

Aus der Klinik für Neurologie  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin  
Berlin und dem Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin,  
Berlin-Buch

## **DISSERTATION**

Einflüsse adulter hippocampaler Neurogenese auf  
Morphologie und Plastizität des Moosfasertraktes

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –  
Universitätsmedizin Berlin

von

Benedikt Römer  
aus Sindelfingen

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. G. Kempermann  
2. Prof. Dr. J. H. R. Lübke  
3. Prof. Dr. H.P. Lipp

Datum der Promotion: 23.3.2007

1	<b>Einleitung</b> .....	5
1.1	Geschichte der Entdeckung der adulten Neurogenese.....	5
1.2	Die Regulation adulter Neurogenese .....	6
1.3	Die Integration neuer Zellen in den adulten Hippokampus.....	9
1.4	Die Morphologie des Hippokampus .....	11
1.5	Die Funktion des Hippokampus .....	13
1.6	Zusammenhänge zwischen der Morphologie des Moosfasertraktes und dem Verhalten.....	16
1.7	Die funktionelle Bedeutung der Integration neuer Nervenzellen in die bestehenden Netzwerke des Hippokampus .....	17
1.8	Fragestellung .....	20
2	<b>Material und Methoden</b> .....	22
2.1	Der experimentelle Aufbau.....	22
2.2	Versuchstiere .....	23
2.2.1	Exkurs: Rekombinante Inzuchtstämme .....	24
2.3	Versuchsaufbau und –bedingungen .....	25
2.3.1	Experimentelles Design.....	25
2.3.2	Allgemeine Tierhaltungsbedingungen .....	26
2.3.3	BrdU .....	27
2.4	Gewebepräparation.....	27
2.4.1	Narkose .....	27
2.4.2	Perfusion .....	27
2.4.3	Entnahme des Gehirns.....	28
2.4.4	Postfixation, Sucrose.....	28
2.4.5	Anfertigung von Schnittserien.....	28
2.4.6	Durchführung immunhistochemischer Färbemethoden .....	28
2.4.7	Verwendete Antikörper .....	30
2.5	Morphometrie des Moosfasertraktes.....	31
2.6	Statistik .....	31
3	<b>Resultate</b> .....	33
3.1	Bei Mäusen, die in einer reizreichen Umgebung leben, nimmt die relative Größe der infrapyramidalen Moosfaserprojektion zu. ....	33
3.2	Die Stimulation der Neurogenese durch Kainat-induzierte Krampfanfälle führt zu einem absoluten und relativen Größenzuwachs der infrapyramidalen Moosfaserprojektion. ....	35

3.3	Die beiden Progenitorstämme des RI-Sets BXD, C57BL/6 und DBA, zeigen deutliche Unterschiede hinsichtlich der Moosfaserverteilung, der Neurogenese und des räumlichem Gedächtnisses.....	39
3.4	Zusammenhänge zwischen dem Abschneiden im „Morris Wasserlabyrinthtest“ und der Neurogeneserate.....	41
3.5	Die Größe der infrapyramidalen Moosfaserprojektion korreliert mit der Latenzzeit und der Strecke zum Erreichen der Plattform. ....	41
3.6	In verschiedenen Mäusestämmen korrelieren Parameter der hippocampalen Neurogenese mit der Größe der infrapyramidalen Moosfaserprojektion.....	43
4	<b>Diskussion</b> .....	46
5	<b>Zusammenfassung</b> .....	56
6	<b>Referenzen</b> .....	58
7	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	70
8	<b>Danksagung</b> .....	71

## 5 Zusammenfassung

Obwohl der Großteil der Nervenzellen des Gehirns während der Entwicklung gebildet wird, gibt es zwei Regionen, in denen selbst im erwachsenen Gehirn kontinuierlich aus neuronalen Stammzellen neue Nervenzellen gebildet werden. Es ist wenig darüber bekannt, wie diese Zellen morphologisch ausreifen und wie sie sich in die bestehenden Netzwerke integrieren. In der vorliegenden Arbeit habe ich die morphologische Entwicklung axonaler Fortsätze neugeborener Körnerzellen im Gyrus dentatus des adulten murinen Hippokampus untersucht. Die Axone der Körnerzellen bilden den sogenannten Moosfasertrakt und stellen im trisynaptischen Schaltkreis des Hippokampus die wichtigste Efferenz des Gyrus dentatus zu den Pyramidenzellen der Cornu ammonis Region 3 (CA3) dar.

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, in wieweit adulte Neurogenese die Morphologie des Moosfasertraktes beeinflusst und damit zur bereits bekannten außerordentlichen strukturellen Plastizität des infrapyramidalen Moosfasertraktes (IMF) beiträgt.

Mit Hilfe einer Methoden, die die Visualisierung neugeborener Zellen inklusive ihrer Fortsätze ermöglicht (retrovirale Markierung neugeborener Nervenzellen), konnte das Auswachsen der Axone neugeborener Körnerzellen bevorzugt entlang des IMF nach CA3 gezeigt werden.

Dieses Ergebnis konnte bestätigt werden, indem der Einfluss adulter Neurogenese auf die Größe von Hilus, SP-MF und IMF in drei Experimenten, die eine dynamische Regulation der Anzahl neugebildeter Nervenzellen zur Folge haben, untersucht wurde. Mit Hilfe immunhistochemischer Methoden wurden die Zahl und der Entwicklungsstand neugeborener Zellen und die Volumina der Unterfelder des Moosfasertraktes bestimmt und korreliert. Sowohl in Folge einer physiologischen Stimulierung adulter Neurogenese durch das Leben in einer reizreichen Umgebung, als auch nach pathologischer Stimulierung durch Kainat-induzierte Krampfanfälle, kam es zu einem signifikanten Größenzuwachs des IMF. Bei 12 genetisch verwandten Mäusestämmen des BXD-Sets fanden sich signifikante Zusammenhänge

zwischen adulter Neurogenese, der Größe des IMF und dem Lernverhalten der Tiere.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

BrdU	5-bromo-3'-deoxyuridin
CA1	Cornu ammonis, area 1
CA3	Cornu ammonis, area 3
GCL	Körnerzellschicht
CR	Calretinin
CTL	Experimentalgruppe unter Standardlaborbedingungen
ENR	Experimentalgruppe unter reizreichen Umgebungsbedingungen (enriched environment)
IMF	infrapyramidale Moosfaserprojektion
KA	Kainat
NeuN	neuronal nuclei
PCL	Pyramidenzellschicht
POMC	Pro-opio-melanocortin
PSA-NCAM	polysialylated neural cell adhesion molecule
SGZ	Subgranuläre Zone
SP-MF	Suprapyramidale Moosfaserprojektion
SVZ	Subventrikuläre Zone

## 8 Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater Herrn PD Dr. Gerd Kempermann für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit und die ausgezeichnete neurowissenschaftliche Ausbildung danken.

Ich danke allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe „Neuronale Stammzellen“ des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin, für die fruchtbare und freundschaftliche Zusammenarbeit. Ganz besonders danke ich hierbei Herrn Dr. Harish Babu, Frau Dr. Anika Bick-Sander, Herrn Dr. Moritz Brandt, Herrn Dr. Dan Ehninger, Ana García, Friederike Klempin und Frau Dr. Barbara Steiner für die vielen gemeinsamen Stunden innerhalb und auch außerhalb des Labors.

Ein ganz besonderer Dank gilt ich meinem Betreuer Herrn Dr. Sebastian Jessberger für die exzellente Unterstützung und die hilfreichen Diskussionen, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Uwe Heinemann, als Sprecher des Graduiertenkollegs GRK 238 „Schadensmechanismen im Nervensystem - Einsatz von bildgebenden Verfahren“, für die Ausbildung und Förderung.

Mein herzlicher Dank gilt meiner Familie für ihre uneingeschränkte Unterstützung und ihren Zuspruch während des gesamten Studiums.



## **Curriculum Vitae**

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.



## Erklärung

Ich, Benedikt Römer, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Einflüsse adulter hippokampaler Neurogenese auf Morphologie und Plastizität des Moosfasertraktes“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

.....

Unterschrift

.....

Datum