

Chapter 5 - Zusammenfassung

Die hier vorliegende Dissertation untersucht den Zusammenhang zwischen den tiefgreifenden strukturellen und funktionellen Veränderungen, die ein Neuron während der - für holometabole Insekten typischen - Metamorphose durchläuft. Modellhaft wird dieser Prozess anhand des Dendritenbaums eines identifizierten Neurons, des Motorneurons 5 (MN5), dargestellt. Das MN5 ist Teil des Flugnetzwerkes des Tabakswärmers, *Manduca sexta*. Die außerordentliche strukturelle Dynamik dieses Neurons eröffnet die Möglichkeit, aktuell diskutierte und aus entwicklungs-neurobiologischer Sicht entscheidende Fragen zu stellen. Allen voran möchte ich nennen: Ist die Architektur eines Dendritenbaumes tatsächlich entscheidend um die für verschiedene Funktionen unterschiedlichen *output*-Muster zu generieren? Was sind die Mechanismen, die den hoch koordinierten Aufbau von dendritischer Struktur bestimmen?

In beiden Manuskripten, die der Arbeit zugrunde liegen, wurden Softwarealgorithmen verwendet, welche anhand konfokalmikroskopischer Bilderstapel die Rekonstruktion 3-dimensionaler Neuronenstrukturen ermöglichen. Gerade um die, für Verrechnungs- und Verschaltungseigenschaften entscheidenden, synaptischen Strukturen darzustellen wurden hochauflösende Aufnahmen, d.h. im Bereich der lichtmikroskopisch möglichen Auflösungsgrenze aufgenommene Bilderstapel verwendet. Es war hierdurch möglich, ein Verteilungsmuster markierter Proteine entlang der gesamten neuronalen Oberfläche eines Dendritenbaumes quantitativ zu erfassen.

Das erste Manuskript (Kapitel 2) behandelt dendritische Struktur und Synapsenverteilungsmuster des MN5 während der Entwicklung, wobei der Vergleich zwischen larvaler und adulter Morphologie im Zentrum der Betrachtung steht. Ich konnte zeigen, dass GABAerge Synapsen im Dendritenbaum des MN5 entwicklungsabhängig unterschiedlich lokalisieren. Multi-Kompartiment Simulationen der ermittelten Synapsenverteilung wurden anhand rein passiver Signalfortleitungseigenschaften durchgeführt. Diese Modell-Simulationen deuten darauf hin, dass die vom Entwicklungsstand abhängigen dendritischen Verzweigungsmuster und Synapsenverteilungen zu einer dem Verhalten adäquaten neuronalen Erregbarkeit beitragen können. Es war nicht beabsichtigt in den Simulationsversuchen die realen Eigenschaften des Neurons mit einzubeziehen, sondern aufzuzeigen, dass rein anhand der passiven Filtereigenschaften die entwicklungspezifische Struktur und

Synapsenverteilung zu funktionellen Anpassungsleistungen beitragen können. Aussichtsreich erscheinen mir solche experimentellen Ansätze, die klären, ob die gemachten Voraussagen auch bestehen bleiben, wenn das Multi-Kompartiment Modell mit aktiven Ionen Leitfähigkeiten ausgestattet wird, d.h. mit solchen Eigenschaften, die für den Dendriten des MN5 bereits gezeigt wurden. Ebenfalls viel versprechend ist es, andere Transmitterklassen und auch die Rezeptoren auf der postsynaptischen Seite in diesem Zusammenhang zu untersuchen. Voraussetzung dafür sind jedoch entweder die Herstellung adäquater Antikörper oder das für *Manduca* komplementäre *Drosophila* Modell mit GFP markierten Rezeptoren zu verwenden. Hier möchte ich erwähnen, dass Motorneurone geringerer Komplexität verwendet werden sollten, weil die Rekonstruktion des MN5 mit ungefähr 9.000 Dendriten und einer Gesamtlänge von 40.000 μm eine sehr zeitaufwendige Arbeit darstellt, auch mit den hier angewandten, semiautomatischen Methoden.

In dem zweiten Manuskript wird die Frage aufgeworfen, ob die pharmakologische Inhibition der von Chlorid-Ionen getragenen Ströme einen Einfluss auf die postembryonale Entwicklungsdynamik ausübt. Die durch diese Hemmung hervorgerufene neuronale Übererregbarkeit während der Metamorphose rief tatsächlich eine signifikante Längen- und Komplexitätszunahme des Dendritenbaumes hervor. Ebenso wurden eine verminderte Dichte von GABAergen Eingängen auf dem Dendritenbaum und motorischen Verhaltensänderungen an adulten Tieren festgestellt. Diese Ergebnisse deuten auf eine Beeinträchtigung, verursacht durch den fehlenden Chloridstrom, während des dendritischen Wachstums und der Synaptogenese hin. Bandbreite und Wirkmechanismus der durch systemische Injektion von Picrotoxin hervorgerufenen Effekte werden diskutiert.

Ausgehend von den hier präsentierten Ergebnissen möchte ich zukünftige, mögliche Experimente vorschlagen, welche das Zusammenspiel von dendritischer Struktur und Verhaltensanpassungen eines Tieres noch eingehender klären können. Erstens, wurden von Picrotoxin verursachte strukturelle Veränderungen in dem dendritischen Aufbau ermittelt, die als strukturelle Homöostase interpretiert werden. Letzteres könnte durch die Anwendung der oben erwähnten Simulationsmodelle auch auf den beobachteten strukturellen Picrotoxin-Effekt direkt überprüft werden. Daraus resultierend, könnte die Dimension von homöostatischen Mechanismen zur Aufrechterhaltung der entsprechenden neuronalen Funktion erweitert werden. Zweitens ist das Auffinden von präsynaptischen Neuronen auf das MN5 von größtem Interesse. Elektrophysiologische

Messungen der intrinsischen Membraneigenschaften, Bestimmung des Feuervermögens eines Neurons und der Integration dieser Aktivitäten in neuronale Netzwerke könnten korreliert werden an die hoch präzisen 3-dimensionalen Neuronen-Rekonstruktionen, den ermittelten GABA Synapsenverteilung, oder anderen Transmittermolekülen und deren Bedeutung für die Verrechnungsprozesse ermittelt werden. Schließlich erscheint das Modellsystem des Motoneuron 5 auch in der Fruchtfliege *Drosophila* als attraktives Referenzsystem, um das Zusammenspiel von dendritischer Geometrie und Verrechnungseigenschaften eines Neurons zu untersuchen. Moderne genetische Manipulationsmöglichkeiten in *Drosophila* erlauben eine systematische Überprüfung des Einflusses entwicklungsabhängiger Mechanismen auf neuronale Verschaltung und Verhalten. Manipulationen in individuellen Neuronen würden darüber hinaus helfen, den von PicROTOXIN induzierten Mechanismus aufzuzeigen. Gezielte Manipulation durch knock-out oder Überexpression von GABAergen Rezeptoren in *Drosophila*-Motoneuronen, würden sicher einen sehr eleganten Weg darstellen, die strukturellen Veränderungen, ausgelöst durch neuronale Übererregbarkeit beziehungsweise durch verminderten Erregbarkeit, ursächlich zu verstehen.