

# 1 Einführung

## 1.1 Allgemeine Einleitung

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse zeigen den Zusammenhang zwischen der quantitativen Reduktion cerebellärer Purkinje Zellen (PC), die zu einer Veränderung des PC-Inputs in den Kleinhirnkernen (DCN) führt, und der Expression des Calcium-bindenden Proteins Parvalbumin (Parv) in den Neuronen dieser Kerne. Eine mögliche funktionelle Bedeutung dieser Befunde für die Motorik soll diskutiert werden. Zur Untersuchung dieses Zusammenhangs wurde die postnatale Expression von Parv und parallel dazu die Chronologie der PC-Degeneration in den cerebellären Mäusemutanten Staggerer (*sg*), Nervous (*nr*) und Lurcher (*Lc*) im Vergleich mit den entsprechenden Wildtypen immunocytochemisch ermittelt. Diese Mutanten, die nachfolgend näher vorgestellt werden, weisen neben anderen Defekten alle einen PC-Verlust, allerdings mit unterschiedlicher Ausprägung auf.

Die Schlüsselposition der PC bei der cerebellonucleären Informationsübertragung ist unumstritten. Die PC stellen den einzigen Ausgang aus dem Kleinhirncortex dar und projizieren, vermittelt über den inhibitorischen Transmitter  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA), direkt zu den DCN und großen Teilen der vestibulären Kerne (VN).

Die Tatsache, dass das Endprodukt der intracorticalen Prozessierung in Form von Inhibition codiert wird und diese durch die PC vermittelt wird, verdeutlicht außerdem die zentrale Bedeutung von Hemmung im intakten cerebellären System.

Eine Reduktion oder Elimination dieses zentralen Elements wird in Abhängigkeit von der Lokalisation entsprechend der topographischen Organisation der Projektionen des cerebellären Cortex zu sekundären histologischen Alterationen in den Projektionsarealen der PC und phänotypisch zu klinischen Symptomen (die jedoch nur annäherungsweise mit der Lokalisation der cerebellären Läsion korreliert werden können) führen.

Die Untersuchung von auf diese Weise entstandenen strukturellen Veränderungen in den DCN kann einen Einblick in die veränderte Funktion des PC-deprivierten Systems und dadurch bedingter Implikationen für die Motorik geben.

Das Protein Parv, das aufgrund seiner Fähigkeit Calcium-Ionen zu binden mit dem Aktivitätsniveau von Neuronen in Verbindung gebracht wird (Celio, 1984; 1990; Heizmann, 1988; Kamphuis et al., 1989; Tsuzuki et al., 1989), eignet sich zur Untersuchung solcher Veränderungen. Lokalisiert wurde es bisher in mehreren inhibitorischen Zellpopulationen im zentralen Nervensystem (ZNS). In den DCN der Purkinje Cell Degeneration Mutante (*pcd*), die unter einem praktisch vollständigen PC-Verlust leidet und später näher charakterisiert wird, wird es vorwiegend in GABA-ergen und glycinergen Neuronen exprimiert (Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997).

Die in dieser Arbeit verwendeten Mäusemutanten können mit gewissen Einschränkungen als Modelle für die cerebellären Ataxien des Menschen (deren Ursachen vielfältig und sowohl hereditärer als auch nicht-hereditärer Natur sind) dienen.

Hinweise auf eine mögliche funktionelle Kompensation cerebellärer Schädigungen ergeben sich aus Beobachtungen beim Menschen, wo selbst sehr weitreichende Läsionen bis zur Agnese des Kleinhirns teilweise kompensiert werden können, und bei Tieren mit genetisch bedingtem PC-Verlust oder mit experimentellen cerebellären Läsionen.

Eine Hypothese, die einen Erklärungsansatz für einen einer Kompensation möglicherweise zugrundeliegenden Mechanismus bietet und auf der Basis von früheren Befunden aus unserer Arbeitsgruppe formuliert wurde, soll im Kontext mit den Ergebnissen dieser Arbeit erweitert werden.

Zunächst soll jedoch die für das Verständnis dieser Arbeit notwendige Organisation corticonucleärer Projektion, eingebettet in den Aufbau und die synaptische Verschaltung des Cerebellums, dargestellt werden. Es folgt die Charakterisierung der für die Experimente verwendeten Mutanten.

## 1.2 Das Cerebellum

Das Cerebellum und insbesondere der cerebelläre Cortex ist hinsichtlich seines zellulären Aufbaus ein Organ hoher struktureller Regelmäßigkeit, dessen komplexe und gleichzeitig stereotype synaptische Verbindungen sich im Laufe der Histogenese nach einem genau festgelegten Plan entwickeln (Palay & Chan-Palay, 1973; Ramón

y Cajal, 1960). In den letzten Jahrzehnten war es Gegenstand intensiver Forschung, wodurch viele Erkenntnisse über seine Komposition und Funktionsprinzipien im intakten Zustand gewonnen werden konnten.

Ein großer Fortschritt war dabei die Einführung immunocytochemischer Techniken, da durch die Darstellung von Transmittern auch Aussagen über funktionelle Vorgänge ermöglicht wurden.

### 1.2.1 Makroskopische Anatomie

Das Kleinhirn befindet sich in der hinteren Schädelgrube über dem Pons und der Medulla oblongata. Es nimmt nur 10 % des Gesamtvolumens des ZNS ein, enthält jedoch mehr als die Hälfte aller Neurone (Ghez, 1991). Mit dem Hirnstamm ist es durch drei paarig angelegte Kleinhirnstiele, die Pedunculi, die die afferenten und efferenten Fasersysteme enthalten, verbunden. Durch das Tentorium cerebelli wird es vom Großhirn getrennt. Wie dieses besitzt es zwei Hemisphären, die durch einen unpaaren Mittelteil, den Vermis, miteinander verbunden sind.

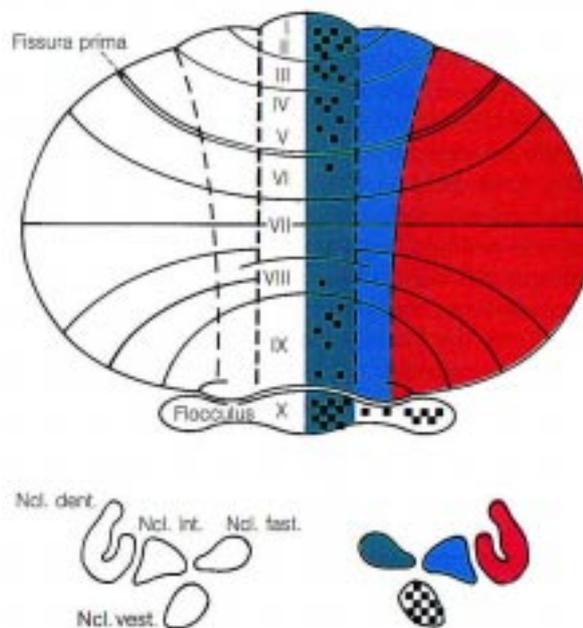
An seiner Oberfläche trägt es einen beim Menschen etwa 1 mm starken Überzug grauer Substanz, den Cortex cerebelli. Unterhalb des Cortex folgt eine zusammenhängende Masse weißer Substanz, das Corpus medullare, in das paarig die DCN eingelagert sind. Der Cortex weist zahlreiche schmale, querverlaufende und regelmäßige Windungen (Foliae) auf. Durch zwei größere, querverlaufende Furchen (Fissura prima und Fissura posterolateralis) wird das Kleinhirn in drei Hauptlobi eingeteilt: Lobus anterior, Lobus posterior und Lobus flocculonodularis. Diese wiederum teilt man in zehn kleinere transversale Lobuli ein.

Durch diese Strukturen entsteht der charakteristische, auf Sagittalschnitten durch das Cerebellum erkennbare Arbor vitae cerebelli.

Nimmt man eine Einteilung aus phylogenetischer Sicht vor, bezeichnet man Nodulus und Flocculus als Archicerebellum, Lobus anterior mit Pyramis und Uvula als Paleocerebellum und die Hemisphären als Neocerebellum (Larsell et al., 1972).

Aufgrund ihrer Afferenzen findet man auch die Bezeichnungen Vestibulo-, Spino- und Pontocerebellum.

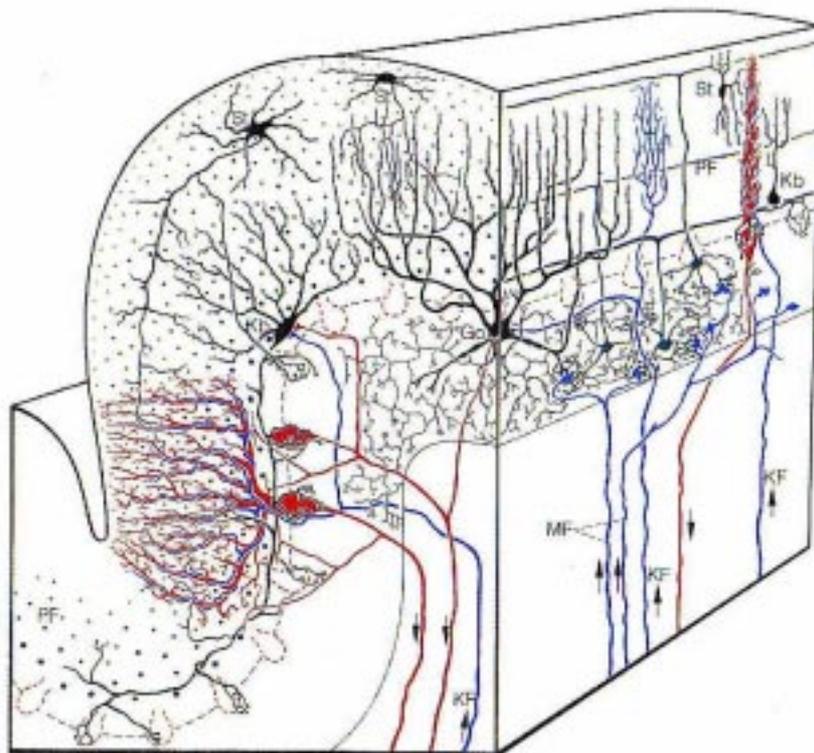
Eine weitere Einteilung des Kleinhirns beruht auf den efferenten Projektionsarealen des cerebellären Cortex, wonach das Kleinhirn in drei longitudinale Zonen aufgeteilt wird. Der Vermis als mediale Zone projiziert zum Nucleus cerebellaris medialis (MCN), auch Nucleus fastigiatus genannt, und den VN, eine intermediäre Zone zum Nucleus cerebellaris intermedius (ICN) oder Nucleus interpositus und die Hemisphären zum Nucleus cerebellaris lateralis (LCN) oder Nucleus dentatus (Jansen & Brodal, 1940; 1942).



**Abb 1.1:** Longitudinale Gliederung der Kleinhirnrinde aufgrund der corticonucleären Projektion (nach Befunden am Tier). Die untereinander verbundenen Gebiete sind identisch markiert. Ncl. dent. = Nucleus dentatus; Ncl. int. = Nucleus interpositus; Ncl. fast. = Nucleus fastigiatus; Ncl. vest. = Nucleus vestibularis. (aus: Benninghoff, 1985 nach Jansen & Brodal, 1940; 1942)

### 1.2.2 Histologie

Die Kleinhirnrinde ist aus drei Schichten aufgebaut. Als innerste Schicht, an das Mark angrenzend, findet sich die Körnerschicht (Stratum granulosum), darüber die PC-Schicht (Stratum neuronorum piriformium) und oberflächlich gelegen die Molekularschicht (Stratum moleculare).



**Abb. 1.2:** Anordnung der Neurone des cerebellären Cortex und der Moos- und Kletterfasern.

Afferente Fasern (blau): Moosfasern (MF) und Kletterfasern (KF). Efferent: Purkinje Zellen (rot) sowie eine Reihe von Somata von Purkinje Zellen (gestrichelt). Intrakortikale Neurone: Körnerzellen (Kö) des Stratum granulosum und deren in der Molekularschicht längs verlaufende Axone (PF = Parallelfasern) grün; alle intrakortikalen hemmenden Neurone schwarz (Go = Golgi Zellen, Kb = Korbzellen, St = Sternzellen).

(aus: Benninghoff, 1985 nach Eccles et al., 1967)

### 1.2.2.1 Die Körnerschicht

Diese Schicht enthält überwiegend die sehr kleinen, aber zahlreichen Körnerzellen. Das Verhältnis von Körnerzellen zu PC bei der Maus beträgt 175:1 (Wetts, 1983). Die Axone der Körnerzellen steigen in die Molekularschicht auf und verzweigen sich dort T-förmig in die in laterolateraler Richtung und damit senkrecht zu den Dendritenbäumen der PC verlaufenden Parallelfasern. Mit den „Spines“ der PC (siehe 1.2.2.2) gehen sie excitatorische Synapsen ein. Der Transmitter der Körnerzellen ist Glutamat (Glu) (Crepel & Audinat, 1991) und damit stellen sie die einzigen erregenden Interneurone des cerebellären Cortex dar.

Die Körnerzellen erhalten ihre Afferenzen hauptsächlich über Moosfasern, die mit den Dendriten der Körnerzellen rosettenartige, excitatorische Synapsen bilden. Aufgrund ihrer besonderen Morphologie werden sie auch als Glomeruli cerebellares bezeichnet (Palay, 1961; Eccles, 1967). Neben diesen Zellen finden sich in der Körnerschicht in geringerer Anzahl auch große und kleine Golgi Zellen, Lugaro Zellen und „Pale“ Zellen.

Bei den großen Golgi Zellen handelt es sich um intrinsische Neurone, die mit den Körnerzellen inhibitorische, axodendritische Synapsen innerhalb der Glomeruli bilden. Der Transmitter der Golgi Zellen ist GABA. Die Dendriten der Golgi Zellen verzweigen sich in der Molekularschicht und werden dort von Parallelfasern innerviert. Somit inhibieren die Golgi Zellen die Erregung von Moosfasern via Körnerzellen. Die kleinen Golgi Zellen entsenden ihre Dendriten nur in die Körnerschicht, unterscheiden sich aber hinsichtlich ihrer synaptischen Kontakte nicht von den großen (Palay & Chan-Palay, 1974).

Die Lugaro Zelle ist ein fusiformes Neuron, das im äußeren Drittel der Körnerschicht direkt unterhalb der PC-Schicht gelegen ist. Der Transmitter dieser Zelle ist GABA. Ihre Axone entsenden diese Neurone in die Molekularschicht, wo sie Synapsen mit Korb- und Sternzellen, eventuell auch mit Golgi Zellen, eingehen. Dadurch entsteht eine Art inhibitorische feedback-Kontrolle über die PC (Laine & Axelrad, 1998).

Die „Pale“-Zelle ist ein Neuron mittlerer Größe, das vorwiegend im Vestibulocerebellum und in Körnerzell-Domänen des Nucleus cochlearis dorsalis zu finden ist. Sie besitzt nur einen einzigen Dendriten, dessen Ende pinselartig

verzweigt ist und wird aufgrund dieses Aussehens auch "unipolar brush cell" genannt. Die „Pale“ Zelle bildet außergewöhnliche Synapsen mit Moosfaserosetten, an denen möglicherweise Acetylcholin (ACH) und Glu freigesetzt werden (Mugnaini & Floris, 1994; Mugnaini et al., 1997).

#### 1.2.2.2 Die Purkinje Zell-Schicht

Hauptelement dieser Schicht sind die gleichnamigen großen Zellen von birnenförmigem Aussehen, die eine einzige Zelllage von sehr regelmäßiger Anordnung bilden. Beim Menschen haben sie einen Durchmesser von 50-80  $\mu\text{m}$ , bei der Maus durchschnittlich 23  $\mu\text{m}$  in der Längsachse (Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1994). Die Gesamtzahl beim Menschen variiert je nach Autor, in der ausführlichsten Untersuchung beläuft sie sich auf  $12.6 \times 10^6$  (Hall, 1975), bei der Maus auf etwa  $0,18 \times 10^6$  (Caddy & Biscoe, 1979). Heute kennt man zwei Subpopulationen von PC, die in charakteristischen parasagittalen Banden angeordnet sind (Hawkes et al., 1985).

Die Dendriten der PC verzweigen sich dreidimensional, einem Spalierobstbaum gleich, in der Molekularschicht (Ramón y Cajal, 1911) und sind dabei parallel zum Vermis ausgerichtet. Die Verzweigungen werden in primäre, sekundäre und tertiäre Dendriten eingeteilt. Wichtige Regulatoren der Ausbildung des Dendritenbaumes sind einerseits ihre Afferenzen, insbesondere Parallelfasern (Sotelo, 1975b), andererseits Neurotrophine, wie BDNF und NT-3 (Neveu & Arenas, 1996; Schwartz et al., 1997). Über die auf ihren Dendriten eintreffende Information erhalten die PC direkt und indirekt Meldungen aus nahezu allen Bereichen des ZNS.

Charakteristisch ist die Ausstattung der Dendriten mit zweierlei Arten von Dornen („Spines“), die spezialisierte Kontaktflächen für Synapsen darstellen.

Ein Typ besteht aus einem schmalen, knopfartig auslaufenden Fortsatz, der sich an den terminalen Dendritenabschnitten befindet und ausschließlich Kontakte mit Parallelfasern eingeht.

Der zweite Typ ist durch ein stummelartiges Aussehen gekennzeichnet und sitzt den primären und sekundären Dendriten auf, wodurch er eine exklusive Kontaktfläche für Kletterfasern darstellt (Larramendi & Victor, 1967). Sternzellen bilden an dornlosen Dendritenabschnitten Synapsen, Korbzellen an Hauptstämmen und Somata der PC (Palay & Chan-Palay, 1974).

Nach spätestens zwei Synapsen innerhalb des Cortex terminieren sämtliche Neurone auf der PC, wo die eintreffende Information verrechnet und über die Axone weitergeleitet wird. Die Aktivität der PC wird durch die beiden excitatorischen Afferenzen Kletter- und Moosfasern, die Parallelfasern und die inhibitorischen Interneurone (Stern-, Korb- und Golgi Zellen) bestimmt.

Die Axone der PC bilden die einzigen Ausgänge aus dem cerebellären Cortex und projizieren zu den DCN und VN. Der postsynaptische Einfluss der PC auf ihre Zielneurone ist inhibitorischer Natur und wird durch den Transmitter GABA vermittelt (Ito & Yoshida, 1966; Ito et al., 1966; Obata, 1969; Ottersen & Storm-Mathisen, 1984; Seguela et al. 1984). Beim Eintritt in die DCN divergieren die PC-Axone und erreichen so inhibitorische und excitatorische Neurone der DCN (De Zeeuw & Berrebi, 1996), das Verhältnis PC zu Neuronen der DCN wurde auf 10:1 geschätzt (Chan-Palay, 1977).

#### 1.2.2.3 Die Molekularschicht

Insgesamt weist die Molekularschicht eine relativ geringe Nervenzellichte auf. An zellulären Elementen finden sich die oberflächlicher gelegenen Sternzellen und die tiefer gelegenen Korbzellen.

Die Axone beider Zellarten sind innerhalb dieser Schicht in antero-posteriorer Richtung ausgerichtet und damit orthogonal zu den Parallelfasern. Beide bilden hemmende Synapsen mit den PC, wobei die Sternzellen die PC an deren Dendriten kontaktieren, die Korbzellen mit ihren planar ausgerichteten Dendritenbäumen die Zellkörper der PC korbartig umfassen und axo-axonale Synapsen mit dem initialen Segment der PC bilden. Transmitter der Sternzelle ist wahrscheinlich GABA (Ottersen et al., 1988). GABA als Transmitter der Korbzelle gilt als gesichert (Crepel & Audinat, 1991).

Die Dendriten beider Zellarten verästeln sich innerhalb der Molekularschicht zwischen den „Spalieren“ der PC quer zu den Foliae. Auf diesen Dendriten bilden transversal laufende Parallelfasern, die den größten Volumenanteil der Molekularschicht in Anspruch nehmen, excitatorische Synapsen.

Ein weiterer wesentlicher Bestandteil der Molekularschicht sind die parasagittal ausgerichteten Dendritenbäume der PC, die zusammen mit den Parallelfasern die

dominierenden geometrischen Grundzüge dieser Schicht bilden. Jede einzelne Parallelfaser kreuzt das Dendritengeäst von etwa 100 PC und bildet auf den dendritischen Dornen der PC zahlreiche erregende Synapsen.

Darüber hinaus steigen Dendriten der Golgi Zellen in die Molekularschicht auf. Auch sie empfangen excitatorischen Input von den Parallelfasern (Palay & Chan-Palay, 1974).

Als nicht-neuronales Element der Molekularschicht sei hier auch die Bergmann-Glia erwähnt, die sich palisadenartig zwischen den Dendriten der PC ausdehnt und eine wichtige Rolle bei der Histogenese spielt, da sie den PC und Körnerzellen als Orientierungshilfe bei der Migration dient (Levitt & Rakic, 1980).

### **1.3 Organisation und Projektionsziele corticofugaler Efferenzen**

Die PC sind nach strengem topographischen Muster mit den DCN (Eccles et al., 1967; Ito, 1984) und VN (Ito et al., 1966; Angaut & Brodal, 1967) verbunden. Jansen und Brodal (1940) teilten das Cerebellum in drei sich überlappende longitudinale Zonen ein: Eine mediale zum MCN projizierende Zone, eine intermediäre zum ICN projizierende Zone und eine laterale zum LCN projizierende. Zu den VN projizierende PC stammen nach dieser Einteilung aus der medialen Zone und dem Lobus flocculonodularis. Dieses Modell wurde in späteren Jahren auf der Basis der olivären Afferenzen und nucleären Efferenzen auf sieben longitudinale Zonen erweitert (Voogd, 1964; Voogd & Bigaré, 1980). Danach projiziert Zone A zum MCN und zum medialen VN (MVN), Zone B zum lateralen VN (LVN), die Zonen C1 bis C3 zu unterschiedlichen Arealen des ICN und die Zonen D1 und D2 zum LCN. In der Ratte konnte zusätzlich eine corticale Zone lateral von C3 und medial von D1 identifiziert werden, die als D0 bezeichnet wird (Buisseret-Demas & Angaut, 1989). Die nach diesem Modell strikten Grenzen dieser Zonen waren immer wieder Gegenstand kontroverser Diskussionen.

Auf der Basis der efferenten corticonucleären Projektionsareale wurde auch der Lobus flocculonodularis in 5 longitudinale Zonen eingeteilt (Yamamoto, 1979).

Nachfolgend werden die Projektionsziele corticofugaler Efferenzen dargestellt.

### 1.3.1 Kleinhirnerne

Beim Säugetier unterscheidet man drei verschiedene Kerngebiete in der weißen Substanz des Kleinhirns jeder Seite. Von medial nach lateral den MCN, den ICN und den LCN (Weidenreich, 1899). In der Nomenklatur des Menschen werden die Kerne Nucleus fastigiatus, Nucleus interpositus, der nochmals in den Nucleus globosus und Nucleus emboliformis unterteilt wird, und Nucleus dentatus genannt.

Nach einer volumetrischen Analyse besteht der Hauptanteil des Kerngebietes mit 38% aus myelinisierten Fasern, der Rest aus Somata von Nervenzellen, Dendriten, Terminalien, Glia, Gefäßen und Interzellularsubstanz (Heckroth, 1994b). Durch immunocytochemische Studien konnten Neurone verschiedener Größe in den DCN nachgewiesen werden: Kleine bis mittelgroße GABA-erge (Chan-Palay, 1977; 1982) und glycinerge (Chen & Hillman, 1993; Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997) Neurone und große Neurone, die eine Glu-ähnliche Immunreaktivität aufweisen (Monaghan et al., 1986).

Die DCN erhalten ihre Afferenzen zum größten Teil von corticalen PC (De Zeeuw & Berrebi, 1996), daneben existieren jedoch auch extracerebelläre Afferenzen (Chan-Palay, 1977). Die DCN besitzen eine sehr hohe Erregungsschwelle, da sie unter dem tonisch hemmenden (Ito, 1984), über den Transmitter GABA vermittelten Einfluss der PC stehen. Die Aktivität der DCN Neurone ist dadurch maßgeblich dem hemmenden Einfluss der PC unterworfen.

Innerhalb des Cerebellums wurden efferente nucleocorticale Projektionen nachgewiesen (Tolbert et al., 1976). Ihre corticale Verteilung ist entsprechend den corticofugalen Efferenzen in sagittalen Zonen organisiert. Es werden drei verschiedene Arten nucleocorticaler Projektionen unterschieden: 1) ipsilateral reziproke Projektionen, die mit den corticonucleären Fasern ein „closed loop“ System bilden und den Großteil der nucleocorticalen Projektionen ausmachen; 2) nicht-reziproke und 3) kontralateral symmetrische Projektionen, die ein „open loop“ System darstellen (Buisseret-Delmas, 1988a; 1988b). In Doppelmarkierungen konnte gezeigt werden, dass ein Teil dieser nucleocorticalen Neurone GABA als Transmitter benutzt, ein größerer Teil jedoch Immunreaktivität für Glu aufweist, wodurch dessen

Transmitterfunktion an dieser Stelle allerdings noch nicht sicher bewiesen ist (Batini et al., 1992).

Ein weiteres wichtiges Projektionsgebiet, mit dem die DCN efferent verbunden sind, ist die untere Olive. Transmitter in diesem System ist GABA (Fredette & Mugnaini, 1991).

#### 1.3.1.1 Nucleus cerebellaris medialis

Er liegt medial im Dach des vierten Ventrikels. Seine cerebellären Afferenzen stammen aus dem Vermis, außerdem erhält er sekundäre vestibuläre Afferenzen aus den VN und Afferenzen in Form von Axonkollateralen von Neuronen, die zum cerebellären Cortex ziehen, wie zum Beispiel Kletterfasern aus der unteren Olive und Moosfasern aus dem Tractus (Tr.) spinocerebellaris (Matsushita & Iwahori, 1971). Darüberhinaus terminieren primär vestibuläre Afferenzen im MCN (Bäurle et al., 1998b).

Efferent ist der rostrale MCN ipsilateral mit dem dorsalen LVN über den Pedunculus cerebellaris inferior (Corpus restiforme) verbunden, der caudale MCN projiziert über das Hook' sche Bündel (siehe 1.3.2) zu allen contralateralen VN (Walberg et al., 1962; Furuya et al.; 1975). Daneben existieren andere efferente Verbindungen mit der Formatio reticularis, den Colliculi superiores, der unteren Olive, dem Thalamus und den Basalganglien.

#### 1.3.1.2 Nucleus cerebellaris intermedius

Seine Afferenzen erhält er aus der Zona intermedia des cerebellären Cortex. Er projiziert über Pedunculus cerebellaris superior (Brachium conjunctivum) zum magnocellulären Teil des Nucleus ruber der Gegenseite. Viele dieser Fasern laufen weiter zum venterolateralen Thalamus. In ihrem Verlauf treten diese Fasern somit in Kontakt mit rubrospinalen und corticospinalen Bahnen, auf die sie Einfluss nehmen. Ein weiteres Projektionsareal ist die untere Olive.

#### 1.3.1.3 Nucleus cerebellaris lateralis

Er ist der am meisten lateral gelegene Kern. Seine Afferenzen erhält er aus der lateralen Zone des cerebellären Cortex. Seine Efferenzen ziehen durch den

Pedunculus cerebellaris superior zum Mittelhirn, kreuzen dort ventral des Aquäduktes zur Gegenseite, wo sie im parvozellulären Teil des Nucleus ruber terminieren. Somit hat das Kleinhirn auch Einfluss auf den Anteil des Nucleus ruber, der dem extrapyramidalmotorischen System zugerechnet wird, jedoch auch Afferenzen von der Großhirnrinde erhält. Weitere Faserbündel ziehen zum Thalamus und von dort weiter zum motorischen und prämotorischen Cortex, zur medullären Formatio reticularis und den Colliculi superiores. Daneben ziehen durch den Pedunculus cerebellaris superior auch inhibitorische Fasern zur unteren Olive.

### 1.3.2 Vestibuläre Kerne

Der vestibuläre Kernkomplex liegt dorsal der Medulla oblongata und im kaudalen Pons. Man unterscheidet vier Hauptkerne innerhalb der VN:

- Nucleus vestibularis superior (Bechterew) (SVN)
- Nucleus vestibularis lateralis (Deiters) (LVN)
- Nucleus vestibularis medialis (Schwalbe) (MVN)
- Nucleus vestibularis inferior (Roller) (IVN)

Primärafferente Fasern aus dem Bogengangsapparat ziehen zum SVN, zu einem Teil des LVN und zum MVN und IVN. Die Fasern aus dem Makulaapparat treten in Höhe des LVN in die Medulla ein und terminieren vorwiegend im IVN und MVN. Hier werden Signale über die Kopforientierung im Raum registriert und durch Informationen aus den Somatosensoren der Halsmuskulatur über die Haltung des Kopfes in Relation zum Körper ergänzt. Durch die Einbindung des Kleinhirns in dieses System ergeben sich präzise abgestimmte Regelkreise für die Ziel-, Stütz- und Oculomotorik.

Projektionen aus dem Cerebellum stammen einerseits aus dem cerebellären Cortex, das heißt direkt von PC des Vestibulocerebellums und des Spinocerebellums, andererseits von indirekten vermalen Efferenzen, die durch den MCN verlaufen.

Das Vestibulocerebellum projiziert direkt hauptsächlich zu ipsilateralen SVN, MVN und IVN und zum dorsalen LVN. Von den Projektionen des Spinocerebellums

gelangen die direkt verlaufenden ipsilateral vorwiegend zum LVN und nur in geringer Anzahl zu den übrigen VN.

Die indirekt verlaufenden Fasern aus dem Vermis sind somatotopisch organisiert: die Fasern aus dem anterioren Vermis projizieren zum rostralen MCN und gelangen teilweise zum ipsilateralen LVN, die Fasern aus dem posterioren Vermis durchlaufen den caudalen MCN und kreuzen dann im Cerebellum. Letztere bilden das Hook'sche Bündel und enden zum Teil im ventralen LVN (Brodal, 1981; Mehler & Rubertone, 1985). Durch diese komplexen Verschaltungen erhält der LVN direkte inhibitorische Afferenzen aus dem Spino- und Vestibulocerebellum und auch indirekte excitatorische Afferenzen über die DCN.

Die afferenten Verbindungen des Vestibularorgans mit den VN und dem Kleinhirn sind im vorangehenden Abschnitt beschrieben.

Darüberhinaus sind die VN in komplexer Weise mit vielen Bereichen des ZNS verknüpft, die jedoch für das Verständnis dieser Arbeit von untergeordneter Relevanz sind und daher nicht ausgeführt werden.

## **1.4 Cerebelläre Afferenzen**

### 1.4.1 Kletterfasern

Ursprungsort der Kletterfasern ist die untere Olive des Hirnstammes (Desclin, 1974), die ihrerseits Afferenzen vorwiegend aus dem prämotorischen Cortex erhält. Die Kletterfasern ziehen durch den Pons, erreichen das Cerebellum vor allem über den Pedunculus cerebellaris inferior, durchlaufen die weiße Substanz des Kleinhirns, um dann schlingpflanzenähnlich an den primären und sekundären Dendriten der PC des kontralateralen cerebellären Cortex zu terminieren (Ramón y Cajal, 1911; Larramendi & Victor, 1967). Vor dem Eintritt in den cerebellären Cortex geben sie Kollateralen in die DCN und VN ab (Chan-Palay, 1977).

Im adulten Cerebellum wird jede PC von nur einer Kletterfaser innerviert (siehe auch 1.5), aufgrund der größeren Anzahl von PC gegenüber Kletterfasern bedient jede Kletterfaser jedoch mehrere PC, indem sie sich unterhalb des Cortex verzweigt

(Voogd & Bigaré, 1980). Die Synapsen, die sie bilden, sind excitatorisch. Transmitter ist Aspartat (Asp) oder Glu oder das Dipeptid Asp-Glu (Crepel & Audinat, 1991).

#### 1.4.2 Moosfasern

Es sind verschiedene Ursprungsgebiete von Moosfasern beschrieben, wobei die pontinen Kerne quantitativ sicherlich am bedeutendsten sind. Die ponto-cerebellären Fasern erreichen das Kleinhirn über den Pedunculus cerebellaris medius (Brachium pontis).

Die vestibulären Projektionen erreichen das Kleinhirn auf zwei Wegen: Kollateralen von primären vestibulären Afferenzen aus dem Labyrinth projizieren über den VIII. Hirnnerven zum Lobus flocculonodularis. Sekundäre vestibuläre Afferenzen aus Neuronen der VN projizieren als Moosfasern in den Vermis, den Flocculus und Anteile der DCN.

Eine weitere wichtige Moosfaserquelle stellen die spino-cerebellären Trakte dar. Über sie wird direkt, und auch indirekt über die retikulären Kerne, Information von Somatosensoren aus der Peripherie vermittelt (Palay & Chan-Palay, 1974). Für diese Afferenzen zum Spinocerebellum konnte eine gewisse topographische Anordnung gezeigt werden.

Zur Vervollständigung seien noch folgende Moosfaserafferenzen aufgeführt:

- Autonome Moosfaserafferenzen aus dem Nucleus tractus solitarius, der zahlreiche Impulse aus dem autonomen Nervensystem erhält.
- Nucleocorticale Afferenzen aus den DCN zum cerebellären Cortex.

Moosfasern beeinflussen die PC indirekt über die excitatorischen Körnerzellen. Ihr Transmitter ist Glu (Garthwaite & Brodbelt, 1989).

#### 1.4.3 Monoaminerge Afferenzen

Das dritte afferente System besteht aus noradrenergen Fasern aus dem Locus coeruleus im Tegmentum des Rautenhirns und aus serotoninerger Fasern aus den Raphé-Kernen des Tegmentums (mediane Formatio reticularis). Die noradrenergen Fasern terminieren als Plexus in allen drei Schichten des cerebellären Cortex, die serotoninerger Fasern steigen in die Körner-, PC- und Molekularschicht auf. Über

die Bedeutung dieser Afferenzen herrscht noch Unklarheit (Ghez, 1991; Triarhou & Ghetti, 1991).

## 1.5 Histogenese

Die Ausführungen zur Histogenese sollen nur soweit umrissen werden, als sie dem Vergleich der normalen Histogenese mit den beginnenden degenerativen Veränderungen bei den Mutanten dienen.

Das Cerebellum entsteht aus der Kleinhirnplatte und aus einer mit geringer Latenz sich formierenden, zum vierten Ventrikel ausgerichteten zweiten Keimschicht, der sogenannten externen Körnerschicht, die eine transiente Proliferationszone darstellt. Aus der Kleinhirnplatte entstehen ab dem 11. Embryonaltag (E) in der Maus Neurone der DCN, PC und Golgi Zellen. Nach Abschluß der Mitosen migrieren sie in Richtung Piaoberfläche. Aus der äußeren Körnerschicht, die bis in die dritte postnatale Woche persistiert, werden ab E 13 Körner-, Korb- und Sternzellen generiert (Altman, 1982). Die Mehrzahl ihrer postmitotischen Zellen migriert durch die Molekular- und PC-Schicht nach innen und wird zu Körnerzellen der internen Körnerschicht. Die Migration und Synaptogenese von Körner-, Korb- und Sternzellen findet ab etwa Postnaltag (P) 3 bis P 20 statt, dabei überrascht das schnelle Wachstum der Parallelfasern, das an P 3 bis P 5 Maximalwerte erreicht und etwa in der dritten postnatalen Woche abgeschlossen ist (Soha et al., 1997). Erst dann gehen Moosfasern synaptische Kontakte mit Körnerzellen ein, auch wenn sie bereits früher eingewachsen sind (Ito, 1984).

Die PC der Maus entstehen zwischen E 11 und 13 in der Kleinhirnplatte (Inouye & Murakami, 1980). Dann migrieren sie nach außen, wobei Gliafasern als Orientierung dienen. Ab E 17 lassen sie ihre typische bandförmige Anordnung erkennen. Der Dendritenbaum und die Synapsen entwickeln sich ebenfalls postnatal, etwa zwischen P 4 und P 10 (Miale & Sidman, 1961; Ito, 1984). PC-Spines können erstmals an P 4 bis P 5 beobachtet werden (Larramendi, 1969). Diese Spines formieren sich zuerst an den Somata, dann an den größeren und zuletzt an den kleineren Dendriten.

Die Mitosen der Golgi-Zellen und der „Pale“-Zellen finden bei der Ratte einige Tage nach der PC-Genese statt, die Migration dauert etwa bis E 17, die Synaptogenese schließt sich an die Dendritenbaumentwicklung an und ist mit P 14 abgeschlossen. Kletterfasern der unteren Olive werden in der Embryonalphase generiert, in den ersten zwei postnatalen Wochen kommt es vorübergehend zu einer Phase der Multiinnervation der PC in einem Verhältnis von etwa 4:1, bevor die charakteristische 1:1 Verschaltung etabliert wird (Mariani & Changeux, 1981).

## **1.6 Cerebelläre Mutationen bei der Maus**

Heute sind über 140 spontan aufgetretene Mutationen im ZNS der Maus bekannt. Bei mehr als 20 dieser Mutanten ist das Cerebellum involviert (Sidman et al., 1965). Die letzten Zusammenstellungen von Tiermodellen cerebellärer Ataxie erfolgte durch R. F. Butterworth (1992), die jedoch nicht umfassend ist, und durch J. Bäumle (1993). Im Folgenden soll eine Übersicht der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Tiere gegeben werden.

### 1.6.1 Die Staggerer Mutante

#### 1.6.1.1 Genetik:

Staggerer (Gensymbol *sg/sg*) ist eine autosomal rezessive Mutation auf Chromosom 9 (Standard karyotype of the mouse, *Mus musculus*, 1972), die erstmals 1955 im Jackson Memorial Labor im Strain B6C3H spontan auftrat. Den Störungen in der phänotypischen Differenzierung der PC-Population liegt eine Deletion im „retinoid-related orphan receptor alpha“ ( $ROR\alpha$ ) Gen, das für einen nucleären Hormonrezeptor kodiert, zugrunde (Hamilton et al., 1996).

#### 1.6.1.2 Symptomatik:

Heterozygote Tiere weisen keine Ataxie auf. Die homozygoten Mutanten können zwischen P 8 und P 12 eindeutig von Normaltieren differenziert werden, sind jedoch bereits im Alter von drei Tagen anhand von spezifischen Tests identifizierbar (Heuzé et al., 1997). In der zweiten Woche unterscheiden sie sich von den normalen Tieren

des Wurfes durch einen schlurfenden, zögernden Gang und allgemein verringerten Bewegungsdrang. Die Initiation von Bewegung ist gelegentlich von einem leichten Tremor begleitet. Die Vorwärtsbewegung wird nach einigen Schritten durch taumelnde Bewegungen zur einen oder anderen Seite unterbrochen. Manchmal laufen die Tiere rückwärts mit abgespreizten Hinterläufen. Verharren die Mäuse an einer Stelle sind die Hinterläufe oft abduziert und zusätzlich um 45° evertiert. Diese motorischen Auffälligkeiten gelangen in der dritten Woche post partum, wenn die Mutanten manchmal schon im Sitzen umfallen, sich mit sehr nah am Boden befindendem Rumpf fortbewegen und den Schwanz hinterherschleifen, zu einem Höhepunkt. Der Extremitätentonus ist dann meist herabgesetzt, so dass die Tiere durch ein leichtes Anstoßen mit dem Finger des Untersuchers zu Fall gebracht werden können. Zuweilen findet sich aber auch eine spastische Tonuserhöhung in den Extensoren der Hinterläufe. Insgesamt sind die motorischen Defizite geringer ausgeprägt als bei der Weaver (*wv*) Mutante, jedoch deutlicher als bei *nr*, *Lc* oder Purkinje Cell Degeneration (*pcd*) (*wv* und *pcd* siehe Diskussion). Die Fähigkeit zu schwimmen ist erhalten. Bis zu 50% der Tiere versterben in der vierten Lebenswoche, bei den Überlebenden ist der weitere klinische Verlauf stationär. Bezüglich des Körpergewichtes der Mutante stellte man fest, dass die Tiere am achten Tag 50% leichter waren als normale Altersgenossen des gleichen Wurfes, nach drei Wochen wiesen alle Mutanten ein niedrigeres Gewicht auf (Sidman et al., 1962).

#### 1.6.1.3 Morphologie und Histologie des Cerebellums:

Die Cytoarchitektur des cerebellären Cortex der heterozygoten Tiere scheint prima Vista normal, jedoch haben quantitative Analysen einen mit fortschreitendem Alter signifikanten Neuronenverlust der auch in homozygoten Tieren geschädigten Zellpopulationen gezeigt (Shojaeian et al., 1987, Zanjani et al., 1992, Hadj-Sahraoui et al., 1997), der geschlechtsabhängig ist (Doulazmi et al., 1999). Das Cerebellum der homozygoten *sg*-Mutante weist so schwere Defekte auf, dass schon der äußere Aspekt ab P 4 pathologisch ist. Die Größe des adulten Cerebellums beträgt weniger als ein Drittel der Normalgröße, seine Form ähnelt einer Hantel mit einer Verengung

in der Mitte, über die mediale und laterale Strukturen verbunden sind. Die Anzahl der Fissuren ist stark reduziert.

Histologisch fallen kleine Foliae mit niedrigen Fissuren und schwer abgrenzbarer Laminierung der grauen Substanz auf (Sidman et al., 1962). Der primäre Gendefekt in *sg* wurde lange kontrovers diskutiert. Ging Yoon (1976) von einem genetischen Defekt in PC und Körnerzellen aus, sprachen nachfolgende Untersuchungen für den primären Defekt in der PC selbst, bedingt durch mangelnde Fähigkeit zur Ausbildung von PC-Spines; der Gendefekt zeigt eine unterschiedliche Ausprägung in der mediolateralen Achse (Herrup & Mullen, 1979a, b; Landis & Sidman, 1978; Sotelo & Changeux, 1974). Schließlich konnte der Gendefekt auf molekularer Ebene nachgewiesen werden (Hamilton et al., 1996). Die PC sind in ihrer Anzahl stark verringert. Frühere Studien geben den PC-Verlust im Durchschnitt mit 75% und mehr an, wobei der Vermis mit etwa 60% weniger betroffen ist als die Hemisphären (Herrup & Mullen, 1979a). Immunocytochemisch konnte eine mutationsbedingte Kompartimentierung der PC-Population in parasagittale Zonen nachgewiesen werden (Nakagawa et al., 1998). Die Zellen sind in ihrer Entwicklung verzögert, kleiner als normal, unregelmäßig angeordnet und häufiger ektop lokalisiert (Sidman et al., 1962). Der Dendritenbaum ist rudimentär ausgebildet und zeigt nicht die charakteristische parasagittale Ausrichtung. Es kommt zur Formation multipolarer Dendriten mit nur transienter Ausbildung von Spines an den tertiären Dendriten, so dass Parallelfasern keine Synapsen bilden können.

Auch wenn initial das postnatale Wachstum von Parallelfasern ungestört ist, ist ihre Anzahl bei der adulten Mutante deutlich reduziert und es fällt eine starke Gliose auf (Soha et al., 1997; Hirano & Dembitzer, 1975; Sotelo, 1975b). Die Degeneration der Körnerzellen beginnt nach P 16, an P 33 fehlen sie beinahe komplett, was eine Konsequenz der gescheiterten Synaptogenese zwischen Parallelfasern und PC sein könnte (Sidman, 1972; 1974). Wahrscheinlich degenerieren sie retrograd, nachdem die postnatale Phase der Migration aus der äußeren Körnerschicht abgeschlossen ist (Landis & Sidman, 1978). Auch an Moosfasern zeigen sich Zeichen der Degeneration, was die Hypothese der retrograden Degeneration von Afferenzen bei Fehlen der Zielzellen stützt (Sotelo & Changeux, 1974; Ji et al., 1997). Im Rahmen der Histogenese fällt eine deutliche Hypoplasie und Entwicklungsverzögerung der

externen Körnerschicht auf, die einige Tage länger als gewöhnlich persistiert (Sidman et al., 1962; Yoon, 1972). Diese Hypoplasie wurde als Ursache der reduzierten corticalen Faltung und Größe des Cerebellums diskutiert (Rakic & Sidman, 1973b; Herrup & Mullen, 1979b).

Im Gegensatz zu den Parallelfasern gelingt die Synaptogenese zwischen Kletterfasern und PC sehr wohl, wenn auch in reduzierter Anzahl (Landis & Sidman, 1978). Auffallend bei der Mutante ist die persistierende Multiinnervation von PC durch Kletterfasern (Crepel et al., 1980), die im Normaltier im Laufe der Entwicklung auf eine 1:1 Verschaltung reduziert wird. Dies kommt durch die Beibehaltung von Synapsen, die während der normalen Histogenese verschwinden, zustande (Sotelo, 1975b; Yoon, 1976). In der unteren Olive, dem Ursprungsort der Kletterfasern, kommt es zu einem Verlust von ungefähr 60% der Neurone im ersten Monat post partum (Blatt & Eisenman, 1985; Shojaeian et al., 1985). Die topographische Organisation der olivocerebellären Projektion bleibt jedoch erhalten (Blatt & Eisenman, 1989). Wie bei den Körnerzellen wird auch dieser Neuronenverlust als sekundär retrograd interpretiert (Zanjani et al., 1990).

Die Synaptogenese der inhibitorischen Interneurone mit den PC ist lediglich quantitativ beeinträchtigt (Landis & Sidman, 1978).

Auch Golgi Zellen sind zahlenmäßig reduziert, das genaue Ausmaß ist jedoch schwer quantifizierbar, da Golgi Zellen und PC in *sg* lichtmikroskopisch nicht unterschieden werden können (Herrup & Mullen, 1979a).

#### 1.6.1.4 Elektrophysiologie:

Eine elektrophysiologische Analyse von Neuronen des cerebellären Cortex zeigte weitgehend normale Parallelfaserantworten. Im Gegensatz dazu demonstrierten Ableitungen an PC deutliche Abnormitäten, insbesondere pathologische Antworten auf Kletterfaserinput und Leitungsblockaden. Insgesamt sprechen diese Ergebnisse mehr für eine primäre Auswirkung des Gendefekts auf die PC (Crepel & Mariani, 1975).

## 1.6.2 Die Nervous Mutante

### 1.6.2.1 Genetik:

Die Nervous Mutante (Gensymbol *nr/nr*) trat erstmals 1963 spontan im BALB/cGr-Stamm im Jackson Laboratory (Bar Harbour, Maine) auf. Die Mutation wurde auf Chromosom 8 (zwischen D8Rck1 und D8Mit3) lokalisiert (Campbell & Hess, 1996; De Jager et al., 1998), das Gen konnte bisher jedoch noch nicht identifiziert werden. Es handelt sich um einen autosomal rezessiven Erbgang mit inkompletter Penetranz.

### 1.6.2.2 Symptomatik:

Diese Mutanten, die zunächst im Alter von zwei Wochen dadurch auffallen, dass sie kleiner als die Altersgenossen des gleichen Wurfes sind, wurden erstmals von Sidman und Green beschrieben (1970). In der dritten postnatalen Woche manifestieren sich motorische Fehlleistungen, insbesondere die motorische Hyperaktivität, die der Mutante den Namen gab. Diese Hyperaktivität wird in den nächsten Wochen durch eine träge und eher zögerliche Motorik abgelöst. Sobald die Mäuse sich auf unebenem Untergrund bewegen, fällt ein schwankender Gang auf. In der sechsten Woche kommt es zu einer Stabilisierung und keiner weiteren Progression der Symptomatik. Insgesamt ist hervorzuheben, dass die motorischen Defizite im Vergleich zu anderen Mutanten, wie zum Beispiel *sg*, eine milde Ausprägung zeigen. Sie werden insbesondere dann manifest, wenn man die Mutanten vor Aufgaben stellt, die höhere Anforderungen an Motorik und Gleichgewicht stellen, wie zum Beispiel das Balancieren auf einem Seil. Untersucht man die Fähigkeit der Tiere zu schwimmen, stellt man fest, dass sie diese sehr wohl besitzen. Sie unterscheiden sich dabei von normalen Altersgenossen jedoch in folgenden Punkten: Die Mutanten befinden sich beim Schwimmen in beinahe vertikaler Position und nicht in horizontaler, wie man es bei normalen Tieren beobachtet und sind weniger ausdauernd als normale Tiere.

### 1.6.2.3 Morphologie und Histologie des Cerebellums:

Abgesehen von einer Schrumpfung der Kleinhirnhemisphären läßt das *nr*-Gehirn makroskopisch kaum einen Unterschied zum Gehirn eines Normaltiers erkennen. Die mikroskopische Analyse zeigt eine Schrumpfung der Molekularschicht um 43% und eine unregelmäßige Verteilung der Zellen und Fasern (Sidman & Green, 1970; Sotelo & Triller, 1979).

Am stärksten von der Degeneration betroffen sind die PC, der Prozeß der Degeneration schreitet zwischen P 23 und P 50 am aktivsten voran (Landis, 1973). Danach ist ein kontinuierlicher, aber nur noch sehr langsamer Degenerationsprozeß zu beobachten (Sotelo & Triller, 1979). Auf der Ebene der Zellorganellen finden sich erste Abnormitäten bereits nach zwei Wochen (Sidman & Green, 1970; Landis, 1973). Analysen von Membranproteinen der PC zeigten das Fehlen eines bestimmten Proteins, des P 400, in PC von *nr*-Mutanten (Mallet et al., 1976). In der Literatur variieren die Angaben über das endgültige PC-Defizit in den Hemisphären zwischen 90- 97%, im Vermis zwischen 50- 92% (Sidman & Green, 1970; Landis, 1973; Zilla et al., 1985). Eine intrinsische Wirkung des Gendefektes auf die PC konnte nicht sicher bewiesen werden (Mullen, 1982). Der Gendefekt bei dieser Mutante führt also nicht zur Agenesese, sondern zur Degeneration bereits vorhandener Zellen. Dabei degenerieren die PC in caudo-rostraler Richtung in parasagittalen Banden, wobei vor allem die Zebrin II-negativen PC überleben (Edwards et al., 1994). Diese topographische Zonierung ist möglicherweise durch eine biochemische Heterogenität der PC bedingt. Da die Zonen degenerierender PC im Lobus posterior am breitesten sind, ist der PC-Verlust dort am stärksten (Wassef et al., 1987). Die verbleibenden PC weisen Zeichen der Degeneration in Form von axonalen Varikositäten, sogenannten Torpedos auf. Manche Spines sind größer als gewöhnlich. An Stellen degenerierter PC beobachtet man zum Teil sogenannte empty baskets, die durch Persistieren von Geflechten von Korbzeldendriten nach Elimination der PC entstehen. Diese „Körbe“ sind größer und weisen eine höhere Faserdichte auf als die im Normaltier.

Die zweite in die Degeneration miteinbezogene Zellklasse sind die Körnerzellen, wenn auch in geringerem Ausmaß. Sie degenerieren wahrscheinlich retrograd, da

die Parallelfasern ihrer postsynaptischen Flächen beraubt sind. Die Reduktion der Parallelfasern selbst beträgt etwa 50%. Dies deutet darauf hin, dass die postsynaptische Zelle der wesentliche Faktor bei der Etablierung von Synapsen ist (Sotelo & Triller, 1979). An manchen Stellen finden sich in der Körnerschicht und auch der weißen Substanz ektoper Neurone, die bisher nicht sicher identifiziert werden konnten (Zilla et al., 1985).

Die inhibitorischen Interneurone wie Korb-, Stern- und Golgi Zellen sind vergleichsweise gering betroffen (Sotelo & Triller, 1979).

Die Kletterfasern bilden ungewöhnlich lange persistierende Synapsen an Dornen der PC (Landis, 1973).

Mit dem Zellverlust einhergehend kann man an der Grenze von Molekular- zu Körnerzellschicht die Einwanderung von Makrophagen, die Zelltrümmer phagozytieren, beobachten. Unter diesen besonders zu erwähnen ist die zur Phagozytose befähigte Mikroglia. Folge ist eine reaktive Gliose.

#### 1.6.2.4 Elektrophysiologie

Elektrophysiologische Untersuchungen am Cerebellum der *nr*-Mutanten wurden bisher nicht durchgeführt.

### 1.6.3 Die Lurcher Mutante

#### 1.6.3.1 Genetik:

Bei der Lurcher Mutante (Gensymbol *Lc/+*) handelt es sich um eine 1954 im Strain C3H spontan aufgetretene Punktmutation auf Chromosom 6 (Phillips, 1960; Norman et al., 1991). Zugrunde liegt eine gain of function Mutation innerhalb der  $\delta 2$ -Untereinheit des Glu-Rezeptors, die zu einem Ioneneinstrom in die PC führt (Zuo et al. 1997). Der Erbgang ist autosomal semi-dominant, homozygote Tiere sind aufgrund eines massiven Neuronenverlustes diencephaler und Hirnstammneurone nicht überlebensfähig (Cheng & Heintz, 1997).

### 1.6.3.2 Symptomatik:

Ist der Gendefekt homozygot, sterben die Tiere innerhalb des ersten Tages nach der Geburt. Heterozygote Mutanten haben eine normale Lebenserwartung und sind fruchtbar. Phänotypisch erstmals auffällig werden *Lc* zwischen P 12 und 14, wenn normale Mäuse ihre anfängliche Ungeschicklichkeit überwunden haben (Swisher & Wilson, 1977). Charakteristisch ist ein ataktisches Taumeln und Schwingen der hinteren Extremitäten. Es hat den Anschein, als würden diese nachgeben, was die Tiere immer wieder nach der einen oder anderen Seite zu Fall bringt. Die Koordination von Bewegung ist durch einen Asynergismus in vorderen und hinteren Extremitäten, in Extensoren wie auch in Flexoren gestört. Die Schritte sind klein. Es fallen an *Lc* Auf- und Abbewegungen der Hüfte, eine Tendenz zum Rückwärtslaufen und auch zur Rotation um die Längsachse auf (Caddy & Biscoe, 1975), die die Mäuse insgesamt sehr ungeschickt erscheinen lassen. Bewegungen auf der Tretmühle sind deutlich erschwert. Weiterhin fällt ein Tremor des Nackens auf, der zu rhythmischen Bewegungen des Kopfes führt. Die Bewegungsabläufe beim Schwimmen und Scharren zeigen, abgesehen von einem erhöhten Extensorentonus, keine Abweichungen von der Norm (Phillips, 1960; Fortier, 1987). Im Alter von etwa zwei Wochen, nämlich genau dann, wenn die Mutter die Jungtiere entwöhnt, bleibt das Gewicht der Mutanten hinter dem der Normaltiere zurück.

### 1.6.3.3 Morphologie und Histologie des Cerebellums:

Makroskopisch erscheint das Cerebellum kleiner als normal, wobei die grobe Gliederung erhalten ist (Caddy & Biscoe, 1975).

Bei homozygoten Tieren zeigt sich ein massiver Neuronenverlust im Diencephalon, Hirnstamm und Cerebellum, wobei der frühe Tod der Tiere vorrangig auf einen Zelluntergang im motorischen Trigeminskern und dadurch bedingter Saugunfähigkeit zurückgeführt wird (Cheng & Heintz, 1997).

Untersuchungen an heterozygoten Mutanten konnten zeigen, dass vor Einsetzen der klinischen Symptome bereits histologische Veränderungen nachweisbar sind. Das primäre Ziel des Gendefekts in *Lc* sind die PC. Die Dendriten der PC weisen eine abnorme Morphologie, die wahrscheinlich atrophiebedingt ist, auf (Wetts & Herrup,

1982; 1983). Es gibt starke Hinweise dafür, dass der folgende Zelltod apoptosevermittelt ist (Norman et al., 1995; Wüllner et al., 1995; 1998; Selimi et al., 2000). Erst sekundär kommt es zur transsynaptischen Degeneration der Körnerzellen und Afferenzen aus der unteren Olive.

Die quantitative Reduktion der PC-Population der Mutanten beginnt ab P 9. An P 26 umfaßt die PC-Population nur noch 9% im Vergleich zu derjenigen im Normaltier. Insgesamt beläuft sich der PC-Verlust der adulten Mutante auf über 97% (Caddy & Biscoe, 1979). Erste qualitative Zeichen der PC-Degeneration zeigen sich ebenfalls ab P 9 in Form einer veränderten Zellmorphologie mit mehr als zwei primären Dendriten bei insgesamt kleineren Dendritenbäumen und persistierenden dendritischen Spines. Darüberhinaus fallen „arciforme“ Axone und axonale Varikositäten sowie ektop lokalisierte Somata auf (Dumesnil-Bousez & Sotelo, 1992). Auch auf der Ebene der Zellorganellen kommt es zu Veränderungen der Verteilung und Gestalt, wie zum Beispiel zu einem abnormen endoplasmatischen Retikulum, abgerundeten Mitochondrien und einer erhöhten Anzahl von Lysosomen (Caddy & Herrup, 1991). Schließlich werden die Zellen nekrotisch und Zelltrümmer von Makrophagen eliminiert.

Die Synaptogenese mit Parallelfasern ist ab P 10 durch die pathologische dendritische Kompartimentierung der PC reduziert. Infolge retrograder Degeneration kommt es ab P 8 zu einem massiven Körnerzell-Verlust, der an P 26 75% beträgt und im weiteren Verlauf über 90% erreicht (Caddy & Biscoe, 1979).

Interessanterweise konnte kürzlich gezeigt werden, dass auch umgekehrt die Entwicklung der PC-Dendriten durch die Körnerzellen gehemmt wird (Doughty et al., 1999). Trotz dieses massiven PC- und Körnerzell-Verlustes bleibt die Topographie spinocerebellärer Moosfaserafferenzen in *Lc* unbeeinträchtigt (Vogel & Prittie, 1994). Darüberhinaus sind auch die Neurone der unteren Olive mit einem Zelluntergang zwischen 63% (Heckroth & Eisenman, 1991) und 75% (Caddy & Biscoe, 1979) stark in die degenerativen Prozesse miteinbezogen, wahrscheinlich sekundär zum PC-Verlust (Wetts & Herrup, 1982). Die olivocerebelläre Topographie bleibt erhalten, die Kletterfasern treten jedoch nicht in die Molekularschicht ein (Heckroth et al., 1990; Heckroth & Eisenman, 1991; Rossi et al., 1995).

Eine weitere Folge des massiven PC-Verlustes ist eine Abnahme von Input zu den DCN, was in einer Schrumpfung des Volumens dieser Kerne um etwa 60% (Heckroth, 1994 a; eigene Untersuchungen) mit Betonung in dorso-ventraler und rostro-caudaler Richtung (Caddy & Biscoe, 1979) zum Ausdruck kommt. Der Neuronenverlust durch anterograde Degeneration wird bei großen Neuronen auf 20%, bei kleinen auf 37% geschätzt, so dass es unter Berücksichtigung der massiven Volumenreduktion zu einer signifikanten Zunahme der Neuronendichte kommt (Heckroth, 1994 b).

#### 1.6.3.4 Elektrophysiologie:

Anhand von Einzelzelleableitungen an Interpositus-Neuronen von Wildtypen und *Lc* (Martin & Caddy, 1977) zeigte sich, dass es beim Normaltier meist zu einer ersten Phase der frühen Erregung kommt. Diese ist weiter unterteilbar in eine Excitation mit kurzer Latenz, einer kurzen Pause und eine Excitation mit längerer Latenz. Es folgt dann eine erneute Pause und daran anschließend eine zweite Phase längerer Erregung. Das Muster bei *Lc* weist gewisse Ähnlichkeiten auf, es fehlt jedoch die Pause in der ersten Phase der Erregung und die zweite Phase der Erregung ist deutlich verlängert. Dies könnte bedeuten, dass normalerweise die PC während der zweiten Erregungsphase aktiv werden und die Phasenlänge bestimmen. Aufgrund des Fehlens der PC bei der Mutanten ist diese Phase verlängert. Überraschenderweise sind jedoch Feuerungsrate und Spontanaktivität der Zellen im ICN der Mutante im Vergleich zum Normaltier nicht erhöht.

### 1.7 Calcium-bindende Proteine als selektive Nervenzell-Marker

An der chemischen Synapse wird durch Neurotransmitter Information von einer Zelle zur nächsten weitergeleitet. An der Vermittlung der Effekte der Transmitter auf ihre Zielzellen wesentlich beteiligt sind intrazelluläre Botenstoffe, wie intrazelluläres Calcium (Augustine et al., 1987). Reaktionspartner dieser Botenstoffe wiederum sind unter anderem Calcium-bindende Proteine (Kretsinger, 1981), die die Wirkung von Calcium auf den intrazellulären Metabolismus vermitteln und regulieren und damit nur indirekt an der Neurotransmission beteiligt sind. Der am besten untersuchte

Repräsentant dieser Familie ist Calmodulin (Cheung, 1980). Andere Vertreter dieser Gruppe sind Parvalbumin und Calbindin D-28k, die besonders aus morphologischer Sicht interessant sind, da sie in verschiedenen Subpopulationen des ZNS exprimiert werden (Baimbridge et al., 1982; Braun, 1990; Celio, 1990). So können erstmals Zellen und Kerngebiete des ZNS sichtbar gemacht werden, die sich zuvor einer Darstellung entzogen (Andressen et al., 1993).

### 1.7.1 Parvalbumin

Bei den Parvalbuminen handelt es sich um acidische, monomere Proteine mit einem Molekulargewicht von etwa 12 kDalton (Heizmann, 1988). Parv wird den Calcium-bindenden Proteinen der sogenannten EF-hand Familie zugeordnet. Die EF-hand ist eine Peptidsequenz mit einer charakteristischen dreidimensionalen Struktur, die eine hohe Affinität zu Calcium besitzt. Sie wurde erstmals in Parv beschrieben (Moews & Kretsinger, 1975). Jedes Parv-Molekül ist in der Lage zwei Calcium-Ionen zu binden (Heizmann, 1988). Das Vorhandensein von Parv korreliert mit dem intrazellulären Calcium-Gehalt. Es kommt bei Säugern meistens in der  $\alpha$ -Isoform vor (Föhr et al., 1993) und wird vorwiegend in schnell kontrahierenden Muskelzellen, Zellen des ZNS und einigen endokrinen Geweben exprimiert (Celio & Heizmann, 1981; 1982; Endo, 1985). In Muskelzellen konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen der Parv-Konzentration und dem Relaxationsgrad des Muskels besteht (Hou et al., 1991). In vielen Arealen des ZNS besteht eine hohe Colocalisation von Parv und GABA, der Überlappungsgrad ist jedoch nur selten komplett (Celio, 1986; Heizmann, 1988). Im Cerebellum wurde es neben den PC in allen inhibitorischen Interneuronen des cerebellären Cortex, abgesehen von Golgi Zellen, nachgewiesen (Braun et al., 1986).

Im ZNS scheint Parv durch die Eigenschaft Calcium-Ionen binden zu können, eine Pufferfunktion innezuhaben (Celio, 1990; Chard et al., 1993). Man weiß, dass eine erhöhte Nervenzellaktivität zu intrazellulären Calcium-Erhöhungen führt (Muri & Knöpfel, 1994). Daraus schloß man, dass die Konzentration von Parv in direktem Zusammenhang mit dem Aktivitätsgrad der jeweiligen Neurone steht (Heizmann, 1988; Kamphuis et al., 1989; Tsuzuki et al., 1989). Es wird angenommen, dass Parv

in Zellen hoher elektrischer und metabolischer Aktivität vorkommt (Heizmann, 1988). Durch die Eigenschaft Calcium-Ionen binden zu können, wird Parv auch eine excitoprotektive Funktion zugeschrieben, da es Zellen vor unkontrollierten Calcium-Erhöhungen, die einer irreversiblen Zellschädigung vorausgehen (Clarke, 1989), schützt und somit zu einer Stabilisierung der intracellulären Calcium-Konzentration beiträgt. Diese Annahme erfährt dadurch Unterstützung, dass Parv in Neuroblastom-Zellen eine Reduktion depolarisationsabhängiger Calcium-Erhöhungen hervorrufen und so stabilisierend auf die Nervenzellen wirken kann (Dreesen et al., 1996).

Darüberhinaus konnte gezeigt werden, dass es nach epileptischen Anfällen in entsprechenden Neuronen zu einem Anstieg der Immunreaktivität für Parv kommt (Kamphuis et al., 1989). Wahrscheinlich führt der massive Calciumeinstrom während epileptischer Anfälle zu einer verminderten GABA-Synthese. Neurone, die Parv und GABA colocalisieren, zeigen diesen GABA-Verlust nicht oder nur in geringerem Ausmaß (Kamphuis et al., 1989). Auch diese Ergebnisse sprechen für eine stabilisierende Wirkung von Parv auf Nervenzellen.

Antikörper gegen Parv wurden erstmals von Celio et al. (1988) entwickelt. Aus dieser Arbeitsgruppe stammt auch der in unserem Labor verwendete Antikörper.

### 1.7.2 Calbindin D-28k

Auch Calbindin D-28k (Calb) ist ein Calcium-bindendes Protein der EF-hand Familie (Moews & Kretzinger, 1975). Es wurde erstmals aus der Mucosa von Hühnerdarm isoliert (Wasserman & Taylor, 1966), kommt jedoch auch in Niere und Duodenum vor, wo seine Synthese Vitamin D-abhängig ist (Spencer et al., 1978). Im Gehirn (Jande et al., 1981) wird es vorwiegend im Cerebellum exprimiert, wo es häufig komplementär zu Parv verteilt ist (Celio, 1990). Antikörper gegen Calb fungieren im Cerebellum als selektive PC Marker (Batini, 1990), die auch Terminalien in den DCN sichtbar machen (Bäurle et al., 1997). Neben den inhibitorischen PC markiert Calb im ZNS vorwiegend excitatorische Neurone (Celio, 1990) und cerebelläre Glia-Zellen, die jedoch aufgrund ihrer andersartigen Morphologie nicht mit PC zu verwechseln sind (Batini, 1990).

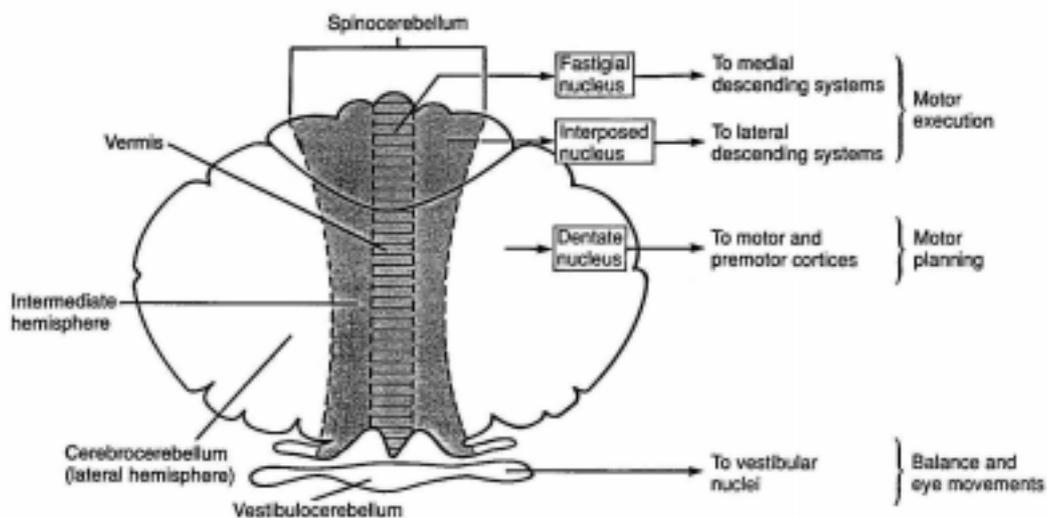
Wie Parv erfüllt auch Calb die Funktion eines intrazellulären Calcium-Puffers (Heizmann & Hunziker, 1991), kann dabei jedoch intrazelluläre Calcium-Spikes schneller und in größerem Ausmaß abpuffern als Parv (Chard et al., 1993).

Monoklonale Antikörper gegen Calb wurden von Celio et al. (1990) hergestellt und beschrieben.

## 1.8 Funktionen und Störungen des Cerebellums

Nach heutigem Wissensstand ist das Cerebellum für eine indirekte Kontrolle und Regulation von Bewegungsabfolge und Haltung verantwortlich. Dabei fungiert es, vereinfacht ausgedrückt, als vergleichende Instanz zwischen Ist- und Soll-Zustand. Seit Mitte der 80-er Jahre vermutet man darüberhinaus eine Partizipation auch an Kognition und Lernvorgängen, wofür neuroanatomische, Positronenemissionstomographie- und funktionelle Magnetresonanztomographie-Studien Hinweise geben (Fiez, 1996).

Das Vestibulocerebellum kontrolliert Augenbewegungen und Körpergleichgewicht, das Spinocerebellum die momentane Bewegungsabfolge und das Cerebrocerebellum spielt eine wichtige Rolle bei der Planung und Initiation von Bewegungen.



**Abb. 1.3:** Schematische Darstellung der Funktionen des Cerebellums (aus: Ghez, 1991).

Aus Verhaltensbeobachtungen an Tieren mit cerebellären Läsionen weiß man, dass bei Läsionen des Vestibulocerebellums Störungen des Gleichgewichts mit Schwindel, Übelkeit und Erbrechen, Rumpf- und Gangataxie sowie Störungen der Oculomotorik mit Nystagmus im Vordergrund stehen. Hinzukommen kann eine Dysarthrie. Bei Funktionsstörungen des Spinocerebellums beobachtet man regelmässig muskuläre Hypotonie und Hyporeflexie, und Koordinationsstörungen wie Dysmetrie, Aktionstremor und Myoklonus. Läsionen im Bereich des Cerebrocerebellums führen zu verzögerter Initiation und Beendigung von Bewegungen, was im positiven Rebound-Phänomen zum Ausdruck kommt. Darüberhinaus kommt es auch hier zu cerebellärem Tremor, der charakteristischerweise am Ende einer Bewegung, wenn die größte Präzision verlangt wird, besonders ausgeprägt ist. Außerdem kommt es zu Störungen in der zeitlichen Koordination komplexer Bewegungsabläufe wie auch in der räumlichen Koordination der Hand- und Fingermuskeln. Auch die skandierende Sprache wird Läsionen des Neocerebellums zugeschrieben (Gilman et al., 1981). Cerebelläre Ausfälle werden häufig erst bei Willkürbewegungen manifest, da viele Ausgänge aus dem Cerebellum (insbesondere Cerebrocerebellum) nicht direkt auf die Motoneurone und das Rückenmark, sondern auf den motorischen Cortex wirken. Sie finden sich meistens ipsilateral zur Seite der Läsion, da der cerebelläre Output durch den Pedunculus cerebellaris superior verläuft, welcher gekreuzt ist und im weiteren hauptsächlich die Tracti corticospinalis und rubrospinalis, die ebenfalls kreuzen, gestört sind. Unter visueller Kontrolle bessern sich diese Störungen nicht. In einzelnen Fällen können sich Symptome auch kontralateral manifestieren, nämlich dann, wenn Fasern des Hook'schen Bündels betroffen sind, die bereits im Cerebellum kreuzen (siehe 1.3.2).

Spontan auftretende Symptome cerebellärer Dysfunktion, wie Nystagmus und Rumpf- und Gangataxie, die dem Vestibulocerebellum zugeordnet werden, entziehen sich der willkürlichen Kontrolle, da PC des Vestibulocerebellums auf die vestibulospinalen Trakte und diese wiederum direkt auf Motoneurone im Rückenmark einwirken.

Wie aus vorangehenden Ausführungen deutlich wurde, erhält das Cerebellum über die drei Kleinhirnstiele afferent und efferent aus beinahe allen Bereichen des

Nervensystems Informationen und ist im Nebenschluß mit allen motorischen Systemen verbunden. Trotzdem verlaufen alle Aktivitäten des Kleinhirns unterhalb der Schwelle des Bewußtseins, wodurch das funktionelle Zusammenspiel trotz Kenntnis der einzelnen Elemente nicht einfach zu erkennen ist. Klassische, allgemein anerkannte Modelle cerebellärer Funktionssteuerung werden von M. Ito in seinem Werk „The Cerebellum and Neural Control“ (1984) beschrieben: das Mikrozonen- und Mikrokomplexmodell und das Seitenwegmodell.

### 1.8.1 Das Mikrozonen- und Mikrokomplexmodell

Mit dem Mikrozonenmodell wird der cerebelläre Kortex mosaikartig in longitudinale Mikrozonen eingeteilt, die bis zu 10 mm<sup>2</sup> Fläche einnehmen (Oscarsson, 1976). Experimentell konnte dieses Mikrozonenkonzept bisher jedoch nur für den Vermis und den Flocculus belegt werden. Eine Mikrozone ist durch die PC efferent mit jeweils einer kleinen Anzahl Neurone in den DCN und VN verbunden sowie afferent mit Moos- und Kletterfasern. Diese kleinste strukturell-funktionelle Einheit des cerebellären Cortex wird als corticonucleärer Mikrokomplex bezeichnet. Er ist in verschiedene extracerebelläre Systeme integriert.

Die excitatorischen Impulse von Kollateralen der Moosfasern zu den DCN werden durch den Output der Mikrozone moduliert und damit die Signalübertragung aus dem Hirnstamm oder Rückenmark verändert. Den Kletterfasern kommt in dem Mikrokomplexmodell eine Kodierungsfunktion zu. In der unteren Olive eintreffende Fehlersignale werden über die Kletterfaser an den Mikrokomplex weitergeleitet. Durch die Aktivierung der Kletterfasern wird in den Parallelfaser-PC Synapsen nach initialer Entladung der PC eine Langzeitunterdrückung derselben induziert.

Die funktionelle Bedeutung der Kletterfaserkollateralen zu den DCN ist noch unklar. Möglicherweise soll durch sie die Aktivierung der PC und die dadurch bedingte Inhibition der DCN-Neurone abgeschwächt werden (Ito, 1984; 1990).

### 1.8.2 Das Seitenwegmodell

Das Seitenwegmodell ist das heute experimentell am besten belegte Modell cerebellär kontrollierter Bewegungssteuerung. Es basiert auf der Vorstellung, dass

die oben erwähnten corticonucleären Mikrokomplexe des Cerebellums funktionell in einem Seitenweg in extracerebelläre Systeme einbezogen sind, wodurch sie modulierend auf diese einwirken können. Zur Veranschaulichung solcher neuronaler Netzwerke eignen sich Termini aus der Computertechnologie. Das Cerebellum fungiert dabei als Instanz der adaptiven Lernkontrolle, wobei es sich prädiktiver und multivariabler Kontrolle bedient. Multivariabel bedeutet hier, dass identische Zellverbände des Cerebellums (zum Beispiel corticonucleäre Mikrokomplexe) innerhalb verschiedener Regelkreise (zum Beispiel Reflexbögen) einsetzbar sind. Wichtige Erkenntnisse über die adaptive Funktion des Cerebellum erhielt man durch intensives Studium von Reflexen, wie zum Beispiel des vestibulo-oculären Reflexes (VOR), an den der Flocculus in einem Seitenweg angeschlossen ist. Die phylogenetisch neueren Hemisphären sollen auf motorische Lernprozesse einwirken. Inwieweit ein System adaptiv arbeiten kann, hängt von dem Zusammenspiel von rückgekoppelten (feedback) und nicht-rückgekoppelten (feedforward) Elementen ab. Bei einem rückgekoppelten System wird das Stellglied über den Zustand des Kontrollobjektes unterrichtet und kann so notwendige Korrekturen vornehmen. Ein System ohne Rückkopplung ist störenden Einflüssen ohne die Möglichkeit zur Registrierung und Korrektur ausgesetzt, hat jedoch den Vorteil ohne dadurch entstehende Verzögerung arbeiten zu können. Um ein effektives Kontrollinstrument zu erhalten, müssen die Nachteile eines Systems ohne Rückkopplung durch die Vorteile eines rückgekoppelten Systems ersetzt werden. Dies gelingt am besten durch die Einführung einer abgleichenden Instanz oder eines Adapters, der die Aktionen eines feedforward-Systems überwacht. Bezogen auf den VOR bedeutet dies, dass dieser Reflexbogen primär ein feedforward-System darstellt und erst durch den Flocculus eine Rückkopplung eingebaut ist, die eine Abstimmung der Geschwindigkeit von Kopfbewegung (Input) und folgender Augenbewegung (Output) gewährleistet. Nach diesem Prinzip werden viele autonome und somatische Reflexe durch das Kleinhirn beeinflusst.

Nach diesen Vorstellungen geht man auch von einer Beteiligung des Kleinhirns am Erlernen von Willkürbewegungen aus. Hierbei fungiert der Motorcortex als feedback-System und das Cerebellum als integriertes feedforward-System, wodurch während des Lernvorgangs eine Fehlerkorrektur ermöglicht ist. Nach Abschluß des

Lernvorgangs wird das rückgekoppelte System zugunsten größerer Effizienz durch das feedforward-System ersetzt (Ito, 1984; 1990). Analog könnten die lateralen Hemisphären am Erlernen mentaler Fähigkeiten beteiligt sein (Leiner, 1986).

## **1.9 Frühere Untersuchungen als Basis zur Formulierung der Arbeitshypothese**

### 1.9.1 Untersuchungen in den Kleinhirn- und vestibulären Kernen der Purkinje Cell Degeneration Mutante

Bei der *pcd*-Mutante kommt es durch einen auf Chromosom 13 lokalisierten Defekt neben anderen Veränderungen, auf die hier nicht eingegangen werden soll, zu einer fast vollständigen Elimination der PC und somit zu einer massiven Deafferenzierung der DCN und VN. Immunocytochemische Untersuchungen derselben zeigten, dass es daraufhin zu einer vermehrten Expression von Parv (siehe 1.7.1 und „Material und Methoden“), einem Calcium-bindenden Protein, das mit erhöhter Aktivität entsprechender Neurone in Verbindung gebracht wird, kommt. Im Gegensatz zu der Mutante sind diese Parv-positiven Neurone im Wildtypen praktisch nicht nachweisbar. Durch Colocalisation von Parv mit GABA oder Glycin konnte gezeigt werden, dass es sich dabei um inhibitorische Neurone handelt (Bäurle et al., 1997). Bereits aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass Parv auch in anderen Hirnregionen vorwiegend in GABA-ergen (Celio & Heizmann, 1981; Celio, 1986; 1990; Scotti & Nitsch, 1992) und glycinergen Neuronen (Aoki et al., 1990) lokalisiert ist.

Aufgrund des massiven PC-Input-Verlustes bei *pcd* sollte man elektrophysiologisch als Konsequenz eine starke Disinhibition ihrer Projektionsareale annehmen. Jedoch zeigte sich bei sinusförmiger Stimulation der horizontalen Bogengänge eine dem Normaltier vergleichbare Spontanaktivität und vestibulär evozierte Feuerungsrate, so dass ein Ersatz der weggefallenen Hemmung durch kompensatorische Mechanismen angenommen werden muss (Grüsser-Cornehls, 1988; Bäurle et al., 1997).

### 1.9.2 Verhaltensbeobachtungen an Mäuse-Mutanten

Trotz ihres nahezu kompletten PC-Verlustes weisen *pcd*-Mutanten relativ geringe motorische Defizite auf. Die *wv*-Mutante hingegen mit einem weniger ausgeprägten PC-Verlust von etwa 50% im Vermis und 25% in den Hemisphären leidet unter schwerer Ataxie, Tremor und Haltungsinstabilität. Die Parv-Expression in *wv* steigt nicht an. Erstaunlicherweise bessern sich diese Symptome teilweise nach Vermektomie, wobei die Parv-Expression ansteigt (Grüsser-Cornehls et al., 1999)

### **1.10 Arbeitshypothese und Fragestellungen**

Basierend auf obigen Beobachtungen ergab sich die Hypothese, dass bei cerebellären Mutationen mit einem bestimmten Grad an PC-Verlust die Parv-Expression in den Projektionsarealen der PC eine generelle Antwort als Folge des reduzierten PC-Inputs darstellen könnte.

Sollte sich diese Annahme bestätigen, ergeben sich daraus weitere Fragen.

Ist die Parvalbumin-Expression abhängig vom Grad des PC-Verlustes in einem bestimmten Areal und damit vom Grad der Denervation in den DCN?

Wenn ja, muss der PC-Verlust ein bestimmtes Ausmaß erreichen, damit es zur Parv-Expression kommt?

Gibt es einen chronologischen Zusammenhang zwischen PC-Verlust und Parv-Expression? Kommt es mit zunehmendem PC-Verlust zur graduellen Zunahme in den DCN oder muss eine Art Schwelle überschritten werden?

Existiert ein topographischer Zusammenhang zwischen denerviertem Cortex-Areal und Lokalisation der Parv-Expression in den Kerngebieten?

Ist eine Korrelation zwischen Motorik und Parv-Expression vorstellbar?