

Aus dem Zentrum für Anatomie und Hirnforschung
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Institut für Anatomie I

Leiter: Univ.-Prof. Dr. G. Novotny

**Computergestützte 3D-Rekonstruktion der CD-15 Immunreaktivität
im Tuberculum olfactorium des Hundes**

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Zahnmedizin**

**Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf**

vorgelegt von

Krystian Hojczyk

2006

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

gez.: Prof. Dr. B. Nürnberg
Dekan

Referent: Prof. Dr. J. K. Mai

Korreferent: Prof. Dr. A. Hugger

Gewidmet meinen Eltern, Gerda und Jan Hojczyk,
die meine Ausbildung und meinen Lebensweg stets mit
aller erdenklichen Unterstützung bedacht haben.

1. Inhaltsverzeichnis

1. Inhaltsverzeichnis	2
2. Einleitung	5
3. Material und Methode	10
3.1. Material	10
3.2. Immunhistochemie	10
3.3. Beschreibung des Materials	13
3.4. Lagebeziehungen	13
3.5. Fotografieren der Schnitte	13
3.6. Segmentierung und Orientierungshilfe durch zeichnerische Abgrenzung	14
3.7. Software und Anwendung	18
3.7.1. Scannen	18
3.7.2. Ausrichten und Tonwertangleichung der eingescannten Fotos	18
3.7.3. Makroskopische Auswertung der Schnittpräparate bzw. der Lumogramme	20
3.7.4. Bildanpassung	25
3.7.5. Dreidimensionale Rekonstruktion	26
3.8. Morphometrische Untersuchungen an den segmentierten zerebralen Strukturen	30
3.8.1. Manuelle Berechnungen	30
3.8.2. Automatische Berechnungen mit Hilfe der Amira Software	30

4. Resultate	31
4.1. CD15-Expression und Segmentierung des Tuberculum olfactorium (Tu)	31
4.1.1. Makroskopische und mikroskopische Auswertung der Schnittpräparate bzw. der Lumogramme	31
4.1.1.1. Schnitt 1014	33
4.1.1.2. Schnitt 1034	36
4.1.1.3. Schnitt 1058	38
4.1.1.4. Schnitt 1078	40
4.1.1.5. Schnitt 1098	42
4.1.1.6. Schnitt 1118	44
4.1.1.7. Schnitt 1136	46
4.1.1.8. Schnitt 1158	48
4.1.1.9. Schnitt 1178	50
4.1.1.10. Schnitt 1198	52
4.1.1.11. Schnitt 1218	54
4.1.1.12. Schnitt 1238	56
4.1.1.13. Schnitt 1258	58
4.1.1.14. Schnitt 1278	60
4.1.1.15. Schnitt 1298	62
4.1.1.16. Schnitt 1318	64
4.1.2. Auswertung der Expressionsmuster von unterschiedlichen Antikörpern ..	66
4.1.3. Zusammenfassung der makroskopischen und mikroskopischen Auswertung	70
4.2. Dreidimensionale Rekonstruktion des segmentierten Tu	74
4.2.1. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei verschiedenen Ansichten	75
4.2.1.1. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von vorne	75
4.2.1.2. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von medial ..	79
4.2.1.3. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von hinten ...	81
4.2.1.4. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von lateral ...	85
4.2.1.5. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von ventral ..	87
4.2.1.6. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von dorsal ...	89

4.2.2. Insula terminalis olfactoria (ITO) 9	91
4.2.3. Unterbrechungen in der Kontinuität der rekonstruierten ITOs	93
4.2.4. Aufbau der ITOs	97
4.3. Abmessungen des segmentierten Tu	103
4.3.1. Antero-posteriore Ausdehnung des CD15-immunreaktiven Tu	103
4.3.2. Berechnung der Oberfläche und des Volumens	103
5. Diskussion	108
5.1. Das CD15-Epitop	108
5.2. Organisation und Rekonstruktion des Tu	109
5.3. Schichten innerhalb des Tu	112
5.4. Zellen innerhalb des Tu	114
5.5. Afferenzen und Efferenzen der Körnerzell-Cluster	116
5.6. Funktion der Körnerzell-Cluster	117
5.7. Gradienten innerhalb des Tu	118
5.8. Beziehung zwischen Tu und Cortex piriformis (Pir)	119
5.9. Beziehung zwischen Tu und Tractus olfactorius lateralis (lo)	120
5.10. Beziehung zwischen Tu und Nucleus accumbens (Acb)	122
5.11. Beziehung zwischen Tu und Nucleus caudatus (Cd) bzw. Putamen (Pu)	124
5.12. Beziehung zwischen Tu und Globus pallidus (GP)	124
5.13. Rolle des Tu innerhalb der funktionellen Systeme des ZNS	125
6. Liste der Abkürzungen	127
7. Literatur	129

Danksagungen

Lebenslauf

Zusammenfassung

2. Einleitung

Das Tuberculum olfactorium (Tu) ist eine äußerlich deutlich erkennbare und abgrenzbare Vorwölbung an der Basis der Großhirnhemisphäre zwischen Trigonum olfactorium (OTr), Chiasma opticum (ox), Cortex piriformis (Pir) sowie Area diagonalis (da). Histologisch ist das Tu durch zwei Strukturelemente gekennzeichnet: einen dreischichtigen Kortex und kompakte Zellnester (Inseln).

Die oberflächliche, pianahe Schicht (Lamina I) ist durch wenige Zellprofile, meist glialer Natur gekennzeichnet (Millhouse und Heimer, 1984). Die Lamina II stellt sich als mittelbreite, kompakte und im Regelfall kontinuierliche Schicht dar, die durch dicht gelagerte Zellen, vorwiegend pyramidalen Aussehens, gekennzeichnet ist (Millhouse und Heimer, 1984). Ihre apikalen Dendriten sind in Richtung auf die piale Oberfläche orientiert; die basalen Dendriten verzweigen sich in Lamina II und Lamina III. Wegen seiner ausgeprägten Faltung stellt das Zellband ein sehr charakteristisches Strukturmerkmal des Tu dar. Lamina III zeigt ein breites Spektrum an Zellklassen hinsichtlich Form und Größe des Somas, sowie der Verzweigung und Orientierung der Dendriten (Millhouse und Heimer, 1984).

Der häufigste Zelltyp umfasst mittelgroße, dornbesetzte Zellen. Dieser Zelltyp bildet Brücken zwischen der Lamina II und dem Nucleus accumbens (Acb). Dieses laminare Muster ist abhängig von der untersuchten Spezies mehr oder weniger deutlich ausgeprägt (Meyer et al., 1989); auch innerhalb des Tu zeigen sich Unterschiede zwischen medial und lateral gelegenen Abschnitten (Krieger, 1980).

Als weiteres wichtiges morphologisches Kennzeichen des Tu gilt das Auftreten von Körnerzell-Clustern (Millhouse, 1987; Millhouse und Heimer, 1984). Hierbei handelt es sich um auffallende Gruppierungen dicht gedrängter Körnerzellen, die einen stereotypen Aufbau zeigen. Sie wurden erstmals von Ganser (1882) und Calleja (1893) als kompakte Zellansammlungen, die inselartig in das Gebiet zwischen Striatum und pialer Oberfläche eingestreut sind, beschrieben. Rose (1929) hat auf die inhomogene Verteilung innerhalb des Tu der Maus aufmerksam gemacht, und entsprechend ihrer Lage und Häufigkeit drei fronto-kaudale Abschnitte des Tu (Tol 1-3) unterschieden. Später wurden in Abhängigkeit von der untersuchten Spezies verschiedene Varianten im Hinblick auf Häufigkeit und Anordnung der Körnerzell-Cluster innerhalb der drei Laminae beschrieben (Meyer et al., 1989). Ob diesen Unterschieden eine Relevanz hinsichtlich des Bauprinzips des Tu oder seiner Funktion zukommt, ist unklar.

Brockhaus (1942 a, b) hat als erster erkannt, dass die einzelnen Körnerzell-Cluster Bestandteil einer komplexeren Organisation mit unterschiedlicher Topografie und jeweils charakteristischem Aufbau darstellen. Er wies auch darauf hin, dass die Inseln nicht auf das Tu begrenzt sind, sondern sich in mehreren Nachbarregionen nachweisen lassen. Aufgrund zytologischer Charakteristik unterschied er bereits einen kleinzelligen und einen großzelligen Anteil der Inseln und wies aufgrund vergleichend anatomischer Befunde auf die verschiedene Herkunft beider Komponenten hin. Nach Brockhaus (1942 a) entspricht der kleinzellige Anteil den eigentlichen Calleja'schen Inseln, die als autochthoner Bestandteil des Tu aufzufassen sind. Den großzelligen Anteil fasste er als echten Bestandteil des Striatums auf. Beide Anteile sind nach seiner Ansicht allerdings „so innig miteinander verschmolzen“, dass sie einen gemeinsamen Komplex bilden. Im Einklang mit dieser Konzeption wurden die Inselgruppen im Bereich des Tu von ihm als „*Insulae olfactoriae striatales*“ bezeichnet um damit sowohl den olfaktorischen als auch den striatalen Charakter der Inseln zum Ausdruck zu bringen. Diese Interpretation deckt sich vollkommen mit späteren Ergebnissen, die mit Hilfe von Zell- und Markscheidenpräparaten (Sanides, 1957; Millhouse, 1987; Meyer et al., 1989), der Enzym- und Immun-Histochemie (Fallon et al., 1983; Hartz-Schütt und Mai, 1992) und experimentellen Untersuchungen an der Ratte (Fallon et al., 1978 und 1983; Heimer et al., 1975-1991) erarbeitet wurden. Mit Hilfe einer detaillierten Analyse der AChE-Aktivität auf kompletten Schnittserien konnten 5 Gruppen von Inseln unterschieden werden, die jeweils topografisch, strukturell und histochemisch different sind (Hartz-Schütt und Mai, 1992). Brockhaus (1942 a) betonte auch die phylogenetische Konstanz bei allen Vertebraten und die mögliche Beziehung der Inseln zur Entwicklung des Vorderhirns.

Trotz des allgemeinen Charakters im Aufbau des Tu lassen sich bei vergleichenden Untersuchungen doch gewisse Unterschiede nachweisen (Meyer et al., 1989). So findet sich bei makrosomatischen Tieren der beschriebene trilaminare Aufbau mit ausgeprägten Inseldfeldern. Bei mikrosomatischen Tieren ist das Tu klein, gering differenziert und der trilaminare Aufbau meist nur ansatzweise erkennbar.

Die deutliche Ausprägung des Tu bei makrosomatischen Tieren und Faserbeziehungen mit dem Bulbus olfactorius (OB) haben bereits früh auf einen Zusammenhang mit dem olfaktorischen System schliessen lassen (Calleja, 1893). Durch experimentelle Studien wurde gesichert, dass das Tu zusammen mit dem Nucleus olfactorius ant. (Regio retrobulbaris, AO), dem Pir, der periamygdalaren Rinde, und Teilen des Cortex entorhinalis (Ent) direkte Afferenzen aus dem OB erhält und damit als Teil der primären Riechregion gilt.

Die Bedeutung dieser bulbären Verbindungen für die Riechfunktion ist allerdings - speziell für Primaten - von einigen Autoren relativiert worden (Allison und Meyer, 1950; Turner et al., 1978; Carmichael et al., 1994). Da die relative Größe des Tu bei makrosomatischen Tieren auch als Hinweis auf die zunehmende Bedeutung des indirekten olfaktorischen Einflusses auf das ventrale Striatum (VStr), besonders des Acb gelten kann, wurde auch die präferentielle Zugehörigkeit des Tu zum olfaktorischen System in Frage gestellt.

Ferner wurde darauf verwiesen, dass das Tu keine reziproken Verbindungen mit dem OB besitzt, wie das für die gesicherten Endigungsgebiete olfaktorischer Afferenzen, den AO und den Pir, der Fall ist (Shiple et al., 1995). Schließlich zeigte sich nach Läsionen des Tu der Ratte keine Beeinträchtigung der Geruchswahrnehmung und der Geruchsunterscheidung (Slotnick und Schoonover, 1992).

Auch der Vergleich verschiedener Spezies zeigt, dass der Organisationsgrad des Tu nicht der Entwicklung des olfaktorischen Systems entsprechen muss. Während Echidna ein hoch entwickeltes olfaktorisches System besitzt, ist die Organisationshöhe des Tu mit einer sehr gering entwickelten laminaren Struktur niedrig (Ashwell, 2006).

Auf der anderen Seite mehren sich die Hinweise, dass das Tu als Teil des VStr betrachtet werden kann. Hierfür sprechen zahlreiche morphologische, immunhistochemische und konnektionale Befunde (Heimer und Wilson, 1975; Heimer, 1978; Heimer und Alheid, 1991; Newman und Winans, 1980; Switzer et al., 1982; Millhouse und Heimer, 1984).

Die morphologischen Befunde konzentrieren sich auf die strukturelle Kontinuität zwischen Acb und Tu und die bemerkenswerte strukturelle Ähnlichkeit besonders der mittelgroßen dorstragenden Neurone, die in beiden Regionen gefunden werden. Sie lassen sich teilweise in Zellbrücken zwischen dem Striatum und dem Tu nachweisen. Dieser zytologische Hinweis auf eine Zugehörigkeit gewisser Strukturanteile des Tu zum Acb wurde dadurch ergänzt, dass experimentelle und immunhistochemische Studien Gemeinsamkeiten erkennen ließen. Auf der Grundlage dieser Befunde wurde von Heimer und Wilson (1975) das Tu neben dem Acb als weiterer Anteil dem ventralen Striatum zugerechnet (Heimer, 1978; Krieger, 1980; Newman und Winans, 1980). Weitere enzym- und immunhistochemisch erbrachte Reaktionsmuster für Acetylcholinesterase, Cholecystokinin und DARPP-32 unterstützen das Konzept der Einbeziehung des Tu in das VStr (Heimer, 1978; Zaborszky et al., 1985 bzw. Walaas und Ouimet, 1989).

Während der vergangenen Jahre haben sich neue Gesichtspunkte für die Beschreibung der Organisation und Funktion des Tu ergeben, die verdeutlichen, dass sich das Tu in einen medialen und lateralen Abschnitt unterteilen lässt und dass diese Teilung in gewisser

Zuordnung zu medialen und lateralen Abschnitten des Acb steht. Bereits die detaillierten histologischen Untersuchungen von Brockhaus (1942 a) hatten eine Gliederung des Gebietes von Acb und Tu erkennbar gemacht, die nicht der gegenwärtig favorisierten in Schalenregion (shell), Kernregion (core) sowie in Tu entspricht. Vielmehr wurde dort ein Strukturgradient beschrieben, der mediale und laterale Areale gegenseitig aussonderte. Eine gleichartige Parzellierung des fraglichen Gebietes fand sich auch nach einer differenzierten Analyse der AChE-Aktivität beim Menschen (Hartz-Schütt und Mai, 1992).

Innerhalb des Tu ist ein medio-lateraler Gradient mehrfach beschrieben worden. So zeigte sich ein gradueller Übergang von einer deutlichen Kortexstruktur in der seitlichen Hälfte des Tu zu einer Striatum-ähnlichen Organisation in der medialen Hälfte. Weitere Unterschiede fanden sich hinsichtlich der Zelldichte (Popoff und Popoff, 1929), der AChE- und ChAT-Reaktivität (Talbot et al., 1988), der Terminalgebiete dopaminergere Afferenzen aus der Area ventralis tegmenti (VTA) (Newman und Winans, 1980), sowie zahlreicher weiterer Faserverbindungen (diskutiert von Ikemoto et al., 2005).

Der interessanteste Hinweis auf strukturelle und funktionelle Unterschiede zwischen medialen und lateralen Abschnitten stammt aus Experimenten, bei denen die Rolle des Tu im Rahmen von Belohnungseffekten untersucht wurde. Es ist lange bekannt, dass das Tu hierbei eine Rolle spielt (Prado-Alcala und Wise, 1984; Fibiger et al., 1987; Clarke et al., 1990; Kornetsky et al., 1991; Stein und Fuller, 1992; Porrino et al., 2002; Ikemoto, 2003). Bei der Injektion von Kokain zeigte sich, dass die Lage innerhalb des Tu großen Einfluss auf die Selbststimulation bzw. die Belohnungseffekte besaß. Nur die Applikation in die antero-mediale Region des Tu (sowie die anteromediale Region des Acb), nicht jedoch in das laterale Gebiet des Tu und Acb, zeigte robuste Effekte (Carlezon et al., 1995; Ikemoto und Wise, 2002; Ikemoto und Witkin, 2003; Rodd-Henricks et al., 2002; Ikemoto, 2003).

Die gegenwärtig verfügbaren Befunde zeigen im Hinblick auf die strukturelle Organisation und die daraus resultierende funktionelle Rolle des Tu ein sehr uneinheitliches und noch unbefriedigendes Bild. Berücksichtigt man die exponierte Lage des Tu im Grenzgebiet zwischen olfaktorischem, orbitofrontalem, medialem temporalen und insularem Kortex sowie Acb, Septumkernen und Claustrum (Cl), entsprechen die bisher bekannten Funktionen sicher nicht dem gesamten Spektrum des Aufgabenbereichs, in den das Tu involviert ist.

Ziel dieser Studie war es, das Tu anhand von Frontalschnitten, die mit dem CD15-Antikörper behandelt waren, zu segmentieren, es gegenüber den Nachbarschaftsstrukturen abzugrenzen und dreidimensional zu rekonstruieren. Aufgrund des deutlicheren Laminationsmusters beim Makrosmatiker bot sich für diese Studie das Gehirn des Hundes an.

Die aus dem CD15-Bild gewonnen Befunde wurden mit Ergebnissen anderer Studien verglichen und sollten eine alternative Gliederung des Tu anbieten.

3. Material und Methode

3.1. Material

Die Untersuchung wurde am Gehirn eines adulten Hundes durchgeführt. Die Hirnentnahme erfolgte am aus anderem Grund frisch euthanasierten Tier. Das Gehirn wies keine pathologischen Befunde auf. Bis zum Beginn der Untersuchung wurde das Gehirn in Formalinlösung fixiert.

In der Abteilung für Neuroanatomie wurde das Gehirn für eine Woche in Bouin'scher Lösung nachfixiert, dehydriert und in Paraffin eingebettet. Es wurden lückenlose Schnittserien mit einer Schichtdicke von 20 µm angefertigt. Es wurde die frontale Schnittebene gewählt. Sämtliche Schnittpräparate wurden auf Glasobjektträger aufgezogen und nummeriert.

3.2. Immunhistochemie

Im Bereich des Tuberculum olfactorium (Tu) wurde jeder zweite Schnitt mit einem Antikörper gegen das CD15-Epitop immunhistochemisch behandelt. Die zur immunhistochemischen Reaktion mit dem CD15-Marker ausgewählten Schnitte sind gemäß der 4-Schritt-Peroxidase-anti-Peroxidase-Methode von Poppema et al. (1981) behandelt worden. Die Schnitte wurden in Xylol entparaffiniert und in absteigender Alkoholreihe hydriert. Zur Blockierung der endogenen Peroxidaseaktivität wurden sie für 30 Minuten in eine 3%-ige H₂O₂-Lösung auf Methanolbasis (absolut) gelegt. Anschließend wurde für 10 Minuten mit Aqua dest. und danach mit PBS-Puffer (pH 7,4) gespült. Dann wurde für 30 Minuten mit nicht immunem Schweineserum (Dakopatts, Kopenhagen, Code X901) in der Verdünnung 1:100 in PBS und 1%-igem Rinderserum-Albumin (Sigma) sowie 1%-igem Triton (=PBSTA) vorinkubiert.

Nach 15-minütiger Spülung in PBS-Puffer erfolgte eine 18-20-stündige Inkubation mit primärem Maus-Antikörper (Hybridoma IgM, clone: MMA) gegen CD15 in einer Verdünnung von 1:10 in PBSTA. Nach erneuter 15-minütiger Spülung mit PBS-Puffer wurde mit Kaninchen-anti-Maus-IgG (Dakopatts, Kopenhagen, Code Z259/ Verdünnung 1:100 in PBSTA) als erstem Brückenantikörper für eine Stunde inkubiert, wieder für 15 Minuten in PBS-Puffer gespült und mit Schwein-anti-Kaninchen-IgG (Dakopatts, Kopenhagen, Code Z196/Verdünnung 1:50 in PBSTA) als zweitem Brückenantikörper für die Dauer von 1 Stunde inkubiert.

Im Anschluss an die erneute Spülung in PBS für 15 Minuten wurde ein löslicher Peroxidase-Kaninchen-anti-Peroxidase-Komplex (Dakopatts, Kopenhagen, Code Z113/Verdünnung 1:100 in PBSTA) als Markierungsreagenz verwendet und abermals für 15 Minuten in PBS-Puffer gespült. Es erfolgte eine Inkubation mit 3,3'-Diaminobenzidin als Chromogen (Ansatz: 120 mg DAB + 200 ml PBS + 50 µl 30%-iger H₂O₂-Lösung). Nach Spülung der Schnitte mit Aqua dest. wurden sie mit einer aufsteigenden Alkoholreihe, Xylol und DePex behandelt. Einige Präparate wurden zum Vergleich mit anderen Antikörpern behandelt (siehe Tab. 1). Alle immunhistochemischen Arbeitsschritte wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Antikörper	Herkunft	Spezies	Verdünnung
Calbindin (CAB)	Swant, Schweiz	rb-pc	1 : 5000
CD15	Hybridoma, IgM, clone: MMA	ms-mc	1 : 100
Enkephalin (ENK)	C. Cuello, Oxford, UK (Montreal, Canada)	rb-pc	1 : 200
Glial fibrillary acidid protein (GFAP)	DAKO, Dänemark	rb-pc	1 : 2000
Myelin basic protein (MBP)	DAKO, Dänemark	rb-pc	1 : 250
Neurofilament	Boehringer, Mannheim, Deutschland	rb-pc	1 : 2000
Neurophysin I & II (NPH)	M. Sofroniew, Oxford, UK (Los Angeles, USA)	rb-pc	1 : 300
Neuropeptid-Y (NP-Y)	Phoenix, Belmont, USA	rb-pc	1 : 7500
Neurotensin (NT)	W.J. Metz, Heidelberg, Deutschland	rb-pc	1 : 500
Synaptophysin	Boehringer, Mannheim, Deutschland	ms-mc	1 : 100
Tyrosin-Hydroxylase (TOH)	Zymed, San Francisco, USA	ms-mc	1 : 5000
Vasointestinales Polypeptid (VIP)	T.J. Görös, Budapest, Ungarn	rb-pc	1 : 500
Vasopressin (VP)	M. Sofroniew, Oxford, UK (Los Angeles, USA)	rb-pc	1 : 300

Tab. 1: Verwendete Antikörper mit Herkunft, Spezies und Verdünnung.

In der Spalte „Spezies“ wird zwischen Kaninchen-polyklonal (rb-pc) und Maus-monoklonal (ms-mc) unterschieden.

3.3. Beschreibung des Materials

Durch Fixierung, Einbettung und Montage, sowie durch die immunhistochemische Behandlung entstehen Artefakte wie z.B. Zerrungen und Stauchungen, die bei der Analyse des Materials zu beachten sind.

Die Schrumpfung des Gehirns nach der Einbettung in Paraplast plus beträgt ca. 50 %. Dieser Wert ist konstant.

Für die morphologisch-histochemischen Untersuchungen und die dreidimensionale Rekonstruktion bedeutet die Schrumpfung keine Einschränkung, da die Anfertigung von Schnittserien mit hoher Schnitzzahl und geringer Distanzen zwischen den immungefärbten Präparaten die Gefahr der Fehlinterpretation reduzieren konnte.

3.4. Lagebeziehungen

In der vorliegenden Arbeit wurden die Lagebeziehungen und Ebenen in der folgenden Form verwendet: Die Medianebene ist eine Vertikale, die durch die Mitte des Gehirns verläuft und es in die beiden Hemisphären unterteilt. Sie stellt die Symmetrieebene des Gehirns dar. Die Sagittalebene verläuft parallel zur Medianebene. Die Horizontalebene steht senkrecht zur Medianebene. Die Frontalebene steht senkrecht auf der Horizontalebene und der Medianebene. Die Begriffe ventral und dorsal bzw. medial und lateral beziehen sich auf die relative Lage in der Frontalebene. Die Begriffe anterior und posterior beziehen sich auf die relative Lage in der Sagittal- und in der Horizontalebene.

3.5. Fotografieren der Schnitte

Von allen immunhistochemisch behandelten Schnitten wurden fotografische Vergrößerungen, im folgenden als Lumogramme bezeichnet, angefertigt. Diese umfassten einen Ausschnitt, welcher den baso-medialen Ausschnitt der rechten Hemisphäre umfasst (siehe Abb. 1). Hierfür wurden die Präparate in die Filmebene des Fotografiergerätes gelegt und das Fotopapier belichtet.

Der Vergrößerungsfaktor betrug 17,5. Es handelt sich hierbei um Schwarz-weiß-Bilder. Von den Schnitten mit Gegenfärbung wurden ebenfalls Lumogramme angefertigt.

Alle Lumogramme wurden entsprechend der Position des Schnitts in der Schnittserie mit einer Schnittnummer versehen, die unten links abgebildet ist. Der Bereich des Tu umfasste die Schnitte 1012 bis 1343. Das Lumogramm mit der Schnittnummer 1365 stellte das Zentrum der vorderen Kommissur (ac) dar.

Die Abstände zwischen den selektierten immunbehandelten Gehirnschnitten, die fotografiert und später in Adobe Illustrator bearbeitet wurden, lagen abgesehen von wenigen Ausnahmen bei 40 μm .



Abb. 1 Eingesanntes Lumogramm des Schnitts 1066
(x 8,2; Maßstab: 0,5 mm).

Der weiße Kreis stellt die immunreaktive Zone
im Bereich des Tu dar.

3.6. Segmentierung und Orientierungshilfe durch zeichnerische Abgrenzung

Die makroskopische Auswertung der immunhistochemisch behandelten Schnitte wurde zunächst mit Hilfe von Rekonstruktionszeichnungen auf Transparentpapier durchgeführt. Hierfür wurden die pialen und ventrikulären Oberflächen, sowie die Begrenzungen des ventralen Striatum (VStr), des Tu, des piriformen Kortex (Pir), der Insula (Ins) und des Claustrum (Cl) zeichnerisch abgegrenzt.

Die Abgrenzung der o.g. Strukturen erfolgte visuell aufgrund von strukturellen und immunhistochemischen Kontrasten. Immunreaktive Bereiche erscheinen auf den Lumogrammen hell, wohingegen Bereiche ohne Immunreaktivität (IR) dunkel erscheinen

(siehe Abb. 1 und Abb. 2a). Intensitäts- bzw. Helligkeitsunterschiede zwischen den Lumogrammen mussten berücksichtigt werden und erschwerten die visuelle Bestimmung.

In die Umrisszeichnungen wurden wichtige morphologische Details übertragen und farbig kodiert. Die unterschiedlichen Farbwerte für die zeichnerisch abgegrenzten Strukturen waren Vorlage für die spätere Arbeit in Adobe Illustrator sowie in der dreidimensionalen Rekonstruktion in Amira. Die Segmentierung des Tu erfolgte ebenfalls visuell. Im CD15-Bild stellt sich das immunreaktive Material in sehr charakteristischen, reiterierenden Mustern dar. Diese wurden in dieser Arbeit als glockenförmige Elemente beschrieben und zueinander abgegrenzt (siehe Abb. 2a und 2b). Die glockenförmigen Bereiche, welche die Segmente des Tu darstellen, werden im folgenden als *Insulae terminales olfactoriae* (ITO) bezeichnet.

Jeder glockenförmige Bereich erhielt einen Farbwert. Um die Orientierung zu erleichtern, erhielten die Segmente eine Kennzeichnung, die unter der Umrisszeichnung zu lesen ist.

Bei jedem Segment konnten wiederum drei visuell bestimmte Anteile zeichnerisch abgegrenzt werden. Ein heller, immunreaktiver, oberer Anteil in Form einer Kappe, ein mittleres, kaum immunreaktives, dunkles Zellband, sowie ein heller, immunreaktiver, subpialer Anteil als Basis (siehe Abb. 2a und 2b).

Spaltungen von Segmenten des Tu und Fusionen zwischen zwei glockenförmigen Segmenten wurden zunächst mit neuen Farbwerten gekennzeichnet und protokolliert.

Vor der Anfertigung der Schnitte waren keine internen Orientierungsmarker angebracht worden; es waren auch keine en-face-Aufnahmen des Paraffin-Blocks angefertigt worden. Es mussten daher Anstrengungen unternommen werden, die Schnitte trotz einzelner Artefakte (siehe 3.3.) exakt aufeinander anzupassen. Jede neue Zeichnung wurde auf Transparentpapier exakt auf die vorhergehende Folie angepasst, wobei strukturelle Landmarken (z.B. Gefäße und piaie Oberfläche) mit in die Zeichnung übernommen wurden.

Aufgrund der hohen Schnitzzahl und vor allem des geringen Schnittabstandes war es möglich, die umzeichneten Strukturen in Ausdehnung und Verlauf sukzessiv in ihrer Kontinuität verfolgen zu können.

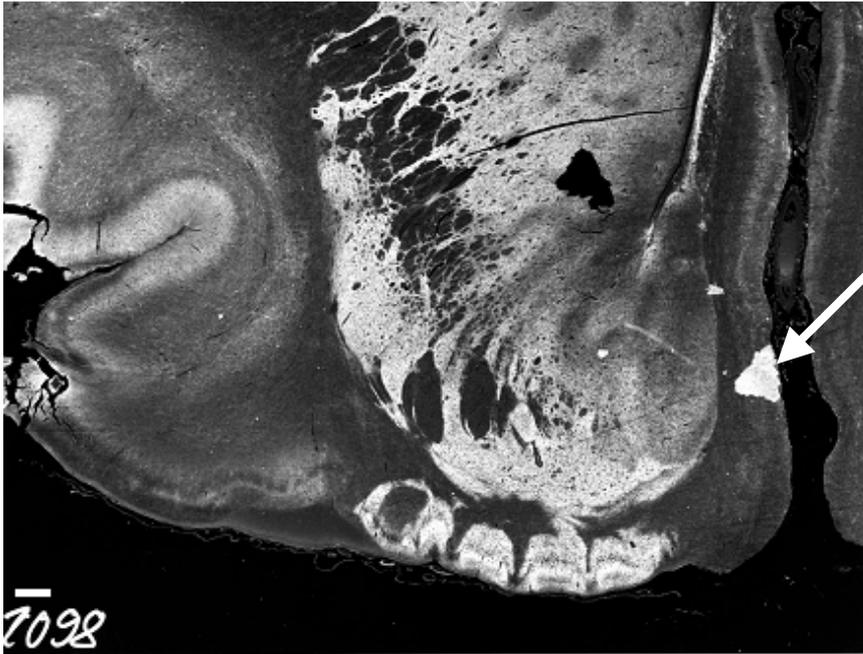


Abb. 2a Eingesanntes Lumogramm des Schnitts 1098
(x 9; Maßstab: 0,5 mm).

Der weiße Pfeil markiert ein Artefakt. Immunreaktive Bereiche erscheinen hell. Durch Unterschiede in Morphologie, Helligkeit und Kontrast wurden die Begrenzungen der abgebildeten Strukturen auf Transparentpapier nachgezeichnet (siehe Abb. 2b).

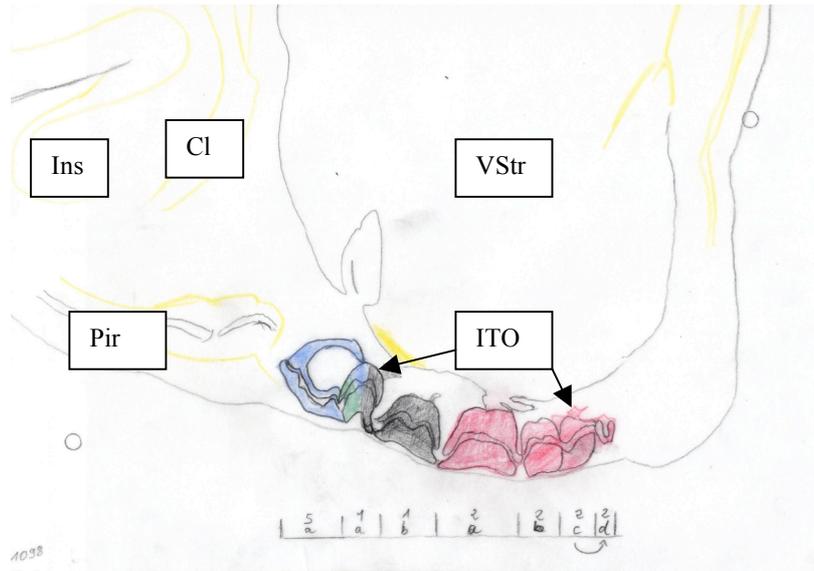


Abb. 2b Eingescanntes Transparentpapier mit umzeichneten Begrenzungen vom Lumogramm 1098. Die pialen und ventrikulären Oberflächen, sowie die Begrenzungen des VStr, der ITOs, des Pir, der Ins und des Cl wurden zeichnerisch abgegrenzt. Im Bereich des Tu wurden glockenförmige Areale als eigenständige Segmente farblich kodiert und mit einer Kennzeichnung versehen. Erstmals erscheinende Segmente wurden mit einem Pfeil versehen, der auch den Ursprung des neuen Segments angibt. Die farbige Kodierung wurde im Verlauf der Arbeit verändert, so dass jedes Segment einen eigenen Farbwert erhielt. Die Kennzeichnung diente der Orientierung bei der weiteren Arbeit.

3.7. Software und Anwendung

3.7.1. Scannen

Für die weitere Bearbeitung wurden die Lumogramme im Maßstab 1:1 eingescannt und als Grauwert-Bilder im jpeg-Format mit einer Auflösung von 150 dpi gespeichert.

Danach wurden die Bilder aussortiert, die bei der weiteren Bearbeitung und der dreidimensionalen Rekonstruktion nicht verwendet wurden. Dabei handelte es sich um die Abbildungen, bei denen Gegenfärbungen angewendet wurden. Diese Bilder dienten allerdings weiterhin als Orientierungshilfe.

3.7.2. Ausrichten und Tonwertangleichung der eingescannten Fotos in Adobe Photoshop 7.0 (© 1990-2002 Adobe Systems Incorporated)

Im Programm Adobe Photoshop mussten die eingescannten Bilder nochmals exakt aufeinander angepasst werden, um die spätere dreidimensionale Rekonstruktion zu ermöglichen. Um die Größe einer Datei klein zu halten, wurden je zehn bearbeitete Einzelbilder in einem Bild-Datensatz abgespeichert. Hierfür wurden in einer Datei zehn Ebenen geschaffen, die entsprechend der Schnittnummern gekennzeichnet waren. In jede Ebene wurde das korrespondierende eingescannte Bild kopiert. Um die Anpassung der Folgeschnitte zu kontrollieren, wurde über die Ebenenfunktion die Deckkraft reduziert (siehe Abb. 3).

Die Auflagerung der Bilder erfolgte über die Funktion „freies transformieren“ bzw. „Objekt drehen“. Da dieser Arbeitsschritt manuell erfolgte, musste eine hohe visuelle Übereinstimmung zwischen den eingefügten Bildern gegeben sein, was mit Hilfe der Zoom-Funktion realisiert werden konnte. Dabei waren strukturelle Begrenzungen von Arealen, die sich durch Hell-Dunkel-Unterschiede von ihrer Umgebung abgrenzten (insbesondere VStr und Tu), sowie der Verlauf der pialen Oberfläche eine Hilfe bei der Ausrichtung der Bilder.

Die Kontrastverhältnisse der Bilder wurden über den Befehl „Tonwertkorrektur“ visuell angepasst, wodurch der Vergleich der zerebralen Strukturen zwischen den verschiedenen Schnitten erleichtert werden konnte. Es konnte allerdings kein konstanter Grauwert innerhalb der Bildserie eingestellt werden.

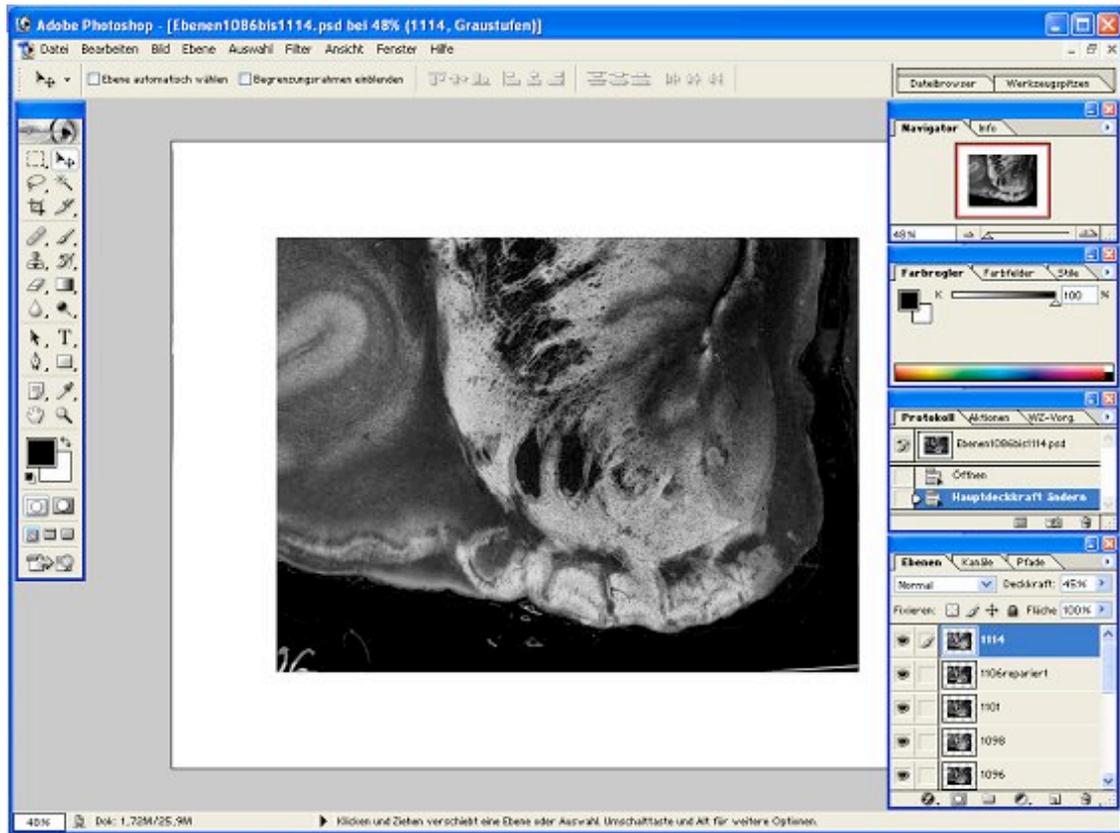


Abb. 3 Screenshot von der Arbeitsfläche des Programms Adobe Photoshop. Links befindet sich die Werkzeug-Leiste, rechts unten ist das Ebenenfenster zu sehen, über das die Bilder markiert wurden, um sie anschließend zu bearbeiten. Zu sehen sind zwei übereinanderliegende Bilder nach transparenter Auflagerung, wobei für das darüberliegende Bild eine Deckkraft von 45% eingestellt war.

3.7.3. Makroskopische Auswertung der Schnittpräparate bzw. der Lumogramme durch Segmentierung in Adobe Illustrator Artwork 10.0 (© 1987-2001 Adobe Systems Incorporated)

Die in Adobe Photoshop einander aufgelagerten Ausschnitte der zuvor eingescannten Lumogramme wurden in Adobe Illustrator weiter verwendet, um eine zeichnerische Segmentierung der interessierenden zerebralen Strukturen vorzunehmen, insbesondere von VStr, Tu und pialer Oberfläche. Die Segmentierung der zerebralen Strukturen durch zeichnerisches Abgrenzen auf Transparentpapier diente hierbei als wichtige Orientierungshilfe. Die Bestimmung der Begrenzung der Strukturen erfolgte wie zuvor unter 3.6. beschrieben visuell aufgrund von Helligkeitsunterschieden. Intensitäts- bzw. Helligkeitsunterschiede zwischen den Lumogrammen wurden über die Tonwertangleichung in Adobe Photoshop reduziert.

In die Umrisszeichnungen wurden wichtige morphologische Details übertragen und farbig kodiert. Die Deckkraft der Umrisszeichnungen wurde reduziert, damit stets der eingescannte Ausschnitt aus dem Lumogramm zu sehen war (siehe Abb. 4a). Auch hier musste eine hohe visuelle Übereinstimmung gegeben sein, was mit Hilfe der Zoom-Funktion realisiert werden konnte.

Die Segmentierung des Tu erfolgte erneut visuell, indem glockenförmige Bereiche des Tu, wie unter 3.6. beschrieben, zueinander abgegrenzt wurden. Jeder glockenförmige Bereich erhielt seinen eigenen Farbwert. Durch die zugewiesenen Farbwerte konnten die segmentierten Strukturen eindeutig bestimmt und über die Schnittserie verfolgt werden.

Neben dem Farbwert erhielt jede nachgezeichnete zerebrale Struktur eine Kennzeichnung. Die Kennzeichnung der oberen immunreaktiven Kappe enthielt folgende Angaben: Schnittnummer + Strukturcode in Form von Buchstaben- und Zahlenkombination + relative Lage, d.h. in diesem Fall „oben“. Die Kennzeichnung des unteren Bereichs eines Segments des Tu wurde entsprechend durchgeführt. Das mittlere Zellband wurde nicht separat nachgezeichnet, es resultierte als Spaltraum zwischen oberer und unterer nachgezeichneter Struktur (siehe Abb. 4b).

Spaltungen von Segmenten des Tu und Verschmelzungen zwischen zwei glockenförmigen Segmenten wurden mit neuen Farbwerten und neuer Kennzeichnung protokolliert.

Insgesamt wurden 110 Abbildungen ausgewertet. Alle 110 Ebenen mit den nachgezeichneten zerebralen Strukturen wurden bei reduzierter Deckkraft in einer Datei abgespeichert.

Aufgrund der hohen Schnitzzahl konnten die nachgezeichneten Strukturen in Ausdehnung und Verlauf sukzessiv in ihrer Kontinuität verfolgt werden.

Die Anfertigung von 110 tiff-Bilddateien, die Vorlage für die dreidimensionale Rekonstruktion in Amira waren, erfolgte, indem die nachgezeichneten zerebralen Strukturen einer Ebene exportiert und im tiff-Format bei einer Auflösung von 150 dpi bei 8 bit gespeichert wurden (siehe Abb. 4c). Alle tiff-Bilder wurden danach im Programm Adobe Photoshop für den Import in Amira vorbereitet, indem die RGB-Farbpalette in die Mac Os-Farbpalette geändert wurde.

Alle 110 tiff-Bilder wurden anschließend in das Programm Amira importiert und für die dreidimensionale Rekonstruktion verwendet. Die einzelnen Schritte werden weiter unten beschrieben.

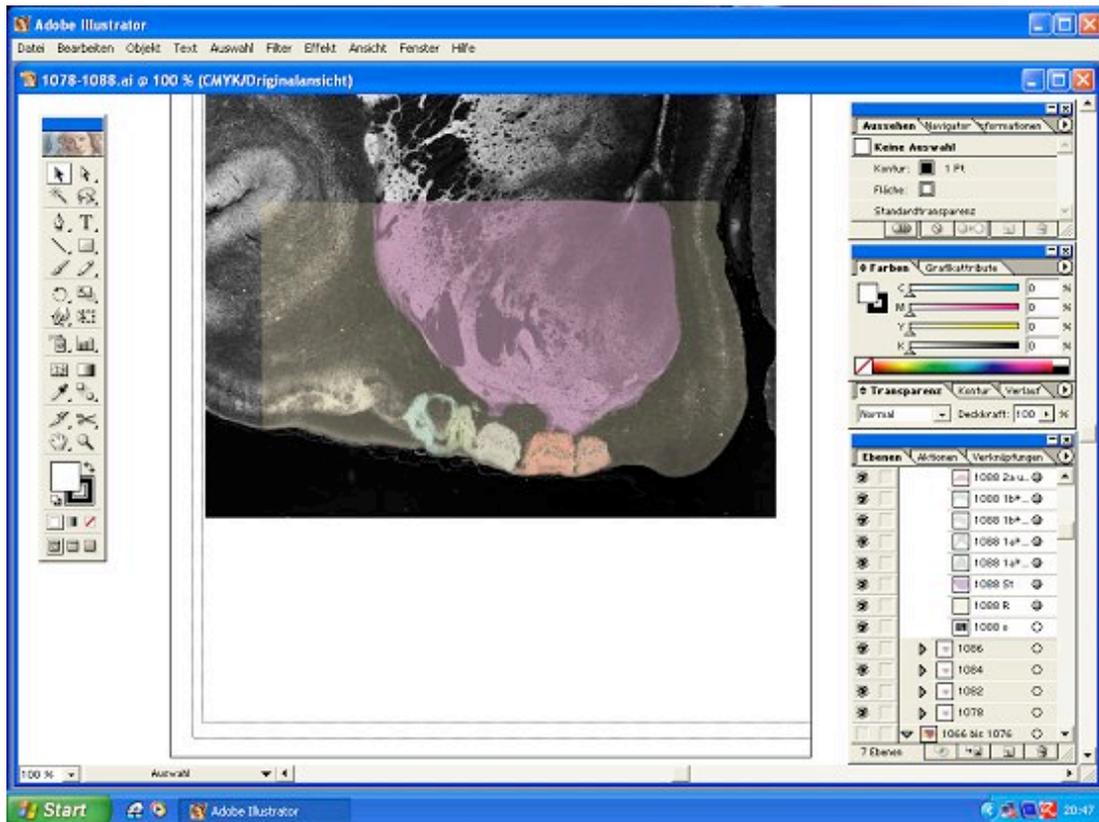


Abb. 4a Screenshot von der Arbeitsfläche des Programms Adobe Illustrator. Links befindet sich die Werkzeug-Leiste. Rechts unten ist das Ebenenfenster zu sehen, über das die Bilder markiert wurden, um sie anschließend zu bearbeiten. Zu sehen ist ein eingescanntes Lumogramm mit transparenten, nachgezeichneten Begrenzungen von plialer Oberfläche, VStr und segmentiertem Tu bzw. der ITOs.

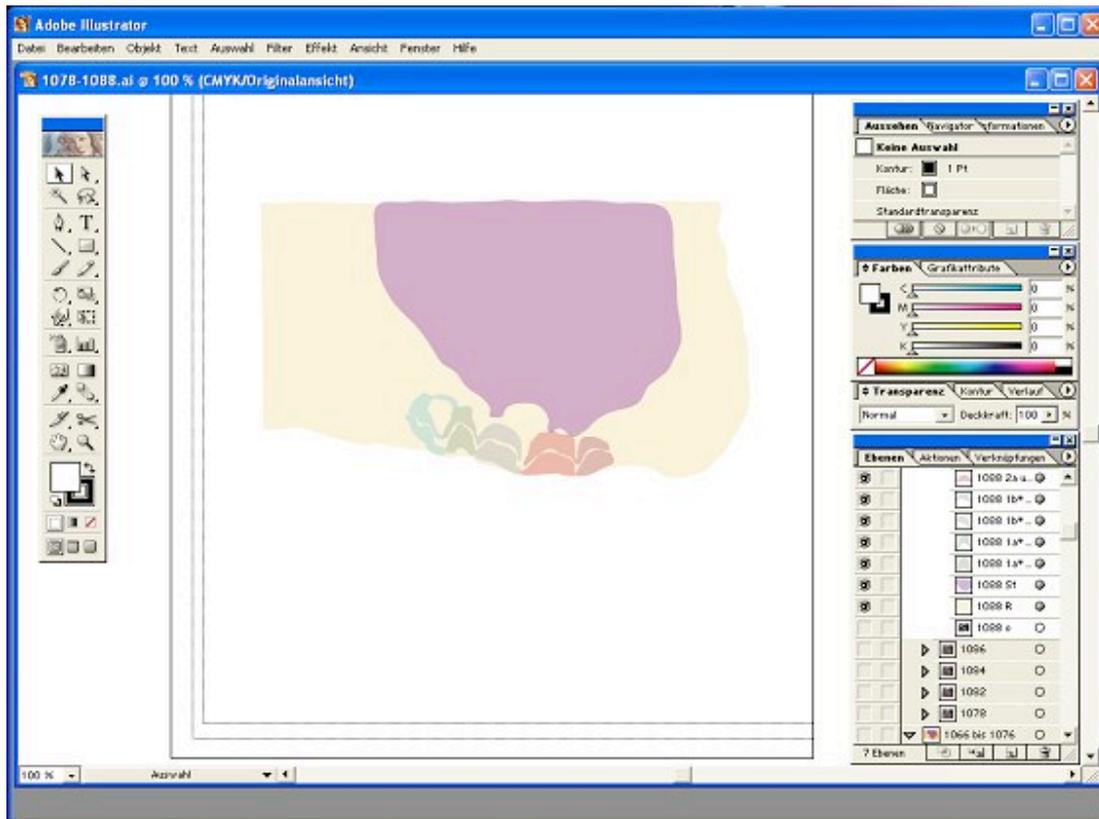


Abb. 4b Screenshot von der Arbeitsfläche des Programms Adobe Illustrator.
Das bearbeitete Lumogramm ist ausgeblendet.

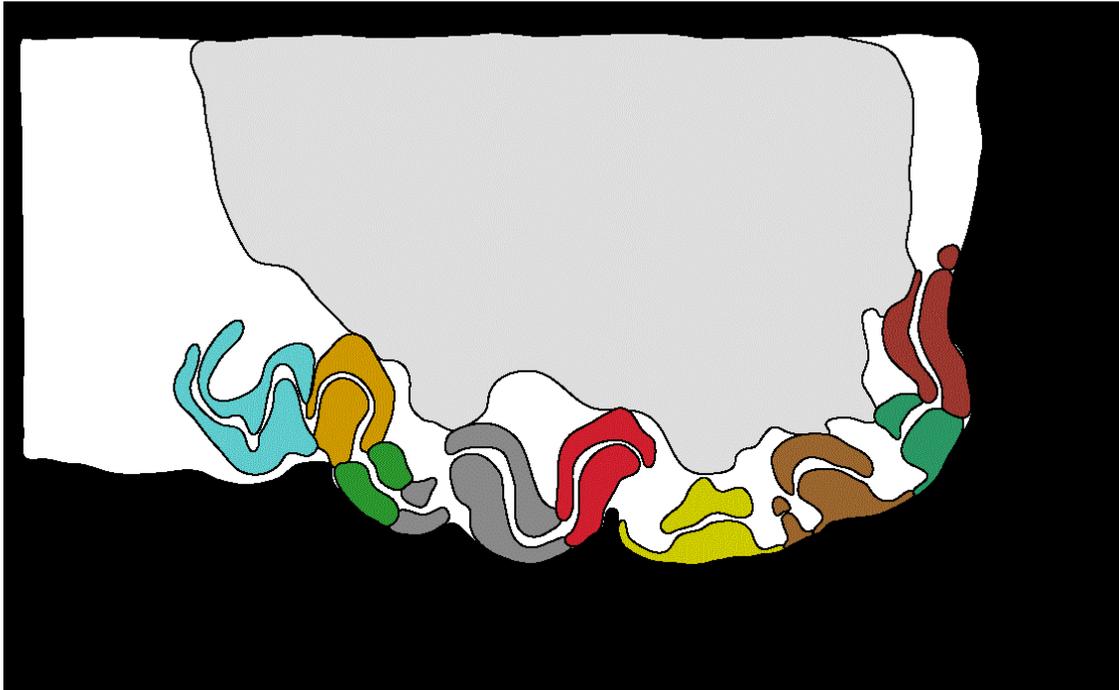


Abb. 4c Tiff-Bild, das auf Basis des Schnitts bzw. des Lumogramms Nr. 1176 erstellt wurde. Man erkennt neun farbig kodierte Segmente des Tu, sowie eine benachbarte graue Fläche, die als ventrales striatales Feld (VStrF) folgende Strukturen umfasst: Capsula interna (ic), Commissura anterior (ac), Globus pallidus (GP), Insula Calleja (ICjM), Nucleus accumbens (Acb), Nucleus caudatus (Cd), Putamen (Put), Substriatale Inseln (SStr).

3.7.4. Bildanpassung in Paint Shop Pro 4.12 Shareware (© 1991-1996 JASC)

Lumogramme waren nur bis zur Schnittnummer 1206 angefertigt worden. Diese Serie musste um weitere zwanzig Frontalschnitte ergänzt werden. Diese Schnitte wurden mit einer Auflösung von 1200 dpi bei 24 bit direkt eingescannt. Der Abstand zwischen den eingescannten Schnitten betrug 100 μm . Die Schnittdicke war konstant 20 μm .

Um die Aufnahmen den eingescannten und in Adobe Photoshop ausgerichteten Bildern optisch anzugleichen, erfolgte im Programm Paint Shop Pro eine Farbumkehr und eine Schwarz-Weiß-Darstellung über die Befehle „Negative Image“ und „Grey Scale“ (siehe Abb. 5a und 5b).

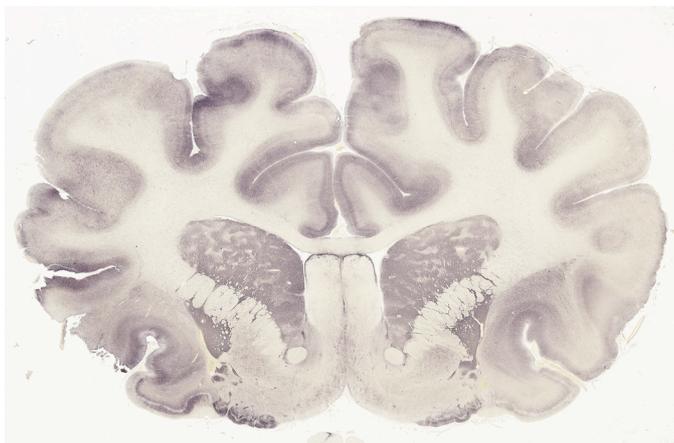


Abb. 5a Bild vor Farbanpassung in Paint Shop Pro

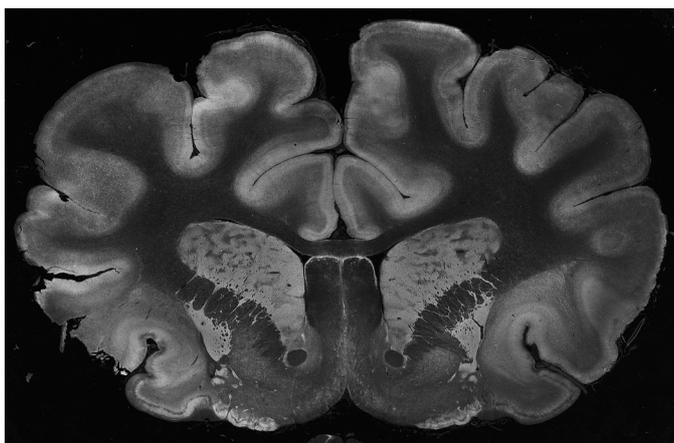


Abb. 5b Bild nach Farbanpassung in Paint Shop Pro

Über das Feld „Skalierung“ wurde der in Paint Shop Pro bearbeitete Ausschnitt in Illustrator den bereits bearbeiteten Bildern angepasst, indem eine 4,5fache Vergrößerung visuell bestimmt wurde. Da dieser Arbeitsschritt manuell erfolgte, musste eine hohe visuelle Übereinstimmung gegeben sein, was mit Hilfe der Zoom-Funktion realisiert werden konnte. Dabei waren strukturelle Begrenzungen von Arealen, die sich durch Hell-Dunkel-Unterschiede von ihrer Umgebung abgrenzten (insbesondere VStr und Tu), sowie der Verlauf der pialen Oberfläche eine Hilfe bei der Ausrichtung der Bilder und der Bestimmung des Vergrößerungsfaktors.

3.7.5. Dreidimensionale Rekonstruktion in Amira (© 1995-2000 Konrad-Zuse-Zentrum Berlin (ZIB), © 1999-2000 Indeed – Visual Concepts GmbH, © 1999-2000 TGS-Template Graphics Software, Inc.)

Die dreidimensionale Rekonstruktion der umzeichneten zerebralen Strukturen erfolgte mit dem Programm Amira.

Die wichtigsten Komponenten von Amira waren Module und Datenobjekte, die untereinander verknüpft werden konnten. Die Module entsprachen Rechenoperationen, welche auf die Datenobjekte angewendet wurden.

Bei den Datenobjekten handelte es sich um die 110 importierten tiff-Bilddateien, die über die Modulausführung modifiziert wurden, um die dreidimensionale Rekonstruktion der segmentierten zerebralen Strukturen zu realisieren. Dafür wurden die folgenden Schritte angewendet: Zunächst wurde die Bounding-Box generiert, ein dreidimensionaler rechteckiger Raum, in dem die rekonstruierten zerebralen Strukturen liegen sollten. Die 110 importierten Bilder im tiff-Format wurden automatisch in der Bounding-Box angeordnet und konnten über den Befehl „Ortho Slice“ in allen drei Ebenen dargestellt werden.

Im Image Segmentation Editor, einem Teil des Moduls „Label Voxel“, wurden den unterschiedlichen Farbwerten der tiff-Bilder Segmente zugeordnet. Anschließend lagen „Label fields“ vor, welche die Flächen und Begrenzungen der jeweiligen zerebralen Strukturen auf den 110 tiff-Bildern darstellten. Alle zerebralen Strukturen mit demselben Farbwert konnten in allen 110 Schichten einander zugeordnet werden. Dazu wurden die Farbflächen der einzelnen Segmente nacheinander ausgewählt. Über die Option „3D“ konnten alle davor und dahinter liegenden Segmente desselben Farbwerts automatisch markiert und einer Struktur zugeteilt werden. Die Toleranz bei der automatischen

Auswahl wurde niedrig gehalten, damit keine Probleme hinsichtlich der Strukturzuweisung auftreten konnten.

Jeder Struktur musste für die spätere dreidimensionale Rekonstruktion erneut eine Farbe zugeteilt werden, da die Farbwerte von den importierten tiff-Bildern nicht automatisch übernommen werden konnten. Daher gibt es eine geringe Abweichung zwischen den Farbwerten der Segmente auf den importierten tiff-Bildern und den Farbwerten der Oberfläche der entsprechenden generierten dreidimensionalen Segmente.

Über das Modul Resample wurde die Auflösung der hintereinander liegenden, automatisch sortierten Schichten reduziert, da ohne diesen Schritt die spätere dreidimensionale Rekonstruktion den Arbeitsspeicher des verwendeten Computers überlasten und ein stabiles Bearbeiten der generierten Strukturen nicht ermöglichen würde. Das Resultat war eine homogenere Oberfläche auf Kosten eines geringen Detailverlustes.

Das Modul „Generalized Marching Cubes“ kreierte aus den erhaltenen Daten ein Polygonmodell, das über „Surface View“ betrachtet werden konnte. Die Aussenhülle, die aus den Begrenzungen der zuvor markierten Segmente resultierte, wurde in kleine Dreiecke aufgeteilt (siehe Abb. 6a).

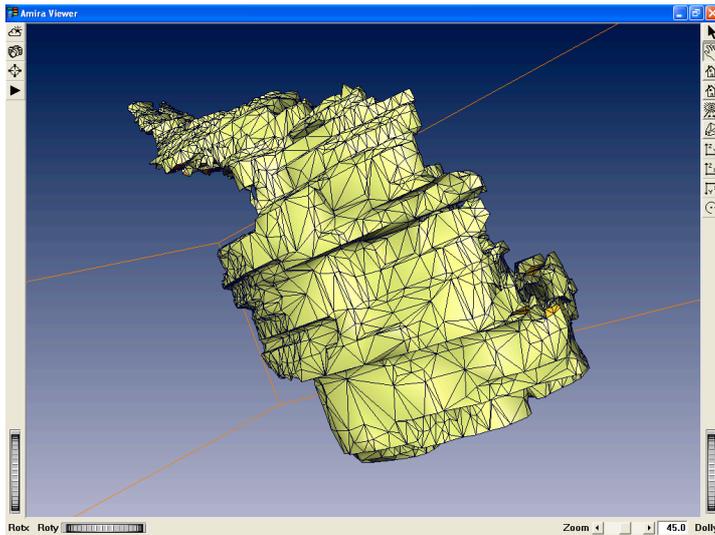


Abb. 6a

Polygonmodell des generierten dreidimensionalen Modells eines Segments des Tu (Ansicht von unten bei starker Vergrößerung). Deutlich zu sehen sind die Dreiecke, die zusammengefügt die gesamte Oberfläche der dreidimensionalen Struktur ergeben.

Anschließend wurde über die Aktion „Simplify“ die Anzahl der Flächen und Punkte der generierten dreidimensionalen Strukturen reduziert, um den Arbeitsspeicher der Hardware weiter zu entlasten, damit die dreidimensionalen Modelle in allen Raumrichtungen drehbar und von allen Seiten zu betrachten waren. Die Auflösung der hintereinander sortierten Schichten wurde bei dieser Prozedur nicht weiter verändert.

Mit dem Modul „Smooth Surface“ konnte die Oberfläche der dreidimensionalen Struktur geglättet werden, wobei die Anzahl der Wiederholungen (Iterationen) frei gewählt werden konnte. Die Anzahl der Punkte und Flächen einer zerebralen Struktur blieb auch nach Glättung der Oberfläche konstant.

Nach Generierung der dreidimensionalen Struktur innerhalb der Bounding-Box konnte diese in den drei Raumebenen frei wählbar weiter analysiert werden (siehe Abb. 6b).

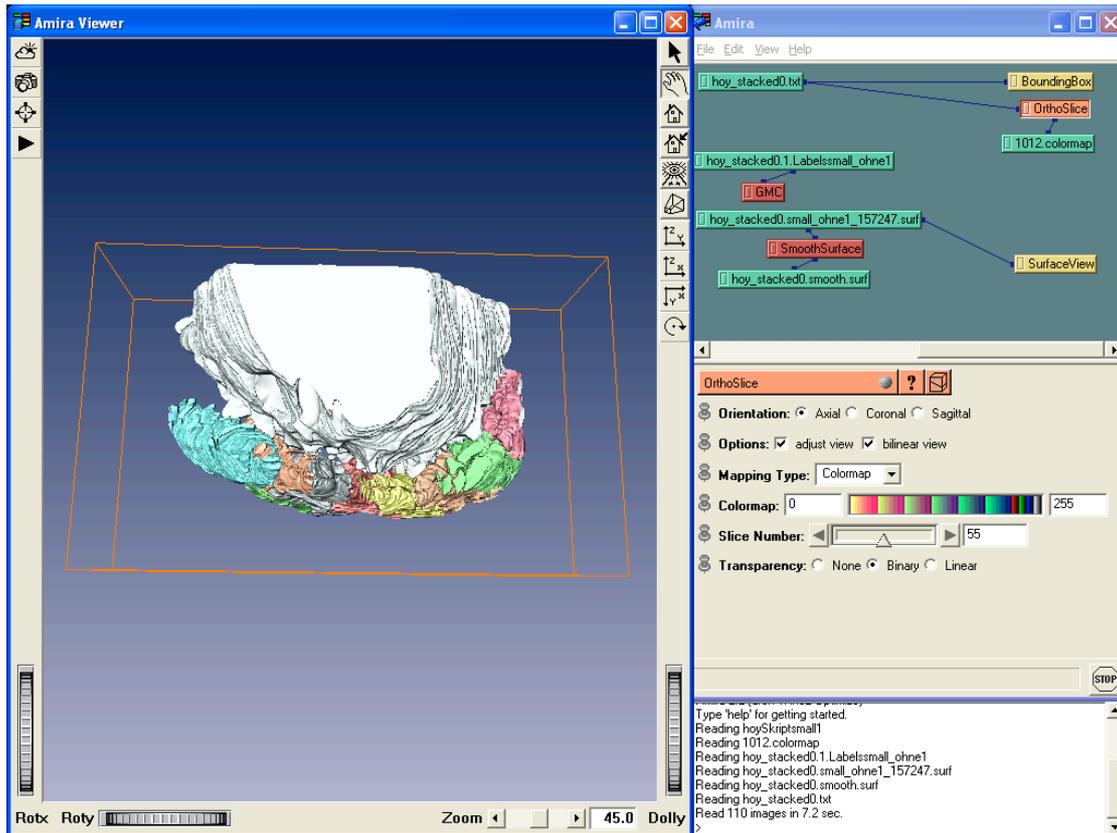


Abb. 6b In der linken Bildhälfte erkennt man die von der Bounding-Box begrenzte dreidimensionale Anordnung der 110 Schnitte und die Rekonstruktion der einzelnen Segmente des Tu sowie des VStrF (grau kodiert, Ansicht von vorne). Die gewünschte Perspektive kann frei in x-, y- und z-Richtung selektiert werden. Über die Räder an den Rändern kann ein- und ausgezoomt werden. In der rechten Bildhälfte sind die einzelnen Bearbeitungsschritte in chronologischer Reihenfolge dargestellt. Im Fenster unten rechts wird ein Protokoll über alle Arbeitsschritte geführt.

3.8. Morphometrische Untersuchungen an den segmentierten zerebralen Strukturen

3.8.1. Manuelle Berechnungen

Der am Mikroskop bestimmte Vergrößerungsfaktor zwischen den Schnitten auf dem Glasobjektträger und den Lumogrammen beträgt 17,5.

Die antero-posteriore Ausdehnung des CD15-immunreaktiven Tu wurde durch Multiplikation der Schichtdicke von 20 µm mit der Anzahl der Schichten bestimmt, auf denen das Tu umzeichnet werden konnte. Der Bereich des Tu umfasste die Schnitte 1012 bis 1343. Das Lumogramm mit der Schnittnummer 1365 stellte das Zentrum der vorderen Kommissur (ac) dar. Die Ergebnisse sind unter 4.3.1. zusammengefasst.

Die morphometrischen Untersuchungen berücksichtigen nicht den Schrumpfungsfaktor von ca. 50%. Daher beziehen sich die Werte der linearen Ausdehnung auf die in Paraffin eingebetteten Schnitte.

3.8.2. Automatische Berechnungen mit Hilfe der Amira Software

Das unter 3.7.5. beschriebene Polygonmodell jeder generierten dreidimensionalen zerebralen Struktur besteht aus Flächen und Punkten. Über das Modul „CalcAreaVolume“ konnte die Oberfläche und das Volumen jeder dreidimensionalen Struktur berechnet werden.

Die Abhängigkeit der Oberflächenwerte und Volumina von der Anzahl der durchgeführten Glättungen wird unter 4.3.2. beschrieben.

4. Resultate

4.1. CD15-Expression und Segmentierung des Tuberculum olfactorium

Unter den verschiedenen Antikörpern, welche für die chemoarchitektonische Analyse des Tuberculum olfactorium (Tu) des erwachsenen Hundes zum Einsatz kamen (siehe Tab. 1), zeigte der Antikörper gegen das CD15-Epitop die informativsten Befunde.

Striatum, striatale Zellgruppen und damit assoziierte Zell-Ensembles, sog. Taschen, stellten sich mit sehr hoher Intensität und deutlichem Kontrast gegenüber der Umgebung dar. Dies bot die Gelegenheit, die immunreaktiven Areale des Tu dreidimensional zu rekonstruieren. Angesichts des schnell wechselnden Strukturbildes war die Voraussetzung hierfür eine hohe Schnittdichte. Daher wurde im Bereich des Tu mindestens jeder zweite Schnitt mit dem Antikörper gegen CD15 behandelt. Die Zwischenschnitte wurden zum Nachweis anderer Antigene verwendet. Dies geschah nicht in systematischer Reihenfolge, sondern gezielt zum Nachweis bestimmter Strukturen, um die Interpretation zu erleichtern.

Die folgende Beschreibung bezieht sich daher auf die Expression des CD15-Epitops. Nur in Einzelfällen werden Beschreibungen des Reaktionsmusters nach Einsatz anderer Antikörper vorgenommen.

4.1.1. Makroskopische und mikroskopische Auswertung der Schnittpräparate bzw. der Lumogramme

Für die folgende Beschreibung der CD15-immunreaktiven Strukturen im Tu wurden jeweils 16 repräsentative Schnitte bzw. Lumogramme zusammengefasst. Verwendet wurden die Lumogramme mit den Schnittnummern 1014, 1034, 1058, 1078, 1098, 1118, 1136, 1158, 1178, 1198, 1218, 1238, 1258, 1278, 1298 und 1318. Die Abstände zwischen den selektierten immunbehandelten Schnitten lagen abgesehen von wenigen Ausnahmen bei 400 µm, so dass die zu untersuchenden zerebralen Strukturen in ihrer Kontinuität verfolgt werden konnten.

Die Abstände der verwendeten Lumogramme zum Zentrum (Schnittnummer 1365) der vorderen Kommissur (ac) ließen sich anhand der Schnittnummer unter Berücksichtigung der Schnittdicke berechnen. Die morphometrischen Untersuchungen berücksichtigen nicht den Schrumpfungsfaktor von ca. 50%. Daher beziehen sich die ermittelten Werte auf die in Paraffin eingebetteten Schnitte.

Gemessen vom Zentrum der ac ließ sich im Abstand von 7,06 mm nach rostral erstmals ein immunreaktives Areal im Gebiet des Tu umzeichnen. Immunreaktive Bereiche erscheinen auf den Lumogrammen hell, wohingegen Bereiche ohne Immunreaktivität (IR) dunkel erscheinen. Die Intensitätsunterschiede der IR zwischen den einzelnen zerebralen Strukturen wurde visuell abgeschätzt. Es wurde eine negative, eine schwache, eine mittelstarke und eine starke CD15-IR unterschieden. Bezüglich des Musters der IR wurde zwischen einem homogenen und heterogenen CD15-Verteilungsmusters differenziert. Material mit CD15-positiver Granula wurde als punktförmig beschrieben.

Die stark idealisierte Begrenzung der interessierenden Strukturen erfolgte aufgrund von morphologischen und immunhistochemischen Kontrasten. Berücksichtigt wurden: Commissura anterior (ac), Capsula externa (ec), Capsula extrema (ex), Capsula interna (ic), Claustrum (Cl), Ependym (EpL), Globus pallidus (GP), Insula (Ins), Insula Calleja Magna (ICjM), Insula terminalis olfactoria (ITO), Lateraler Ventrikel (LV), medio-frontaler Kortex (MFr), Nucleus accumbens (Acb), Nucleus caudatus (Cd), piriformer Kortex (Pir), Putamen (Pu), Septalregion (SA), Substriatale Inseln (SStr), Tractus diagonalis (db), Tractus olfactorius lateralis (lo), Tuberculum olfactorium (Tu) und ventrales Striatum (VStr).

Da auf interne Orientierungsmarker verzichtet wurde (siehe 3.6.), dienten die umzeichneten o.g. Strukturen als wichtige Landmarken.

Die zerebralen Strukturen wurden beschriftet und farbig kodiert, um sie in ihrer Kontinuität verfolgen zu können. Der Begriff Insulae terminales olfactoriae (ITO) bezeichnet Cluster von Körnerzellen innerhalb des Tu. Die Bezeichnung von Clustern in anderen Regionen des basalen Vorderhirns erfolgt entsprechend der Terminologie von Hartz-Schütt und Mai (1991). Die Nummerierung der ITOs entspricht der Reihenfolge der erstmaligen CD15-Expression im Bereich der Segmente des immunreaktiven Tu von anterior nach posterior.

Innerhalb der ITOs werden jeweils drei Schichten unterschieden (siehe 3.6.): eine plane Basis in der Lamina I (molekulare Schicht), ein mittleres Zellband im Bereich der Lamina II (Pyramidenzellschicht) und eine Kappe im Bereich der Lamina III (multiforme Schicht).

Die 16 repräsentativen Lumogramme werden mit den entsprechenden Umzeichnungen auf den folgenden Seiten in Form eines Atlases dargestellt. Die mm-Angabe in der unteren Ecke der abgebildeten Lumogramme gibt den Abstand zum Zentrum der ac wieder.

4.1.1.1. Schnitt 1014

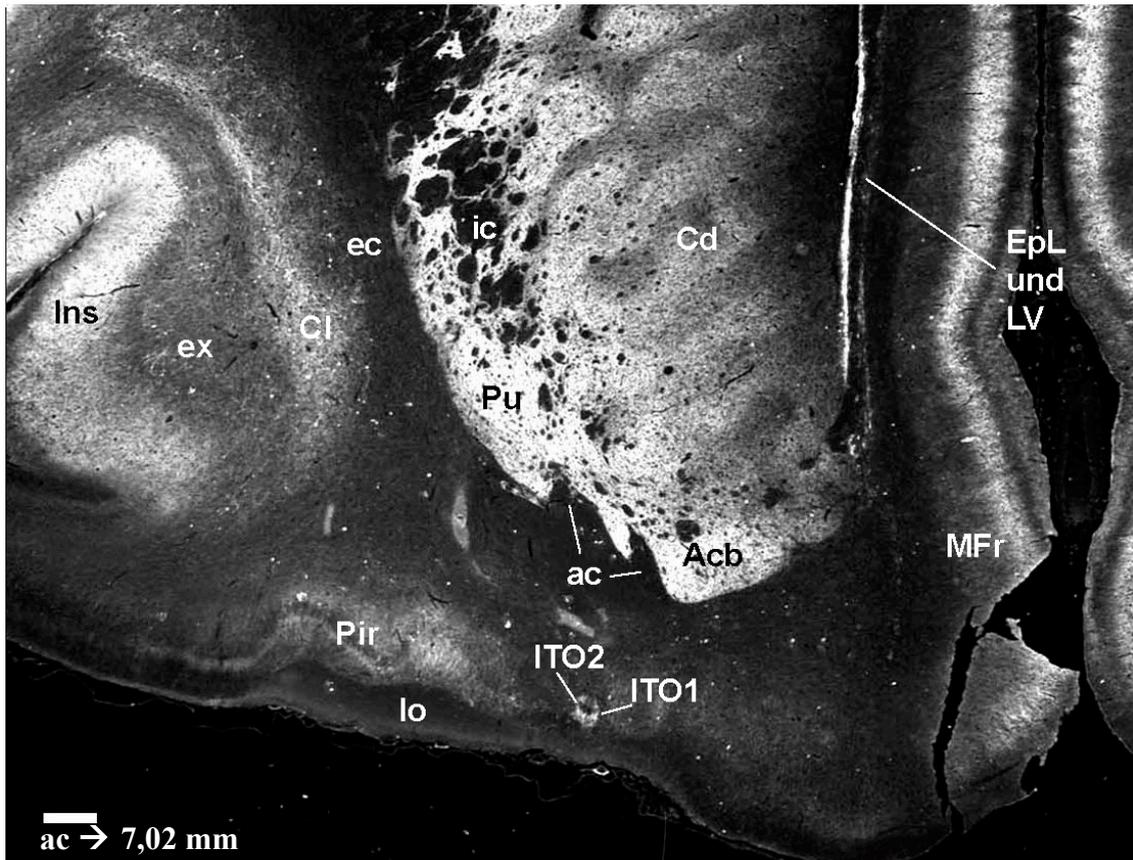


Abb. 7a Lumogramm des Schnitts 1014 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

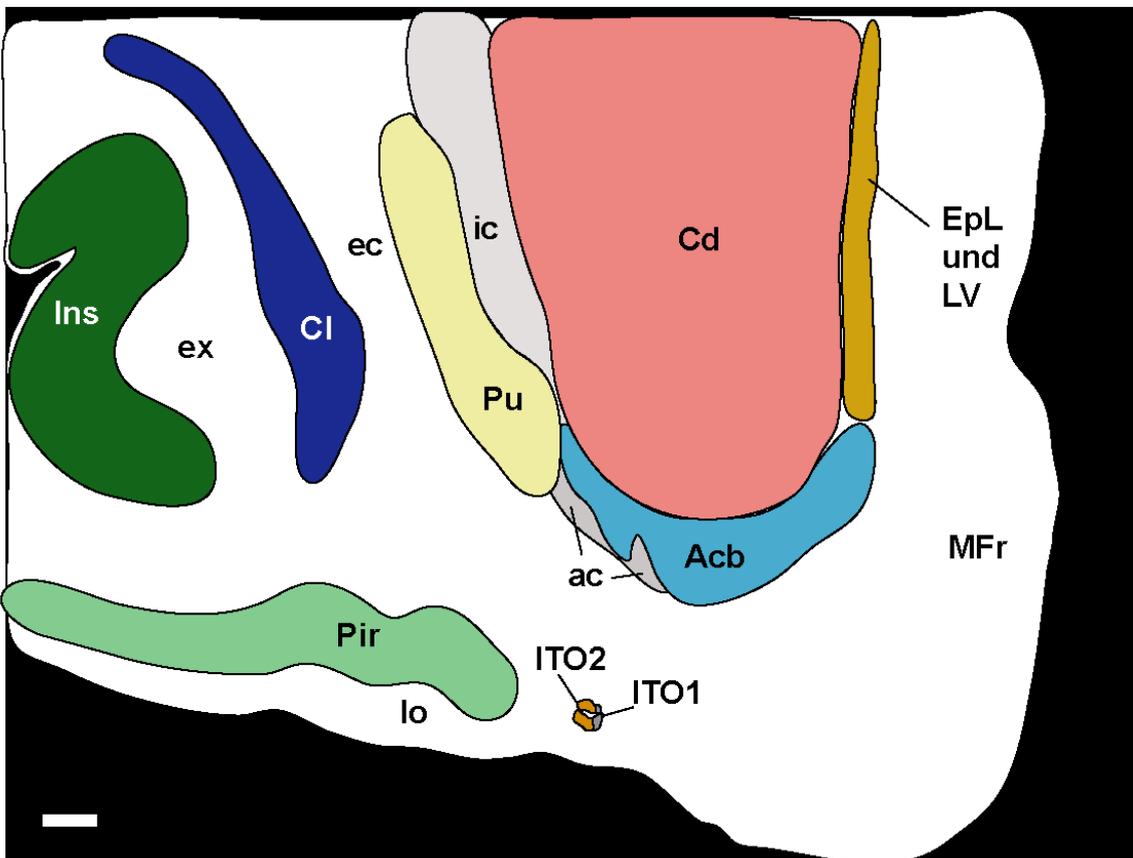


Abb. 7b Umzeichnung des Schnitts 1014 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1014 zeigt das vordere, immunreaktive Ende des Tu der rechten Hemisphäre. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 7,02 mm.

Auf dieser Schnittebene liegen zwei einander anliegende Segmente des Tu (ITO1 und ITO2), wie der Abb. 7b zu entnehmen ist.

In einem Abstand von ungefähr einem Millimeter von der pialen Oberfläche ist das den ITOs zugeordnete immunreaktive Areal zu erkennen. Ventral liegt die halbmondförmige Basis der ITOs, die durch eine mittelstarke CD15-Expression besticht und sich scharf von der Umgebung abgrenzt. Das Expressionsmuster der Basis ist heterogen. Die Intensität der IR nimmt nach ventral ab, so dass sich die Basis aus zwei voneinander scharf begrenzten Anteilen zusammensetzt.

Die dorsale Kappe der ITOs wird durch ein CD15-negatives Zellband, das den mittleren Anteil der ITOs darstellt, von der Basis separiert. Dieses Zellband entspricht der Pyramidenzellschicht.

Die Struktur der dorsalen Kappe imponiert durch eine mittelstarke CD15-Expression, wodurch eine deutliche Abgrenzung von der Umgebung ermöglicht wird. Das homogene Bild der CD15-positiven Kappe wird durch eine CD15-negative bis CD15-schwache Aussparung unterbrochen.

Lateral des immunreaktiven Tu liegt der Pir, dessen Expressionsmuster eine Schichtung zu erkennen gibt. Zwischen Pir und pialer Oberfläche ist der lo angeschnitten, welcher durch ein Areal negativer CD15-IR besticht. Dorsal des lo liegt ein relativ breites Areal schwacher IR, das eine Synapsenzone zwischen lo und der schmalen, mittelstark CD15-positiven Molekularschicht des Pir darstellt. Das Pyramidenzellband besitzt kein immunreaktives Material. Die infrapyramidale, multifforme Schicht besticht durch eine schwache CD15-IR.

Die IR des Pir nimmt nach lateral graduell ab. Pir und ITOs werden durch ein Gebiet ohne IR voneinander separiert.

Der Acb ist durch eine hohe, homogene CD15-IR charakterisiert und kann gegenüber den ITOs scharf abgegrenzt werden. Die supratuberkuläre Zone, die dem Bereich zwischen Acb und Tu entspricht, ist auf dieser Schnittebene relativ breit.

Cd und Pu werden durch die ic voneinander getrennt. Das schwach bis mittelstark CD15-positive Material des Cd zeichnet sich durch ein heterogen verteiltes, feingranuliertes, punktförmiges Material aus. Fingerförmige, stärker immunreaktive Areale wechseln sich mit CD15-schwächeren Gebieten ab, was eine Patch-Matrix-Felderung hervorruft.

Im Gebiet des Pu herrscht eine stark immunreaktive, punktförmige Neuropilmarkierung ohne Patch-Matrix-Strukturierung vor. Die ic stellt sich als aufgelockertes Gefüge dar und geht fließend in Cd und Pu über.

Zwischen Pu und Acb ist die ac angeschnitten, die sich wie die ic durch eine fehlende IR auszeichnet. Die ac steht auf dieser Schnittebene in keiner direkten Beziehung zum immunreaktiven Tu.

Die CD15-IR der Ins nimmt nach ventral graduell ab. Ein Gebiet starker IR wird von einem Bereich schwacher bis mittelstarker IR scharf abgegrenzt.

Das Cl besticht durch eine schwache CD15-Expression.

Im MFr lassen sich Schichten unterschiedlicher IR zueinander scharf abgrenzen.

Das EpL zeichnet sich durch einen stark immunreaktiven Saum aus.

4.1.1.2. Schnitt 1034

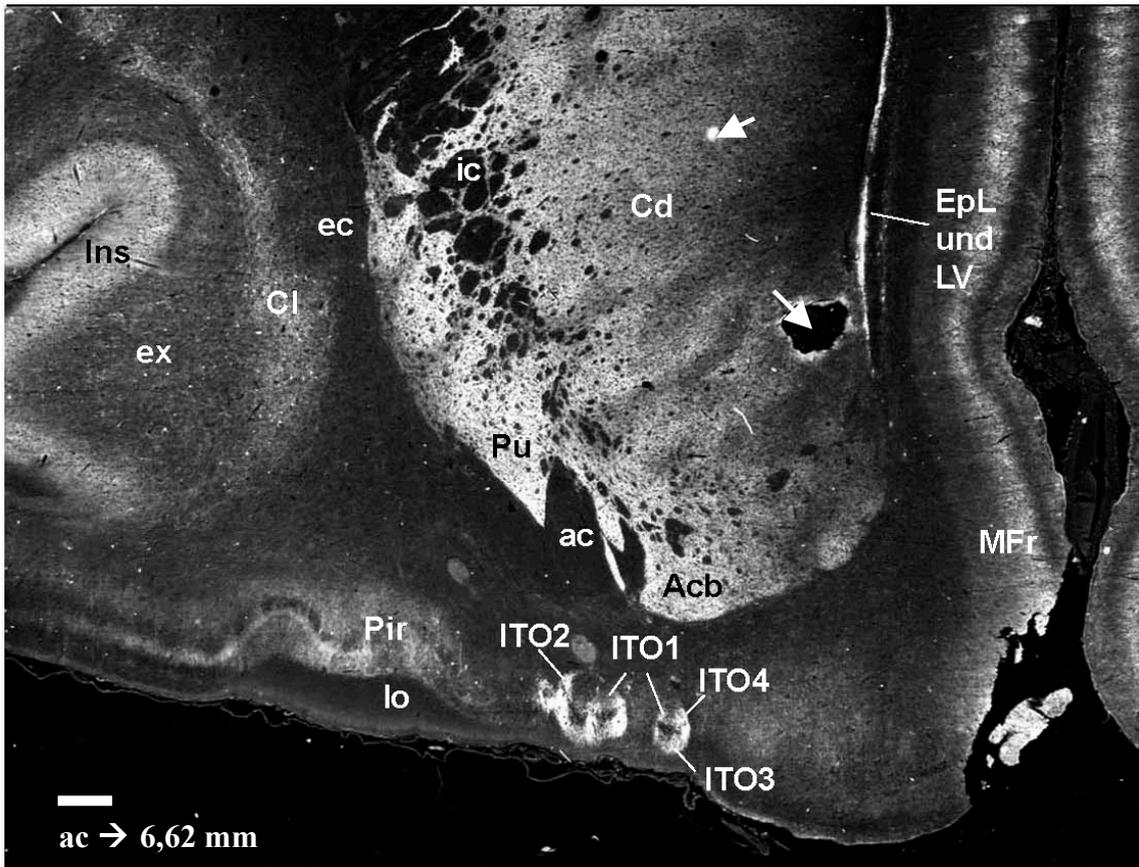


Abb. 8a Lumogramm des Schnitts 1034 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

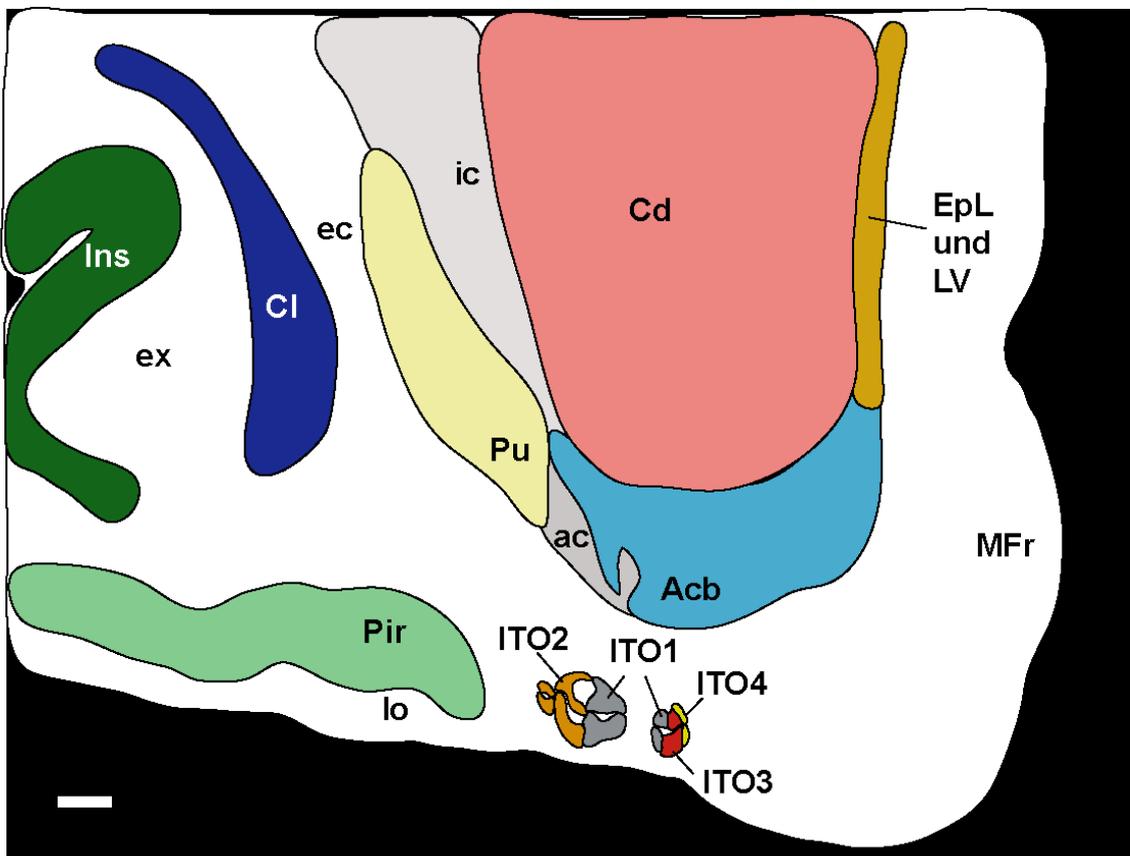


Abb. 8b Umzeichnung des Schnitts 1034 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1034 liegt 6,62 mm vor dem Zentrum der ac.

Auf dieser Schnittebene können dem Tu zwei unterschiedlich große, voneinander separierte Areale ähnlicher IR zugerechnet werden, die sich, wie aus der farbigen Kodierung in Abb. 8b zu entnehmen ist, in vier ITOs aufteilen lassen: Weiter medial gelegen imponiert ein stark CD15-positives Material mit scharf begrenztem, ovalen Umriss, welches drei Segmenten des Tu angerechnet werden kann. Dem Pir angenähert liegt ein CD15-positives Areal, welches sich nach Farbkodierung in zwei Segmente des Tu aufteilt. Beide Areale enthalten immunreaktives Material der ITO1. Die ventro-dorsale Dreiteilung der ITOs ist nun deutlicher erkennbar. Das immunreaktive Gebiet der ITOs hat sich im Vergleich zur Schnittebene 1014 nach medial und ventral ausgedehnt.

Im Areal der Basis der ITOs gehen Bereiche starker IR in Bereiche über, die durch eine mittelstarke, feingranulierte, punktförmige Neuropilmarkierung imponieren. Das CD15-negative Zellband, welches die Kappe von der Basis separiert, wird an wenigen Stellen von CD15-positiven Ausläufern durchzogen, so dass Basis und Kappe miteinander in Verbindung stehen.

Das Material des Acb zeigt nun eine heterogene, punktförmige Neuropilmarkierung. Die CD15-IR nimmt nach medial graduell ab. Eine exakte Grenzziehung zum Cd ist nur annäherungsweise möglich. Das Areal des Acb verlagert sich zunehmend in die ventralen Bereiche und nähert sich dem Gebiet der ITOs.

Die Ins besticht durch ein homogenes CD15-Expressionsmuster.

Die weißen Pfeile auf Abb. 8a markieren Artefakte.

4.1.1.3. Schnitt 1058

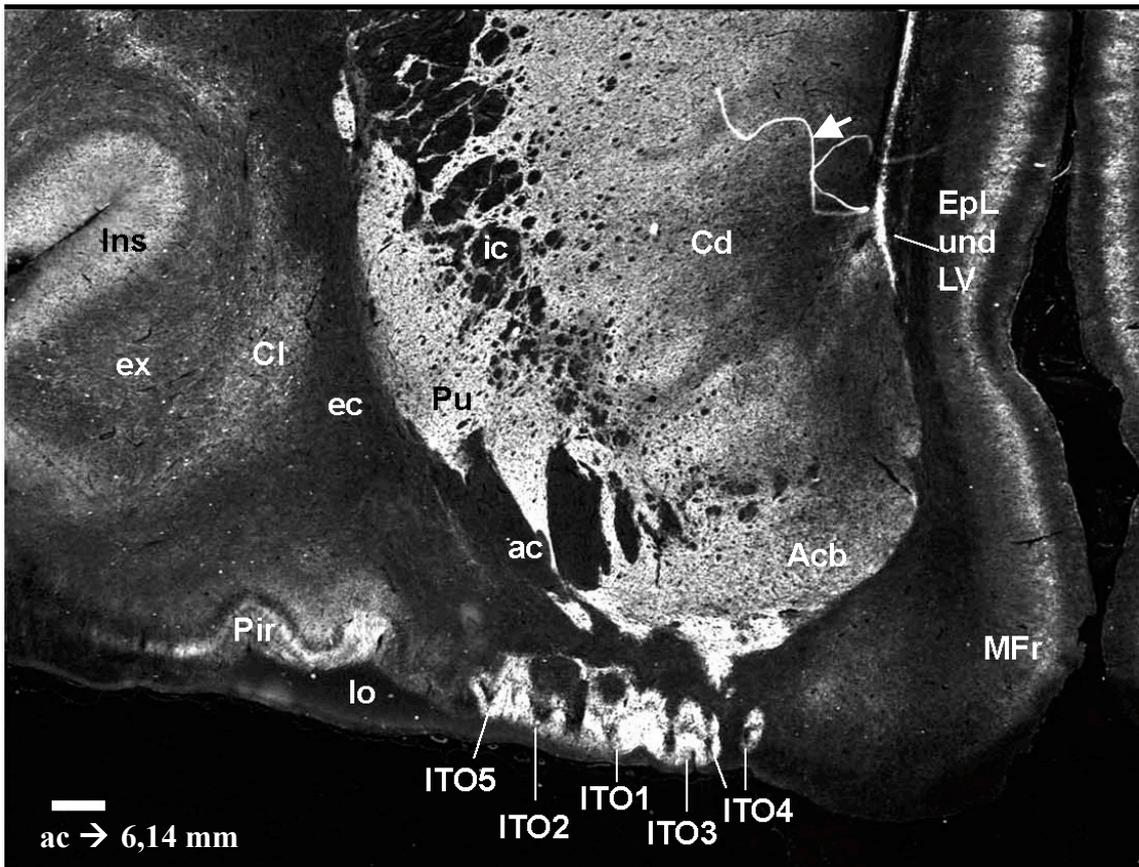


Abb. 9a Lumogramm des Schnitts 1058 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

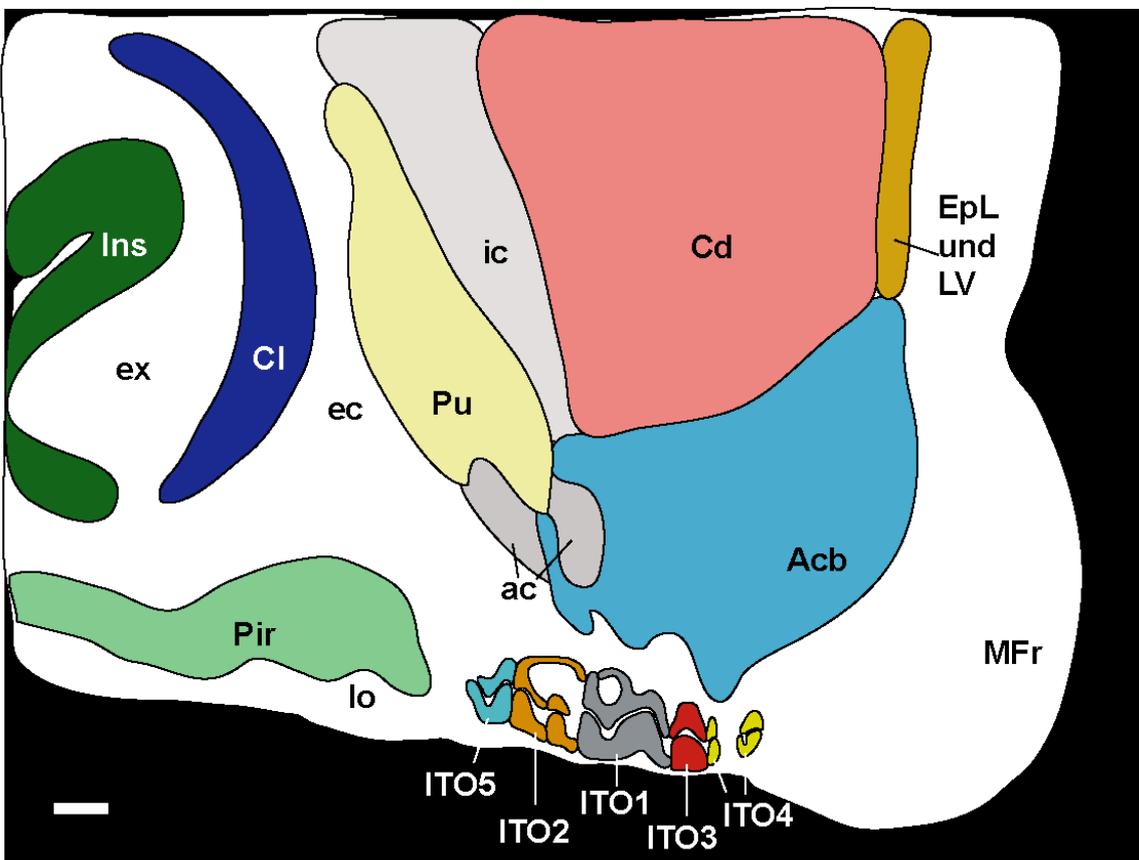


Abb. 9b Umzeichnung des Schnitts 1058 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1058 führt durch fünf farbig kodierte Segmente des Tu. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 6,14 mm.

Die Areale, die in Abb. 8b dem grau markierten Segment des Tu zugerechnet wurden, haben sich einander angenähert und sind verschmolzen. Die stark CD15-positiven ITOs lassen sich durch ihr Expressionsmuster scharf von ihrer Umgebung abgrenzen und sind bis auf einen medialen Teil des ITO4 miteinander verbunden. Das immunreaktive Areal der ITOs hat sich sowohl nach medial als auch nach lateral ausgedehnt, steht aber nicht in direktem Kontakt zum Pir, der sich auf der Schnittebene 1058 ventro-medial durch einen Bereich starker CD15-IR auszeichnet.

Die Basis aller ITO weist ein kontrastreiches Expressionsmuster auf. Zonen hoher IR verschmelzen fließend mit Bereichen einer mittelstarken, feingranulierten, punktförmigen Neuropilmarkierung. Der Abstand der Basis zur pialen Oberfläche hat sich im Vergleich zur vorhergehenden Schnittebene reduziert. Die Kappen haben auf dieser Schnittebene keinen geschlossenen Charakter, werden aber im Bereich der orange und grau kodierten Segmente (ITO2 und ITO1) durch schwach CD15-positive Ausläufer miteinander verbunden.

Das Material des Acb besticht durch eine heterogene, punktförmige Neuropilmarkierung. Der ventrale Anteil des Acb (vAcb) zeichnet sich durch eine starke CD15-Expression aus und kann gegenüber dem dorsalen Teil des Acb (dAcb) scharf abgegrenzt werden. Eine exakte Grenzziehung zum Cd ist nur annäherungsweise möglich. Der vAcb entlässt einen zu den ITOs hin orientierten Ausläufer.

Der weiße Pfeil auf Abb. 9a markiert ein Artefakt.

4.1.1.4. Schnitt 1078

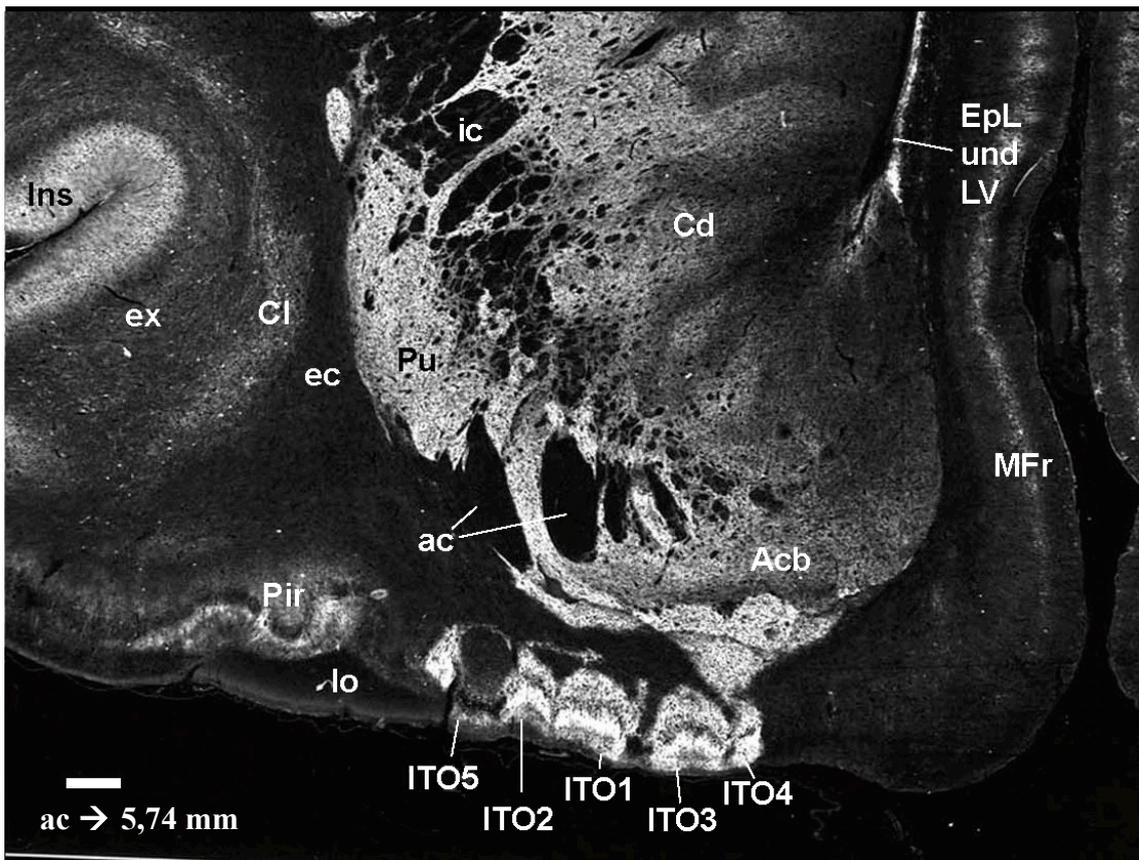


Abb. 10a Lumogramm des Schnitts 1078 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

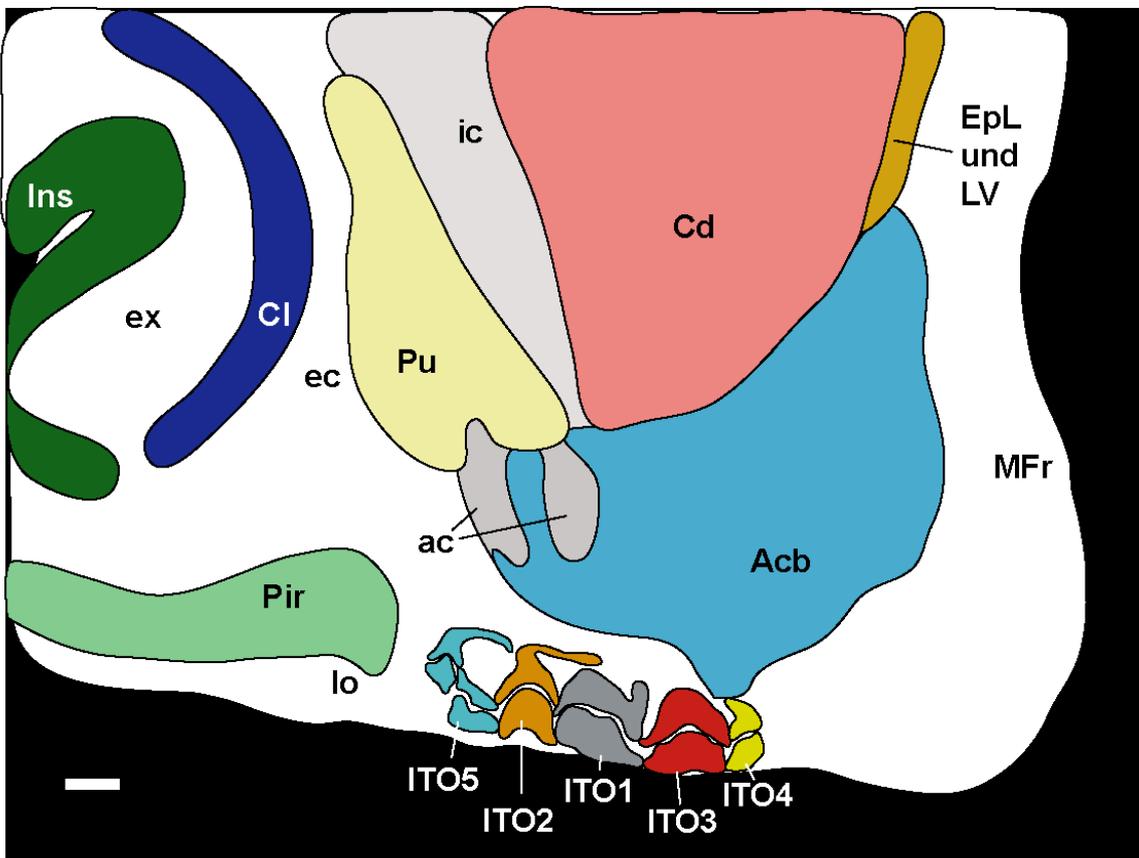


Abb. 10b Umzeichnung des Schnitts 1078 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1078 liegt 5,74 mm vor dem Zentrum der ac. Aus der farbigen Kodierung in Abb. 10b wird ersichtlich, dass fünf Segmente vorliegen, die unmittelbar aneinander grenzen. Die mittleren drei Segmente (ITO1, ITO2 und ITO3) sind durch eine Glockenform charakterisiert. Das Expressionsmuster erscheint deutlich strukturiert. Die ventro-dorsale Dreiteilung ist deutlich zu erkennen. Im Vergleich zur Schnittebene davor reicht die Ausdehnung der ITOs weiter nach medial. Die ITOs liegen zum größten Teil der pialen Oberfläche breitbasig auf.

Die Basis jeder ITO zeigt eine deutliche Schichtung. Direkt unterhalb des mittleren Zellbands liegt ein Saum starker IR. In Nachbarschaft zur pialen Oberfläche besticht die Basis durch eine mittelstarke IR. Die Abgrenzung zwischen diesen beiden Arealen ist scharf. Die Kappe der ITOs zeigt ebenfalls eine mittelstarke CD15-IR, allerdings liegt eine gröbere Strukturierung vor als im Bereich der Basis. Das Zellband, welches Kappe von Basis separiert, fällt nun durch eine schwache CD15-IR auf.

Das Zellband erstreckt sich durch alle ITOs.

Lateral des Tu imponiert der Pir durch eine punktförmige Neuropilmarkierung mit heterogenem Charakter. Der Pir kann suprapyramidal scharf vom lo abgegrenzt werden. Infrapyramidal ist die Begrenzung des Pir unscharf und diffus. Zwischen Pir und der lateralen ITO5 liegt ein Areal negativer IR.

Der vAcb zeigt eine punktförmige Neuropilmarkierung, welche von medio-dorsal nach ventro-lateral intensiver wird. Der vAcb wird durch eine CD15-negative Straße vom dAcb separiert. Das stark CD15-positive, Areal des vAcb steht auf dieser Schnittebene erstmals in direktem Kontakt zur Kappe der ITO4.

Die IR des MF_r ist im Vergleich zur vorhergehenden Schnittebene deutlich reduziert, so dass die Schichtung nur noch schwer zu erkennen ist.

4.1.1.5. Schnitt 1098

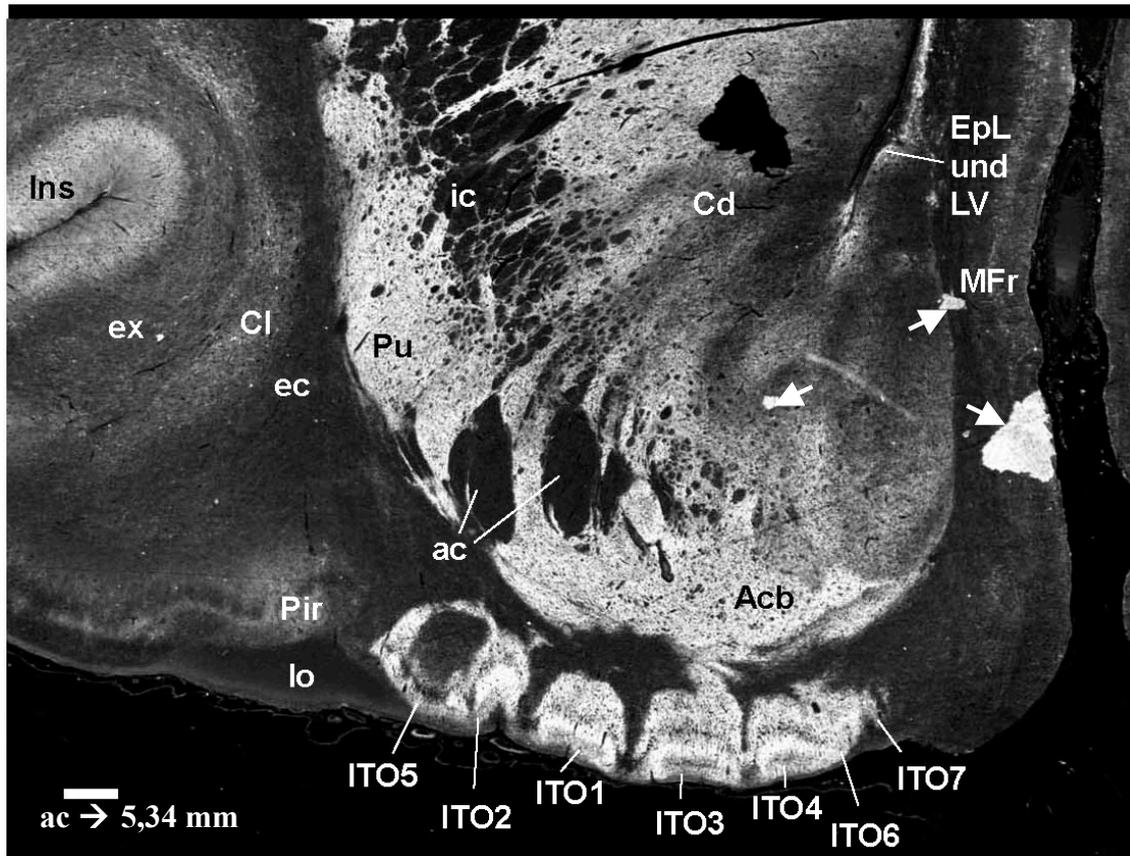


Abb. 11a Lumogramm des Schnitts 1098 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

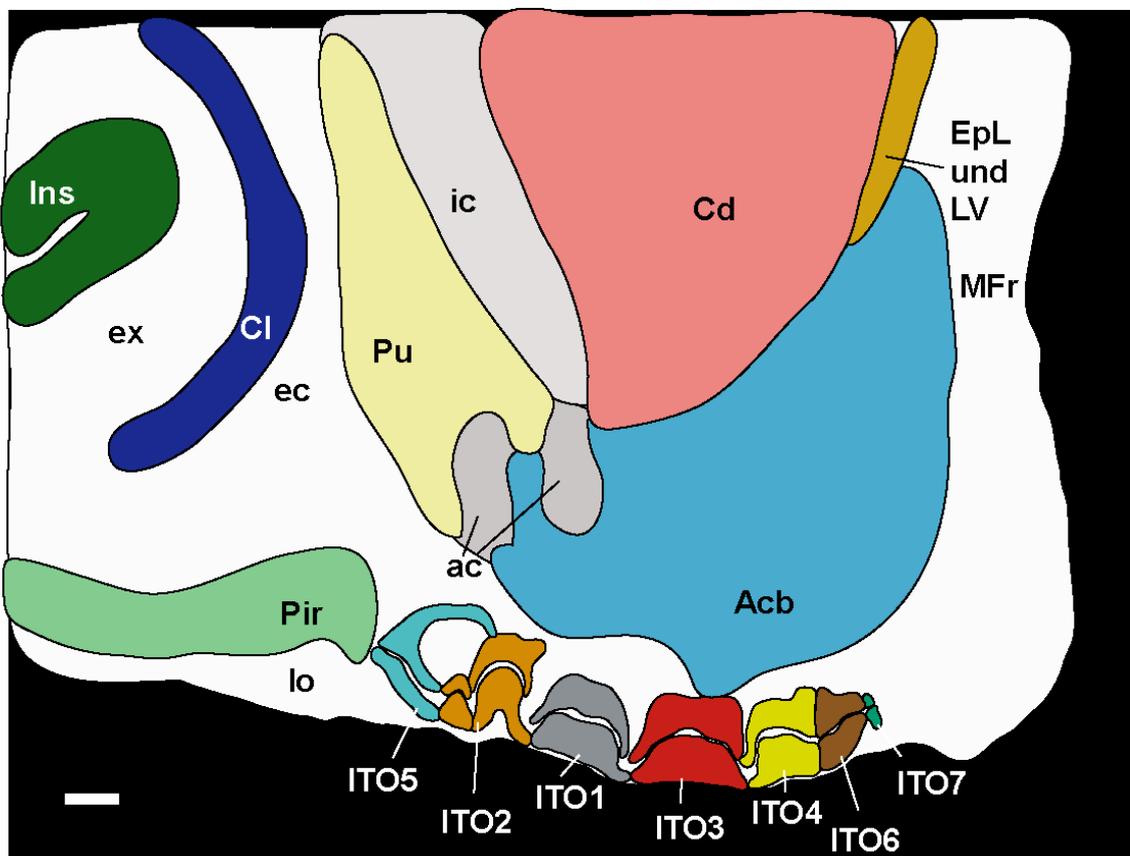


Abb. 11b Umzeichnung des Schnitts 1098 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Der Abstand der Schnittebene 1098 zum Zentrum der ac beträgt 5,34 mm. Im Tu sind nun sieben Segmente abzugrenzen. Die ITOs sind alle miteinander verbunden. Das laterale, hellblau kodierte Segment (ITO5) besitzt nicht die typische Glockenform der übrigen Segmente. Die Kappen der ITOs sind untereinander und gegenüber dem mittleren Zellband deutlich abgesetzt.

Die immunreaktiven Areale des Tu sind nach medial und lateral expandiert, so dass das laterale, in Abb. 11b hellblau markierte Areal des Tu (ITO5) sich näher an den Pir anschmiegt, dessen Expressionsmuster unverändert bleibt.

Bis auf die ITO5, in der das Zellband CD15-negativ ist, wird die Pyramidenzellschicht von dünnen Ausläufern durchzogen, die die Basis mit der Kappe jeder einzelnen Insel verbinden. Daraus resultiert eine schwache CD15-IR.

Die der pialen Oberfläche aufliegende Basis hat ihren heterogenen Charakter beibehalten. Zur pialen Oberfläche hin dominieren Areale mittelstarker, punktförmiger Neuropilmarkierung mit überwiegend scharf abgegrenztem Umriss. Ventral des mittleren Zellbands liegen Bereiche starker IR.

Die Kappen der einzelnen Segmente imponieren durch ein von der Umgebung scharf abgrenzbares, stark CD15-positives, feingranuliertes Material. Von den Kappen der ITOs 2,3,4 und 6 weisen Ausläufer in Richtung Acb.

Aus dem CD15-Verteilungsmuster des Acb wird ersichtlich, dass der durch eine starke, punktförmige Neuropilmarkierung ausgezeichnete vAcb im Umfang zugenommen hat. Er wird weiterhin gegenüber dem dorsal liegenden Areal des dorsalen Striatum scharf abgegrenzt. Die ventrale, zipfelige Ausziehung des Acb verschmilzt mit der Kappe des rot kodierten Segments des Tu (ITO3).

Das Gebiet, welches dem Cd zuzurechnen ist, besticht durch sein heterogen verteiltes, feingranuliertes Material. Stark immunreaktive Bereiche gehen in Areale schwächerer Intensität über.

Die weißen Pfeile auf Abb. 11a markieren Artefakte.

4.1.1.6. Schnitt 1118

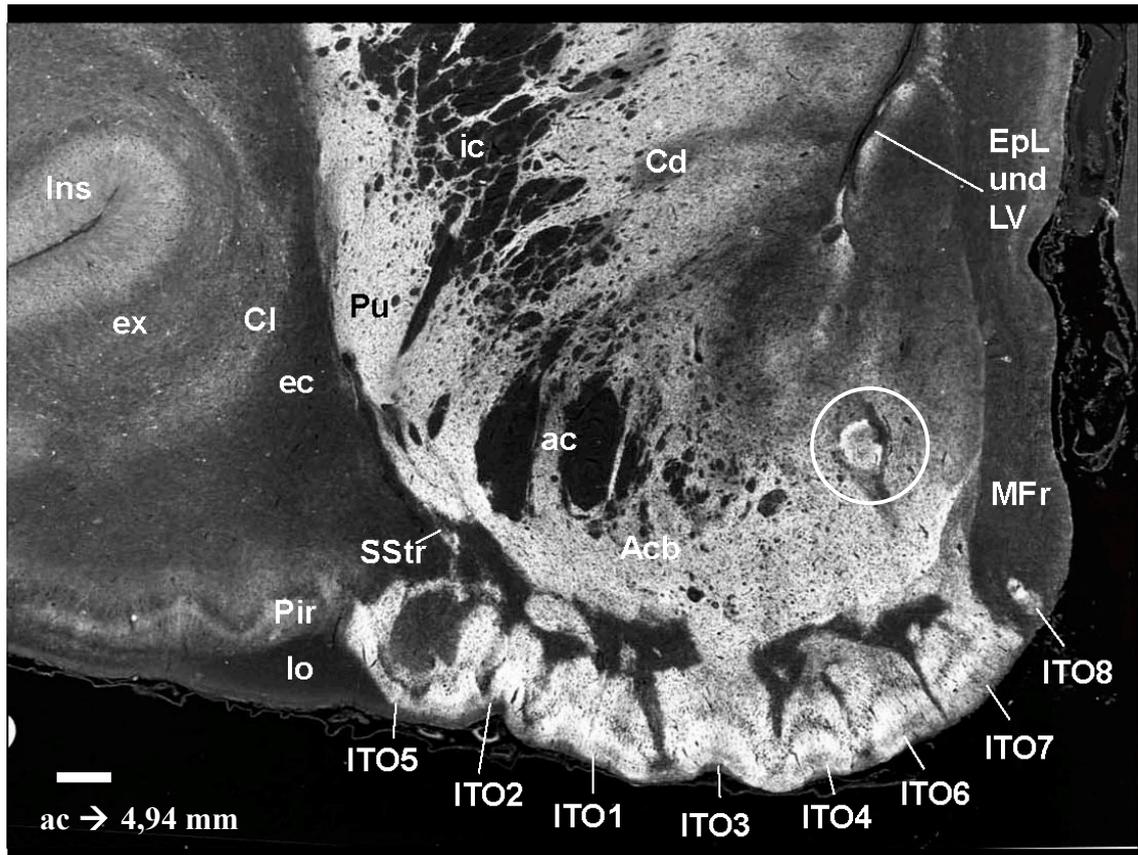


Abb. 12a Lumogramm des Schnitts 1118 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

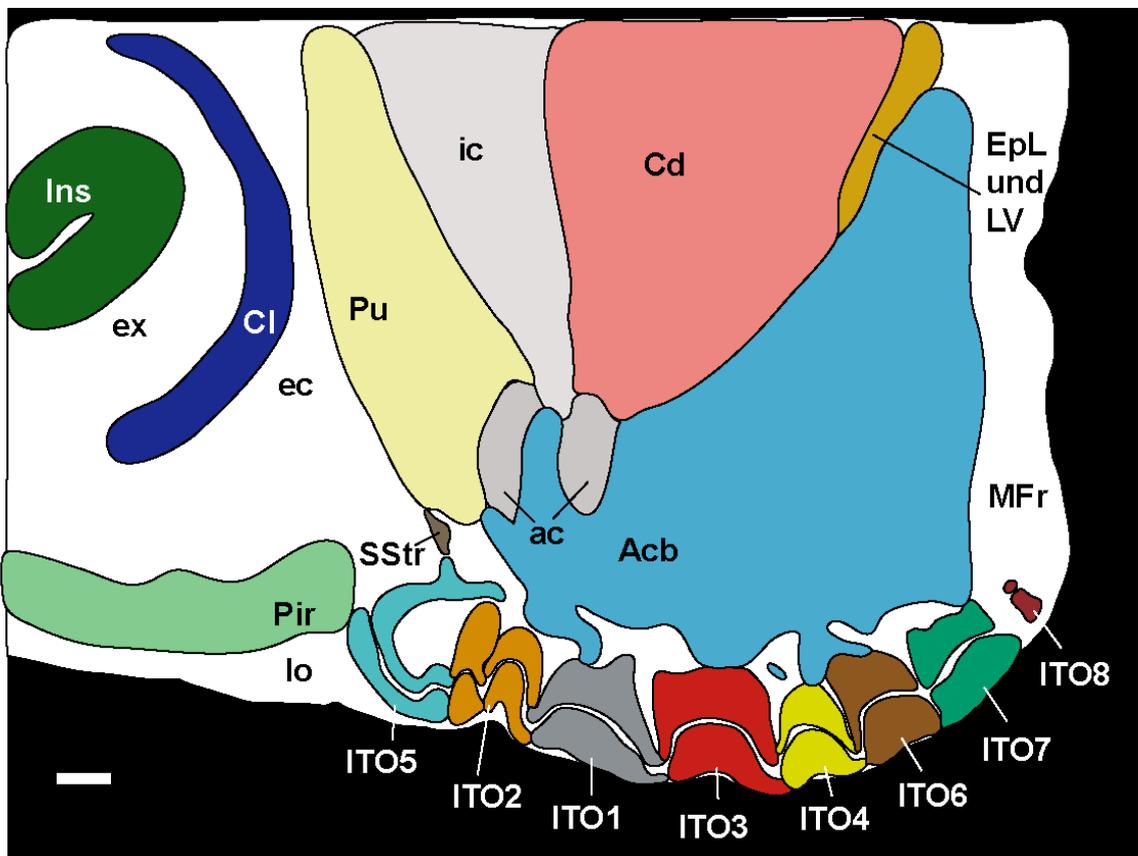


Abb. 12b Umzeichnung des Schnitts 1118 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1118 liegt 4,94 mm vor dem Zentrum der ac. Auf dieser Schnittebene hat sich das immunreaktive Areal des Tu in medialer Richtung verbreitert. Dies ist einmal auf den verbreiterten Querschnitt der ITOs, sowie den Anschnitt der erstmals auftretenden ITO8 zurückzuführen.

Die ITOs 6 und 7, sowie die ITOs 7 und 8 sind voneinander komplett separiert, während die anderen Segmente teilweise verbunden sind, und nur durch ihre individuelle Glockenform voneinander zu unterscheiden sind. Eine Ausnahme bildet weiterhin das lateral liegende Segment (ITO5), dessen infrapyramidalen Anteil der Insel von einem CD15-negativen Kern und einer CD15-positiven Kapselstruktur gekennzeichnet ist.

Das Expressionsmuster des Zellbands der ITOs erstreckt sich von medial nach lateral durch alle Segmente, wird aber auf dieser Schnittebene von einer stärkeren IR geprägt, so dass keine exakte Grenzziehung zwischen Kappe und Basis möglich ist.

Das CD15-Verteilungsmuster in den acht Segmenten hat sich bezüglich Kappe und Basis nicht verändert. Beide Strukturen bestechen wie bereits in Abb. 11a durch eine punktförmige Neuropilmarkierung. Eine klare Abgrenzung zur Umgebung ist dadurch möglich.

Besonders auffällig sind die zahlreichen Verbindungen zwischen Acb und Tu. Es sind Ausläufer des stark CD15-positiven vAcb zu den Kappen der ITOs 1, 3, 4, 6 und 7 vorhanden. Diese Ausläufer stellen sich mit demselben Expressionsmuster wie der vAcb dar, d.h. durch ein stark immunreaktives, feingranuliertes Material. Im Bereich des Acb lässt sich eine Region medial von EpL und LV gegenüber dem lateral wesentlich deutlicher gefärbten Anteil unterscheiden. An der Grenze beider Subareale befindet sich ein rundes Areal sehr intensiver CD-15 IR (siehe weißer Kreis auf Abb. 12a), das von einem CD15-positiven Saum begrenzt wird.

Erstmals sind die SSr angeschnitten, welche die ITO5 kleinflächig berühren. Das Areal der SSr liegt unmittelbar ventro-lateral des Pu, welches durch eine CD15-negative dünne Linie abgegrenzt wird. Das Expressionsmuster der SSr besteht durch eine von der Umgebung scharf abgegrenzte, starke CD15-IR.

4.1.1.7. Schnitt 1136

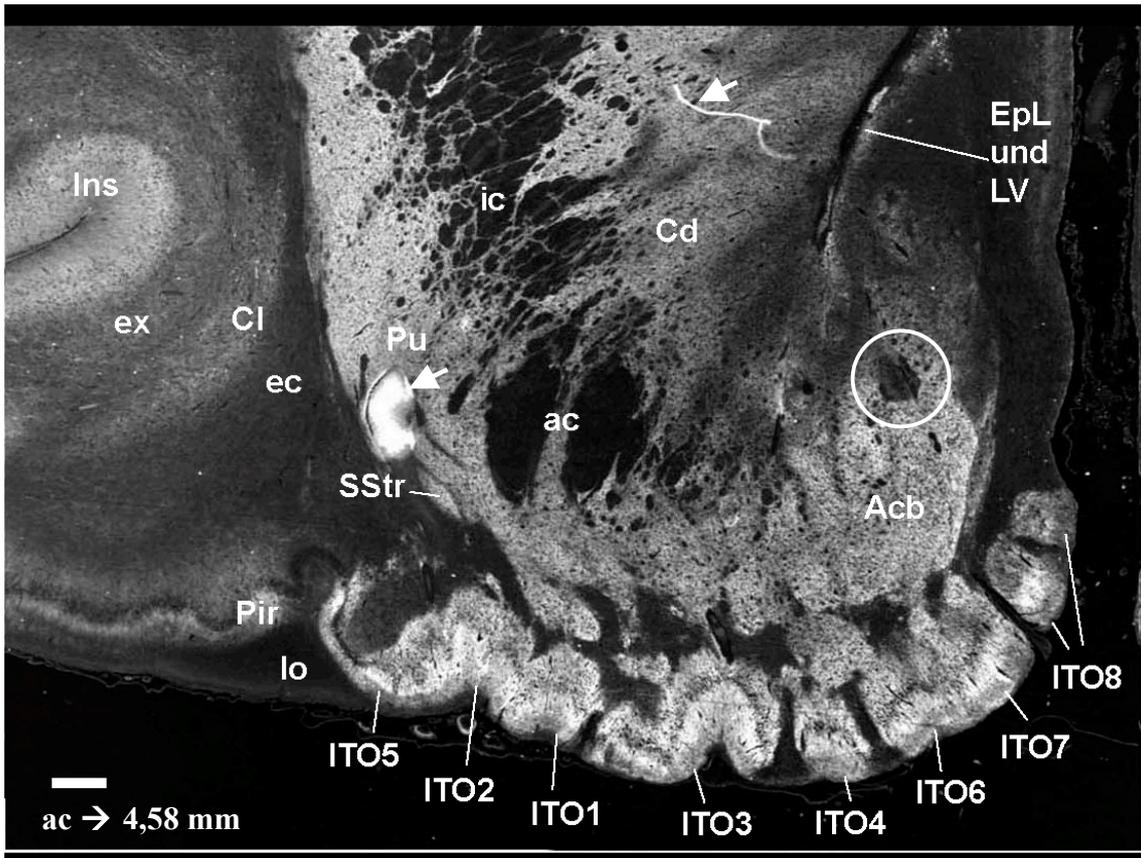


Abb. 13a Lumogramm des Schnitts 1136 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

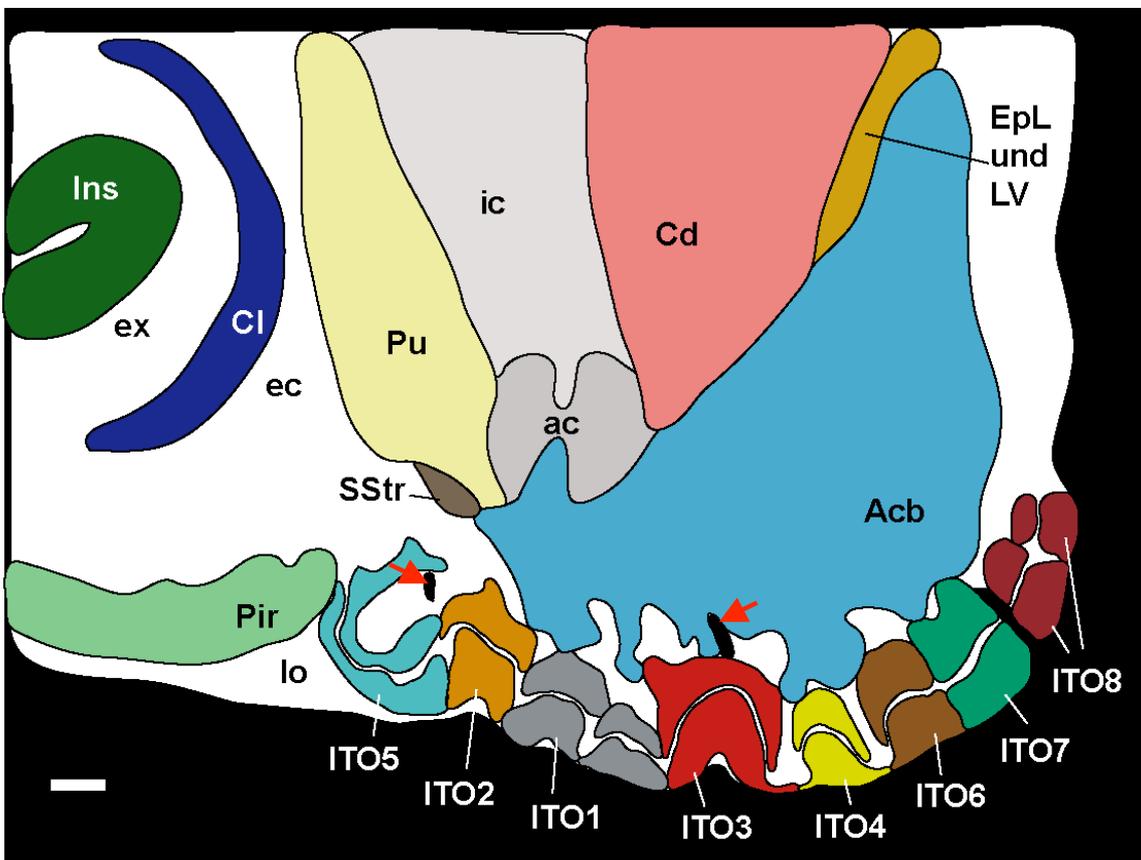


Abb. 13b Umzeichnung des Schnitts 1136 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1136 liegt 4,58 mm vor dem Zentrum der ac und ist geprägt von einem weiter nach medial expandierten, immunreaktiven Tu. Es liegen acht Segmente vor.

Wie auf der vorhergehenden Schnittebene sind einzelne Inseln deutlich getrennt, während eine Separierung der übrigen Inseln nur durch die Analyse der Nachbarschnitte zweifelsfrei vollzogen werden kann. Besonders deutlich wird dies im Fall des grau markierten Segments (ITO1), das kontinuierlich in das benachbarte rot kodierte Segment (ITO3) übergeht. Der medial liegende Teil der ITO1 hält seine Verbindung zum lateral liegenden Teil nur über einen schwachen Kontaktpunkt sowohl im Bereich der Kappe als auch im Bereich der Basis aufrecht.

Das CD15-Verteilungsmuster in den abgebildeten Segmenten hat sich nicht verändert. Basis und Kappe aller Segmente weisen eine punktförmige Neuropilmarkierung auf. Eine klare Abgrenzung zur Umgebung ist möglich.

Zwischen ITO7 und ITO8 ist ein Blutgefäß angeschnitten, wodurch diese Segmente separiert sind. Weitere angeschnittene Blutgefäße sind auf Abb. 13b mit roten Pfeilen markiert.

Der Übergang vom Pir in das laterale, immunreaktive Tu ist auch auf dieser Schnittebene vorhanden. Das mittlere, CD15-negative Band des Pir geht deutlich in das Zellband der ITO5 über. Dieser Umstand ist auch auf den folgenden Schnittebenen mehr oder weniger deutlich beibehalten (besonders gut zu erkennen auf Abb. 17a und 19a).

Der Umfang des Acb nimmt nach medial und dorsal zu. Ausläufer aus dem Acb bauen zu sechs Segmenten des Tu eine Verbindung auf. Diese Ausläufer besitzen dieselbe mittelstarke CD15-IR wie der vAcb und die Kappen der ITOs.

Wie auf der vorhergehenden Schnittebene grenzt ein ventraler, mittelstark CD15-immunreaktiver Anteil des Acb an ein Subareal schwacher IR. An diesem Übergang liegt ein rundes Areal negativer CD15-IR (siehe weißer Kreis auf Abb. 13a).

Die weißen Pfeile markieren Artefakte.

4.1.1.8. Schnitt 1158

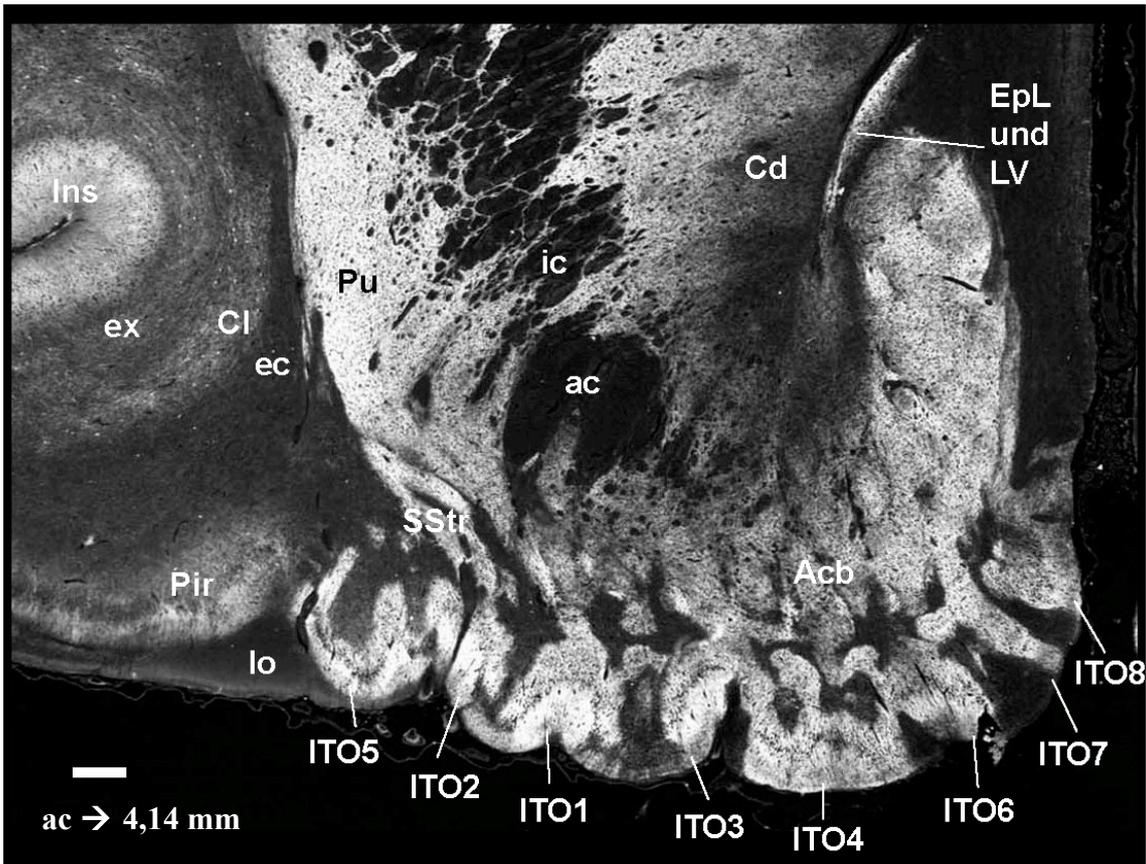


Abb. 14a Lumogramm des Schnitts 1158 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

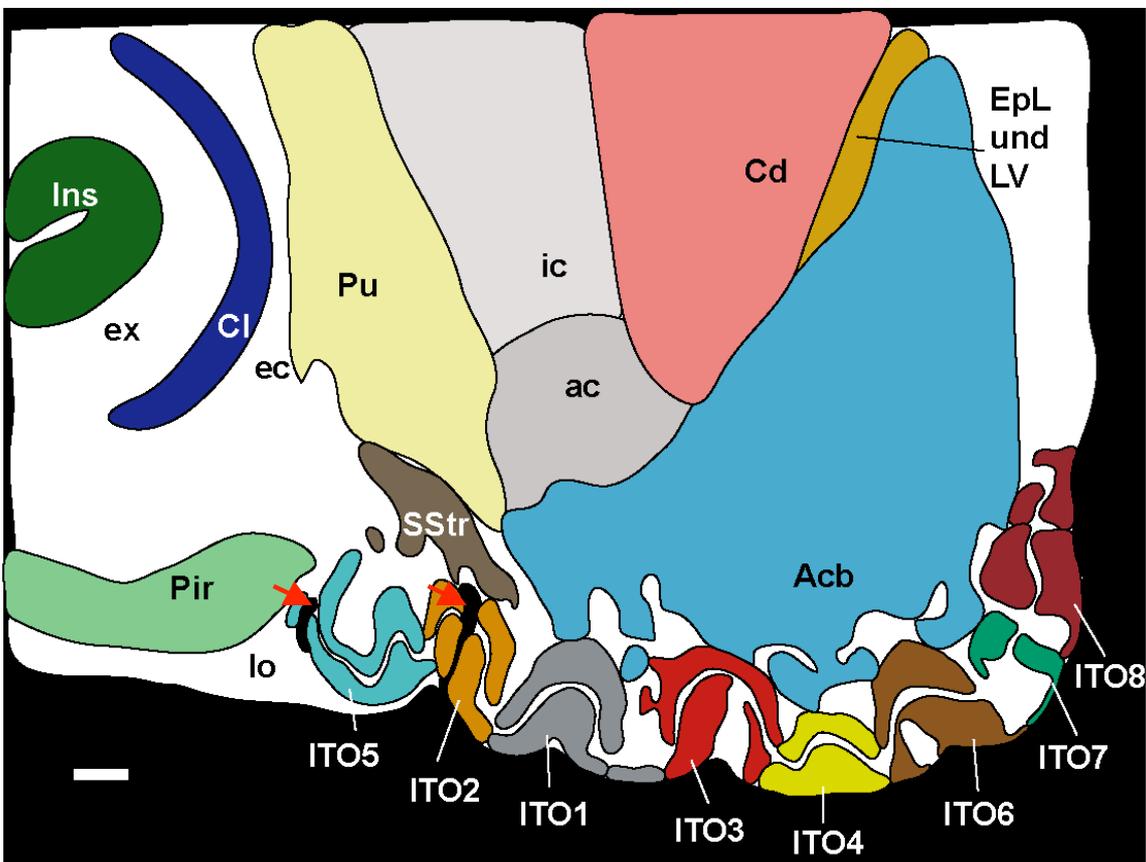


Abb. 14b Umzeichnung des Schnitts 1158 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Der Abstand der Schnittebene 1158 zum Zentrum der ac beträgt 4,14 mm. Auf dieser Schnittebene imponiert ein noch weiter nach medial expandiertes, immunreaktives Tu mit seinem kontrastreichen und heterogenen Expressionsmuster. Das Tu setzt sich weiterhin aus acht Segmenten zusammen. Die glockenförmige Struktur ist nur noch beim grau markierten Segment (ITO1) deutlich zu erkennen, während sich die Struktur der verbleibenden Segmente komplizierter präsentiert. Eine scharfe Abgrenzung zur Umgebung ist bei allen acht Segmenten zu erkennen.

Das unruhige Bild der ITOs resultiert u.a. aus dem Auftreten von Blutgefäßen (siehe rote Pfeile auf Abb. 14b), welche durch die Inseln hindurch treten. Dies ist bei den hellblau (ITO5) und orange (ITO2) markierten Segmenten ersichtlich.

Im Fall der rot (ITO3) und braun (ITO6) markierten Segmente zeigt sich ebenfalls eine Diskontinuität, allerdings war hier kein Blutgefäß in der Nachbarschaft zu sehen.

Wie auch auf der vorhergehenden Schnittebene stehen auf der Schnittebene 1158 einige Inseln separat (ITO 1, 6, 7 und 8), während die CD15-IR anderer Inseln ineinander übergeht (ITO 2, 3, 4 und 5).

Bezüglich des Expressionsmusters imponiert die Basis mit heterogenen Charakter, d.h. Areale einer schwachen bis mittelstarken IR wechseln sich mit Arealen einer stärkeren CD15-IR ab.

Das zwischen Basis und Kappe liegende Zellband besitzt weiterhin eine negative bis schwache CD15-IR.

Die Kappen der einzelnen Segmente imponieren durch ein von der Umgebung scharf abgrenzbares, stark CD15-positives feingranuliertes Material.

Fingerförmige Ausziehungen des Acb verschmelzen mit den Kappen der ITOs 1, 3, 4, 6, 7 und 8. Die Teilung des Acb in einen medialen Abschnitt (mAcb) und einen lateralen Abschnitt (lAcb) ist deutlich. Der mAcb weist eine recht heterogene Markierung auf, die den gesamten dorso-ventralen Abschnitt einschließt. Im Vergleich zu den vorhergehenden Schnittebenen ist die supratuberkuläre Zone wesentlich schmaler.

4.1.1.9. Schnitt 1178

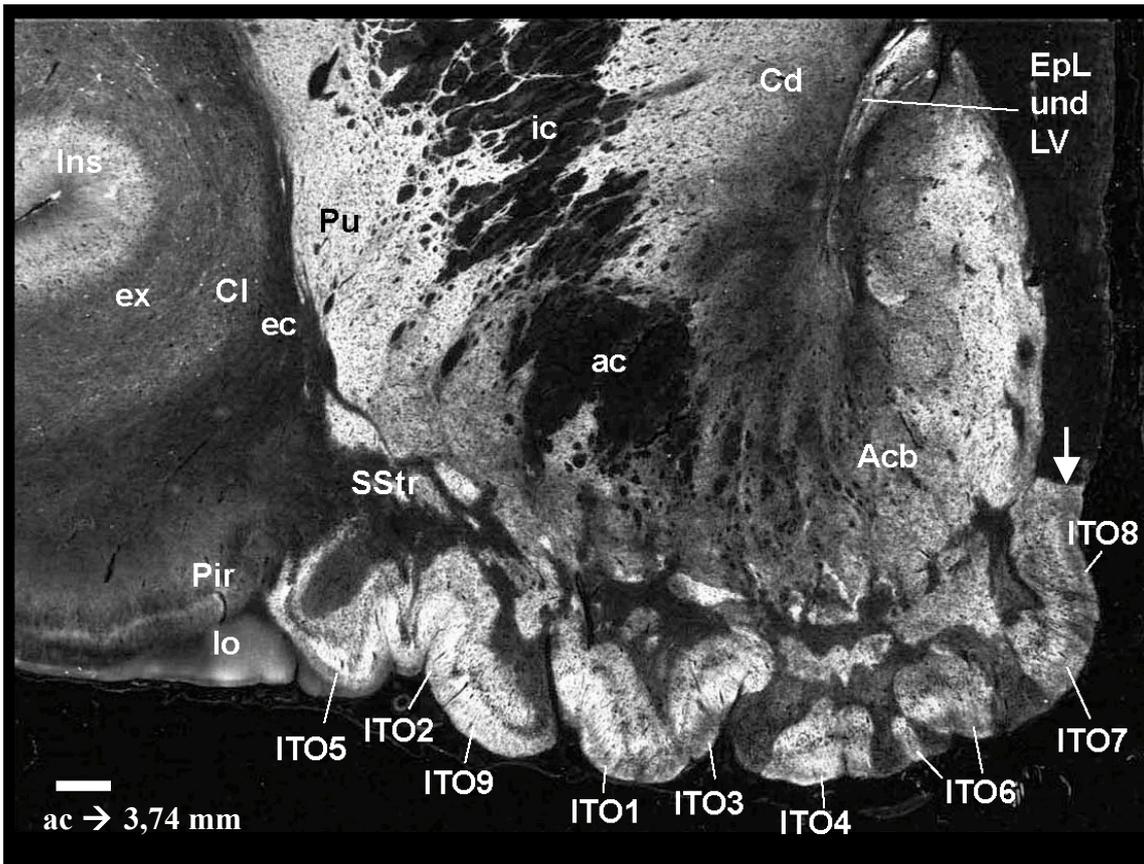


Abb. 15a Lumogramm des Schnitts 1178 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

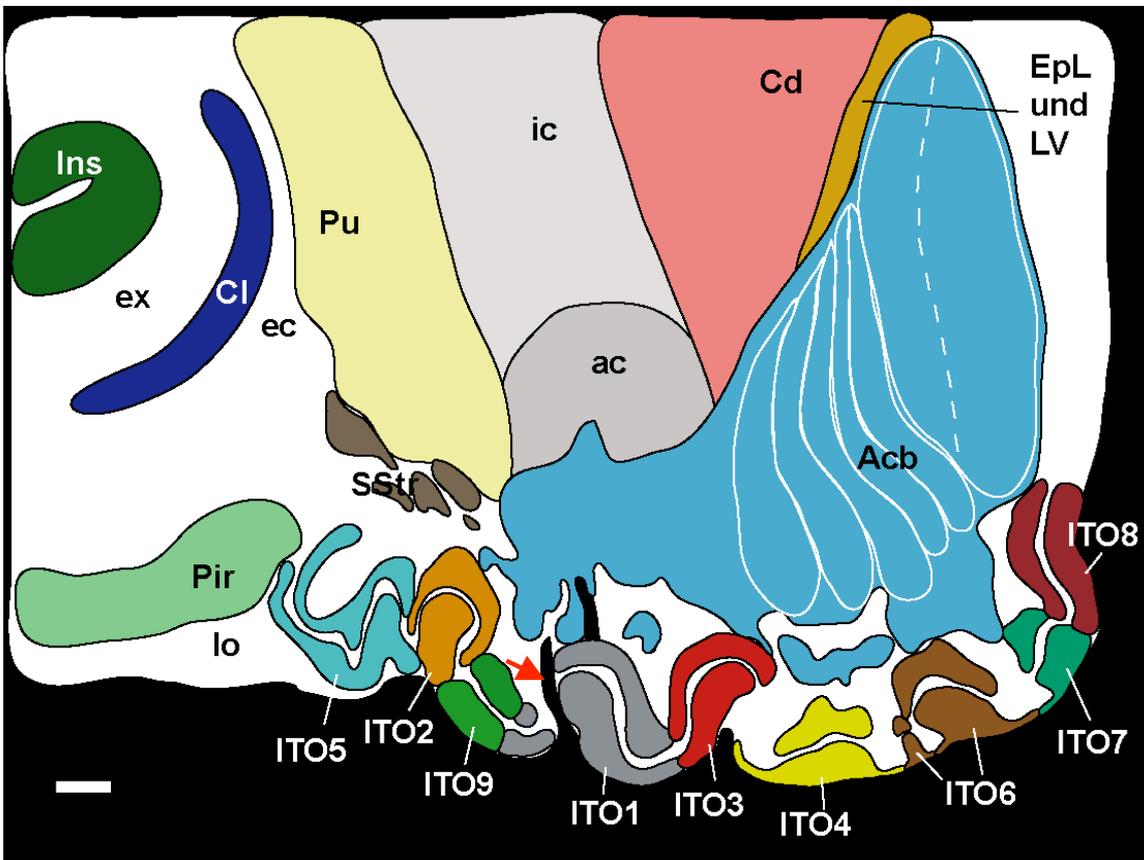


Abb. 15b Umzeichnung des Schnitts 1178 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1178 liegt 3,74 mm vor dem Zentrum der ac. Auf dieser Schnittebene setzt sich das immunreaktive Tu aus neun farbig kodierten Segmenten zusammen. Zum erstenmal zeigt sich ein neues Segment innerhalb des immunreaktiven Tu. Es handelt sich hierbei um die ITO9, welche auf den folgenden Schnittebenen die typische Glockenform aufweist. Die Grenze zwischen dem immunreaktiven Tu und der SA ist sehr deutlich (siehe weißer Pfeil auf Abb. 15a).

Die CD15-IR innerhalb der Rinde des Tu weist nun zahlreiche Unterbrechungen auf, die nicht nur zwischen den Inseln (ITO 3, 4, 6 und 7), sondern auch innerhalb der ITOs liegen (ITO1 und ITO6). Die Grenze zwischen den ITOs ist z.T. sehr scharf. Auch auf dieser Schnittebene findet sich ein markantes Blutgefäß, welches die ITO1 teilt (siehe roter Pfeil auf Abb. 15b). Ein besonders scharfer Abriss der CD15-IR ist zwischen den ITOs 3 und 4, den ITOs 4 und 6 sowie den ITOs 6 und 7 zu erkennen. Die Kappe des braun markierten Segments (ITO6) ist von den benachbarten Kappen separiert. Die Basis der ITOs 4, 6 und 7 ist dank eines dünnen, schwach CD15-positiven Saums an der pialen Oberfläche durchgängig.

Aufgrund des typischen Expressionsmusters des immunreaktiven Tu lässt sich eine klare Abgrenzung zur Umgebung erkennen.

Der Pir schmiegt sich dem lateralen ITO5 direkt an, so dass das CD15-negative Zellband des Pir in das der ITO übergeht.

Vom Grund des LV ist im Areal des Acb eine nach ventral orientierte Riffelung erkennbar. Diese fingerförmigen Strukturen (siehe auch Abb. 15b) sind auf der nächsten Schnittebene dadurch noch deutlicher akzentuiert, dass die IR in der peripheren Zone partiell erhöht ist. Die fingerförmigen Ausziehungen des Acb verbinden sich mit den Kappen der ITOs 1, 2, 3, 6, 7 und 8.

Im mAcb nimmt die CD15-IR nach lateral graduell ab. Ein Gebiet starker IR wird von einem Bereich schwacher IR scharf abgegrenzt (siehe gestrichelte Linie in Abb. 15b).

Zwischen dem Acb und den ITOs liegen solitär einige scharf abgegrenzte, CD15-positiv-positive Inseln, die bei genauer Analyse der Nachbarschnitte dem Material des Acb entspringen.

4.1.1.10. Schnitt 1198

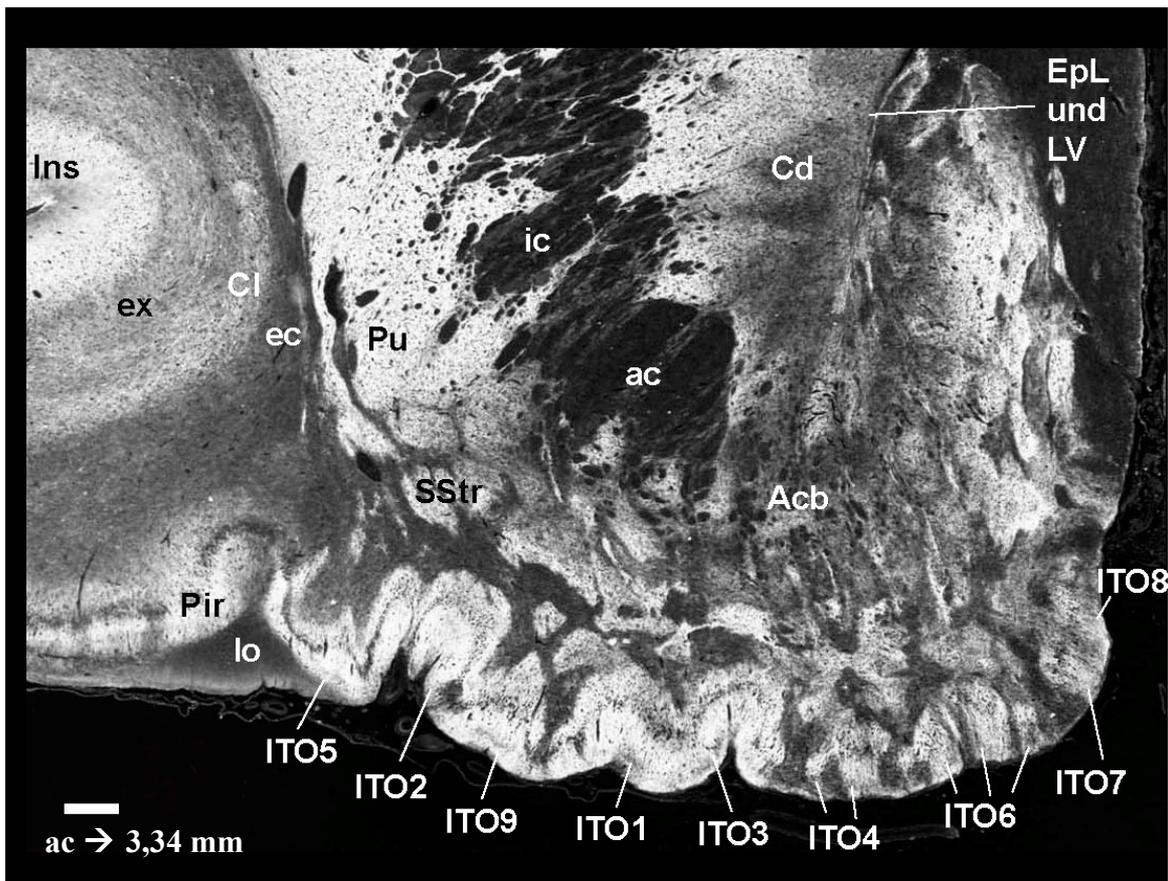


Abb. 16a Lumogramm des Schnitts 1198 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

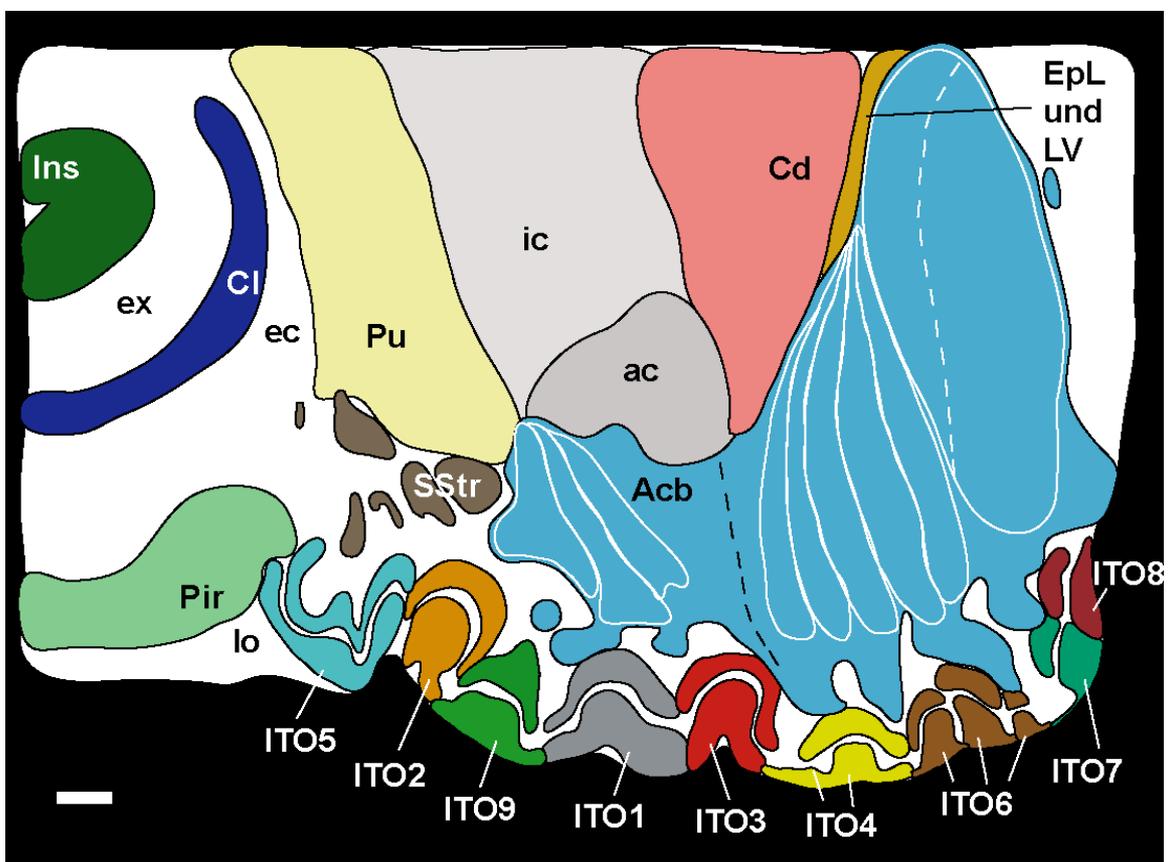


Abb. 16b Umzeichnung des Schnitts 1198 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Der Abstand der Schnittebene 1198 zum Zentrum der ac beträgt 3,34 mm. Wie auf der vorhergehenden Schnittebene beinhaltet das immunreaktive Tu neun Segmente. Dies ist die höchste beobachtete Anzahl an ITOs im CD15-Bild. Allen ist gemeinsam, dass sie sich in Basis, mittleres Zellband und Kappe unterteilen lassen. Allerdings kommt auf dieser Schnittebene der vorher nur andeutungsweise erhobene Befund zum Ausdruck, dass ein deutlicher Gradient zwischen den lateralen Inseln (ITOs 1, 2, 3, 5 und 9) und den medialen Inseln (ITOs 4, 6, 7 und 8) erkennbar ist.

Im Vergleich mit den lateralen ITOs bestechen die medialen Inseln durch eine schwächere CD15-IR und deutliche Unterbrechungen. Es liegen Unterbrechungen zwischen den ITOs 3, 4, 6 und 7 sowie innerhalb der ITO6 vor.

Das durch alle Segmente verlaufende mittlere Zellband imponiert durch ein heterogenes Expressionsmuster, welches in der Intensität der IR variiert.

Im Vergleich zur vorhergehenden Schnittebene zeichnet sich die CD15-Expression des Pir durch eine starke CD15-IR aus. Das mittlere Zellband geht weiterhin in die Pyramidenzellschicht der ITO5 über.

Die fingerförmigen Ausziehungen des mAcb sind weiterhin vorhanden und verbinden sich mit den Kappen der ITOs 4, 6, 7 und 8. Deutlich zu erkennen sind nun auch fingerförmige Strukturen im lAcb, die ihren Ursprung im Übergangsbereich zum Pu besitzen. Sie verbinden sich mit den Kappen der lateralen Inseln ITO1 und ITO3.

Die schwarze, gestrichelte Linie auf Abb. 16b markiert die Grenze zwischen dem lAcb und dem mAcb. Der mAcb steht ventro-medial in direktem Kontakt mit der pialen Oberfläche.

4.1.1.11. Schnitt 1218

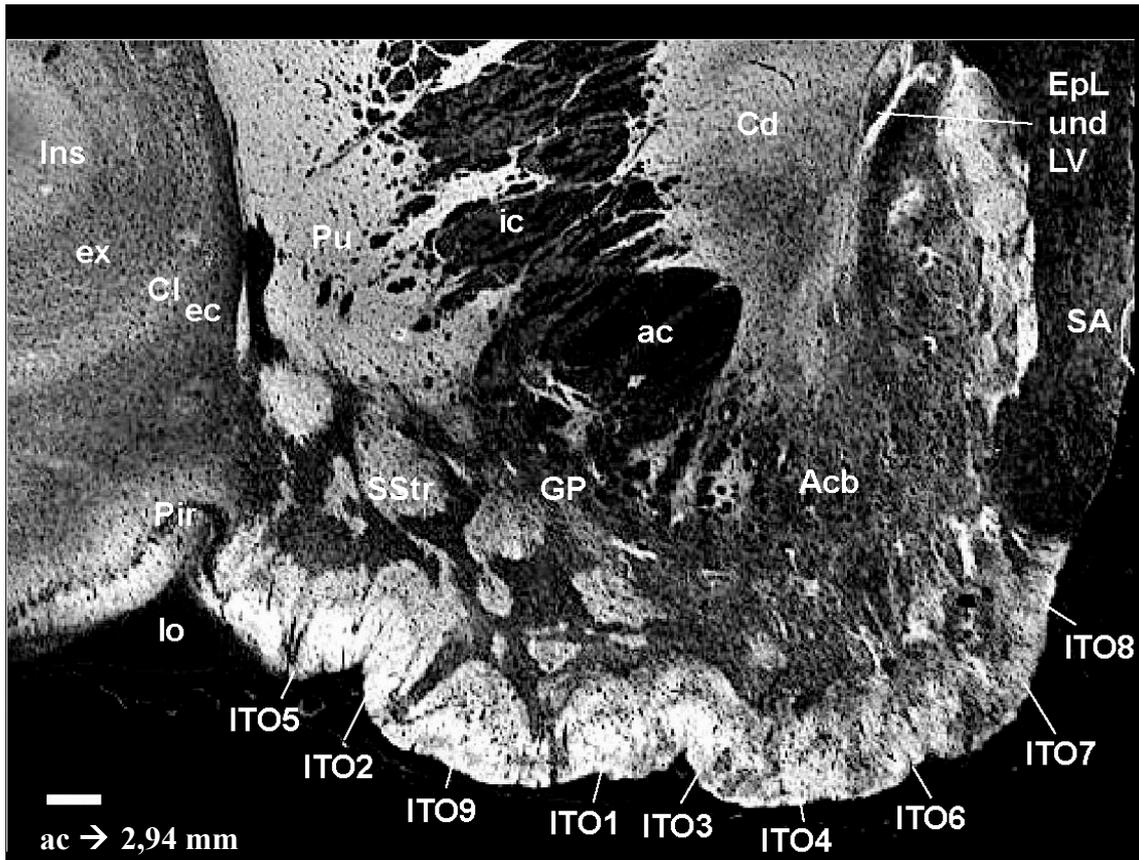


Abb. 17b Lumogramm des Schnitts 1218 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

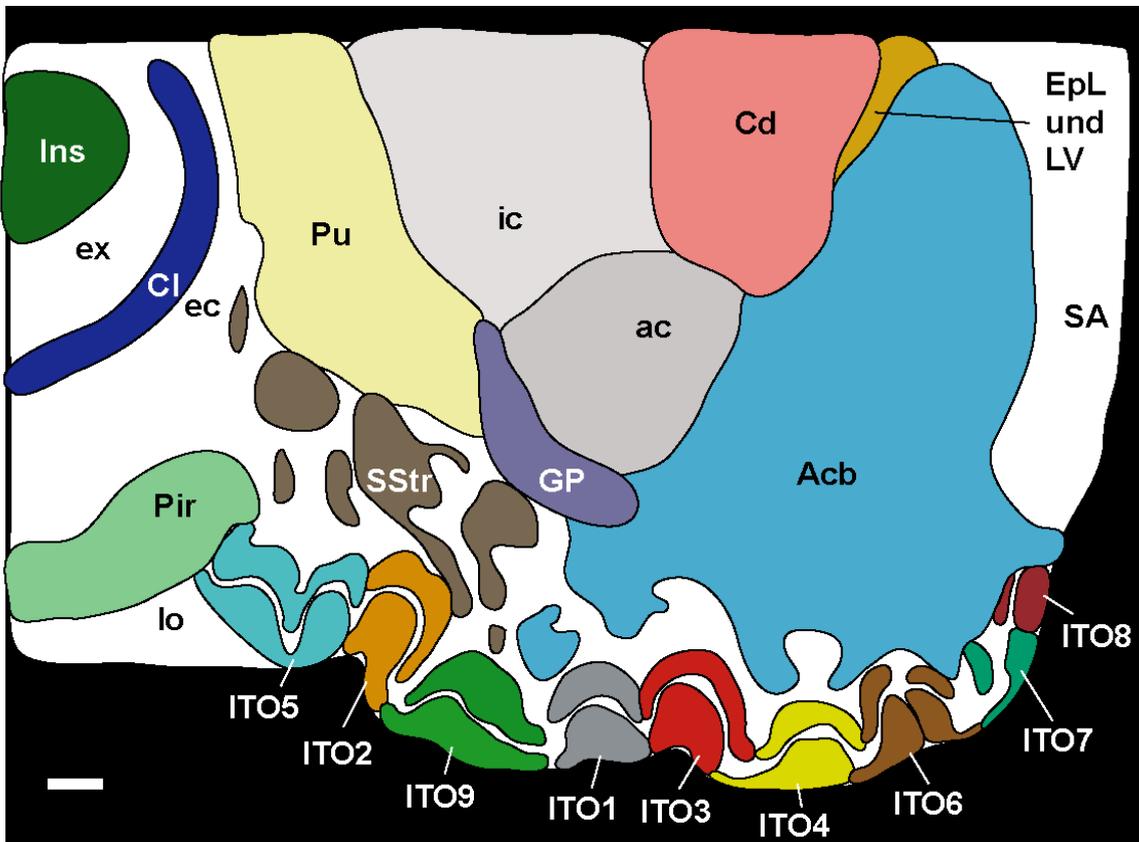


Abb. 17b Umzeichnung des Schnitts 1218 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1218 liegt 2,94 mm vor dem Zentrum der ac. Das immunreaktive Tu zeichnet sich weiterhin durch neun Segmente aus, welche sich in Basis, Zellband und Kappe unterteilen lassen.

Sowohl zwischen den lateralen ITOs (ITO 1, 2 und 9) als auch zwischen den medialen ITOs (ITO 6, 7 und 8) liegen Unterbrechungen vor. Innerhalb der ITO6 fällt weiterhin eine Unterbrechung auf.

Der laterale Anteil des immunreaktiven Tu zeichnet sich auch auf dieser Schnittebene durch eine stärkere CD15-IR aus als die medialen ITOs 4, 6, 7 und 8.

Das mittlere Zellband zwischen Basis und Kappe jeder einzelnen ITO ist im medialen Anteil des immunreaktiven Tu schwer zu verfolgen, da hier die Abgrenzung von Basis und Kappe aufgrund einer etwas schwächeren IR und einer größeren Unruhe erschwert ist.

Das orange markierte Segment ITO2 verschmilzt im Bereich der Kappe mit Ausläufern aus den SStr.

Das Zellband im Pir hebt sich dank der sehr geringen CD15-IR deutlich ab. Es setzt sich gut erkennbar ohne Unterbrechung in das mittlere Zellband der ITO5 fort.

Das kontrastreiche Bild des Acb entsteht durch ein grobgranuliertes Gefüge aus Arealen unterschiedlicher IR. Verbindungen zu den ITOs sind besonders medial zu erkennen.

Auf dieser Schnittebene ist erstmals der GP angeschnitten. Wie auf Abb. 17 a zu sehen ist, besteht er durch eine schwache, im mikroskopischen Bild grob granulierte Neuropilmarkierung. Seine Abgrenzung zur Umgebung ist unscharf bis diffus, so dass die Grenzziehung erschwert ist.

Die Septalregion (SA) besteht durch ein schwach immunreaktives Areal.

4.1.1.12. Schnitt 1238

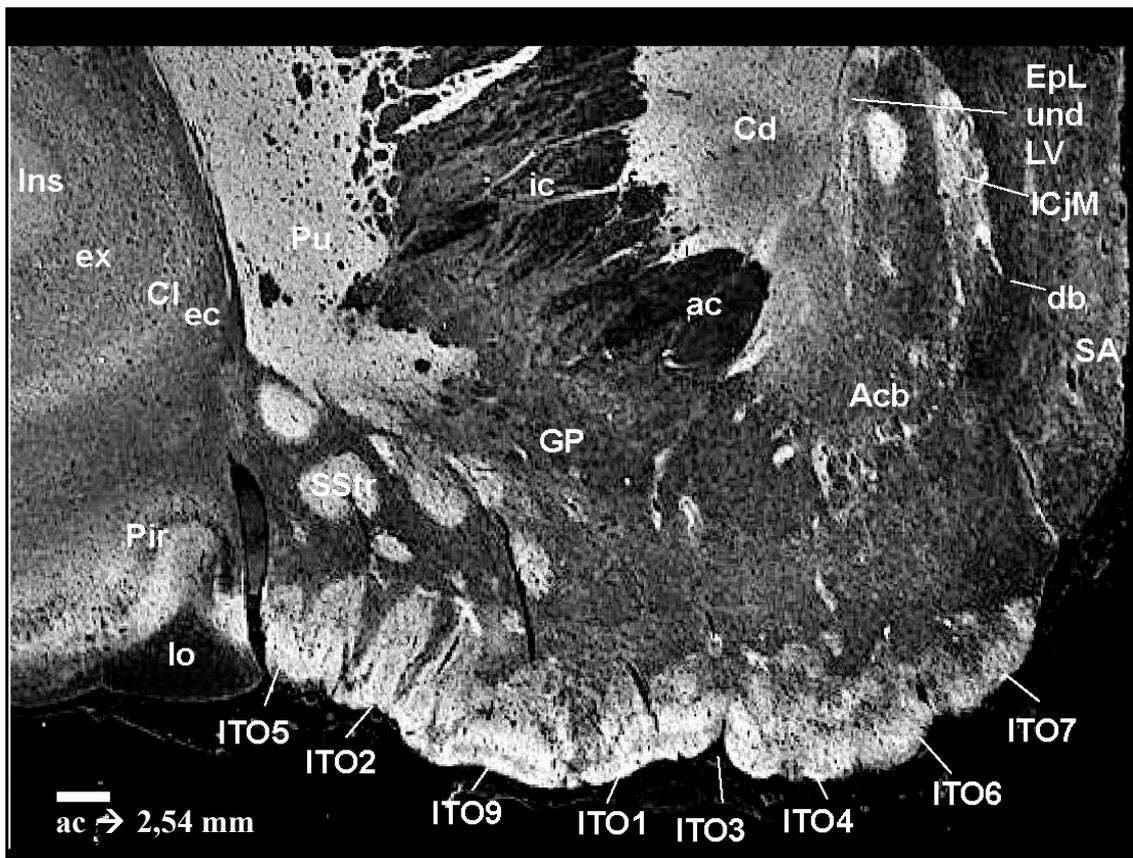


Abb. 18a Lumogramm des Schnitts 1238 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

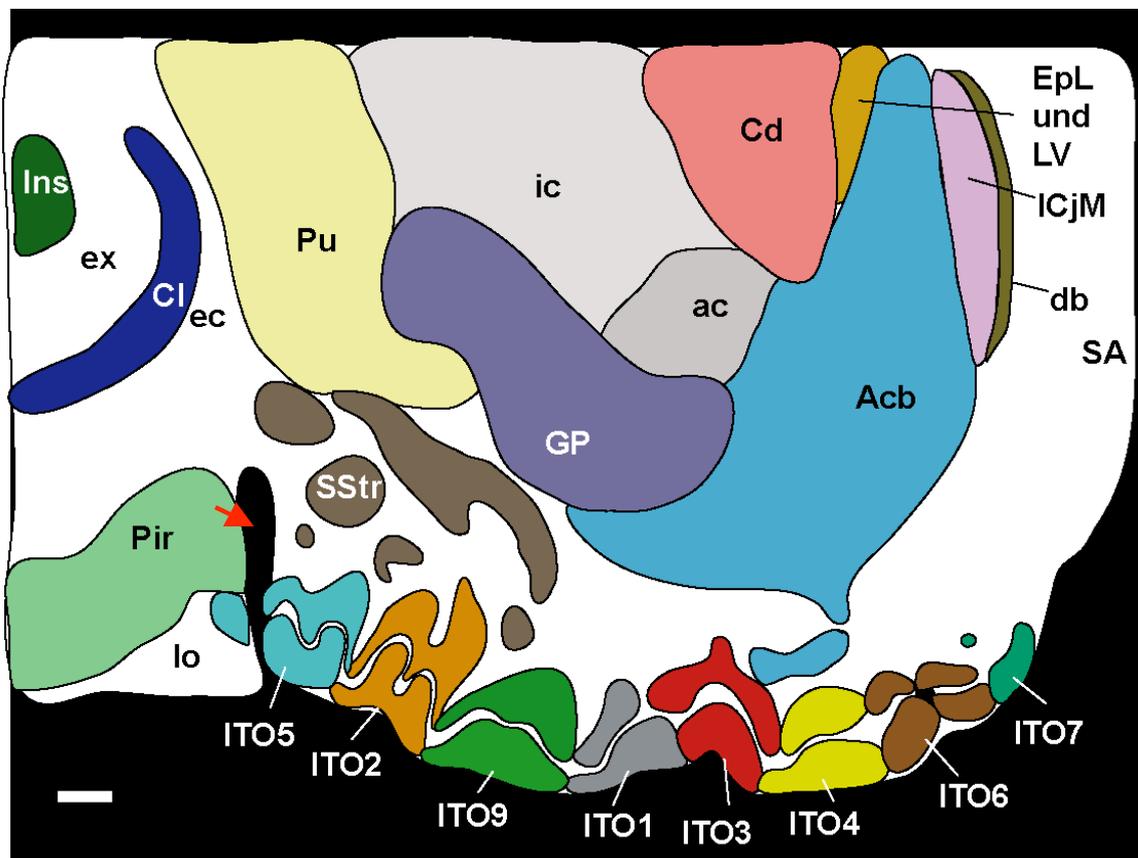


Abb. 18b Umzeichnung des Schnitts 1238 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Der Abstand der Schnittebene 1238 zum Zentrum der ac beträgt 2,54 mm. Die Rinde des Tu lässt sich durch das CD15-IR-Muster weiterhin darstellen. Die ventro-dorsale Dreiteilung ist deutlich zu erkennen. Die Ausdehnung des Tu hat sich medial weiter reduziert. Ein Blutgefäß separiert den Pir vom angrenzenden Segment ITO5 (siehe roter Pfeil auf Abb. 18b). Die IR reicht im Bereich des Tu bis an die piale Oberfläche.

Aus der Analyse der Folgeschnitte ergibt sich, dass nur noch acht Segmente vorliegen. Eine deutliche Trennung dieser Segmente wie auf den vorherigen Schnittebenen ist nicht mehr erkennbar. Das Segment ITO8 ist auf dieser Ebene nicht mehr angeschnitten.

Die Basis der ITOs zeigt eine starke, annähernd homogene IR. Auch hier findet sich ein Gradient hoher IR lateral zur schwachen IR medial. Die Abgrenzung zwischen diesen beiden Arealen ist unscharf diffus. Die Struktur der Kappe ist durch eine punktförmige, mittelstark CD15-positive Neuropilmarkierung gekennzeichnet. Das Zellband, welches weiterhin Kappe von Basis separiert, fällt durch eine schwache CD15-IR auf.

Lateral des immunreaktiven Tu imponiert der Pir durch eine punktförmige Neuropilmarkierung mit heterogenem Charakter. Die CD15-Expression erlaubt nach ventral hin eine deutliche Begrenzung, wohingegen sie nach dorsal eher unscharf diffus ist.

Der GP ist in seinem Umfang gewachsen und zeigt eine schwache, grob granuliert Neuropilmarkierung.

Der Bereich zwischen der Rinde des Tu und dem VStr und GP hat sich verbreitert. Er zeigt eine sehr schwache, diffuse Grundmarkierung. Verbindungen zwischen Acb und immunreaktivem Tu sind fast vollständig verschwunden. Im subputaminalen Bereich sind hingegen umschriebene, tropfenförmige, deutlich begrenzte CD15-positive Areale zu beobachten.

Der mAcb zeigt keine generell erhöhte IR mehr; vielmehr imponieren klein- und großflächige Areale mit deutlicher IR.

Medial des mAcb ist der Querschnitt der ICjM erkennbar. An ihn schließen sich weiter medial das CD15-negative Areal des db und das sehr schwach immunreaktive Areal der SA an.

4.1.1.13. Schnitt 1258

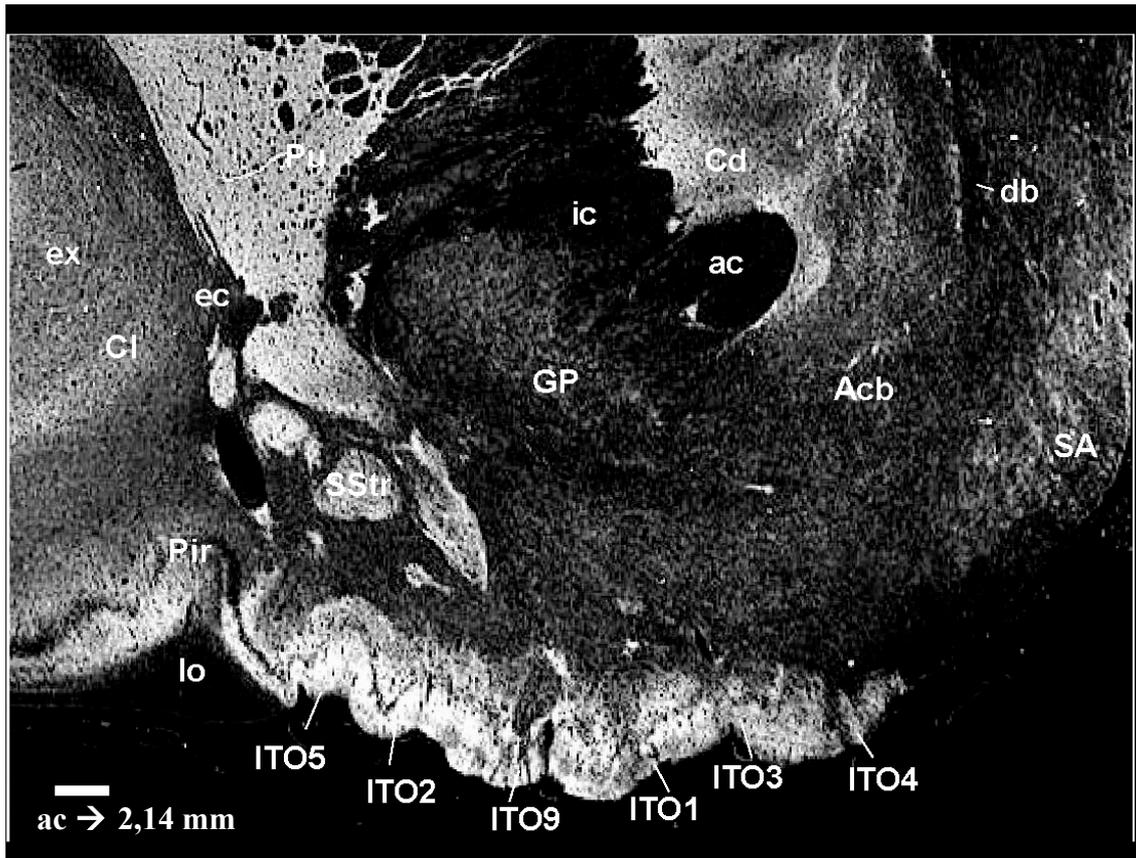


Abb. 19a Lumogramm des Schnitts 1258 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

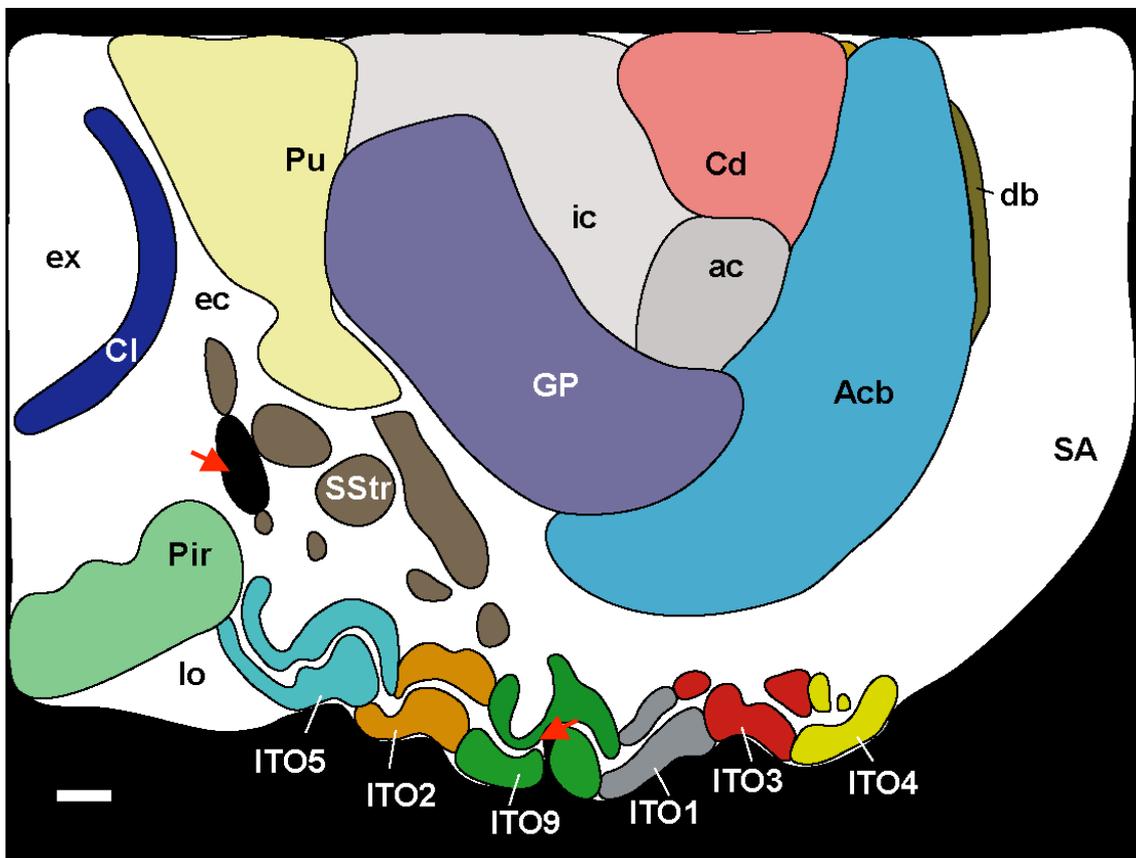


Abb. 19b Umzeichnung des Schnitts 1258 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1258 liegt 2,14 mm vor dem Zentrum der ac. Auf dieser Schnittebene ist die Reduktion der Breite des immunreaktiven Tu besonders auffallend. Gegenüber den vorhergehenden Schnittebenen haben sich die Segmente um weitere zwei reduziert. Das immunreaktive Tu setzt sich nun aus sechs ITOs zusammen. Das am weitesten lateral liegende Segment ITO5, das auf den vorhergehenden Schnittebenen in seinem CD15-Expressionsmuster von der typischen Glockenform abweicht, lässt diese nun deutlich erkennen. Eine scharfe Abgrenzung zur Umgebung ist bei allen sechs Segmenten zu erkennen.

Das unruhige Bild der dargestellten ITOs resultiert u.a. durch auftretende Blutgefäße (siehe rote Pfeile auf Abb. 19b), welche die Segmente unterbrechen, wie es bei der ITO9 ersichtlich ist. Die Basis verliert in diesem Segment ihre durchgehende Struktur. Die Kappenform der ITO9 erinnert an das lateral liegende Segment ITO5, dessen infrapyramidaler Anteil der Insel auf den vorhergehenden Schnittebenen (siehe z.B. Abb. 12a) von einem CD15-negativen Kern und einer CD15-positiven Kapselstruktur gekennzeichnet ist.

Die Kappen aller Segmente imponieren durch ein von der Umgebung weitestgehend scharf abgrenzbares, stark CD15-positives punktförmiges Material.

Das Material des Acb besitzt nur noch medio-dorsal eine schwache, grob granuliert IR. Eine Grenze zwischen Acb und GP ist nicht definierbar.

Ventral des Pu treten die SStr als deutlich von der Umgebung abgegrenzte Areale mit punktförmiger Neuropilmarkierung hervor.

4.1.1.14. Schnitt 1278

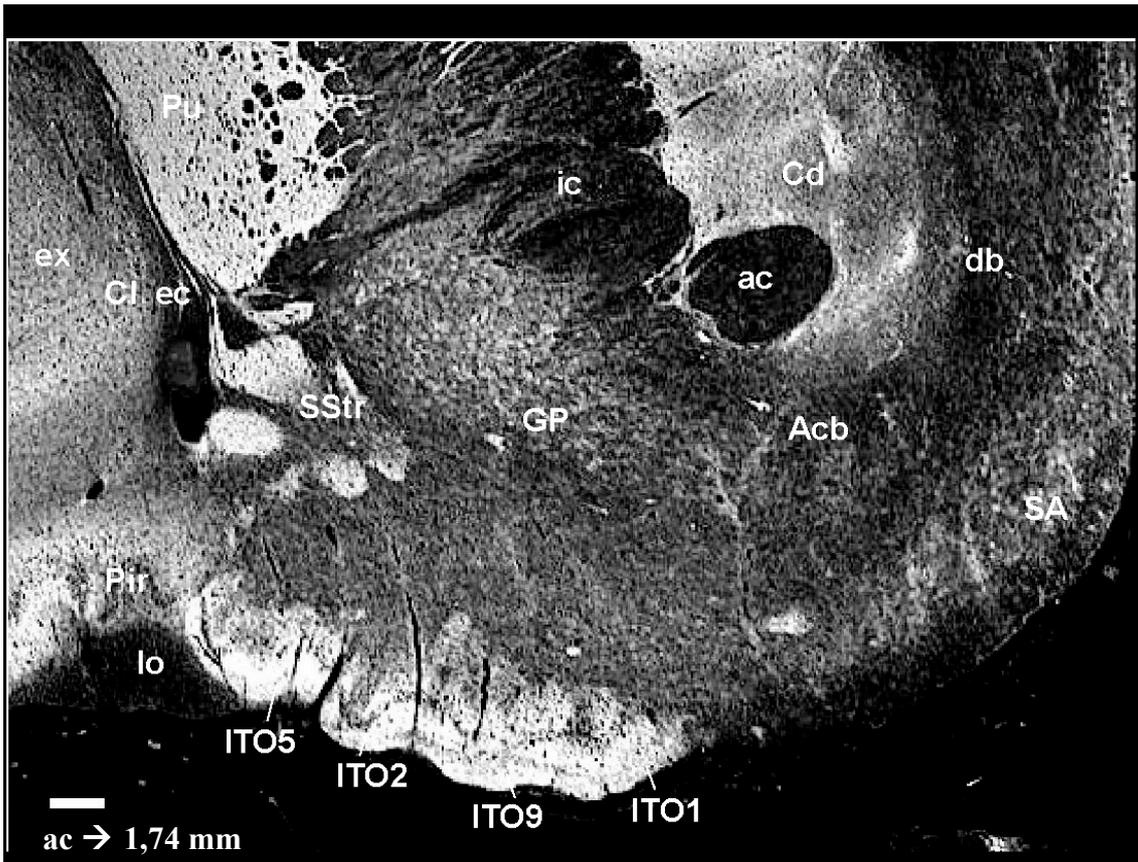


Abb. 20a Lumogramm des Schnitts 1278 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

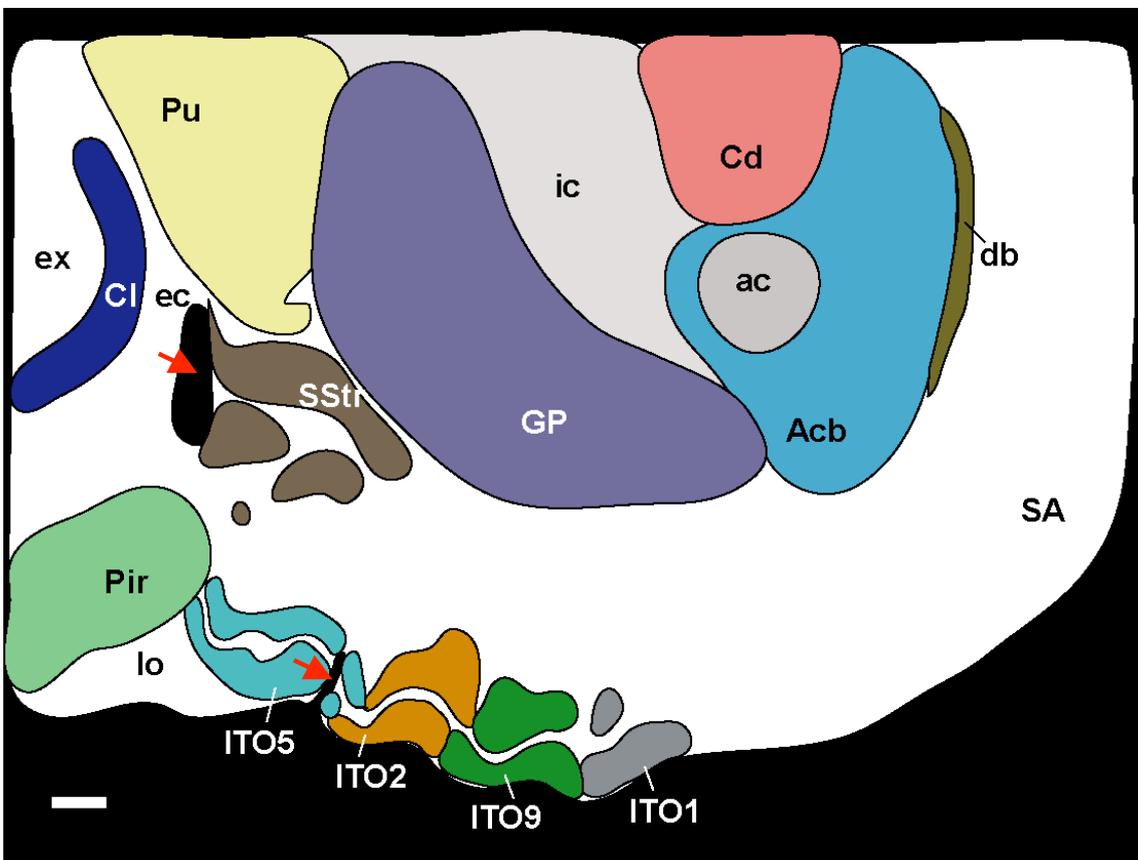


Abb. 20b Umzeichnung des Schnitts 1278 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Der Abstand der Schnittebene 1278 zum Zentrum der ac beträgt 1,74 mm. Die Rinde des immunreaktiv markierten Tu ist auf vier Segmente reduziert. Eine deutliche Trennung der Segmente ist nicht mehr erkennbar. Alle Segmente lassen sich von ihrer Umgebung scharf abgrenzen.

Die ITO5 wird durch ein Blutgefäß unterbrochen (siehe roter Pfeil auf Abb. 20b). Ein weiteres Blutgefäß ist lateral der SStr angeschnitten. Die Basis zeigt weiterhin eine sehr hohe, weitgehend homogene IR. Das zwischen Basis und Kappe liegende Zellband zeigt keine Veränderung gegenüber den vorhergehenden Schnittebenen.

Die Kappen aller Segmente imponieren durch ein von der Umgebung deutlich abgrenzbares, stark CD15-positives Material. Das Material ist durch eine grobe Granulation gekennzeichnet.

Der Acb umschließt das ovale, CD15-negative Areal der ac. Das kontrastreiche Expressionsmuster des Acb ist durch Areale unterschiedlicher IR geprägt, wobei sich der mAcb mit sichelförmiger Querschnittsfläche wegen seiner geringen IR weiter abgrenzen lässt.

Lateral des Tu imponiert der Pir durch eine punktförmige Neuropilmarkierung mit heterogenem Charakter. Auffallend ist die deutliche Abgrenzung des CD15-Zellbandes zwischen Pir und immunreaktivem Tu.

Die SA zeichnet sich durch ein CD15-positives Areal aus.

4.1.1.15. Schnitt 1298

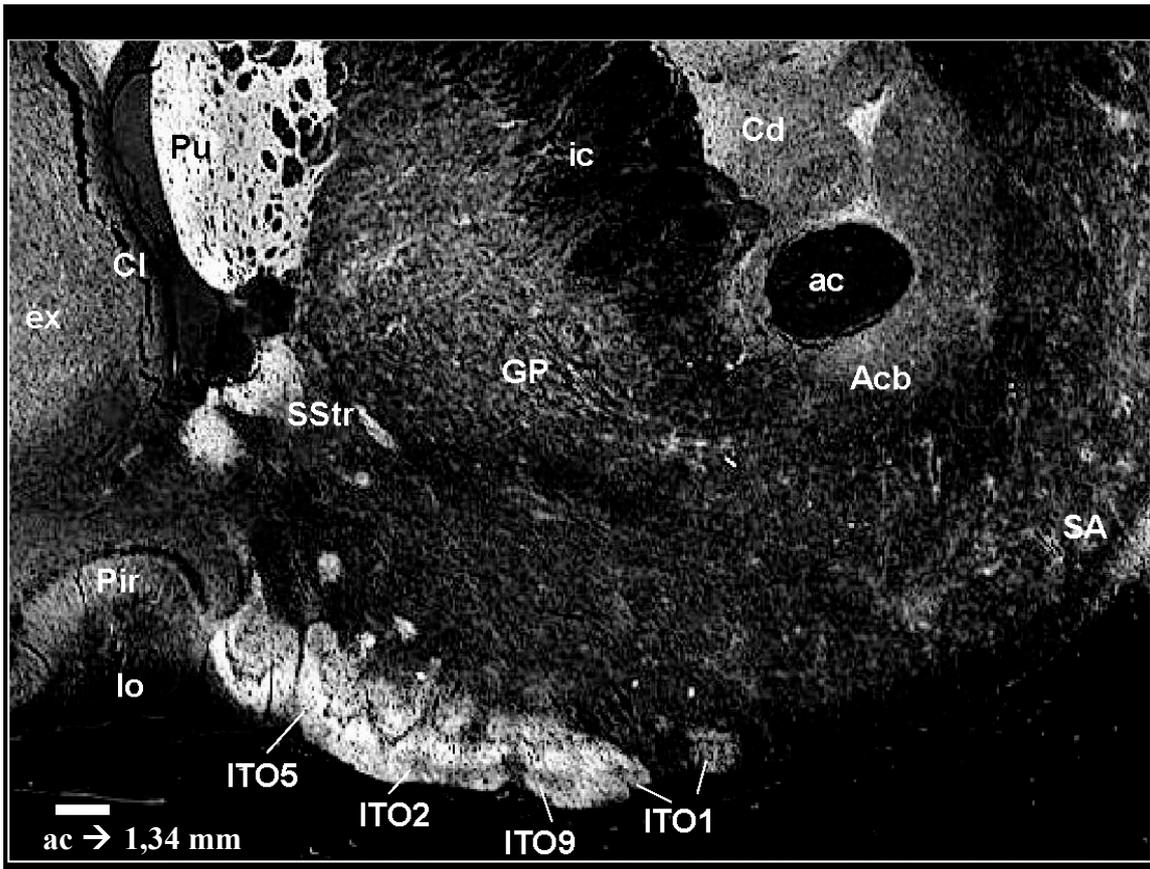


Abb. 21a Lumogramm des Schnitts 1298 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

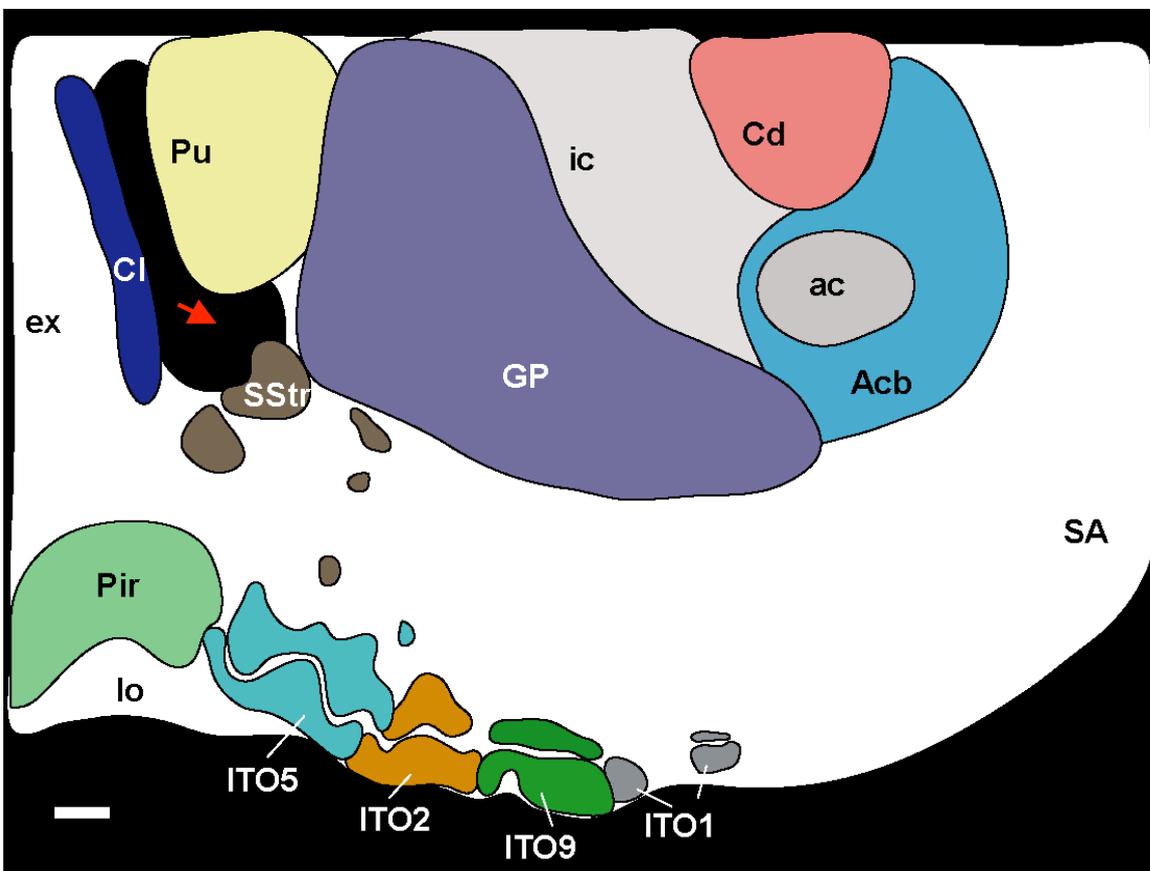


Abb. 21b Umzeichnung des Schnitts 1298 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Die Schnittebene 1298 liegt 1,34 mm vor dem Zentrum der ac. Das immunreaktiv markierte Tu ist in seiner medio-lateralen Ausdehnung sehr präzise definiert. Die verbliebenen vier Segmente ITO1, ITO2, ITO5 und ITO9 erscheinen nicht mehr voneinander getrennt.

Die Kappen aller Segmente imponieren durch ein von der Umgebung deutlich abgrenzbares, mittelstark CD15-positives punktförmiges Material. Basis und mittleres Zellband sind bezüglich der vorhergehenden Schnittebenen unverändert.

Das schwach bis mittelstark CD15-positive Material des Cd zeichnet sich durch feingranuliertes, punktförmiges Material aus, welches Areale höherer und niedriger CD15-IR erkennen lässt. Dies entspricht der Patch-Matrix-Feldung auf vorhergehenden Schnittebenen (siehe Abb. 7a).

Im Gebiet des Pu herrscht eine sehr intensive, punktförmige Neuropilmarkierung vor. Der mediale Anteil des Pu zeichnet sich durch eine schwammartige Darstellung aus, welche durch CD15-negative Aussparungen entsteht und durch kompakte Faserbündel zustande kommt.

Das kontrastreiche Expressionsmuster des Acb entspricht dem des Cd.

Die CD15-Expression des Pir zeichnet sich durch eine reduzierte CD15-IR aus. Ein mittig gelegenes, CD15-negatives Band separiert ein schwach bis mittelstark CD15-positives, feingranuliertes Material. Dieses Band besitzt unmittelbar Anschluss an das mittlere Zellband des immunreaktiven Tu.

Der GP besticht durch eine schwache bis mittelstarke, grob granulierte Neuropilmarkierung ohne klare Abgrenzung zur Umgebung.

Der rote Pfeil auf Abb. 21b markiert ein angeschnittenes Blutgefäß.

4.1.1.16. Schnitt 1318

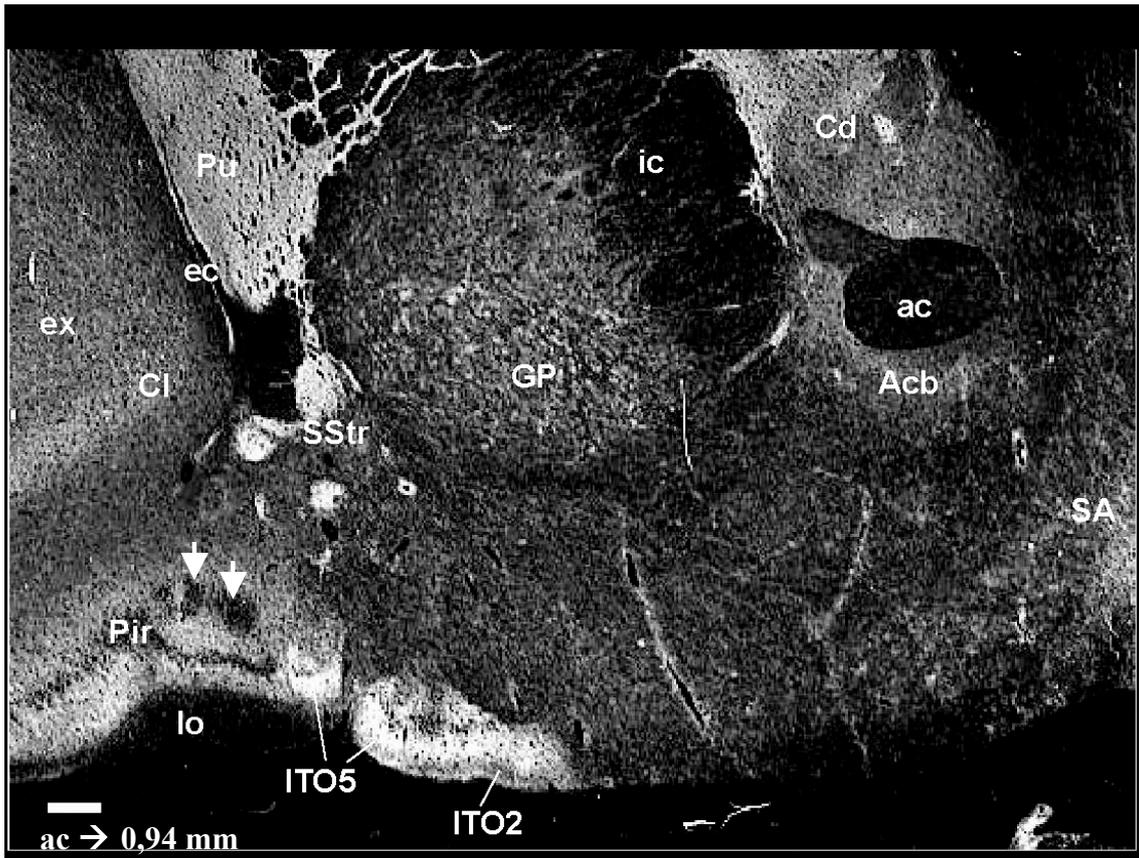


Abb. 22a Lumogramm des Schnitts 1318 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

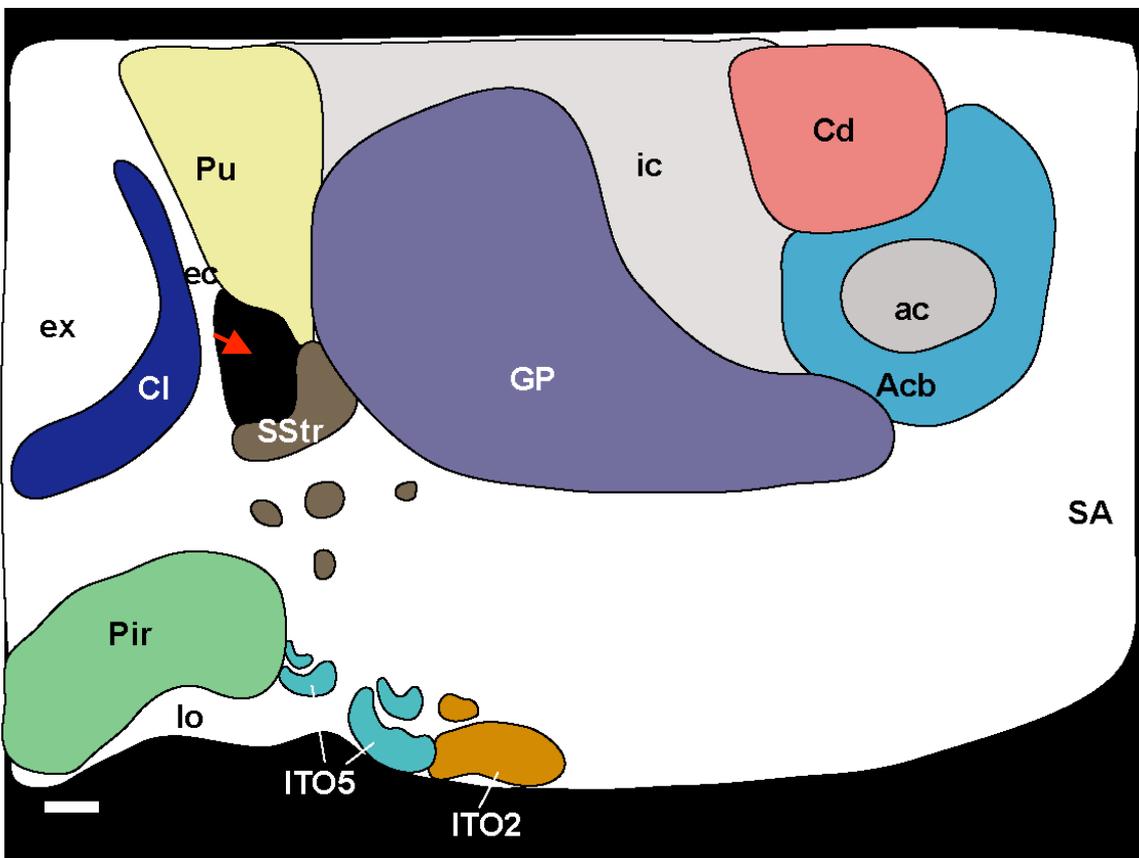


Abb. 22b Umzeichnung des Schnitts 1318 (x14, Maßstab: 0,5 mm)

Der Abstand der Schnittebene 1318 zum Zentrum der ac beträgt 0,94 mm. Die dargestellte Schnittebene verläuft durch den posterioren Teil des immunreaktiven Tu. Es ist nur noch immunreaktives Material vorhanden, welches zwei Segmenten zuzuordnen ist. Das Segment ITO5 ist am Hinterende eingebuchtet, so dass zwei Teile erkennbar sind. Die Trennung zum benachbarten Element ITO2 ist nur im Bereich der Kappe ersichtlich. Durch das klare, kontrastreiche Expressionsmuster ist das immunreaktive Tu von seiner Umgebung abgrenzbar.

Die Basis des immunreaktiv markierten Tu liegt bis auf das laterale Stück der ITO5 der pialen Oberfläche auf. Die Intensität der IR im Bereich der Basis nimmt nach ventral graduell zu, so dass eine laminäre Anordnung weiterhin sichtbar ist.

Ein schwach CD15-positives Zellband liegt zwischen Basis und Kappe der ITOs und ist auf dieser Schnittebene nicht mit dem CD15-negativen Band des Pir verbunden. Das immunreaktive Tu schmiegt sich aber auch in dieser Darstellung im Bereich der ITO5 dem Pir an.

Das Expressionsmuster, welches dem Material der Kappen des Tu zugeordnet wird, ist durch eine von der Umgebung scharf abgrenzbare, mittelstark CD15-positive IR gekennzeichnet.

Von Pu und ic umgeben ist der expandierte GP durch eine mittelstarke, grob granuliertem Neuropilmarkierung von den benachbarten Strukturen abzugrenzen.

Die CD15-Expression des Pir imponiert weiterhin durch ein heterogenes Verteilungsmuster. Ein mittleres CD15-negatives Band separiert ein stark CD15-positives, feingranuliertes Material. Zum Tu hin zweigt sich das CD15-negative Band des Pir auf, so dass zwei runde, CD15-negative Areale infrapyramidal erkennbar werden (siehe weiße Pfeile auf Abb. 22a).

Die SA zeichnet sich weiterhin durch ein CD15-positives Areal aus.

Der rote Pfeil (siehe Abb. 22b) markiert ein angeschnittenes Blutgefäß.

4.1.2. Auswertung der Expressionsmuster von unterschiedlichen Antikörpern

Für die Beschreibung der Organisation des Tu wurden in dieser Arbeit verschiedene immunhistochemische Methoden angewendet. Dabei zeigte der Antikörper gegen das CD15-Epitop die informativsten Befunde. Die Reaktionsmuster nach Einsatz anderer Antikörper (siehe Tab. 1) lieferten dennoch wichtige Informationen, die für die Interpretation bestimmter zerebraler Strukturen unentbehrlich waren. Besondere Beachtung verdienen hierbei die Antikörper gegen MBP und Synaptophysin. Die mm-Angabe in der unteren Ecke der abgebildeten Lumogramme gibt den Abstand zum Zentrum der vorderen Kommissur (ac) wieder.

Auf Abb. 23 ist die Schnittebene 1103 dargestellt. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 5,24 mm. Durch den Einsatz des MBP-Antikörpers stellen sich Markfasern mit hoher Intensität und deutlichem Kontrast gegenüber der Umgebung dar.

Wie auf dem CD15-Bild der Schnittebene 1098 (siehe Abb. 11a) sind zwischen dem Acb und der pialen Oberfläche die glockenförmigen Segmente des Tu erkennbar.

Interessanterweise ist die lateral gelegene ITO5 nur im Bereich der Basis zu erkennen, während sich bei den anderen ITOs die Konturen sowohl von Basis als auch von Kappe feststellen lassen. Dies unterstreicht den Ausnahmecharakter der ITO5. Das mittlere Zellband, das Basis von Kappe separiert, ist nicht erkennbar.

Die ITOs 3 und 6 sind über Faserbündel mit dem Acb verbunden.

Im CD15-Bild auf Abb. 11a liegen die ITOs bis auf die lateral situierten ITO5 und ITO2 der pialen Oberfläche unmittelbar auf und zeichnen sich im Bereich der Basis durch eine Zweischichtung aus. Im MBP-Bild auf Abb. 23 ist im Bereich der Basis aufgrund unterschiedlicher Expressionsmuster eine Vierschichtung zu erkennen. Stark immunreaktive Markfasern aus dem lo erstrecken sich bis zur medialen Hemisphärenwand und verlaufen innerhalb der Basis der ITOs. Die Markfasern aus dem lo zeichnen sich durch eine pianahe, stark immunreaktive Schicht aus, die durch ein Band ohne IR von einer weiteren MBP-positiven Schicht separiert ist (siehe Pfeil auf Abb. 23). Zwischen den ITOs verlaufen senkrecht zur pialen Oberfläche immunreaktive Markfasern, die den Acb mit dem Tu und dem lo verbinden.

Im Vergleich zum CD15-Bild (siehe Abb. 11a) erlaubt das Reaktionsmuster des Acb im MBP-Bild keine Aufteilung in einen ventralen und dorsalen Part.

Die auf Abb. 24 dargestellte Schnittebene 1105 liegt 5,20 mm vor dem Zentrum der ac. Das Reaktionsmuster resultiert aus dem verwendeten Antikörper gegen Synaptophysin. Wie auf dem CD15-Bild auf Abb. 11a sind die sieben dargestellten ITOs in Basis, mittleres Zellband und Kappe gegliedert. Lediglich die Struktur der lateral gelegenen ITO5 weicht von dem Bild auf den Nachbarschnitten ab. Im CD15-Bild auf Abb. 11a umschließt die Kappe der ITO5 einen CD15-negativen Kern. Dieser zeichnet sich im Synaptophysin-Bild durch eine mittelstarke IR aus.

Ausläufer aus dem Acb verbinden sich mit den Kappen der ITOs 3 und 6.

Die relativ breite Synapsenzone im Gebiet des Pir besticht durch eine starke IR. Sie geht in einen ebenfalls stark immunreaktiven, infrapyramidalen Saum im Bereich der ITO5 über.

Acb und Cd weisen das gleiche, homogene Expressionsmuster auf, so dass eine Grenzziehung im Synaptophysin-Bild nicht möglich ist. Die typische Patch-Matrix-Felderung im Cd ist nicht zu erkennen. Anhand des Reaktionsmusters kann im Gebiet des Acb keine ventro-dorsale Teilung vorgenommen werden.

Der MFr zeichnet sich durch eine starke IR aus.

Auf Abb. 25a ist die Schnittebene 1203 nach Einsatz des MBP-Antikörpers dargestellt. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 3,24 mm.

Während im CD15-Bild der Schnittebene 1198 (siehe Abb. 25b) alle ITOs mit Ausnahme der lateral situierten ITO5 der pialen Oberfläche aufliegen, wird das segmentierte Tu im Bereich der Basis im MBP-Bild wie auf Abb. 23 von Markfasern aus dem lo unterfüttert. Eine Gliederung der ITOs in Basis, mittleres Zellband und Kappe kann nicht vorgenommen werden.

Wie im CD15-Bild der benachbarten Schnittebenen kann im Acb eine Unterteilung in einen medialen und einen lateralen Abschnitt vorgenommen werden. Der mAcb erscheint äußerst inhomogen. Im lateralen Abschnitt des mAcb werden MBP-negative Areale von MBP-positiven Hüllen eingeschlossen. Vom Grund des LV ist im Areal des Acb eine nach ventral orientierte Riffelung erkennbar. Diese fingerförmigen Strukturen verbinden sich mit den Kappen mehrerer ITOs. Es kann keine deutliche Trennung des VStr gegenüber dem immunreaktiven Tu vorgenommen werden.

Über die SStr sind die ITOs mit dem Pu verbunden.

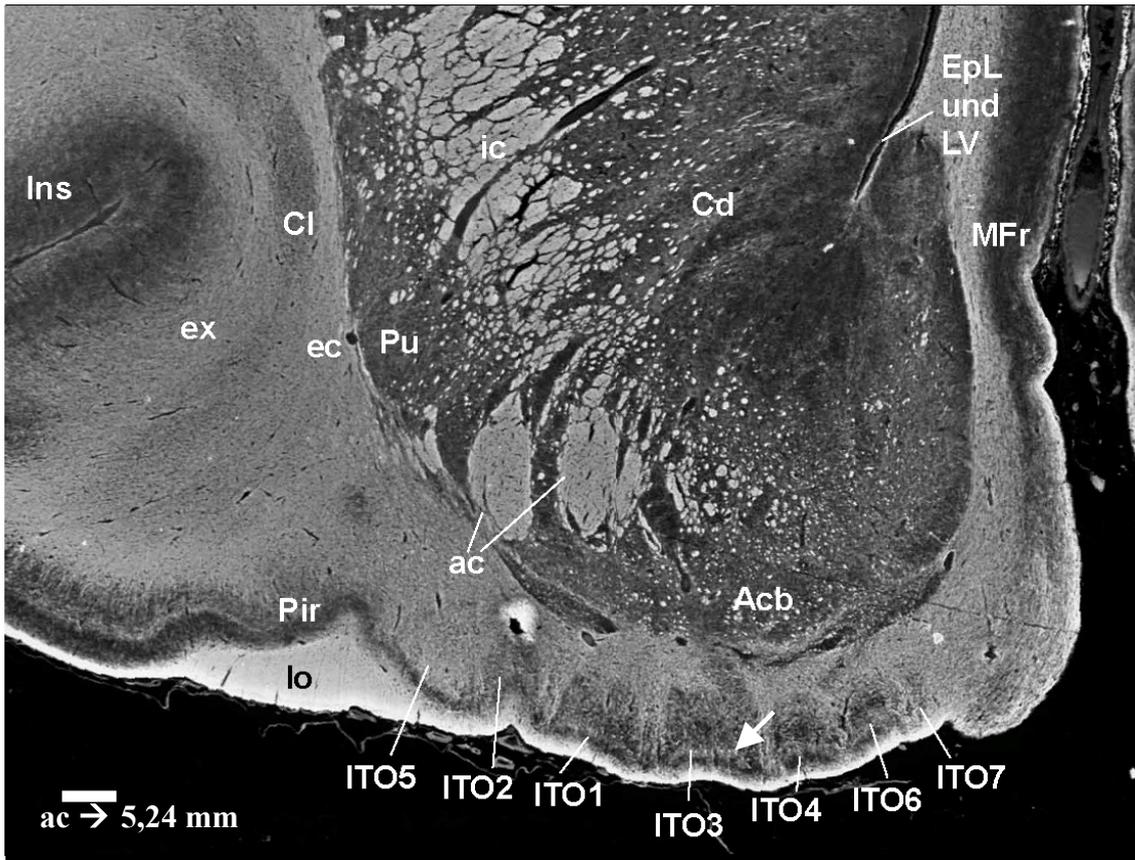


Abb. 23 Lumogramm des Schnitts 1103 (x14, Maßstab: 0,5 mm)
Verwendeter Antikörper: MBP

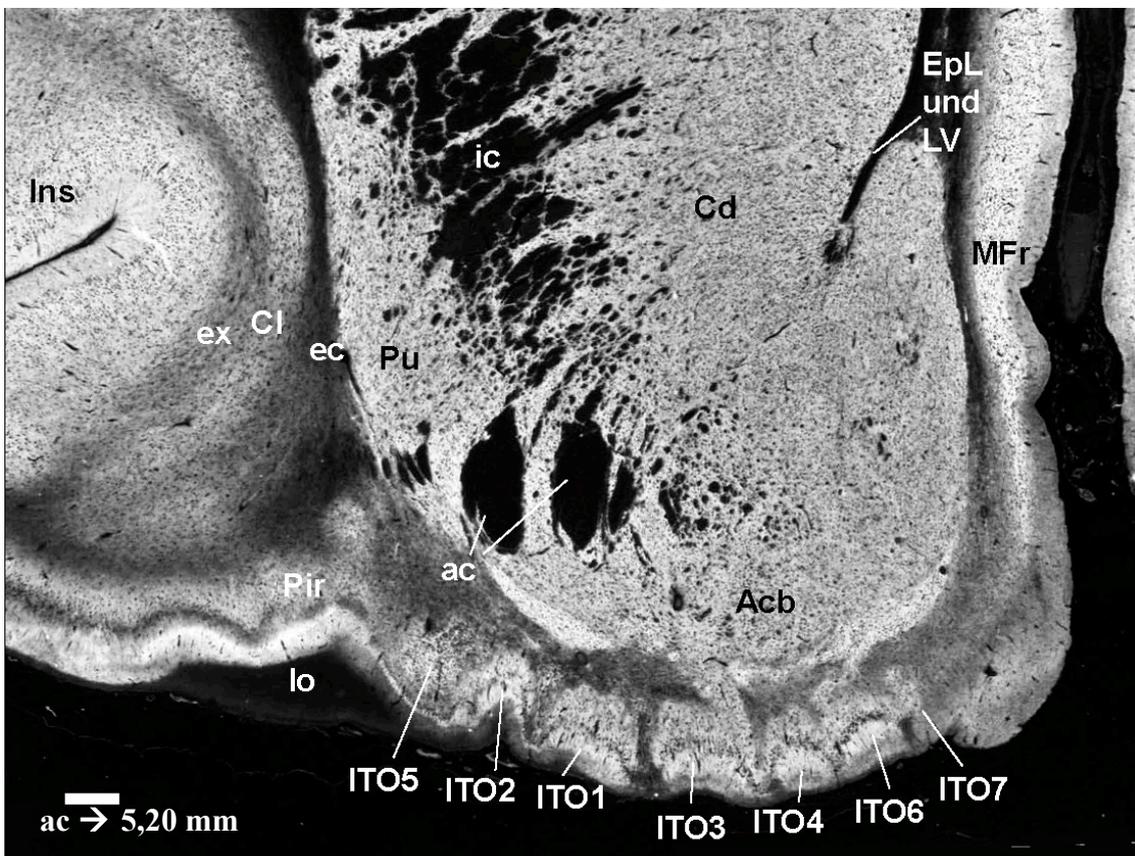


Abb. 24 Lumogramm des Schnitts 1105 (x14, Maßstab: 0,5 mm)
Verwendeter Antikörper: Synaptophysin

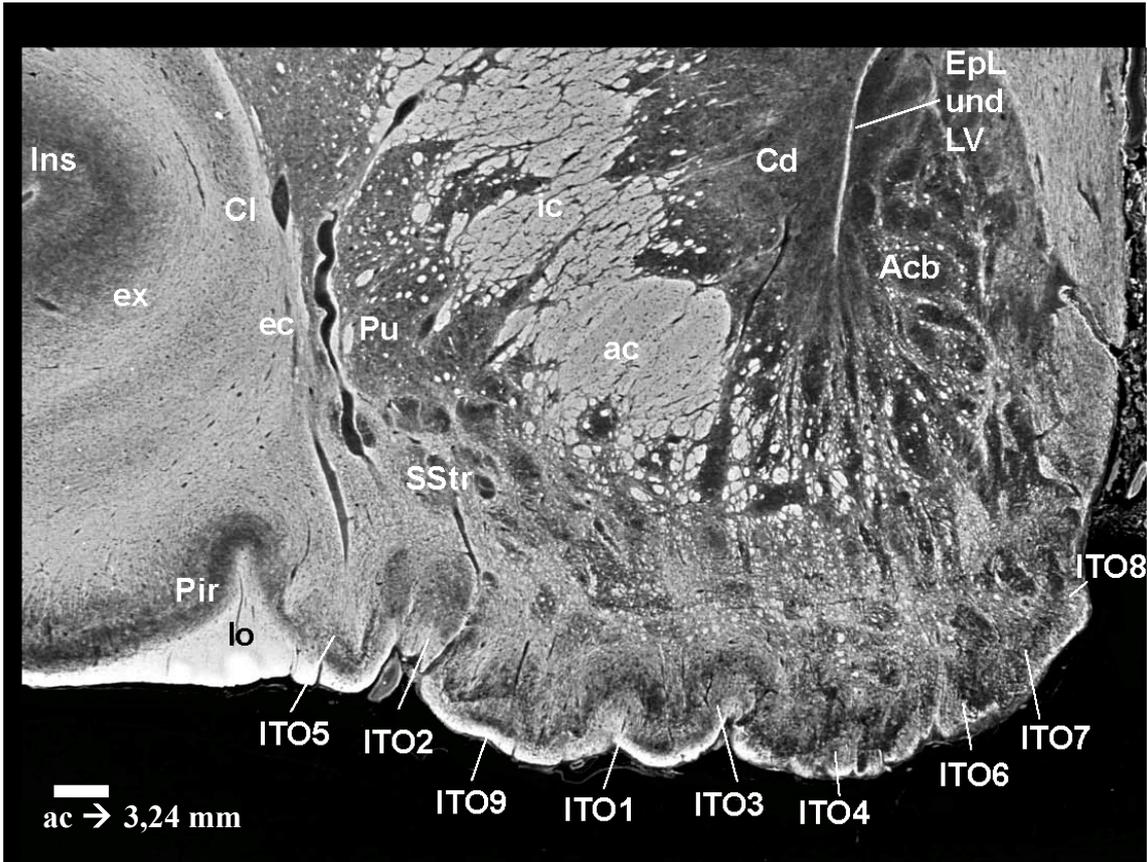


Abb. 25a Lumogramm des Schnitts 1203 (x14, Maßstab: 0,5 mm)
Verwendeter Antikörper: MBP

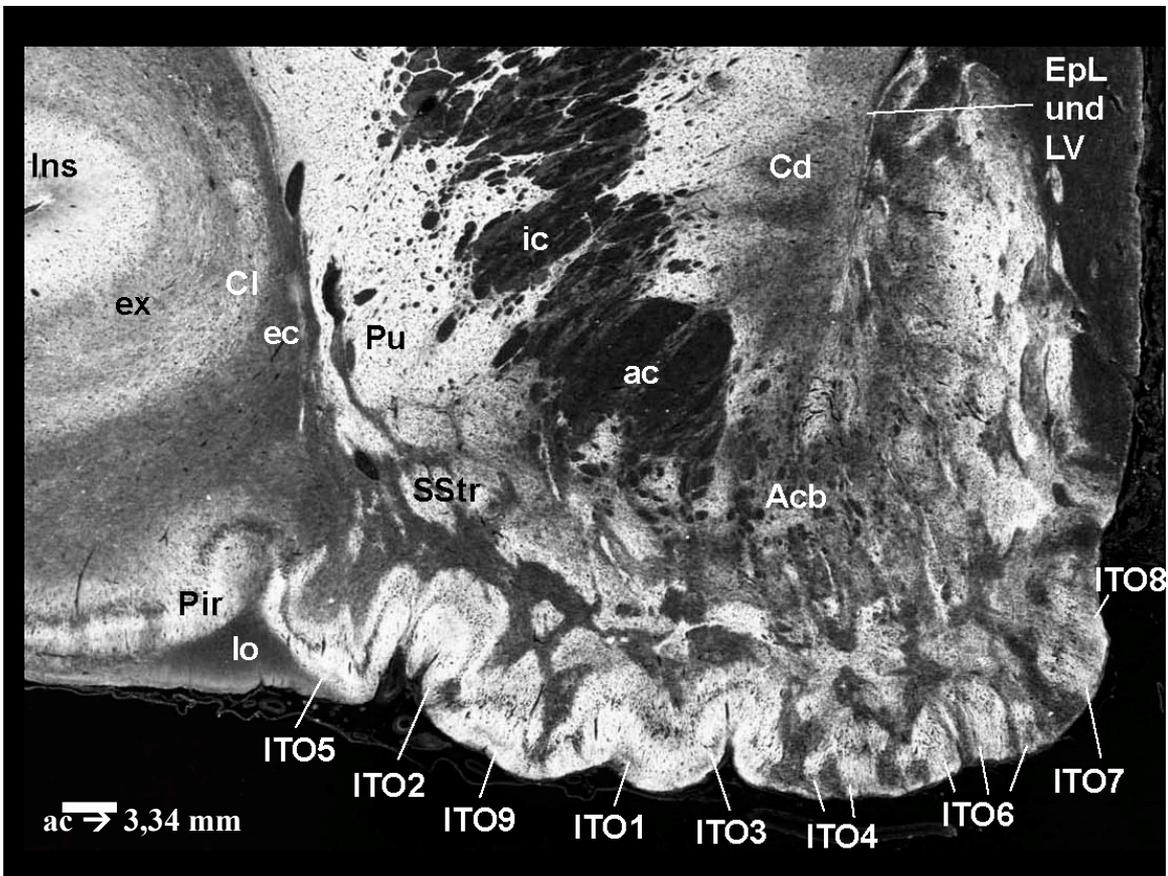


Abb. 25b Lumogramm des Schnitts 1198 (x14, Maßstab: 0,5 mm)
Verwendeter Antikörper: CD15

4.1.3. Zusammenfassung der makroskopischen und mikroskopischen Auswertung

Gemessen vom Zentrum der vorderen Commissur (ac) ließ sich im Abstand von 7,06 mm nach rostral erstmals ein CD15-immunreaktives Areal im Gebiet des Tuberculum olfactorium (Tu) erkennen. Vom ersten Anschnitt bis zum kaudalen Ende des CD15-immunreaktiven Tu lagen 326 Schnitte mit einer Dicke von jeweils 20 µm. Das entspricht einer antero-posterioren Ausdehnung des CD15-immunreaktiven Tu im Paraffin-eingebetteten Gehirn von 6,52 mm (siehe 4.3.1.). Innerhalb dieser Ausdehnung standen 110 CD15-gefärbte Schnitte für die Analyse zur Verfügung. Für die Präsentation der Befunde wurden 16 Schnitte im Abstand von meist 400 µm ausgewählt, wodurch der Verlauf der Insulae terminales olfactoriae (ITOs) des CD15-immunreaktiven Tu kontinuierlich dokumentiert werden konnte.

Durch verschiedene Intensitäten der CD15-Immunreaktivität (IR) und aufgrund unterschiedlicher Expressionsmuster konnten immunreaktive Areale den zerebralen Strukturen eindeutig zugeordnet werden.

Die Segmentierung des immunreaktiv markierten Tu erfolgte visuell. Im CD15-Bild stellt sich das immunreaktive Material in sehr charakteristischen, reiterierenden Mustern dar. Diese wurden in dieser Arbeit als glockenförmige Elemente beschrieben. Die neun glockenförmigen Segmente des Tu wurden entsprechend dem Auftreten in antero-posteriorer Richtung mit der Benennung ITO1-9 versehen. Im typischen Fall sind die einzelnen Glocken deutlich gegliedert:

- a) Basiselement in Nachbarschaft der pialen Oberfläche
- b) Mittleres Zellband
- c) Kappe

Die zytologische Untersuchung zeigt, dass diese Gliederung den drei Zellschichten des Tu zuzuordnen ist:

- a) Molekulare Schicht
- b) Pyramidenzellschicht
- c) Multifforme Schicht

Die **Basis** imponiert durch eine heterogene CD15-Expression. Es liegen zwei Schichten unterschiedlicher IR vor, die sich voneinander scharf abgrenzen lassen. Die pianahe Schicht weist stets ein schwächeres Expressionsprofil auf. Im MBP-Bild sind vier Schichten unterschiedlicher IR zu erkennen (siehe Abb. 23).

Das **mittlere Zellband** zwischen Basis und Kappe besitzt eine negative bis schwache CD15-IR und wird von Ausläufern aus Basis und Kappe durchzogen. Zwischen den ITOs ist kein mittleres Zellband ersichtlich. 4,58 mm vor dem Zentrum der ac geht das mittlere Zellband der lateral liegenden ITO5 in ein CD15-negatives Band des Pir über (siehe Abb. 13a).

Die **Kappen** der einzelnen ITOs imponieren durch ein vom restlichen Tu scharf abgrenzbares, mittelstark bis stark CD15-positives, punktförmiges Material. In charakteristischer Weise umschließen sie bogenförmig das Zellband und die Basis der Segmente, wodurch die typische Glockenform entsteht.

Eine gewisse Ausnahme im Erscheinungsbild bildet das am weitesten lateral gelegene Element ITO5, das in der Nachbarschaft zum Cortex piriformis (Pir) liegt und am stärksten von der Glockenform abweicht. Das Bauprinzip der ITO5 stimmt mit dem Bauprinzip der anderen ITOs trotz der etwas abweichenden Form überein.

Verfolgt man die einzelnen, durch ihre CD15-IR charakterisierten ITOs in der Schnittsequenz, stellt sich heraus, dass es sich nicht um präzise von den Nachbar-elementen abgrenzbare Strukturbereiche handelt, sondern dass ihre Grenzen auf Einzelschnitten nicht immer erkennbar sind (siehe Abb. 13a und b). Dank der Analyse der Nachbarschnitte konnte die Abgrenzung der ITOs allerdings zweifelsfrei vollzogen werden.

Die CD15-IR der Kappe und der Basis ist auf einigen Schnittebenen unterbrochen, und zwar nicht nur zwischen den ITOs (siehe Abb. 14a und b: zwischen ITO7 und ITO8), sondern auch innerhalb einer ITO (siehe Abb. 14a und b: ITO3, ITO6 und ITO8). Nur in Einzelfällen kann das abrupte Fehlen der CD15-IR durch ein angeschnittenes Blutgefäß erklärt werden (siehe Abb. 14a und b: ITO2 und ITO5). In wenigen Fällen wurden Verschmelzungen innerhalb der ITOs beobachtet (siehe ITO1 in Abb. 8b und 9b).

Die Querschnittsfläche und die seitliche Ausdehnung des CD15-immunreaktiv gefärbten Tu nimmt von anterior nach posterior zu. Die Expansion nach medial und lateral verläuft gleichmäßig. Die maximale seitliche Ausdehnung liegt im hinteren Ende des immunreaktiv markierten Tu (siehe Abb. 30a). Im Bereich der medialen Hemisphärenwand umgreifen die immunreaktiven Segmente des Tu bogenförmig den ventro-medialen Anteil des Nucleus accumbens (Acb) (siehe Abb. 14 a und b). Lateral schmiegt sich das immunreaktive Tu dem Pir an. Ab 6,14 mm vor dem Zentrum der ac liegen mit Ausnahme des lateralen Segments ITO5 alle Segmente des immunreaktiven Tu der pialen Oberfläche breitbasig auf.

Zwischen den lateralen Inseln (ITOs 1, 2, 3, 5 und 9) und den medialen Inseln (ITOs 4, 6, 7 und 8) ist ein deutlicher Gradient erkennbar. Im Vergleich mit den lateralen ITOs bestechen die medialen Inseln durch eine schwächere CD15-IR und deutliche Unterbrechungen (siehe Abb. 16a).

Der vordere Teil der immunreaktiv gefärbten Rinde des Tu wird zusammen mit dem ventralen striatalen Feld (VStrF) angeschnitten, welches Acb, Capsula interna (ic), Nucleus caudatus (Cd) und Putamen (Pu) umfasst. Weiter posterior umfasst das VStrF den Globus pallidus (GP), die Insula Calleja Magna (ICjM), die substriatalen Inseln (SStr) und die ac.

Im Verlauf der Schnittserie zeigt das immunreaktive Tu enge Lagebeziehungen zu Nachbarstrukturen. In diesem Zusammenhang spielen der Pir und der Acb eine besondere Rolle.

Im vorderen Teil sind die CD15-Markierungen von Pir und immunreaktivem Tu durch ein Gebiet ohne IR deutlich getrennt. Im Areal des Pir werden zwei CD15-positive Schichten unterschiedlicher IR vom mittig gelegenen, CD15-negativen Pyramidenzellband voneinander separiert. Dabei handelt es sich infrapyramidal um die multiforme Schicht. Suprapyramidal verläuft ein Saum aus immunreaktivem Material, das die Molekularschicht repräsentiert. Diese ist über eine relativ breite Synapsenzone mit dem pianahen lo verbunden, dessen Fasern unter der Basis der ITOs verlaufen und diese unterfüttern.

Aufgrund der medio-lateralen Expansion des immunreaktiven Tu schmiegt sich weiter hinten das laterale Segment ITO5 dem Pir an, so dass 4,58 mm vor dem Zentrum der ac das CD15-negative Band des Pir unmittelbar Anschluss an das mittlere Zellband des immunreaktiven Tu findet (siehe Abb. 13a).

Während der Acb auf den vorderen Schnittebenen durch eine hohe, homogene CD15-IR charakterisiert ist, bestimmt auf den hinteren Schnittebenen ein heterogenes Expressionsmuster das Bild. Auf den vorderen Schnittebenen kann im Areal des Acb ein stark immunreaktiver, ventraler Anteil (vAcb) gegenüber einem schwächer immunreaktiven, dorsalen Anteil (dAcb) deutlich abgegrenzt werden (siehe Abb. 9a). Der vAcb wird durch ein CD15-negatives Areal vom immunreaktiv markierten Tu separiert. Weiter hinten sind Ausläufer des vAcb zu den Kappen mehrerer ITOs vorhanden. Diese Ausläufer stellen sich mit demselben Expressionsmuster wie der vAcb dar (siehe Abb. 12a).

Auf den hinteren Schnittebenen kann der Acb aufgrund seines Expressionsmusters in einen medialen (mAcb) und lateralen Abschnitt (lAcb) unterteilt werden (siehe Abb.15a). Der mAcb erscheint inhomogen. Die CD15-IR nimmt nach lateral graduell ab. Ein Gebiet starker IR wird von einem Bereich schwacher IR scharf abgegrenzt (siehe gestrichelte Linie in Abb. 15b). Sowohl im lAcb als auch im mAcb sind fingerförmige Strukturen erkennbar, welche sich mit den Kappen mehrerer ITOs verbinden (siehe Abb. 16a und b). Im Bereich des hinteren, CD15-positiven Tu besitzt das Material des Acb nur noch medio-dorsal eine schwache, grob granuliert IR (siehe Abb. 19a).

Der hintere Teil der ITOs steht in enger Lagebeziehung zu den SStr (siehe Abb. 17 a und 17 b), die das immunreaktive Tu mit dem Pu verbinden. Im Synaptophysin-Bild wird außerdem eine Verbindung zwischen dem Pu und dem Pir deutlich.

Das dem GP zuzuordnende, immunreaktive Areal steht in keinem Schnitt in direktem Kontakt zu den ITOs.

Der Cd zeichnet sich durch feingranuliertes, punktförmiges Material aus. Fingerförmige, stärker immunreaktive Areale wechseln sich mit CD15-schwächeren Gebieten ab, was das Bild einer Patch-Matrix-Felderung hervorruft.

4.2. Dreidimensionale Rekonstruktion des segmentierten Tuberculum olfactorium

Für die dreidimensionale Darstellung des segmentierten Tuberculum olfactorium (Tu) kam das Programm Amira zum Einsatz. Einbezogen wurden hierfür die neun Insulae terminales olfactoriae (ITOs) des Tu, die oben beschrieben wurden, sowie das ventrale striatale Feld (VStrF), welches Capsula interna (ic), Globus pallidus (GP), Insula Calleja (ICjM), Nucleus accumbens (Acb), Nucleus caudatus (Cd), Putamen (Pu), substriatale Inseln (SStr) und die vordere Kommissur (ac) umfasst.

Mit Hilfe dieses Programms wurden die 110 verwendeten Schnittbilder lagegerecht in der Bounding-Box positioniert. Über den Befehl „Ortho Slice“ konnten die Schnittbilder für alle drei Ebenen berechnet werden, damit sie in allen Raumrichtungen drehbar waren und von allen Seiten betrachtet werden konnten.

Die Ergebnisse der Rekonstruktionen werden auf den folgenden Seiten abgebildet und diskutiert. Das generierte 3D-Modell wird aus insgesamt sechs Perspektiven betrachtet. Um eine bessere Übersicht zu haben, wird die Rekonstruktion des Tu mit und ohne Rekonstruktion des VStrF präsentiert. Es wurden zwei Darstellungsweisen ausgewählt:

1. die Abbildung der segmentierten Strukturen als Schnittstapel mit verdeckten Kanten, d.h. bei ungeglätteter Oberfläche
2. die Darstellung nach Generierung einer mit 40 Iterationen geglätteten Oberfläche.

Die zweite Darstellungsweise hat gegenüber der Darstellung ohne geglättete Oberfläche einen geringen Detailverlust zur Folge. Dahingegen wirkt die Rekonstruktion mit geglätteter Oberfläche homogener.

Besondere Beachtung verdient die ITO9, die als einzige Insel innerhalb des segmentierten Tu entsteht und keine direkte Beziehung zu seinem vorderen Ende hat. Sie wird unter 4.2.2. näher untersucht.

Unterbrechungen in der Kontinuität der ITOs sind zum Teil durch Blutgefäße verursacht. In anderen Fällen ist keine Ursache zu erkennen. Exemplarisch wird die rot kodierte ITO3 unter 4.2.3. auf die Unterbrechungen hin untersucht. Die Gliederung jeder Insel des Tu in Basis, Zellband und Kappe wird unter 4.2.4. weiter analysiert.

4.2.1. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei verschiedenen Ansichten

Auf den folgenden Seiten sind die dreidimensionalen Rekonstruktionen des segmentierten Tu bei einer Ansicht von vorne, von medial, von hinten, von lateral, von ventral und von dorsal zu sehen.

4.2.1.1. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von vorne

Abb. 26a und b liefern eine Aufsicht auf den gesamten Bildstapel der rekonstruierten ITOs und des VStrF. Zu erkennen sind acht der insgesamt neun, farblich kodierten Segmente des Tu. Bei jedem Segment können drei Anteile visuell abgegrenzt werden. Der gut erkennbare Spalt, der sich von lateral nach medial erstreckt, stellt das Zellband des Tu dar. Ventral hiervon, in Richtung auf die piale Oberfläche, liegt ihm die Basis der ITOs an. Dorsal, in Nachbarschaft zum Acb, befinden sich die Kappen des Tu.

In Nachbarschaft zum Tu befindet sich die Rekonstruktion des VStrF. Die Begrenzung ist im medialen und lateralen Bereich kontinuierlich und glatt, während sie im ventralen Teil, in Nachbarschaft zu den ITOs sehr unregelmäßig erscheint. Diese tropfenartigen Ausziehungen des VStrF entsprechen den CD15-positiven Verbindungen zwischen Acb und den Kappen des Tu.

Bedingt durch den geringen Abstand zwischen Basis und Kappe kommt es durch das Resampling, dem Herunterrechnen der Auflösung, vereinzelt zu einer Verschmelzung beider Regionen (siehe Pfeil auf Abb. 26b) und somit zu einem geringen Detailverlust.

Die externe Begrenzung des Tu entspricht weitgehend dem Verlauf der pialen Oberfläche.

Auf Abb. 26a sind deutlich die Stufen zu sehen, welche durch das Zusammenfügen aller einzelnen Schichten zu einer dreidimensionalen Struktur bedingt sind. Bei einer durchgeführten Glättung mit 40 Iterationen wirkt die Rekonstruktion ruhiger und homogener. Die Oberfläche ist regelmäßiger. Feine Strukturen gehen allerdings verloren.

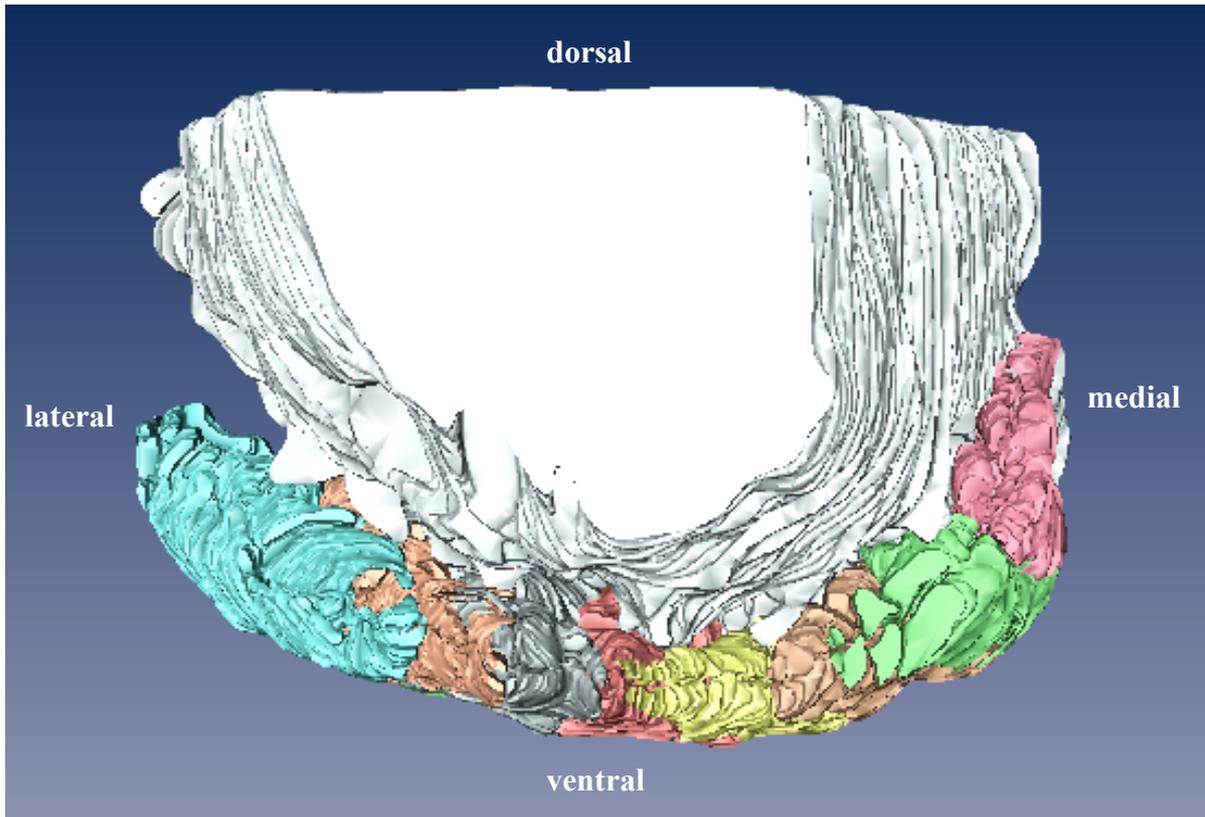


Abb. 26a Rekonstruktion der ITOs und des VStrF bei ungeglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von vorne

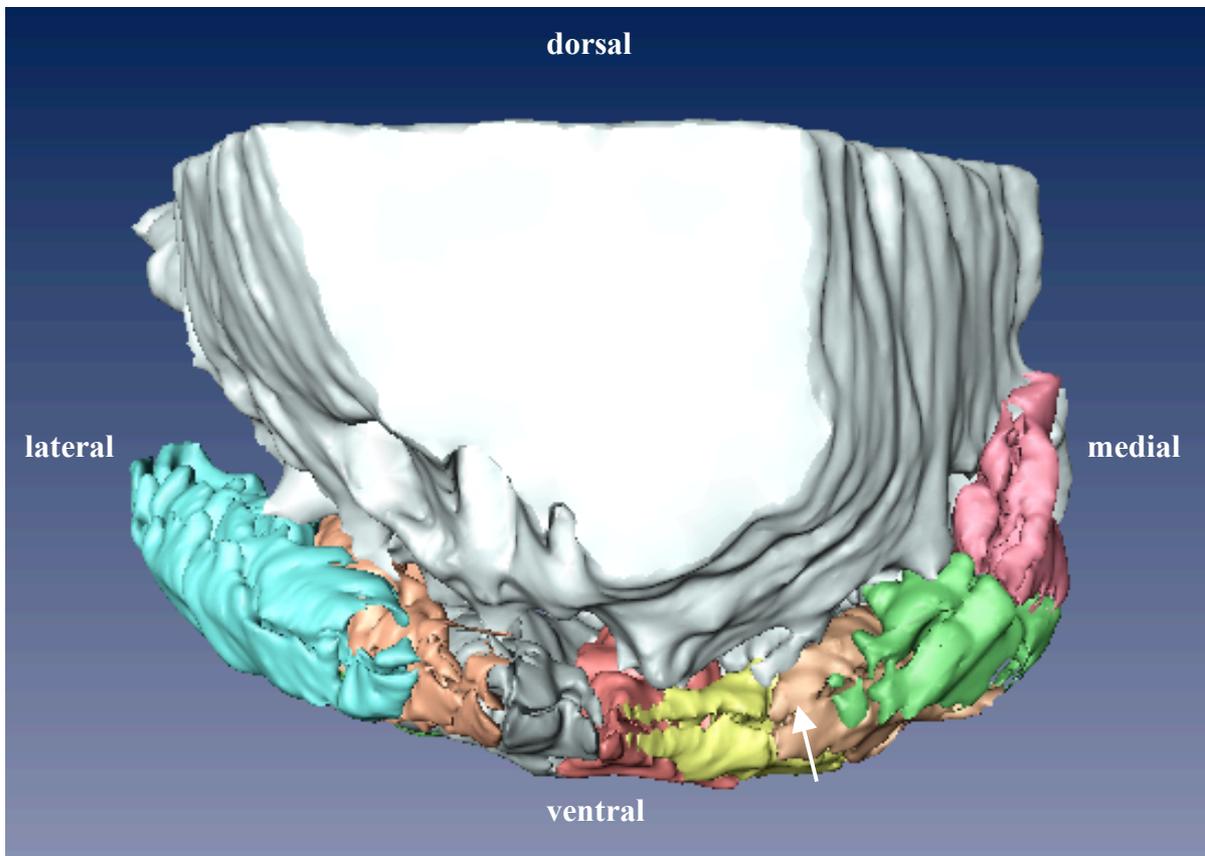


Abb. 26b Rekonstruktion der ITOs und des VStrF bei geglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von vorne

Abb. 26c und d zeigen eine Darstellung der Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von vorne. Im Vergleich zu den Abb. 26a und b ist die grau markierte Struktur, die der Rekonstruktion des VStrF entspricht, ausgeblendet und der Blick auf die dorsale Begrenzung der ITOs ermöglicht.

Mit Ausnahme des hellgrün kodierten Segments ITO9 (siehe Pfeile auf Abb. 26c und d) besitzen alle Segmente des Tu eine Verbindung zum vorderen Ende des Tu.

Die Orientierung der außen gelegenen Elemente weist auf die konvex nach vorne gerichtete Form des segmentierten Tu hin, die einen Aufblick auf die Seitenflächen der äußeren Segmente erlaubt.

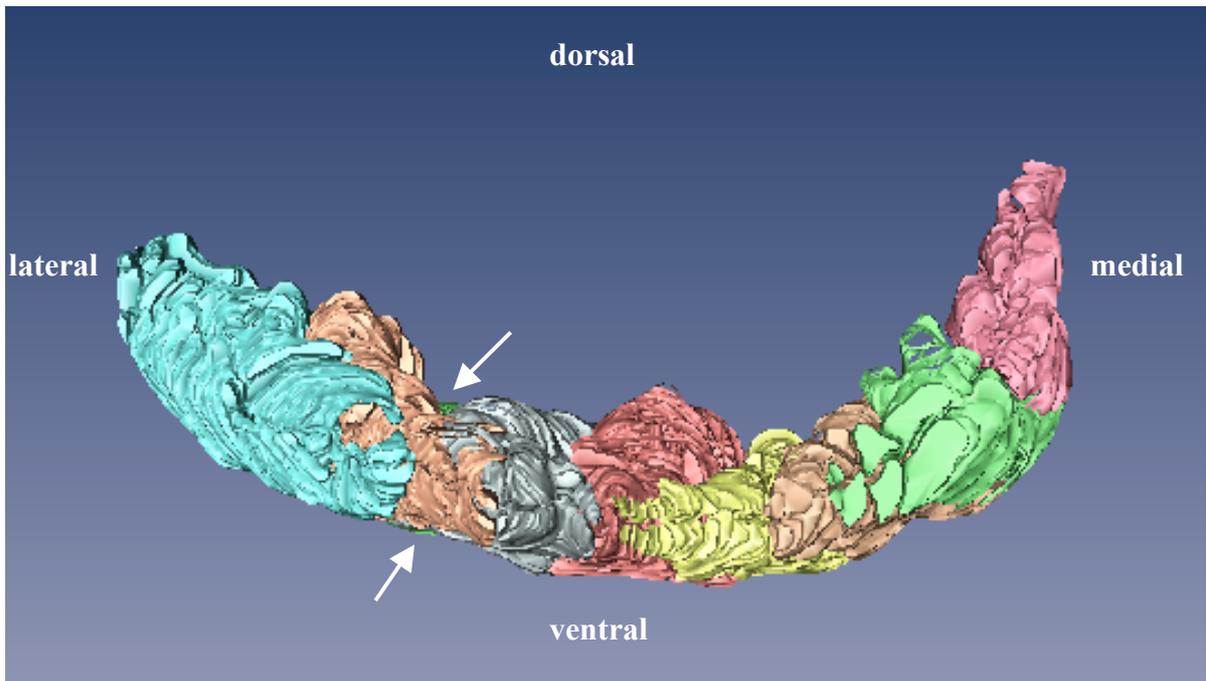


Abb. 26c Rekonstruktion der ITOs bei ungeglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von vorne

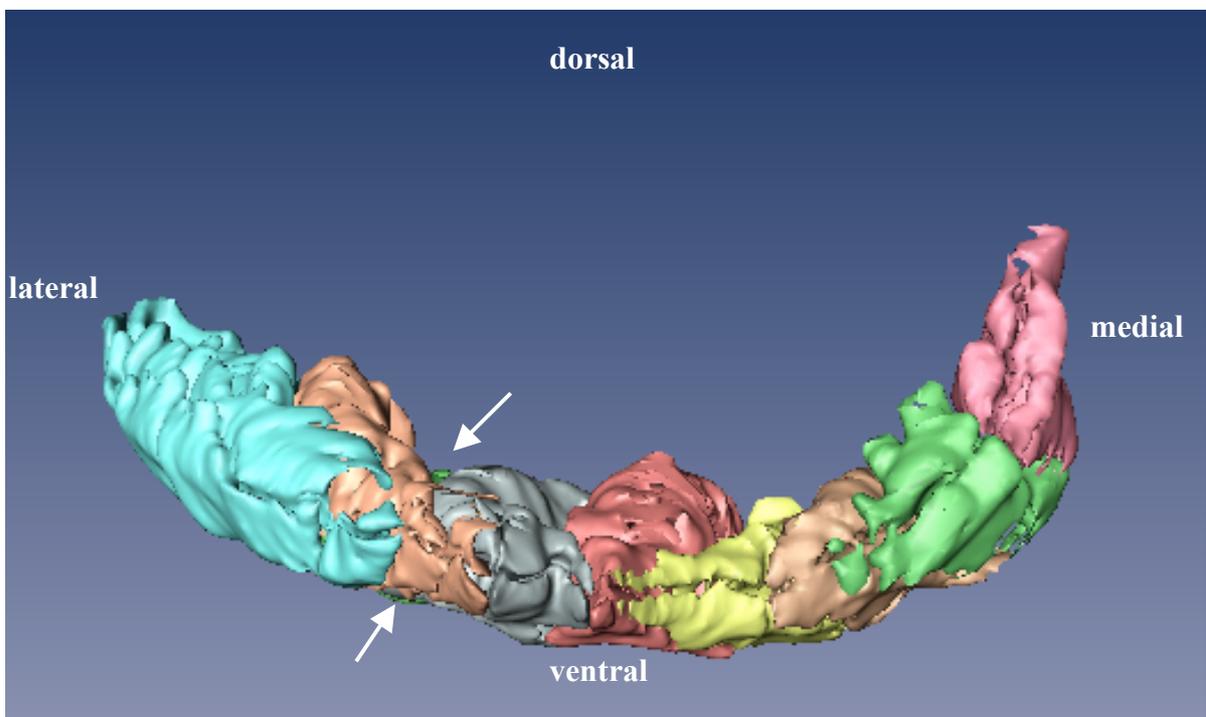


Abb. 26d Rekonstruktion der ITOs bei geglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von vorne

4.2.1.2. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von medial

Abb. 27a bis d zeigen eine Darstellung der Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von medial. Die typische Gliederung der Segmente in Basis, Zellband und Kappe ist in dieser Ansicht undeutlich, da der Verlauf des zwischen Kappe und Basis liegenden Spalts, der dem Zellband entspricht, bis auf die mit dem langen Pfeil markierte Stelle im gelb kodierten Segment ITO4 nicht zu verfolgen ist.

Die medial liegenden gelb, braun, grün und bordeaux markierten Segmente ITO4, 6, 7 und 8 repräsentieren den an der Medial-Seite der Hemisphäre gelegenen Teil des Tu. Das bordeaux kodierte Segment ITO8 läuft nach dorsal spitz aus. Der kurze Pfeil markiert einen von anterior nach posterior verlaufenden Spalt in der Basis der ITO8. Dieser Spalt entspricht nicht dem Zellband, sondern resultiert aus Ungenauigkeiten in der Umzeichnung des Segments ITO8 im Programm Adobe Illustrator. Dieser Umstand konnte von der Software Amira nicht kompensiert werden.

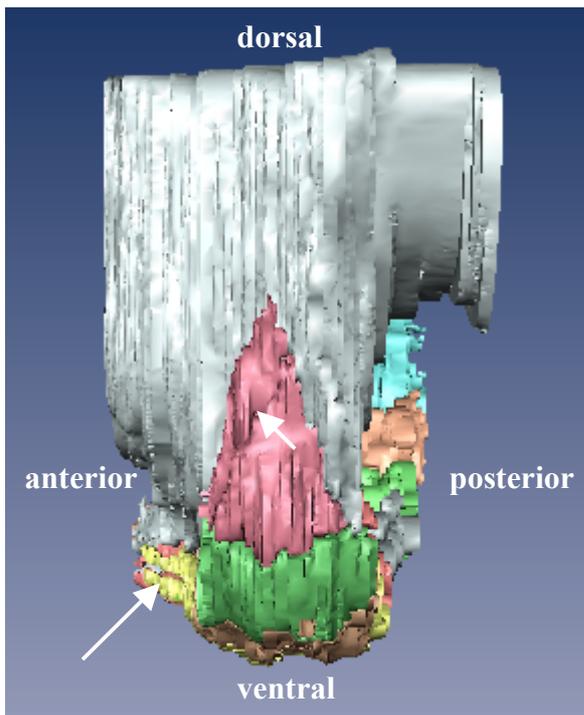


Abb. 27a Darstellung der rekonstruierten Oberflächen bei einer Ansicht von medial

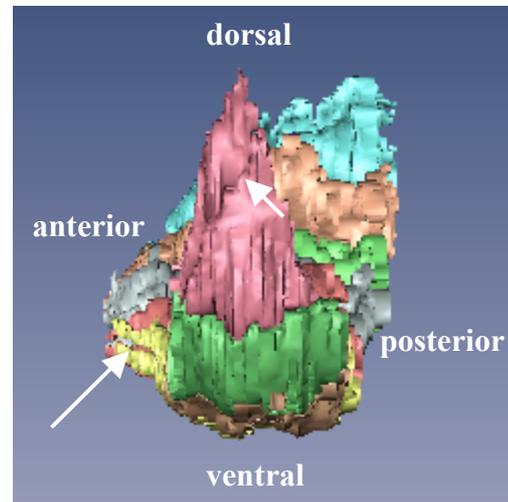


Abb. 27c Rekonstruktionen mit ausgeblendetem VStrF

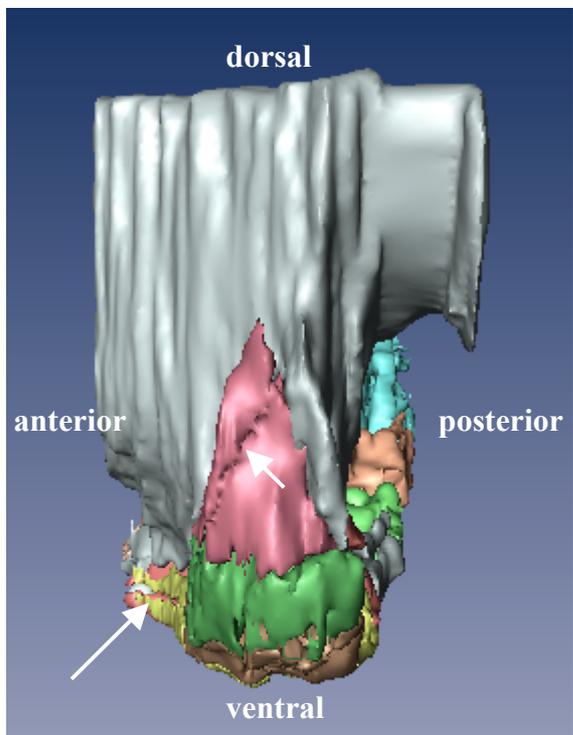


Abb. 27b Darstellung der rekonstruierten, geglätteten Oberflächen bei einer Ansicht von medial

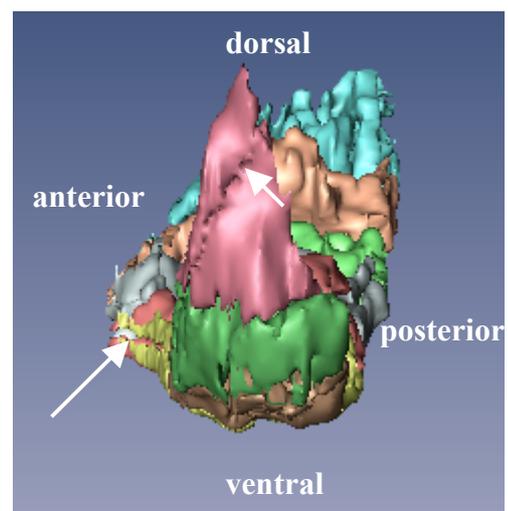


Abb. 27d Rekonstruktionen nach Glättung mit ausgeblendetem VStrF

4.2.1.3. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von hinten

Abb. 28a und b zeigen eine Darstellung der Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von hinten. Es sind alle neun Segmente durch die unterschiedlichen Farben zu unterscheiden. Alle Elemente stehen in direkter Verbindung zueinander. Von medial nach lateral verläuft ein Spaltraum, der bei jedem Segment Kappe von Basis trennt.

Die Glockenform, wie sie als Charakteristik der ITOs beschrieben wurde, ist bei der Rekonstruktion des rot markierten Segments ITO3 in der Abb. 28b besonders gut zu erkennen. Die Kappe umschließt bogenförmig die Basis und wird durch einen hier sehr deutlich erkennbaren Spalt von der Basis separiert.

Das lateral liegende, hellblau markierte Segment ITO5 zeigt eine komplizierte Struktur, aber auch hier ist die Gliederung in Basis, Zellband und Kappe ersichtlich. Bei dieser Blickrichtung wird bei der grau markierten Rekonstruktion des VStrF sehr deutlich, dass sich die ventrale Begrenzung in posteriorer Richtung zunehmend vom Tu abhebt. Dies gilt in besonderem Maß für den zentralen Teil.

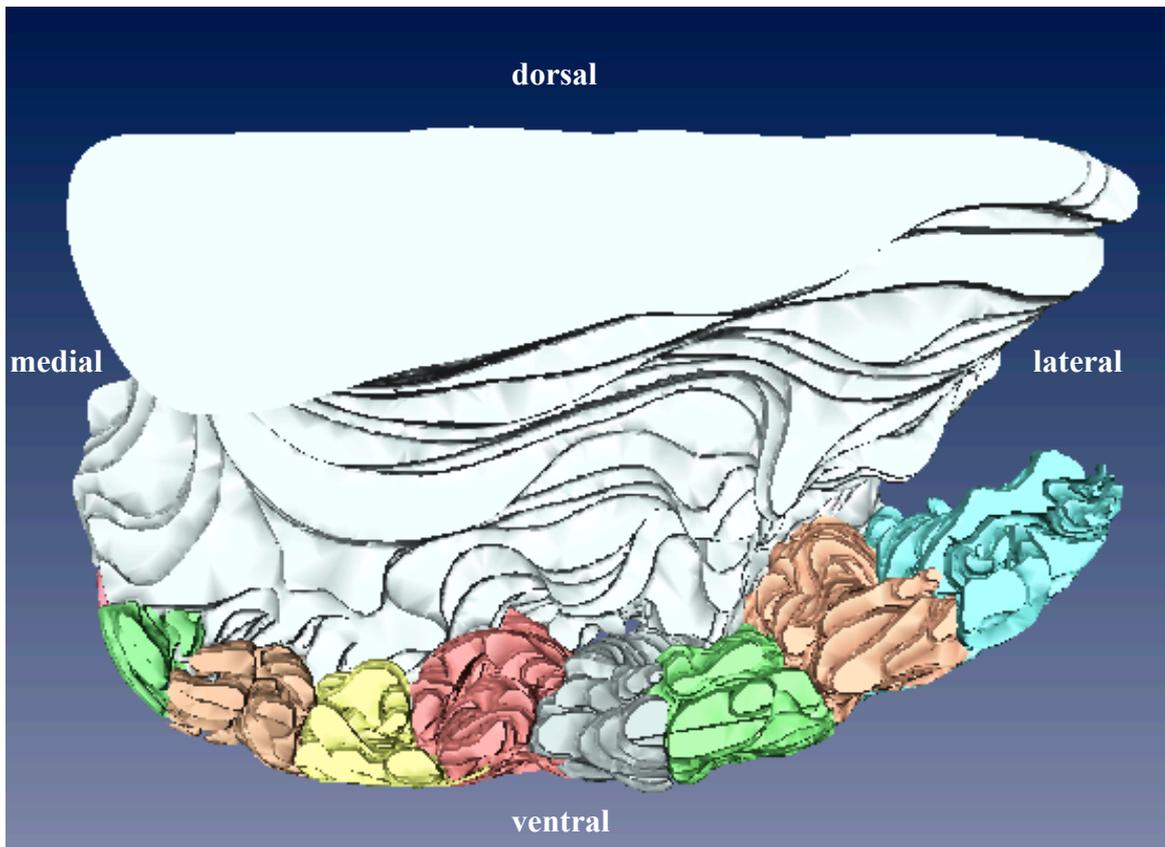


Abb. 28a Rekonstruktion der ITOs und des VStrF bei ungeglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von hinten

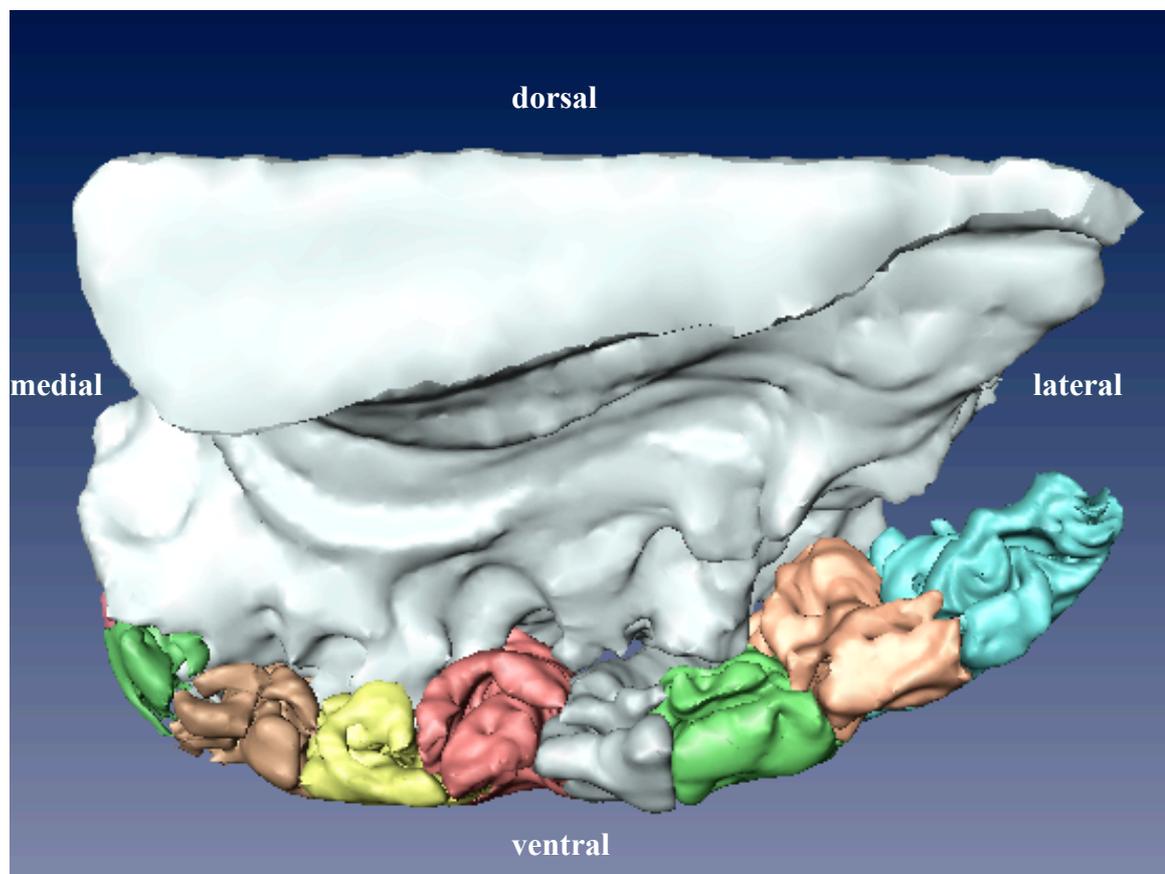


Abb. 28b Rekonstruktion der ITOs und des VStrF bei geglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von hinten

Die Abbildungen 28 c und d zeigen alle neun rekonstruierten Segmente des Tu ebenfalls bei einer Ansicht von hinten. Da die Rekonstruktion des VStrF ausgeblendet ist, sind Form und Ausdehnung der Einzelemente im Vergleich zu Abb. 28a und b besser zu verfolgen.

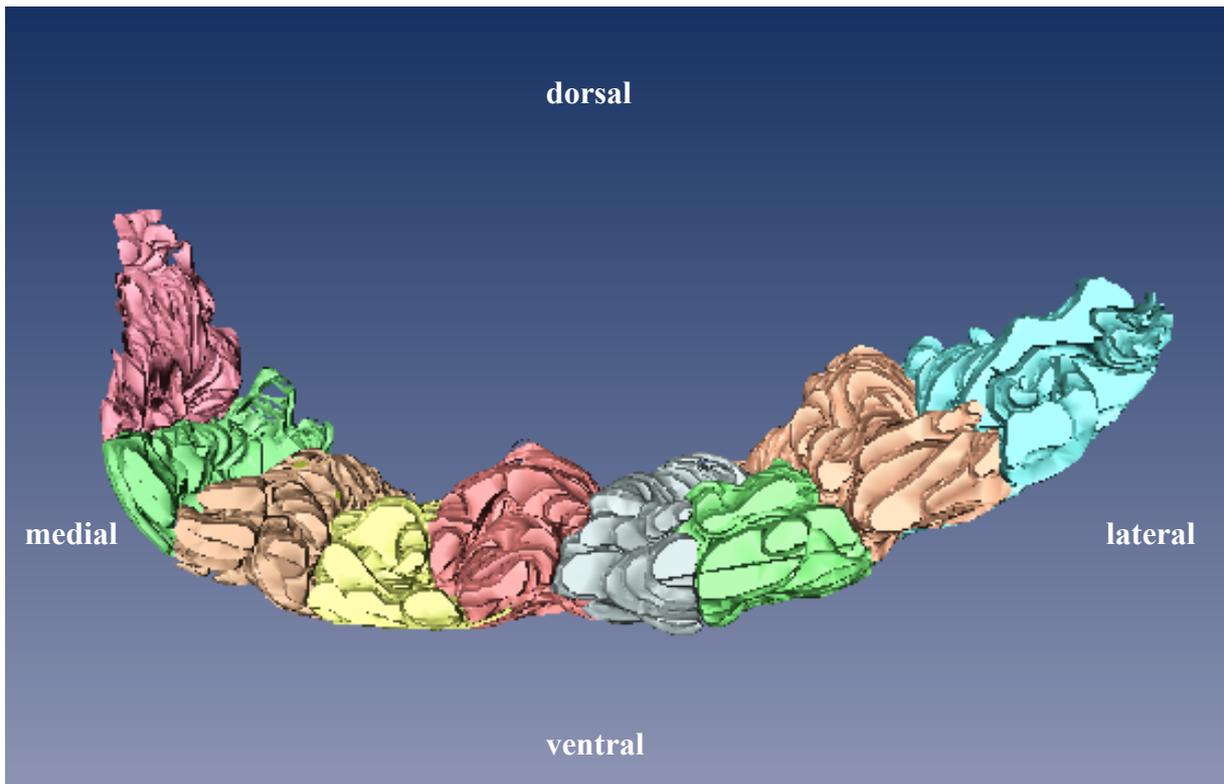


Abb. 28c Rekonstruktion der ITOs bei ungeglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von hinten

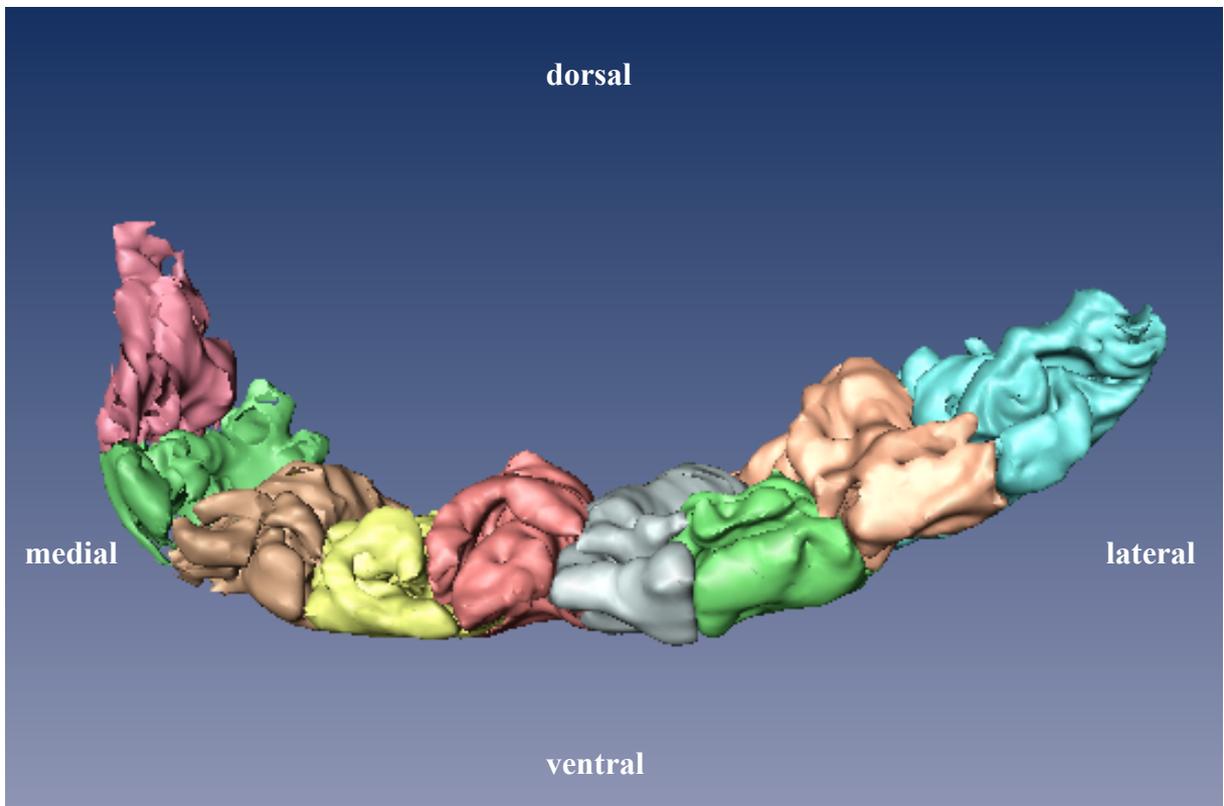


Abb. 28d Rekonstruktion der ITOs bei geglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von hinten

4.2.1.4. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von lateral

Abb. 29a bis d zeigen eine Darstellung der Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von lateral. Der seitliche Abschluss des Tu ist breitflächig und „glatt“ in längsovaler Kontur. Dies steht in deutlichem Unterschied zum medialen Ende, wo das Abschlusselement zipfelförmig nach dorsal ausgezogen erscheint (siehe Abb. 29c und d).

Da aus dieser Perspektive das hellblau markierte Segment ITO5 viel Platz einnimmt, sind die anderen Segmente größtenteils verdeckt. Die Sicht auf die Basis der orange, hellgrün und grau markierten Segmente ITO 2, 9 und 1 ist frei.

Bei Ausblendung der Rekonstruktion des VStrF wird die dorsale Spitze des bordeaux kodierten Segments ITO8 ersichtlich.

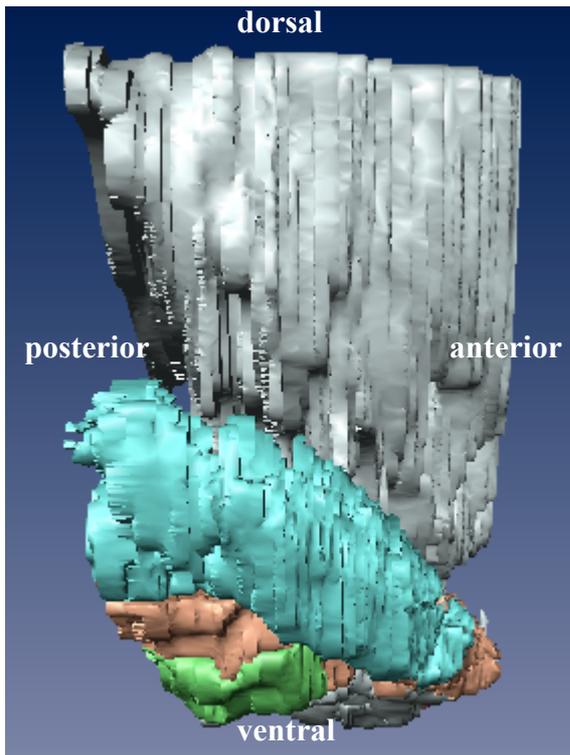


Abb. 29a Darstellung der rekonstruierten Oberflächen bei einer Ansicht von lateral

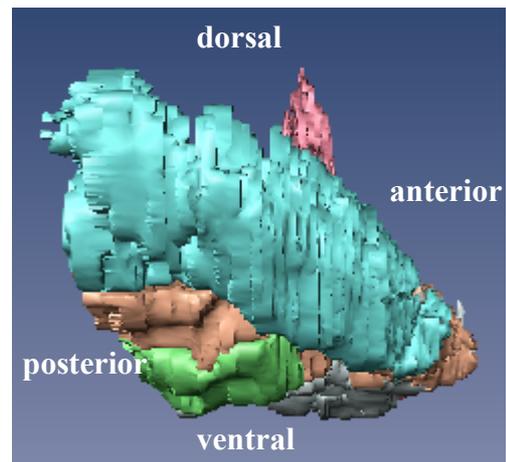


Abb. 29c Rekonstruktionen mit ausgeblendetem VStrF

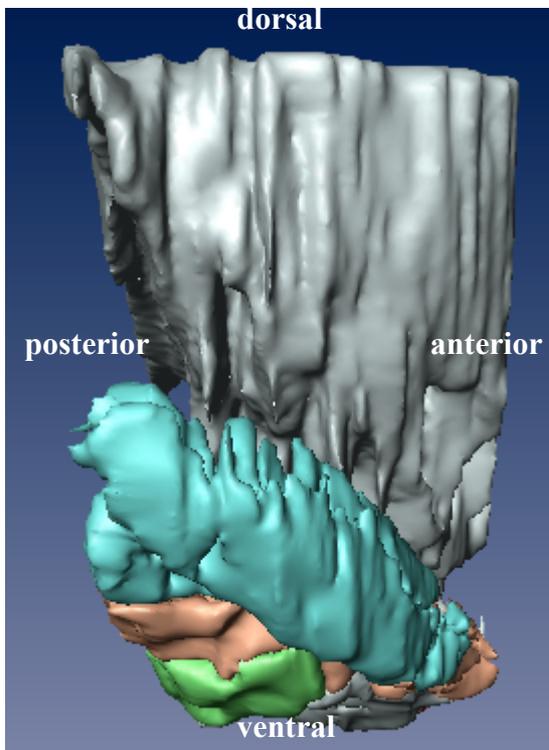


Abb. 29b Darstellung der rekonstruierten, geglätteten Oberflächen bei einer Ansicht von lateral

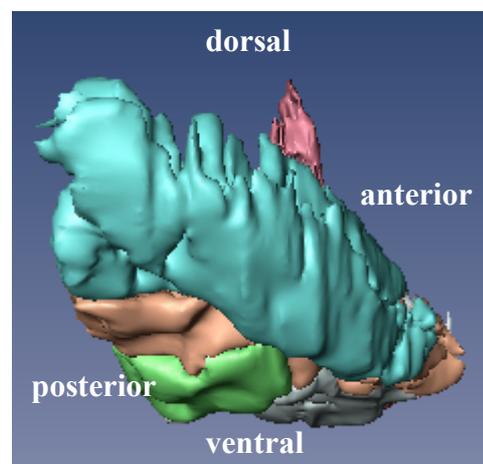


Abb. 29d Rekonstruktionen nach Glättung mit ausgeblendetem VStrF

4.2.1.5. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von ventral

Abb. 30a und b zeigen eine Darstellung der Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von ventral. Es sind alle neun Segmente durch unterschiedliche Farbgebungen zu unterscheiden.

Aus dieser Perspektive wird die Basis der ITOs betrachtet. Das segmentierte Tu weitet sich trichterförmig nach hinten aus, bis es seine maximale Ausdehnung erreicht. Jedes Element beginnt spitz und gewinnt in Richtung auf das hintere Ende an Breite. In gerader, sagittaler (median-paralleler) Anordnung befinden sich daher nur die mittig gelegenen Elemente. Diese sind im vorderen Teil des Tu angeschnitten. Die außen liegenden ITOs, besonders medial, erscheinen in die Breite abgedrängt.

Der hintere Abschluss des Tu ist abrupt. Es ist eine deutliche Grenze erkennbar, die in einem Winkel von ca. 10° zur frontalen Schnittebene liegt.

Die grau und orange kodierten Segmente ITO1 und ITO2 haben die größte antero-posteriore Ausdehnung, während die medialen, gelb, braun, grün und bordeaux markierten Inseln ITO 4, 6, 7 und 8 aus dieser Perspektive die geringste antero-posteriore Ausdehnung aufweisen.

Das zwischen den grau und orange markierten Segmenten ITO1 und ITO2 verlaufende, hellgrün kodierte Segment ITO9 liegt komplett in der hinteren Hälfte des Tu und hat somit als einzige Insel keinen Bezug zum vorderen Tu. Diese Insel wird unter 4.2.2. näher untersucht.

In der Mitte der Basis des rot markierten Segments ITO3 ist medial ein struktureller Defekt mit einer ringförmigen Unterbrechung zu erkennen (siehe Pfeil). Material aus der Basis des gelb markierten Segments ITO4 deckt diesen Defekt im Bereich der pialen Oberfläche zum Teil ab, füllt ihn jedoch keineswegs komplett aus, was aus den Abb. 34c und d hervorgeht. Die gestrichelte Linie markiert die Grenze des strukturellen Defekts, der unter 4.2.3. weiter analysiert wird.

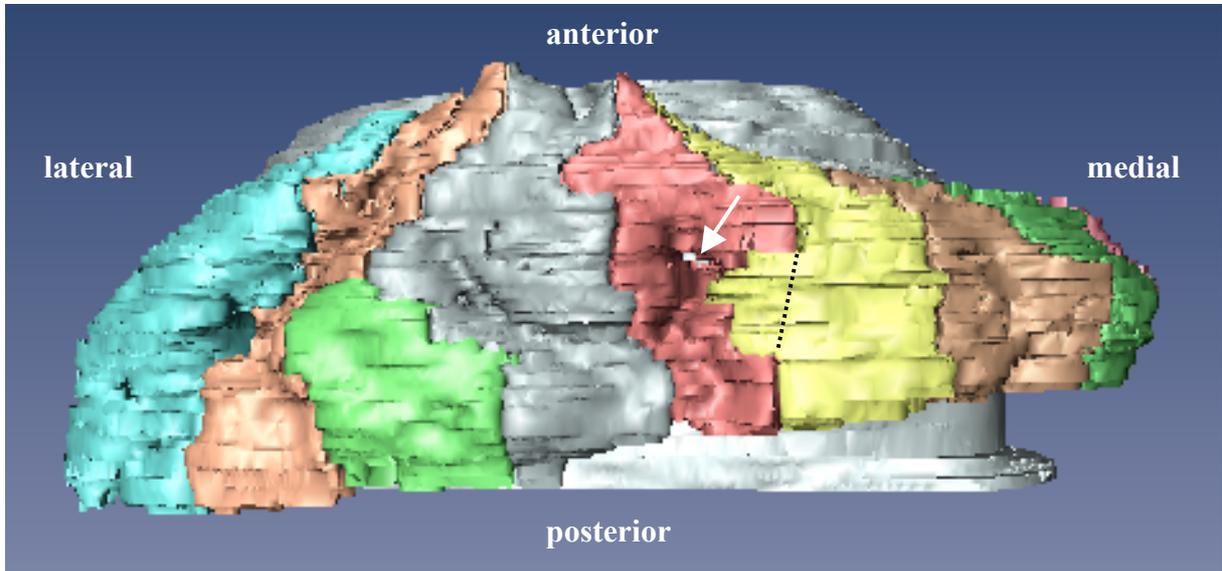


Abb. 30a Rekonstruktion der ITOs und des VStrF bei ungeglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von ventral

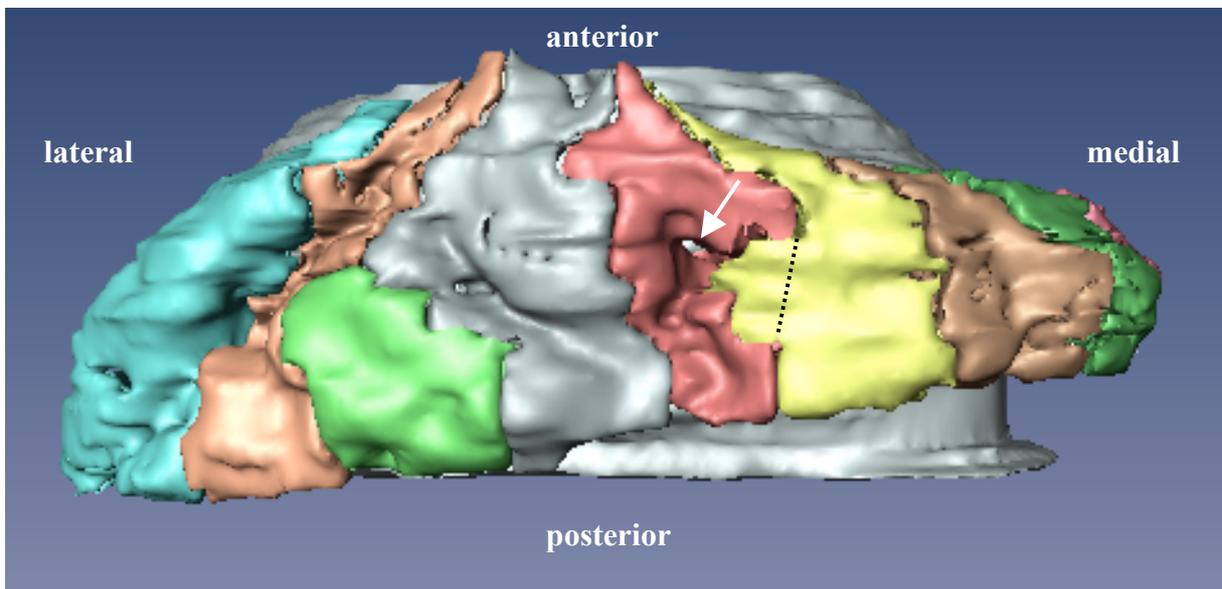


Abb. 30b Rekonstruktion der ITOs und des VStrF bei geglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von ventral

4.2.1.6. Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von dorsal

Abb. 31a und b zeigen eine Darstellung der Rekonstruktion des segmentierten Tu bei einer Ansicht von dorsal. Aus dieser Perspektive werden die Kappen aller neun ITOs betrachtet. Die Rekonstruktion des VStrF ist ausgeblendet.

Das segmentierte Tu breitet sich auch bei dieser Blickrichtung gleichmäßig und trichterförmig von anterior nach posterior aus, wo es bei maximaler Ausdehnung abrupt endet.

Mit Ausnahme der hellgrün markierten Insel ITO9, die sich zwischen dem orange und dem grau markierten Segment befindet, verkürzen sich die ITOs in antero-posteriorer Richtung je weiter medial sie liegen. Das medial lokalisierte, bordeaux markierte Segment ITO8 hat die kürzeste antero-posteriore Ausdehnung.

Die Befunde aus 4.2.1.5. werden auch bei dieser Ansicht bestätigt.

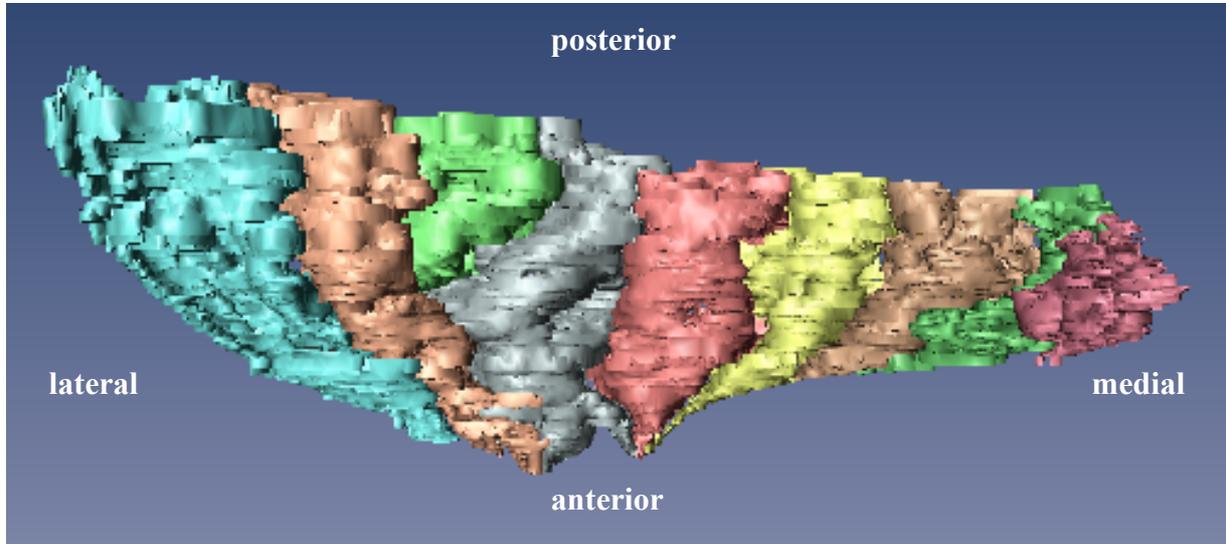


Abb. 31a Rekonstruktion der ITOs bei ungeglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von dorsal

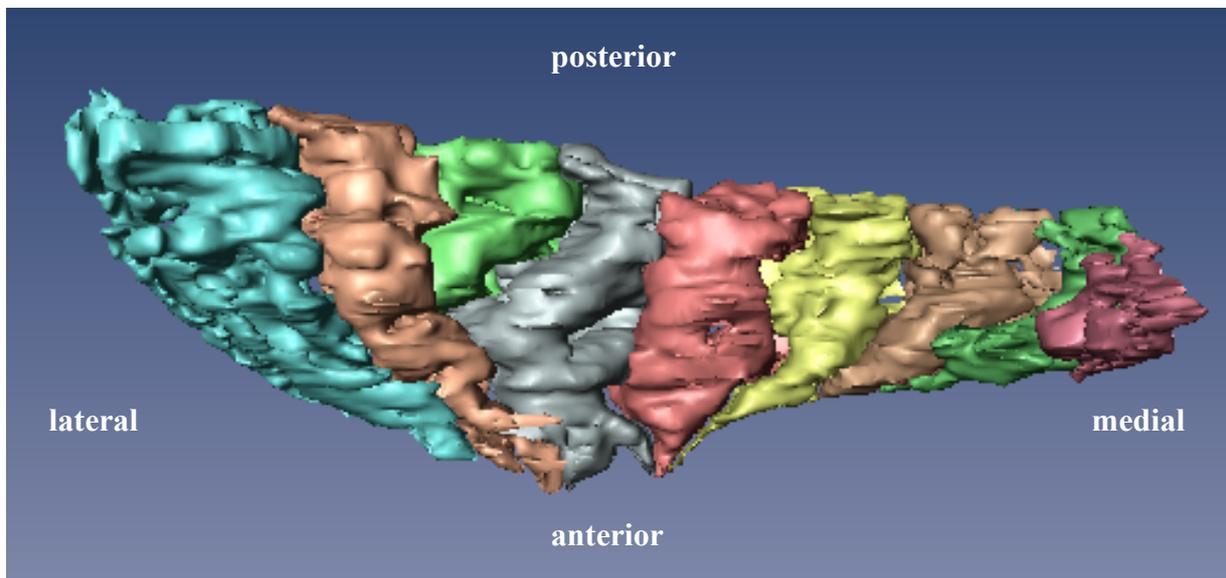


Abb. 31b Rekonstruktion der ITOs bei geglätteter Oberfläche bei einer Ansicht von dorsal

4.2.2. Segment ITO9

Sowohl bei der Ansicht von dorsal als auch bei der Ansicht von ventral imponiert in der hinteren Hälfte des segmentierten Tu das hellgrün markierte Segment ITO9, welches in der lateralen Hälfte des Tu zwischen den grau und orange markierten Segmenten ITO1 und ITO2 lokalisiert ist. Die Insel ITO9 verdient besondere Beachtung, da sie das einzige Segment ist, das innerhalb des immunreaktiv markierten Tu entstanden ist, und das keine direkte Beziehung zum vorderen Ende des Tu hat.

Die Insel ITO9 wird erstmals 4,02 mm vor dem Zentrum der ac angeschnitten und hat eine antero-posteriore Ausdehnung von ungefähr 3 mm. Die drei Abbildungen auf der folgenden Seite zeigen die frontal angeschnittene, hintere Hälfte des rekonstruierten Tu in einer Ansicht von schräg ventral. Die Schnittebenen bewegen sich in der Reihenfolge der Abbildungen von anterior nach posterior.

Auf Abb. 32a ist das hellgrün markierte Segment ITO9 noch nicht angeschnitten. Die Schnittebene liegt 4,34 mm vor dem Zentrum der ac. Die Glockenform der in der lateralen Hälfte des Tu liegenden grau und orange markierten Segmente ITO1 und ITO2 ist eindeutig zu erkennen. Die Kappen dieser Segmente umschließen die Basis bogenförmig und liegen einander an. Die der pialen Oberfläche aufliegenden Basis aller Segmente wird durch einen Spalt, der dem mittleren Zellband entspricht, von der Kappe getrennt.

Auf Abb. 32b liegen die Kappen der orange und grau markierten Segmente nicht länger einander an und sind durch ein hellgrün markiertes Areal voneinander getrennt, welches der ITO9 zugerechnet wird. Der Abstand dieser Schnittebene zum Zentrum der ac beträgt 3,78 mm. Auf dieser Schnittebene besitzt die ITO9 noch nicht die typische Glockenform. Die Schnittebene auf Abb. 32c liegt 3,34 mm vor dem Zentrum der ac. Es wird ersichtlich, dass zwischen den orange und grau markierten Segmenten ITO1 und ITO2 das hellgrün markierte Segment die typische Glockenform besitzt, wie sie auch bei den benachbarten Segmenten erkennbar ist. Eine Kappe umschließt die Basis bogenförmig und ist durch einen Spalt von ihr separiert.

Auf den Abbildungen wird deutlich, dass die hellgrün markierte Insel ITO9 erst in der hinteren Hälfte des Tu anhand der typischen Glockenform als eigenständiges Segment imponiert, und somit keine direkte Beziehung zum vorderen Ende des segmentierten Tu besitzt.

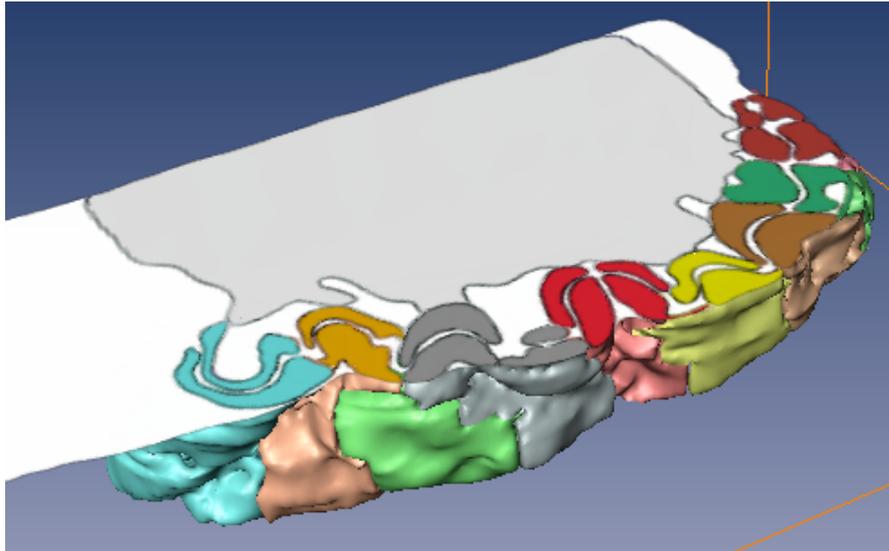


Abb. 32a Frontalschnitt durch das rekonstruierte Tu,
Abstand zum Zentrum der ac: 4,34 mm

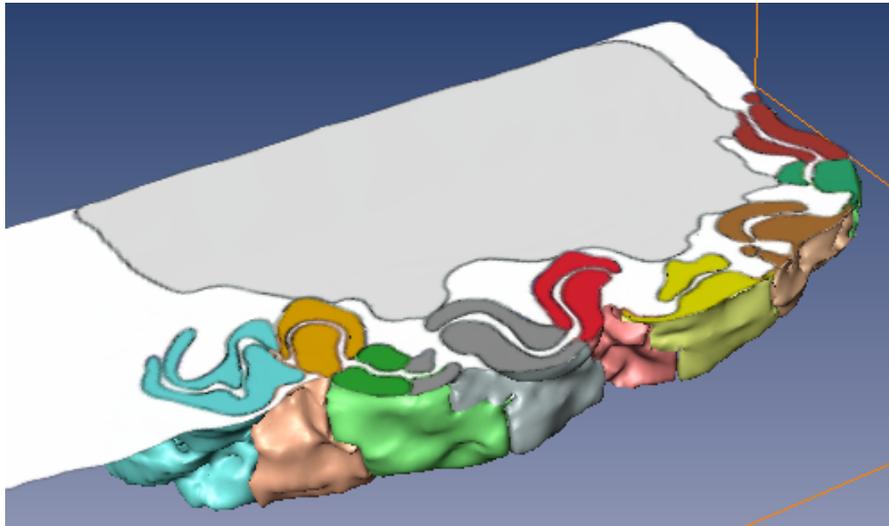


Abb. 32b Frontalschnitt durch das rekonstruierte Tu,
Abstand zum Zentrum der ac: 3,78 mm

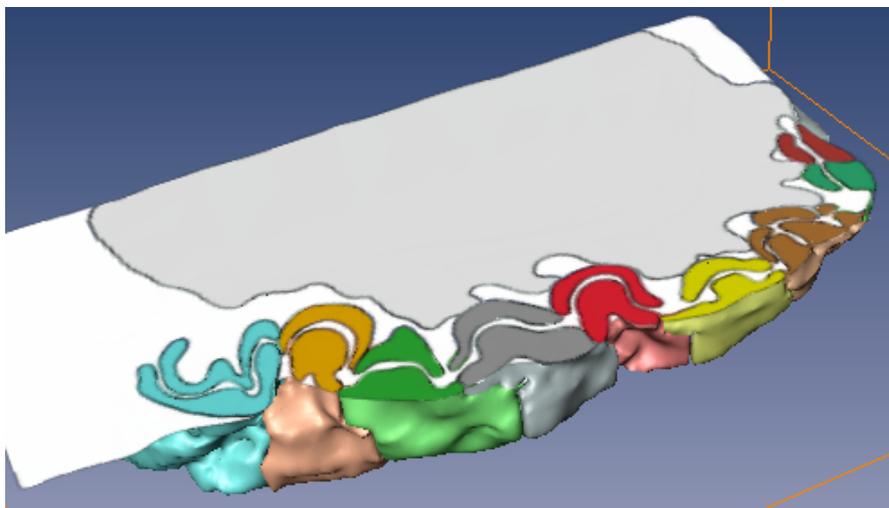


Abb. 32c Frontalschnitt durch das rekonstruierte Tu,
Abstand zum Zentrum der ac: 3,34 mm

4.2.3. Unterbrechungen in der Kontinuität der rekonstruierten ITOs

Auf den Abb. 30a und b ist bei einer Ansicht von ventral ein „Defekt“ in der Rekonstruktion des rot markierten Segments ITO3 zu erkennen, der eine genauere Betrachtung verdient. Auf den analysierten Lumogrammen wurden auch bei anderen Segmenten des Tu Unterbrechungen in der Kontinuität beobachtet (siehe Abb. 14a und b), so dass das rot markierte Segment ITO3 exemplarisch untersucht wurde.

Dafür wurden in der dreidimensionalen Rekonstruktion des Tu alle Strukturen bis auf das entsprechende Segment ausgeblendet. Letzteres wurde frontal angeschnitten und auf den folgenden Seiten dargestellt.

Abb. 33a stellt das Segment ITO3 bei einer Ansicht von dorsal dar. Im mittleren Drittel der rekonstruierten Kappe befindet sich eine ringförmige Unterbrechung (siehe Pfeil).

Auf Abb. 33b wird das rekonstruierte Segment ITO3 im Bereich der Unterbrechung frontal angeschnitten. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 4,34 mm. Die vordere Hälfte der Rekonstruktion ist ausgeblendet.

Die angeschnittene Rekonstruktion wurde auf Abb. 33c so gedreht, dass die Schnittebene betrachtet werden kann. Deutlich zu erkennen ist die Unterbrechung, die sowohl die Kappe als auch die Basis des Segments ITO3 betrifft. Betrachtet man das dem Segment ITO3 zugeordnete Areal im entsprechenden Lumogramm derselben Schnittebene (siehe Abb. 33d), wird ersichtlich, dass es sich hierbei um ein längs angeschnittenes Blutgefäß handelt, das für die Unterbrechung der Kontinuität im Segment ITO3 verantwortlich ist.

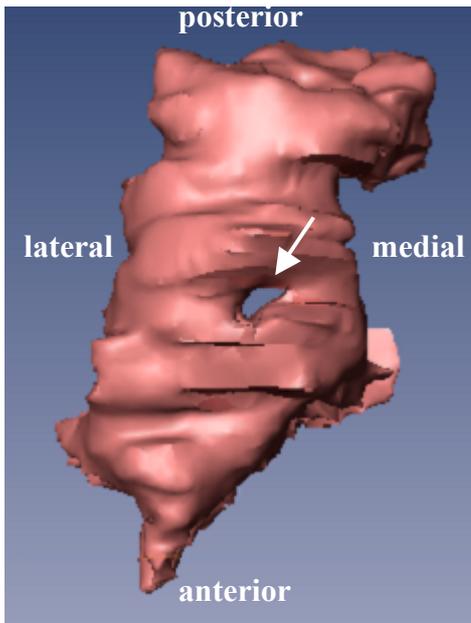


Abb. 33a

Rekonstruktion des Segments ITO3 bei einer Ansicht von dorsal auf die Kappe

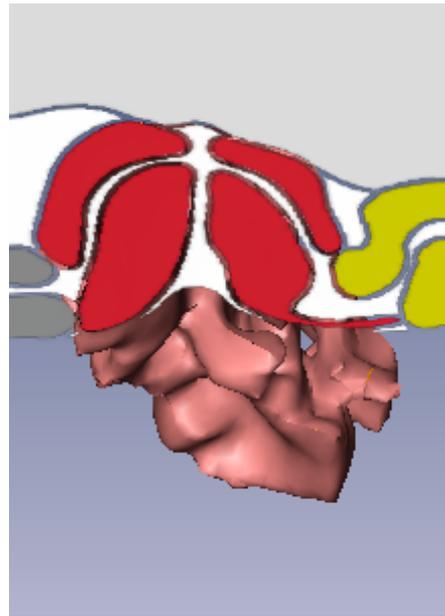


Abb. 33c

Frontalschnitt durch die Rekonstruktion der ITO3 bei einer Ansicht von schräg ventral mit eingeblendeter, hinterer Hälfte

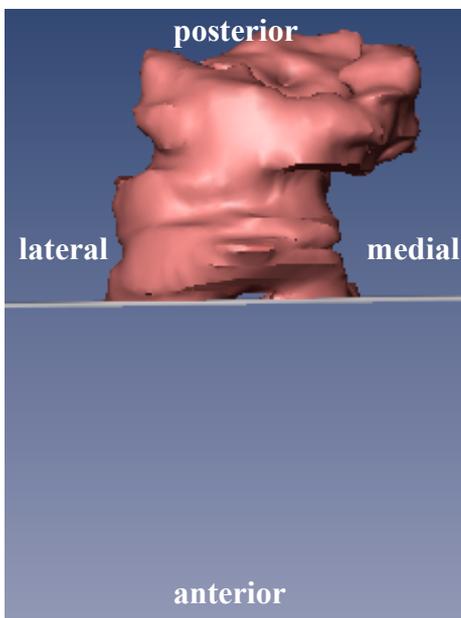


Abb. 33b

Frontaler Anschnitt durch das rekonstruierte Segment ITO3 mit ausgeblendeter vorderer Hälfte

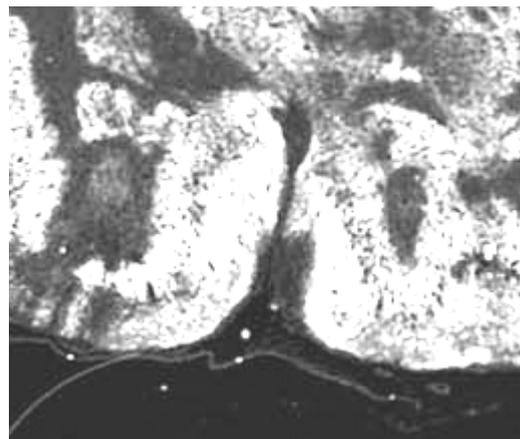


Abb. 33d

Ausschnitt aus dem Lumogramm 1148 im Bereich der immunreaktiv markierten ITO3

Abb. 34a zeigt die Rekonstruktion des roten Segments ITO3 bei einer Ansicht von ventral. Im medialen Anteil des mittleren Drittels ist in der Rekonstruktion ein relativ großer, struktureller „Defekt“ zu erkennen. Aus Abb. 30a und b ist ersichtlich, dass dieser „Defekt“ von einem Ausläufer des gelb markierten Segments ITO4 abgedeckt wird. Für eine bessere Übersicht wurden die Rekonstruktionen des Segments ITO4 und der übrigen Inseln des Tu ausgeblendet.

Auf Abb. 34b wird das rekonstruierte Segment ITO3 im Bereich der Unterbrechung frontal angeschnitten. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 3,8 mm. Die vor der Schnittebene liegende Hälfte der Rekonstruktion ist ausgeblendet.

Betrachtet man den frontalen Anschnitt im defekten Bereich (siehe Abb. 34c) und vergleicht diesen mit dem entsprechenden Lumogramm (siehe Abb. 34d), wird ersichtlich, dass die Basis des Segments ITO3 unter der medialen Hälfte der Kappe der pialen Oberfläche nicht aufliegt und an dieser Stelle durch eine fehlende IR imponiert.

Auf Abb. 34c und d wird deutlich, dass sich ein immunreaktiv markierter, dünner Ausläufer aus der Basis des gelb markierten Segments ITO4 entlang der pialen Oberfläche bis in den Bereich des strukturellen Defekts in der Basis der Insel ITO3 erstreckt. Die Rekonstruktion des Ausläufers aus Segment ITO4 deckt den Defekt in der Rekonstruktion der Basis der Insel ITO3 ab.

Somit kann in diesem Fall kein Blutgefäß für die Kontinuitätsunterbrechung im medialen Anteil des mittleren Drittels der ITO3 verantwortlich gemacht werden.

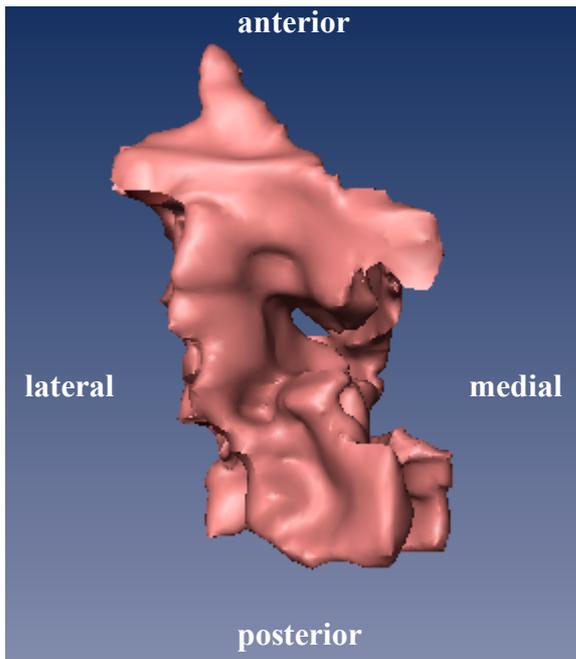


Abb. 34a
Rekonstruktion des Segments ITO3
bei einer Ansicht von ventral auf
die Basis

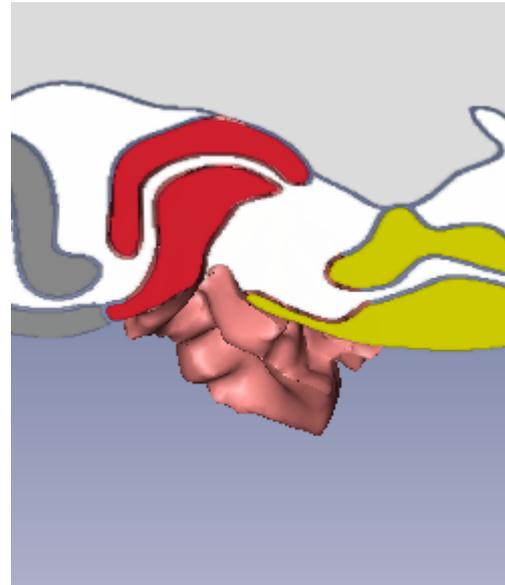


Abb. 34c
Frontalschnitt durch die Rekonstruktion
der ITO3 bei einer Ansicht von
schräg ventral mit eingeblendeter
hinterer Hälfte

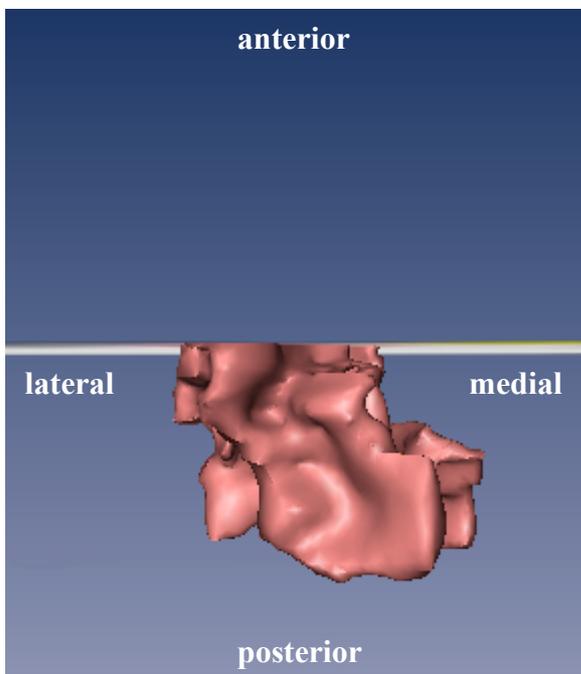


Abb. 34b
Frontaler Anschnitt durch das
rekonstruierte Segment ITO3 mit
ausgeblendeter vorderer Hälfte

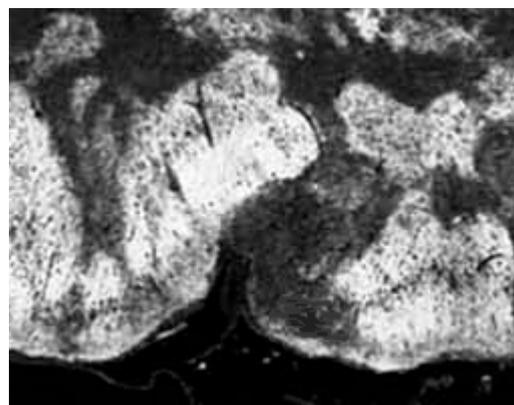


Abb. 34d
Ausschnitt aus dem Lumogramm 1174
im Bereich der immunreaktiv markierten
ITO3

4.2.4. Aufbau der ITOs

In der Analyse der Lumogramme (siehe 4.1.1.) wurden die ITOs als glockenförmige Elemente beschrieben, welche eine Gliederung in Basis, Zellband und Kappe zuließen.

Um zu sehen, ob dieser Befund nur auf die Frontalschnitte bzw. die Frontalebene zutrifft, wurde die Struktur der umzeichneten ITOs im Programm Amira über den Befehl „Ortho Slice“ in den anderen Ebenen weiter analysiert.

Für eine bessere Übersicht wurde zunächst exemplarisch das rot kodierte Segment ITO3 bei eingblendetem VStrF betrachtet. Hierbei waren alle anderen Segmente ausgeblendet. Anschließend wurden die anderen Segmente des Tu untersucht.

Auf Abb. 35 wird das rot markierte Segment ITO3 in einem frontalen Querschnitt dargestellt. Es handelt sich um die Umzeichnung aus dem Lumogramm 1188. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 3,54 mm. Die durch die ITO3 vertikal verlaufende Linie spiegelt die sagittale Schnittebene wieder, die der Abb. 36 zugrunde liegt. Die drei horizontal verlaufenden Linien a bis c entsprechen den Horizontalebene auf den Abb. 37 a bis c.

Die Kappe des Segments umschließt die der pialen Oberfläche aufliegende Basis bogenförmig und verleiht dem Segment eine glockenförmige Struktur. Das durch einen Spalt präsentierte Zellband separiert die Basis von der Kappe. Die Kappe zeigt eine direkte Beziehung zum Acb.

Auf Abb. 36 wird deutlich, dass die ITO3 auch in sagittaler Richtung bogenförmig gestaltet ist. Die Kappe umgreift auch hier die Basis und steht mit dem vorderen Anteil in direkter Beziehung zum Acb. Das mittlere Zellband orientiert sich nicht genau parallel zur pialen Oberfläche. Die drei horizontal verlaufenden Linien a bis c entsprechen den Horizontalebene auf den Abb. 37 a bis c.

Auf Abb. 37a ist die horizontal angeschnittene Kappe des Segments ITO3 zu erkennen. Sie wird vom angeschnittenen Acb teilweise umhüllt.

Die Horizontalebene auf Abb. 37b liegt weiter ventral als auf Abb. 37a. Sie verläuft durch das Zellband zwischen Basis und Kappe, das auf Abb. 37b als zentraler Spaltraum vom Querschnitt der Kappe umschlossen ist.

Auf Abb. 37c verläuft die Horizontalebene durch alle drei visuell abgrenzbaren Anteile des Segments, d.h. durch die Kappe, das mittlere Zellband und die Basis.

Das durch einen Pfeil markierte, ovale rote Areal entspricht der angeschnittenen Basis. Zirkulär um diesen Bereich erstreckt sich das mittlere Zellband, das die Basis von der aufliegenden Kappe separiert. Die Kappe umschließt die Basis auch bei dieser Ansicht.

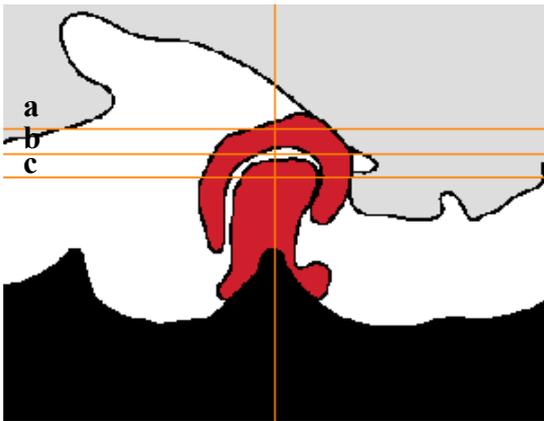


Abb. 35

Frontaler Querschnitt durch das Segment ITO3

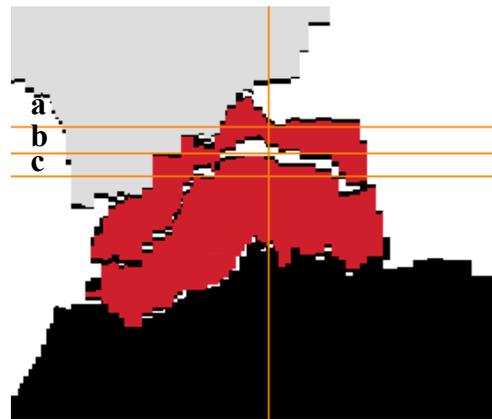


Abb. 36

Sagittaler Querschnitt durch das Segment ITO3

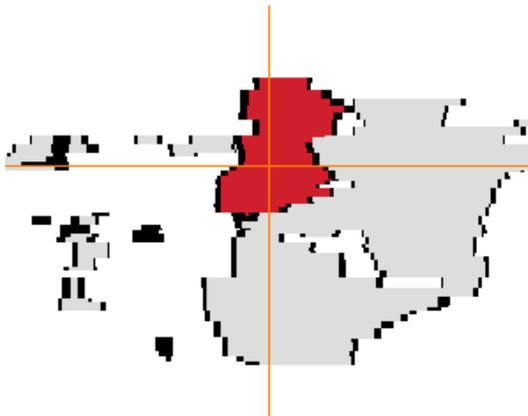


Abb. 37a

Horizontaler Querschnitt durch die Kappe des Segments ITO3

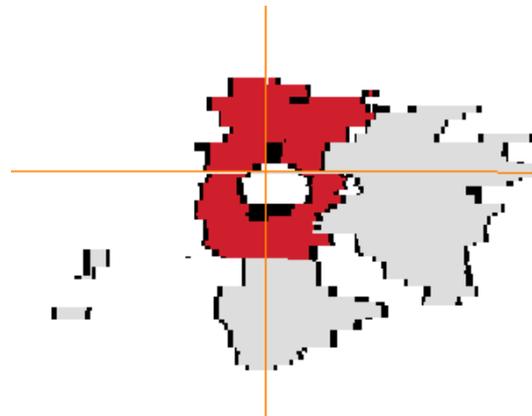


Abb. 37b

Horizontaler Querschnitt durch das mittlere Zellband und die Kappe der ITO3

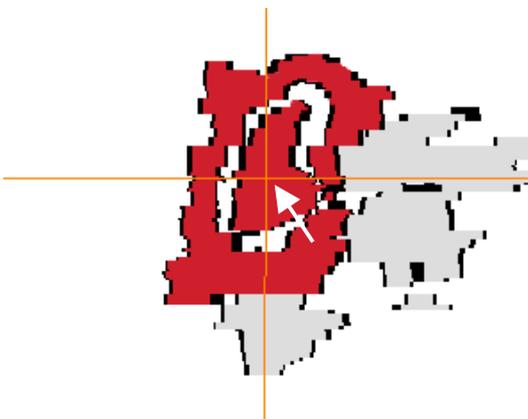


Abb. 37c

Horizontaler Querschnitt durch alle drei Anteile der ITO3, d.h. Kappe, Zellband und Basis

Abb. 38 stellt die Umzeichnung des segmentierten Tu sowie des VStrF, basierend auf dem Lumogramm 1223, in einem frontalen Querschnitt dar. Der Abstand zum Zentrum der ac beträgt 2,84 mm.

Die vertikal verlaufenden Linien a bis c spiegeln die sagittalen Schnittebenen wieder, die den Abb. 39 a bis c zugrunde liegen. Die horizontal verlaufenden Linien a und b entsprechen den horizontalen Querschnitten auf Abb. 40 a und b.

Die Gliederung der ITOs in Kappe, Zellband und Basiselement ist deutlich. Die typische Glockenform ist gut ausgeprägt. Der Acb steht in direkter Beziehung zu den medialen Segmenten des Tu.

Die sagittalen Querschnitte durch die hellblau, grau und gelb kodierten Segmente ITO 5, 1 und 4 auf den Abb. 39 a bis c bestätigen den Befund aus Abb. 36, dass die ITOs auch in sagittaler Richtung bogenförmig gestaltet sind. In allen drei Fällen verläuft das mittlere Zellband nicht parallel zur pialen Oberfläche. Das Segment ITO1 auf Abb. 39b zeichnet sich auf diesem Schnitt im Vergleich zu den anderen beiden Segmenten ITO 4 und 5 durch eine kompliziertere Struktur aus. Es setzt sich aus zwei glockenförmigen Elementen zusammen.

Auf Abb. 40a sind alle drei Anteile des orange kodierten Segments ITO2 horizontal angeschnitten. Benachbarte ITOs sind ausgeblendet. Medial ist das VStrF angeschnitten. Wie zuvor beim rot kodierten Segment ITO3 ergibt sich das typische Bild eines zentral liegenden Kerns, welcher dem Querschnitt der Basis entspricht, und eines zirkulär verlaufenden Spaltraums, der das mittlere Zellband repräsentiert. Diese Elemente sind von der Kappe umschlossen.

Dieser Befund gilt auch für die anderen Segmente des Tu. Auf Abb. 40b wird dies besonders bei den grau, rot, braun und hellgrün markierten, horizontal angeschnittenen Segmenten ITO 1, 3, 6 und 9 deutlich.

Die ITOs weisen in allen drei Ebenen die typische Gliederung in Kappe, mittleres Zellband und Basis auf. Durch den bogenförmigen Verlauf wird die Basis von der Kappe umschlossen, so dass die Glockenform entsteht. Das mittlere Zellband separiert dabei in allen drei Ebenen deutlich Kappe von Basis.

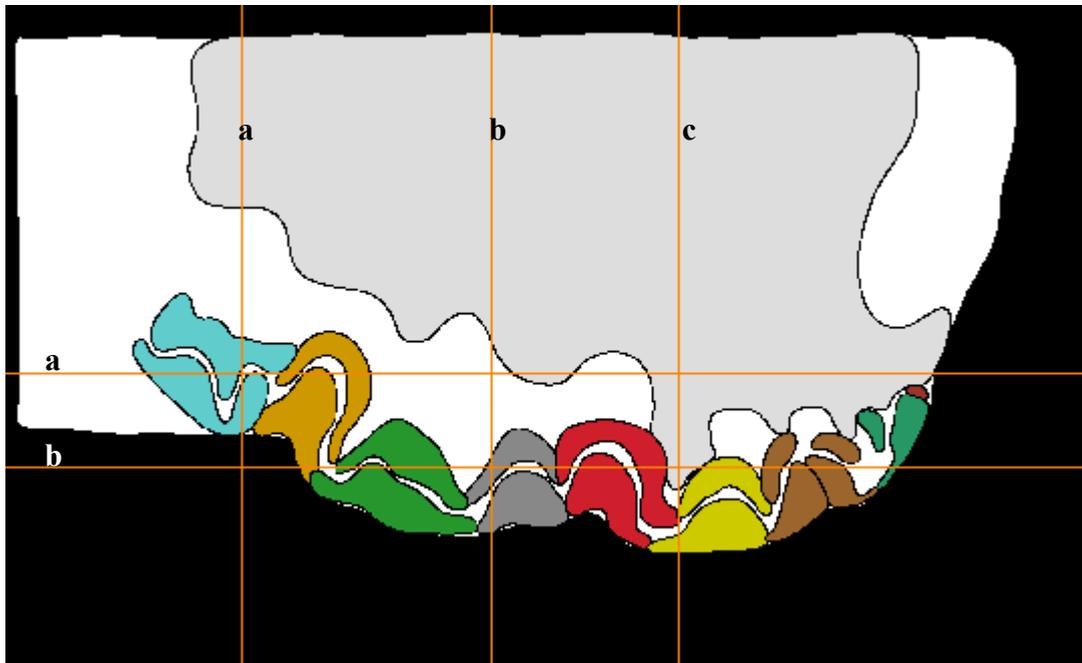


Abb. 38 Frontaler Querschnitt durch das segmentierte Tu und das VStrF

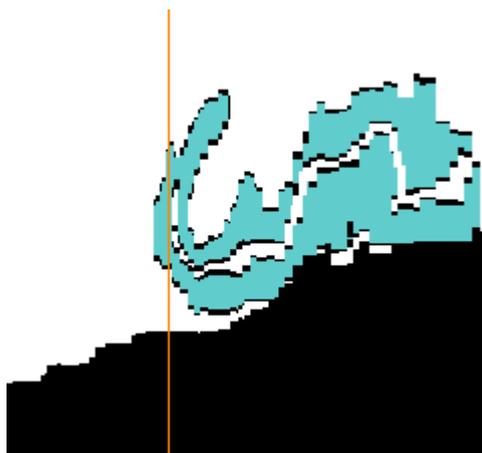


Abb. 39a
Sagittaler Querschnitt durch das
Segment ITO5

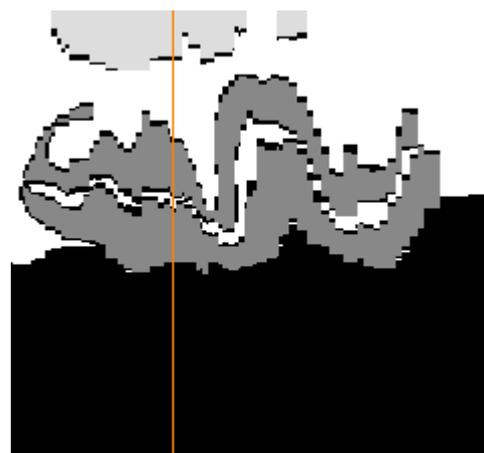


Abb. 39b
Sagittaler Querschnitt durch das
Segment ITO1

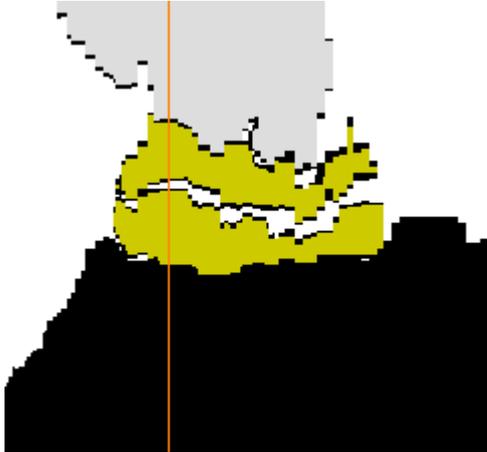


Abb. 39c
Sagittaler Querschnitt durch das
Segment ITO4



Abb. 40a
Horizontaler Querschnitt durch das
Segment ITO2

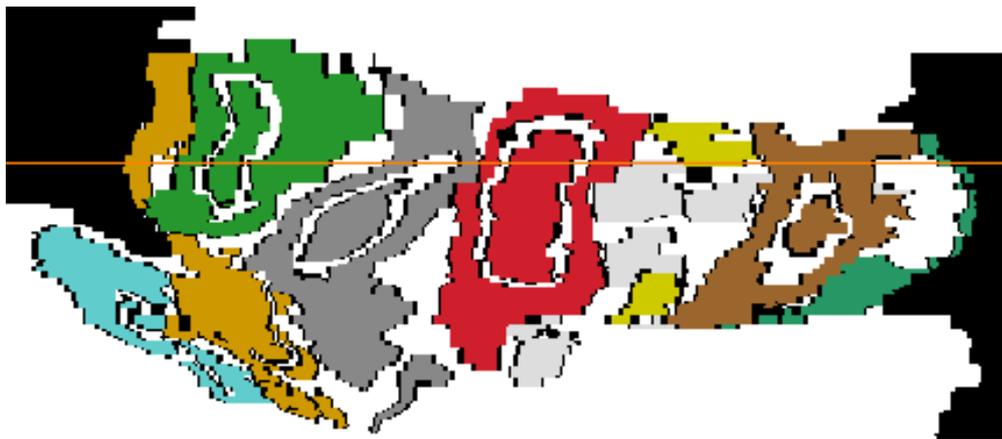


Abb. 40b Horizontaler Querschnitt durch das segmentierte Tu

4.3. Abmessungen des segmentierten Tuberculum olfactorium

4.3.1. Antero-posteriore Ausdehnung des CD15-immunreaktiven Tu

Die antero-posteriore Ausdehnung des CD15-immunreaktiven Tuberculum olfactorium (Tu) wurde durch Multiplikation der Schichtdicke mit der Anzahl der Schichten bestimmt.

Antero-posteriore Ausdehnung

- 20×10^{-3} mm (Schnittdicke)
- Anzahl der zu berücksichtigenden Schnitte
= 1338 (Nr. des letzten Schnitts, auf dem ein Segment des Tu nachgezeichnet wurde) – 1012 (Nr. des ersten bearbeiteten Schnitts)
= 326

Die antero-posteriore Ausdehnung aller ITOs beträgt: 20×10^{-3} mm x 326 = **6,52 mm**.

Der Schrumpfungsfaktor von ca. 50% ist nicht berücksichtigt. Der Wert der antero-posterioren Ausdehnung bezieht sich daher auf die in Paraffin eingebetteten und geschrumpften Schnitte.

4.3.2. Berechnung der Oberfläche und des Volumens

Das in 3.7.5. beschriebene Polygonmodell jeder generierten dreidimensionalen zerebralen Struktur besteht aus Punkten und Flächen. Die Aussenhülle des Polygonmodells, die aus den Begrenzungen der zerebralen Strukturen resultierte, ist in kleine Dreiecke aufgeteilt (siehe Abb. 6a).

Die Anzahl der Punkte aller dargestellten dreidimensionalen Strukturen beträgt 157247, während die Anzahl der Flächen 319593 beträgt. Daraus wird ersichtlich, dass das Verhältnis zwischen Punkten und Flächen annähernd 1:2 ist.

Das Modul „CalcAreaVolume“ der Software Amira berechnete sowohl die Oberfläche als auch das Volumen jeder dreidimensionalen Struktur. Da die Oberflächenwerte und Volumina von der Anzahl der durchgeführten Glättungen und dem damit resultierenden veränderten Oberflächenverlauf abhängig sind, werden die entsprechenden Werte von

ungeglätteten, dreidimensionalen Rekonstruktionen in Tabelle 2 mit denen von 40 Glättungen in Tabelle 3 verglichen.

In Tabelle 2 und 3 steht unter „ITO“ die Kennzeichnung jedes Segments des Tu. Die Kennzeichnung enthält die Information über die Farbe der generierten dreidimensionalen Struktur, sowie über die Reihenfolge, in der die ITOs von anterior nach posterior erstmals auftauchen.

Unter „Triangles“ ist die Anzahl der Dreiecke angegeben, aus denen sich das Polygonmodell jeder zerebralen Struktur zusammensetzt. Sie ist unabhängig von den Glättungen.

„Area“ steht für Oberfläche und gibt diese in Pixel^2 an. Der korrespondierende Wert in mm^2 ist unter „Area2“ eingetragen.

Bei „Volume“ ist das Volumen der jeweiligen dreidimensionalen Struktur abzulesen. Die verwendete Einheit ist hierbei Pixel^3 . Unter „Volume2“ ist das Volumen in mm^3 eingetragen.

ITO	Triangles	Area / pix ²	Area2 / mm ²	Volume / pix ³	Volume2 / mm ³
ITO 1 grau	34120	284599	113,84	1,85404 x 10 ⁶	14,832
ITO 2 orange	38360	328208	131,283	1,6024 x 10 ⁶	12,819
ITO 3 rot	26114	228315	91,326	1,43927 x 10 ⁶	11,514
ITO 4 gelb	19738	172064	68,826	907889	7,263
ITO 5 hellblau	52720	466183	186,473	2,15501 x 10 ⁶	17,24
ITO 6 braun	20302	172175	68,87	902871	7,223
ITO 7 grün	12848	121439	48,576	613385	4,907
ITO 8 bordeaux	12904	107371	42,948	482433	3,86
ITO 9 hellgrün	15798	153705	61,482	1,08479 x 10 ⁶	8,678
Summe	232904	2,034 x 10⁶	813,624	11,042 x 10⁶	88,336

Tab. 2: Oberflächenwerte und Volumina der dreidimensionalen, rekonstruierten Segmente des Tu bei ungeglätteter Oberfläche
(Einheiten: Area in Pixel², Area2 im mm², Volume in Pixel³, Volume2 in mm³)

ITO	Triangles	Area / pix ²	Area2 / mm ²	Volume / pix ³	Volume2 / mm ³
ITO1 grau	34120	225729	90,292	1,82905 x 10 ⁶	14,632
ITO2 orange	38360	235730	94,292	1,564 x 10 ⁶	12,512
ITO3 rot	26114	175149	70,06	1,43891 x 10 ⁶	11,511
ITO4 gelb	19738	128240	51,296	894564	7,157
ITO5 hellblau	52720	334926	133,97	2,08574 x 10 ⁶	16,686
ITO6 braun	20302	129241	51,696	893999	7,152
ITO7 grün	12848	91942,2	36,777	591501	4,732
ITO8 bordeaux	12904	79987,9	31,995	474091	3,793
ITO9 hellgrün	15798	116165	46,466	1,05495 x 10 ⁶	8,44
Summe	232904	1,517 x 10⁶	606,844	10,827 x 10⁶	86,615

Tab. 3: Oberflächenwerte und Volumina der dreidimensionalen, rekonstruierten Segmente des Tu bei geglätteter Oberfläche mit 40 Iterationen (Wiederholungen)
(Einheiten: Area in Pixel², Area2 im mm², Volume in Pixel³, Volume2 in mm³)

Die Anzahl der Dreiecke, aus denen sich die Polygonmodelle der dreidimensional rekonstruierten zerebralen Strukturen zusammensetzen, sowie die Anzahl der Punkte und Flächen aller dargestellten dreidimensionalen Strukturen, bleiben, unabhängig von der Glättung, konstant.

Die Oberflächenwerte und Volumina der Polygonmodelle der segmentierten zerebralen Strukturen zeigten nach der Glättung deutliche Unterschiede (siehe Tab. 4).

ITO	Wert nach 40 Glättungen im Vergleich zum Wert ohne Glättung	
	Oberfläche	Volumen
ITO1 grau	- 20,69 %	- 1,35 %
ITO2 orange	- 28,18 %	- 2,4 %
ITO3 rot	- 23,29 %	- 0,03 %
ITO4 gelb	- 25,47 %	- 1,46 %
ITO5 hellblau	- 28,16 %	- 3,21 %
ITO6 braun	- 24,94 %	- 0,98 %
ITO7 grün	- 24,3 %	- 3,57 %
ITO8 bordeaux	- 25,5 %	- 1,74 %
ITO9 hellgrün	- 24,42 %	- 2,74 %
Durchschnitt	- 25,42 %	-1,95 %

Tab. 4: Oberflächenwerte und Volumina der dreidimensional rekonstruierten Segmente des Tu bei 40 Glättungen im Vergleich zu den entsprechenden Werten bei ungeglätteter Oberfläche

Alle Polygonmodelle der dreidimensional rekonstruierten Segmente des Tu hatten ungeglättet die größte Oberfläche. In der Summe hat das generierte dreidimensionale Modell aller ITOs eine Oberfläche von 813,624 mm². Bei einer Glättung mit 40 Iterationen reduzierte sich der Wert für die Oberfläche um durchschnittlich 25,42 % (z.B. bei ITO4 von 68,826 mm² auf 51,296 mm² bei 40 Iterationen). Der Oberflächenwert des Segments ITO1 wurde am wenigsten reduziert (- 20,69 %), während der Oberflächenwert des Segments ITO2 am stärksten reduziert wurde (- 28,18 %).

Genauso wie die Oberfläche hatte auch das Volumen der Polygonmodelle ohne Glättung den größten Wert. Summiert man alle Volumina der ungeglätteten dreidimensionalen Modelle der ITOs des Tu, so erhält man den Wert 88,336 mm³. Nach 40 Glättungen verringerte sich bei der Berechnung das Volumen gegenüber den Vergleichswerten bei den Rekonstruktionen ohne Glättung um durchschnittlich 1,95 %. Das Volumen des

dreidimensionalen Gittermodells der ITO3 nahm am wenigsten ab (- 0,03 %), während das Volumen des Polygonmodells der ITO7 am meisten abnahm (- 3,57 %).

Vergleicht man die Volumina der dreidimensionalen, rekonstruierten ITOs bei ungeglätteter Oberfläche miteinander, so stellt man fest, dass die lateral liegende ITO5 das größte Volumen besitzt (17,24 mm³).

Obwohl die ITO9 erst 4,02 mm vor dem Zentrum der ac angeschnitten wird, besitzt sie weder die kleinste antero-posteriore Ausdehnung noch das kleinste, errechnete Volumen. Die ITO8, die 5,02 mm vor dem Zentrum der ac und somit 1 mm vorher angeschnitten wird, hat die kleinste antero-posteriore Ausdehnung und besitzt das kleinste, errechnete Volumen von 3,86 mm³.

Für die ITOs gilt, dass das Volumen von der antero-posterioren Ausdehnung abhängig ist. So besitzen Segmente mit größerer Distanz zum Zentrum der ac ein größeres Volumen als erst weiter hinten angeschnittene Segmente. Wie oben beschrieben bilden die ITO5 und die ITO9 hierbei eine Ausnahme. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass die ITO5 am stärksten von der typischen Glockenstruktur der ITOs abweicht (siehe 4.1.2.).

Es wurde bereits festgestellt, dass zwischen den lateralen Inseln (ITOs 1, 2, 3, 5 und 9) und den medialen Inseln (ITOs 4, 6, 7 und 8) ein deutlicher Gradient erkennbar ist (siehe 4.1.2.). Im Vergleich mit den lateralen ITOs bestehen die medialen Inseln durch eine schwächere CD15-IR und deutliche Unterbrechungen. Mit Hilfe der Software Amira konnte untersucht werden, wie sich die Volumina zwischen den medialen und den lateralen ITOs bei ungeglätteter Oberfläche unterscheiden.

Die lateralen Inseln haben ein errechnetes Gesamt-Volumen von 65,083 mm³ bei einem durchschnittlichen Einzel-Volumen von 13,017 mm³. Die medialen Inseln besitzen ein wesentlich kleineres, errechnetes Gesamt-Volumen von 19,779 mm³ bei einem durchschnittlichen Einzel-Volumen von 5,813 mm³. Erklärungen für diesen Umstand sind:

1. die geringere antero-posteriore Ausdehnung der medialen Inseln
2. die zahlreichen Unterbrechungen innerhalb der ITOs der medialen Inseln
3. die geringere Anzahl der Segmente.

Somit wird deutlich, dass zwischen den medialen und den lateralen Inseln des immunreaktiv markierten Tu sowohl Unterschiede in der CD15-Expression als auch in der Morphologie bestehen.

5. Diskussion

Das Tuberculum olfactorium (Tu) stellt ein Areal in der Übergangsregion von orbitofrontalem und medialem temporalem Kortex einerseits und basalen Vorderhirnkernen andererseits dar. Aufgrund seiner schwierigen Abgrenzbarkeit, der strukturellen Unterschiede bei verschiedenen Spezies und der sehr unterschiedlichen, funktionellen Konzepte ist seine Rolle auch heute noch weitgehend unklar (Talbot et al., 1988).

Ziel dieser Arbeit war es, das Tu und seine dank der CD15-Immunreaktivität (IR) erkennbaren Subareale zu segmentieren, gegenüber den Nachbarschaftsstrukturen abzugrenzen und dreidimensional zu rekonstruieren.

Wegen der hohen Schnittdichte und den entsprechend hohen Schnittzahlen wurde diese Untersuchung an nur einer Schnittebene durchgeführt. Die Zwischenschnitte wurden zum Nachweis anderer Antigene (siehe Tab. 1) verwendet.

5.1. Das CD15-Epitop

Für die chemoarchitektonische Analyse des Tu des erwachsenen Hundes wurden im Rahmen dieser Arbeit verschiedene Antikörper verwendet. Die Auswahl der Antikörper richtete sich danach, ob sich das Tu aufgrund seiner IR von Nachbarschaftsstrukturen abgrenzen ließ und ob im Expressionsmuster Hinweise für die Binnengliederung des Tu vorlagen. Unter diesen verschiedenen Antikörpern zeigte derjenige, der gegen das CD15-Epitop [Synonyme: Trisaccharid 3(α)-Fucosyl-N-Acetyl-lactosamin (FAL), X-hapten, Le^x, Lacto-N-Fucopentose III (Mai et al., 1999; Mai, 2002)] gerichtet war, die informativsten Befunde.

Ursprünglich ist die Gruppe von Antikörpern, die spezifisch an das Trisaccharid 3(α)-Fucosyl-N-Acetyl-lactosamin binden, von den „International Leucocyte Typing Workshops“ im „Cluster of Differentiation 15 (CD15)“ zusammengefasst worden (Skubitz et al., 1989). In der vorliegenden Arbeit beziehen sich die Begriffe „CD15“ und „CD15-Epitop“ nicht auf den Antikörper, sondern auf das o.g. Trisaccharid.

Das CD15-Epitop bildet die distale Kohlenhydratsequenz von Glycoproteinen und Glycolipiden. Es spielt als Mediator zwischen den Molekülen (Kornfeld und Kornfeld, 1976 und 1985; Hakomori, 1981; Feizi, 1985; Bourrillon und Aubery, 1989), bei Zellerkennungs- und bei Zell-Zell-Adhäsionsprozessen eine große Rolle (Sharon, 1980; Rauvala, 1983; Edelman, 1983 a, b und 1992; Rutishauser, 1983; Yamamoto et al., 1985; Jessel et al., 1990).

Das CD15-Epitop konnte im Rahmen zahlreicher Studien in neuronalem Gewebe nachgewiesen werden (Reifenberger et al., 1987; Mai und Reifenberger, 1988; Bartsch und Mai, 1991; Gocht, 1993; Andressen und Mai, 1995; Andressen et al., 1998; Arnhold et al., 2001). Am olfaktorischen System wurde mit Hilfe der CD15-IR die Entwicklung olfaktorischer Strukturen untersucht (Plank und Mai, 1992; Andressen et al., 1998; Arnhold et al., 2001). Die daraus gewonnenen Befunde spielen für diese Arbeit allerdings keine Rolle. Eine genaue Untersuchung der zentralen olfaktorischen Strukturen, insbesondere des primären Riechkortex, steht noch aus.

5.2. Organisation und Rekonstruktion des Tu

Im Rahmen der Analyse der CD15-IR gelang es erstmals das Tu des Hundes gegenüber den Nachbarschaftsstrukturen abzugrenzen und seinen Strukturaufbau genauer zu untersuchen. Es zeigte sich eine stereotype Binnengliederung in neun sog. Inseln. Ihre Segmentierung und dreidimensionale Rekonstruktion lieferte neben dem Nachweis der Stereotypie im Aufbau des Tu des Hundes auch neue Befunde zur räumlichen Ausdehnung der Inseln und der Beziehungen zu benachbarten zerebralen Strukturen (s.u.).

Voraussetzung hierfür war, dass in die Generierung des 3D-Modells neben den neun Inseln des Tu das ventrale striatale Feld (VStrF) einbezogen wurde. Dieses umfasst Nucleus accumbens (Acb), Capsula interna (ic), Nucleus caudatus (Cd), Globus pallidus (GP), ICjM (Insula Calleja Magna), Pu (Putamen), substriatale Inseln (SStr) und die vordere Kommissur (ac).

Die Rekonstruktion des Tu setzte sich aus 326 Schnitten mit einer Dicke von jeweils 20 µm zusammen. Dies entspricht einer antero-posterioren Ausdehnung von 6,52 mm. Der Schrumpfungsfaktor von ca. 50 % nach Paraffin-Einbettung wurde hierbei nicht berücksichtigt.

Die medio-laterale Segmentierung des immunreaktiv markierten Tu erfolgte visuell aufgrund von immunhistochemischen Kontrasten und Strukturunterschieden im CD15-Bild und im Synaptophysin-Bild. Das immunreaktive Material stellte sich in sehr charakteristischen, reiterierenden Mustern dar, so dass zwischen der pialen Oberfläche und dem ventralen Striatum (VStr) neun glockenförmige Elemente gleichartigen Aufbaus beschrieben wurden.

Die neun glockenförmigen Elemente wurden entsprechend dem Auftreten in antero-posteriorer Richtung mit der Benennung *Insulae terminales olfactoriae* 1-9 (ITO 1-9) versehen (siehe Abb. 16a). Das am weitesten lateral gelegene Segment ITO5 bildete hinsichtlich seiner

Struktur eine Ausnahme, da es am stärksten von der Glockenform abwich (siehe Abb. 13 a und b).

Die mittels der CD15- und Synaptophysin-IR erkennbaren Strukturen, d.h. ihre glockenförmige Organisation, entspricht den Befunden, die in Nissl-gefärbten Frontalschnitten des Tu bei der Katze erhoben wurden (siehe Abb. 1 bei Talbot et al., 1988). Dort resultiert diese Gliederung aus Unterbrechungen in Lamina II und III, die durch eingelagerte Körnerzell-Cluster und suprainkulare Zonen verursacht wurden. In den suprainkularen Zonen in Lamina III wurden sog. Satelliten-Neurone und Fasern aus dem GP nachgewiesen (Talbot et al., 1988).

Jedes einzelne glockenförmige Element konnte aufgrund unterschiedlicher Expressionsmuster im CD15- und Synaptophysin-Bild in eine Basis, ein mittleres Zellband und eine Kappe gegliedert werden. Dadurch wurde erstmalig eine klare Organisation des Tu beim Hund deutlich.

Weitere Befunde hinsichtlich der Struktur des Tu des Hundes und der räumlichen Ausdehnung der ITOs erhielt man durch die dreidimensionale Rekonstruktion.

Es handelt sich beim Tu des Hundes um eine klar organisierte, in neun Inseln gliederbare Struktur, die einen geschlossenen, einheitlichen Charakter besitzt.

Ramón y Cajal (1904) und Herrick (1924) beschrieben das Tu als erhabene, ovale Struktur. Dieser Befund bezog sich lediglich auf die Vorwölbung an der Basis der Großhirnoberfläche. Ramón y Cajal (englische Übersetzung von 1955) teilte das Tu in drei rostro-kaudale Abschnitte, die jeweils in einen medialen, intermediären und lateralen Teil unterteilt wurden. Die Zugehörigkeit des kaudalen Abschnitts zum Tu ist fraglich, da dieser Abschnitt dem horizontalen Schenkels des Kerns des diagonalen Bands (db) zuzurechnen ist (Humphrey, 1936; Fox, 1940; Crosby und Humphrey, 1941; Stephan, 1975). Die Aufteilung des Tu von Ramón y Cajal wurde von zahlreichen Autoren in ihren Studien übernommen (Loo, 1931; Humphrey, 1936; Young, 1936; Fox, 1940; Schnitzlein, 1966). Die Relevanz dieser Aufteilung für die Organisation des Tu ist anzuzweifeln.

Zahlreiche Autoren haben das Tu des Menschen aufgrund von Strukturdifferenzen in einen rostralen (Tol1), mittleren (Tol2) und kaudalen (Tol3) Bezirk gegliedert (Popoff und Popoff, 1929; Rose, 1929; Crosby und Humphrey, 1941). Im 3D-Modell des Tu des Hundes lagen dagegen keine Hinweise dafür vor, dass eine antero-posteriore Gliederung des Tu aufgrund von Strukturdifferenzen vorgenommen werden kann.

Meyer und Wahle (1986) und Wahle und Meyer (1986) teilten das Tu der Katze in einen kortikalen Teil und eine Kappen-/ Hilus-Region auf. Der von Meyer und Wahle verwendete

Begriff „Kappen-Region“ entspricht nicht dem in dieser Arbeit verwendeten Begriff „Kappe“, der sich auf die glockenförmigen Elemente bezieht und in der Lamina III liegt. Die Kappen-Region bei Meyer und Wahle umfasst ein Areal aus Pyramidenzellen, Zwergzellen und Körnerzell-Clustern, die mit mittelgroßen und großen Neuronen assoziiert sind. Die Anzahl der Kappen-Regionen beläuft sich beim Hasen auf 3-4, bei der Katze und beim Igel auf 8-9 (Meyer et al., 1989). Die Lage der Kappen-Regionen ist nicht genau definiert, so dass die von Meyer und Wahle (1986) und Wahle und Meyer (1986) vorgenommene Gliederung des Tu keinen direkten Vergleich mit den Befunden in dieser Arbeit zulässt.

Bei einer Ansicht des 3D-Modells von ventral und dorsal wurde deutlich, dass sich das segmentierte Tu trichterförmig nach hinten ausweitet. Wie auf den von Singer (1961) publizierten Horizontalschnitten verdeutlicht ist der hintere Abschluss des Tu beim Hund abrupt. Die hintere Begrenzung liegt in einem Winkel von ca. 10° zur frontalen Schnittebene (siehe Abb. 30 a und b).

Der seitliche Rand des segmentierten Tu ist breitflächig und wird von einem längsovalen Abschlusselement gebildet. Dies steht in deutlichem Unterschied zum medialen Rand, wo das Abschlusselement zipfelförmig nach dorsal ausgezogen erscheint (siehe Abb. 27a und 29a).

Mit Ausnahme der Insel ITO9, die komplett in der hinteren Hälfte des Tu liegt und als einzige Insel keinen Bezug zum vorderen Tu hat, nimmt die antero-posteriore Ausdehnung der ITOs ab je weiter medial die Inseln liegen.

Innerhalb des segmentierten Tu des Hundes wurde ein medio-lateraler Gradient deutlich (siehe 5.7.). Im Vergleich mit dem lateralen Teil des Tu fiel der mediale Teil durch eine schwächere CD15-IR und deutliche Unterbrechungen zwischen den ITOs auf, was jedoch nicht das Bild einer einheitlichen Struktur beeinträchtigt. Die Unterbrechungen waren innerhalb der ITOs und zwischen den ITOs zu erkennen. Einige Unterbrechungen in der Kontinuität der ITOs wurden durch Blutgefäße verursacht. In anderen Fällen war keine Ursache zu erkennen (siehe Abb. 33d und 34d). Meyer et al. (1989) beschrieben Unterbrechungen im Tu, die durch eintretende Blutgefäße aus der Arteria cerebri anterior, der Arteria communicans anterior und der Arteria cerebri media verursacht wurden. Die Unterbrechungen wurden besonders im lateralen Teil des Tu beobachtet. Dies steht im Gegensatz zu den Befunden aus dem CD15-Bild beim Hund, in dem vor allem im medialen Teil des Tu penetrierende Blutgefäße auffällig waren.

Die dreidimensionale Rekonstruktion des Tu lieferte auch neue Informationen über die Lagebeziehung des Tu zu benachbarten Strukturen.

Die Abgrenzung des Tu von seiner Umgebung ist weitgehend unstrittig. Seine rostrale Begrenzung wird durch den Nucleus olfactorius anterior (AO) (Millhouse und Heimer, 1984) bzw. das Trigonum olfactorium (OTr) (Meyer et al., 1989) bestimmt. Der piriforme Kortex (Pir) stellt die laterale Begrenzung des Tu dar. Die mediale Begrenzung wird durch die Taenia tecta (TT), das Septum pellucidum (SP) und das db gebildet (Rose, 1929). Die dorsale Begrenzung des Tu erweist sich aufgrund von Zellbrücken zwischen dem Acb und dem Tu als schwierig (Millhouse und Heimer, 1984).

Die bislang bei Säugern publizierten Arbeiten zur Organisation des Tu bezogen sich meist auf das Tu selbst (Meyer und Wahle, 1986). Das Expressionsmuster von CD15 zeigte demgegenüber ausgeprägte systematische Beziehungen zwischen den ITOs und dem medialen und lateralen Acb (siehe Abb. 16a und b). Diese Beziehung erfolgt über die Zwischenzone, die die Lamina III und das VStr verbindet. In diesem von Talbot et al. (1988) als supratuberkuläre Zone bezeichneten Areal wurden von mehreren Autoren Zellbrücken zwischen VStr und Tu beschrieben (Obenchain, 1925; Rose, 1926; Humphrey, 1936; Young, 1936; Fox, 1940). Diese Zellbrücken entsprechen Acetylcholinesterase-positiven Verbindungen („Pencils of Wilson“) (Wilson, 1972; Heimer und Wilson, 1975). In dieser Arbeit wurde eine Kolokalisation der Zellbrücken mit CD15-positivem Material nicht untersucht. In der vorliegenden Studie zeigte sich eine zunehmend verminderte Ausdehnung der supratuberkulären Zone von rostralen zu kaudalen Abschnitten. Im hinteren Bereich erscheint die ventrale Begrenzung des rekonstruierten Acb weitgehend vom Tu abgehoben.

5.3. Schichten innerhalb des Tu

Die zytologische Untersuchung ergab, dass die in dieser Arbeit beschriebene Gliederung des Tu in Basis, mittleres Zellband und Kappe den drei Zellschichten der Rinde des Tu entspricht: Molekulare Schicht (Lamina I), Pyramidenzellschicht (Lamina II) und multiforme Schicht (Lamina III) (Ramón y Cajal, 1904; Krieger, 1977, 1980 und 1983; Solano-Flores et al., 1980; Josephson et al., 1997). Diese Schichtung ist für den primären olfaktorischen Kortex (Olf) typisch (Price, 2004).

Bei allen im CD15-Bild trilaminaren ITOs liegt die Basis in Lamina I. Ab 6,14 mm vor dem Zentrum der ac liegen mit Ausnahme des lateralen Segments ITO5, das dem Tractus olfactorius lateralis (lo) teilweise anliegt, alle Segmente der pialen Oberfläche breitbasig auf.

Im Gegensatz zum zytologischen Befund ist die Basis im CD15-Bild nicht homogen, sondern weist auf vielen Schnittebenen eine Gliederung auf, die durch zwei Schichten unterschiedlicher IR geprägt ist. Eine Zweischichtung in der Lamina I des Tu wurde auch von Josephson et al. (1997) beschrieben, die die molekulare Schicht in Lamina IA und IB teilten. Der strukturelle Hintergrund für die von Josephson et al. (1997) vorgenommene Gliederung der Lamina I ist unklar.

Aus dem Synaptophysin-Bild (siehe Abb. 24) lässt sich ableiten, dass in der Lamina I eine Synapsenzone vorliegt, über die Fasern aus dem lo mit der Lamina II in Verbindung stehen. Im MBP-Bild (siehe Abb. 23) ist in der Basis eine Vierschichtung zu erkennen. Die ITOs sind von stark immunreaktiven Markfasern aus dem lo, die sich bis zur medialen Hemisphärenwand erstrecken, unterfüttert. Neben dieser pianahen, stark immunreaktiven Schicht liegt im Bereich der Basis noch eine weitere MBP-positive Schicht vor (siehe Pfeil auf Abb. 23), in der Fasern aus dem lo über eine Synapsenzone (s.o.) mit der Lamina II in Verbindung stehen (siehe 5.9.).

Das mittlere Zellband wird von der Lamina II, zwischen Basis und Kappe gelegen, gebildet. Auf vielen Schnittebenen ist es durch dünne, radiale Streifen aus Basis und Kappe stellenweise unterbrochen. Diese Schicht ist stark gefaltet und vermittelt so das auffallendste Strukturmerkmal des Tu. Zwischen den ITOs ist die Lamina II stellenweise unterbrochen.

Bei der Ratte haben die Pyramidenzellen der Lamina II einen Durchmesser von 10-16 μm . Sie erscheinen in Kresylviolett-gefärbten Gehirnschnitten homogen mit leicht gefärbtem Zytoplasma um einen kräftig gefärbten Kern (Millhouse und Heimer, 1984). Bei der Maus weist die Lamina II des Tu keine Unterbrechungen auf (Rose, 1929). Dem stehen Aussagen gegenüber, wonach die Lamina II durch Körnerzell-Cluster durchaus unterbrochen ist, wie es in Kresylviolett-gefärbten Gehirnschnitten bei der Katze beobachtet wurde (Talbot et al., 1988).

Die typische Glockenform der ITOs resultiert daraus, dass das mittlere Zellband und die Basis in charakteristischer Weise von den Kappen, die in Lamina III liegen, bogenförmig umschlossen sind. Anhand der rekonstruierten sagittalen Querschnitte wurde deutlich, dass die Glockenform die gesamte Ausdehnung des Tu betrifft.

Die Kappen stehen (auf vielen Schnittebenen) über fingerförmige Ausziehungen aus dem VStr mit dem Acb in Kontakt. Die zahlreichen Verbindungen zwischen dem Tu und dem Acb besitzen dasselbe CD15-Expressionsmuster wie die Kappen des Tu und der ventrale Acb (vAcb), was eine striatale Organisation im Bereich der Kappen der ITOs vermuten lässt (siehe 5.10.).

Es stellt sich die Frage, ob sich anhand der o.g. Befunde eindeutig sagen lässt, dass das Tu eine kortikale Struktur darstellt. Aufgrund der Lamination wurde das Tu als Teil des Kortex angesehen (Stephan, 1975; Danner und Pfister, 1981c). Erstmals wurde die für das Tu typische Schichtung bei makrosomatischen Säugern beschrieben (Ganser, 1882; Calleja, 1893; Ramón y Cajal, 1904 und 1911). Die Lamination des Tu ist allerdings nicht bei allen Spezies gut erkennbar. Bei Monotremen ist die Schichtung nur angedeutet (Ashwell, 2006). Beim Primaten, mit Ausnahme des Menschen, ließ sich im Tu entweder keine kortikale Organisation nachweisen (Crosby und Humphrey, 1941; Allison, 1954; Meyer et al., 1989), oder sie wurde nur im lateralen Teil des Tu festgestellt (Filimonov, 1964; Sarkisov et al., 1955; Stephan, 1975; Meyer et al., 1989; Price, 2004). Neben dem Umstand des zuweilen fragwürdigen Nachweises einer Lamination wurde auch auf das Fehlen einer für den Kortex charakteristischen tangentialen und radialen Organisation hingewiesen (Blackstad, 1967; Pigache, 1970). Das Tu des Hundes kann dagegen aufgrund der Befunde aus dem CD15-Bild durchaus als Struktur mit kortikalem Charakter angesehen werden. Die Befunde aus dem CD15-Bild schließen trotz des kortikalen Charakters des Tu beim Hund eine mögliche striatale Organisation innerhalb der Kappen der ITOs nicht aus. Dieser Auffassung waren auch zahlreiche Autoren, die das Tu als ventrale Komponente des Striatums beschrieben haben (Beccari, 1910 und 1911; Economo und Koskinas, 1925; Macchi, 1951).

5.4. Zellen innerhalb des Tu

Bei der Ratte sind die häufigsten Neurone im Tu mittelgroß und besitzen einen dichten Dornbesatz (Millhouse und Heimer, 1984). Die Somata dieses Zelltyps sind vorwiegend in den Laminae II und III lokalisiert und bilden Zellbrücken zum Acb, Pu und Cd (Millhouse und Heimer, 1984). Die Axone der mittelgroßen Zellen verlaufen in Lamina III und geben zahlreiche Kollateralen ab.

Millhouse und Heimer (1984) beschrieben im Tu außerdem große Zellen, die sich im Dornbesatz unterscheiden und die in allen drei Schichten des Tu zu finden sind.

Neben den mittelgroßen und großen Neuronen kommen im Tu der Ratte drei Typen kleiner Neurone vor, deren Somata hauptsächlich in den Laminae I und II liegen: die Zwergzellen (dwarf cells) in der Nähe der pialen Oberfläche, die strahlenförmigen Zellen (radiate cells) und kleine Neurone mit dichtem Dornbesatz (Millhouse und Heimer, 1984).

Zu den kleinen Neuronen können zusätzlich die Körnerzellen gerechnet werden, die zu den kleinsten Neuronen im Gehirn gehören (Ramon y Cajal, 1955; Sanides, 1957 und 1958). Sie

bilden die homogenste Zellgruppe im Tu (Millhouse und Heimer, 1984). Zahlreiche Rekonstruktionen von Schnittserien haben gezeigt, dass die Körnerzellen komplizierte Strukturen (Cluster) bilden (Popoff und Popoff, 1929; Fox 1940) und hauptsächlich in Lamina III lokalisiert sind (Millhouse und Heimer, 1984; Millhouse, 1987).

Die Körnerzellen haben bei der Ratte einen Durchmesser von 5-8 μm (Millhouse, 1987) bzw. 8-12 μm (Millhouse und Heimer, 1984) und besitzen einen deutlichen Nucleolus. Die wenigen, dünnen Dendriten (Millhouse und Heimer, 1984) haben eine Länge von weniger als 100 μm . Die Körnerzellen umgeben häufig ein Areal, in dem große Neurone (Millhouse, 1987) mit pallidalem Charakter liegen (Fox et al., 1974; Meyer und Wahle, 1986). Dieses Areal wird häufig als Cluster-Kern bezeichnet.

Die Ansichten darüber, was unter Körnerzell-Cluster zu verstehen ist, gehen weit auseinander. Die Körnerzell-Cluster werden meist mit den Inseln von Calleja (ICj) gleichgesetzt (Gurdjian, 1925; Johnson, 1957 a,b; Hosoya, 1973; Fallon et al., 1978 und 1983; Ribak und Fallon, 1982; Fallon, 1983, Millhouse und Heimer, 1984; Young et al., 1984; Talbot et al., 1988).

Allerdings sollen von Calleja nicht die Körnerzell-Cluster, sondern verdickte, inhomogene Abschnitte der Lamina II als ICj bezeichnet worden sein (Millhouse, 1987). Aufgrund der vielen verschiedenen Definitionen der ICj sollte laut Millhouse (1987) die Bezeichnung „Inseln von Calleja“ nicht verwendet werden.

Die größte Körnerzell-Dichte in den Clustern wurde medial gemessen (Talbot et al., 1988; Meyer et al., 1989). Millhouse und Heimer (1984) beschrieben Ausdehnungen der Cluster bis zur pialen Oberfläche. Meyer et al. (1989) wiesen auf Spezies-Unterschiede bezüglich der Lage der Körnerzell-Cluster hin. Bei der Katze liegen die Cluster in der oberflächlichen Kappen-Region des Tu. Beim Igel und dem Hasen sind die Cluster in der Kappen-Region und in Lamina III vertreten. Bei der Ratte wurden die Cluster sowohl in Lamina III (Meyer et al., 1989), als auch in Lamina I nachgewiesen (Millhouse, 1987). Bei der Maus werden die Cluster in allen drei Zellschichten angetroffen.

Die von den Körnerzellen im Tu gebildeten Cluster variieren nicht nur hinsichtlich der Lage und Häufigkeit, sondern auch in der Größe und Form (Millhouse, 1987). Bei Monotremen sind die Körnerzell-Cluster entweder klein und geringgradig entwickelt (Echidna) oder nicht nachweisbar (Platypus) (Ashwell, 2006). Hinsichtlich der Form wurden sowohl ringförmige Strukturen als auch parallel angeordnete Zellreihen beschrieben (Meyer et al., 1989). Talbot et al. (1988) unterschieden bei der Katze fünf voneinander unabhängige Einheiten aus Körnerzell-Clustern. Die dreidimensionale Rekonstruktion der Körnerzell-Cluster bei der

Ratte läßt dagegen darauf schließen, dass die Cluster keine voneinander unabhängigen Einheiten darstellen (de Vente et al., 2001).

Die Insula Calleja Magna (ICjM), die zwischen Acb, Septum und dem db lokalisiert ist, stellt auch ein Körnerzell-Cluster dar, hat aber im Gegensatz zu den anderen Körnerzell-Clustern keine direkte Beziehung zum Tu (Calleja, 1893; Loo, 1931; Fox, 1940; Fallon et al., 1978; Millhouse, 1987).

Aggregate von Körnerzellen wurden nicht nur in der ICjM und im Tu beschrieben, sondern auch im Acb, der Substantia innominata (SI) und dem GP (Meyer et al., 1989). Das Vorkommen von Körnerzell-Clustern außerhalb des Tu wird mit der ontogenetischen Entwicklung erklärt (Brockhaus, 1942 a und b; Sanides, 1957; Meyer et al., 1989).

Frühere Beschreiber waren der Meinung, dass das Auftreten und die Größe der Körnerzell-Cluster an die Entwicklung des olfaktorischen Systems gebunden ist. Allerdings wurden Körnerzell-Cluster sowohl bei Makrosmatikern als auch bei Mikrosmatikern und Anosmatikern nachgewiesen (Meyer et al., 1989).

Der Mensch gehört zur Gruppe der Mikrosmatiker und besitzt im Vergleich zu den Makrosmatikern, wie z.B. dem Hund, ein gering entwickeltes olfaktorisches System (Stephan, 1975; Price, 2004), wodurch die Beschreibung der Organisation des Tu beim Menschen im Vergleich zu anderen Spezies wesentlich schwerer fällt (Filimov, 1964; Stephan, 1975). Es steht jedoch fest, dass die Körnerzell-Cluster beim Menschen im Vergleich zu anderen Spezies die größte Ausdehnung haben (Sanides, 1958; Hartz-Schütt und Mai, 1991). Die Entwicklung des olfaktorischen Systems ist somit für das Auftreten von Körnerzell-Clustern von geringer Bedeutung.

5.5. Afferenzen und Efferenzen der Körnerzell-Cluster

Die Dendriten und Axone der Körnerzellen verlaufen nur innerhalb der Cluster, während die Dendriten und Axone der größeren Neurone im Clusterkern auch außerhalb der Cluster verlaufen (Millhouse, 1987). Es wird vermutet, dass die größeren Neurone und die Körnerzellen im Cluster über Synapsen miteinander verbunden sind (Fallon et al., 1978; Millhouse und Heimer, 1984; Meyer und Wahle, 1986; Millhouse, 1987; Meyer et al., 1989), und die großen Neurone die efferente Komponente der Cluster repräsentieren (Fallon et al., 1983; Talbot et al., 1988). Fallon (1983) beschrieb Efferenzen zum ipsilateralen Tu, GP, Septum, Pir, Amygdala (Amg), Area ventralis tegmenti (VTA), Hypothalamus (Hy) und Thalamus (Th).

Millhouse (1987) bestimmte mittels der Golgi-Imprägnation und der Nissl-Färbung im Gehirn der Ratte drei Typen von Afferenzen der Körnerzell-Cluster:

1. Afferenzen aus anderen Regionen des Tu, deren Kollateralen sich in der Peripherie der Körnerzell-Cluster aufzweigen.
2. Afferenzen aus anderen Regionen des Tu, deren Kollateralen sich innerhalb der Cluster aufzweigen.
3. Afferenzen aus den mittelgroßen Neuronen des Tu mit dichtem Dornbesatz, deren Kollateralen sich innerhalb der Cluster aufzweigen und zu den Körnerzellen ziehen.

Weitere Afferenzen stammen aus anderen Regionen des Tu (Meyer et al., 1989), aus dem Nucleus des lo (Luskin und Price, 1983), aus dem medialen Vorderhirn-Bündel (MFB) (Meyer et al., 1989; Riedel et al., 2002) und aus der Substantia nigra (SN) und der VTA (Fallon et al., 1978, 1983; Voorn et al., 1986). Schließlich sind in den Körnerzell-Clustern cholinerge Fasern unbekannter Herkunft nachweisbar (Kimura et al., 1981; Mesulam et al., 1984; Talbot et al., 1988).

Die Körnerzellen selbst sind vermutlich GABAerg (Krieger et al., 1983; Mugnaini und Oertel, 1985; Smith et al., 1987) und über gap junctions miteinander verbunden (Halliwell und Horne, 1998). Aufgrund dieser elektrischen Synapsen kann eine durch Dopamin unterstützte Zellsynchronisierung der Körnerzellen stattfinden (Bennett und Zukin, 2004).

5.6. Funktion der Körnerzell-Cluster

Über die Funktion der Körnerzell-Cluster ist wenig bekannt. Im Unterschied zu anderen Zellen des Tu, die viele Charakteristika striataler Zellen aufweisen, scheinen die Körnerzellen in den Clustern keine übereinstimmenden Merkmale mit den Neuronen im Striatum zu besitzen (Millhouse, 1987). Die Körnerzellen erinnern eher an Neurone in hypothalamischen Kernen (Szentagothai et al., 1972; Millhouse, 1979). Fallon et al. (1983), die Blutgefäße in den Körnerzell-Clustern nachgewiesen haben, vermuten eine sekretorische oder neuroendokrine Funktion der Cluster. Alheid und Heimer (1988) vermuten eine Beteiligung der Körnerzell-Cluster an kognitiven Prozessen und weisen ihnen eine Rolle bei neuropsychiatrischen Erkrankungen zu. Andere Autoren vermuten eine Beteiligung der Körnerzell-Cluster an der kardiovaskulären Kontrolle (McKittrick et al., 1992; Calaresu et al., 1994) und der Gefäßregulation (Meyer et al., 1994).

Einen weiteren Hinweis auf die Funktion der Körnerzell-Cluster geben Untersuchungen der Dopamin-Rezeptoren D_{1-5} im Gehirn der Säuger (Halliwell und Horne, 1998). Es wurde

festgestellt, dass die größte D₃-Rezeptor-Dichte im Acb, im Tu und insbesondere in den Körnerzell-Clustern vorliegt (Landwehrmeyer et al., 1993a; Diaz et al., 1995). In den Körnerzell-Clustern wurden neben den D₃-Rezeptoren auch D₁-Rezeptoren nachgewiesen (Diaz et al., 1995; Halliwell und Horne, 1998).

Als Folge der D₃-Rezeptor-Aktivierung werden u.a. Mitogenese, Reduktion der Adenylylcyclase-Aktivität und Inhibition des Calcium-Stroms vermutet (Sokoloff und Schwartz, 1995). Den D₃-Rezeptoren des Tu wird eine wichtige Rolle beim Kokain-Reward und somit beim Drogenabusus zugerechnet (Kornetsky et al., 1991; Walker et al., 2002; Ikemoto, 2003). Kokain blockiert die Dopamin-Aufnahme und erhöht somit die Dopamin-Konzentration, wodurch die Aktivität der Dopamin-Rezeptoren gesteigert wird. Das Tu wird beim Kokain-Reward als Trigger-Zone angesehen, während der Acb eine integrative Zone darstellt (Ikemoto, 2003). Hierbei spielt vor allem der mediale Teil des Tu eine Rolle (Ikemoto et al., 2005).

5.7. Gradienten innerhalb des Tu

Die dreidimensionale Rekonstruktion des Tu beim Hund offenbarte einen geschlossenen Charakter des Tu, der vor allem auf der einheitlichen, glockenförmigen Struktur der ITOs beruht. Bezüglich der Organisation der ITOs wiesen alle Inseln dieselbe Binnengliederung auf.

Innerhalb des segmentierten Tu wurde ein medio-lateraler Gradient deutlich, der den geschlossenen Charakter des Tu nicht beeinträchtigt. Im Vergleich mit den fünf ITOs im lateralen Tu bestechen die vier medialen Inseln durch eine schwächere CD15-IR, deutliche Unterbrechungen zwischen den ITOs und innerhalb der ITOs, eine geringere antero-posteriore Ausdehnung und ein geringeres errechnetes Gesamtvolumen.

Auf medio-laterale Gradienten im Tu von Makrosmatikern und Mikrosmatikern wurde bereits in früheren Studien verwiesen (Price, 1973; Heimer, 1978; Scott, 1981; Meyer und Wahle, 1986; Matsutani et al., 1989). Hierfür wurden verschiedene Ursachen diskutiert:

1. Im lateralen Teil des Tu wurde eine höhere Dichte afferenter Fasern aus dem lo festgestellt (Heimer, 1968; Price, 1973; Schwob und Price, 1978; Shipley, 1985). Dies wurde auch im MBP-Bild des Tu des Hundes deutlich. Die pianae immunreaktive Schicht, die den afferenten Fasern aus dem lo entspricht, war medial wesentlich dünner als lateral (siehe Abb. 23 und 25a).

2. Bei der Ratte wurden medial und lateral unterschiedliche Aktivitäten der Dopaminsensitiven Adenylatcyclase gemessen (Krieger, 1980).
3. Bei der Ratte und bei der Katze wurden medio-laterale morphologische und cytologische Gradienten beschrieben (Schwob und Price, 1984; Meyer und Wahle, 1986; Wahle und Meyer, 1986).
4. Bei den Körnerzell-Clustern wurde beobachtet, dass sie abhängig von ihrer Lage im Tu unterschiedliche Form und Zelldichte besitzen (Talbot et al., 1988).
5. Dem medialen Tu wurde eine wichtigere Rolle beim Kokain-Reward zugewiesen als dem lateralen Teil (Ikemoto et al., 2005).

Neben den häufig beschriebenen medio-lateralen Gradienten im Tu wurden dorso-ventrale und kaudo-rostrale Gradienten beobachtet:

Bei der Ratte wurde ein dorso-ventraler Gradient von N-Methyl-D-aspartate- und alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic Aminosäuren-Bindungsstellen im Tu und Acb festgestellt (Albin et al., 1992). Beim Affen wurde der Nachweis erbracht, dass ein dorso-ventraler Gradient der Somatostatin-IR in der Lamina III vorliegt (Desjardins und Parent, 1992).

Benowitz et al. (1988) stellten im Tu der adulten Ratte einen kaudo-rostralen Gradienten der IR des Neuron-spezifischen Phosphoproteins GAP-43 (B-50) fest.

Die Gradienten innerhalb des Tu sprechen dafür, dass sich das Tu aus verschiedenen Untereinheiten zusammensetzt, die sich in ihrer Funktion unterscheiden.

5.8. Beziehung zwischen Tu und Cortex piriformis (Pir)

Der Pir liegt lateral des lo und erstreckt sich vom kaudo-lateralen Teil des Frontallappens zum rostralen dorso-medialen Teil des Temporallappens (Price, 2004). Im CD15-Bild besticht der Pir durch drei deutlich voneinander abgrenzbare Zellschichten. Das mittig gelegene, CD15-negative Pyramidenzellband des Pir separiert die infrapyramidale Lamina III von der relativ dünnen, suprapyramidalen Lamina I. Die Lamina I des Pir ist über eine relativ breite Synapsenzone, die im Synaptophysin-Bild in die Lamina I der ITOs übergeht, mit dem pianahen lo verbunden.

Aufgrund der medio-lateralen Expansion des CD15-immunreaktiven Tu schmiegt sich ab 4,58 mm vor dem Zentrum der ac das lateralste Segment ITO5 dem Pir an, so dass das CD15-negative Pyramidenzellband des Pir unmittelbaren Anschluss an das Pyramidenzellband des

Tu gewinnt. Im Synaptophysin-Bild wird neben der Verbindung zwischen Pir und Tu noch eine immunreaktive Verbindung zwischen Pu und Pir erkennbar.

Im Gegensatz zum CD15-Bild ist auf Abbildungen von Kresylviolett-gefärbten Schnitten des Mäusegehirns kein Übergang des Pyramidenzellbands zwischen Pir und Tu erkennbar (Rose, 1929). Die Unterbrechung im Pyramidenzellband zwischen Pir und Tu beobachteten auch Millhouse und Heimer (1984) bei der Ratte. Meyer et al. (1989) stellten dagegen bei verschiedenen Spezies ein Pyramidenzellband ohne Unterbrechungen in Pir und Tu fest.

Im CD15-Bild und im Synaptophysin-Bild werden Verbindungen des Pir mit Pu, Io und Tu deutlich. Inwiefern der Pir eine Rolle in der Weiterleitung olfaktorischer Informationen aus dem Io zum Tu spielt, wird unter 5.9. diskutiert. Es wurde festgestellt, dass eine große Anzahl von Afferenzen aus dem Pir innerhalb der Laminae I, II und III des Tu enden. Über die ac erreichen sie auch das Tu der kontralateralen Seite (Luskin und Price, 1983; Carmichael und Price, 1996). Heimer (2003) beschrieb die Afferenzen aus dem Pir in das Tu als kortikostriatale Projektion und verwies auf den striatalen Charakter einiger Zellen des Tu.

5.9. Beziehung zwischen Tu und Tractus olfactorius (Io)

Der Io wird von Fasern des Bulbus olfactorius (OB) gebildet. Er erstreckt sich unterhalb der pialen Oberfläche, zwischen Tu und Pir, vom Frontallappen zum Temporallappen.

Im CD15- und MBP-Bild liegen Hinweise auf das Endigungsgebiet der Afferenzen aus dem Io innerhalb des Tu des Hundes vor. Im MBP-Bild erstrecken sich zwischen der pialen Oberfläche und den ITOs stark immunreaktive Markfasern aus dem Io bis zur medialen Hemisphärenwand (siehe Abb. 23). Ab 6,14 mm vor dem Zentrum der ac liegen im CD15-Bild alle Segmente des Tu, mit Ausnahme des lateralen Segments ITO5, der pialen Oberfläche breitbasig auf. Im entsprechenden MBP-Bild verlaufen die immunreaktiven Markfasern aus dem Io nicht länger zwischen den ITOs und der pialen Oberfläche, sondern innerhalb der Basis der ITOs (siehe Abb. 25a). Die Markfasern aus dem Io zeichnen sich durch eine pianahe, stark immunreaktive Schicht aus, die durch ein Band ohne IR von einer weiteren MBP-positiven Schicht separiert ist (siehe Pfeil auf Abb. 23). Dieser Befund deutet darauf hin, dass Afferenzen aus dem Io in zwei verschiedenen Schichten der Lamina I des Tu enden und über eine Synapsenzone in der Basis mit den Pyramidenzellen der Lamina II in Verbindung stehen (siehe 5.3.).

Der Io versorgt die gesamte Oberfläche des Tu mit Afferenzen aus dem OB (White, 1965; Heimer, 1968; Price, 1973; Broadwell, 1975; Scalia und Winans, 1975; Skeen und Hall, 1977;

Davies et al., 1978). Während früher vermutet wurde, dass der Tractus olfactorius medialis (mo) im olfaktorischen System eine ähnliche Rolle spielt wie der lo, steht heute fest, dass der mo beim Säuger keine Relevanz für die Geruchswahrnehmung besitzt (Price, 2004). Untersuchungen beim Karpfen machten deutlich, dass dem lo und dem mo, der in einen lateralen (lmo) und medialen (mmo) Teil gegliedert wurde, unterschiedliche Funktionen zugeordnet werden können (Weltzien et al., 2003):

1. Dem lo wurde eine Rolle beim olfaktorisch gesteuerten Fressverhalten zugewiesen (Weltzien et al., 2003).
2. Der mmo vermittelt Alarmbereitschaft (Hamdani et al., 2000).
3. Der lmo nimmt Einfluss auf den Fortpflanzungstrieb (Hamdani et al., 2001).

Ob der lo und der mo bei anderen Spezies in dieselben oder ähnliche Funktionskreise eingebunden sind wie beim Karpfen, bleibt zu untersuchen. Die strikte Trennung funktionell unterschiedlicher Aspekte in getrennten Leitungsbahnen ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass auch bei Säugern die verschiedenen Anteile des Tractus olfactorius unterschiedlichen Zwecken dienen.

Traditionell wird die Lamina II als Endigungsgebiet der Afferenzen aus dem lo angesehen (White, 1965; French-Mullen et al., 1985; Price, 1987). Dass das Endigungsgebiet aber von Spezies zu Spezies variiert, wurde in verschiedenen Untersuchungen deutlich.

Beim Affen erstrecken sich die Afferenzen aus dem lo in die Lamina I und II (Heimer et al., 1977; Turner et al., 1978; Carmichael et al., 1994). Price (2004) beschrieb, dass sich die olfaktorischen Afferenzen beim Affen sogar in die Lamina III des Tu erstrecken.

Bei der Ratte wurden verschiedene Wege und Endigungsgebiete der olfaktorischen Afferenzen aus dem lo innerhalb des Tu angegeben:

1. Josephson et al. (1997) beschrieben, dass Afferenzen aus dem OB über den lo direkt die Dendriten von Neuronen in Lamina IA erreichen, die über eine Synapsenzone mit Lamina II verbunden sind. Dies wurde durch eine Tracersubstanz festgestellt, die in den OB injiziert nach axonalem Transport an Synapsen der Lamina IA über Exozytose freigesetzt wurde (White, 1965; Price, 1973; Gonatas et al., 1977 und 1979; Itaya und Van Hoesen, 1982; Ruda und Coulter, 1982; Broadwell und Balin, 1985).
2. Als zweiter direkter Weg wurde ein axonaler Transport zu Synapsen in der Lamina IB des Tu beschrieben (Haberly und Price, 1978; Broadwell und Balin, 1985).
3. Josephson et al. (1997) beschrieben als indirekte Verbindung vom OB zur Lamina IB des Tu den transsynaptischen Transport über die Lamina IA des Pir.

Viele Autoren messen dem lateralen Teil des Tu eine größere Relevanz bei der Geruchswahrnehmung bei, da dieser deutlich mehr olfaktorische Afferenzen aus dem lo erhält als der mediale Teil (Heimer, 1968; Price, 1973; Schwob und Price, 1978; Shipley, 1985). Dies wurde auch in dieser Arbeit deutlich. Im MBP-Bild des Tu des Hundes war die pianahe immunreaktive Schicht, die den afferenten Fasern aus dem lo entspricht, medial wesentlich dünner als lateral (siehe 5.7.).

Dem stehen Aussagen gegenüber, dass in der Lamina II des lateralen Teils des Tu Neurone vorliegen, die eine enge Lagebeziehung zum Acb aufweisen, wodurch dem lateralen Teil eine eher striatale als olfaktorische Funktion zugeschrieben wird (Heimer und Wilson, 1975; Josephson et al., 1997).

5.10. Beziehung zwischen Tu und Nucleus accumbens (Acb)

Im CD15-Bild beim Hund kann im Areal des Acb ein stark immunreaktiver ventraler Anteil (vAcb) gegenüber einem schwächer immunreaktiven, dorsalen Anteil (dAcb) deutlich abgegrenzt werden. Der Acb kann ab 4,14 mm vor dem Zentrum der ac aufgrund seines Expressionsmusters zusätzlich zur ventro-dorsalen Gliederung in einen medialen (mAcb) und lateralen Abschnitt (lAcb) unterteilt werden (siehe Abb. 16a). Der mAcb erscheint inhomogen. Die CD15-IR nimmt nach lateral graduell ab, so dass ein Gebiet starker IR von einem Areal schwächerer IR abgegrenzt werden kann.

Sowohl im lAcb als auch im mAcb sind fingerförmige Strukturen erkennbar, welche sich mit den Kappen der medialen und lateralen ITOs verbinden (siehe Abb. 16a). Diese Verbindungselemente besitzen dieselbe IR wie die Kappen des Tu und wie der Acb. Aufgrund der Ausläufer aus dem VStr, die das Tu mit dem Acb in der supratuberkulären Zone verbinden, erweist sich die dorsale Begrenzung des Tu als schwierig. In der vorliegenden Studie zeigte sich eine zunehmend verminderte Ausdehnung der supratuberkulären Zone von rostralen zu kaudalen Abschnitten. Im hinteren Bereich erscheint die ventrale Begrenzung des Acb weitgehend vom Tu abgehoben. Ab ca. 2,14 mm vor dem Zentrum der ac liegen keine Ausläufer zu den ITOs mehr vor.

Im MBP-Bild (siehe Abb. 23) verlaufen zwischen den ITOs senkrecht zur pialen Oberfläche immunreaktive Markfasern, die den Acb mit dem Tu und dem lo direkt verbinden. Verschiedene Studien beschreiben, dass Afferenzen aus dem Olf den kaudalen, ventro-lateralen Teil des Acb direkt erreichen (Price, 1973; Luskin und Price, 1983; Fuller et al., 1986). Diese Afferenzen sind glutamaterg (Fuller et al., 1986; Kuroda und Price, 1991).

Anhand der Befunde aus dem CD15- und MBP-Bild kann man vermuten, dass die Kappen des Tu eine striatale Organisation aufweisen und dass der Funktion des Tu eine striatale Komponente zugeschrieben werden kann. Wie unter 5.3. beschrieben wird in der Basis der ITOs eine Synapsenzone vermutet, über die Afferenzen aus dem lo mit der Lamina II, und von dort mit der Lamina III verschaltet sind. Neben der im MBP-Bild erkennbaren direkten Verbindung zwischen Acb und lo stellen die Kappen der ITOs somit ein Interface zwischen striatalem Gewebe und olfaktorischen Afferenzen dar.

In vielen Studien wurden das Tu und der Acb aufgrund ähnlicher Charakteristika, wie z.B. der Struktur der Zellen, ihrer Größe und der Dendriten-Orientierung zum VStr gerechnet (Heimer und Wilson, 1975; Heimer, 1978; Walaas und Fonnum, 1979; Krieger, 1980; Fallon et al., 1983; Millhouse und Heimer, 1984). Diese Beziehung zwischen Acb und Tu wird durch den Nachweis eines gemeinsamen Zelltyps gestützt. Die mittelgroßen Neurone mit dichtem Dornbesatz, die für das VStr typisch sind, wurden ebenso in den Laminae II und III des Tu gefunden (Millhouse und Heimer, 1984). Dieser Zelltyp bildet direkte Zellbrücken zwischen Tu und Acb. Die Zellbrücken entsprechen Acetylcholinesterase-positiven Verbindungen („Pencils of Wilson“) zwischen dem Tu und dem VStr (Wilson, 1972; Heimer und Wilson, 1975). Auf diese Art der Zellbrücken wurde bereits früher auf der Basis morphologischer Studien verwiesen (Obenchain, 1925; Rose, 1926; Humphrey, 1936; Young, 1936; Fox, 1940). In dieser Arbeit wurde eine Kolokalisation der Zellbrücken mit CD15-positivem Material nicht untersucht.

Da die für das VStr typischen mittelgroßen Neurone mit dichtem Dornbesatz bevorzugt im lateralen Teil des Tu gefunden wurden, wurde diesem Abschnitt eine herausragende Rolle hinsichtlich der Interaktion zwischen Tu und Acb zugewiesen (Heimer und Wilson, 1975; Josephson et al., 1997). Diese Annahme wird nicht durch die Befunde aus dieser Arbeit gestützt. Aus der Analyse der CD15-IR wird erkennbar, dass sowohl die lateralen als auch die medialen ITOs über Ausläufer mit dem Acb verbunden sind.

Die Verteilung der CD15-IR hinsichtlich der Dichte und des Musters zeigte innerhalb des Acb ausgeprägte Unterschiede zwischen der medialen und lateralen Region. Sie lassen sich nicht in das gängige Schema der Gliederung des Acb in einen Kern- und Kapselbereich (Zaborsky et al., 1985) einordnen. Laut Ikemoto et al. (2005) besitzt die klassische Aufteilung des Acb in einen Kern- und Kapselbereich für bestimmte funktionelle Aspekte, wie z.B. den Amphetamin-Reward, keine Gültigkeit. Bezüglich der Funktion kann der Aufteilung des Acb in einen medialen und lateralen Teil eine größere Bedeutung beigemessen werden.

5.11. Beziehung zwischen Tu und Nucleus caudatus (Cd) bzw. Putamen (Pu)

Das Pu steht über die substriatalen Inseln (SStr) mit den lateralen ITOs in enger Lagebeziehung. SStr, Pu und die Kappen der ITOs besitzen dieselbe IR. Im Gegensatz zum Pu besitzt der Cd im CD15-, MBP- und Synaptophysin-Bild keine Verbindung zum Tu.

Dem stehen Aussagen gegenüber, dass das Tu sowohl mit dem Pu (Talbot et al., 1988) als auch mit dem Cd über Zellbrücken, die ihren Ursprung in den Laminae II und III haben, direkt verbunden ist (Millhouse und Heimer, 1984).

Aufgrund ähnlicher Zellcharakteristika wurden Anteile des Tu als ventrale Ausdehnung von Cd und Pu angesehen (Mensah und Deadwyler, 1974; Chang et al., 1982; Armstrong et al., 1983; Millhouse und Heimer, 1984; Millhouse, 1987).

Hartz-Schütt und Mai (1992) untersuchten die Verteilung der Acetylcholinesterase (AChE)-Aktivität im Tu. Die stark AChE-positiven Körnerzell-Cluster, die nicht zum Tu gerechnet wurden, wiesen sehr stark AChE-positive Gewebebrücken sowohl mit dem Acb als auch mit dem Cd und dem Pu auf.

5.12. Beziehung zwischen Tu und Globus pallidus (GP)

Aufgrund ähnlicher struktureller Eigenschaften der Neurone im Tu und GP wurden Teile des Tu als ventrale Ausdehnung des GP angesehen (Heimer und Willson, 1975; Heimer, 1978; Newman und Winans, 1980; Park et al., 1982; Switzer et al., 1982; Haber und Nauta, 1983; Millhouse und Heimer, 1984). Switzer et al. (1982) sowie Haber und Nauta (1983) haben in ihren Studien fingerförmige Ausläufer aus dem GP beschrieben, die sich bis in die Lamina III des Tu erstrecken. Dem entspricht, dass die Hauptefferenzen des Tu zum GP führen sollen (Haberly und Price, 1978; Luskin und Price, 1983; Haber et al., 1985; Price, 2004). Die Efferenzen aus dem Tu zum GP entspringen Neuronen in der Pyramidenzellschicht. Die funktionelle Beziehung wird eher dem limbischen System als dem sensorischen System zugerechnet (Zahm und Heimer, 1985; Heimer et al., 1987; Heimer et al., 1993).

Aus dem CD15-Immunreaktionsmuster lässt sich hingegen keine entsprechende Beziehung ableiten.

5.13. Rolle des Tu innerhalb der funktionellen Systeme des ZNS

Aus den o.g. Ergebnissen läßt sich folgern, dass die Rolle des Tu nicht auf das olfaktorische System begrenzt ist. Es liegen zahlreiche Hinweise dafür vor, dass das Tu neben einem kortikalen Charakter eine striatale Organisation aufweist. Entgegen den Befunden aus dieser Arbeit messen zahlreiche Autoren dem Tu noch eine pallidale Komponente bei (siehe 5.12.). Dieses Beziehungsspektrum lässt eine größere Funktionsvielfalt vermuten als bisher angenommen. Das Tu kann nicht länger als unabhängige funktionell-anatomische Struktur angesehen werden (Heimer, 2003). Einen Hinweis auf die Rolle des Tu innerhalb der funktionellen Systeme des ZNS bietet die Vielfalt der in Tab. 5 genannten Afferenzen und Efferenzen des Tu:

Aufgrund der beschriebenen Verbindungen zwischen Tu und Amg, entorhinalem Kortex (Ent), lo und Pir kann dem Tu eine Bedeutung für das olfaktorische System beigemessen werden.

Über die Verbindungen zu den Basalganglien ist das Tu vermutlich an Prozessen wie Wahrnehmung, Kognition und Motivation beteiligt.

Der Hypothalamus (Hy), der über Efferenzen mit dem Tu verbunden ist (Fallon, 1983), beherrscht das vegetative System, steuert das endokrine System und trägt zu verhaltensorientierten motorischen Leistungen bei.

Der Thalamus (Th) ist sowohl über Afferenzen als auch über Efferenzen mit dem Tu verbunden. Er moduliert einen sehr großen Teil der sensiblen Informationen mit Ausnahme des Geruches und ist u.a. für das Selbstempfinden und die Persönlichkeitsstruktur von großer Relevanz.

Afferenzen aus dem Tractus opticus (ot) lassen vermuten, dass das Tu der Integration visueller Reize dient.

Welche Rolle das Tu innerhalb der verschiedenen funktionellen Systeme des ZNS genau spielt, bleibt zu untersuchen.

Afferenzen aus	Efferenzen zu	Referenz
Olf		
Amg	Amg	Newman und Winans, 1980; Fallon, 1983; Russchen und Price, 1984; Zaborsky et al., 1985; Fuller et al., 1986; Ragsdale und Graybiel, 1988
Ent		Heimer, 2003
lo		White, 1965; Heimer, 1968; Price, 1973; Broadwell, 1975; Scalia und Winans, 1975; Skeen und Hall, 1977; Davies et al., 1978; Luskin und Price, 1983
Pir	Pir	Fallon, 1983; Luskin und Price, 1983; Carmichael und Price, 1996
Basalganglien		
Acb	Acb	Obenchain, 1925; Rose, 1926; Humphrey, 1936; Young, 1936; Fox, 1940; Heimer und Wilson, 1975; Millhouse und Heimer, 1984
Cd	Cd	Heimer, 1978; Millhouse und Heimer, 1984; Zahm, 1987
Pu	Pu	Talbot et al., 1988
	GP	Fallon, 1983; Price, 2004
SN		Fallon und Moore, 1978; Becksted et al., 1979; Fallon et al., 1983; Voorn et al., 1986
VTA	VTA	Fallon und Moore, 1978; Becksted et al., 1979; Newman und Winans, 1980; Fallon, 1983; Fallon et al., 1983; Voorn et al., 1986
Kortex		
Cingularer Kortex		Heimer, 2003
Hippocampus		Heimer, 2003
Insula		Heimer, 2003
Medio-frontaler Kortex		Sesack et al., 1989
Mediobasales Vorderhirn		
Area praeoptica		Swanson, 1976
	Hy	Fallon, 1983
Septalregion		Fallon, 1983
Andere Regionen		
MFB		Meyer et al., 1989; Riedel et al., 2002
Th	Th	Fallon, 1983; Sadikot et al., 1990
ot		Mick et al., 1993

Tab. 5: Afferenzen und Efferenzen des Tu

6. Liste der Abkürzungen

ac	Vordere Kommissur
Acb	Nucleus accumbens
Amg	Amygdala
AO	Nucleus olfactorius anterior
Cd	Nucleus caudatus
Cl	Clastrum
da	Area diagonalis
dAcb	Dorsaler Nucleus accumbens
db	Tractus diagonalis
ec	Capsula externa
Ent	Entorhinaler Kortex
EpL	Ependym
ex	Capsula extrema
GP	Globus pallidus
Hy	Hypothalamus
ic	Capsula interna
ICj	Insula Calleja
ICjM	Insula Calleja Magna
Ins	Insula
IR	Immunreaktivität
ITO	Insula terminalis olfactoria
lAcb	Lateraler Nucleus accumbens
lmo	Lateraler Teil des Tractus olfactorius medialis
lo	Tractus olfactorius lateralis
LV	Lateraler Ventrikel
mAcb	Medialer Nucleus accumbens
MFB	Medialer Vorderhirn-Bündel
MFr	Medio-frontaler Kortex
mmo	Medialer Teil des Tractus olfactorius medialis
mo	Tractus olfactorius medialis
ms-mc	Maus-monoklonal
OB	Bulbus olfactorius

Olf	Primärer olfaktorischer Kortex
ot	Tractus opticus
OTr	Trigonum olfactorium
ox	Chiasma opticum
Pir	Piriformer Kortex
Pu	Putamen
rb-pc	Kaninchen-polyklonal
SA	Septalregion
SI	Substantia innominata
SN	Substantia nigra
SP	Septum pellucidum
SStr	Substriatale Inseln
Th	Thalamus
TT	Taenia tecta
Tu	Tuberculum olfactorium
vAcb	Ventraler Nucleus accumbens
VStr	Ventrales Striatum
VStrF	Ventrales striatales Feld
VTA	Area ventralis tegmenti

7. Literatur

1. Albin R.L., Makowiec R.L., Hollingsworth Z.R., Dure, L.S., Penney J.B., Young A.B. (1992): Excitatory amino acid binding sites in the basal ganglia of the rat: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience*, **46**: 35-48.
2. Alheid G.F. und Heimer L. (1988): New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: The striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience*, **27**: 1-39.
3. Allison A.C. (1954): The secondary olfactory areas in the human brain. *J. Anat.*, **88**: 481-488.
4. Allison A.C. and Meyer M. (1950): Secondary olfactory connections in monkeys. *J. Anat.*, **84**: 63-64.
5. Andressen C., Mai J.K. (1995): Expression of CD15 in a subset of dorsal root ganglion cells during the chick embryonic development. *Europ. J. Morphol.*, **33**: 12-23.
6. Andressen C., Arnhold S., Mai J.K. (1998): Differential expression of lactoseries carbohydrate epitopes HNK-1, CD15, and NALA by olfactory receptor neurons in the developing chick. *Anat. Embryol. (Berl)*, **197**: 209-215.
7. Armstrong D.M., Saper C.B., Levey A.J., Wainer B.H., Terry R.D. (1983): Distribution of cholinergic neurons in the rat brain: Demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.*, **216**: 53-68.
8. Arnhold S., Wenisch S., Leiser R., Andressen C., Addicks K. (2001): Differential expression of two carbohydrate epitopes, CD15 and HNK-1, in developing vertebrate olfactory receptor neurones. *Eur. J. Morphol.*, **39**: 65-71.
9. Ashwell K.W. (2006): Cyto- and chemoarchitecture of the monotreme olfactory tubercle. *Brain Behav. Evol.*, **67**: 85-102.
10. Bartsch D., Mai J.K. (1991): Distribution of the 3-fucosyl-N-acetyl-lactosamine (FAL) epitope in the adult mouse brain. *Cell Tiss. Res.*, **263**: 353-366.
11. Beccari N. (1910): Il lobo paraolfattorio nei mammiferi. *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, **9**: 172-220.
12. Beccari N. (1911): La sostanza perforata anteriore e i suoi rapporti col rinencefalo nel cerebello dell'uomo. *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, **10**: 261-328.

13. Becksted R.M., Domesick V.B., Nauta W.J.H. (1979): Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Res.*, **175**: 191-217.
14. Bennett M. and Zukin S. (2004): Electrical Coupling and Neuronal Synchronization in the Mammalian Brain. *Neuron*, **41**: 495-511.
15. Benowitz L.I., Apostolides P.J., Perrone-Bizzozero N. (1988): Anatomical distribution of the growth-associated protein GAP-43/B-50 in the adult rat brain. *J. Neurosci.*, **8**: 339-352.
16. Blackstad T.W. (1967): Cortical gray matter – A correlation of light and electron microscopic data. In H. Hyden (ed): *The Neuron*. Amsterdam: Elsevier, pp. 49-118.
17. Bourrillon R., Aubery M. (1989): Cell surface glycoproteins in embryonic development. *Int. Rev. Cytol.*, **116**: 257-338.
18. Broadwell R.D. (1975): Olfactory relationships of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. I. An autoradiographic study of the efferent connections of the main and accessory olfactory bulbs. *J. Comp. Neurol.*, **163**: 329-345.
19. Broadwell R.D and Balin B. (1985): Endocytic and exocytic pathways of the neuronal secretory process and transsynaptic transfer of wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase in vivo. *J. Comp. Neurol.*, **242**: 632-650.
20. Brockhaus H. (1942a): Zur feineren Anatomie des Septum und des Striatums. *J. Psychol. Neurol. (Lpz)*, **51**: 1-56.
21. Brockhaus H. (1942b): Vergleichend-anatomische Untersuchungen über den Basalkernkomplex. *J. Psychol. Neurol. (Lpz)*, **51**: 57-95.
22. Calaresu F.R., Zhang J., Chitravanshi, V.C., McKittrick, D.J. (1994): Cardiovascular and single unit responses elicited by stimulation of the islands of Calleja and by changes in arterial pressure. *Brain Res.*, **655**: 45-50.
23. Calleja (1893): *La Region Olfactoria del Cerebro*. Madrid: N. Moya.
24. Carlezon W.A. Jr., Devine D.P., Wise R.A. (1995): Habit-forming actions of nomifensine in nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, **122**: 194-197.
25. Carmichael S.T. and Price J.L. (1996): Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.*, **371**: 179-207.
26. Carmichael S.T., Clugnet M.F., Price J.L. (1994): Central olfactory connections in the macaque monkey. *J. Comp. Neurol.*, **346**: 403-434.
27. Chang H.T., Wilson C.J., Kitai S.T. (1982): A Golgi study of rat neostriatal neurons: Light microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.*, **208**: 107-126.

28. Clarke P.B.S., White N.M., Franklin K.B. (1990): 6-Hydroxydopamine lesions of the olfactory tubercle do not alter (+)-amphetamine-conditioned place preference. *Behav. Brain. Res.*, **36**: 185-188.
29. Crosby, Humphrey (1941): Studies of the vertebrate telencephalon. II. The nuclear pattern of the anterior olfactory nucleus, tuberculum olfactorium and the amygdaloid complex in adult man. *J. Comp. Neurol.*, **74**: 309-352.
30. Danner H. and Pfister C. (1981c): Untersuchungen zur Zytoarchitektur des Tuberculum olfactorium der Ratte. *J. Hirnforsch.*, **22**: 685-696.
31. Davies B.J., Macrides F., Youngs W.M., Schneider S.P., Rosene D.L. (1978): Efferents and centrifugal afferents of the main and accessory olfactory bulbs in the hamster. *Brain Res. Bull.*, **3**: 59-72.
32. De Vente J., Hani L., Steinbusch H.E., Steinbusch H.W. (2001): The three dimensional structure of the islands of Calleja: a single heterogenous cell complex. *Neuroreport*, **12**: 565-568.
33. Desjardins C. and Parent A. (1992): Distribution of somatostatin immunoreactivity in the forebrain of the squirrel monkey: basal ganglia and amygdala. *Neuroscience*, **47**: 115-133.
34. Diaz J., Lévesque D., Lammers C.H., Griffon N., Martres M.P., Schwartz J.C., Sokoloff P. (1995): Phenotypical characterization of neurons expressing the dopamine D₃ Receptor in the rat brain. *Neuroscience*, **65**: 731-745.
35. Economo C. von, and Koskinas G.N. (1925): *Die Cytoarchitektur der Hirnrinde des erwachsenen Menschen*. Berlin: Springer.
36. Edelman G.M. (1983a): Cell adhesion molecules. *Science*, **219**: 450-457.
37. Edelman G.M. (1983b): Cell adhesion molecules: a molecular basis for animal form: *Sci. Amer.* **250**: 80-91.
38. Edelman G. M. (1992): Morphoregulation. *Dev. Dyn.*, **193**: 2-10.
39. Feizi T. (1985): Demonstration by monoclonal antibodies that carbohydrate structures of glycoproteins and glycolipids are onco-developmental antigens. *Nature*, **314**: 53-57.
40. Fallon J.H. (1983): The islands of Calleja complex of rat basal forebrain. II. Connections of medium and large sized cells. *Brain Res. Bull.*, **10**: 775-793.
41. Fallon J.H. and Moore R.Y. (1978): Catecholamine innervation of the basal forebrain. III. Olfactory bulb, anterior olfactory nuclei, olfactory tubercle and piriform cortex. *J. Comp. Neurol.*, **180**: 533-544.

42. Fallon J.H., Loughlin S.E., Ribak C.E. (1983): The islands of Calleja complex of rat basal forebrain. III. Histochemical evidence for a striatopallidal system. *J. Comp. Neurol.*, **218**: 91-120.
43. Fallon J.H., Riley J.N., Sipe J.C., Moore R.Y. (1978): The islands of Calleja: Organizations and connections. *J. Comp. Neurol.*, **181**: 375-396.
44. Fibiger H.C., LePiane F.G., Jakubovic A., Phillips A.G. (1987): The role of dopamine in intracranial self-stimulation of the ventral tegmental area. *J. Neurosci.*, **7**: 3888-3896.
45. Filimonov I.N. (1964): Comparative anatomy of the cerebral cortex of mammals. Paleocortex, archicortex, and intermediate cortex. English translation by V. Dukhoff. *IPRS:29:657*. Washington, D.C.: Office Scientific Information, Dept. Interior, p. 398.
46. Fox C.A. (1940): Certain basal telencephalic centers in the cat. *J. Comp. Neurol.*, **72**: 1-62.
47. Fox C.A., Andrade H.N., Luqui I.J., Rafols J.A. (1974): The primate globus pallidus. A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.*, **15**: 75-93.
48. French-Mullen J.M.H., Koller K., Zaczek R., Coyle J.T., Hori N., Carpenter D.O. (1985): N-Acetylaspartylglutamate: Possible role as the neurotransmitter of the lateral olfactory tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 3897-3900.
49. Fuller T.A., Russchen R.T., Price J.L. (1986): Sources of presumptive glutamergic / aspartergic afferents to the rat ventral striato-pallidal region. *J. Comp. Neurol.*, **256**: 317-338.
50. Ganser S. (1882): Vergleichend-anatomische Studien über das Gehirn des Maulwurfs. *Morphol. Jb.*, **7**: 591-725.
51. Gocht A. (1993): Zeitliches und räumliches Verteilungsmuster des onko-fetalen Antigens 3-Fucosyl-N-Acetylactosamin (CD15) im normalen und pathologisch veränderten Zentralnervensystem des Menschen. Habilitationsschrift, Med. Fakultät. Universität Hamburg.
52. Gonatas N.K., Harper C., Mizutani T., Gonatas J.O. (1979): Superior sensitivity of conjugates of horseradish peroxidase with wheat germ agglutinin for studies of retrograde axonal transport, *J. Histochem. Cytochem.*, **27**: 728-734.
53. Gonatas N.K., Kim S.U., Stieber A., Avrameas, A. (1977): Internalization of lectins in neuronal GERL. *J. Cell Biol.*, **73**: 1-13.

54. Gurdijan, E.S. (1925): Olfactory connections in the albino rat, with special reference to the stria medullaris and the anterior commissure. *J. Comp. Neurol.*, **38**: 127-163.
55. Haber S.N. and Nauta W.J.H. (1983): Ramifications of the globus pallidus in the rat as indicated by patterns of immunohistochemistry. *Neuroscience*, **9**: 245-260.
56. Haber S.N., Groenewegen H.J., Grove E.A., Nauta W.J.H. (1985): Efferent connections of the ventral pallidum: evidence of a dual striato pallidofugal pathway. *J. Comp. Neurol.*, **235**: 322-335.
57. Haberly L.B. and Price J.L. (1978): Association and commissural fiber systems of the olfactory cortex in the rat. I. Systems originating in the piriform cortex and adjacent areas. *J. Comp. Neurol.*, **178**: 711-740.
58. Hakomori S. (1981): Glycosphingolipids in cellular interaction, differentiation, and oncogenesis. *Annu. Rev. Biochem.*, **50**: 733-764.
59. Halliwell J.V. and Horne A.L. (1998): Evidence for enhancement of gap junctional coupling between rat island of Calleja granule cells in vitro by the activation of dopamine D3 receptors. *J. Physiol.*, **506**: 175-194.
60. Hamdani E.H., Kasumyan A., Doving K.B. (2001): Is feeding behaviour in crucian carp mediated by the lateral olfactory tract?. *Chem. Senses*, **26**: 1133-1138.
61. Hamdani E.H., Stabell O.B., Alexander G., Doving K.B. (2000): Alarm reaction in the crucian carp is mediated by the medial bundle of the medial olfactory tract. *Chem. Senses*, **25**: 103-109.
62. Hartz-Schütt C.G. und Mai J.K. (1991): Cholinesterase-Aktivität im menschlichen Striatum unter besonderer Berücksichtigung der Insulae terminales. *J. Hirnforsch.*, **32**: 317-342.
63. Heimer L. (1968): Synaptic distribution of centripetal and centrifugal nerve fibers in the olfactory system of the rat. An experimental anatomical study. *J. Anat.*, **103**: 413-432.
64. Heimer L. (1978): The olfactory cortex and the ventral striatum. In K. Livingston and O. Hornykiewicz (Eds.), *Limbic Mechanisms*, Plenum Press, New York, pp. 95-187.
65. Heimer L. (2003): A new anatomical framework for neuropsychiatric disorders and drug abuse. *Am. J. Psychiatry*, **160**: 1726-1739.

66. Heimer L., Alheid G.F., Zahm D.S. (1993): Basal forebrain organization: An anatomical framework for motor aspects of drive and motivation. In P.W. Kalivas and C.D. Barnes (Eds.), *Limbic-Motor Circuits and Neuropsychiatry*, CRC Press, Boca Raton, pp. 1-43.
67. Heimer L. and Alheid G.F. (1991): Piecing together the puzzle of basal forebrain anatomy. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **295**: 1-42.
68. Heimer L. and Wilson R.D. (1975): The subcortical projections of the allocortex: Similarities in the neural associations of the hippocampus, the piriform cortex and the neocortex. In M. Santini (Ed.), *Golgi Centennial Symposium. Proceedings*, Raven Press, New York, pp. 177-193.
69. Heimer L., Van Hoesen G.W., Rosene D.L. (1977): The olfactory pathways and the anterior perforated substance in the primate brain. *Int. J. Neurol.*, **12**: 42-52.
70. Heimer L., Zaborsky L., Zahm D.S., Alheid G.F. (1987): The ventral striatopallidothalamic projection: I. The striatopallidal link originating in the striatal parts of the olfactory tubercle. *J. Comp. Neurol.*, **255**: 571-591.
71. Hosoya Y. (1973): Electron microscopic observations of the granule cells (Calleja's islands) in the olfactory tubercle of rats. *Brain Res.*, **54**: 330-334.
72. Humphrey T. (1936): The telencephalon of the bat. I. The noncortical nuclear masses and certain pertinent fiber connections. *J. Comp. Neurol.*, **65**: 603-711.
73. Ikemoto S. (2003): Involvement of the olfactory tubercle in cocaine reward: intracranial self-administration studies. *J. Neurosci.*, **23**: 9305-9311.
74. Ikemoto S. and Wise R.A. (2002): Rewarding effects of the cholinergic agents carbachol and neostigmine in the posterior ventral tegmental area. *J. Neurosci.*, **22**: 9895-9904.
75. Ikemoto S. and Witkin B.M. (2003): Locomotor inhibition induced by procaine injections into the nucleus accumbens core, but not the medial ventral striatum: implication for cocaine-induced locomotion. *Synapse*, **47**: 117-122.
76. Ikemoto S., Qin M., Liu Z.H. (2005): The functional divide for primary reinforcement of D-Amphetamine lies between the medial and lateral Ventral Striatum: Is the division of the Accumbens core, shell and Olfactory tubercle valid?. *J. Neurosci.*, **25**: 5061-5065.
77. Itaya S. and Van Hoesen G. (1982): WGA-HRP as a transneuronal marker in the visual pathways of monkey and rat. *Brain Res.*, **236**: 199-204.

78. Jessel T.M., Hynes M.A., Dodd J. (1990): Carbohydrates and carbohydrate-binding proteins in the nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.*, **13**: 227-255.
79. Johnson T.N. (1957a): Studies on the brain of the guinea pig. I. The nuclear pattern of certain basal telencephalic centers. *J. Comp. Neurol.*, **107**: 353-377.
80. Johnson T.N. (1957b): The olfactory centers and connections in the cerebral hemisphere of the mole (*Scalopus aquaticus machrinus*). *J. Comp. Neurol.*, **107**: 379-425.
81. Josephson E., Padgett M.L., Buxton D.F. (1997): The lateral and medial compartments of the olfactory tubercle and their relation to olfactory-related input as determined by artificial neural network analysis. *Brain Res.*, **744**: 253-271.
82. Kimura H., McGeer P.L., Peng J.H., McGeer E.G. (1981): The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. *J. Comp. Neurol.*, **200**: 151-201.
83. Kornetsky C., Huston-Lyons D., Porrino L.J. (1991): The role of the olfactory tubercle in the effects of cocaine, morphine and brain-stimulation reward. *Brain Res.*, **541**: 75-81.
84. Kornfeld R., Kornfeld S. (1976): Comparative aspects of glycoprotein structure. *Annu. Rev. Biochem.*, **45**: 217-238.
85. Kornfeld R., Kornfeld S. (1985): Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu. Rev. Biochem.*, **54**: 631-664.
86. Krieger N.R., Kauer J.S., Shepherd G.M., Greengard P. (1977): Dopamine-sensitive adenylate cyclase within laminae of the olfactory tubercle. *Brain Res.*, **131**: 303-312.
87. Krieger N.R. (1980): Localization of dopamine-sensitive adenylate cyclase within the rat olfactory tubercle. *Brain Res.*, **183**: 383-391.
88. Krieger N.R., Megill J.R., Sterling P. (1983): Granule cells in the rat olfactory tubercle accumulate 3H-gamma-aminobutyric acid. *J. Comp. Neurol.*, **215**: 465-471.
89. Kuroda M. and Price J.L. (1991): Synaptic organization of projections from basal forebrain structures to the mediodorsal thalamic nucleus of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **303**: 513-533.
90. Landwehrmeyer B., Mengod G., Palacios J.M. (1993a): Differential visualization of Dopamine D₂ and D₃ receptor sites in rat brain. A comparative study using in situ hybridization histochemistry and ligand binding autoradiography. *Europ. J. Neuroscience*, **5**: 145-153.

91. Loo Y.T. (1931): The forebrain of the opossum, *Didelphys virginiana*. II. Histology. *J. Comp. Neurol.*, **52**: 1-148.
92. Luskin M.B. and Price J.L. (1983): The topographic organization of association fibers in the olfactory system in the rat, including centrifugal fibers to the olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.*, **216**: 264-291.
93. Luskin M.B. and Price J.L. (1983): The laminar distribution of intracortical fibers originating in the olfactory cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **216**: 292-302.
94. Macchi G. (1951): The ontogenetic development of the olfactory telencephalon in man. *J. Comp. Neurol.*, **95**: 245-305.
95. Mai J.K. (2002): CD15. In: *Encyclopedia of Molecular Medicine*, Ed. T.E. Creighton, John Wiley and Sons, New York, pp. 555-558.
96. Mai J.K., Reifenberger G. (1988): Distribution of the carbohydrate epitope 3-fucosyl-N-acetylglucosamine (FAL) in the adult human brain. *J. Chem. Neuroanat.*, **1**: 255-285.
97. Mai J.K., Krajewski S., Reifenberger G., Genderski B., Lensing-Hohn S., Ashwell K.W. (1999): Spatiotemporal expression gradients of the carbohydrate antigen (CD15) (Lewis X) during development of the human basal ganglia. *Neuroscience*, **88**: 847-858.
98. Matsutani S., Senba E., Tohyama M. (1989): Terminal field of cholecystinin-8-like immunoreactive projection neurons of the rat main olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.*, **285**: 73-82.
99. McKittrick D.J., Krukoff T.L., Calaresu F.R. (1992): Expression of c-fos protein in rat brain after electrical stimulation of the aortic depressor nerve. *Brain Res.*, **599**: 215-222.
100. Mensah P. and Deadwyler S. (1974): The caudate nucleus of the rat: Cell types and the demonstration of a commissural system. *J. Anat.*, **117**: 281-293.
101. Mesulam M.M., Mufson E.J., Levey A.I., Wainer B.H. (1984): Atlas of cholinergic neurons in the forebrain and upper brainstem of the macaque based on monoclonal choline acetyltransferase immunohistochemistry and acetylcholinesterase histochemistry. *Neuroscience*, **12**: 669-686.
102. Meyer G. and Wahle P. (1986): The olfactory tubercle of the cat. I. Morphological components. *Exp. Brain Res.*, **62**: 515-527.

103. Meyer G., Gonzales-Hernandez T., Carrillo-Padilla F., Ferres-Torres R. (1989): Aggregation of Granule Cells in the Basal Forebrain (Islands of Calleja): Golgi and Cytoarchitectonic Study in Different Mammals, Including Man. *J. Comp. Neurol.*, **284**: 405-428.
104. Meyer G., Gonzales-Hernandez T., Galindo-Mireles D., Carrillo-Padilla F., Ferres-Torres, R. (1994): NADPH-d activity in the islands of Calleja: a regulatory system of blood flow to the ventral striatum/pallidum?. *Neuroreport*, **5**: 1281-1284.
105. Mick G., Cooper H., Magnin M. (1993): Retinal projection to the olfactory tubercle and basal telencephalon in primates. *J. Comp. Neurol.*, **327**: 205-219.
106. Millhouse O.E. (1979): A Golgi anatomy of the rodent hypothalamus. In P. Morgane and J. Panksepp (eds): *Handbook of the Hypothalamus. Vol. 1, Anatomy of the Hypothalamus*. New York: Marcel Dekker, Inc., pp. 221-265.
107. Millhouse O.E. (1987): Granule cells of the olfactory tubercle and the question of the islands of Calleja. *J. Comp. Neurol.*, **265**: 1-24.
108. Millhouse O.E. and Heimer L. (1984): Cell configurations in the olfactory tubercle of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **228**: 571-597.
109. Mugnaini E. and Oertel W.H. (1985): An atlas of the distribution of GABAergic neurons and terminals of the rat CNS as revealed by GAD immunohistochemistry. In *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol.4, part 1*, ed. Björklund A. & Hökfelt T., Elsevier, Amsterdam, pp. 436-608.
110. Newman R. and Winans S.S. (1980): An experimental study of the ventral striatum of the golden hamster. II. Neuronal connections of the olfactory tubercle. *J. Comp. Neurol.*, **191**: 193-212.
111. Obenchain J.B. (1925): The brains of the South American marsupials, *Caenolestes* and *Orolestes*. *Field Mus. Nat. Hist. Zoo. Ser.*, **14**: 175-232.
112. Park M.R., Falls W.M., Kitai S.T. (1982): An intracellular HRP study of the rat globus pallidus. I. Responses and light microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.*, **211**: 284-294.
113. Pigache R.M. (1970): The anatomy of „paleocortex.“ A critical review. *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.*, **43**: 3-62.
114. Plank J., Mai J.K. (1992): Developmental expression of the 3-fucosyl-N-acetyl-lactosamine/CD15 epitope by an olfactory receptor cell population and in the olfactory bulb of the rat. *Dev. Brain Res.*, **66**: 257-261.

115. Poppof I. and Popoff V. (1929): Allocortex bei der Ratte (*Mus decumanus*). *J. Psychol. Neurol.*, **39**: 257-322.
116. Poppema S., Bahn A.K., Reinherz E.L., McCluskey R.T., Schlossman, S.F., (1981): Distribution of T cell subsets in human lymph nodes. *J. Exp. Med.*, **153**: 30-41.
117. Porrino L.J., Lyons D., Miller M.D., Smith H.R., Friedman D.P., Daunais J.B., Nader M.A. (2002): Metabolic mapping of the effects of cocaine during the initial phases of self-administration in the nonhuman primate. *J. Neurosci.*, **22**: 7687-7694.
118. Prado-Alcala R. and Wise R.A. (1984): Brain stimulation reward and dopamine terminal fields. I. Caudate-putamen, nucleus accumbens and amygdala. *Brain Res.*, **297**: 265-273.
119. Price J.L. (1973): An autoradiographic study of complimentary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *J. Comp. Neurol.*, **150**: 87-108.
120. Price J.L. (1987): The central olfactory and accessory olfactory system. In „Neurobiology of Taste and Smell“ (T.E. Finger and W.L. Silver, eds.), John Wiley and Sons, New York, pp. 179-204.
121. Price J.L. (2004): Olfaction. *The Human Nervous System, Second Edition*: 329-343.
122. Ragsdale L.W. and Graybiel A.M. (1988): Fibers from the basolateral nucleus of the amygdala selectively innervate striosomes in the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.*, **269**: 506-522.
123. Ramón y Cajal S. (1904): *Textura del sistema nervioso del Hombre y de los Vertebrados*. Madrid. Imprenta y libreria de Nicolas Moya, Tomo 2: pp. 993-998.
124. Ramón y Cajal S. (1911): *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertèbres*. French transl. By L. Azoulay. Paris: Maloine et Cie, Vol. 2: pp. 727-732.
125. Ramón y Cajal S. (1955): *Studies On The Cerebral Cortex (Limbic Structures)*. Trans. By L.M. Kraft. London: Lloyd Luke Medical Books, Ltd.
126. Rauvala H., Prieels J.P., Finne J. (1983): Cell adhesion mediated by a purified fucosyltransferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 3991-3995.
127. Reifenberger G., Mai J.K., Krajewsky S., Wechsler W. (1987): Distribution of anti-Leu-7, anti-Leu-11a and anti-Leu M1 immunoreactivity in the brain of the adult rat. *Cell Tiss. Res.*, **248**: 305-313.

128. Ribak C.E. and Fallon J.H. (1982): The islands of Calleja complex of rat basal forebrain. I. Light and electron microscopic observations. *J. Comp. Neurol.*, **205**: 207-218.
129. Riedel A., Hartig W., Seeger G., Gartner U., Brauer K., Arendt T. (2002): Principles of rat subcortical forebrain organization: a study using histological techniques and multiple fluorescence labeling. *J. Chem. Neuroanat.*, **23**: 75-104.
130. Rodd-Henricks Z.A., McKinzie D.L., Li T.K., Murphy J.M., McBride W.J. (2002): Cocaine is self-administered into the shell but not the core of the nucleus accumbens of Wistar rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**: 1216-1226.
131. Rose M. (1926): Der Allocortex bei Tier und Mensch. I. Teil. *J. Psychol. Neurol.*, **34**: 1-111.
132. Rose M. (1929): Cytoarchitektonischer Atlas der Großhirnrinde der Maus, *J. Psychol. Neurol.*, **40**: 1-51.
133. Ruda M. and Coulter J. (1982): Axonal and transneuronal transport of wheat germ agglutinin demonstrated by immunocytochemistry, *Brain Res.*, **249**: 237-246.
134. Russchen F.T. and Price J.L. (1984): Amygdalostriatal projections in the rat. Topographical organization and fiber morphology shown using the lectin PHA-L as anterograde tracer. *Neurosci. Lett.*, **47**: 15-22.
135. Rutishauser U., Grumet M., Edelman G.M. (1983): Neural cell adhesion molecule mediates initial interactions between spinal cord neurons and muscle cells in culture. *J. Cell Biol.*, **97**: 145-152.
136. Sadikot A.F., Parent A., François C. (1990): The centre median and parafascicular thalamic nuclei project respectively to the sensorimotor and associative-limbic striatal territories in the squirrel monkey. *Brain Res.*, **510**: 161-165.
137. Sanides F. (1957): Die Insulae terminales des Erwachsenengehirns. *J. Hirnforsch.*, **3**: 244-273.
138. Sanides F. (1958): Vergleichend morphologische Untersuchungen an kleinen Nervenzellen und an Gliazellen. *J. Hirnforsch.*, **4**: 113-148.
139. Sarkisov S.A., Filimonov I.N., Kononova E.P., Preobrazhenskaja N.C., Kukuev P.A. (1955): Atlas of the cytoarchitectonics of the human cerebral cortex (in Russian), Moskow: Medgiz.
140. Scalia F. and Winans S.S. (1975): The differential projections of the olfactory bulb and the accessory olfactory bulb in mammals. *J. Comp. Neurol.*, **161**: 31-55.

141. Schnitzlein H.M. (1966): The olfactory tubercle of the african lung-fish *Protopterus*. *Ala. J. Med.*, **118**: 225-267.
142. Schwob J.E. and Price J.L. (1978): The cortical projection of the olfactory bulb: development in fetal and neonatal rats correlated with quantitative variations in adult rats. *Brain Res.*, **151**: 369-374.
143. Schwob J.E. and Price J.L. (1984): The development of axonal connections in the central olfactory system of rats. *J. Comp. Neurol.*, **223**: 177-202.
144. Scott J.W. (1981): Electrophysiological identification of mitral and tufted cells and distributions of their axons in olfactory system of the rat. *J. Neurophysiol.*, **46**: 918-931.
145. Sesack S., Dutch A., Roth R., Bunney B. (1989): Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: An anterograde tract-tracing study with *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *J. Comp. Neurol.*, **290**: 213-242.
146. Sharon S. (1980): Carbohydrates. *Sci. Amer.*, **243**: 80-97.
147. Shipley M.T. (1985): Transport of molecules from nose to brain: Transneuronal anterograde and retrograde labeling in the rat olfactory system by wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase applied to the nasal epithelium. *Brain Res. Bull.*, **15**: 129-142.
148. Shipley M.T., Mc Lean J.H., Ennis M. (1995): Olfactory System in the Rat Nervous System. (Paxinos G.: Ed.), San Diego, CA, Academic Press, pp. 899-926.
149. Singer M. (1962): The brain of the dog in section. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London, pp. 47-120.
150. Skeen L.C. and Hall W.C. (1977): Efferent projections of the main and accessory olfactory bulb in the tree shrew (*Tupaia glis*). *J. Comp. Neurol.*, **172**: 1-36.
151. Skubitz K., Balke J., Ball E., Bridges R., Buescher E.S, Campos L., Harvath L., Kerr M., Kniep B., Spitalnik P., Spitalnik S., Skubitz A., Thompson J., Wick M., Williams L. (1989): Report on the CD15 cluster workshop. In: *Leucocyte Typing IV. White Cell Differentiation Antigens* (Knapp W., et al.: Eds.), Oxford University Press, Oxford, pp. 800-805.
152. Slotnick B.M. and Schoonover F.W. (1992): Olfactory pathways and the sense of smell. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **16**: 453-472.

153. Smith Y., Parent A., Seguela P., Descarries L. (1987): Distribution of GABA-immunoreactive neurons in the basal ganglia of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *J. Comp. Neurol.*, **259**: 50-64.
154. Sokoloff P. and Schwartz J.C. (1995): Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends in Pharmacological Sciences*, **16**: 270-275.
155. Solano-Flores L.P., Aguilar-Baturoni H.U., Guevera-Aguilar R. (1980): Locus coeruleus influences upon the olfactory tubercle. *Brain. Res. Bull.*, **5**: 383-389.
156. Stein E.A. and Fuller S.A. (1992): Selective effects of cocaine on regional cerebral blood flow in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **262**: 327-334.
157. Stephan H. (1975): *Allocortex. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. 4: Nervensystem. 9. Teil.* New York: Springer-Verlag.
158. Swanson L.W. (1976): An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **167**: 227-256.
159. Switzer R.C., Hill J., Heimer L. (1982): The globus pallidus and its rostroventral extension into the olfactory tubercle of the rat: a cyto- and chemoarchitectural study. *Neuroscience*, **7**: 1891-1906.
160. Szentágothai J., Flerkó B., Mess B., Halász B. (1972): *Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary.* Budapest: Akademiai Kiado.
161. Talbot K., Woolf N.J., Butcher L.L. (1988): Feline islands of Calleja complex: I. Cytoarchitectural organization and comparative anatomy. *J. Comp. Neurol.*, **275**: 553-579.
162. Talbot K., Woolf N.J., Butcher L.L. (1988): Feline islands of Calleja complex: II. Cholinergic and cholinesterasic features. *J. Comp. Neurol.*, **275**: 580-603.
163. Turner B.H., Gupta K.C., Mishkin M. (1978): The location and cytoarchitecture of the projection areas of the olfactory bulb in *Macaca mulatta*. *J. Comp. Neurol.*, **177**: 381-396.
164. Voorn P., Jorritsma-Byham B., Van Dijk C., Buijs R.M. (1986): The dopaminergic innervation of the ventral striatum in the rat: a light- and electron-microscopical study with antibodies against dopamine. *J. Comp. Neurol.*, **251**: 84-99.
165. Wahle P. and Meyer G. (1986): The olfactory tubercle of the cat. II. Immunohistochemical compartmentation. *Exp. Brain Res.*, **62**: 528-540.

166. Walaas S.I. and Fonnum F. (1979): The distribution and origin of glutamate decarboxylase and choline acetyltransferase in ventral pallidum and other basal forebrain regions. *Brain Res.*, **177**: 325-336.
167. Walaas S.I. and Ouimet C.C. (1989): The ventral striatopallidal complex: an immunocytochemical analysis of medium-sized striatal neurons and striatopallidal fibers in the basal forebrain of the rat. *Neuroscience*, **28**: 663-672.
168. Walker J.R., Terenius L., Koob G.F. (2002): Conditioned opioid withdrawal decreases nociceptin / orphanin FQ levels in the frontal cortex and olfactory tubercle. *Neuropsychopharmacology*, **27**: 203-211.
169. Weltzien F.A., Hoglund E., Hamdani E.H., Doving K.B. (2003): Does the lateral bundle of the medial olfactory tract mediate reproductive behaviour in male crucian carp?. *Chem. Senses*, **28**: 293-300.
170. White L.E., Jr. (1965): Olfactory bulb projections of the rat. *Anat. Rec.*, **152**: 465-480.
171. Wilson R.D. (1972): The neuronal associations of the nucleus accumbens septi. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass. (master's thesis)
172. Yamamoto M., Boyer A.M., Schwarting G.A. (1985): Fucose-containing glycolipids are stage- and region- specific antigens in developing embryonic brain of rodents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 3045-3049.
173. Young M.W. (1936): The nuclear pattern and fiber connections of the non-cortical centers of the telencephalon of the rabbit (*Leptus cuniculus*). *J. Comp. Neurol.*, **65**: 295-377.
174. Young S.W., Alheid G.F., Heimer L. (1984): The ventral pallidal projection to the mediodorsal thalamus: A study with fluorescent retrograde tracers and immunohistofluorescence. *J. Neurosci.*, **4**: 1626-1638.
175. Zaborsky L., Alheid G.F., Beinfeld M.C., Eiden L.E., Heimer L., Palkovits M. (1985): Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: a morphological and radioimmunological study. *Neuroscience.*, **14**: 427-453.
176. Zahm D.S. (1987): Neurotensin-immunoreactive neurons in the ventral striatum of the adult rat: ventromedial caudate-putamen, nucleus accumbens and olfactory tubercle, *Neurosci. Lett.*, **81**: 41-47.

177. Zahm D.S. and Heimer L. (1985): Synaptic contacts of ventral striatal cells in the olfactory tubercle of the rat: Correlated light and electron microscopy of anterogradely transported Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neurosci. Lett.*, **60**: 169-175.

Danksagungen

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. J. K. Mai für die Vergabe dieser außerordentlich interessanten Arbeit, sowie für seine umfassende und intensive Betreuung.

Mein Dank gilt auch Herrn T. Voß, ohne dessen konstruktive Kritik, Hilfsbereitschaft und Engagement die Durchführung dieser Arbeit um ein Vielfaches erschwert gewesen wäre.

Frau U. Lammersen und Frau B. Machus bin ich sehr dankbar für die Hilfe bei der Anfertigung der Schnittpräparate und ihrer immunhistochemischen Färbung. Weiterhin habe ich ihnen zu danken für die Unterstützung bei der Anfertigung der Scans.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern, da sie mir in meinem Studium geduldig zur Seite standen und ich mich auf ihre Unterstützung stets verlassen konnte.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei allen, die mich während der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Lebenslauf

Name: Hojczyk
Vorname: Krystian
Geburtsdatum: 27. Juli 1979
Geburtsort: Liegnitz
Eltern: Jan und Gerda Hojczyk, geborene Rokus
Geschwister: Aneta und Marek Hojczyk

Schulbildung

1986 bis 1990: Besuch der Grundschule Werdener Straße, Velbert
1990 bis 1999: Besuch des Geschwister-Scholl-Gymnasiums, Velbert

Zivildienst

1999 bis 2000: Zivildienst im Klinikum Niederberg, Velbert

Studium

2000 bis 2005: Studium der Zahnmedizin an der Heinrich-Heine-Universität,
Düsseldorf
2003: Zahnärztliche Vorprüfung
2005: Staatsexamen

Promotion

2003 bis 2006: Immunhistochemische und stereologische Arbeit im Zentrum für
Anatomie und Hirnforschung der Heinrich-Heine-Universität,
Düsseldorf

Zusammenfassung

Computergestützte 3D-Rekonstruktion der CD-15 Immunreaktivität im Tuberculum olfactorium des Hundes (Krystian Hojczyk)

Das Tuberculum olfactorium (Tu) stellt ein Areal in der Übergangsregion von orbitofrontalem und medialem temporalen Kortex einerseits und basalen Vorderhirnstrukturen andererseits dar. Makroskopisch handelt es sich um die Region zwischen dem Trigonum olfactorium (OTr) und dem Chiasma opticum (ox) (Allison, 1954).

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene immunhistochemische Methoden angewendet, die der Beschreibung der Organisation des Tu dienen sollten. Unter den verschiedenen Antikörpern, die für die chemoarchitektonische Analyse des Tu zum Einsatz kamen, zeigte der Antikörper gegen das CD15-Epitop die informativsten Befunde. Striatum, striatale Zellgruppen und damit assoziierte Zell-Ensembles, sog. Taschen, stellten sich mit sehr hoher Intensität und deutlichem Kontrast gegenüber der Umgebung dar. Dies bot die Gelegenheit, die immunreaktiven Areale des Tu dreidimensional zu rekonstruieren.

Gemessen vom Zentrum der vorderen Kommissur (ac) ließ sich im Abstand von 7,06 mm nach rostral erstmals ein immunreaktives Areal im Gebiet des Tu erkennen. Vom ersten Anschnitt bis zum kaudalen Ende des CD15-immunreaktiven Tu lagen 326 Frontalschnitte mit einer Dicke von jeweils 20 µm. Innerhalb dieser Ausdehnung standen 110 CD15-gefärbte Schnitte für die Analyse zur Verfügung, von denen für die Bearbeitung am Computer Lumogramme angefertigt wurden.

Durch verschiedene Intensitäten der CD15-Immunreaktivität (IR) und aufgrund unterschiedlicher Expressionsmuster konnten immunreaktive Areale den zerebralen Strukturen eindeutig zugeordnet werden. Die Segmentierung des immunreaktiv markierten Tu erfolgte visuell aufgrund von immunhistochemischen Kontrasten und Strukturunterschieden. Im CD15-Bild stellte sich das immunreaktive Material in sehr charakteristischen, reiterierenden Mustern dar. Diese wurden in dieser Arbeit als glockenförmige Elemente beschrieben. Die Abgrenzung der neun glockenförmigen Segmente des Tu konnte dank der Analyse der Nachbarschnitte zweifelsfrei vollzogen werden.

Im typischen Fall konnte jede einzelne Glocke, auch als Insula terminalis olfactoria (ITO) bezeichnet, deutlich in Basis, mittleres Zellband und Kappe gegliedert werden. Die zytologische Untersuchung zeigte, dass diese Gliederung den drei Zellschichten des Tu zuzuordnen ist: Molekulare Schicht, Pyramidenzellschicht und multiforme Schicht.

Entsprechend dem Auftreten in antero-posteriorer Richtung sind die Glocken mit der Benennung ITO1-9 versehen. Aus den analysierten Schnittbildern wurde zwischen den lateralen und den medialen Inseln ein deutlicher Gradient erkennbar. Im Vergleich mit den lateralen ITOs bestechen die medialen Inseln durch eine schwächere CD15-IR, deutliche Unterbrechungen, eine geringere antero-posteriore Ausdehnung und ein geringeres Volumen.

Im Verlauf der Schnittserie zeigte das immunreaktive Tu enge Lagebeziehungen zu Nachbarstrukturen. In diesem Zusammenhang spielten der piriforme Kortex (Pir) und der Nucleus accumbens (Acb) eine besondere Rolle. Aufgrund der medio-lateralen Expansion des immunreaktiven Tu schmiegt sich das am lateralsten gelegene Segment ITO5 dem Pir an, so dass die durch ein CD15-negatives Band repräsentierte Pyramidenzellschicht des Pir unmittelbar Anschluss an das mittlere Zellband des immunreaktiven Tu findet. Im Areal des Acb konnte aufgrund von Unterschieden in der CD15-Expression im vorderen Bereich ein ventraler Anteil (vAcb) gegenüber einem dorsalen Anteil (dAcb) deutlich abgegrenzt werden, während im hinteren Bereich eine Unterteilung in einen medialen (mAcb) und einen lateralen Abschnitt (lAcb) vorgenommen werden konnte. Während der vordere Acb durch ein CD15-negatives Gebiet vom immunreaktiven Tu separiert ist, sind weiter hinten sowohl im vAcb als auch im mAcb und lAcb fingerförmige Strukturen erkennbar, welche sich mit den Kappen mehrerer ITOs verbinden.

Die dreidimensionale Rekonstruktion des segmentierten Tu und des ventralen Striatums (VStr) ergab folgende Befunde: Der laterale Abschluss des rekonstruierten Tu ist breitflächig, was in deutlichem Unterschied zum medialen Ende steht, wo das Abschlusselement zipfelförmig ausgezogen erscheint. Das segmentierte Tu weitet sich trichterförmig nach hinten aus. Jede ITO beginnt spitz und gewinnt in Richtung auf das hintere Ende an Breite. Der hintere Abschluss des Tu ist abrupt. Wie im CD15-Bild sind in der Rekonstruktion zahlreiche Verbindungselemente zwischen dem Acb und den Kappen der ITOs erkennbar.