

Chapter 7

Zusammenfassung

Diese Dissertation besteht aus zwei thematisch zusammenhängenden Teilen. Im ersten Teil beschreibe ich die Entwicklung von Methoden, die es erlauben, genaue geometrische Rekonstruktionen des Verzeigungsmusters anhand von Neuronen von 3-dimensionalen Bilderstapeln zu erstellen, die mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie aufgenommen wurden. Die Rekonstruktion erfolgt semi-automatisch und erzielt auch bei stark verzweigten Neuronen eine Genauigkeit, die die optische Auflösung des entsprechenden Mikroskopieverfahrens voll ausnutzt. Eine derartige Genauigkeit wird von keinen anderen derzeit erhältlichen Rekonstruktionsmethoden erreicht. Diese Ergebnisse werden in Kapitel 2 beschrieben.

Im Kapitel 3 beschreibe ich die Erweiterung der semi-automatischen Rekonstruktionsalgorithmen, um eine vollständige Automatisierung der geometrischen Rekonstruktion "einfach" verzweigter Neuronen (zum Beispiel zerebrale Purkinje-Neurone) zu ermöglichen. Diese voll-automatischen Methoden sind auf deutlich gefärbte Strukturen beschränkt, welche jedoch dann ohne Einbußen in der Genauigkeit rekonstruiert werden. Desweiteren beschreibe ich Methoden, immun-histochemische Färbungen entlang der Oberfläche von Neuronen quantitativ zu erfassen (zum Beispiel synaptisch lokalisierte Proteine oder Zelloberflächen-Moleküle). Im Zusammenspiel ermöglichen diese Rekonstruktions- und Quantifizierungsmethoden, neuartige Fragestellungen in der funktionellen Neuroanatomie zu bearbeiten. Ein Beispiel ist die Analyse der Verteilung von putativen Eingangssynapsen auf gesamten dendritischen Neuronverzweigungen anhand lichtmikroskopischer Meßmethoden.

Im zweiten Teil meiner Arbeit benutze ich diese neuentwickelten Rekonstruktions-Methoden, um die Rolle von Filopodien entlang dendritischer Verzweigungen in Bezug auf Wachstumssteuerung und Synaptogenese zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung beschreibe ich in Kapitel 4. Ich konnte zeigen, daß zumindest zwei unterschiedliche

Typen von dendritischen Filopodien innerhalb eines Dendritenbaumes vorkommen, nämlich solche an dendritischen Endigungen und Filopodien entlang dendritischer Schaft-Segmente. Beide Typen unterliegen einer entwicklungsabhängigen Morphogenese, die sich allerdings untereinander verglichen unterscheidet. Die Ergebnisse lassen auf unterschiedliche Aufgaben beider Typen von Filopodien schließen: Schaft-Filopodien übernehmen hauptsächlich die Aufgabe, präsynaptische Axon-Endigungen in Richtung Dendrit zu leiten. Filopodien an dendritischen Endigungen hingegen haben geringen Anteil an Synaptogenese, übernehmen jedoch hauptsächlich die Wachstums-Steuerung von Dendriten durch das sich entwickelnde Neuropil.

Diese Arbeit bereitet die Grundlage, anhand neu entwickelter Rekonstruktionsmethoden und der Ergebnisse zu Dendritenwachstum und Synaptogenese in sich entwickelnden dendritischen Bäumen weitere Fragestellungen zu bearbeiten. Zum einen können die Verteilungen von Synapsen auf kompletten dendritischen Feldern analysiert werden. Dies kann dazu beitragen, Regeln der zeitlichen und ortsabhängigen Synaptogenese auf sich entwickelnden Neuronen zu untersuchen. Synapsenorte können des Weiteren auf ihre Transmitter-Spezifität hin unterschieden werden, indem man synaptisch lokalisierte Proteine und unterschiedliche Transmittertypen immuno-histochemisch markiert und deren räumliche Korrelation bestimmt.

Abschließend kann dann die Bedeutung von ermittelten Regeln der Synapsenverteilung für adultes Verhalten mittels Multi-Kompartiment-Modellen analysiert werden. Dazu werden geometrische Rekonstruktionen mit unterschiedlichen Synapsentypen ausgestattet und in Modellierungs-Programme wie zum Beispiel NEURON exportiert. So kann die funktionelle Bedeutung von zufällig verteilten Synapsen mit einer Synapsen-Verteilung verglichen werden, wie sie im Gewebe ermittelt worden ist. Auch ein Vergleich unterschiedlicher Regeln von Synapsenverteilungen während verschiedenen Entwicklungsstufen ist möglich. Da die unterschiedlichen Funktionen des Motorneuron 5 in *Manduca sexta* in Larven und adulten Motten gut bekannt sind, eignet sich dieses Neuron besonders, die Bedeutung von dendritischer Struktur und Synapsenverteilung in Bezug auf neuronale Funktion zu untersuchen oder sogar mit der Aufgabe im Verhaltenskontext zu korrelieren.