

## 5 Zusammenfassung

Die strukturelle Plastizität des adulten Gehirns beinhaltet das axonale Wachstum, die Neubildung von Synapsen sowie die Genese neuer Gliazellen und — in bestimmten Arealen des Cerebrums — auch neuer Neurone. Diese neurogenen Areale sind der Bulbus olfaktorius und der Gyrus dentatus des Hippocampus. Insbesondere der Hippocampus, in dem Gedächtnisinhalte verarbeitet und gespeichert werden, stand im Mittelpunkt der Neurogeneseforschung der letzten Jahre. Die meisten bisherigen Studien beschäftigten sich mit zwei Schlüsselereignissen der adulten Neurogenese: die Proliferation der Stammzellen und die Zahl der neu entstandenen reifen Zellen (Körnerzellen) vier Wochen nach der Zellteilung. In der hier vorliegenden Studie wurde das Expressionsmuster unterschiedlicher Proteine (insbesondere calciumbindender Proteine) benutzt, um verschiedene Entwicklungsstadien adulter Neurogenese zu charakterisieren.

Proliferierende Zellen wurden mittels Injektion des Thymidin-Analogons BrdU und anschließender immunhistochemischer Bearbeitung mit spezifischen Antikörpern in vivo sichtbar gemacht und sowohl qualitativ als auch quantitativ untersucht. Es wurde die Expression drei verschiedener calciumbindender Proteine (Calbindin, Calretinin und Parvalbumin) in den Vorläuferzellen zu verschiedenen Zeitpunkten (1 Tag, 3 Tage, 7 Tage, 2,5 Wochen und 4 Wochen) nach der BrdU-Applikation analysiert.

Wir fanden keine BrdU-markierten Zellen, die Parvalbumin exprimierten. Da Parvalbumin im Gyrus dentatus in Korbzellen (Interneuronen) exprimiert wird, konnten wir ausschließen, dass neue Korbzellen im erwachsenen Gyrus dentatus gebildet werden. Reife Körnerzellen exprimieren Calbindin frühestens drei bis vier Wochen nach der initialen Zellteilung, in der das BrdU aufgenommen wurde. Interessanterweise gab es aber auch BrdU-markierte Zellen, die Calretinin (CR) exprimierten, obwohl Calretinin bislang in dieser Hirnregion nur als Marker von Interneuronen bekannt war. Die CR-Expression begann bereits ein bis drei Tage nach der initialen Zellteilung der Vorläuferzellen, erreichte ein Maximum (75% der BrdU-markierten Zellen) eine Woche nach der BrdU-Applikation und verschwand vier bis sechs Wochen später in den inzwischen reifen Neuronen. Somit handelt es sich bei CR um ein relativ spezifisches transientes Genprodukt neu entstandener unreifer Neurone. Durch den Ausschluss der Kolo-kalisation interneuronspezifischer Marker wie GABA und dem GABA-A1-Rezeptor in den CR/BrdU-doppelmarkierten Zellen, konnte ausgeschlossen werden, dass es sich um neue Interneurone handelte. Die

Expression des körnerzellspezifischen Markers Prox-1 und des exzitatorischen Neurotransmittertransporters EAAT bewiesen hingegen, dass es sich bei diesen Zellen um neu entstandene exzitatorische Körnerzellen handelte. Mit Hilfe des Proliferationsmarkers Ki-67 konnte gezeigt werden, dass die transiente Expression Calretinins in den unreifen Körnerzellen auf das postmitotische Entwicklungsstadium beschränkt ist: CR-positive Zellen waren stets Ki-67-negativ.

In einem zusätzlichen Experiment wurde untersucht, ob Stimuli, die adulte Neurogenese steigern (körperliche Aktivität, Stimulation durch eine reizreiche Lebensumgebung und epileptische Anfälle), einen unterschiedlichen Einfluss auf die Zahl CR-positiver Zellen haben. Die Ergebnisse dieser Untersuchung wiesen darauf hin, dass sich zum einen die absolute Zahl CR-positiver Zellen im Gyrus dentatus in ähnlichem Maß wie die Zahl BrdU-markierter Zellen erhöhte, und zum anderen die verschiedenen Stimuli gemessen an der Zahl postmitotischer CR-positiver Zellen zu einer unterschiedlichen Entwicklungskinetik der Vorläuferzellen führte.

Zusammenfassend brachte diese Studie somit folgende neue Erkenntnisse:

- Unreife Körnerzellen exprimieren im postmitotischen Stadium ihrer Differenzierung transient CR.
- Nach abgeschlossener Entwicklung wechseln Körnerzellen ihr calciumbindendes Protein von CR zu Calbindin.
- Die Zahl CR exprimierender Zellen im Gyrus dentatus spiegelt das Maß der dort stattfindenden Neurogenese wieder.
- Neurogenesesteigernde Stimuli haben unterschiedliche Einflüsse auf die Entwicklungskinetik der Vorläuferzellen.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit ergeben sich eine Reihe neuer Fragestellungen. Nachdem mit dieser und anderer Arbeiten nahezu lückenlos die verschiedenen Vorläuferzellstadien der adulten Neurogenese benannt werden konnten, gilt es zu klären welche Zelltypen durch welchen Faktor beeinflusst werden. Da CR als Marker adulter Neurogenese besonders dort sinnvoll einsetzbar ist, wo BrdU aus praktischen oder ethischen Gründen nicht verwendet werden kann, eröffnet es die Möglichkeit, auch im menschlichen Gehirn adulte Neurogenese im Hippocampus zu untersuchen. Außerdem bleibt zu klären, welche Aufgaben die calciumbindenden Proteine innerhalb der Nervenzelle übernehmen, und welche Rolle sie während der neuronalen Reifung spielen.