

4 Diskussion

4.1 Technik

4.1.1 Fixierung und Inkubation

Trotz identischer Behandlung der Gewebeproben und hoher Selektivität der Antigen-Antikörperreaktionen waren gewisse Schwankungen im Färbeverhalten nicht zu vermeiden, was sich beispielsweise an einer bei *Lc* wiederholt auftretenden diffusen Calb-Färbung zeigte.

Ein Faktor, durch den das Ergebnis entscheidend beeinflusst wird, ist die Qualität der Fixierung. Selbst wenn sämtliche kontrollierbaren Parameter, wie Konzentration und Volumen des Fixans, Perfusionsdruck und Fixierzeit konstant gehalten werden, existieren zahlreiche Parameter, die kaum beeinflussbar sind. Dazu zählen das Ansprechen des Gewebes auf vor Fixationsbeginn applizierte Vasodilatoren, eine den Fixationserfolg beeinträchtigende Thrombenbildung in Gefäßen oder auch die Dauer der Gewebehypoxie.

All diese Faktoren müssen bei der Beurteilung der Ergebnisse berücksichtigt werden, wobei die Anwendung definierter Kriterien hilfreich ist. Information über die Qualität der Fixation erhält man durch die Auswaschung von Blutgefäßen, Steifheit und Schneideverhalten des Gewebes, die jedoch nur eine grobe Orientierung bieten. Objektivere Kriterien sind die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und der Vergleich mit Ergebnissen anderer Labors.

Die in die Auswertung dieser Arbeit einbezogenen Präparate wiesen alle eine nach vorgängig genannten Kriterien hohe Qualität auf.

4.2 Existenz einer Abhängigkeit zwischen PC-Verlust und Parv- Expression in den DCN

In der adulten *pcd*-Mutante, die unter einer mutationsbedingten Degeneration fast aller PC leidet, werden Parv-positive Zellen in den DCN sichtbar (Bäurle et al., 1997).

Immunocytochemische Untersuchungen an den DCN von Wildtypen zeigten, dass diese Parv-positiven Neurone dort nicht zu sehen sind (Bäurle et al., 1997), respektive Parv erst nach Applikation des Mitosegiftes Colchizin sichtbar gemacht werden kann (Celio, 1990).

In der *wv*-Mutante hingegen, die neben einer Degeneration der Körnerzellen als primärem Angriffspunkt des Gendefektes auch unter einem, wenn auch weniger ausgeprägten, PC-Verlust bis zu 50% leidet (detaillierte Beschreibung von *pcd* und *wv* siehe 4.4) sind diese Parv-positiven Neurone in den DCN nicht nachweisbar (Hoshi et al., 1996; Grüsser-Cornehls et al., 1996).

Dies warf die in dieser Arbeit untersuchte Frage auf, ob die Parv-positiven Zellen in *pcd* ein isoliertes Phänomen darstellen oder ob die Expression von Parv in den Zielorten der PC-Projektion unter gewissen Voraussetzungen als generelle Antwort auf den PC-Verlust betrachtet werden kann. Beantwortet werden sollte diese Frage durch eine vergleichende Studie an cerebellären Mutanten mit unterschiedlichem Ausmaß an PC-Verlust. Die Ergebnisse in *sg*, *Lc* und *nr* zeigen deutlich, dass das Vorhandensein Parv-positiver Neurone in den DCN in Abhängigkeit vom Grad des PC-Input Verlustes ein allgemeingültiges Prinzip widerspiegelt.

Darüberhinaus galt es herauszufinden, ob die Areale der DCN, in denen es zu einer Parv-Elevation kommt, in topographischem Zusammenhang mit den PC-deprivierten Cortexarealen stehen.

4.2.1 Topographie des corticalen PC-Verlustes und der Reduktion des PC-Inputs in den DCN bei cerebellären Mutanten

Die histologische Dokumentation der Degeneration von PC erfolgte durch das Calcium-bindende Protein Calb (Celio et al., 1990), das hierfür ein geeigneter Marker ist. Im cerebellären Cortex sind die PC die einzigen Calb-positiven Zellen (Batini, 1990), in den DCN und VN sind nur Fasern und Terminalien von PC und einer Subpopulation primär vestibulärer Afferenzen Calb-positiv (Bäurle et al., 1998b).

Die hier beschriebene Studie verschiedener Mutanten hat Ergebnisse früherer Untersuchungen, die belegen, dass es in den untersuchten Tieren zu einem ausgeprägten Verlust Calb-positiver PC kommt, bestätigt (*sg*: Sidman, 1962; Herrup

& Mullen, 1979 a; *nr.* Landis, 1973; Sidman & Green, 1970; Zilla et al., 1985; *Lc:* Caddy & Biscoe, 1979). Erweitert werden diese durch die Beschreibung der degenerativ bedingten Reduktion von Terminalien und Fasern in den DCN.

Wie im Ergebnisteil beschrieben, kommt es bei der *sg*-Mutante zu einer den gesamten Cortex betreffenden, annähernd gleichmäßig verteilten Reduktion und cytoarchitektonischer Disorganisation cerebellärer PC. Isolierte PC-freie Zonen sind an keiner Stelle sichtbar. In den DCN führt dies zu einem relativ homogenen PC-Terminalienverlust. Auffallend sind jedoch große Calb-positive Zellen an der dorsolateralen Begrenzung des Kerngebietes. Durch eine „Brücke“ aus gefärbten Zellen und Fasern besteht eine Verbindung mit den unregelmäßig angeordneten PC des Cortex, denen diese Zellen lichtmikroskopisch in Form und Gestalt gleichen. Ektope, in der Körnerschicht verstreute große Zellen mit unipolar ausgerichtetem Dendritenbaum wurden in *sg* bereits von Herrup und Mullen (1979b) beschrieben und als PC betrachtet. Diese Ansicht wird durch zwei zusätzliche Beobachtungen der vorliegenden Arbeit unterstützt: Erstens ist der Übergang zu den Zellen des cerebellären Cortex fließend, ohne dass sich durch die weiße Substanz eine vollständige Abtrennung ergibt; zweitens lassen sich diese Zellen wie auch die PC mit Antikörpern gegen Calb *und* Parv darstellen, wohingegen die Parv-positiven Neurone der DCN nie Calb-positiv sind. In *sg* sind demnach zwar Parv-positive Neurone in den Arealen der DCN vorhanden, diese sind aber mit großer Wahrscheinlichkeit corticalen Ursprungs, entstammen also nicht den DCN, wie das in *pcd* der Fall ist.

In der *nr*-Mutante kommt es zu einem umfangreicheren PC-Verlust als in *sg*. Die PC zeigen eine differenzierte Resistenz gegenüber der Mutation. Dies wird durch das Degenerationsmuster deutlich, das in symmetrischen, parasagittalen Banden verläuft und als ein Indiz für die PC-Heterogenität gewertet wird (Chan-Palay et al., 1981). Die Existenz von PC-Subpopulationen wurde bereits durch immunocytochemische Studien an Normaltieren belegt (Chan-Palay et al., 1981; Hawkes & Leclerc, 1987), lässt sich jedoch an Tieren mit einem mutationsbedingten PC-Verlust besonders gut untersuchen. Die Kompartimente überlebender PC finden sich hauptsächlich im Vermis und in direkt daran anschließenden Hemisphärenregionen (Wassef et al., 1987). Die Mutation wirkt sich deutlicher auf die anti-Zebrin II-positiven PC-

Kompartimente aus, die einer stärkeren Degeneration unterworfen sind. Da die anti-Zebrin II-positiven Banden im posterioren Cerebellum breiter sind als anterior, ist der PC-Verlust im posterioren Cerebellum stärker ausgeprägt als anterior (Edwards et al., 1994). In allen drei Untereinheiten der DCN finden sich Denervationszeichen. Dabei ist im LCN und ICN praktisch kein PC-Input mehr nachweisbar, im anterioren MCN sind, in Übereinstimmung mit der zuvor beschriebenen Ausdehnung der PC-Kompartimente, noch relativ zahlreiche Terminalien vorhanden. Daneben fallen im posterioren MCN hypertrophierte, Calb-positive Fasern und Terminalien auf. Solche hypertrophierten Axonterminalien wurden neben anderen Axonveränderungen bereits zuvor beschrieben (Tellez & Terry, 1968; Sotelo & Palay, 1971). Sie gehen mit einer Reduktion synaptischer Vesikel einher und sind unspezifische Zeichen neuronaler Degeneration, die eine funktionelle Beeinträchtigung der synaptischen Übertragung anzeigen. Zusammen mit axonalen Varikositäten, sogenannten Torpedos (Sotelo, 1990; Suzuki & Zagoren, 1975; Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1994; Bäurle et al., 1997b; Mizushima et al., 1976), und Veränderungen an synaptischen boutons (Sotelo, 1968) gelten sie als Indikatoren anterograder axonaler Degeneration. In *nr* zeigt das Auftreten dieser Varikositäten eine auch im adulten Tier kontinuierlich fortschreitende Degeneration an.

In *Lc*, bei der es mutationsbedingt zu einem fast vollständigen PC-Verlust kommt, sind auch die DCN beinahe komplett von ihrem PC-Input befreit. Lediglich im MCN und LCN sind vereinzelt Calb-positive Fasern und Terminalien sichtbar. Es konnte gezeigt werden, dass diese Calb-positiven Strukturen in *Lc*, wie auch in *pcd*, einer Subpopulation großer primär vestibulärer Afferenzen zuzurechnen sind (Bäurle et al., 1998b) und keine residuellen PC-Terminalien repräsentieren.

4.2.2 Topographische Korrelation zwischen PC-Input Verlust und Parv-Anstieg in den DCN

Wie im Ergebnisteil demonstriert wurde, kommt es bei zwei der Mutanten, *nr* und *Lc*, zu einer Parv-Elevation in den DCN. In *sg* wird kein Parv in Neuronen der DCN exprimiert.

In *nr*, bei der bis auf einige Zellen im Vermis die meisten PC in parasagittalen, longitudinalen Banden degenerieren (Edwards et al., 1994), findet sich lediglich im anterioren MCN ein Rest an funktionell intaktem PC-Input. Bei dieser Mutanten ist in allen Untereinheiten der DCN, abgesehen vom anterioren MCN, ein Parv-Anstieg nachweisbar.

In der *Lc*-Mutante kommt es zu einer gleichmäßig verteilten, fast vollständigen Elimination der PC-Population (Caddy & Biscoe, 1979), wie durch die Immunocytochemie mit Calb gezeigt wurde. In den DCN werden Parv-positive Neurone in allen drei Untereinheiten sichtbar.

Aus den Befunden dieser beiden Mutanten geht hervor, dass der vollständige PC-Input Verlust in den DCN zu einer Parv-Elevation führt. Dagegen werden in Arealen mit verbleibendem PC-Input keine Parv-positiven Neurone sichtbar. Die Lokalisation dieser Parv-positiven Zellen korreliert also in diesen beiden Mutanten mit der Topographie des Verlustes von PC-Terminalien in den DCN. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit den Befunden von *pcd* und vermectomierten *wv*, in denen ebenfalls eine topographische Korrelation zwischen PC-Input Verlust und Parv-Anstieg in den DCN gezeigt werden konnte (Bäurle et al., 1997; Grüsser-Cornehls et al., 1999).

4.2.3 Chronologische Korrelation des Auftretens von Parv mit der Degeneration der PC

Bei der *nr*-Mutante wurde der Beginn des PC-Verlustes auf P 23 datiert (Landis, 1973), was die Ergebnisse unserer Immunocytochemie mit Calb bestätigen: An P 22 ist nur ein diskreter PC- und Terminalien-Verlust im Kerngebiet sichtbar, an P 23 bereits ein deutlicher, besonders im ICN. In den alternierend mit Parv inkubierten Schnitten fallen Parv-positive Neurone erstmals an P 23 auf und zwar ebenfalls im ICN.

Die histologischen Befunde der *Lc*-Mutante zeigen Parallelen zu *nr* im zeitlichen Auftreten Parv-positiver Neurone. Erste Parv-positive Neurone werden sichtbar, sobald die Degeneration der PC massiv zunimmt. Dies ereignet sich zwischen P 18 und P 19, dem Tag, an dem Parv-positive Neurone erstmals detektierbar sind.

Daraus geht hervor, dass die Expression von Parv in Neuronen der DCN nicht nur in topographischem, sondern auch in zeitlichem Zusammenhang mit dem PC-Verlust steht.

4.3 Bedingungen für eine Parv-Elevation in den DCN

Durch immunocytochemische Untersuchungen in den DCN der drei Mutanten wurde gezeigt, dass es in *nr* und *Lc* zu einer Elevation Parv-positiver Neurone in den DCN kommt, diese Parv-positiven Neurone jedoch, wie auch in Wildtypen, in *sg* nicht nachweisbar sind. Wie lassen sich diese unterschiedlichen Befunde in Mutanten, die alle einen PC-Verlust aufweisen, erklären?

Anhand unserer Ergebnisse wie auch zusätzlicher Daten aus anderen cerebellären Mutanten mit PC-Verlust, die nachfolgend diskutiert werden, lässt sich schließen, dass das Ausmaß des PC-Verlustes und die dadurch bedingte Denervation der DCN, die sich bei den einzelnen Mutanten unterscheiden, das entscheidende Kriterium für eine erhöhte Expression von Parv in Neuronen der DCN ist. Es wurde bereits erwähnt, dass Parv unter normalen Bedingungen zwar exprimiert wird, die Menge an Parv im Cytoplasma aber durch axonalen Transport so niedrig gehalten wird, dass sie immunocytochemisch erst nach Applikation von Colchizin sichtbar gemacht werden kann (Celio, 1990). Offensichtlich stellt das Ausmaß des PC-Verlustes das entscheidende Signal für einen Anstieg der Parv-Expression dar.

In *Lc* mit einem PC-Verlust von 97% an P 63 (Caddy & Biscoe, 1976) werden Parv-positiv Neurone in den DCN sichtbar. Ein PC-Verlust von 92% im Vermis und 97% in den Hemisphären, wie er bei *nr* gegeben ist (Zilla et al., 1985), führt ebenfalls zu einer Parv-Elevation in den DCN (zur genauen Topographie siehe 4.2.2).

Anders verhält es sich in *sg*. Hier sind mit Ausnahme der ektopen PC (Herrup & Mullen, 1979b; siehe 4.2.1) keine Parv-positiven Neurone in den DCN sichtbar. Anders jedoch auch als in *nr* und *Lc* kommt es in *sg* mit einem durchschnittlich 75%-igen PC-Verlust (Herrup & Mullen, 1979b) an keiner Stelle der DCN zu einem vollständigen Terminalien- und Faser-Verlust, sondern lediglich zu einer Reduktion derselben.

Diese Ergebnisse zeigen, dass ein extremes Ausmaß an Denervation der DCN erforderlich ist, um eine Elevation von Parv hervorzurufen. Das exakte Ausmaß des PC-Verlustes ist aus diesen Untersuchungen nicht sicher zu bestimmen, liegt aber im Bereich von mehr als 90%. Aus diesen Ergebnissen geht außerdem hervor, dass eine erhöhte Parv-Expression in den DCN ein allgemeingültiges Prinzip in Abhängigkeit vom Ausmaß des PC-Verlustes darstellt. Untermuert wird diese Theorie durch experimentelle Arbeiten an anderen Mutanten, auf die nachfolgend eingegangen wird (siehe 4.4).

4.3.1 Bedeutung von Parv und von Parv-positiven Neuronen in den DCN

Im Cerebellum kommt Parv in der α -Isoform vor (Föhr et al., 1993) und markiert dort PC inklusive ihrer Dendriten und Axone sowie der Terminalien in den DCN. Korb- und Sternzellen werden ebenfalls markiert (Celio & Heizmann, 1981), wobei die Axone und Axonterminalien der PC und Korbzellen eine stärkere Immunreaktivität für Parv als die übrigen Zellbestandteile zeigen (Kosaka et al., 1993).

Der intrazelluläre Calcium-Gehalt kann als Indikator für die Feuerungsrate von Neuronen gelten (Muri & Knöpfel, 1994). Da Parv als intrazellulärer Calcium-Puffer fungiert, korreliert sein Vorhandensein wahrscheinlich mit dem Aktivitätsniveau einer Zelle (Celio, 1984; 1990; Kamphuis et al., 1989; Tsuzuki et al., 1989). In schnell feuernden Neuronen konnte gezeigt werden, dass Parv als intrazellulärer Calcium-Puffer und Transportprotein einer Erhöhung cytoplasmatischer Calcium-Konzentrationen entgegenwirkt (Baimbridge et al., 1985) und Neurone vor einem exzessiven neurotoxischen Calcium-Influx schützt. In Neuroblastom-Zellen des Menschen reagierten mit Parv transfizierte Zellen auf eine Depolarisation mit geringeren Calcium-Elevationen als Zellen, die keine Immunreaktivität gegen Parv aufwiesen (Dreessen et al., 1996). Die physiologischen Funktionen von Parv stehen also mit neuronaler Aktivität und Neuroprotektion in Zusammenhang, sind jedoch letztlich nicht vollständig geklärt.

Durch Colocalisationsstudien gelang eine weitere Annäherung an die funktionelle Bedeutung dieses Proteins. Schon lange weiß man von Ähnlichkeiten in der Verteilung Parv-positiver und GABA-erger Neurone. Im Cerebellum verschiedener

Spezies betrifft dies PC, Korb- und Sternzellen (Fonnum & Storm-Mathisen, 1978; Stichel et al., 1986; Celio, 1990; Scotti & Nitsch, 1992). In weiteren Untersuchungen konnte man zeigen, dass GABA-erge Subpopulationen in anderen Arealen des ZNS, wie im cerebralen Cortex (Celio, 1986), im Hippocampus (Kosaka et al., 1987a) und im Bulbus olfactorius (Kosaka et al., 1987b), ebenfalls Parv-positiv sind. Darüberhinaus entdeckte man die Lokalisation von Parv auch in Neuronen, die sich eines anderen inhibitorischen Transmitters bedienen – Glycin (Aoki et al., 1990).

Die quantitative Auswertung direkter Doppelmarkierungen mit Parv und GABA bzw. Glycin konnte zeigen, dass über 90% aller inhibitorischen Neurone in den DCN von *pcd* Parv colocalisieren (Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997).

Es stellt sich nun die Frage nach einer Möglichkeit, diese Parv-positiven Neurone innerhalb der DCN genauer zu klassifizieren. Aus den Colocalisationsexperimenten geht hervor, dass Parv hauptsächlich in inhibitorischen Neuronen vorkommt. Außerdem ist bekannt, dass in den DCN eine GABA-erge Innervation existiert, die nicht aus PC-Input stammt und etwa 15% der gesamten GABA-ergen Innervation der DCN ausmacht (Wassef et al., 1986). Darüberhinaus weiß man, dass GABA-erge und auch glycinerge Zellen in den DCN vorwiegend kleine bis mittelgroße Neurone sind (Fredette & Mugnaini, 1991; Batini et al., 1992; Chen & Hillman, 1993; Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997). Weiterführende Experimente, die beispielsweise Projektionsziele oder elektrophysiologisches Verhalten dieser Neurone direkt untersucht hätten, liegen nicht vor, so dass die anatomische Zuordnung dieser Parv-positiven Neurone zu einer bekannten Zellpopulation vorerst schwierig bleibt. Mit dem jetzigen Wissen sind auf der Basis von Zellgröße und Colocalisation von Transmittern verschiedene Alternativen der Genese dieser Parv-positiven Neurone vorstellbar: Erstens könnte es sich um GABA und Glycin colocalisierende Interneurone (Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997) handeln. Eine zweite Möglichkeit wären Glycin-immunopositive Interneurone (Chen & Hillman, 1993), drittens GABA-erge nucleooliväre Zellen (Fredette & Mugnaini, 1991) oder GABA-erge nucleocorticale Neurone (Batini, 1990).

Aus den Doppelmarkierungen in *pcd*, in denen besonders die Glycin-positiven Neurone eine quantitative Zunahme erfahren (Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997),

lässt sich eine besondere Bedeutung dieser Neurone innerhalb der wahrscheinlich heterogenen Gruppe Parv-positiver Neurone schließen.

Insgesamt ist nach dem jetzigen Wissensstand eine intrinsische Genese der Parv-positiven Neurone wahrscheinlich. Eine Coexistenz von nucleoolivären oder nucleocorticalen Zellen in der Population Parv-positiver Neurone ist dadurch jedoch nicht ausgeschlossen. Bezieht man jedoch als weiteren Gesichtspunkt die Motorik der einzelnen Mutanten in die Überlegungen mit ein, ist unter funktionellen Aspekten eine intrinsische oder nucleooliväre Genese der Parv-positiven Neurone zu favorisieren (siehe 4.5).

4.4 Vergleich mit Studien an anderen Mutanten

4.4.1 Die Purkinje Cell Degeneration Mutante

Zu den in dieser Arbeit beschriebenen Experimenten analoge immunocytochemische Untersuchungen wurden zuerst an *pcd*-Mutanten durchgeführt (Bäurle et al., 1997). Bei *pcd* kommt es aufgrund eines intrinsischen PC-Defektes nach der Etablierung synaptischer Verbindungen zu einer massiven Degeneration dieser Zellpopulation etwa ab P 15, so dass an P 30 lediglich 0,5%, nach 4 Monaten nur noch 0,05%, vorwiegend im Nodulus lokalisierte, PC überleben (Mullen et al., 1976; Landis & Mullen, 1978). Der genetische Defekt wird auf Chromosom 13 lokalisiert (Roffler-Tarlov et al., 1979). Sekundär zum PC-Verlust wurde die retrograde Degeneration weiterer Neurone sowie auch die Degeneration extracerebellärer Zellpopulationen beschrieben (Mullen et al., 1976; La Vail et al., 1982; O’Gorman & Sidman, 1985; O’Gorman, 1985). Da sie jedoch für das Verständnis der im Folgenden beschriebenen Untersuchungen nicht relevant sind und auch keinen Einfluss auf die Ataxie der Mutanten haben, soll hier nicht darauf eingegangen werden.

Trotz dieser gravierenden histologischen Veränderungen ist die daraus resultierende klinische Symptomatik vergleichsweise gering ausgeprägt. Die Tiere leiden lediglich unter einer milden Ataxie, die erstmals Anfang der 4. Woche postnatal auffällt (Mullen et al., 1976). Extrazelluläre Ableitungen an einem Projektionsareal der PC, den VN, zeigten eine mit Wildtypen vergleichbare Spontanaktivität und vestibulär

evozierte Feuerungsrate vestibulärer Neurone und keine dem massiven PC-Verlust entsprechend anzunehmende Disinhibition (Grüsser-Cornehls, 1988; Bäumle et al., 1997).

Immuncytochemische Untersuchungen der DCN von *pcd* belegten ein praktisch komplettes Fehlen von PC-Terminalien in den DCN. Gleichzeitig wurde das Vorhandensein einer großen Anzahl Parv-positiver Neurone in allen drei Untereinheiten der DCN nachgewiesen (Bäumle et al., 1997). Wie bereits erwähnt, (siehe 4.3.1) ist die Colocalisation von Parv in inhibitorischen Neuronen bekannt, so dass die Ergebnisse aus Elektrophysiologie, Immuncytochemie und Klinik insgesamt die Hypothese einer funktionellen Kompensation des PC-Verlustes durch eine Wiederherstellung verlorengangener Hemmung unterstützen, worauf jedoch unter 4.5 näher eingegangen wird.

4.4.2 Die Weaver Mutante

Weitere Unterstützung erfuhr unsere Annahme einer Abhängigkeit der Parv-Expression vom PC-Input durch Experimente an der *wv* Mutante. Diese Mutante ist neben einem fast vollständigen Fehlen der Körnerzellen, auf die sich der Gendefekt primär auswirkt, durch einen PC-Verlust von etwa 50% im Vermis und 25% in den Hemisphären charakterisiert (Sidman et al., 1965; Rakic & Sidman, 1973 a; 1973 b; Blatt & Eisenman, 1985; Herrup & Trenkner, 1987). Daneben wurde auch eine Degeneration dopaminergere Zellen in der Substantia nigra beschrieben (Roffler-Tarlov & Graybiel, 1986). Der genetische Defekt wurde auf einem Gen für einen Kalium-Kanal (GIRK 2) lokalisiert (Patil et al., 1995). Motorisch fallen die Tiere durch eine ausgeprägte Ataxie, Haltungsinstabilität und Tremor auf, die an den Hinterläufen besonders betont sind. Die Symptomatik ist schwerwiegender als bei allen bisher erwähnten Mutanten, jedoch nicht so stark ausgeprägt, wie bei der nachfolgend beschriebenen Mutante *Leaner* (Gensymbol: *tg^a*).

Elektrophysiologisch konnte an unoperierten *wv* bei sinusförmiger Stimulation der horizontalen Bogengänge und Registrierung von Neuronen der VN und PC des Flocculus wesentliche Unterschiede zu Wildtypen gezeigt werden (Grüsser-Cornehls, 1995; Grüsser-Cornehls et al., 1995b).

Bei den Neuronen der VN unterscheidet man Typ I und Typ II Neurone. Typ I Neurone werden durch Rotation zur ipsilateralen, Typ II Neurone durch Rotation zur kontralateralen Seite aktiviert (Duensing & Schäfer, 1958). Die Reiz-Antwort-Kurve vestibulärer Typ I Neurone, die direkten Input von PC erhalten (Precht, 1978), zeigte einen „upward-shift“ im Sinne einer Disinhibition, die Typ II Neurone hingegen einen „downward-shift“.

Ableitungen an PC des Flocculus demonstrierten hinsichtlich der Reiz-Antwort-Kurve kaum Unterschiede zum Wildtypen; deutlich unterschieden sich die Mutanten jedoch von Normaltieren durch die große Varianz im Phasenverhalten. Diese Unregelmäßigkeiten im Phasenverhalten, die eine hochgradige Disorganisation im Feuerungsverhalten der PC zum Ausdruck bringen, sind vermutlich die Ursache der Disinhibition vestibulärer Typ I Neurone und auch für die Divergenz des Antwortverhaltens zwischen Typ I und Typ II Neuronen verantwortlich (Grüsser-Cornehls, 1995).

Trotz des PC-Verlustes ist die Terminaldichte und -größe in den DCN von *wv* im Vergleich zu Wildtypen nicht reduziert. Diese Beobachtung wird am besten durch das Einsetzen kollateraler „Sproutings“ von Terminalien erklärt (Bäurle et al., 1992). „Sprouting“ beschreibt in diesem Zusammenhang die Expansion benachbarter Terminalien nach partieller Deafferenzierung von Zielzellen, die einen Kompensationsmechanismus darstellt und auch in anderen Regionen des ZNS beschrieben wurde (Tsukahara et al., 1974; Nieoullon & Dusticier, 1981; Goldowitz et al., 1982). Parv-positive Neurone sind in den DCN von *wv* nicht vorhanden (Bäurle et al., 1998a). Entfernt man jedoch operativ den Vermis und damit einen Großteil des PC-Outputs dieses Cortexareals und führt postoperativ immunocytochemische Studien durch, zeigt sich das Auftreten Parv-positiver Neurone in den korrespondierenden Projektionsarealen in MCN, ICN und lateralem VN. Die Grenze zwischen denerviertem und nicht denerviertem Kerngebiet ist dabei klar differenzierbar (Grüsser-Cornehls et al., 1999). Diese Ergebnisse legen den Zusammenhang zwischen PC-Verlust und Expression Parv-positiver Neurone nahe: Bei der unoperierten *wv* ist der PC-Verlust nicht ausreichend, um diese Reaktion hervorzurufen, erst nach Ablation eines großen Teils des PC-Inputs aus dem Vermis werden Parv-positive Neurone in den korrespondierenden Arealen der DCN sichtbar.

4.4.3 Die Leaner Mutante

Interessant waren auch die Ergebnisse aus einer weiteren cerebellären Mutante: tg^{la} . Es handelt sich um eine autosomal rezessiv vererbte Mutation, die auf Chromosom 8 lokalisiert wird (Herrup & Wilczynski, 1982). Sie tritt in einem Gen auf, das für die $\alpha 1A$ -Untereinheit eines spannungsabhängigen Calcium-Kanals kodiert (Fletcher et al., 1996). Da diese Untereinheit im Cerebellum besonders stark exprimiert wird, kommt es zur Degeneration von PC, Körnerzellen und Golgi Zellen (Sidman et al., 1965; Yoon, 1969). Der Zellverlust setzt bei den Körnerzellen ab P 10 ein. Die Reduktion der Golgi Zellen beginnt in der dritten Woche post partum und erreicht im Verlauf etwa 50%. Der PC-Verlust beginnt etwa ab P 25-30 und erreicht mit 6.5 Monaten 80%. Ein kontinuierlicher, wenn auch langsamer Degenerationsprozeß schließt sich, sofern die Tiere überleben, mindestens bis zum Ende des ersten Jahres an (Herrup & Wilczynski, 1982). Er ist im anterioren Cerebellum am stärksten ausgeprägt, da die PC Degeneration in parasagittalen Banden, die im anterioren Cerebellum am weitesten und im posterioren am engsten sind, erfolgt. Dadurch erreicht der PC-Verlust im anterioren Cerebellum stellenweise fast 100%. Im Gegensatz zu *nr* degenerieren bei dieser Mutante die anti-Zebrin II-negativen PC (Heckroth & Abbott, 1994). Phänotypisch leiden diese Mutanten von allen bisher erwähnten unter der schwersten Ataxie, die sich etwa an P 10 erstmals manifestiert. Zusätzlich treten epileptiforme Anfälle und myoklonusähnliche Bewegungsstörungen auf. Die meisten Tiere sterben um P 25 (Seyfried et al., 1981).

Elektrophysiologische Ableitungen in den VN von tg^{la} nach sinusförmiger Stimulation der horizontalen Bogengänge ergaben eine im Vergleich zu Wildtypen erhöhte vestibuläre Feuerungsrate (Grüsser-Cornehls et al., 1995a). In Kenntnis des massiven Verlustes von PC-Input zu den VN überrascht dieses Ergebnis isoliert betrachtet nicht. Jedoch bereitet die Interpretation dieser Ergebnisse Probleme, wenn man sie mit Resultaten elektrophysiologischer Untersuchungen an *pcd* und *wv* (siehe oben) vergleicht. Würde die Feuerungsrate vestibulärer Neurone allein auf dem PC-Verlust basieren, sollte man die stärkste Erhöhung bei *pcd*, eine mittlere bei tg^{la} und die geringste bei *wv* erwarten, jedoch ist das Gegenteil der Fall,

insbesondere wenn man die Aktivierung der Typ I Neurone betrachtet. Hier zeigt sich ein fehlender Anstieg in *pcd*, ein mäßiger in *tg^{la}* und ein stärker betonter in *wv* (siehe oben). Eine mögliche Erklärung dieser Befunde ist, dass die Aktivität der Nervenzellen in den VN nicht nur durch das Ausmaß des PC-Verlustes, sondern auch durch den funktionellen Zustand residueller PC und dem Repertoire an kompensatorischen Mechanismen innerhalb der VN bestimmt wird.

In den DCN kommt der PC-Verlust in einer Reduktion Calb-positiver Terminalien in allen drei Untereinheiten zum Ausdruck, der im dorsalen ICN und im anterioren ICN am deutlichsten ist. „Sprouting“ von Terminalien, wie beispielsweise in *wv* (Bäurle et al., 1992), konnte in *tg^{la}* nicht beobachtet werden (Grüsser-Cornehls et al., 1995a). Parv-positive Neurone finden sich genau in den Arealen mit ausgeprägtestem Terminalienverlust (Grüsser-Cornehls et al., 1996; Hoshi et al., 1996; Bäurle et al., 1998a).

4.5 Funktionelle Implikationen der Parv-Expression für die Motorik

Versucht man die in dieser Studie untersuchten Mutanten entsprechend ihren motorischen Störungen zu ordnen, lassen sich drei verschiedene Kategorien aufstellen: mild, mäßig und schwer.

Bezieht man neben den in dieser Studie untersuchten Mutanten auch die vorgängig erwähnten in die Betrachtung mit ein, würde man die Störungen bei *pcd* (Mullen et al., 1976), *nr* (Sidman & Green, 1970) und *Lc* (Caddy & Biscoe, 1975) in die Rubrik mild, diejenigen bei *sg* (Sidman et al., 1962) und *wv* (Sidman, 1968) in die Kategorie mäßig, und *tg^{la}* (Sidman et al., 1965) in die letzte Kategorie einordnen. Dabei fällt auf, dass alle Mutanten der ersten Kategorie, deren klinische Symptome am mildesten ausgeprägt sind, unter einem fast vollständigen PC-Verlust leiden. Eine weitere Gemeinsamkeit dieser Kategorie ist, dass sie alle in den DCN Parv exprimieren. Die Colocalisation von Parv mit inhibitorischen Neuronen ist aus vorangehenden Untersuchungen bekannt (siehe 4.3.1.).

Zusätzliche Parallelen innerhalb dieser Kategorie finden sich in elektrophysiologischen Untersuchungen in den VN von *pcd* (Grüsser-Cornehls, 1988; Bäurle et al., 1997) und dem ICN von *Lc* (Martin & Caddy, 1977), die keine Hinweise

für eine durch den massiven PC-Verlust bedingte Disinhibition lieferten, sondern eher der Situation in Wildtypen glichen. Die Ableitungen wurden mit einem Elektrodenwiderstand von 9-12 M Ω durchgeführt (Bäurle et al., 1997), wodurch in den VN überwiegend große Neurone registriert wurden. Die Parv-positiven Neurone, die nach der Terminologie von Chan-Palay (1977) kleine Neurone (< 270 μm^2) sind, wurden somit höchstwahrscheinlich nicht abgeleitet.

Funktionell bedeutet dies, dass Parv-positive Neurone in den DCN und VN, die den großen Output-Neuronen vorgeschaltet sind, verstärkt hemmend auf postsynaptische Output-Neurone wirken und so eine Disinhibition elektrophysiologisch ableitbarer großer Neurone verhindert wird.

Eine daraus ableitbare Hypothese ist, dass die Parv-Expression in den DCN als Folge eines massiven PC-Verlustes Ausdruck einer erhöhten Aktivität inhibitorischer Neurone ist. Die so erreichte Wiederherstellung verlorengangener Inhibition, die sich elektrophysiologisch in Feuerungsraten, die denen von Normaltieren entsprechen, ausdrückt, wirkt sich stabilisierend auf die Motorik aus, was sich in einer sehr milden Ataxie widerspiegelt. Entsprechen diese Parv-positiven Neurone in den DCN intrinsischen Neuronen, wird die Inhibition lokal rekonstituiert. Argumente hierfür ergeben sich aus immunocytochemischen Untersuchungen in den DCN und VN von *pcd*, die einen massiven Anstieg der Anzahl glycinerg Neurone in der Mutante im Vergleich zu Wildtypen belegen (Bäurle & Grüsser-Cornehls, 1997). In Doppelmarkierungen konnte gezeigt werden, dass diese Glycin-positiven Neurone überwiegend Parv colocalisieren (Bäurle et al., 1997). Entsprechen diese Parv-positiven Neurone jedoch nucleoolivären Neuronen (siehe 4.3.1), hat man sich den Mechanismus wie folgt vorzustellen: Eine vermehrte Aktivität GABA-erger nucleoolivärer Zellen wirkt hemmend auf excitatorische Kletterfasern aus der unteren Olive, was den excitatorischen Input zu den DCN über Kletterfaserkollateralen reduziert. Darüberhinaus könnten rekurrente Axonkollateralen der nucleoolivären Neurone ebenfalls hemmend auf die DCN wirken (Wassef et al., 1986; Fredette & Mugnaini, 1991).

Die einzige Ausnahme bildet *tg^{la}*: Hier kommt es zwar ebenfalls zu einer Parv-Elevation in manchen Arealen der DCN (Grüsser-Cornehls et al., 1996; Hoshi et al.,

1996; Bäurle et al., 1998a), klinisch leiden die Tiere jedoch unter der schwersten Ataxie von allen Mutanten (Sidman et al., 1965). Wird dadurch die Korrelation zwischen Parv-Expression und einem möglichen Nutzen für die Motorik widerlegt? Dies ist nicht der Fall, wie die folgenden Argumente zeigen. Die Situation in tg^{Ja} ist komplex und viele Faktoren beeinflussen die Motorik dieser Mutante.

Erstens verursacht das tg^{Ja} Gen zusätzlich extracerebelläre Defekte, die wesentlich zu den neurologischen Störungen und der hohen Sterblichkeit beitragen, wie sich aus Beobachtungen an der Mutante „tottering“ (Gensymbol: tg), einem Allel von tg^{Ja} , schließen lässt (Herrup & Wilczynski, 1982). Die tg -Mutante leidet unter Ataxie und epileptischen Anfällen, obwohl eine Degeneration cerebellärer Zellen histologisch nicht nachweisbar ist. An extracerebellären Defekten wurde bei tg^{Ja} eine verringerte Mitoserate in Cerebrum, Leber und Milz nachgewiesen, die längerfristig zur Atrophie der Organe führt (Yoon, 1969). Die positiven Auswirkungen der Parv-Elevation in den DCN auf die Motorik können folglich funktionell durch die Konsequenzen dieser zusätzlichen Defekte verdeckt werden.

Zweitens manifestiert sich die Ataxie mit Beginn des Körnerzellverlustes bereits um P 10, das heißt vor Beginn des PC-Verlustes (Herrup & Wilczynski, 1982). Es wurde bereits erwähnt, dass die meisten Mutanten früh sterben (Seyfried et al., 1981). Gelingt jedoch das Überleben der ersten Wochen, kommt es in der darauffolgenden Zeit zu einer Stabilisierung der Motorik (Grüsser-Cornehls et al., 1995a), aber der PC-Verlust dauert an (Herrup & Wilczynski, 1982). Dies belegt, dass die kritische Phase in der motorischen Entwicklung vor Einsetzen des PC-Verlustes und möglicher Kompensationsmechanismen, wie einer Elevation von Parv in den DCN, stattfindet. Auch dadurch wird eine Aussage über die Korrelation von PC-Verlust, Parv-Elevation in den DCN und möglichem Nutzen für die Motorik in dieser Mutante erschwert.

Ein dritter zu berücksichtigender Faktor ist der Einfluss residueller PC auf die Motorik von tg^{Ja} , der bei pcd und Lc mit einem fast kompletten PC-Verlust keine Rolle spielt. Diese residuellen PC können durch eine mutationsbedingt gestörte Prozessierung von Information im cerebellären Cortex funktionell beeinträchtigt sein. Dafür sprechen auch die elektrophysiologischen Ergebnisse, die trotz eines Parv-Anstiegs

in Teilen der DCN (als Zeichen der Kompensation verlorengangener Inhibition) eine nur partiell kompensierte Disinhibition zeigen (Grüsser-Cornehls et al., 1995a). Diese funktionell gestörten residuellen PC können negative Auswirkungen auf die Motorik von $tg^{/a}$ haben.

Zieht man all diese Aspekte in Betracht wird deutlich, dass der Versuch einer Korrelation von Parv-Expression und Motorik bei $tg^{/a}$ wegen zusätzlicher Einflussgrößen nur mit Einschränkungen möglich ist.

Die Annahme, dass sich die Wiederherstellung von Inhibition in den DCN positiv auf das motorische Verhalten von Mutanten mit PC-Verlust auswirkt, wird auch durch Untersuchungen an *wv* unterstützt. Wie bereits erwähnt (siehe 4.4.2), leiden diese Mutanten unter einer schweren Ataxie. Durch elektrophysiologische Untersuchungen konnte demonstriert werden, dass diese Symptome neben dem partiellen Verlust von PC durch Störungen im Phasenverhalten residueller PC zustande kommen (Grüsser-Cornehls, 1995). Durch zeitliche Disorganisation in der Aktivierung von PC des Flocculus ist eine adäquate Anpassung des Outputs zu den VN an den sensorischen Input nicht mehr möglich. Dies stellt vermutlich die Ursache der Disinhibition von Neuronen der VN dar, die klinisch zur Ataxie führt. Parv-positive Neurone sind in den DCN von *wv* nicht sichtbar (Grüsser-Cornehls et al., 1996; Bäumle et al., 1998a; Grüsser-Cornehls et al., 1999).

Vergleicht man die elektrophysiologischen Ergebnisse mit denen aus der *pcd*-Mutante, wäre eine mögliche Erklärung für die erhöhte Feuerungsrate vestibulärer Neurone bei *wv*, dass der PC-Verlust hier nicht ausreicht, um zu einer Parv-Elevation als Zeichen erhöhter Aktivität in kleinen hemmenden Neuronen, und damit zu einer Kompensation verlorengangener Hemmung, zu führen. Die aus dem PC-Verlust resultierende Disinhibition bei *wv* würde sich damit in der erhöhten Feuerungsrate der großen Output-Neurone widerspiegeln.

Experimentelle Cerebellectomie (Grüsser & Grüsser-Cornehls, 1998) und Vermektomie (Grüsser-Cornehls et al., 1999), und damit eine Elimination fehlerhaften Outputs residueller PC, führte zu einer deutlichen Besserung der Ataxie. Die Vermektomie war von besonderem klinischen Interesse, da der laterale Vermis zum dorsolateralen VN projiziert (Jansen & Brodal, 1940; 1942) und so besonders die Hinterläufe kontrolliert (Pompeiano & Brodal, 1957), die bei *wv* am stärksten

betroffen sind. Nach der Vermektomie durchgeführte immunocytochemische Untersuchungen in den DCN und VN von *wv* zeigten eine Expression von Parv-positiven Neuronen in MCN und ICN und eine Zunahme von Parv im lateralen VN (Grüsser-Cornehls et al., 1999). Die postoperative Besserung der Motorik äußerte sich in einer erhöhten lokomotorischen Aktivität, Stabilisierung von Stand und Gang und Verschwinden des Tremors (Grüsser-Cornehls et al., 1999). Klinisch profitieren die Mutanten deutlich von der Entfernung residueller PC. Durch den daraus resultierenden zusätzlichen PC-Input Verlust in den DCN wird wahrscheinlich der Schwellenwert überschritten, der ein Signal für die Parv-Elevation in den DCN darstellt. Die folgende Parv-Expression in den DCN korreliert mit einer Stabilisierung motorischer Fähigkeiten.

Auch in Wildtypen wurde eine experimentelle Vermektomie durchgeführt (Grüsser-Cornehls et al., 1999). Postoperativ fielen die Tiere lediglich durch eine leicht reduzierte motorische Aktivität auf, eine manifeste Ataxie wurde nicht beobachtet, so dass auch sie in die klinische Kategorie „mild“ einzuordnen sind. Immunocytochemisch konnte in operierten Wildtypen ein Parv-Anstieg in den DCN nachgewiesen werden, der bei unoperierten Wildtypen nicht vorhanden ist.

Weitere Hinweise, dass die Wiederherstellung von Inhibition in den DCN sich positiv auf das motorische Verhalten auswirkt, ergeben sich auch aus Transplantationsexperimenten an *pcd*-Mutanten (Triarhou et al., 1995; Zhang et al., 1996). Nach intraparenchymalen Injektionen embryonaler PC-Zellsuspensionen aus Wildtypen formten die transplantierten PC meist eine deutliche Lage zwischen Molekular- und Körnerschicht, der Dendritenbaum wies eine korrekte Orientierung zur Pia mater auf. Es konnte elektronenmikroskopisch (Sotelo & Alvarado-Mallart, 1987) und elektrophysiologisch (Gardette et al., 1988) gezeigt werden, dass transplantierte PC synaptische Kontakte mit Parallel- und Kletterfasern eingehen können. Die Axone der Spender-PC bildeten Terminalienplexus an den DCN des Empfängers. Auch die motorischen Fähigkeiten erfuhren eine deutliche Besserung nach bilateraler PC-Transplantation (Triarhou et al., 1995; Zhang et al., 1996).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass eine Wiederherstellung verlorengangener Inhibition, sei es durch Elevation von Parv in den DCN als Ausdruck erhöhter

Aktivität intrinsischer, inhibitorischer Neurone, sei es durch Transplantation embryonaler PC eine partielle Besserung motorischer Fähigkeiten bewirkt.

4.6 Weitere anterograde Effekte des PC-Verlustes

Die Berechnung des Gesamtvolumens der DCN in Wildtypen und den Mutanten *Lc* und *nr* ergab für beide eine Reduktion von jeweils über 50% im Vergleich zu den Wildtypen, wobei die Schrumpfung in *Lc* noch etwas ausgeprägter als in *nr* war. Diese Ergebnisse befinden sich im Einklang mit vergleichenden Untersuchungen an *pcd*-Mutanten und Wildtypen (Wassef et al., 1986; Triarhou et al., 1987; Bäumle & Grüsser-Cornehls, 1997), die ebenfalls eine Reduktion des Gesamtvolumens der DCN von etwa 50% in *pcd* nachweisen konnten. Der Neuronenverlust in den DCN von *pcd* hingegen beträgt lediglich 21% im Durchschnitt (Triarhou et al., 1987).

Auch in *Lc* (Caddy & Biscoe, 1979) und *sg* (Roffler-Tarlov & Herrup, 1981) wurden Zellzählungen in den DCN vorgenommen, ohne dass ein wesentlicher Neuronenverlust ermittelt werden konnte. Dieser wurde jedoch in diesen Untersuchungen möglicherweise unterschätzt: bei *Lc* aus statistischen Gründen (Triarhou et al., 1987) und bei *sg* aufgrund dessen, dass die Experimente an sehr jungen Tieren durchgeführt wurden (P 20) und damit eventuell noch vor Eintreten eines Großteils des Neuronenverlustes in den DCN (Triarhou et al., 1987).

Diese Beobachtungen werfen vor allem die Frage auf, welche Faktoren neben der Degeneration nukleärer Neurone zu dieser massiven Volumenreduktion in den Mutanten beitragen. An dieser Stelle ist zunächst zu erwähnen, dass ein Neuronenverlust von 21% aller Neurone in *pcd*, unabhängig von ihrer Größe, durchaus zu einem quantitativ größeren Volumenverlust führen kann. Argumente dafür sind aus Untersuchungen GABA- und Glycin-positiver Neurone in den DCN von *pcd* abzuleiten (Bäumle & Grüsser-Cornehls, 1997). Diese Neurone sind nach der Terminologie von Chan-Palay (1977) größtenteils kleine Neurone und sind in *pcd* nicht reduziert, Glycin-positive Neurone erfahren in *pcd* sogar eine Zunahme um etwa 70% (Bäumle & Grüsser-Cornehls, 1997). Somit kann gefolgert werden, dass es sich bei den degenerierenden Neuronen vornehmlich um mittelgroße und große Neurone handelt, da die kleinen inhibitorischen Neurone nicht von der Degeneration erfaßt sind (Bäumle & Grüsser-Cornehls, 1997). Dadurch könnte ein prozentualer

Volumenverlust entstehen, der den prozentualen Anteil der Anzahl degenerierter Neurone übertrifft.

Als direkte Auswirkung des PC-Verlustes auf die DCN kommt es vor allem zu einem Verlust von PC-Terminalien. Es wurde gezeigt, dass ein einziges PC Axon etwa 500 Terminalien hervorbringen kann (Palkovits et al., 1977). Der Anteil dieser Terminalien am Gesamtvolumen der DCN ist jedoch gering. Im ICN der Katze wurde er auf 4-5% datiert (Fonnum & Walberg, 1973). Daten zur Maus sind nicht bekannt, jedoch gewannen wir aus eigenen Beobachtungen den Eindruck, dass diese Angaben möglicherweise eine Unterschätzung darstellen, quantitative Untersuchungen wurden allerdings an dieser Stelle nicht durchgeführt.

Ein weiterer Faktor, der zur Volumenreduktion der DCN beiträgt, ist der Verlust von Kletterfaserkollateralen zu den DCN als Folge der retrograden Degeneration von Afferenzen aus der unteren Olive, die bei *pcd* (Ghetti et al., 1987) und *Lc* (Caddy & Biscoe, 1976) gezeigt werden konnte. Darüberhinaus konnte auch eine Atrophie der Neurone in den DCN von *pcd* nachgewiesen werden, die wahrscheinlich durch transsynaptische anterograde Atrophie zustande kommt (Triarhou et al., 1987). Alle diese Faktoren tragen zu unterschiedlichen Anteilen bei den verschiedenen Mutanten zur Schrumpfung des Volumens der DCN bei. Bisher nicht geklärt werden konnte, weshalb das Ausmaß der Volumenreduktion in den DCN bei allen untersuchten Mutanten annähernd identisch ist, obwohl die Degeneration in den afferenten Systemen, wie zum Beispiel der unteren Olive, sich bei den einzelnen Mutanten deutlich unterscheidet. Es ist denkbar, dass hier bisher unbekannte transsynaptische Effekte eine nicht unerhebliche Rolle spielen.

Abschließend bleibt zu erwähnen, dass die Kenntnis einer Mutation allein nur wenig Aufschluß über deren Folgen für das gesamte System oder einzelner Untereinheiten gibt. Auf das Beispiel der *tg^{fa}* angewendet, bedeutet dies, dass das Wissen um die Mutation in einem Calcium-Kanal kaum zur Erklärung ihrer motorischen Störungen beitragen kann. Vielmehr müssen zum Verständnis entsprechender Phänomene die Folgen transsynaptischer Degeneration herangezogen werden, die diese histologischen, elektrophysiologischen und klinischen Veränderungen bedingen. Einige dieser transsynaptischen Veränderungen an den untersuchten Mutanten und ihre Folgen wurden in dieser Arbeit dargestellt.