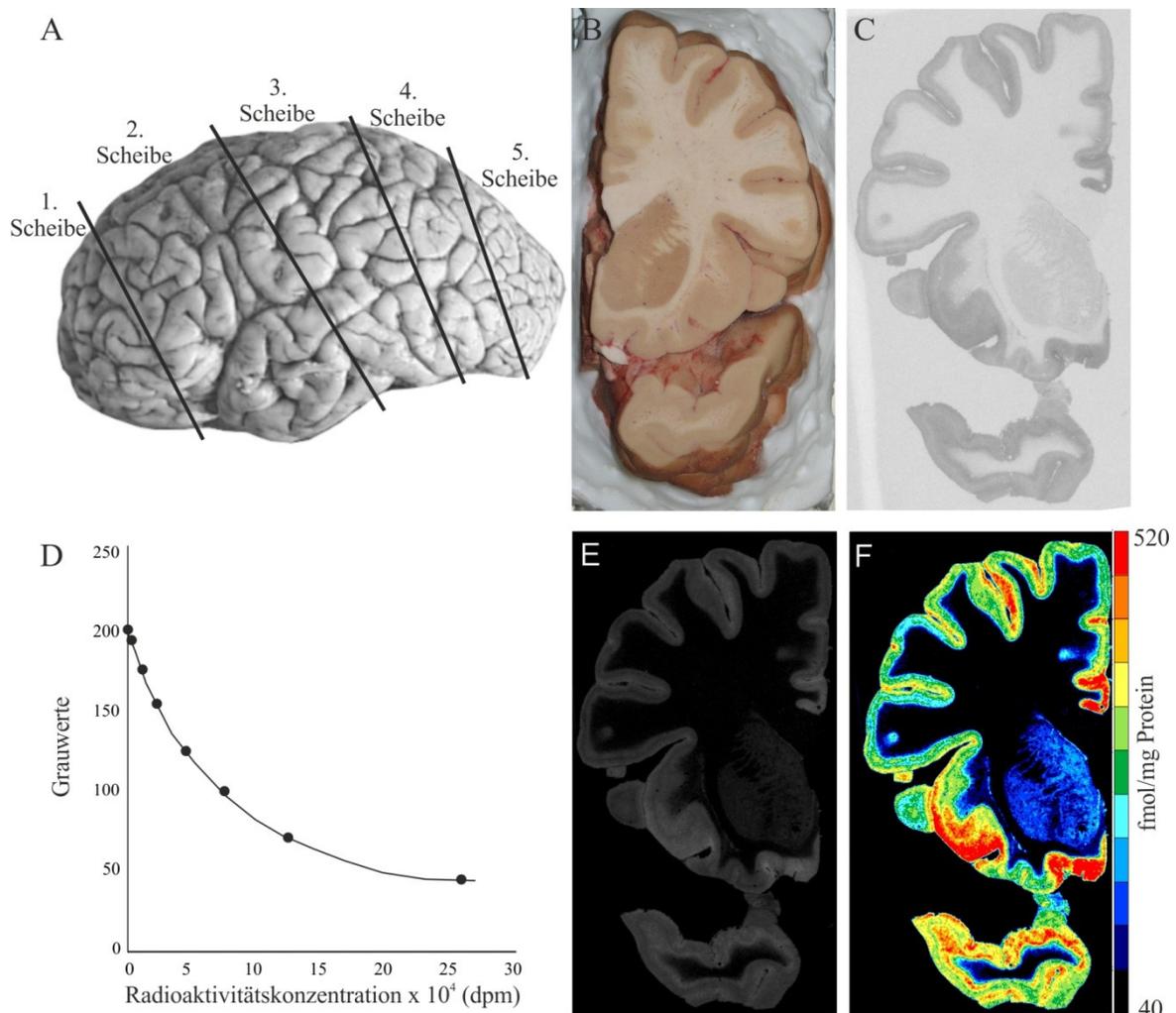


Abbildung 3: Herstellung der Rezeptorautoradiogramme. (A) Lateralansicht einer linken Hemisphäre. Die schwarzen Linien markieren die Positionen, an denen die Hemisphäre in Scheiben geschnitten wurde. (B) Frontale Aufsicht auf die aufgeblochte 2. Scheibe vor dem Schneiden in 20 μm dicke Serienschritte. (C) Digitalisiertes Autoradiogramm der α_1 -Rezeptoren markiert mit [^3H]-Prazosin. (D) Aus den Plastikstandards ermittelte Transformationskurve, die den nicht-linearen Zusammenhang zwischen den Grauwerten und der Radioaktivitätskonzentration darstellt. (E) Linearisiertes Rezeptorautoradiogramm. (F) Farbkodiertes Rezeptorautoradiogramm der α_1 -Rezeptoren mit Farbskala, die die unterschiedlichen Rezeptorkonzentrationen kodiert.

Die Umrechnung der Radioaktivitätskonzentrationen (R) in Rezeptordichten (C_b) erfolgte mit Hilfe folgender Formel:

$$C_b = \frac{R}{E \times B \times W_b \times S_a} \times \frac{K_D + L}{L}$$

Dabei beschrieb E die Effizienz des Szintillationszählers zur Bestimmung der Radioaktivität, B die Anzahl der Ereignisse pro Zeiteinheit und Radioaktivität, W_b das Proteingewicht des Standards, S_a die spezifische Aktivität des Liganden, K_D die Dissoziationskonstante des Liganden und L die freie Konzentration des Liganden während der Inkubation. Somit enthielt jeder Pixel des linearisierten Autoradiogramms (Abb. 3E) die Rezeptorkonzentration in fmol/mg Protein. Alle Arbeitsschritte erfolgten mit der Bildanalyse Software AxioVision (Zeiss, Deutschland).

Anschließend wurden die linearisierten Rezeptorautoradiogramme mit Hilfe von hausinternen MatLab-Skripten (MathWorks, Natick, MA, USA) kontrastverstärkt und farbkodiert, wobei geringe Rezeptordichten in blau und hohe Rezeptordichten in rot dargestellt wurden (Abb. 3F).

2.2 Zytoarchitektur – Nissl-Färbung

2.2.1 Herstellung der Hirnschnitte und Zellkörperfärbung

Zur Untersuchung der Zytologie wurden 10 menschliche *post mortem* Gehirne (Tab. 4) von Körperspendern der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf untersucht. Die Spender zeigten weder neurologische, noch psychiatrische Erkrankungen.

Gehirnnummer	Alter (Jahre)	Geschlecht	Todesursache	Frischgewicht (Gramm)
1	79	weiblich	Harnblasenkarzinom	1350
2	56	männlich	Rektumkarzinom	1270
3	69	männlich	multiple Herzinfarkte	1360
4	75	männlich	nekrotische Glomerulonephritis	1349
5	59	weiblich	kardiorespiratorische Insuffizienz	1142
7	37	männlich	Rechtsherzversagen	1437
8	72	weiblich	Nierenversagen	1216
9	79	weiblich	Linksherzinsuffizienz	1110
10	85	weiblich	Mesenterialinfarkt	1046
20	65	männlich	Prostatakarzinom	1392

Tabelle 4: Übersicht über die zytoarchitektonisch untersuchten *post mortem* Gehirne.

Spätestens 24 Stunden nach Todeseintritt wurden die Gehirne aus dem Schädel entnommen und aufgehängt an der Basilararterie in 4%-iger Formaldehydlösung oder einer Bodianlösung

2 Material und Methoden

(bestehend aus Formalin, Essigsäure und 80%-igem Ethanol) mindestens sechs Monate fixiert. Anschließend wurde das Volumen jedes Gehirns mittels eines 1,5 Tesla Magnetresonanztomographen (Siemens, Erlangen, Deutschland) mit einer T₁-gewichteten drei-dimensionalen FLASH-Sequenz (Flip-Winkel: 40°, Repetitionszeit: 40 ms, Echozeit: 5 ms, Voxelgröße: 1 mm × 1 mm × 1,17 mm) ermittelt. Weiterhin wurden die Gehirne von allen Richtungen fotografiert. Danach wurde die Fixierung durch eine „aufsteigende Alkoholreihe“ vervollständigt und die Gehirne in Paraffin eingebettet. Mit Hilfe eines Mikrotoms wurden die Gehirne in jeweils 6000-7500 (Dicke: 20 µm) koronare Serienschritte geschnitten. Dabei wurde nach jedem 60. Schnitt die Aufsicht auf den Paraffinblock (Blockface-Image) fotografisch festgehalten (XC-75, Sony, Japan). Jeder 15. Schnitt wurde auf einen mit Gelatine beschichteten Objektträger aufgezogen und einer nach Merker modifizierten Nissl-Färbung (Merker, 1983) unterzogen, welche die Zellkörper der Nervenzellen anfärbt und einen starken Kontrast zwischen den Zellkörpern und dem Neuropil liefert (Abb. 4B).

2.2.2 Bestimmung der Zellkörperdichte (Grey Level Index, GLI)

Der Sulcus frontalis inferior (IFS) sowie der Sulcus precentralis inferior (ipreCS) wurden gemäß Ono et al. (1990) auf den Fotografien der Lateralansichten der Gehirne identifiziert. In Schnitten, die Anschnitte des IFS oder der Verbindung zwischen IFS und dem preCS zeigten, wurden rechteckige Regionen definiert (Regions Of Interest, ROI). Mittels eines automatischen Scanverfahrens mit einem Lichtmikroskop (Universal Microscope, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) und einer CCD-Kamera (XC-75, Sony Japan) wurde jede ROI, unterteilt in 524 × 524 µm große Einzelbilder, mit einer Auflösung von 1,02 µm/Pixel und einer Graustufentiefe von 8-bit eingescannt (Schleicher 1999; Abb. 4B).

Die ROIs wurden dann mit Hilfe eines automatischen Bild-Analysators (KS400, Zeiss, Deutschland) in GLI (Grey Level Index)-Bilder transformiert (Schleicher 1978, Wree 1982, Schleicher 1989). Der GLI gibt die Dichte der Nissl-gefärbten neuronalen Zellkörper in einer gemessenen Region anhand von Grauwerten an. Dazu wurde zunächst aus jedem eingescannten Einzelbild mittels adaptiver Schwellenwerte ein Binärabbild errechnet (Castleman 1979). Der adaptive Schwellenwert berücksichtigte die Unterschiede zwischen den dunkel gefärbten Zellkörpern und dem hellen Neuropil in jedem Einzelbild. Das Binärabbild wurde weiter in $k \times k$ Messfelder unterteilt. Der k -Wert definierte die Auflösung

des Scanvorgangs, wobei der Kortexquerschnitt durch mehr als 63 Pixel repräsentiert sein sollte. Somit lag die Größe der Messfelder zwischen 20 und 30 μm . Danach wurde der GLI für jedes Messfeld ermittelt (Abb. 4C). Felder ohne Zellkörper erhielten den $\text{GLI} = 0$ (0%) und solche, die vollständig von einem Zellkörper ausgefüllt waren den $\text{GLI} = 1$ (100%).

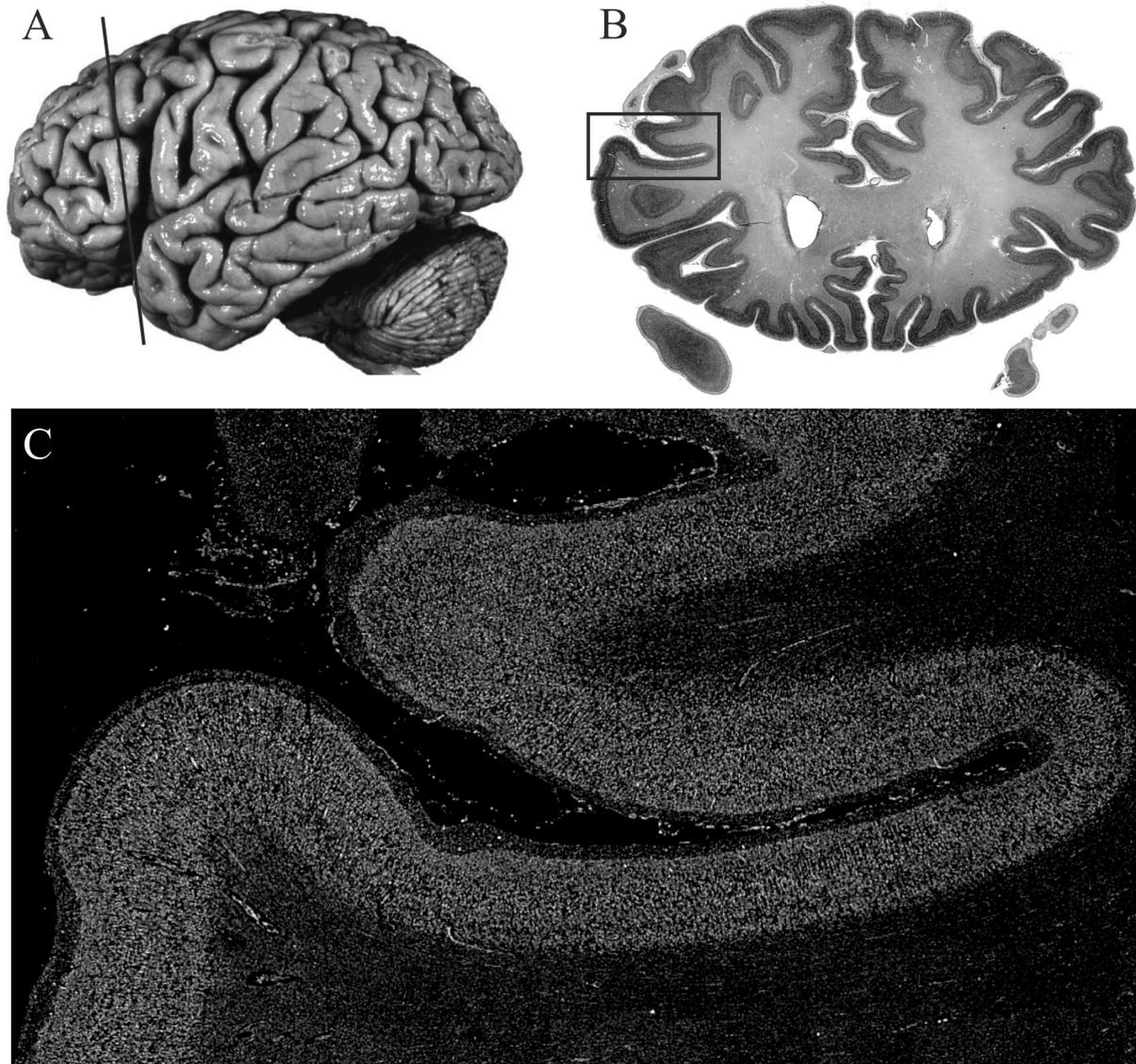


Abbildung 4: Zellkörperfärbung und GLI (Grey Level Index). (A) Lateralansicht der linken Hemisphäre des fixierten *post mortem* Gehirns Nr. 9. Die schwarze Linie kennzeichnet die in B gezeigte koronare Schnittebene. (B) zellkörper-gefärbter koronarer Hirnschnitt (Nissl-Färbung) mit der eingezeichneten ROI (Region Of Interest). (C) GLI-Bild der ROI aus B.

2.3 Betrachter-unabhängige Grenzbestimmung

Die Betrachter-unabhängige Grenzbestimmung basiert auf der Tatsache, dass jedes kortikale Areal ein typisches laminäres Muster der Zell- und Rezeptordichten aufweist, welches sich signifikant von dem der Nachbarareale unterscheidet. Deshalb wurden unter Verwendung von MatLab (MathWorks, Natick, MA, USA) zunächst Dichteprofile über den Kortexquerschnitt extrahiert und diese mittels der Mahalanobis Distanz auf Unterschiede untersucht (Schleicher 1999, 2000). Für die Extrahierung der Dichteprofile, sowohl der Zellkörperdichte in den Nissl-gefärbten Schnitten als auch der Rezeptordichte in den Rezeptorautoradiogrammen, wurden eine äußere und eine innere Konturlinie definiert. Bei den Nissl-gefärbten Schnitten lag die äußere Kontur an der Grenze zwischen Lamina I und II und die innere zwischen Lamina VI und der weißen Substanz, bei den Rezeptorautoradiogrammen zwischen der pialen Oberfläche und Lamina I und Lamina VI und der weißen Substanz. Zwischen den Konturlinien wurden dann mittels eines Algorithmus abstandsgleiche (Abstand: 100 μm) Traversen angelegt, die im 90° Winkel zur pialen Oberfläche (möglichst vertikal zu den laminären Schichten) ausgerichtet waren (Abb. 5B).

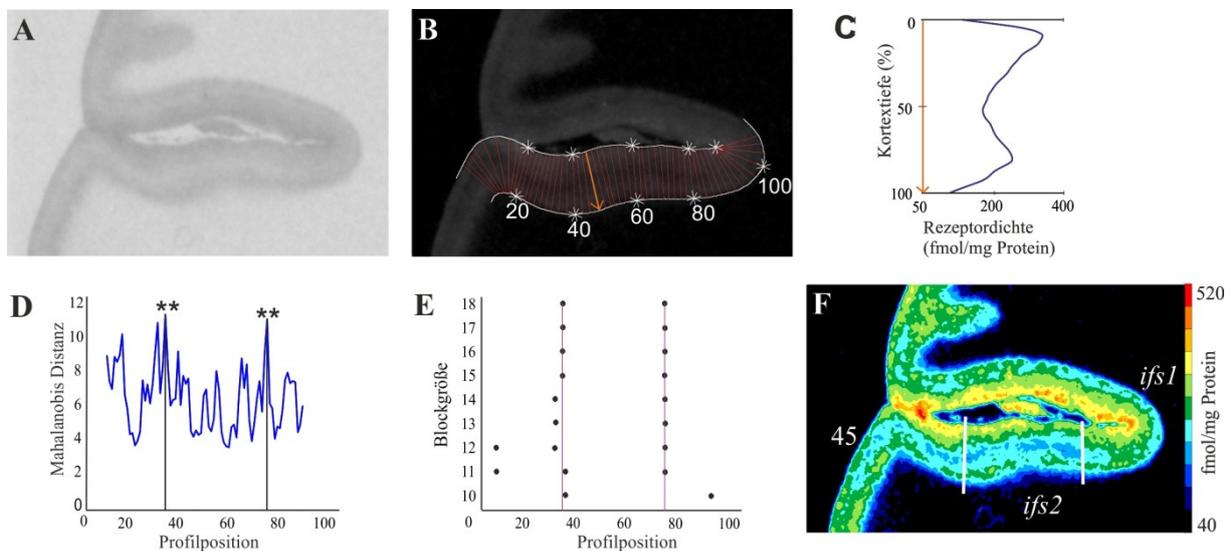


Abbildung 5: Betrachter-unabhängige Grenzfindung am Beispiel eines Rezeptorautoradiogramms. (A) Autoradiogramm der α_1 -Rezeptoren (B) Linearisiertes Rezeptorautoradiogramm des α_1 -Rezeptors mit der inneren und äußeren Konturlinie (in weiß) und den abstandsgleichen Traversen (hier nur jede zweite Traverse in rot dargestellt), entlang derer Dichteprofile extrahiert wurden. Der orangene Pfeil markiert die Position des Rezeptordichteprofiles in C. (C) Rezeptordichteprofil der Traverse Nr. 46 über den gesamten Kortexquerschnitt. (D) Mahalanobis Distanzfunktion der Blockweite 15. Die Sterne markieren signifikante Hochpunkte ($p \leq 0,01$) bei den Profilpositionen 38 und 78. (E) Streudiagramm, in dem die signifikanten Maxima bei den verschiedenen Blockweiten gegen die Profilpositionen aufgetragen sind. Die roten Linien markieren die Maxima bei den Profilpositionen 38 und 78. (F) Farbkodiertes Rezeptorautoradiogramm mit den in A-D bestimmten Arealgrenzen (weiße Linien).

Entlang dieser Traversen wurden Dichteprofile auf Grundlage des GLI-Bildes für die Zytoarchitektur und des linearisierten Bildes für die Rezeptorautoradiographie extrahiert (Abb. 5C). Dabei wurde sowohl das GLI- als auch das linearisierte Bild durch anisotrope Filterung geglättet, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern und die Profile auf 101 Punkte normiert, um Unterschiede in der Kortexdicke auszugleichen. Jedes Dichteprofil wurde durch einen 10-dimensionalen Merkmalsvektor beschrieben. Dieser bestand aus dem Mittelwert in x- und y-Richtung, der Standardabweichung, der Schiefe und der Wölbung der Profilkurve sowie die Werte ihrer ersten Ableitung. Zur Bestimmung von Arealgrenzen wurden nicht einzelne Profile, sondern zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses (z.B. ausgelöst durch angeschnittene Blutgefäße) jeweils zwei Blöcke von Profilen, die zwei benachbarte Areale repräsentierten miteinander verglichen. Die Anzahl der Profile in den Blöcken lag bei 8-18 bei der Rezeptorautoradiographie und bei 8-24 bei der Zytoarchitektur. Zwischen den Profilblöcken wurde als Maß für die Verschiedenheit dieser die Mahalanobis Distanz berechnet (Mahalanobis 1949). Zur Ermittlung der Profilposition, die die Grenze zwischen zwei Arealen markierte, wanderten die Profilblöcke immer um eine Position weiter über den Kortex (sliding window Verfahren). Die Maxima der Mahalanobis Distanzfunktion (Abb. 5D) stellten Hinweise auf Arealgrenzen dar. Mittels eines Hotellings T^2 -Test und einer Bonferroni-Korrektur wurden die Maxima auf Signifikanz getestet ($p \leq 0,01$). Die signifikanten Maxima bei den verschiedenen Blockweiten wurden dann in einem Streudiagramm gegen die Profilpositionen aufgetragen (Abb. 5E). Je mehr signifikante Maxima an einer Profilposition abzulesen waren, desto größer die Sicherheit, dass sich an dieser Stelle eine Grenze zwischen zwei Arealen befand. Als Arealgrenzen wurden jedoch nur diese bezeichnet, die in drei aufeinander folgenden Schnitten an ähnlicher Position nachgewiesen werden konnten.

2.4. Mittlere und laminäre Zellkörper- und Rezeptordichten

Zur Quantifizierung der Arealdichten wurden sowohl Rezeptordichten, gemittelt über den gesamten Kortexquerschnitt (mittlere Rezeptordichten) als auch Zellkörper- und Rezeptordichten der einzelnen Laminae (laminäre Dichten) ermittelt. Dazu wurden

2 Material und Methoden

Anwendungen von MatLab (MathWorks, Natick, MA, USA) herangezogen. Zur Berechnung der mittleren Rezeptordichten eines Areals wurden jeweils 10 Dichteprofile (s. 2.3) von drei aufeinander folgenden Schnitten zu einem mittleren Dichteprofil zusammengefasst und die Rezeptordichten (in fmol/mg Protein) der 101 über den gesamten Kortexquerschnitt verlaufenden Punkte (Normierung) arithmetisch gemittelt. Die mittleren Rezeptordichten eines Areals wurden dann in einem polaren Koordinatensystem graphisch dargestellt. Die Linie, die alle mittleren Rezeptordichten miteinander verbindet bildet eine Form aus, die charakteristisch für dieses kortikale Areal ist und wird daher als Rezeptor Fingerprint bezeichnet (Palomero-Gallagher 2009). Weiterhin wurden die mittleren Rezeptordichten (der einzelnen Hemisphäre) mittels einer Varianzanalyse (ANOVA mit Blockdesign) auf signifikante Unterschiede untersucht ($p < 0,05$).

Zur Bestimmung der laminären Zellkörperdichten wurden die drei mittleren Dichteprofile aus jeweils 15 Profilen pro Schnitt gemäß ihrer zytoarchitektonischen Schichtgrenzen (die Abgrenzung erfolgte auf den eingescannten ROIs) in Abschnitte unterteilt. Die GLI-Werte innerhalb dieser Abschnitte wurden dann zu einer laminären Zellkörperdichte gemittelt. Für die Bestimmung der laminären Rezeptordichten wurde der zu der Gruppe gehörige Nisslgefärbte Schnitt herangezogen. Mittels eines Mikroskops mit Zeichenarm wurden auf einem der linearisierten Bilder die Schichtgrenzen eingezeichnet und die Positionen der Laminae auf eine Profillänge von 101 umgerechnet.

Um Nachbarschaftsbeziehungen zu untersuchen wurden ebenfalls Zellkörper- und Rezeptordichten von den Arealen extrahiert, die unmittelbar an den IFS und ipreCS angrenzten. Somit wurden die Dichten der ventral zum IFS gelegenen zytoarchitektonischen Areale 44 und 45 (Amunts 1999) gemessen. Dorsal des IFS wurden die Brodmann-Areale 46 und 9 auf dem Gyrus frontalis medius sowie das an die Verbindung zwischen dem IFS und ipreCS angrenzende Brodmann-Areal 6 auf dem rostralen Teil des Gyrus praecentralis (Brodmann 1909) extrahiert.

Signifikante inter-hemisphärische Unterschiede bezüglich der laminären Zell- und Rezeptordichten konnten aufgrund der geringen Stichprobengröße von nur drei linken rezeptorautoradiographisch markierten Hemisphären nicht durch eine ANOVA ermittelt werden. Stattdessen wurde, ähnlich der Betrachter-unabhängigen Grenzbestimmung, die Mahalanobis Distanz zwischen allen Dichteprofilen der rechten und linken Hemisphären eines jeden Rezeptors (nur 14 Rezeptoren waren in allen Hemisphären markiert worden) bzw. der Zelldichte berechnet und einem Permutationstest unterzogen ($p < 0,05$).

2.4.1 Hierarchische Clusteranalyse

Um die Areale entsprechend ihrer zyto- und rezeptorarchitektonischen Ähnlichkeiten in homogene Gruppen bzw. Cluster einzuteilen wurde eine hierarchische Clusteranalyse durchgeführt (Bacher 2010). Dabei sind sich die Areale innerhalb eines Clusters untereinander ähnlicher als diese zu Arealen in einem anderen Cluster. Für diese Analyse wurden die über die Hemisphären gemittelten Zellkörper- und Rezeptordichten der Laminae II, III, V, VI eingesetzt. Da das Areal 6 keine Schicht IV besitzt wurde diese Schicht aus der Analyse herausgenommen, da fehlende Werte in der Clusteranalyse nicht akzeptiert wurden. Die Daten befanden sich somit in einer Matrix mit 44 (11 Areale mit jeweils 4 Laminae) Zeilen und 18 (17 Rezeptordichten + GLI) Spalten. Die Dichten wurden zunächst über eine z-Transformation normiert, um einer stärkeren Gewichtung der Rezeptoren/GLI mit hohen Werten in der Analyse entgegenzuwirken. Dabei blieben jedoch die relativen Unterschiede zwischen den Arealen und Schichten erhalten. Für die Clusteranalyse war es außerdem notwendig, die Anzahl der Zeilen in der Matrix auf die Anzahl der Areale zu reduzieren. Dazu wurden mittels hausinterner R-Skripte (R Foundation for Statistical Computing, <http://www.r-project.org>) die Euklidischen Distanzen zwischen allen möglichen Spaltenkombinationen berechnet. Dies resultierte in einer 11×153 -Matrix. Die Clusteranalyse wurde mit der statistischen Toolbox von MatLab (MathWorks, Natick, MA, USA) durchgeführt. Dabei wurde die Euklidische Distanz als Maß für die Verschiedenheit der Areale und der Ward-Verlinkungsalgorithmus als Verlinkungsmethode eingesetzt. Der kophenetische Koeffizient der Analyse gibt an, wie gut das Dendrogramm die multidimensionalen Distanzen der Daten repräsentiert. Je näher dieser an 1, desto besser die Visualisierung.

2.5 3D-Rekonstruktion und Auftrittswahrscheinlichkeitskarten

2.5.1 3D-Rekonstruktion und Anpassung an das Referenzgehirn

Um die *post mortem* Gehirne zu rekonstruieren wurden drei Datensätze pro Gehirn verwendet. Erstens, die mit einer CCD-Kamera digitalisierten zellkörper-gefärbten Hirnschnitte, zweitens, die Blockface-Images nach jedem 60. Schnitt und drittens, der MR-Volumendatensatz vor der Fixierung der Gehirne. Mittels linearer und nicht-linearer Transformationen wurden Deformationen und Schrumpfung, herbeigeführt durch die

2 Material und Methoden

Fixierung, das Schneiden und Aufziehen auf Objektträger, korrigiert und so das Gehirn im 3-dimensionalen Raum rekonstruiert (Amunts 2004; Mohlberg 2003; Schormann 1995; Schormann 1998). Die ermittelten zytoarchitektonischen Arealgrenzen wurden auf jedem 30. Schnitt mit dem hauseigenen Programm Sectiontracer eingezeichnet und ebenfalls rekonstruiert.

Danach wurden die 10 rekonstruierten *post mortem* Gehirne an das MNI (Montreal Neurological Institut)-Referenzgehirn (Collins 1994, Evans 1993, Holmes 1998) zunächst mittels einer affinen Transformation, die Skalierung, Rotation und Scherung beinhaltet, und einer anschließenden nicht-linearen, elastischen Transformation angepasst (Amunts 2004, Mohlberg 2003). Danach wurden die Gehirne in der AC-PC-Linie (AC, Commissura anterior, PC, Commissura posterior) ausgerichtet, um diese in den anatomischen MNI-Referenzraum zu verschieben (4mm nach kaudal und 5mm nach dorsal, Amunts 2005).

2.5.2 Berechnung der Auftrittswahrscheinlichkeiten

Die 10 rekonstruierten und angepassten Gehirne mit den zytarchitektonisch kartierten Arealen wurden übereinandergelegt und die relativen Häufigkeiten mit der ein Areal in jedem Voxel im anatomischen MNI-Raum auftritt bestimmt. Eine Farbskala von blau nach rot beschrieb dabei die Anzahl der Gehirne, bei denen das Areal in einem bestimmten Voxel auftrat. Blau bedeutete, dass ein Areal in diesem Voxel nur in einem Gehirn auftrat, rot, dass ein Areal in allen 10 Gehirnen in diesem Voxel zu finden war. Dies resultierte in einer Breite der Auftrittswahrscheinlichkeiten von 10-100%. Auf diese Weise wurde für jedes Areal eine Auftrittswahrscheinlichkeitskarte erstellt (Mohlberg 2012).

Aufgrund der interindividuellen Variabilität kam es zu Überlappungen der Auftrittswahrscheinlichkeitskarten benachbarter Areale. Um eine eindeutige Arealgrenze zu erhalten, wurden die Voxel in der Überlappungszone dem Areal zugeordnet, das jeweils die höhere Wahrscheinlichkeit aufweist. Wiesen die Auftrittswahrscheinlichkeitskarten zweier Areale die gleiche Wahrscheinlichkeit in einem Voxel auf, dann wurde dieser dem Areal zugeordnet, das in den 26 benachbarten Voxeln die höchste durchschnittliche Wahrscheinlichkeit zeigte. So entstand für jedes Areal eine Karte mit den maximalen Auftrittswahrscheinlichkeiten (MPM, maximum probability map), die einen Vergleich mit Daten aus der funktionellen Bildgebung erlaubt (Eickhoff 2006).

2.5.3 Berechnung der Volumina

Die Volumina der Areale wurden mittels folgender Formel berechnet:

$$V = s \times T \times x \times y \times \Sigma A_i \times F$$

Dabei beschreibt V das zu berechnende Volumen, s die Anzahl der Schnitte zwischen zwei verwendeten Schnitten (30), T die Schnittdicke (20 μm), x die Breite eines Pixels (21,16 μm), y die Höhe eines Pixels (21,16 μm), ΣA_i die Summe der in Pixeln gemessenen Flächen in allen verwendeten Schnitten und F den Schrumpfungsfaktor des Gehirns.

Die Volumina der Areale wurden mittels eines Permutationstest mit einer Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche ($p \leq 0,05$) auf signifikante interhemisphärische und geschlechtsspezifische Unterschiede untersucht (MatLab Statistik Toolbox, MathWorks, Natick, MA, USA). Dabei wurde jedes Areal als Prozentsatz am Gesamtvolumen angegeben, um Unterschiede in den Gehirngrößen auszugleichen.

2.6 Funktionelle Metaanalyse

2.6.1 BrainMap Datenbank

Die in der Metaanalyse verwendeten funktionellen Bildgebungsstudien wurden aus der BrainMap Datenbank (www.brainmap.org; Fox 2002, Laird 2005, 2009) bezogen. Diese frei zugängliche Datenbank enthielt zum Zeitpunkt der Analyse ungefähr 11.400 publizierte fMRT- oder PET-Studien an gesunden Probanden. Die dabei aktivierten Hirnregionen waren in Form von dreidimensionalen Koordinaten im Referenzraum angegeben. Die einzelnen Studien wurden behavioralen Domänen zugeordnet, um die in den einzelnen Experimenten untersuchten mentalen Prozesse zu kategorisieren. Die fünf Hauptkategorien, Aktion, Kognition, Emotion, Selbstwahrnehmung und Wahrnehmung waren weiterhin in bis zu 16 Unterkategorien unterteilt.

2.6.2 Funktionelle Charakterisierung

Um die Funktionen der neu kartierten Areale zu identifizieren wurden die Studien ermittelt, die Aktivierungen innerhalb der verschiedenen Areale aufwiesen. Dabei wurden die Areale durch ihre maximalen Wahrscheinlichkeitskarten (MPMs, s. 2.5.2) repräsentiert. Aufgrund der hohen Variabilität und geringen Größe des Areals *ifs2* wurde auf Grundlage der Ergebnisse der Clusteranalyse eine gemeinsame MPM für *ifs2* und *ifs1* berechnet (*ifs1/2*). In *ifs1/2* der linken Hemisphäre aktivierten 188 Studien, in *ifs3* 212, in *ifs4* 193, in *iff1* 560 und in *iff2* 470 Studien. In der rechten Hemisphäre aktivierten 66 Studien in *ifs1/2*, 85 Studien in *ifs3*, 64 Studien in *ifs4*, 340 Studien in *iff1* und 482 Studien in *iff2*. Weiterhin wurde die Anzahl der Aktivierungen von Studien innerhalb eines Areals, die der gleichen behavioralen (Unter-) Kategorie zugeordnet waren, mit der für diese Kategorie zu erwartenden Gesamtverteilung (abhängig von der Anzahl der Studien, die dieser Domäne zugeordnet wurden) verglichen (Eickhoff 2010). Mit Hilfe eines Binomialtests ($p < 0,05$, Bonferroni Korrektur, MatLab, MathWorks, Natick, MA, USA) wurde getestet, ob diese Kategorie in dem zu untersuchenden Areal signifikant überrepräsentiert war.

2.6.3 Metaanalytische Konnektivitätsmodellierung

Mittels einer metaanalytischen Konnektivitätsmodellierung (meta-analytic connectivity modeling (MACM), Robinson 2010) wurden die Hirnregionen identifiziert, die mit den neu kartierten Arealen in den Studien der BrainMap Datenbank ko-aktiviert waren. Hierzu wurden wie in 2.6.2 die MPMs der Areale eingesetzt und die Studien herausgefiltert, die in den einzelnen Arealen aktivierten und alle übrigen berichteten Aktivierungen analysiert. Um die unterschiedlichen Normalisierungstechniken und die interindividuelle Variabilität der dokumentierten Aktivierungen auszugleichen, wurden die Aktivierungsfoki mittels des ALE (Activation Likelihood Estimation)-Algorithmus (Eickhoff 2009, 2012, Turkeltaub 2012) modelliert. Dabei wurde jeder Fokus als eine Gauß-Verteilung dargestellt, deren Ausdehnung anhand der an der Studie teilnehmenden Probanden empirisch geschätzt wurde. Durch Zusammenführung aller Studien entstand für jedes zu untersuchende Areal eine ALE-Karte. Jeder Voxel erhielt damit einen ALE-Wert, der die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Aktivierungsfokus an dieser Position angab. Die Cluster in den ALE-Karten wurden

anschließend FWE (family-wise error) korrigiert ($p < 0.05$) und einem cluster-forming threshold auf Voxel-Ebene ($p < 0.001$) unterzogen.

Um die Ko-Aktivierungen zu identifizieren, die allen Arealen gemein waren, wurde eine „Konjunktion“ errechnet, die nur diese Aktivierungen enthielt, die in jeder einzelnen ALE-Karte dokumentiert waren. Die Unterschiede in den Ko-Aktivierungsmustern hingegen wurden durch arealspezifische ALE-Karten („Spezifika“) ermittelt, die nur die Aktivierungen zeigten, die mit dem betrachteten Areal signifikant stärker ko-aktiviert waren als mit einem der anderen Areale. Diese Analyse wurde mittels der SPM8 (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging) Software für MatLab (MatLab, MathWorks, Natick, MA, USA) durchgeführt. Die funktionellen Aktivierungen wurden dann anhand der SPM Anatomy toolbox (Eickhoff 2005; Link zur Anatomy toolbox: http://www.fz-juelich.de/SharedDocs/Downloads/INM/INM-1/DE/Toolbox/Toolbox_18.html) makroanatomischen Strukturen und zytoarchitektonisch kartierten Arealen zugeordnet.

3 Ergebnisse

In dieser Arbeit wurden vier kortikale Areale im Sulcus frontalis inferior, *ifs1* bis *ifs4* (inferior frontal sulcus area 1-4), und zwei Areale in der Verbindung zwischen dem Sulcus frontalis inferior und dem Sulcus precentralis inferior (inferior frontal junction, IFJ), *iff1* und *iff2* (inferior frontal junction area 1 und 2), kartiert. Diese unterschieden sich voneinander und den angrenzenden Arealen durch ihre Zyto- und Rezeptorarchitektur. Lokalisierung und interindividuelle Variabilität der neu kartierten Areale wurde anhand von Auftrittswahrscheinlichkeitskarten im anatomischen MNI Referenzraum visualisiert. Zudem konnte mittels einer hierarchischen Clusteranalyse gezeigt werden, dass sich die *ifs*- und *iff*-Areale zueinander ähnlicher sind als zu den benachbarten funktionellen Domänen, der Broca-Region, dem dorsolateralen präfrontalen Kortex und dem prämotorischen Kortex. Eine Metaanalyse funktioneller Bildgebungsstudien identifizierte die Funktionen und die Hirnregionen, die mit den Arealen *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* während der Verarbeitung dieser kognitiven Prozesse ko-aktiviert waren.

3.1 Rezeptorarchitektur

Die Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* wurden anhand verschiedener laminärer Dichten der 17 untersuchten Rezeptoren in koronar geschnittenen rezeptorautoradiographisch markierten Serienschnitten definiert. Die Grenzen zwischen den neu kartierten und angrenzenden wurden mittels der Betrachter-unabhängigen Grenzbestimmung bestätigt.

3.1.1 Rezeptorarchitektonische Grenzen

Die Neurotransmitterrezeptoren waren sowohl heterogen zwischen den verschiedenen Arealen verteilt, als auch zwischen den Laminae innerhalb eines Areals. Jeder Rezeptor wies ein typisches Verteilungsmuster über den Kortexquerschnitt auf (Abb. 6, 9, 10). Die höchsten Kainat-Rezeptordichten waren in den tieferen Kortexschichten zu finden, die der NMDA-, α_2 -, GABA_A, und BZ-Rezeptoren in den oberen Laminae. Die höchsten M₂- und A₁-Rezeptordichten wurden in den mittleren Schichten gemessen. Die α_1 - und 5-HT_{1A}-Rezeptordichten erreichten die höchsten Werte in den oberen Schichten, zeigten jedoch zusätzlich hohe Dichten in den unteren Laminae. Weiterhin zeigten die verschiedenen Rezep-

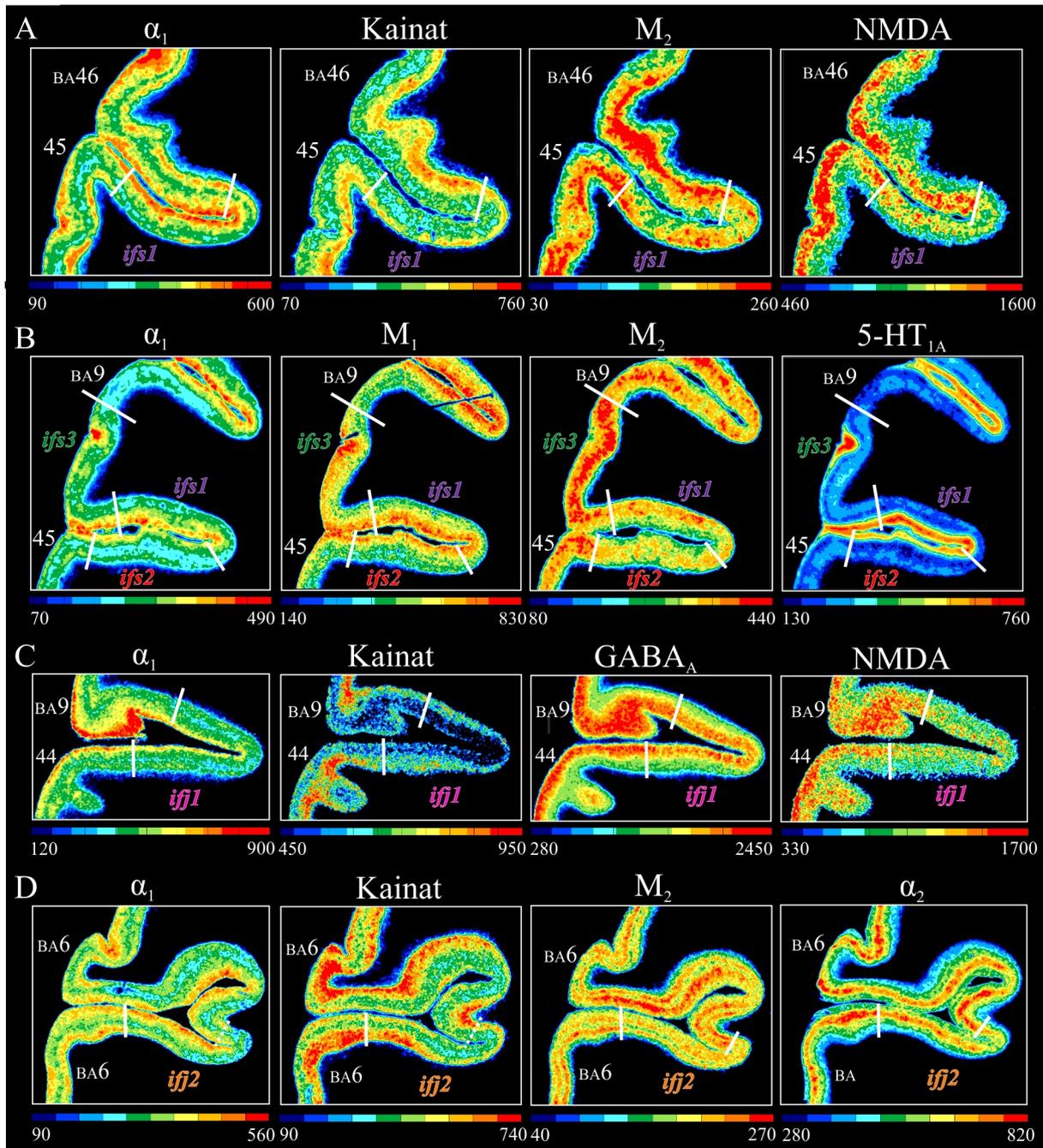


Abbildung 6: Rezeptorarchitektonische Grenzen (weiße Linien) zwischen kortikalen Arealen im IFS und der IFJ, die mittels der Betrachter-unabhängigen Grenzfindung bestätigt wurden. (A) Grenzen zwischen *ifs1*, 45 und BA46 in farbkodierten Autoradiogrammen der α_1 -, Kainat-, M_2 - und NMDA-Rezeptoren. Die Grenzen sind durch geringe Dichten der α_1 -, Kainat-, M_2 - und NMDA-Rezeptor in *ifs1* definiert. (B) Grenzen zwischen 45/*ifs2*, *ifs2*/*ifs1*, *ifs1*/*ifs3* und *ifs3*/BA9 anhand von Dichteänderungen der α_1 -, M_1 -, M_2 - und 5-HT_{1A}-Rezeptoren. Areal *ifs2* ist durch geringere Dichten der vier Rezeptoren von 45 und *ifs1* abzugrenzen. Areal *ifs1* ist durch geringere Rezeptordichten als *ifs3* und *ifs3* durch höhere Dichten als BA9 charakterisiert. (C) α_1 -, Kainat-, GABA_A- und NMDA-Rezeptorautoradiogramme, die Grenzen zwischen *ifj1*, 44 und BA9 zeigen. Die α_1 -, Kainat-, GABA_A- und NMDA-Rezeptordichten sind in *ifj1* im Vergleich mit 44 und BA9 reduziert. (D) Grenzen zwischen *ifj2* und BA6 in α_1 -, Kainat-, M_2 - und α_2 -Rezeptorautoradiogrammen. BA6 ist von *ifj2* anhand erhöhter Rezeptordichten zu unterscheiden. Konzentrationangaben in fmol/mg Protein. Rot steht hierbei für hohe Rezeptordichten und blau für geringe Rezeptordichten. BA, Brodmann Areal (Brodmann 1909).

3 Ergebnisse

toren große Unterschiede in den Dichten, die maximal erreicht wurden. Die höchsten maximalen Rezeptordichten von ca. 4700 fmol/mg Protein wurden bei den BZ-Rezeptoren gemessen, die niedrigsten von ca. 90 fmol/mg Protein bei den nAch-Rezeptoren.

Bei der Grenzfindung wurden die Unterschiede in den Rezeptordichten von der pialen Oberfläche bis zur weißen Substanz berücksichtigt und mittels der Betrachter-unabhängigen Grenzfindung auf Signifikanz getestet und somit statistisch bestätigt. Diese Grenzen mussten über die koronaren Serienschritte hinweg reliabel sein, um ein Areal vollständig zu kartieren. Abbildung 6 zeigt einige Grenzen der *ifs*- und *iff*-Areale untereinander und zu Nachbararealen. Die Grenze zwischen dem Areal 45 (Amunts 1999, 2010) und *ifs1* war durch geringe α_1 -, Kainat-, M₂- NMDA-Rezeptordichten in *ifs1* charakterisiert. Zudem konnte *ifs1* von dem Brodmann-Areal 46 (BA46, Brodmann 1909) ebenfalls durch geringe Dichten dieser Rezeptoren abgegrenzt werden (Abb. 6A). Areal *ifs2* wurde aufgrund geringerer α_1 -, M₁-, M₂- und 5-HT_{1A}-Rezeptordichten vom Areal 45 und *ifs1* unterschieden. Die Grenzen zwischen *ifs3* und *ifs1* sowie zwischen *ifs3* und dem Brodmann Areal 9 (BA9, Brodmann 1909) wurden anhand höherer α_1 -, M₁-, M₂- und 5-HT_{1A}-Rezeptorkonzentrationen in *ifs3* identifiziert (Abb. 6B). Areal *iff1* unterschied sich von den Arealen 44 (Amunts 1999, 2010) und BA9 vor allem durch niedrigere α_1 -, Kainat-, GABA_A- und NMDA-Rezeptordichten (Abb. 6C). Weiterhin wurde *iff2* von BA6 durch geringere Dichten der α_1 -, Kainat-, M₂- und α_2 -Rezeptoren differenziert.

3.1.2 Anordnung der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* innerhalb des IFS und der IFJ

Die *ifs*- und *iff*-Areale waren sowohl in einer rostrokaudalen als auch einer dorsoventralen Orientierung im IFS und IFJ angeordnet (Abb. 7). Das Areal *ifs1* war das am weitesten rostral gelegene Areal. Es erschien zunächst und überwiegend auf der ventralen Bank des IFS und endete weiter kaudal meist im Fundus zwischen *ifs3* und *ifs4* oder in seltenen Fällen auf der dorsalen Bank in der Nähe zum Fundus. Dabei grenzte es ventral an das Areal 45 (Amunts 1999, 2010) und dorsal BA46 (Brodmann 1909). Weiter kaudal schloss sich *ifs2* an *ifs1* an, welches im Vergleich zu *ifs1* viel kleiner war. Es war ausschließlich auf der ventralen Bank des IFS zu finden und grenzte lateral zunächst an *ifs1*, weiter kaudal an *ifs4* an. Dorsal wurde *ifs2* von 45 flankiert. Auf der dorsalen Bank des IFS und in Nachbarschaft zu *ifs1* wurde *ifs3* identifiziert. Dieses Areal reichte in den meisten Fällen bis auf die Oberfläche des Gyrus frontalis medius, wo es zunächst kurz an BA46 und weiter kaudal an BA9 (Brodmann 1909)

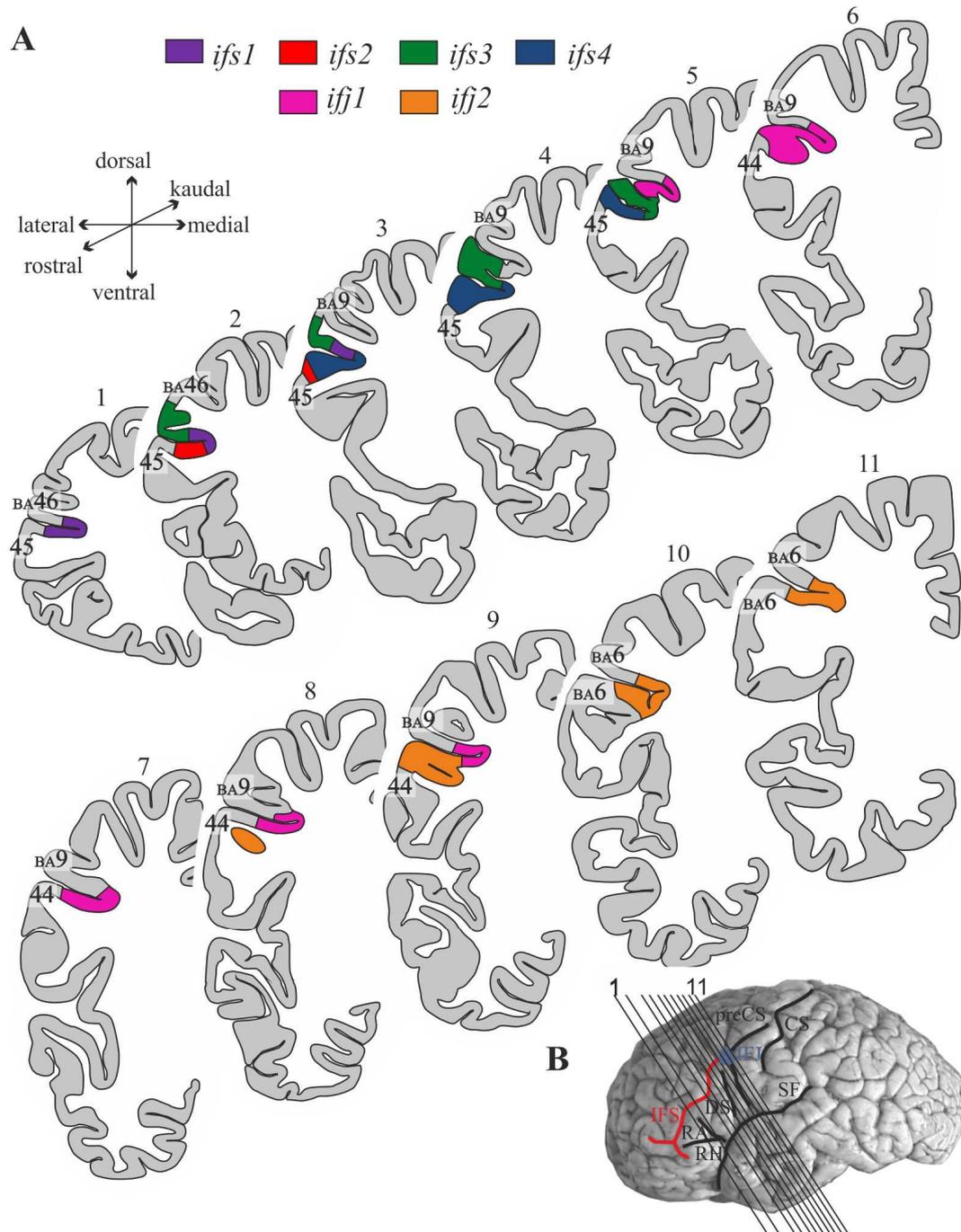


Abbildung 7: (A) Schematische Zeichnung der rostrokaudalen und zugleich dorsoventralen Anordnung der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* im IFS und der IFJ in koronaren Serienschritten einer linken Hemisphäre. (B) Lateralansicht der linken Hemisphäre mit den in A gezeigten Schnittebenen (schwarze Linien) und den wichtigsten Sulci sowie der IFJ. BA, Brodmann Areal, preCS, Sulcus precentralis inferior, IFS, Sulcus frontalis inferior, CS, Sulcus centralis, SF, Fissura sylvii, RA, Ramus ascendens der Fissura Sylvii, RH, Ramus horizontalis der Fissura Sylvii, DS, Sulcus diagonalis.

angrenzte. In weiter kaudalen Schnitten grenzte *ifs3* an *ifs4*, das sich an *ifs2* anschloss und auf der ventralen Bank und dem Fundus des IFS lokalisiert war. Bevor *ifs4* an *ifs3* angrenzte, wurden diese Areale durch das Ende von *ifs1* voneinander getrennt. Ventral wurde *ifs4*

3 Ergebnisse

entweder von 45 oder 44 (Amunts 1999, 2010) begrenzt. Abhängig vom Sulcuspatter des IFS und dessen Verbindung zum preCS ergaben sich unterschiedliche Grenzbeziehungen zwischen *ifs3* oder *ifs4* und *iff1*. Ono 1990 beschrieb bereits drei Varianten dieser Sulciverbindungen. Eine echte, die Pseudoverbindung und keine Verbindung dieser Sulci. Pseudoverbindungen und der Fall, dass die beiden Sulci nicht ineinander liefen, wurden in keinem der untersuchten Gehirne beobachtet. Diese traten auch in der Arbeit von Ono nur mit geringen Wahrscheinlichkeiten auf. Die echte Verbindung wurde noch einmal in eine kurze und eine lange echte Verbindung unterteilt. Trat eine lange echte Verbindung auf, dann grenzten entweder *ifs3* (medial) oder *ifs4* (lateral) an *iff1* an. Bei einer kurzen Verbindung hatten diese Areale keine gemeinsame Grenze. Die Lücke zwischen den IFS-Segmenten wurde dann durch das Angrenzen der dorsal (44) und ventral (BA9) vom IFS gelegenen Areale geschlossen. Das Areal *iff1* lag auf der ventralen Bank des IFS und reichte weiter kaudal bis in den Fundus und kurz auf die dorsale Bank. Ventral grenzte *iff1* an 44, dorsal an BA9 und endete kurz nach der Verbindung des IFS und preCS. Auf dem ventral zum IFS gelegenen Ast des preCS erschien kurz vor der Verbindung der beiden Sulci das Areal *iff2*, welches dann weiter kaudal auf der ventralen Bank des IFS lateral an *iff1* angrenzte. Dabei konnte *iff2* bis auf die Oberfläche des Gyrus frontalis inferior gelangen. Innerhalb der IFJ lag *iff2* überwiegend auf der ventralen Bank und reichte nur ein kurzes Stück in den preCS dorsal der IFJ herein. Dabei grenzte *iff2* rostral an 44 und BA9 und weiter kaudal an BA6 (Brodmann 1909). Die Anordnung und Grenzbeziehungen der *ifs*- und *iff*-Areale untereinander, aber auch zu den dorsal und ventral gelegenen Arealen wiesen eine hohe Variabilität auf, welche nicht zuletzt durch eine hohe Variabilität des IFS-Sulcuspatters und dessen Verbindung zum preCS bedingt war.

3.1.3 Rezeptorarchitektonische Charakteristika der *ifs*- und *iff*-Areale

Zur Quantifizierung der arealspezifischen Rezeptordichten wurden zunächst die mittleren Rezeptordichten ermittelt. Dazu wurden die einzelnen Rezeptordichten über den gesamten Kortexquerschnitt gemittelt (Tab. 5). Die ANOVA der mittleren Rezeptordichten der *ifs*-, *iff*- und der Nachbarareale zeigte keinen Rezeptor, der zwischen allen Arealen signifikante Unterschiede aufwies. Das heißt, dass die Parzellierung des IFS und der IFJ nicht auf der unterschiedlichen Verteilung eines Rezeptors zwischen den Arealen beruht, sondern der spezifischen Balance vieler Rezeptoren in dem jeweiligen Areal.

Die höchste mittlere Dichte von 3684 fmol/mg Protein der BZ-Rezeptoren wurde in *ifs3* gemessen, die niedrigste in *ifs2* mit einer Dichte der nAch-Rezeptoren von 63 fmol/mg Protein. Um die absoluten Konzentrationsunterschiede der einzelnen Rezeptoren auszugleichen, aber die relativen Unterschiede zwischen den Arealen zu erhalten, wurden die Dichten normiert und in jeweils einem polaren Koordinatensystem pro Areal aufgetragen. Die Linie, die alle normierten mittleren Rezeptordichten miteinander verbindet, bildete eine Form aus, die charakteristisch für dieses kortikale Areal ist und wird daher als normierter Rezeptor-Fingerprint bezeichnet (Abb. 8). Mit Hilfe dieser Grafik können die Unterschiede zwischen den Arealen direkt abgelesen werden.

Areal	AMPA	Kainat	NMDA	mGlu2/3	GABA _A	GABA _B
<i>ifs1</i>	276 ± 112	446 ± 187	998 ± 130	3333 ± 400	1574 ± 261	1934 ± 697
<i>ifs2</i>	271 ± 122	421 ± 139	978 ± 153	3273 ± 607	1468 ± 233	1836 ± 689
<i>ifs3</i>	297 ± 104	480 ± 169	1043 ± 172	3684 ± 624	1562 ± 272	1879 ± 659
<i>ifs4</i>	345 ± 232	435 ± 161	1055 ± 196	3568 ± 471	1533 ± 242	1802 ± 585
<i>ifj1</i>	316 ± 149	411 ± 188	857 ± 198	3404 ± 396	1353 ± 235	1976 ± 456
<i>ifj2</i>	341 ± 127	435 ± 201	911 ± 338	3390 ± 416	1224 ± 84	2101 ± 556

Areal	BZ	M ₁	M ₂	M ₃	nAch	α ₁
<i>ifs1</i>	2410 ± 757	458 ± 99	137 ± 60	692 ± 307	68 ± 38	311 ± 160
<i>ifs2</i>	2347 ± 656	448 ± 83	141 ± 73	673 ± 317	63 ± 36	297 ± 142
<i>ifs3</i>	2525 ± 736	493 ± 80	153 ± 82	709 ± 304	66 ± 25	321 ± 137
<i>ifs4</i>	2312 ± 586	448 ± 94	160 ± 81	730 ± 276	80 ± 29	323 ± 135
<i>ifj1</i>	2410 ± 639	433 ± 83	126 ± 40	746 ± 398	72 ± 31	285 ± 116
<i>ifj2</i>	2343 ± 492	489 ± 119	126 ± 48	684 ± 289	73 ± 36	328 ± 130

Areal	α ₂	5-HT _{1A}	5-HT ₂	D ₁	A ₁
<i>ifs1</i>	469 ± 250	282 ± 93	378 ± 173	78 ± 31	863 ± 487
<i>ifs2</i>	475 ± 239	269 ± 120	368 ± 175	74 ± 31	890 ± 485
<i>ifs3</i>	493 ± 264	290 ± 89	401 ± 184	73 ± 34	900 ± 579
<i>ifs4</i>	559 ± 197	304 ± 84	422 ± 186	73 ± 29	868 ± 462
<i>ifj1</i>	502 ± 154	291 ± 79	395 ± 155	76 ± 40	914 ± 450
<i>ifj2</i>	500 ± 185	331 ± 75	384 ± 149	77 ± 47	973 ± 585

Tabelle 5: Mittlere Rezeptordichten (gemittelte Dichten über den gesamten Kortex ± Standardabweichung) der 17 untersuchten Rezeptoren gemessen in den Arealen *ifs1* bis *ifs4*, *ifj1* und *ifj2*. Die Rezeptordichten sind in fmol/mg Protein angegeben. Die mGlu2/3-Rezeptoren weisen die höchsten Dichten auf, die nAch-Rezeptoren die geringsten.

Die auffälligsten Charakteristika der einzelnen Arealen werden im Folgenden erläutert. Die *ifs*-Arealen (*ifs1* bis *ifs4*) konnten von den *ifj*-Arealen (*ifj1* und *ifj2*) anhand ihrer mindestens 10% höheren NMDA- als auch ihrer mind. 8% und 5% niedrigeren GABA_B- und A₁-Rezeptordichten unterschieden werden. Die Prozentzahlen ergeben sich aus der Differenz der

3 Ergebnisse

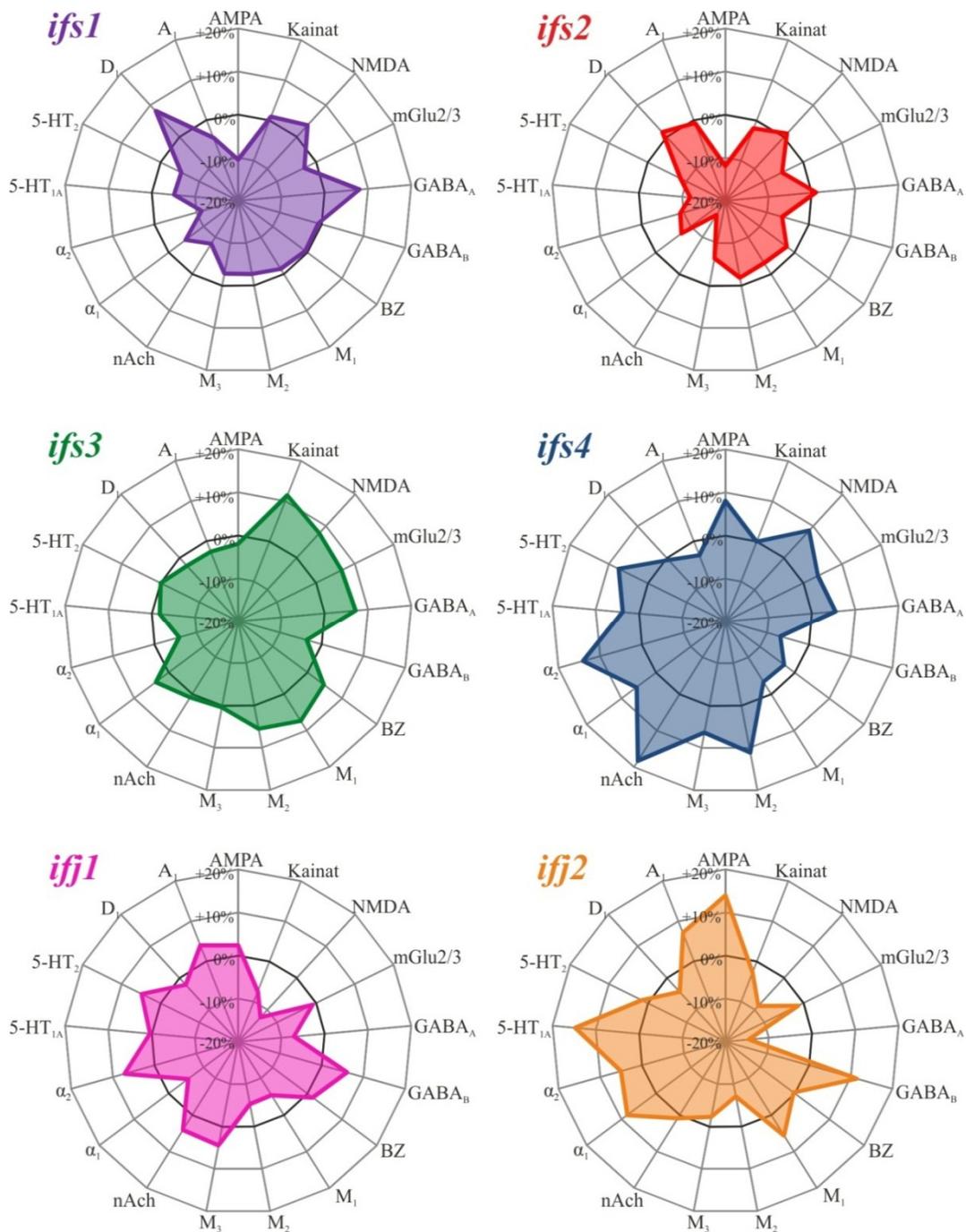


Abbildung 8: Normierte Rezeptor Fingerprints der *ifs*- und *ifj*-Areale. Die mittleren Dichten (über den gesamten Kortexquerschnitt gemittelte Dichten) der 17 Rezeptoren wurden normiert, um die absoluten Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Rezeptoren auszugleichen und den Fokus auf die relativen Unterschiede zwischen den Arealen innerhalb eines Rezeptors zu richten. Dabei werden die prozentualen Abweichungen der arealspezifischen mittleren Rezeptordichten vom Mittelwert des jeweiligen Rezeptors über die 6 Arealen angegeben und in einem polaren Koordinatensystem dargestellt. Die Linie, die die 17 mittleren, normierten Dichten miteinander verbindet, bildet eine Form aus, die spezifisch für dieses Areal ist und wird somit als Rezeptor Fingerprint bezeichnet. Die Unterschiede zwischen den Arealen wie z.B. die hohen AMPA-Rezeptordichten in *ifj2* oder die niedrigen Dichten der nAch-Rezeptoren in *ifs2* im Vergleich mit den anderen Arealen lassen sich somit direkt ablesen.

Rezeptordichte des benannten Areals und dem Areal, das die nächstgeringere Konzentration aufweist. Das Areal *ifs2* zeichnete sich gegenüber den anderen *ifs*-Arealen durch die geringsten Konzentrationen von 14 der 17 Rezeptoren aus. Ausnahmen waren nur die D₁-, α_2 - und A₁-Rezeptordichten. Dagegen wies *ifs3* die höchsten Dichten der Kainat- (Erhöhung um mindestens 10%), BZ- (6%) - und M₁- (9%) Rezeptoren auf. Areal *ifs4* war durch die höchsten AMPA-, M₂-, nAch-, α_2 -, 5-HT_{1A}- und 5-HT₂-Rezeptordichten gekennzeichnet. Der einzige Extremwert von *ifs1* im Vergleich mit den anderen *ifs*-Arealen war lediglich die 6% höhere D₁-Rezeptorkonzentration. Zuletzt unterschied sich *iff2* von *iff1* vor allem durch erhöhte AMPA- (11%), α_1 - (13%), 5-HT_{1A}- (13%) und M₁- (10%) Rezeptordichten.

Um zu untersuchen welche kortikalen Schichten die Unterschiede in den mittleren Rezeptordichten bedingen, wurden die mittleren Rezeptordichten jeder der sechs kortikalen Schichten extrahiert (laminäre Rezeptordichten, Abb. 9, 10). Auf diese Weise konnten ebenfalls solche laminäre Dichteunterschiede detektiert werden, die bei der Berechnung der mittleren Dichten „rausgemittelt“ wurden. Besonders auffällig war wieder, dass sich die Dichteprofile der einzelnen Rezeptoren, d. h. die Verhältnisse der Laminae untereinander, in jedem der Areale widerspiegeln. Zum Beispiel waren die GABA_B-Rezeptordichten in Lamina I relativ gering, stiegen in II auf ein Maximum an, fielen danach stetig von III-V ab und erreichten ihr Minimum in VI. Dagegen waren die Dichten der BZ-Rezeptoren in keiner Schicht höher konzentriert als in der Lamina III. Eine Ausnahme bildeten die nAch-Rezeptordichten der *iff*-Areale. Diese waren im Gegensatz zu denen in den *ifs*-Arealen in Lamina IV geringer als in III und V. Im Folgenden sollen analog zu den mittleren Rezeptordichten nur die extremsten Werte der einzelnen Areale herausgestellt werden. Die größten Unterschiede zwischen *ifs2* und den anderen *ifs*- und *iff*-Arealen lagen in den geringeren Dichten der 5-HT_{1A}-Rezeptoren in den Schichten II-VI, der α_1 -Rezeptoren in I-IV und der nAch-Rezeptoren in II-V. Areal *ifs3* war vor allem durch höhere Kainat-Rezeptordichten in den Laminae IV-VI und höhere BZ- und GABA_A-Rezeptorkonzentrationen in I-VI charakterisiert. Im Vergleich mit den anderen *ifs*-Arealen wurden bei *ifs1* höhere D₁-Rezeptordichten in den Schichten I-VI und niedrigere AMPA-Rezeptordichten in den Laminae I-III beobachtet. Erhöhte Dichten in den Laminae I-IV der M₂-, nAch-, und α_2 -Rezeptoren wurden in *ifs4* identifiziert. Die geringsten Kainat- und NMDA-Rezeptorkonzentrationen wurden in den Schichten II-VI und II-V von *iff1* gemessen. Das Areal *iff2* zeigte die höchsten Dichten der α_1 -Rezeptoren in den Schichten I-IV, der 5-HT_{1A}-Rezeptoren in I-III, der M₁-Rezeptoren in I-III und der AMPA-Rezeptoren in II-V.

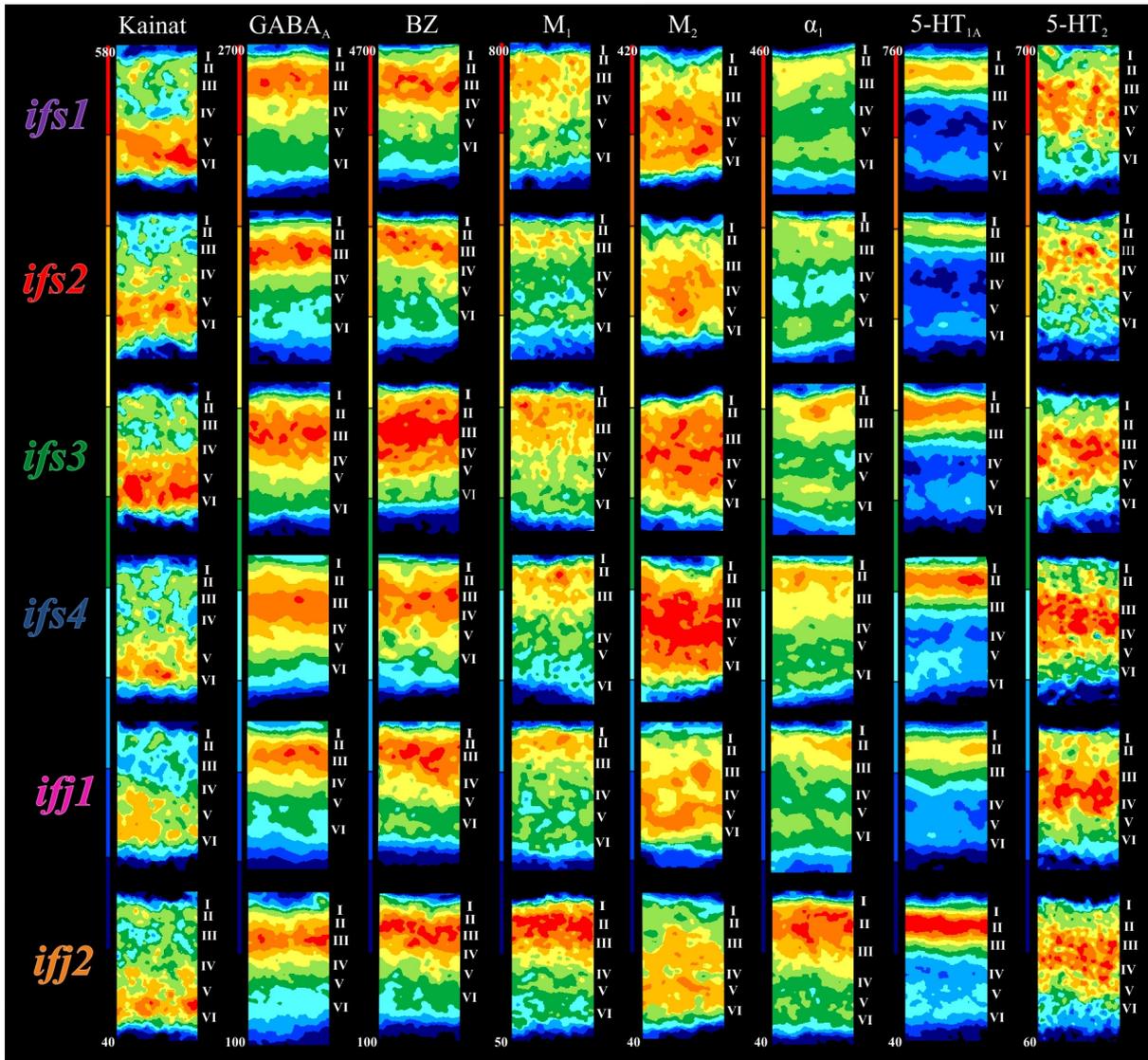


Abbildung 9: Laminäre Verteilungsmuster von acht der 17 untersuchten Rezeptoren in *ifs1* bis *ifs4*, *ifj1* und *ifj2*. Ausschnitte farbkodierter Autoradiogramme der Kainat-, GABA_A-, BZ-, M₁-, M₂-, α₁-, 5-HT_{1A}- und 5-HT₂-Rezeptoren einer linken Hemisphäre. Die Farbbalken zeigen die Rezeptordichten in fmol/mg Protein an. Rot kodiert für hohe und blau für geringe Rezeptordichten. Die römischen Ziffern I-VI markieren die Positionen der 6 kortikalen Schichten. Jeder Rezeptor zeigt ein typisches Verteilungsmuster über die sechs kortikalen Schichten, das bei den verschiedenen Arealen beibehalten wird. Besonders auffällige Unterschiede zwischen den Arealen sind beispielsweise die hohen Kainat-Rezeptordichten in den Schichten V und VI und die der BZ-Rezeptoren in II-IV von *ifs3* sowie die der M₂-Rezeptoren in den Laminae II-VI von *ifs4*.

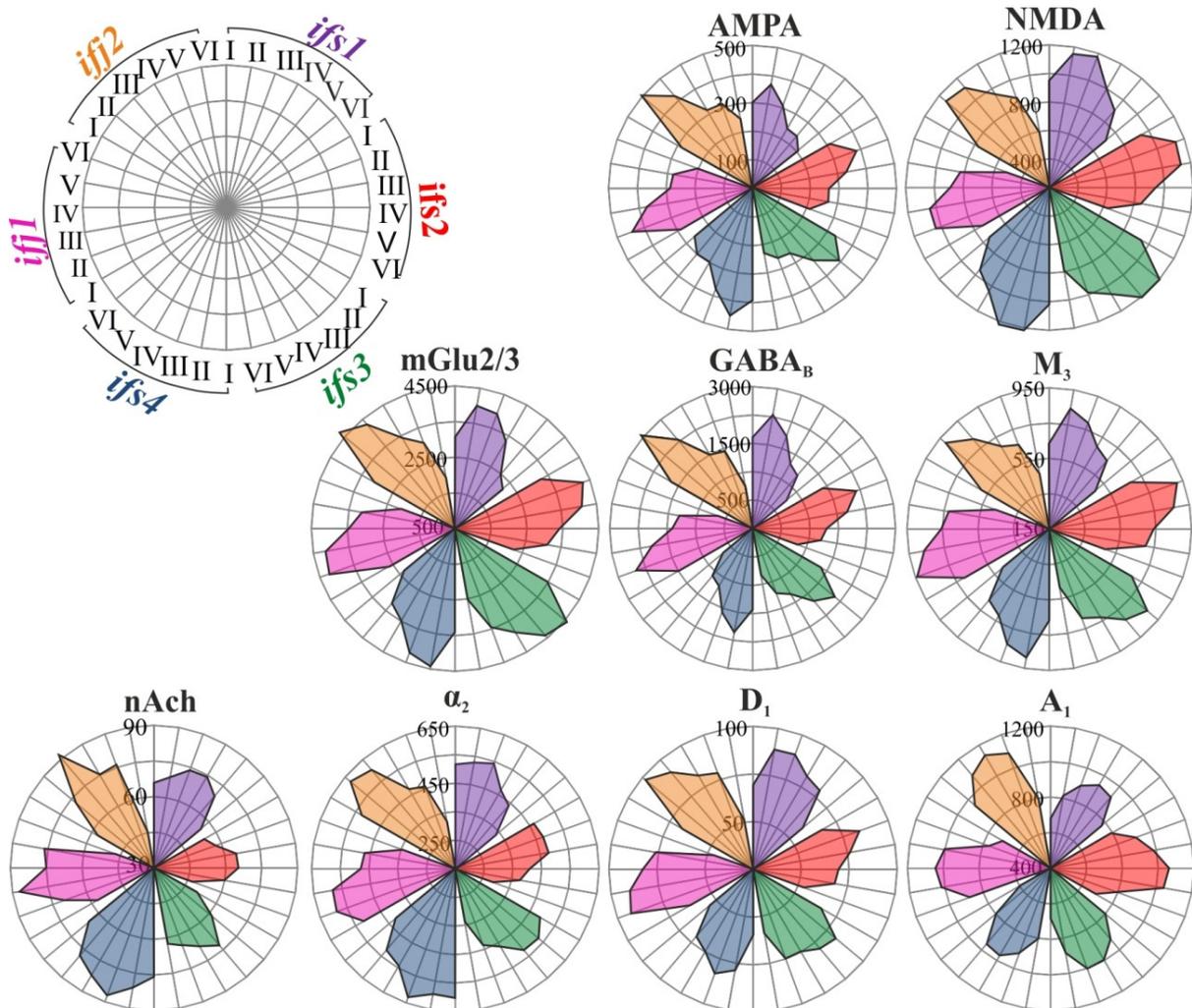


Abbildung 10: Laminäre (gemittelt über alle untersuchten Hemisphären) Rezeptordichten der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2*, die noch nicht in Abb. 8 gezeigt wurden, aufgetragen in Polarkoordinatensystemen. Konzentrationsangaben in fmol/mg Protein. Die römischen Ziffern I-VI markieren die 6 kortikalen Schichten. Die nAch-Rezeptordichten der Areale *iff1* und *iff2* zeigen eine von dem typischen Muster abweichende Verteilung mit einer relativ geringen Dichte in Schicht IV und einer dazu erhöhten in V. Auffällig sind z.B. die geringen NMDA-Rezeptordichten über alle Schichten von *iff1* und *iff2* sowie die hohen AMPA-Rezeptordichten in II/III von *iff2* und die geringeren GABA_B-Dichten in den Schichten II-V von *ifs4*.

3.2. Zytoarchitektur

Der IFS und IFJ wurde weiterhin auf Grundlage von Unterschieden in der Dichte und Größe von Zellen in den kortikalen Schichten kartiert. In zellkörper-gefärbten Koronarschnitten von 10 Gehirnen konnten ebenfalls die sechs rezeptorarchitektonischen Areale *ifs1* bis *ifs4*, *ifj1* und *ifj2* kartiert und von den Nachbararealen abgegrenzt werden.

3.2.1 Abgrenzung der *ifs*- und *ifj*-Areale von Nachbararealen

Abbildung 11 zeigt beispielhaft drei zytoarchitektonische Grenzen, die mit der Betrachter-unabhängigen Grenzbestimmung bestätigt wurden. Die Grenze zwischen dem kortikalen Areal 45 und *ifs1* war durch größere Pyramidenzellen vor allem in dem unteren Teil von Lamina III, eine ausgeprägte Lamina IV und einer höheren Zelldichte in Schicht VI von dem Areal 45 charakterisiert (Abb. 11A). Gleiche Kriterien galten für die Grenze zwischen *ifs2/ifs4* und 45. Das Areal 44 wurde von *ifs4* aufgrund von größeren Pyramidenzellen (jedoch weniger als in 45) im unteren Teil und weniger mittelgroßer Pyramidenzellen im oberen Teil der Lamina III, einer auffälligen säulenförmigen Anordnung (Stratifizierung) der Zellen und einer breiteren Lamina VI, die eine unscharfe Grenze zur weißen Substanz aufwies, differenziert (Abb. 11B). Die stärksten Kriterien für die Abgrenzung des Areals 44 von den *ifj*-Arealen waren ebenfalls die stärker ausgeprägte Schicht IV und die Stratifizierung der Zellen in 44. Die Abgrenzung der *ifs*- und *ifj*-Areale von BA46 und BA9 erfolgte aufgrund der gut entwickelten Kortexschicht IV, größeren Pyramidenzellen in den Laminae III und V sowie einer ausgeprägten Stratifizierung der Zellen, am stärksten ausgeprägt in den Schichten III und VI in BA46/9 (Abb. 11C). Das Areal BA6 konnte von *ifj2* leicht durch die fehlende Lamina IV unterschieden werden.

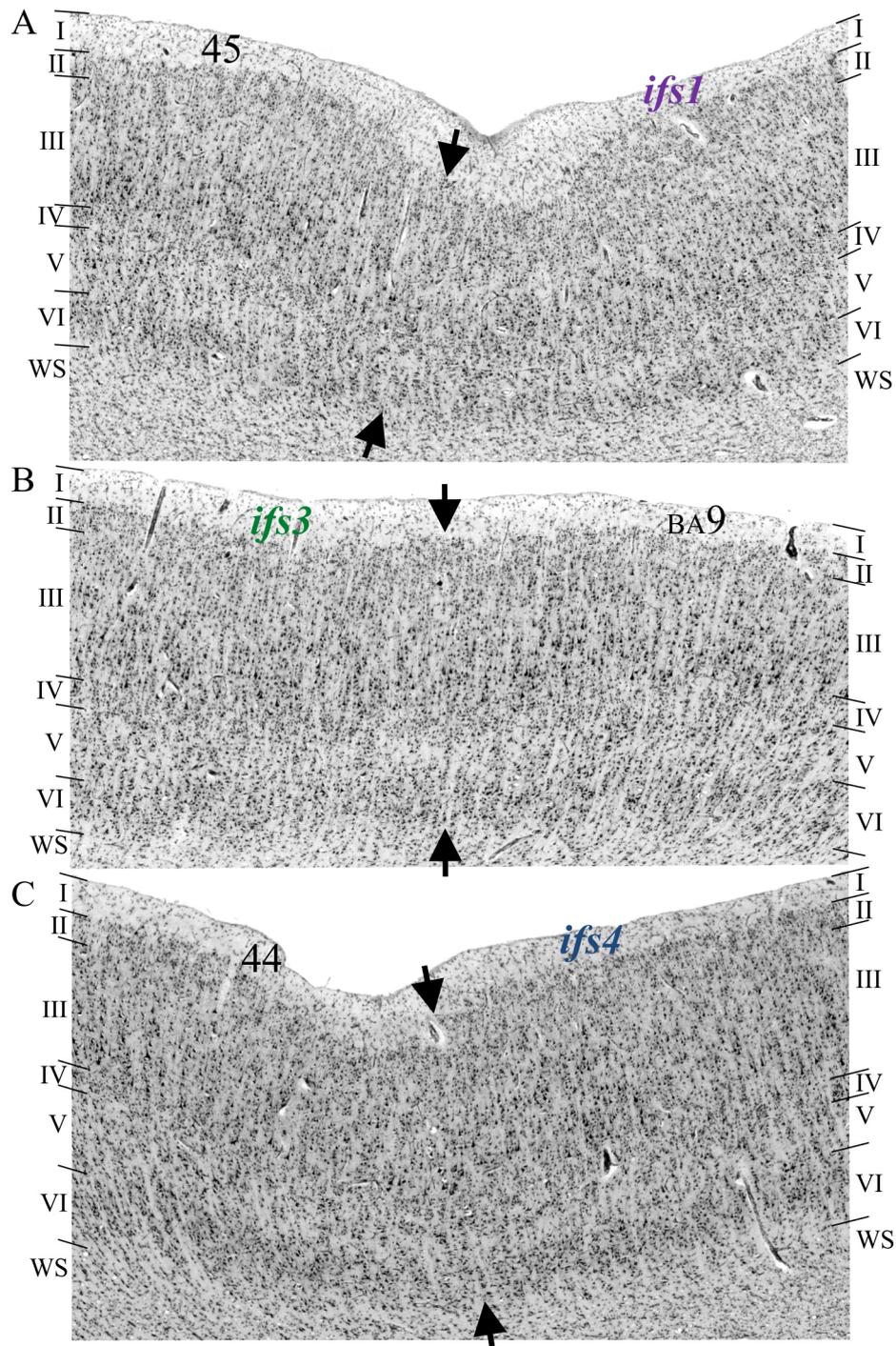


Abbildung 11: Zytoarchitektonische Arealgrenzen (markiert durch schwarze Pfeile) im IFS in zellkörpergefärbten Koronarschnitten. (A) Arealgrenze zwischen Areal 45 und *ifs1*. Das Areal 45 weist größere Pyramidenzellen im unteren Teil der Schicht III, eine breitere und dichtere Schicht IV und eine höhere Zelldichte der Schicht VI auf. (B) Grenze zwischen *ifs3* und BA9. BA9 besitzt eine gut entwickelte IV, größere Pyramidenzellen in II und V und eine ausgeprägte Stratifizierung der Zellen. (C) Grenze zwischen 44 und *ifs4*. Arealgrenzen sind durch schwarze Pfeile markiert. Areal 44 ist von *ifs4* durch eine auffälligere säulenartige Anordnung der Zellen, größere und mehr Pyramidenzellen in der unteren III sowie einer breiteren VI mit einer unscharfen Grenze zur WS abzugrenzen. Die römischen Ziffern I-VI und Linien markieren die Positionen der 6 kortikalen Schichten. BA, Brodmann Areal. WS, weiße Substanz.

3.2.2 Zytoarchitektonische Charakteristika der *ifs*- und *iff*-Areale

Zur Veranschaulichung der zytoarchitektonischen Merkmale der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* werden in Abbildung 12 arealtypische, zellkörper-gefärbte Kortexquerschnitte mit den zugehörigen Zelldichte- bzw. GLI-Profilen gezeigt. Alle *ifs*- und *iff*-Areale stellten dysgranuläre Areale dar, d.h. die relativ dünne Lamina IV bestand aus locker gepackten Körnerzellen, in die Pyramidenzellen der Laminae III und V hineinreichten. Dadurch wurden die Grenzen zwischen den Laminae III/IV und IV/V aufgelockert. Weiterhin waren die Areale durch eine unscharfe Grenze zwischen den Laminae II und III sowie einer Unterteilung der Schicht III in einen oberen Teil mit kleineren und einem unteren Teil mit großen Pyramidenzellen charakterisiert. Die Kortexschicht V zeigte einen Dichte-Gradienten von einer höheren Zelldichte im oberen Teil zu einer geringeren im unteren Teil. Im Folgenden werden die wichtigsten Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Areale erläutert. Das Areal *ifs3* unterschied sich von den anderen kartierten Arealen vor allem durch auffallend große Pyramidenzellen im unteren Teil der Kortexschicht III. Dieser Teil nahm mehr als die Hälfte der gesamten III-Schicht ein. Zudem zeigte *ifs3* eine starke Stratifizierung der Zellen über den gesamten Kortexquerschnitt. Dagegen zeigte *ifs2* einen dünneren unteren Teil der Schicht III mit weitaus kleineren Pyramidenzellen sowie eine generell geringere Zelldichte in Schicht III. Eine dünnere und weniger dicht gepackte Schicht IV und eine unauffällige Lamina VI waren ebenfalls Merkmale von *ifs2*. Das Areal *ifs4* wurde anhand einer größeren Anzahl von großen Pyramidenzellen in Schicht VI identifiziert, wodurch GLI-Werte von annähernd 16% erreicht wurden. Größere Pyramidenzellen waren ebenfalls im oberen Bereich von Lamina V aufzufinden und die Unterteilung von Schicht III war weniger stark ausgeprägt. Eine ähnliche Unterteilung der Schicht III wie die in *ifs3* wurde bei *ifs1* beobachtet. Jedoch waren die Pyramidenzellen kleiner und weniger dicht angeordnet. Weiterhin war *ifs1* durch eine homogenere Lamina V charakterisiert. Durch einen dichter gepackten unteren Teil dieser Lamina wurde die Lamina V/VI-Grenze unschärfer als bei den anderen Arealen. Die *iff*-Areale ließen sich von den *ifs*-Arealen durch einen unscharfen Übergang der Lamina VI zur weißen Substanz, eine weniger auffällige Schicht IV, sowie einer mit Körnerzellen dichter gepackten Schicht II abgrenzen. In den Arealen *iff1* und *iff2* waren die größten Pyramidenzellen in Schicht III vor allem in den untersten beiden Zellreihen vor der Grenze zur Lamina IV zu finden. Nur in Lamina III von *iff1* konnten auch im oberen Teil noch vereinzelt große Pyramidenzellen und damit eine höhere Zelldichte beobachtet werden. Areal *iff2* wies dagegen eine breitere Schicht IV und mehr große Lamina V-Pyramidenzellen auf.

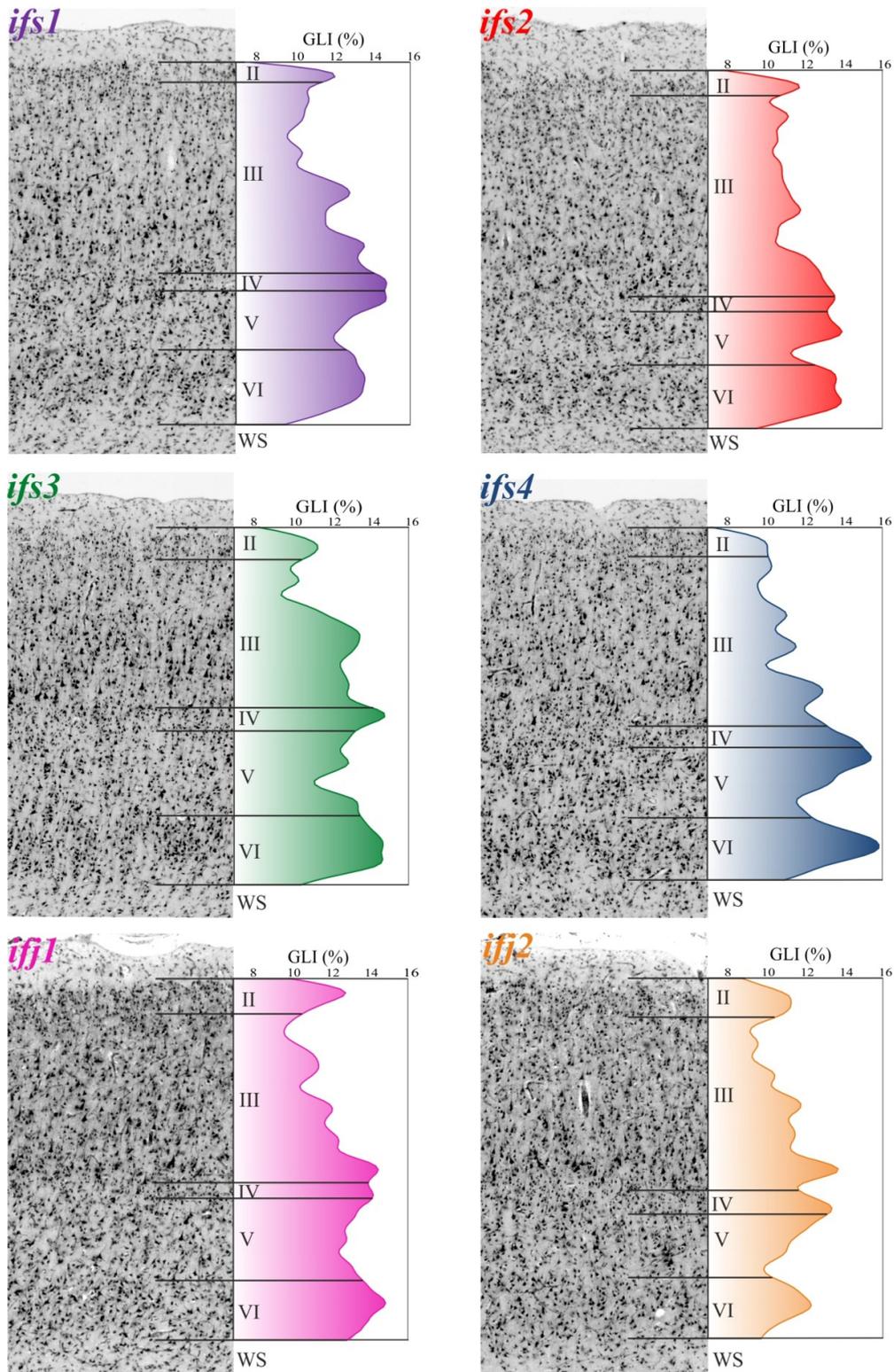


Abbildung 12: Zytoarchitektur der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2*. Gezeigt sind Ausschnitte von zellkörpergefärbten Koronarschnitten mit den zugehörigen Dichteprofilen. Die Zelldichte ist mittels des GLI (Grey Level Index) in % angegeben. Die römischen Ziffern kennzeichnen die Kortexschichten. Die schwarzen Linien markieren die Schichtgrenzen. Die dysgranulären (in die aus Körnerzellen bestehende Schicht VI reichen Pyramidenzellen der Laminae III und V hinein) Areale unterscheiden sich vor allem durch die Breite und Zelldichte in der Schicht IV, die Größe und Verteilung der Pyramidenzellen in III und V, die Zellpackungsdichte von VI und II und die Schärfe der Grenze zwischen Schicht VI und der WS. WS, weiße Substanz.

3.3 Hierarchische Clusteranalyse

Eine hierarchische Clusteranalyse wurde durchgeführt, um die neu kartierten Areale und deren Nachbarareale entsprechend ihrer zyto- und rezeptorarchitektonischen Ähnlichkeiten (laminäre Zell- und Rezeptordichten) in homogene Gruppen bzw. Cluster einzuteilen. Dabei waren sich die Areale innerhalb eines Clusters untereinander ähnlicher als diese zu Arealen in einem anderen Cluster. Die Euklidischen Distanzen wurden als Maß für die Ähnlichkeit zwischen den Arealen berechnet und in einem hierarchischen Clusterbaum visualisiert (Abb. 13A).

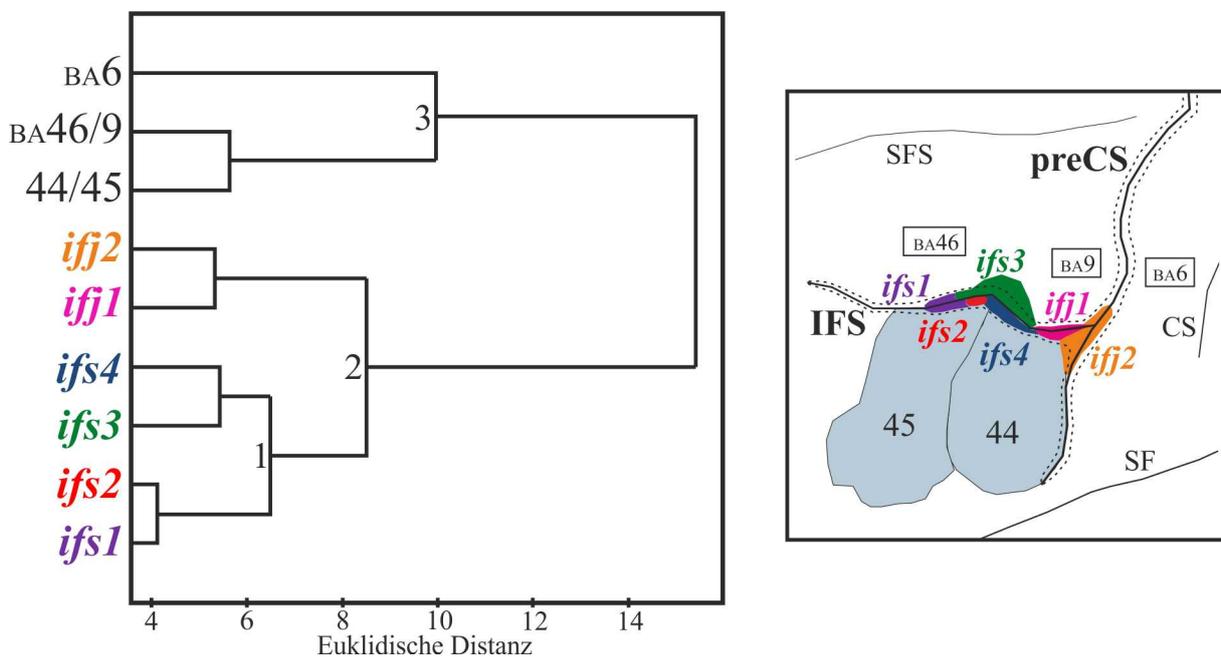


Abbildung 13: Hierarchische Clusteranalyse (kophenetischer Koeffizient: 0,92) der *ifs*-, *ifj*- und der angrenzenden Areale. Die Euklidische Distanz wurde als Maß für die rezeptor- und zytoarchitektonischen Ähnlichkeiten der Areale berechnet. Die Nummern markieren die unterschiedlichen Cluster. Rechts daneben sind die Lagebeziehungen der in der Clusteranalyse miteinbezogenen Areale dargestellt. Die Areale *ifs1* und *ifs2* als auch *ifs3* und *ifs4* zeigen aufgrund ihrer geringen Euklidischen Distanz die größten Ähnlichkeiten. Die *ifs*-Areale sind sich untereinander ähnlicher als eines dieser Areale zu einem der *ifj*-Areale und die *ifs*- und *ifj*-Areale sind strukturell distinkt von den angrenzenden Arealen. IFS, Sulcus frontalis inferior; preCS, Sulcus precentralis inferior, SFS, Sulcus frontalis superior, CS, Sulcus centralis; SF, Fissura Sylvii, BA, Brodmann Areal.

Die Clusteranalyse (Abb. 13) zeigte, dass sich die Areale *ifs1* und *ifs2* am Ähnlichsten waren. Hier betrug die Euklidische Distanz gerade einmal 4. Sehr ähnlich zueinander waren ebenfalls die Areale *ifs3/ifs4* und *ifj1/ifj2*. Weiterhin wiesen die vier *ifs*-Areale mehr zyto- und rezeptorarchitektonische Gemeinsamkeiten untereinander auf (Clusternummer 1) als mit den

beiden *iff*-Arealen. Es zeigte sich jedoch, dass die *ifs*- und *iff*-Areale im zweiten Cluster zusammengefasst werden konnten und somit strukturell distinkt von den Nachbararealen waren. Das dritte Cluster bestehend aus den ventral gelegenen Nachbarareale 44 und 45, den auf dem Sulcus frontalis medius lokalisierten Brodmann Areale 46 und 9 und dem Brodmann Areal 6 zeigten somit die größten Unterschiede zu den sechs neu kartierten *ifs*- und *iff*-Arealen.

3.4 Auftrittswahrscheinlichkeitskarten und Volumina

Zur Visualisierung der Lage, Ausbreitung und interindividuellen Variabilität der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* wurden arealspezifische Auftrittswahrscheinlichkeiten (Abb. 14) generiert. Dazu wurden die zytoarchitektonischen Areale und Gehirne 3D-rekonstruiert und auf ein Referenzgehirn projiziert. Danach wurden die Areale in den 10 untersuchten Gehirnen übereinander gelegt und die Auftrittshäufigkeit eines Areals in den einzelnen Voxeln farbkodiert. Rote Voxel wiesen auf eine Auftrittswahrscheinlichkeit von 100% hin, d.h. in allen untersuchten Gehirnen trat dieses Areal an dieser Stelle auf. Lila Voxel belegten, dass ein Areal nur in einem Gehirn an dieser Position identifiziert werden konnte (Auftrittswahrscheinlichkeit von 10%). Die Wahrscheinlichkeitskarten bestätigten die bereits in 3.1.2 beschriebene rostrokaudale und dorsoventrale Anordnung der Areale im IFS und der IFJ. Das Areal *ifs1* war das am weitesten rostral gelegene Areal. In kaudaler Richtung wurde zunächst *ifs2*, dann *ifs3* und zuletzt *ifs4* identifiziert. Das Areal *iff1* befand sich rostral zu *iff2*. Beide Areale waren in der IFJ lokalisiert. Ebenfalls die dorsoventrale Orientierung der Areale wurde in den Karten sichtbar. Während sich die Areale *ifs1*, *ifs2* und *ifs4* auf der ventralen Bank des IFS befanden, war *ifs3* auf der dorsalen Bank zu finden und reichte bis zum Gyrus frontalis medius.

Die Volumina der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Areal *ifs2* war das kleinste mit gerade einmal 38 mm³. Die nächstgrößeren Areale waren *ifs4* mit 115 mm³, *ifs1* mit 177 mm³, *iff1* mit 193 mm³ und *ifs3* mit 224 mm³. Das größte Volumen von 260 mm³ wurde für das Areal *iff2* berechnet. Die geringste interindividuelle Variabilität zeigten die Areale *ifs1* und *ifs3*. Die Auftrittswahrscheinlichkeitskarten (Abb. 14) dieser Areale wiesen einige rote Kernbereiche auf, in denen sich die Areale in allen kartierten Ge-

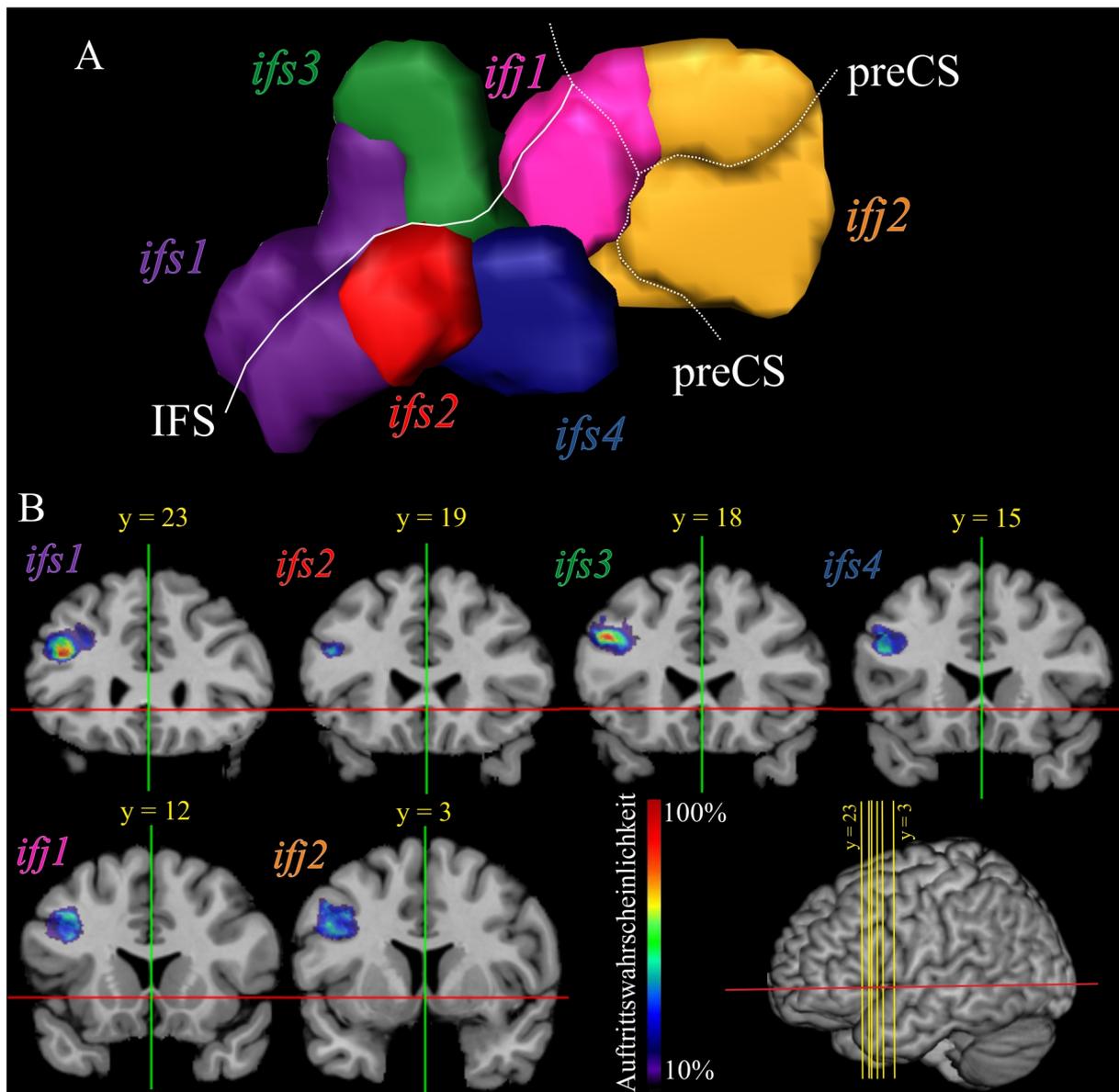


Abbildung 14: (A) 3D-rekonstruierte und auf das Referenzgehirn projizierte *ifs*- und *ifj*-Areale einer linken Hemisphäre bei der die rostrokaudale und dorsoventrale Anordnung der Areale dargestellt ist. IFS, Sulcus frontalis inferior; preCS, Sulcus precentralis inferior. (B) Koronarschnitte durch die Auftrittswahrscheinlichkeitskarten der *ifs*- und *ifj*-Areale der linken Hemisphäre im anatomischen MNI-Referenzraum. Die Häufigkeit für das Auftreten der Areale in den einzelnen Voxeln ist farbkodiert. Rote Voxel stehen für die Lokalisation des jeweiligen Areales in diesen Voxeln in allen 10 untersuchten Gehirnen (100% Auftrittswahrscheinlichkeit), lila gefärbte Voxel zeigen das Auftreten des Areals in nur einem Gehirn an dieser Stelle an (10% Auftrittswahrscheinlichkeit). Die gelben Zahlen geben die y-Positionen der Schnittebenen im anatomischen MNI-Raum an. Gut sichtbar sind die kleine Größe von *ifs2* und die relativ hohe interindividuelle Variabilität der Areale *ifs2*, *ifs4*, *ifj1* und *ifj2*, welche durch einen geringen Überlappungsgrad der Areale in den 10 kartierten Gehirnen (nur blaue Voxel, keine roten Voxel) angezeigt ist.

hirnen überlappten. Eine höhere interindividuelle Variabilität zeigten die Areale *ifs2* und *ifs4*. Die Auftrittswahrscheinlichkeiten betragen maximal 40%, unter anderem bedingt durch die, vor allem bei *ifs2*, kleinen Volumina. Die Karten der *ifj*-Areale zeigten große Ausdehnungen

bei geringen Überlappungen der Areale in den einzelnen Gehirnen. Diese Variabilität wurde durch die hohen individuellen Unterschiede der Sulcimuster in der IFJ hervorgerufen.

Areal	Mittelwert (mm ³)	Standardabweichung (mm ³)
<i>ifs1</i>	177	74
<i>ifs2</i>	38	19
<i>ifs3</i>	224	107
<i>ifs4</i>	115	53
<i>iff1</i>	193	81
<i>iff2</i>	260	149

Tabelle 6: Mittelwerte (gemittelt über alle Hemisphären) und Standardabweichungen der Volumina (in mm³) der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2*. Das kleinste Areal ist *ifs2* mit 38mm³, das größte *iff2* mit 260mm³.

3.5 Interhemisphärische Unterschiede

Die Volumina, sowie die Rezeptor- und Zelldichten der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* wurden weiterhin auf interhemisphärische Unterschiede untersucht. Die Volumina wurden mittels eines Permutationstests mit einer Bonferroni-Korrektur für multiple Vergleiche ($p < 0,05$) auf signifikante Unterschiede zwischen den Arealgrößen in der linken und rechten Hemisphäre und zwischen den Geschlechtern getestet. Diese Analyse zeigte, dass die Areale weder interhemisphärischen Volumenunterschiede, noch geschlechtsspezifischen Unterschiede aufwiesen. Die Untersuchung der rezeptor- und zytoarchitektonischen interhemisphärischen Unterschiede erfolgte aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs von nur drei linken und vier rechten rezeptorautoradiographisch markierten Hemisphären anhand von Mahalanobis Distanzen. Die Mahalanobis Distanz wurden als Maß für die interhemisphärische rezeptor- und zytoarchitektonische Verschiedenheit zwischen den Zell- und Rezeptordichteprofilen der rechten und linken Hemisphäre jedes Areals berechnet und anhand eines Permutationstest ($p < 0,05$) auf Signifikanz getestet wurden (Abb. 15). Lediglich 8 der 90 (15 Zell- bzw. Rezeptordichten x 6 Areale) berechneten Mahalanobis-Distanzen waren nicht signifikant: Die NMDA-Rezeptordichten der Areale *ifs3* und *iff1* NMDA-Rezeptoren, die GABA_A-Rezeptordichten des Areals *iff1*, die M₁-Rezeptordichten von *ifs4*, die nAch-Rezeptordichten von *ifs1* und *iff1* und die D₁-Rezeptordichten der Areal *ifs2* und *iff2*. Die größten Distanzen und damit interhemisphärischen Unterschiede wurden bei den 5-HT_{1A}-, BZ-, GABA_A- und Kainat-Rezeptordichten gefunden. Die mittleren Dichten der 5-HT_{1A}- und Kainat-Rezeptoren der rechtshemisphärischen Areale waren höher als die der

3 Ergebnisse

linkshemisphärischen. Die rechten Areale *ifs3*, *ifs4* und *iff2* wiesen höhere, *ifs1*, *ifs2* und *iff1* niedrigere mittlere BZ-Rezeptordichten auf als ihre linkshemisphärischen Korrelate. Die GABA_A-Rezeptordichten waren bei *ifs1* und *iff1* in der linken Hemisphäre und bei *ifs2*, *ifs3*, *ifs4* und *iff2* in der rechten Hemisphäre erhöht.

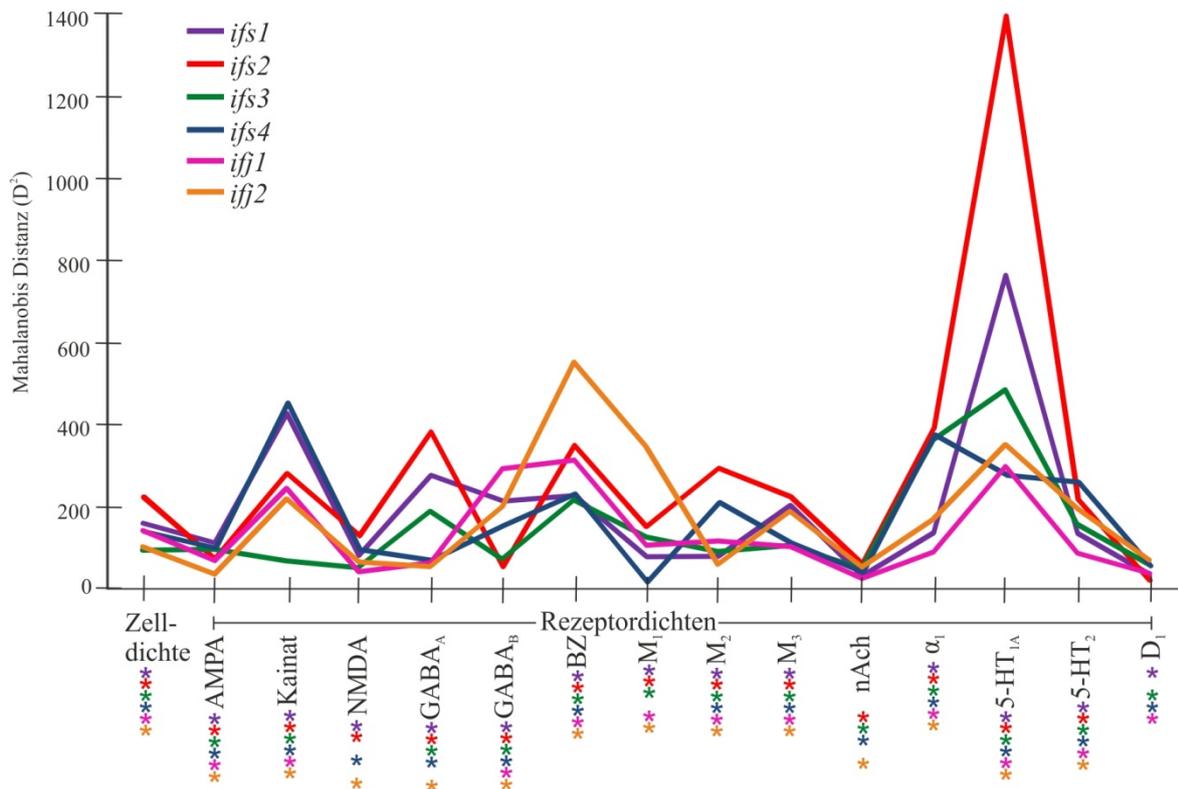


Abbildung 15: Mahalanobis Distanzen (D^2) zwischen den Zell- und Rezeptordichteprofilen der rechten und linken Hemisphären jedes neu kartierten Areals. Farbige Sterne stehen für die Areale, die signifikante (Permutationstest, $p \leq 0,05$) interhemisphärische Dichteunterschiede des jeweiligen Rezeptors/Zelldichte aufwiesen. Die größten interhemisphärischen Unterschiede liegen bei den 5-HT_{1A}-, BZ- und Kainat-Rezeptoren.

3.6 Funktionelle Metaanalyse

Um einen Einblick in die Funktionen und die Konnektivität der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* mit anderen Hirnregionen zu erhalten wurde eine Metaanalyse auf Grundlage von funktionellen Studien in der BrainMap Datenbank durchgeführt.

3.6.1 Funktionen der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2*

Um die Funktionen der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* zu untersuchen wurden zunächst die funktionellen Studien aus der BrainMap Datenbank selektiert, die Aktivierungen innerhalb des jeweiligen Areals berichteten. Die Areale wurden durch ihre maximalen Wahrscheinlichkeitskarten repräsentiert. Aufgrund der geringen Größe und hohen interindividuellen Variabilität von *ifs2* (s. 3.4) wurde *ifs2* mit *ifs1* zu *ifs1/2* zusammenfasst, da diese benachbarten Areale die größten zyto- und rezeptorarchitektonischen Ähnlichkeiten (s. 3.3) aufwiesen. Die Studien der BrainMap Datenbank waren in behaviorale Domänen zusammengefasst, um die in den Studien untersuchten mentalen Prozesse zu kategorisieren. Die fünf Hauptkategorien, Aktion, Kognition, Emotion, Selbstwahrnehmung, Wahrnehmung waren weiterhin in Unterkategorien unterteilt.

Die in den Arealen *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* signifikant überrepräsentierten (mit einem Wahrscheinlichkeitsquotienten über 1) behavioralen Unterkategorien waren ausschließlich kognitiven Prozessen zugeordnet (Abb. 16). Die Areale der linken Hemisphäre waren in die Sprachverarbeitung und Gedächtnisprozessen, vor allem dem Arbeitsgedächtnis involviert. Im Detail: Die Areale *ifs1/2* waren am Arbeitsgedächtnis, der semantischen Sprachverarbeitung und dem Sprechen beteiligt. Dem Areal *ifs3* wurde eine Beteiligung an phonologischen und semantischen Sprachprozessen sowie dem Sprechen und dem Arbeitsgedächtnis zugeschrieben. Die behavioralen Unterkategorien Syntax, Phonologie, Semantik und explizites Gedächtnis war in *ifs4* überrepräsentiert. Areal *iff1* war involviert in Phonologie, Arbeitsgedächtnis, Sprechen und Semantik. Die phonologische und orthologische Sprachverarbeitung waren Funktionen, die *iff2* zugeschrieben wurden.

Zusammengefasst waren die Areale der rechten Hemisphäre vor allem in Funktionen wie der musischen Verarbeitung, der Aufmerksamkeit und dem Arbeitsgedächtnis involviert. Während die Areale *ifs1/2* nur an der Musik-Verarbeitung beteiligt waren, konnte *ifs3* keiner behavioralen Domäne zugeordnet werden. Die unkorrigierten Daten belegten jedoch eine Beteiligung dieses Areal am Arbeitsgedächtnis und der Aufmerksamkeit. Logisches Denken und musische Prozesse wurden *ifs4* zugeschrieben. Areal *iff1* war in den behavioralen Unterkategorien der Aufmerksamkeit und dem Arbeitsgedächtnis involviert. Die räumliche Verarbeitung sowie das Arbeitsgedächtnis wurden als Funktionen des Areal *iff2* identifiziert.

3 Ergebnisse

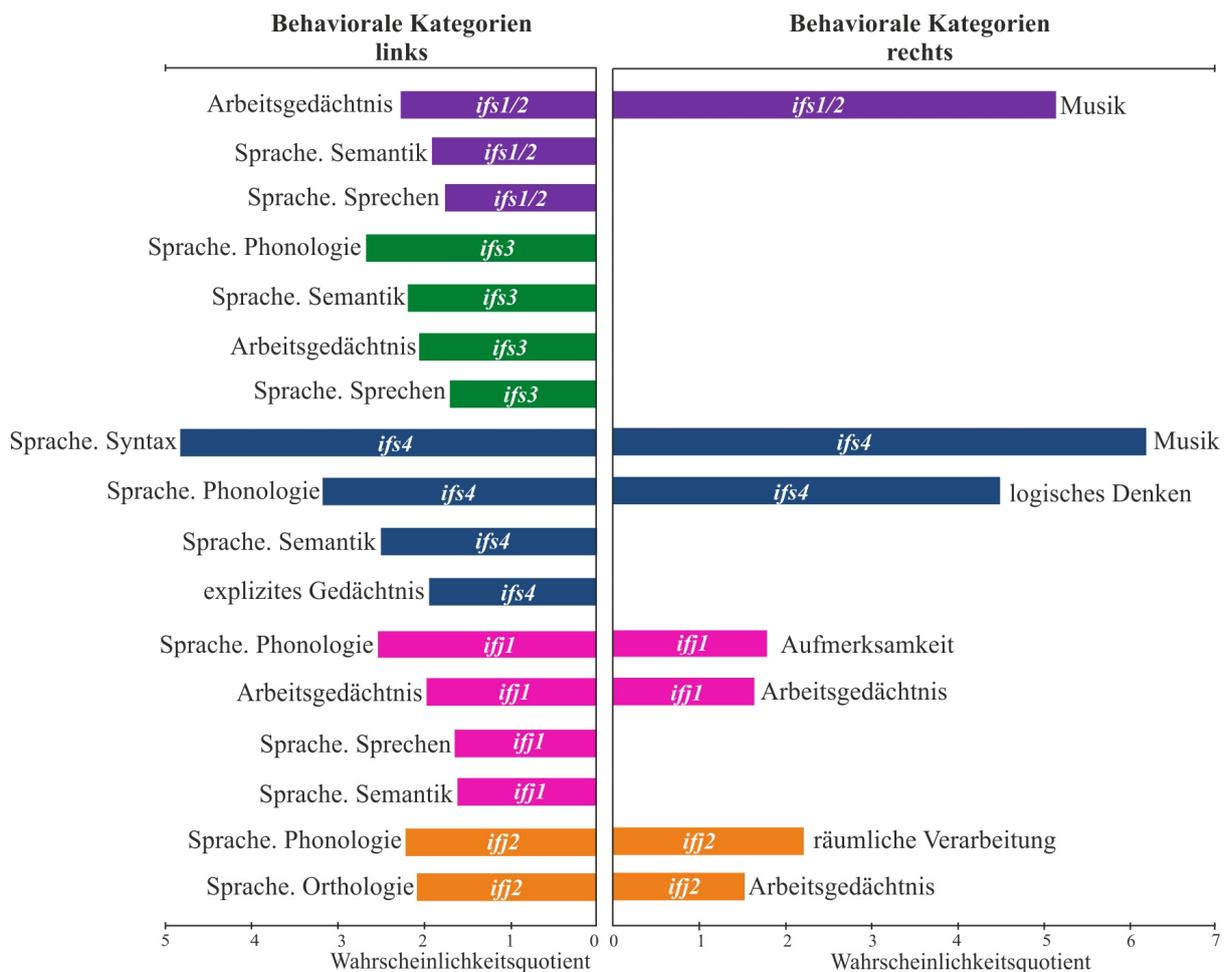


Abbildung 16: Unterkategorien der behavioralen Domäne Kognition, an denen die Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* der linken und rechten Hemisphäre beteiligt sind. Die Areale der linken Hemisphäre sind vor allem in unterschiedliche, mit Sprache assoziierte Prozesse und dem Arbeitsgedächtnis involviert, die der rechten Hemisphäre in die musische Verarbeitung, der Aufmerksamkeit und dem Arbeitsgedächtnis.

3.6.2 Konnektivität der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* mit anderen Hirnregionen

Mittels einer metaanalytischen Konnektivitätsmodellierung wurden die Hirnregionen identifiziert, die mit den Arealen *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* in den funktionellen Studien der BrainMap Datenbank ko-aktiviert waren (funktionelle Konnektivität). Dazu wurden alle berichteten funktionellen Aktivierungen der Studien analysiert, die Aktivierungen innerhalb des jeweiligen Areals (der MPM des jeweiligen Areals) aufwiesen.

Die gemeinsamen Ko-Aktivierungen der Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2*, auch Konjunktionen genannt, sind getrennt für die linke und rechte Hemisphäre in Abbildung 17 gezeigt. Die makroanatomischen Strukturen der Aktivierungscluster und die betroffenen

zytoarchitektonischen Areale sind in Tabelle 7 dokumentiert. Gemeinsam ko-aktiviert mit den *ifs*- und *iff*-Arealen der linken Hemisphäre waren die folgenden makroanatomische Strukturen: Bilateral waren der IFS, die IFJ, der Gyrus frontalis inferior (IFG), das frontale Operculum (FOP), der Sulcus precentralis (preCS), der Lobus insularis (IL), das Putamen, der Thalamus, der anteriore und posteriore mid-cinguläre Kortex (aMCC, pMCC), das supplementär-motorische Areal (SMA), der Gyrus parietalis inferior (IPG), der Sulcus intraparietalis (IPS), der Gyrus parietalis superior (SPG), der Gyrus occipitalis medius (MOG) und der Gyrus fusiformis (FG). Zusätzlich waren in der linken Hemisphäre der Gyrus postcentralis (postCG), der Gyrus orbitalis lateralis (LOG), der Gyrus occipitalis superior (SOG), der Gyrus occipitalis inferior (IOG) und in der rechten Hemisphäre der Gyrus frontalis medius (MFG), der Gyrus angularis (AG), das Cerebellum und der Gyrus temporalis inferior (ITG) ko-aktiviert. Die Areale *ifs1* bis *ifs4*, *iff1* und *iff2* der rechten Hemisphäre zeigten gemeinsame bilaterale Ko-Aktivierungen innerhalb des IFS, IFJ, IFG, preCG, FOP, MFG, IL, aMCC, pMCC, SMA, Thalamus, Caudatus, Putamen, IPG, IPS, SPG, Gyrus supramarginalis (SMG), parietalen Operculum (POP), MOG und FG. Linkshemisphärisch waren ebenfalls der postCG, der Gyrus temporalis superior (STG), der Gyrus temporalis medius (MTG) und IOG, rechtshemisphärisch SOG und MOG aktiviert. Unterschiede zwischen den Ko-Aktivierungsmustern der Areale wurden anhand der spezifischen Ko-Aktivierungen (Spezifika) der verschiedenen Areale untersucht (Abb. 17, Tab. 7). Die Spezifika waren die Aktivierungen, mit denen das betrachtete Areal signifikant stärker ko-aktiviert war als es eins der anderen Areale war. Dabei wurden zunächst alle *ifs*-Areale zu *ifs1-4* zusammengefasst, da die Spezifika der einzelnen *ifs*-Areale keine Ko-Aktivierungen aufwiesen, das heißt, keine Region war signifikant stärker mit einem *ifs*-Areal ko-aktiviert als *iff1* oder *iff2* es waren. Die spezifischen Ko-Aktivierungen von *iff2* der linken Hemisphäre waren bilateral in IFJ, IFG, preCG, pMCC, SMA, Putamen, Thalamus, Cerebellum, IPG, SMG, im linken postCG, FOP, IPS, IOG und MFG lokalisiert. Die von *iff1* im linken IFJ, IFG, SMA und im rechten IFS und SMA. Die linkshemisphärischen *ifs1-4*-spezifischen Ko-Aktivierungen wurden im rechten und linken IFS sowie dem linken LOG, IPS, AG, ITG und MTG identifiziert. Spezifika des rechten *iff2*-Arealen wurden bilateral im IFG, preCG, FOP, IL, pMCC, SMA, Putamen, SMG, POP, SPG und MOG, im linken Precuneus, ITG und Thalamus und rechten IPS und IPG beobachtet. Das Areal *iff1* war signifikant stärker mit dem rechten IFS, IFJ und IFG sowie dem AMCC und MFG beider Hemisphären ko-aktiviert.

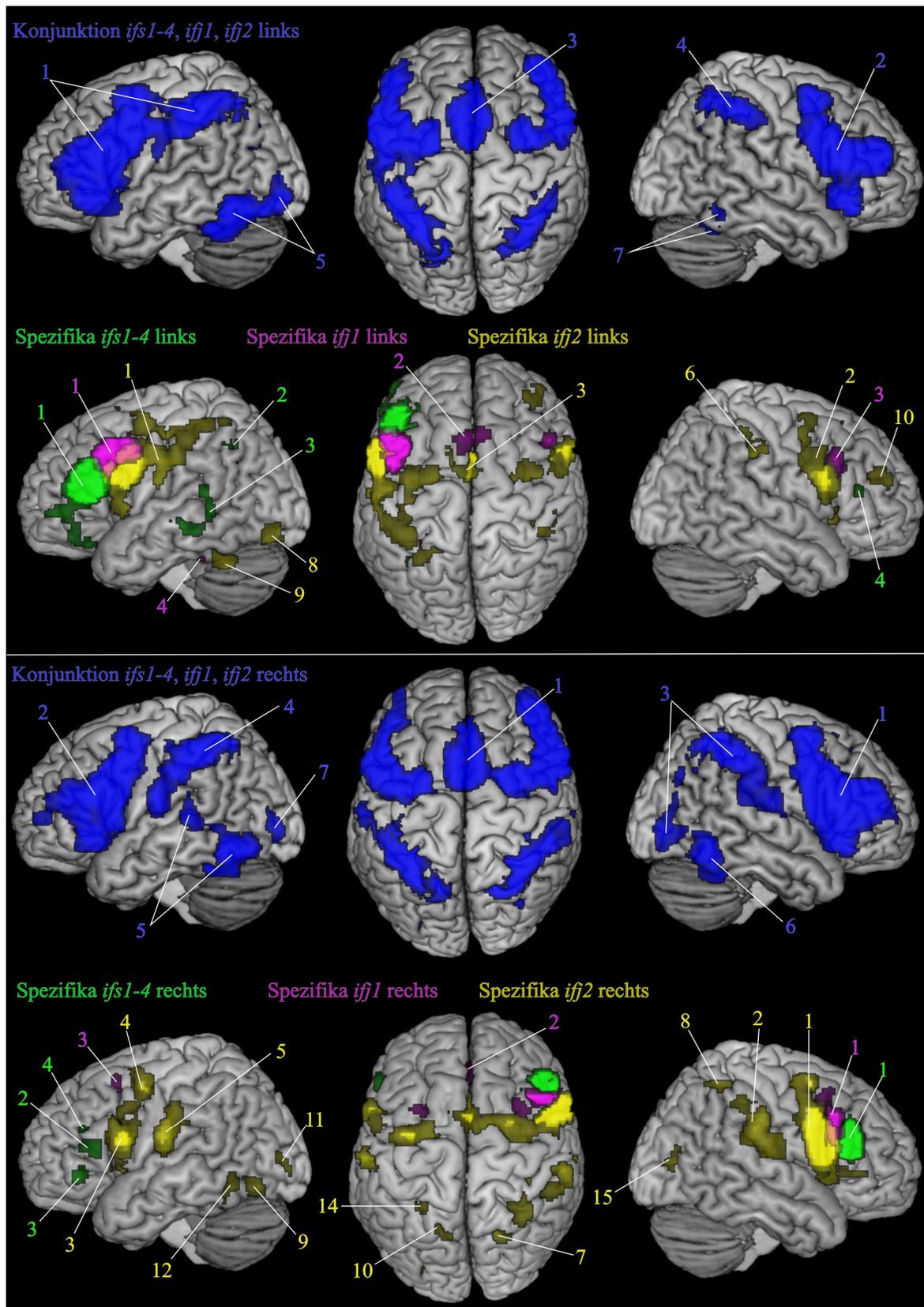


Abbildung 17: Konjunktion (blau) und Spezifika von *ifs1-4* (grün), *iff1* (pink) und *iff2* (gelb) der linken (obere Hälfte) und rechten Hemisphäre (untere Hälfte). Die Konjunktion zeigt die gemeinsamen Ko-Aktivierungen aller sechs Areale einer Hemisphäre. Die Spezifika sind die Aktivierungen, mit denen das jeweilige Areal signifikant stärker ko-aktiviert ist als es eins der anderen Areale ist. In Tabelle 7 sind die makroanatomischen Strukturen und zytoarchitektonischen Areale aufgelistet die die einzelnen Aktivierungscluster umfassen.

Cluster- nummer	Clustergröße (Voxel)	makroanatomische Strukturen	zytoarchitektonische Areale	MNI Koordinaten		
				x	y	z
Konjunktion <i>ifs1-4, ifj1, ifj2</i> links						
1	11412	L IFS, L IFG	<i>ifs1/2</i> (97%), <i>ifs3</i> (88%), <i>ifs4</i> (100%), 44 ^a (48%), 45 ^a (50%)	-44	46	19
		L IFJ, L preCG	<i>ifj1</i> (96%), <i>ifj2</i> (100%)	-46	4	32
		L FOP	OP6 ^m (38%), OP7 ^m (84%)	-51	13	1
		L LOG		-46	21	-3
		L preCG		-28	-4	54
		L IL		-34	22	1
		L Putamen		-23	-1	5
		L postCG	1 ^l (11%), 3b ^l (34%), 4p ^k (30%)	-52	-23	40
				-59	-18	27
				-38	-27	52
		L IPG	PFt ^c (53%)	-42	-42	46
		L IPS	hIP1 ^b (49%), hIP2 ^b (81%), hIP3 ^ε (100%)	-30	-58	48
		L SPG	7A ^ε (37%), 7PC ^ε (66%), 5L ^ε (8%)	-26	-63	47
		L SOG		-25	-74	41
2	5804	R IFS, R IFG	<i>ifs1/2</i> (46%), <i>ifs3</i> (32%), <i>ifs4</i> (98%), 44 ^a (57%), 45 ^a (34%)	51	21	23
		R IFJ	<i>ifj1</i> (100%), <i>ifj2</i> (100%)	51	9	29
		R FOP	OP7 ^m (49%)	50	15	-4
		R MFG		43	37	23
		R preCG		33	-2	55
		R IL		35	23	-1
		R Putamen		24	7	3
		R Thalamus		11	-16	7
3	3009	L aMCC, L pMCC,	32 ^{tf} (70%), 24c ^{tf} (48%), a24a' & a24b ^{tf} (58%), p24a' & p24b ^{tf} (23%), 24dv, 24dd ^f (32%)	1	16	44
		R aMCC, R pMCC,	32 ^{tf} (64%), 24c ^{tf} (56%), a24a' & a24b ^{tf} (50%), p24a' & p24b ^{tf} (16%), 24dv, 24dd ^f (38%)			
		L SMA, R SMA		0	6	52
4	2084	R IPG, R IPS	PFt ^c (15%), hIP1 ^b (43%), hIP2 ^b (72%), hIP3 ^ε (89%)	40	-46	45
		R AG, R SPG	7A ^ε (38%), 7PC ^ε (21%)	32	-59	49
		R MOG		29	-76	31
5	1671	L FG	FG3 ^c (42%), FG2 ^d (64%)	-44	-51	-14
		L IOG	hOc4la ⁱ (21%), hOc4lp ⁱ (27%), hOc4v ⁱ (8%)	-42	-66	-12
		L MOG		-38	-86	-10
		L Thalamus		-26	-93	-4
6	574	R Cerebellum		-10	-17	6
7	369	R FG	FG3 ^c (5%)	24	-62	-22
		R ITG		44	-56	-20
				47	-58	-10
Spezifika <i>ifj2</i> links						
1	2985	L IFJ, L IFG, L preCG	<i>ifj2</i> (22%), 44 ^a (42%)	-48	1	26
		L FOP	OP6 ^m (25%)	-44	4	8
		L preCG		-33	-11	76
		L postCG	3b ^l (28%), 4p ^k (30%), 1 ^l (10%)	-38	-29	52
				-51	-16	40
				-59	-18	26
		L SMG	PFt ^c (47%)	-50	-33	40
		L IPG		-49	-37	51
		L IPS	hIP2 ^b (22%)	41	-46	57
2	1159	R IFJ, R IFG	<i>ifj2</i> (73%), 44 ^a (35%)	58	7	25
		R preCG		48	0	28
				34	-7	62
3	1074	L pMCC	24dv, 24dd ^f (32%)	-4	4	44
		R pMCC	24dv, 24dd ^f (37%)	12	14	40
		L SMA, R SMA		-2	-4	53
4	280	L Putamen		-28	-2	4
5	269	R Putamen		30	12	2
6	255	R SMG	PFt ^c (12%)	50	-36	40
		R IPG		42	-40	56
7	154	L Thalamus		-13	-21	8
8	130	L IOG	hOc4lp ⁱ (6%), hOc4v ⁱ (5%)	-36	-88	-12
9	130	L Cerebellum		-42	-60	-28
10	122	L MFG		36	34	33
11	116	R Cerebellum		20	-59	-22
12	115	R Thalamus		13	-18	8
Spezifika <i>ifj1</i> links						

3 Ergebnisse

1	873	L IFJ, L IFG	<i>iff1</i> (46%), <i>iff2</i> (49%), 44 ^a (6%)	-42	11	46
2	277	L SMA, R SMA		0	15	57
3	123	R IFS	<i>ifs3</i> (16%)	48	14	38
4	87	L FG	FG3 ^c (4%), FG4 ^c (5%)	-36	-42	-18
Spezifika <i>ifs1-4</i> links						
1	1871	L IFS, L IFG	<i>ifs1/2</i> (100%), <i>ifs3</i> (88%), <i>ifs4</i> (94%)	-42	24	22
		L IFG	45 ^a (28%)	-42	40	5
		L LOG		-43	32	-8
				-40	25	-16
2	160	L IPS	hIP1 ^b (26%), hIP3 ^g (16%)	-34	-62	46
		L AG		-34	-62	38
				-34	56	34
3	156	L ITG		-60	-48	16
		L MTG		-59	-50	4
				-58	-38	-6
4	88	R IFS	<i>ifs1/2</i> (18%)	36	20	22
				36	28	18
Konjunktion <i>ifs1-4</i>, <i>iff1</i>, <i>iff2</i> rechts						
1	11657	R IFS, R IFG	<i>ifs1/2</i> (48%), <i>ifs3</i> (65%), <i>ifs4</i> (100%), 44 ^a (47%), 45 ^a (88%)	50	25	25
		R IFJ, R preCG	<i>iff1</i> (100%), <i>iff2</i> (100%)	48	8	28
		R FOP	OP6 (29%), OP7 (89%)	51	15	-2
		R preCG		30	-3	57
		R MFG		44	38	22
		R IL		37	21	1
		R aMCC, R pMCC,	32 ^{tf} (77%), 24c ^{tf} (55%), a24a' & a24b ^{tf} (57%), p24a' & p24b ^{tf} (26%), 24dv, 24dd ^f (39%)	0	8	52
		L aMCC, L pMCC	32 ^{tf} (66%), 24c ^{tf} (34%), a24a' & a24b ^{tf} (63%), p24a' & p24b ^{tf} (30%), 24dv, 24dd ^f (24%)			
		R SMA, L SMA		12	-15	7
		R Thalamus		-10	-18	7
		L Thalamus		23	5	3
		R Putamen		14	6	9
		R Caudatus		-12	-1	11
		L Caudatus		-46	24	24
2	6194	L IFS, L IFG	<i>ifs1/2</i> (76%), <i>ifs3</i> (63%), <i>ifs4</i> (100%), 44 ^a (81%), 45 ^a (23%)	-48	7	32
		L IFJ, L preCG	<i>iff1</i> (68%), <i>iff2</i> (100%)	-51	7	7
		L FOP	OP6 ^m (51%), OP7 ^m (81%)	-26	-5	56
		L preCG		-40	48	10
		L MFG		-33	-13	2
		L IL		-21	1	4
		L Putamen		34	-52	48
3	3776	R IPG, IPS	PFm ^c (18%), hIP1 ^b (46%), hIP2 ^b (89%), hIP3 ^g (90%)	30	-62	50
		R SPG	7A ^g (32%), 7PC ^g (32%), 7P ^g (12%)	60	-38	30
		R SMG	PFcm ^c (45%), PFop ^c (41%), PFt ^c (39%), PF ^c (30%)	56	-32	34
		R POP	OP1 ^h (39%)	63	-23	21
		R SOG		32	-75	36
		R MOG	hOc4lp ⁱ (33%)	33	-89	3
4	3205	L IPS	hIP1 ^b (31%), hIP2 ^b (73%), hIP3 ^g (92%)	-30	-54	50
		L IPG	PFt ^c (55%)	-40	-40	42
		L SPG	7A ^g (43%), 7PC ^g (59%), 5L ^g (8%)	-16	-66	56
		L SMG	PFop ^c (50%)	-56	-22	20
		L POP	OP1 ^h (43%)			
		L postCG	3b ^l (10%)	-40	-29	53
5	1292	L STG		-55	-41	12
		L MTG		-50	-58	4
		L FG, L IOG	FG2 ^d (53%), FG3 ^c (53%), hOc4la (21%)	-45	-64	-11
6	1003	R Cerebellum		20	-58	-20
		R FG	FG3 ^c (26%), FG2 ^d (51%), FG1 ^d (35%), FG4 ^c (8%)	45	-62	-14
7	220	R MOG	hOc4lp ⁱ (19%)	-26	-94	4
				-26	-80	26
Spezifika <i>iff2</i> rechts						
1	3777	R IFJ, R IFG, R preCG	<i>iff2</i> (80%), 44 (65%)	51	4	28
		R preCG		29	-4	58
		R FOP	OP6 ^m (34%), OP7 ^m (34%)	58	6	10
		R IL				
		R IFG		49	27	5
		R pMCC,	p24a' & p24b ^{tf} (26%), 24dv, 24dd ^f (24%)	5	10	36
		L pMCC	p24a' & p24b ^{tf} (25%)			
		R SMA, L SMA		5	0	52
		R Putamen		27	4	4
2	979	R SMG	PFop ^c (40%), PFt ^c (30%), PFcm ^c (37%), PF ^c (24%), PFm ^c (8%)	58	-32	34

		R POP	OP1 ^h (30%)	60	-24	21
		R IPS, R IPG	hIP2 ^b (46%)	42	-36	44
3	701	L IFG, L preCG	44 ^a (37%)	-56	4	21
		L FOP, L IL	OP6 ^m (21%)	-41	5	7
		L preCG		-54	-2	42
4	589	L preCG		-33	-8	53
5	529	L SMG	PFop ^c (47%), PFt ^c (30%)	-56	-26	36
				-60	-21	26
		L POP	OP1 ^h (47%)	-58	-20	22
6	285	L Putamen		-23	-2	3
7	182	R SPG	7P ^g (10%), 7A ^g (6%)	21	-70	53
8	138	R SPG	7PC ^g (16%)	36	-56	60
9	135	L IOG	hOc4la ⁱ (11%)	-42	-78	-8
10	96	L Precuneus	7A ^g (7%)	-14	-66	56
11	79	L MOG	hOc4lp ^j (9%)	-25	-94	6
12	74	L ITG		-50	-63	-5
13	55	L Thalamus		-14	-21	11
14	54	L SPG	5L ^g (3%), 7PC ^g (10%)	-26	-54	56
15	53	L MOG	hOc4lp ^j (3%)	33	-84	12
Spezifika <i>iff1</i> rechts						
1	625	R IFJ, R IFS, R IFG	<i>iff1</i> (74%), <i>iff2</i> (15%), <i>ifs3</i> (40%), <i>ifs4</i> (40%), 45 ^a (5%)	44	14	35
		R MFG		34	7	52
2	144	R aMCC,	32 ^{tf} (19%)	6	26	36
		L aMCC	32 ^{tf} (10%)			
3	53	L MFG		-28	7	56
Spezifika <i>ifs1-4</i> rechts						
1	781	R IFS, R IFG	<i>ifs1/2</i> (92%), <i>ifs3</i> (35%), <i>ifs4</i> (51%), 45 ^a (12%)	46	24	24
2	111	L IFG	45 ^a (11%)	-53	22	16
3	82	L IFG		-43	30	-1
4	53	L IFS	<i>ifs1/2</i> (8%)	-33	24	22

Tabelle 7: Makroanatomische Lokalisation und zytoarchitektonische Areale der Ko-Aktivierungskluster in Abbildung 17. ^a Amunts 1999 (44, 45); ^b Choi 2006 (hIP2, hIP1); ^c Caspers S 2006 (PFop, PFt, PF, PFm, PFcm), ^d Caspers J 2013 (FG1, FG2), ^e Lorenz 2014 (FS2, FG3), ^f Palomero-Gallagher 2009 (32^c, 24c^c, a24a' & a24b', p24a' & p24b', 24dv, 24dd), ^g Scheperjans 2008 (hIP3, 5L, 7PC, 7P, 7A) ^h Eickhoff 2006 (OP1), ⁱ Rottschy 2007 (hOC3v, hOC4v), ^j Kujovic 2013 (hOC4lp, hOC4la), ^k Geyer 1996 (4p), ^l Geyer 1999 (1, 3b), ^m Amunts 2010 (OP6, OP7). R, rechte Hemisphäre; L, linke Hemisphäre; IFS, Sulcus frontalis inferior; IFJ, inferior frontal junction; IFG, Gyrus frontalis inferior; MFG, Gyrus frontalis medius; preCG, Gyrus precentralis, postCG, Gyrus postcentralis; FOP, frontales Operculum; POP, parietales Operculum; LOG, Gyrus orbitalis lateralis; aMCC, anteriorer mid-cingulärer Kortex; pMCC, posteriorer mid-cingulärer Kortex; SMA, supplementär-motorisches Areal; IPG, Gyrus parietalis inferior; IPS, Sulcus intraparietalis; SMG, Gyrus supramarginalis; AG, Gyrus angularis; SPG, Gyrus parietalis superior; ITG, Gyrus temporalis inferior; MTG, Gyrus temporalis medius; STG, Gyrus temporalis superior; IOG, Gyrus occipitalis inferior; FG, Gyrus fusiformis; MOG, Gyrus occipitalis medius; SOG, Gyrus occipitalis superior; IL, Lobus insularis.

Spezifisch ko-aktiviert mit dem IFS und IFG der rechten und linken Hemisphäre waren die Areale *ifs1-4*.

Um trotzdem die Unterschiede zwischen den Ko-Aktivierungen der *ifs*-Areale identifizieren zu können, wurden die Spezifika dieser Areale ohne eine Beteiligung der *iff*-Areale berechnet (Abb. 18, Tab. 8). Eine Ko-Aktivierung war dann spezifisch für ein *ifs*-Areal, wenn es signifikant stärker mit diesem ko-aktiviert war als mit einem anderen *ifs*-Areal. Das Ergebnis zeigte, dass *ifs1/2* links mit dem linken IFS, IFG, dem rechten MFG und dem aMCC beider Hemisphären spezifisch ko-aktiviert war. Das linke Areal *ifs3* war nur mit dem linken IFS und IFJ, das linke *ifs4* mit dem linken IFS, IFG, IPS, SPG, STG, dem rechten preCG und der bilateralen SMA ko-aktiviert. Die spezifischen Ko-Aktivierungen des rechten *ifs1/2* wurden

3 Ergebnisse

bilateral im IFG, SMA, linken IFS, IFJ und preCG lokalisiert. Spezifisch für das Areal *ifs3* der rechten Hemisphäre war die Aktivierung des rechten IFS, für das rechte Areal *ifs4* der rechte IFS, IFJ, IFG und der linke preCG, SMA und aMCC.

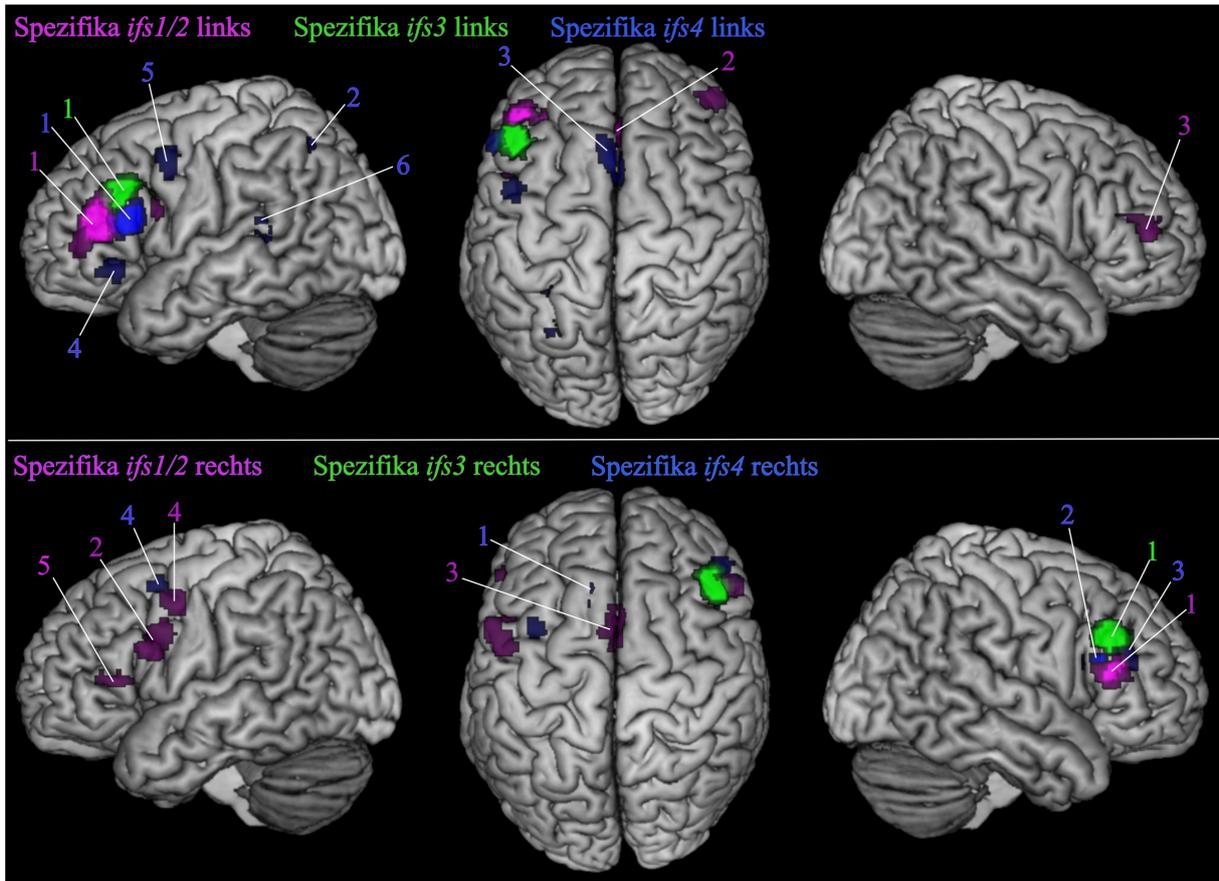


Abbildung 18: Spezifische Ko-Aktivierungen der Areale *ifs1/2* (pink), *ifs3* (grün) und *ifs4* (blau). Spezifische Ko-Aktivierungen sind die Aktivierungen, mit denen das jeweilige *ifs*-Areal signifikant stärker ko-aktiviert ist als eines der anderen *ifs*-Areale. In Tabelle 8 sind die makroanatomischen Strukturen und zytoarchitektonischen Areale aufgelistet die die einzelnen Aktivierungscluster umfassen.

Cluster- nummer	Clustergröße (Voxel)	makroanatomische Strukturen	zytoarchitektonische Areale	MNI Koordinaten		
				x	y	z
Spezifika <i>ifs1/2</i> links						
1	747	L IFS	<i>ifs1/2</i> (53%)	-38	29	18
2	215	L aMCC, R aMCC	a24a' & a24b' ^f (22%) 24c' ^f (23%), a24a' & a24b' ^f (38%)	3	25	29
3	134	R MFG		45	41	14
4	64	L IFG	44 ^a (4%)	-45	4	23
Spezifika <i>ifs3</i> links						
1	566	L IFS, L IFJ	<i>ifs3</i> (99%), <i>iff1</i> (65%)	-42	20	31
Spezifika <i>ifs4</i> links						
1	413	L IFS, L IFG	<i>ifs4</i> (60%), 44 (10%), 45 (12%)	-47	17	20
2	240	L IPG L IPS L SPG	hIP3 ^e (19%)	-35 -28 -28	-46 -58 -65	39 46 50
3	226	L SMA, R SMA		-1	11	55
4	95	L IFG		-43	24	-4
5	88	R preCG		-46	0	48

6	63	L STG		-49	-46	15
Spezifika <i>ifs1/2</i> rechts						
1	314	R IFS, R IFG	<i>ifs1/2</i> (34%), 45 ^a (6%)	46	21	18
2	537	L IFJ, L IFG	<i>iff2</i> (30%), 44 ^a (9%)	-46	5	26
		L preCG		-55	0	34
3	201	R SMA		77	6	58
		L SMA		1	-3	59
4	117	L preCG		-51	-6	49
5	73	L IFG	45 ^a (5%)	-50	22	12
Spezifika <i>ifs3</i> rechts						
1	444	R IFS	<i>ifs3</i> (92%), <i>ifs4</i> (33%)	44	22	28
Spezifika <i>ifs4</i> rechts						
1	169	L aMCC, L SMA	32 ^f (12%)	-6	18	44
2	94	R IFJ, R IFS	<i>iff1</i> (34%), <i>ifs4</i> (20%)	46	14	23
3	82	R IFG	45 ^a (3%)	54	30	25
4	51	L preCG		-36	1	56

Tabelle 8: Makroanatomische Lokalisation und zytoarchitektonische Areale der Ko-Aktivierungscluster in Abbildung 18. ^a Amunts et al. 1999 (44, 45); ^f Palomero-Gallagher 2009 (32^c, 24c^c, a24a' & a24b', p24a' & p24b', 24dv, 24dd), ^g Scheperjans 2008 (hIP3). IFS, Sulcus frontalis inferior; IFJ, inferior frontal junction; IFG, Gyrus frontalis inferior; MFG, Gyrus frontalis medius; preCG, Gyrus precentralis, aMCC, anteriorer mid-cingulärer cortex; SMA, supplementär-motorisches Areal; IPG, Gyrus parietalis inferior; IPS, Sulcus intraparietalis; SPG, Gyrus parietalis superior; STG, Gyrus temporalis superior.

4 Diskussion

In dieser Arbeit konnten sechs bisher unbekannte kortikale Areale, *ifs1-4*, *iff1* und *iff2*, im IFS und der IFJ mittels eines multimodalen Ansatzes aus zyto- und rezeptorarchitektonischer Kartierung identifiziert werden (s. 3.1, 3.2). Die rostrokaudale und zugleich dorsoventrale Anordnung (Abb. 7) dieser Areale, sowie deren Ausbreitung und interindividuelle Variabilität wurden anhand von Auftrittswahrscheinlichkeitskarten visualisiert (Abb. 14). Dass die zerebralen Sulci aus mehreren Arealen bestehen, beschrieben bereits Choi et al. (2006) und Scheperjans et al. (2008). Sie identifizierten drei zytoarchitektonische Areale, HIP1-3 (human intraparietal area 1-3), auf der ventralen Bank des Sulcus intraparietalis. Zudem wird die Existenz distinkter Areale im IFS und der IFJ durch eine Pilotstudie von Amunts et al. (2010) unterstützt, welche darauf hinwies, dass diese Hirnregion aus einer Reihe von strukturell unterschiedlichen Kortexarealen besteht.

Weiterhin lieferte die in dieser Arbeit durchgeführte multimodale Kartierungsmethode bereits einige detaillierte Parzellierungen des menschlichen Kortex in distinkte Areale, wie z.B. der Broca-Region (Amunts 1999, 2010), des Parietallappens (Caspers S 2006, 2013), des Gyrus fusiformis (Caspers J 2013a, b) und des cingulären Kortex (Palomero-Gallagher 2008, 2009). Der Vergleich der Lokalisation dieser Areale (z.B. anhand von Auftrittswahrscheinlichkeitskarten im Referenzraum) mit Aktivierungen in funktionell bildgebenden Studien zeigte, dass diese Parzellierungen ebenfalls funktionelle Relevanz besitzen. Denn den strukturell unterschiedlichen Arealen konnten ebenfalls unterschiedliche Hirnfunktionen zugeordnet werden (Amunts 2004, Bludau 2014, Caspers J 2014). In dieser Studie wurde ebenfalls für jedes Areal (*ifs1-4*, *iff1* und *iff2*) mit Hilfe der funktionellen Metaanalyse ein spezifisches funktionelles Profil ermittelt (Abb. 16). Die *ifs*- und *iff*-Areale sind an Funktionen beteiligt, die bisher den dorsal und ventral zum IFS gelegenen Regionen zugeschrieben wurden. Die Sprachverarbeitung als Aufgabe der Broca-Region (Broca 1861) und der DLPFK unter anderem als Substrat des Arbeitsgedächtnisses (Levy 2000). Obwohl die meisten behavioralen Domänen, wie z.B. das Arbeitsgedächtnis, mehreren Arealen zugleich (*ifs1/2*, *ifs3* und *iff1*) zugeschrieben werden, sind die Funktionen der Areale durch spezifische Kombinationen der einzelnen Funktionen charakterisiert und zu unterscheiden. Dies zeigt, dass diese Parzellierung des IFS und der IFJ in die Areale *ifs1-4*, *iff1* und *iff2* nicht nur von struktureller, sondern ebenfalls von funktioneller Bedeutung ist. Zudem ist bereits bekannt, dass Areale mit ähnlichen strukturellen Eigenschaften, wie ähnliche Rezeptorverteilungen, ebenfalls ähnliche Funktionen ausführen (Zilles 2009). Welche Areale

sich strukturell und funktionell am ähnlichsten sind, wurde mittels einer hierarchischen Clusteranalyse (Palomero-Gallagher 2009, Abb. 13) untersucht. Diese weist darauf hin, dass die Areale innerhalb der Sulci (*ifs1-4*, *iff1* und *iff2*) funktionell distinkt von den Arealen der benachbarten Gyri und somit der benachbarten funktionellen Domänen (Broca-Region, DLDPFK und Prämotorkortex) sind. Dass sich die Funktionen von Arealen innerhalb der Sulci von denen auf den benachbarten Gyri unterscheiden wird durch das axonal-mechanische Modell der Gyrifizierung des Gehirns (van Essen 1997, Zilles 2013) während der Ontogenese unterstützt. Der IFS und ipreCS sind primäre Sulci (Tamraz 2006), die sich schon früh im Fötus entwickeln (ipreCS in der 26 Woche, IFS in der 30 Woche; Chi 1977, Nishikuni 2012). Das axonal-mechanische Modell der Entwicklung von Sulci und Gyri nimmt an, dass die Kortexareale, die schon früh durch Axone miteinander verbunden sind, also funktionell relevant miteinander verbunden sind, über Spannungen in den Fasern zueinander gezogen werden, um die Distanz zwischen den Arealen zu verringern. Auf diese Weise wird die Distanz der Areale auf gegenüberliegenden Sulci-Bänken kleiner und die Faserverbindungen kürzer. Die Sulci-Areale weisen somit ein anderes Konnektivitätsprofil auf als die Areale auf den Gyri und es kann davon ausgegangen werden das Sulci-, als auch Gyri-Areale untereinander distinkte funktionelle Domänen bilden. Weiterhin zeigte die Clusteranalyse, dass *ifs1* und *ifs2* die größten rezeptor- und zytoarchitektonischen Gemeinsamkeiten aufweisen und sich somit ebenfalls funktionell stark ähnelten. Die Areale *ifs3* und *ifs4* sind sich ähnlicher als eines dieser Areale mit *ifs1* oder *ifs2* und die *ifs*-Areale sind strukturell wie funktionell distinkt von den *iff*-Arealen (Abb. 13). Diese funktionellen Gruppierungen spiegeln sich jedoch in der funktionellen Charakterisierung der Areale anhand der behavioralen Domänen (Abb. 16) nicht eindeutig wieder. Es lässt sich z.B. keine behaviorale Domäne finden, die ausschließlich den Arealen *ifs3* und *ifs4*, die jedoch zusammen „clustern“ (Abb. 13), zugeordnet ist. Diese detaillierten funktionellen Verwandtschaften könnten durch die Einteilung der funktionellen Studien in die sehr allgemein gehaltenen behavioralen Domänen in der BrainMap Datenbank verloren gegangen sein. Eine feinere Unterteilung dieser Funktionen nach den in den Experimenten angewendeten Paradigmen würde vermutlich dazu führen, dass zumindest den *ifs*-Arealen Funktionen zugeordnet werden können, die die *iff*-Areale nicht ausführen und somit die Ergebnisse der Clusteranalyse unterstützen. Ein weiteres methodisches Problem könnte die Auflösung der funktionell bildgebenden Verfahren (3-Tesla-fMRT, Voxelgröße 3 x 3 x 3 mm, Schneider 2007) darstellen, die der detaillierten Kartierung des IFS und der IFJ und der hohen Auflösung, die

in dieser *post mortem* Studie erreicht wurde, nicht gerecht wird. Auf diese Weise könnten Aktivierungsfoki, die eigentlich in einem Nachbarareal lokalisiert sind fälschlicherweise einem (anderen) *ifs*- oder *iff*-Areal zugeschrieben werden und dazu führen, dass benachbarten Arealen die gleiche Funktion zugeordnet wird. Jedoch liefern die Ergebnisse der metaanalytischen Konnektivitätsmodellierung (Abb. 17, 18, Tab. 7, 8) einen Hinweis für die starke funktionelle Ähnlichkeit der *ifs*-Areale und deren Trennung von den *iff*-Arealen. Da eine bestimmte Hirnfunktion nicht auf die Aktivität eines einzigen Areals zurückzuführen ist, sondern über das Zusammenspiel mehrerer Areale in einem Netzwerk verarbeitet wird, kann davon ausgegangen werden, dass Areale, die mit ähnlichen Hirnregionen ko-aktiviert sind ebenfalls ähnliche Funktionen ausführen. Die Areale *ifs1/2*, *ifs3* und *ifs4* weisen sehr ähnliche Ko-Aktivierungsmuster auf, wodurch jedes dieser Areale nur mit wenigen Arealen stärker ko-aktiviert als eines der anderen Areale es ist (Spezifika, Abb. 18, Tab. 8). Dies deutet auf eine enge funktionelle Verwandtschaft dieser Areale und Separierung von den *iff*-Arealen hin.

Bereits Brass et al. (2002, 2004) und Derrfuss et al. (2004) entdeckten bei Studien zur kognitiven Kontrolle eine funktionelle Region in der Verbindung des IFS und des inferioren preCS, die bei der Verarbeitung von Aufgabenwechseln aktiv ist. Diese bezeichneten sie als IFJ-Region (inferior frontal junction area). Die IFJ-Aktivierungen der unterschiedlichen Individuen zeigen dabei eine hohe Variabilität, sowohl bezüglich der dokumentierten Koordinaten, als auch der Ausbreitung und Größe des Aktivierungsclusters (Derrfuss 2009). Die Autoren vermuteten zudem, dass das zytoarchitektonische Areal hinter der IFJ-Aktivierung im preCS unter der Verbindung mit dem IFS liegen muss und sich sowohl in den IFS als auch in den Teil des preCS über der Verbindung ausweiten könnte. Diese Beschreibung stimmt weitgehend mit der Lage von *iff2* im preCS ventral und dorsal der IFJ und der von *iff1* im IFS überein (Abb. 7). Die Auftrittswahrscheinlichkeitskarten dieser Areale weisen wie die Koordinaten der IFJ-Aktivierung (Derrfuss 2009) ebenfalls eine hohe interindividuelle Variabilität auf (Abb. 14), die auf die unterschiedlichen Varianten der Sulcimuster und deren Verbindungsmöglichkeiten zurück zu führen ist. Diese hohe Variabilität des IFS und ipreCS wurden bereits von Ono (1990) beschrieben. Die Beschreibung der Lage und Ausbreitung der IFJ-Aktivierung von Derrfuss et al. 2009 zeigt weiterhin, dass diesem Cluster die Aktivierung beider *iff*-Areale zugrunde liegen muss. Das heißt, beide Areale sind gleichermaßen bei der Verarbeitung der Paradigmen zur Untersuchung von Aufgabenwechseln (Brass 2002, 2004, Derrfuss 2004) beteiligt. Um die Funktionen von *iff1* und *iff2* zu differenzieren, müssten die Paradigmen der Experimente so

weit spezifiziert werden, dass zwei distinkte Aktivierungscluster (ein *iff1*- und ein *iff2*-Cluster) detektiert werden können.

Drei distinkte Aktivierungscluster innerhalb des IFS der linken Hemisphäre wurden bei einer Studie zum verbalen Arbeitsgedächtnis identifiziert (Makuuchi 2009). Das anteriore, mittlere und posteriore LIFS (left inferior frontal sulcus)-Cluster waren, wie die in dieser Arbeit kartierten Areale, in rostrokaudaler Orientierung im IFS angeordnet. Da das posteriore LIFS-Cluster in der Verbindung zwischen IFS und preCS lokalisiert war, liegt die Annahme nahe, dass sich dieses Cluster aus den Arealen *iff1* und *iff2* zusammensetzt. Das anteriore und mittlere LIFS-Cluster könnten an Anlehnung an die Ergebnisse der hierarchischen Clusteranalyse (Abb. 13) und ihrer rostrokaudalen Anordnung aus den Arealen *ifs1/2* (anteriores) und *ifs3/4* (mittleres Cluster) bestehen. Diese drei Aktivierungscluster innerhalb des IFS und IFJ unterstreichen die funktionelle Relevanz der in dieser Arbeit identifizierten Parzellierung, sowie deren funktionelle Verwandtschaft, die mittels der Clusteranalyse auf Grundlage der Rezeptor- und zytoarchitektonischen Ähnlichkeiten identifiziert wurde.

Die in dieser Studie untersuchten interhemisphärischen Rezeptor- und zytoarchitektonischen Unterschiede (Abb. 15) weisen darauf hin, dass die Areale der linken und rechten Hemisphäre unterschiedliche Funktionen ausführen. Die Ergebnisse der funktionellen Metaanalyse bestätigten diese Annahme und zeigen eine funktionelle Lateralisierung der Areale, sowohl auf der Ebene der behavioralen Domänen, mit denen diese assoziiert sind (Abb. 11), als auch ihrer Konnektivitäten mit anderen Hirnregionen (Abb. 17, Tab. 7). Während die *ifs*- und *iff*-Areale der linken Hemisphäre an Prozessen zur Sprachverarbeitung beteiligt sind, zeigen die Areale der rechten Hemisphäre eine Beteiligung an musischen Prozessen und der Aufmerksamkeit. Diese Ergebnisse stimmen mit der bereits bekannten linkshemisphärischen Lateralisierung von Sprache (Broca 1861, Friederici 2011) und der rechtshemisphärischen Verarbeitung von musischen Prozessen (Koelsch 2002) überein. Innerhalb der letzten Jahrzehnte wurde eine Vielzahl von bilateralen Hirnregionen, aber ebenfalls links lateralisierten Arealen identifiziert, die an der Verarbeitung von Sprache beteiligt sind. Friederici und Gierhan (2013) beschrieben ein Sprachnetzwerk, das neben der Broca-Region, dem Wernicke-Zentrum (auf dem STG gelegen) und weiteren temporalen Regionen aus parietalen und okzipitalen Regionen, sowie dem dorsalen Prämotorikortex (vor allem auf dem preCG gelegen) besteht. Weiterhin betonten sie, dass die Verbindung zwischen dem linken IFG und STG für die Verarbeitung komplexer Syntax verantwortlich ist. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen zeigt das linke Areal *ifs4*, das als einziges in die syntaktische

4 Diskussion

Sprachverarbeitung involviert ist (Abb. 16), ebenfalls eine stärkere Ko-Aktivierung mit dem linken STG als die anderen Areale (Spezifika, Abb. 18, Tab. 8). Die übrigen Hirnregionen des Sprachnetzwerks (Friederici und Gierhan 2013) lassen sich bei den Ko-Aktivierungen aller *ifs*- und *iff*-Areale wiederfinden, was deren Beteiligung an diesem Netzwerk und damit der Sprachverarbeitung bestätigt. Interessanterweise zeigten Koelsch et al. (2002), dass ein bilaterales Netzwerk ähnlich dem Sprachnetzwerk für die Verarbeitung von musischen Prozessen aktiviert wird. Dies erklärt die Ähnlichkeiten in den Ko-Aktivierungsmustern der rechtshemisphärischen *ifs*- und *iff*-Areale mit deren linkshemisphärischen Korrelaten bei Ausführung unterschiedlicher Funktionen.

Zudem aktivierten eine signifikante Anzahl von Experimenten, die der behavioralen Domäne Aufmerksamkeit zugeordnet waren, in den Arealen *ifs3* und *iff1* der rechten Hemisphäre. Bereits Corbetta und Shulmann (2002, Luo 2010) identifizierten anhand unterschiedlicher, mit Aufmerksamkeit assoziierter Funktionen zwei Aufmerksamkeitsnetzwerke. Zum einen das bilaterale dorsale frontoparietale Netzwerk, das für die Selektion von zielgerichteten Reizen zuständig ist, auf die die Aufmerksamkeit gerichtet werden soll und das rechts-lateralisierte ventrale frontoparietale Netzwerk, welches bewerkstelligt, dass die Aufmerksamkeit auf wichtige verhaltensrelevante sensorische Reize (wie z.B. einen Feueralarm) gerichtet wird. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen in dieser Arbeit beinhalten die beiden Netzwerke neben Aktivierungen im IPL, SPL, supraMG, STG, IFG, MOG und dem Prämotorkortex in der IFJ und des rechten IFS als Teil des ventralen Aufmerksamkeitsnetzwerks.

Die bilaterale Verarbeitung von Prozessen zum Arbeitsgedächtnis durch die Beteiligung der linken *ifs1/2*, *ifs3*, *iff1* sowie rechten *ifs3*, *iff1*, *iff2* Areale (Abb. 16), wird unter anderem durch die Ergebnisse der Studie von Rottschy et al. (2012) unterstützt. Sie identifizierten anhand einer funktionellen Metaanalyse von 189 Experimenten zum Arbeitsgedächtnis ein bilaterales Netzwerk aus den Arealen 44/45, IL, Prämotorkortex, (pre-) SMA, IPS, SPG, MFG, FG, Cerebellum, Thalamus, Putamen und Caudatus. Ein Netzwerk, das ebenfalls in den Ko-Aktivierungsmustern der *ifs*- und *iff*-Areale in dieser Arbeit wieder zu erkennen ist (Abb. 17, Tab. 7). Weiterhin zeigten sie, dass bilaterale Aktivierungen des IFJ, IFS, IL und IPS in allen 189 Experimenten zu finden waren und postulierten diese als das Kernnetzwerk des Arbeitsgedächtnisses.

Die *ifs*- und *iff*-Areale der linken Hemisphäre sind weiterhin mit Teilen des linken motorischen (Areal 4p) und sensomotorischen Kortex (Areale 3b und 1), die vor allem auf

dem postCG lokalisiert sind, ko-aktiviert (Abb. 17, Tab. 7). Jedes Körperteil wird an einer bestimmten Stelle des motorischen und sensomotorischen Kortex „felderartig“ repräsentiert. Diese somatotopische Gliederung ist im sogenannten motorischen und sensorischen Homunkulus dargestellt (Gertz 2001). Die Ko-Aktivierungscluster dieser Studie befinden sich im Gesichts-, Lippen- und Zungenbereich. Dies weist darauf hin, dass die Areale an der Steuerung und Kontrolle der Bewegungen der Gesichts-, Lippen- und Zungenmuskeln beteiligt sind, die die verbale Artikulation ermöglichen (Brown 2009). Das Sprechen ist deshalb eine der behavioralen Domänen, die den Arealen *ifs1/2*, *ifs3*, *iff1* der linken Hemisphäre zugeschrieben werden konnte (Abb. 16). Zudem zeigten die rechten *ifs*- und *iff*-Areale Ko-Aktivierungen im rechten sekundären somatosensorischen Kortex (Areal OP1 des POP). Das Areal OP1 ist stark mit dem sensorischen Kortex vernetzt und weist ebenfalls eine somatotopische Organisation auf. Unter anderem ist das Gesicht in dem Areal OP1 repräsentiert (Eickhoff 2007) und könnte damit analog zur Linkslateralisierung vom Sprechen zur Kontrolle der Gesichtsmuskulatur bei der musikalischen Artikulation beitragen.

Auffällig ist weiterhin, dass *iff2* mit dem größten Teil der Hirnregionen der Konjunktion stärker ko-aktiviert ist als *iff1* und *ifs1-4* es sind (Abb. 17, Tab.7). Zum Beispiel zeigt das linke Areal *iff2* spezifische Ko-Aktivierungen mit den okzipitalen Regionen, den inferior parietalen Arealen, dem motorischen, prämotorischen und sensorischen Kortex, sowie dem Areal 44 der Broca-Region. Lediglich der zweite Teil der Broca-Region, das Areal 45, und der STG sind mit den Arealen *ifs1-4* stärker verbunden als mit *iff2* und ebenfalls *iff1* weist nur eine spezifische Ko-Aktivierung mit dem SMA auf. Diese Ergebnisse weisen auf eine funktionelle Dominanz von *iff2* in den verschiedenen Netzwerken und dessen große Bedeutsamkeit für die beschriebenen kognitiven Funktionen wie Sprache, Arbeitsgedächtnis und Aufmerksamkeit hin.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der IFS und die IFJ in sechs bisher unbekannte zyto- und rezeptorarchitektonische Areale, *ifs1-4*, *iff1* und *iff2*, untergliedert ist. Dabei weisen die *ifs*-Areale untereinander (vor allem *ifs1/2* und *ifs3/4*) stärkere Ähnlichkeiten auf als die *iff*-Areale. Die funktionelle Relevanz dieser Parzellierung wurde anhand einer Metaanalyse bestätigt. Demnach sind die Areale an verschiedenen kognitiven Prozessen beteiligt und in bekannte Netzwerke eingebunden, die diese Funktionen verarbeiten. Die verschiedenen sprachassoziierten Funktionen sind auf die Areale der linken Hemisphäre lateralisiert, die der musischen Verarbeitung und der Aufmerksamkeitssteuerung auf die rechte Hemisphäre, während die Prozesse zum Arbeitsgedächtnis in einem bilateralen Netzwerk prozessiert

4 Diskussion

werden. Die stark ausgeprägte Konnektivität von *iff2* mit den anderen Hirnregionen der verschiedenen Netzwerke weisen diesem Areal eine bedeutende Rolle in diesen kognitiven Funktionen zu und geben Anlass zu der Annahme, dass *iff2* als Ankerpunkt zwischen den verschiedenen Netzwerken fungiert.

5 Zusammenfassung

Neueste funktionell bildgebende Studien zum verbalen Arbeitsgedächtnis und der kognitiven Kontrolle lokalisierten mehrere distinkte Aktivierungen innerhalb des Sulcus frontalis inferior (IFS) und in dessen Verbindung mit dem Sulcus precentralis inferior (IFJ). Jedoch können diese Aktivierungen keinem kortikalen Areal zugeordnet werden, da in der Hirnkarte von Brodmann, die Referenz für funktionelle Studien, keine Areale oder Arealgrenzen in Sulci dokumentiert sind. Deshalb sollte in dieser Arbeit die kortikale Struktur des IFS und der IFJ mittels eines multimodalen Ansatzes aus quantitativer in-vitro Rezeptorautoradiographie 17 Rezeptoren verschiedener Transmittersysteme und der zytoarchitektonischen Betrachter-unabhängigen Kartierungsmethode untersucht werden.

In dieser Arbeit konnten sechs bisher unbekannte rezeptor- und zytoarchitektonisch distinkte Areale innerhalb des IFS (*ifs1-4*) und der IFJ (*iff1,2*) identifiziert werden. Ihre rostrodale sowie dorsoventrale Anordnung, Ausbreitung und interindividuelle Variabilität wurde anhand von Auftrittswahrscheinlichkeitskarten im Referenzraum visualisiert, um funktionelle Aktivierungen einzelnen Arealen zuordnen zu können. Zudem wurden die funktionellen Verwandtschaften der neu kartierten Areale und deren Nachbarn auf Grundlage ihrer rezeptor- und zytoarchitektonischen Ähnlichkeit untersucht. Dabei zeigte die Clusteranalyse, dass die Sulcus-Areale strukturell wie funktionell distinkt von ihren Nachbararealen sind und dass die *ifs*-Areale mehr Gemeinsamkeiten untereinander aufweisen als diese mit den *iff*-Arealen. Weiterhin wurde mittels einer Metaanalyse der funktionellen Studien der BrainMap Datenbank die Funktionen der Areale und deren Konnektivität mit anderen Hirnregionen bestimmt. Die *ifs*- und *iff*-Areale der linken Hemisphäre sind in verschiedene sprachassoziierte Prozesse und dem Arbeitsgedächtnis involviert, die der rechten in die musische Verarbeitung, Aufmerksamkeit und dem Arbeitsgedächtnis. Die bekannten Netzwerke die diese Funktionen verarbeiten, wie das Sprach-, Arbeitsgedächtnis- und Aufmerksamkeitsnetzwerk, sind in den Ko-Aktivierungsmustern der einzelnen Areale wiederzuerkennen. Interessanterweise war *iff2* stärker mit dem größten Teil der gemeinsam ko-aktivierten Hirnregionen verbunden als alle anderen Areale, was auf eine bedeutende Rolle dieses Areals in den verschiedenen Netzwerken und deren Interaktion schließen lässt.

Die funktionelle Metaanalyse bot einen Einblick in die Funktionen der neu kartierten Areale, ist aber leider durch methodische Defizite limitiert. Eine weitere Spezifizierung und Differenzierung der Funktionen dieser Areale ist daher Gegenstand zukünftiger Forschungsarbeit.

Summary

Recent functional imaging studies investigating the verbal working memory and cognitive control reported distinct activations within the inferior frontal sulcus (IFS) and its junction with the inferior precentral sulcus (IFJ). But these activations cannot be assigned to a cortical area, since Brodmann's map which is used as the reference for functional activations doesn't contain any information about areas or areal borders within sulci. The aim of this study was therefore to parcellate the IFS and IFJ using a multimodal observer-independent mapping approach of combined quantitative in vitro receptor autoradiography of 17 neurotransmitter receptors and cytoarchitectonics.

In this study, six previously unknown receptor and cytoarchitectonically distinct areas were mapped within the IFS (*ifs1-4*) and the IFJ (*iff1, 2*). Their location, extent and inter-individual variability were visualized by probabilistic maps which can be used as a new reference for functional activations. A cluster analysis revealed receptor and cytoarchitectonic similar areas and thus gave evidence of their functional relationship. In summary, the six new areas within the sulci were structurally and functionally distinct from the areas located on the neighboring gyri and the *ifs* areas had more common properties among themselves than with the *iff* areas.

Furthermore, a meta-analysis of functional imaging data collected in the BrainMap database was carried out to investigate the functions of *ifs1-4*, *iff1*, and *iff2* as well as their functional connectivity with other brain regions. The results demonstrated a lateralization of language-related processes to the left-hemispheric areas, a right lateralization of music processing and attention as well as a bilateral involvement of areas in working memory processes. The coactivation patterns of *ifs1-4*, *iff1*, and *iff2* indicated a participation of these areas in networks such as the language, working memory, and attention network. Interestingly, *iff2* was specifically stronger coactivated with most of the brain regions of these networks than *ifs1-4* and *iff1*. These findings indicated that *iff2* plays a crucial role within each of the different networks and also in their interaction.

The functional meta-analysis gave an overview of the functions of the newly mapped receptor and cytoarchitectonic areas within the IFS and IFJ, but a further specialization and differentiation of the cognitive functions *ifs1-4*, *iff1*, and *iff2* are involved in will be subject of future studies.

Literatur

Amunts K, Schleicher A, Bürgel U, Mohlberg H, Uylings HBM, Zilles K. 1999. Broca's region revisited: cytoarchitecture and intersubject variability. *J Comp Neurol* 412:319-341.

Amunts K, Weiss PH, Mohlberg H, Pieperhoff P, Eickhoff S, Gurd JM, Marshall JC, Shah NJ, Fink GR, Zilles K. 2004. Analysis of neuronal mechanisms underlying verbal fluency in cytoarchitecturally defined stereotaxic space – The roles of Brodmann areas 44 und 45. *Neuroimage* 22:42-56.

Amunts K, Kedo O, Kindler M, Pieperhoff P, Mohlberg H, Shah NJ, Habel U, Schneider F, Zilles K. 2005. Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability und probability maps. *Anat Embryol* 210:343-352.

Amunts K, Schleicher A, Zilles K. 2007. Cytoarchitecture of the cerebral cortex – more than localization. *Neuroimage* 37: 1061-1065.

Amunts K, Lenzen M, Friederici AD, Schleicher A, Morosan P, Palomero-Gallagher N, Zilles K. 2010. Broca's region: novel organizational principles and multiple receptor mapping. *PLoS Biol* 8:e1000489.

Bacher J, Pöge A, Wenzig K. 2010. In: Clusteranalyse. Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH, München.

Bludau S, Eickhoff SB, Mohlberg H, Caspers S, Laird AR, Fox PT, Schleicher A, Zilles K, Amunts K. 2014. Cytoarchitecture, probability maps and functions of the human frontal pole. *Neuroimage* 2:260-175.

Brass M, von Cramon DY. 2002. The role of the frontal cortex in task preparation. *Cereb Cortex* 12:908-914.

Brass M, von Cramon DY. 2004. Decomposing components of task preparation with functional magnetic resonance imaging. *J Cog Neurosci* 16:609-620.

Brodmann K. 1909. Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt aufgrund des Zellbaus. Leipzig: Barth JA.

Broca P. 1861. Remarques sur le siege de la faculté du langage articulé, suivies d'une observation d'aphemie (perte de la parole). [Comments regarding the seat of the faculty of spoken language, followed by an observation of aphemia (loss of speech). Grodzinsky Y, Amunts K, translators. Broca's region. Oxford, New York: Oxford University Press pp. 291-304]. *Bull Mem Soc Anat Paris* 36:330-357.

Literatur

Brown S, Laird AR, Pfordresher PQ, Thelen SM, Turkeltaub P, Liotti M. **2009**. The somatotopy of speech: Phonation and articulation in the human motor cortex. *Brain Cog* 70:31-41.

Caspers J, Zilles K, Eickhoff SB, Schleicher A, Mohlberg H, Amunts K. **2013a**. Cytoarchitectonical analysis and probabilistic mapping of two extrastriate areas of the human posterior fusiform gyrus. *Brain Struct Funct* 218:511-526.

Caspers J, Palomero-Gallagher N, Caspers S, Schleicher A, Amunts K, **2013b**. Receptor architecture of visual areas in the face and word-form recognition region of the posterior fusiform gyrus. *Brain Struct Funct* DOI 10.1007/s00429-013-0646-z.

Caspers J, Zilles K, Amunts K, Laird AR, Fox PT, Eickhoff SB. **2014**. Functional characterization and differential coactivation patterns of two cytoarchitectonic visual areas on the human posterior fusiform gyrus. *Hum Brain Mapp* 35:2754-2767.

Caspers S, Geyer S, Schleicher A, Mohlberg H, Amunts K, Zilles K. **2006**. The human inferior parietal cortex: cytoarchitectonic parcellation and interindividual variability. *Neuroimage* 33:430-448.

Caspers S, Schleicher A, Bacha-Trams M, Palomero-Gallagher N, Amunts K, Zilles K. **2013**. Organization of the human inferior parietal lobule based on receptor architectonics. *Cereb Cortex* 23:615-28.

Castleman KR. **1979**. Digital image processing. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Chi JG, Dooling EC, Gilles FH. **1977**. Gyral development of the human brain. *Ann Neurol* 1:86-93.

Choi HJ, Zilles K, Mohlberg H, Schleicher A, Fink GR, Armstrong E, Amunts K. **2006**. Cytoarchitectonic identification and probabilistic mapping of two distinct areas within the anterior ventral bank of the human intraparietal sulcus. *J Comp Neurol* 495:53-69.

Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC. **1994**. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comput Assist Tomogr* 18:192-205.

Corbetta M, Shulmann GL. **2002**. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci* 3:201-315.

Derrfuss J, Brass M, von Cramon DY. **2004**. Cognitive control in the posterior frontolateral cortex: evidence from common activities in task coordination, interference control, and working memory. *Neuroimage* 23:604-612.

Derrfuss J, Brass M, von Cramon DY, Lohmann G, Amunts K. 2009. Neural activations at the junction of the inferior frontal sulcus and the inferior precentral sulcus: interindividual variability, reliability, and association with sulcal morphology. *Hum Brain Mapp* 30:299-311.

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

Eickhoff SB, Stephan KE, Mohlberg H, Grefkes C, Fink GR, Amunts K, Zilles K. 2005. A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage* 25:1325-1335.

Eickhoff SB, Amunts K, Mohlberg H, Zilles K. 2006. The human parietal operculum. II. Stereotaxic maps and correlation with functional imaging results. *Cereb Cortex* 16:268-279.

Eickhoff SB, Grefkes C, Zilles K, Fink GR. 2007. The somatotopic organization of cytoarchitectonic areas on the human parietal operculum. *Cereb Cortex* 17:1800-1811.

Eickhoff SB, Laird AR, Grefkes C, Wang LE, Zilles K, Fox PT. 2009. Coordinate-based ALE meta-analysis of neuroimaging data: A random-effects approach based on empirical estimates of spatial uncertainty. *Hum Brain Mapp* 30:2907-2926.

Eickhoff SB, Jbabdi S, Caspers S, Laird AR, Fox PT, Zilles K, Behrens TEJ. 2010. Anatomical and functional connectivity of cytoarchitectonic areas within the human parietal Operculum. *J Neurosci* 30:6409-6421.

Eickhoff SB, Bzdok D, Laird AR, Kurth F, Fox PT. 2012. Activation likelihood estimation meta-analysis revisited. *Neuroimage* 57:2349-2361.

van Essen DC. 1997. A tension-based theory of morphogenesis and compact wiring in the central nervous system. *Nature* 385:313-318.

Evans AC, Collins DL, Mills SR, Brown ED, Kelly RL, Peters TM. 1993. 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. *Proceedings of the IEEE-NSS-M1 Symposium*:1813-1817.

Fox PT, Lancaster JL. 2002. Opinion: mapping context and content: the BrainMap model. *Nat Rev Neurosci* 3:319-321.

Friederici AD. 2011. The brain basis of language processing: from structure to function. *Physiol Rev* 91:1357-1392.

Friederici AD, Gierhan SME. 2013. The language network. *Curr Opin Neurobiol* 23:250-254.

Gertz SD, Liebmann M. 2001. Basiswissen Neuroanatomie: Leichtverständlich, knapp, klinikbezogen. Thieme Verlag, Stuttgart.

Geyer S, Ledberg A, Schleicher A, Kinomura S, Schormann T, Bürgel U, Klingberg T, Larsson J, Zilles K, Rpland PE. 1996. Two different areas within the primary motor cortex of man. *Nature* 382:805-807.

Geyer S, Schleicher A, Zilles K. 1997. The somatosensory cortex of human: cytoarchitecture and regional distributions of receptor-binding sites. *Neuroimage* 6:27-45.

Geyer S, Schleicher A, Zilles K. 1999. Areas 3a, 3b, and 1 of human primary somatosensory cortex. *Neuroimage* 10:63-83.

Holmes CJ, Hoge R, Collins L, Woods R, Toga AW, Evans AC. 1998. Enhancement of MR images using registration for signal averaging. *J Comp Ass Tomog* 22:324–333.

Karnath H-O, Their P. 2012. *Kognitive Neurowissenschaften*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, S. 471-474.

Koelsch S, Gunter TC, von Cramon DY, Zysset S, Lohmann G, Friederici AD. 2002. Bach speaks: a cortical “language-network” serves the processing of music. *Neuroimage* 17:956-966.

Kujovic M, Zilles K, Malikovic A, Schleicher A, Mohlberg H, Rottschy C, Eickhoff SB, Amunts K. 2013. Cytoarchitectonic mapping of the human dorsal extrastriate cortex. *Brain Struc Funct* 218:157-172.

Laird AR, Lancaster JL, Fox PT. 2005. BrainMap: the social evolution of a human brain mapping database. *Neuroinform* 3:65-78.

Laird AR, Fox PT. 2009. ALE meta-analysis workflows via the BrainMap database: progress towards a probabilistic functional brain atlas. *Front. Neuroinform* 3:23.

Levy R, Goldman-Rakic PS. 2000. Segregation of working memory functions within the dorsolateral prefrontal cortex. *Exp Brain Res* 133:23-32.

Lorenz S, Zilles K, Eickhoff SB, Mohlberg H, Schleicher A, Caspers J, Bludau S, Amunts K. 2014. Two new cytoarchitectonic areas on the human mid-fusiform gyrus. Poster, 20th Annual Meeting of the Organization of Human Brain Mapping (OHBM) 2014, Hamburg, Germany.

Luo L, Rodriguez E, Jerbi K, Lachaux J-P, Martinerie J, Corbetta M, Shulman GL, Piomelli D, Turrigiano GG, Nelson SB, Joëls M, E. de Kloet R, Holsboer F, Amodio DM, Frith CD, Block ML, Zecca L, Hong J-S, Dantzer R, Kelley KW, Craig AD. 2010. Ten years of Nature Reviews Neuroscience: insights from the highly cited. *Nat Rev Neurosci*:718-726.

- Makuuchi M**, Bahlmann J, Anwander A, Friederici AD. **2009**. Segregating the core computational faculty of human language from working memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:8362-8367.
- Mahalanobis PC**, Majumdar DN, Rao CR. **1949**. Anthropometric survey of the united provinces, 1941: A statistical study. *Sankhyā* 9:89-324.
- Merker B**. **1983**. Silver staining of cell bodies by means of physical development. *J Neurosci Methods* 9:235-241.
- Mohlberg H**, Lerch J, Amunts K, Evans AC, Zilles K. **2003**. Probabilistic cytoarchitectonic maps transformed into MNI space. Präsentiert bei der 9th International Conference on Functional Mapping of the Human Brain, 19.-22. Juni 2003, New York. Erhältlich auf CD ROM in Neuroimage 19.
- Mohlberg H**, Eickhoff SB, Schleicher A, Zilles K, Amunts K. **2012**. A new processing pipeline and release of cytoarchitectonic probabilistic maps – JuBrain, OHBM 2012, Peking, China.
- Morosan P**, Schleicher A, Amunts K, Zilles K. **2005**. Multimodal architectonic mapping of human superior temporal gyrus. *Anat Embryol* 210:401-406.
- Nishikuni K**, Carvalhal Ribas G. **2012**. Study of fetal and postnatal morphological development of the brain sulci. *J Neurosurg Pediatr* 11:1-11.
- Ono M**, Kubik S, Abernathy CD. **1990**. Atlas of the cerebral cortex. New York: Thieme.
- Palomero-Gallagher N**, Mohlberg H, Zilles K, Vogt B. **2008**. Cytology and receptor architecture of human anterior cingulate cortex. *J comp Neurol* 508:906-926.
- Palomero-Gallagher N**, Vogt BA, Schleicher A, Mayberg HS, Zilles K. **2009**. Receptor architecture of the human cingulate cortex: Evaluation of the four-region neurobiological model. *Hum Brain Mapp* 30:196-210.
- Robinson JL**, Laird AR, Glahn DC, Lovallo WR, Fox PT. **2010**. Meta-analytic connectivity modeling: Delineating the functional connectivity of the human amygdala. *Hum Brain Mapp* 31:173-184.
- Rottschy C**, Eickhoff SB, Schleicher A, Mohlberg H, Kujovic M, Zilles K, Amunts K. **2007**. Ventral visual cortex in humans: cytoarchitectonic mapping of two extrastriate areas. *Hum Brain Mapp* 28:1045-1059.
- Rottschy C**, Langner R, Dogan I, Reetz K, Laird AR, Schulz JB, Fox PT, Eickhoff SB. **2012**. Modelling neural correlates of working memory: A coordinate-based meta-analysis. *Neuroimage* 60:830-846.

Sarkissov SA, Filimonov IN, Kononova EP, Preobrazhenskaya NS, Kukuev, LA. 1955. Atlas der Cytoarchitektonik der Großhirnrinde des Menschen. Medgiz, Moskau.

Scheperjans F, Hermann K, Eickhoff SB, Amunts K, Schleicher A, Zilles K. 2008. Observer-independent cytoarchitectonic mapping of the human superior parietal cortex. *Cereb Cortex* 18:846-867.

Schleicher A, Zilles K, Kretschmann HJ. 1978. Automatische Registrierung und Auswertung eines Grauwertindex in histologischen Schnitten. *Anat Anz* 144:413-415.

Schleicher A, Zilles K.1990. A quantitative approach to cytoarchitectonics: analysis of structural inhomogenities in nervous tissue using an image analyser. *J Microscopy* 157:367-381.

Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Morosan P, Zilles K. 1999. Observer-independent method for microstructural parcellation of cerebral cortex: A quantitative approach to cytoarchitectonics. *Neuroimage* 9:165-177.

Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Kowalski T, Schormann T, Palomero-Gallagher N, Zilles K. 2000. A stereological approach to human cortical architecture: identification and delineation of cortical areas. *J Chem Neuroanat* 20:31-47.

Schneider S, Fink GR. 2007. Funktionelle MRT in Psychiatrie und Neurologie. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Deutschland.

Schormann T, Darbringhaus A, Zilles K. 1995. Statistics of deformations in histology and improved alignment with MRI. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 14(1):25-35.

Schormann T und Zilles K.1998. Three-dimensional linear and nonlinear transformations: an integration of light microscopical and MRI data. *Hum Brain Mapp* 6:339-347.

Schünke M, Schulte E, Schumacher U. 2009. Prometheus: Lernatlas der Anatomie. Thieme Verlag, Stuttgart.

Tamraz JC, Comair YG. 2006. Atlas of regional Anatomy of the brain using MRI. Springer-Verlag Berlin Heidelberg p.65.

Toga AW, Mazziotta J. 2000. Brain Mapping: The Systems. Academic press. London, UK, S. 159-176.

Turkeltaub PE, Eickhoff SB, Laird AR, Fox M, Wiener M, Fox P. 2012. Minimizing within-experiment and within-group effects in activation likelihood estimation meta-analysis. *Hum Brain Mapp* 33:1-13.

Vogt C, Vogt O. 1919. Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung. *Journal für Psychologie und Neurologie* 25:279-461.

Wree A, Schleicher A, Zilles K. 1982. Estimation of volume fractions in nervous tissue with an image analyser. *J Neurosci Methods* 6:29-43.

Zilles K, Armstrong E, Schleicher A, Kretschmann HJ. 1988. The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anat Embryol* 179:173-179.

Zilles K, Palomero-Gallagher N. 2001. Cyto-, Myelo-, and Receptor Architectonics of the human Parietal Cortex. *Neuroimage* 14:8-20.

Zilles K, Palomero-Gallagher N, Grefkes C, Scheperjans F, Boy C, Amunts K, Schleicher A. 2002a. Architectonics of the human cerebral cortex and transmitter receptor fingerprints: Reconciling functional neuroanatomy and neurochemistry. *Eur Neuropsychopharmacol* 12:587-599.

Zilles K, Schleicher A, Palomero-Gallagher N, Amunts K. 2002b. Quantitative analysis of cyto- and receptorarchitecture of human brain. In: Toga AW, Mazziotta, editors. *Brain Mapping. The Methods.* Amsterdam: Elsevier. p 573-602.

Zilles K, Palomero-Gallagher N, Schleicher A. 2004. Transmitter receptors and functional anatomy of the cerebral cortex. *J Anat* 205:417-432.

Zilles K, Schleicher A. 1995. Correlative imaging of transmitter receptor distributions in human cortex. In: *Autoradiography and Correlating Imaging.* Stumpf, W.E. & Solomon, H.F. (Eds.). Academic Press. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto. pp. 277-307.

Zilles K, Amunts K. 2009. Receptor mapping: architecture of the human cerebral cortex. *Curr Opin Neurol* 22:331-339.

Zilles K, Palomero-Gallagher N, Amunts K. 2013. Development of cortical folding during evolution and ontogeny. *Trends Neurosci* 36:275-284.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Weiterhin wurde diese Dissertation keiner weiteren Fakultät vorgelegt.



Düsseldorf, den

Sabine Helene Bradler