

**NEUROANATOMISCHE CHARAKTERISIERUNG BLICKSTABILISIERENDER
NEURONE AN DER HIRNSTAMMMITTELLINIE DER PRIMATEN,
EINSCHLIEßLICH DES MENSCHEN.**

Norbert Buresch

Aus der Anatomischen Anstalt der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl III
Vorstand: Prof. Dr. med. Winfried Lange

**NEUROANATOMISCHE CHARAKTERISIERUNG BLICKSTABILISIERENDER
NEURONE AN DER HIRNSTAMMITTELLINIE DER PRIMATEN,
EINSCHLIEßLICH DES MENSCHEN.**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Norbert Buresch

aus
Freising
Jahr
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Jean A. Büttner-Ennever (Ph.D. Lond.)

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. P.A. Winkler
Prof. Dr. Dr. h.c. Th. Brandt

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr.rer.nat. A. Horn-Bochtler

Dekan: Prof. Dr. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 24.11.2005

Als Sancho dies hörte, bat er ihn mit Tränen in den Augen, doch von dieser Unternehmung abzusehen, womit verglichen die mit den Windmühlen und die entsetzliche der Walkmühle und kurz, alle Taten, die er nur jemals im Laufe seines Lebens verrichtet habe, für Torten und Zuckerwerk zu rechnen wären.

Keiner kommt gelehrt auf die Welt, sagte die Herzogin zu Sancho Pansa, und aus Menschen werden Bischöfe gemacht und nicht aus Steinen.

Miguel de Cervantes Saavedra *“Don Quixote de la Mancha”*

*Meinen Eltern,
Dominik und Sebastian*

Inhaltsverzeichnis

0. Zusammenfassung.	1
1. Einleitung.	3
1. 1. Neue Zellgruppe zur Steuerung der Augenbewegungen.	3
1.1.1. Hirnstamm und <i>Formatio reticularis</i> .	5
1.1.2. Augenbewegungstypen.	8
1.1.2.1. Vestibulo-okulärer Reflex.	8
1.1.2.2. Optokinetischer Nystagmus.	9
1.1.2.3. Langsame Augenfolgebewegungen.	9
1.1.2.4. Sakkaden.	10
1.1.2.5. Vergenz.	11
1.1.3. Blickstabilisierung.	11
1.1.4. Kleinhirn (Cerebellum).	14
1.2. Zellgruppen des paramedianen Traktes (PMT-Neurone).	16
1.2.1. PMT-Neuronengruppen bei verschiedenen Säugerarten einschließlich des Menschen.	16
1.2.2. Efferente Verbindungen der PMT-Gruppen.	19
1.2.3. Afferente Verbindungen der PMT-Gruppen.	19
1.2.4. Physiologie.	20
1.2.5. Zusammenfassende Definition der PMT-Zellgruppen.	21
1.3. Zielsetzung.	23
2. Material und Methoden.	24
2.1. Material.	24
2.1.1. Primaten.	24
2.1.2. Mensch.	25
2. 2. Methoden.	25
2. 2.1. Organentnahme und Fixieren.	25
2. 2.1.1. Primaten.	25
2. 2.1.2. Mensch.	26
2.2.2. Gefrierschneiden.	26
2.2.3. Nachweismethoden.	26
2.2.3.1. Immuncytochemische Nachweise.	26
2.2.3.1.1. Monoklonal Maus anti-Mensch Cytochrom c Oxidase.	27
2.2.3.1.2. Monoklonal Maus anti- Parvalbumin.	27
2.2.3.1.3. Polyklonal Kaninchen anti-Calretinin bzw. polyklonal Kaninchen anti-Calbindin.	27
2.2.3.1.4. Polyklonal Kaninchen anti-Choline Acetyltransferase.	28
2.2.3.1.5. Polyklonal Kaninchen anti-Serotonin (Makaken).	28
2.2.3.1.6. Monoklonal Maus anti-PH8 (Menschen).	28

2.2.3.2. Histochemische Färbungen.	29
2.2.3.2.1. Enzymatischer Nachweis von Acetylcholinesterase (AChE).	29
2.2.3.2.2. Enzymatischer Nachweis von Cytochrom-Oxidase (COE).	29
2.2.3.3. Nisslfärbung.	29
2.2.4. Aufziehen der Schnitte.	30
2.2.5. Entwässern und Eindecken.	30
2.2.6. Auswertung.	30
3. Ergebnisse.	31
3.1. PMT-Neurone bei nichtmenschlichen Primaten.	31
3.1.1. Identifizierung der PMT- Neurone im Makaken durch Injektion retrograder Tracer in die Flocculusregion.	32
3.1.2. Identifizierung der PMT-Neurone im Makaken durch histologische Marker.	34
3.1.2.1. Auswahl der geeigneten Marker.	34
3.1.3. Vergleich der Verteilung von AChE Markierung putativer PMT-Neurone und Terminalen aus prämotorischen Kerngebieten.	43
3.1.3.1. Vergleich in <i>PMT-1</i> .	43
3.1.3.2. Vergleich in <i>PMT-2</i> .	44
3.1.3.3. Vergleich in <i>PMT-3</i> und <i>PMT-4</i> .	44
3.1.3.4. Vergleich in <i>PMT-5</i> .	48
3.1.3.5. Vergleich in <i>PMT-6</i> .	48
3.1.4. Abgrenzung der PMT-Neurone von serotoninerger Raphe-Neuronen und cholinergen Motoneuronen.	51
3.1.4.1. Abgrenzung der Zellen bei <i>PMT-1</i> .	51
3.1.4.2. Abgrenzung der Zellen bei <i>PMT-2</i> .	51
3.1.4.3. Abgrenzung der Zellen bei <i>PMT-3</i> u. <i>4</i> .	52
3.1.4.4. Abgrenzung der Zellen bei <i>PMT-5</i> .	52
3.1.4.5. Abgrenzung der Zellen bei <i>PMT-6</i> .	52
3.1.4.6. Zellen innerhalb des <i>Nucleus abducens</i> .	55
3.1.5. Zellmorphologie der PMT-Gruppen.	57
3.2. Vergleichbare PMT-Neurone beim Menschen.	59
3.2.1. Identifizierung vergleichbarer Neurone im Hirnstamm des Menschen und ihre Charakterisierung als PMT-Neurone.	59
3.2.1.1. Vergleichbare <i>PMT-1</i> Zellen.	59
3.2.1.2. Vergleichbare <i>PMT-2</i> Zellen.	60
3.2.1.3. Vergleichbare <i>PMT-3</i> u. <i>-4</i> Zellen.	66
3.2.1.4. Zellen innerhalb des <i>Nucleus abducens</i> .	66
3.2.1.5. Vergleichbare <i>PMT-5</i> u. <i>PMT-6</i> Zellen.	70
3.2.1.6. Morphologie der PMT-Zellen beim Menschen.	70

4. Diskussion.	73
4.1. Nichtmenschliche Primaten.	73
4.1.1. Auswahl geeigneter Marker.	73
4.1.2. Darstellung vertikaler sowie horizontaler PMT-Zellgruppen.	74
4.1.2.1. <i>PMT-1</i> und <i>PMT-2</i> Zellen.	74
4.1.2.2. <i>PMT-3</i> und <i>PMT-4</i> Zellen.	75
4.1.2.3. <i>PMT-5</i> Zellen.	76
4.1.2.4. <i>PMT-6</i> Zellen.	77
4.1.3. Zellen innerhalb des <i>Nucleus abducens</i> .	78
4.1.4. Einteilung der PMT-Gruppen in vertikale und horizontale Subgruppen.	78
4.2. Mensch.	82
4.2.1. Vergleichbare PMT-Zellgruppen im Menschen.	82
4.2.1.1. <i>PMT-1</i> Zellen.	82
4.2.1.2. <i>PMT-2</i> Zellen.	83
4.2.1.3. <i>PMT-3</i> Zellen.	83
4.2.1.4. <i>PMT-4</i> Zellen.	83
4.2.1.5. <i>PMT-5</i> Zellen.	84
4.3. Identifizierung der PMT-Neurone bei Primaten und Menschen.	87
4.4. Bedeutung der PMT-Neurone bei der Blickstabilisierung.	87
4.5. Pathologie.	88
4.6. Ausblick.	90
5. Literatur.	91
6. Anhang.	107
6.1. Anatomische Abkürzungen.	107
6.2. Weitere Abkürzungen.	109
6.3. Verbrauchsmaterial.	110
6.3.1. Pufferlösungen.	110
6.3.2. Antikörper (AK).	110
6.3.3. Normalseren.	111
6.3.4. Wichtige Nachweischemikalien.	111
7. Danksagung.	112

0. Zusammenfassung.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine weitgehend unbekannte Zellgruppe an der Hirnstammittellinie beim Makaken (nichtmenschliche Primaten) sowie im Menschen zu identifizieren und histologisch näher zu beschreiben. Die neuroanatomische Verbindung, dieser von Büttner-Ennever und Büttner (1988) als Zellgruppen des paramedianen Traktes (PMT-Neurone) bezeichneten Gruppen zum Flocculus des Kleinhirns, war schon länger bekannt (Langer et al., 1985a). Physiologisch wird ihnen eine wichtige Rolle bei der Blickstabilisierung zugesprochen (Büttner-Ennever, 1992; Nakamagoe et al., 2000).

1) Um diese Zellgruppen, in dieser Arbeit als *PMT-1* bis *PMT-6* bezeichnet, unabhängig von Tracing-Experimenten im Makaken und auch im Menschen darzustellen, mussten zuerst folgende histologische Marker getestet werden:

- Enzymatischer Nachweis von Acetylcholinesterase (AChE)
- Enzymatischer Nachweis von Cytochrom-c-Oxidase (COE)
- Immunhistochemischer Nachweis von Cytochrom-c-Oxidase (CO)
- Immunhistochemischer Nachweis von Calretinin (CR)
- Immunhistochemischer Nachweis von Calbindin (CB)
- Immunhistochemischer Nachweis von Parvalbumin (PAV)
- Immunhistochemischer Nachweis von Serotonin (5-HT)

In Vorversuchen erwiesen sich die enzymatischen Nachweise von Acetylcholin Esterase (AChE) bzw. Cytochrom-c-Oxidase (CO) als beste Marker. Diese beiden histochemischen Färbungen stellten die PMT-Gruppen im Affen und deren putative Homologe im Menschen verlässlich, bis auf eine PMT-Gruppe (*PMT-6*), dar. Entscheidend für die Darstellung dieser Gruppen waren deren starke Neuropilanfärbung. Die Zellmorphologie dieser Gruppen konnte besser mit einem immunhistochemischen Nachweis auf Cytochrom-c-Oxidase (CO) dargestellt werden.

2) Um die Gültigkeit der histologischen Marker zu überprüfen, verglich man im Makaken die PMT-Zellregionen mit Fällen, in welchen efferente Terminale an PMT-

Zellen zu finden waren. Diese prämotorischen Eingänge aus Integrationsgebieten für horizontale bzw. für vertikale Augenbewegungen zu den PMT-Gruppen, wurden von Büttner-Ennever et al. (1989) nach Tracerexperimenten, beschrieben. Somit konnten die PMT-Neurone auch an Hand ihrer Eingänge definiert werden. Auf Grund der Intensität dieser Terminalen, war man in der Lage, die jeweiligen PMT-Gruppen in horizontale bzw. vertikale Gruppen erstmalig eindeutig zu unterscheiden.

3) Da die PMT-Neurone in enger Nachbarschaft zu den serotoninerger Raphekernen liegen und oftmals mit diesen verwechselt wurden (McCrea et al., 1987a,b), konnten diese, mit Hilfe der immunhistochemischen Marker 5-HT (beim Makaken) bzw. PH8 (beim Menschen), dargestellt und von den PMT-Neuronen eindeutig unterschieden werden. Ebenso gelang es, die Motoneurone im Abduzenskern durch den immunhistochemischen Marker ChAT darzustellen. Die nicht cholinergen PMT-Neurone konnten so im Makaken und Menschen von den cholinergen Motoneuronen eindeutig unterschieden werden.

4) In der Zellmorphologie gab es ebenso Unterschiede zu den serotoninerger Zellen der Raphekerne. Im Makaken, wie im Menschen, hatten die Zellen der PMT-Neurone einen deutlich erkennbaren, großen Zellkern. Der Zellkern der Rapheneurone war in der Darstellung kleiner und weniger gut zu erkennen.

Das Ziel dieser Arbeit, die PMT-Neurone im Makakengehirn eindeutig abzugrenzen und die analogen Gruppen im Menschen zu identifizieren, war somit erreicht. Die von Langer et al. (1985a) beschriebenen PMT-Gruppen konnten erstmalig näher charakterisiert werden. Zusätzlich konnte man das erste Mal zeigen, dass die Gruppen *PMT-1*, *PMT-2*, *PMT-3*, *PMT-4a*, *PMT-5a* sowie *PMT-5c* den vertikalen Augenbewegungen zugeordnet sind. Die Gruppen *PMT-4b* und *PMT-5b* sind den horizontalen Augenbewegungen zugeordnet. Die Gruppen *PMT-4b*, *PMT-5b* und *PMT-5c*, wurden als eigenständige Gruppen erstmalig beschrieben.

1. Einleitung.

1. 1. Neue Zellgruppe zur Steuerung der Augenbewegungen.

Um das Gesichtsfeld an bewegte Objekte in der Umwelt optimal anzupassen, werden die Augen der Wirbeltiere (Vertebraten) von jeweils sechs äußeren Augenmuskeln bewegt, wobei diese von drei Hirnnerven (III, IV und VI) unterschiedlich innerviert werden. Die Motoneurone dieser Hirnnerven haben ihren Ursprung in Kerngebieten im Hirnstamm. Für die koordinierte Ansteuerung der verschiedenen Augenmuskeln bei unterschiedlichen Augenbewegungstypen, sind Gruppen prämotorischer Neurone im Hirnstamm lokalisiert worden, welche die Motoneurone der Augenmuskeln aktivieren oder auch inhibieren (Büttner-Ennever and Büttner, 1988; Leigh and Zee, 1999).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mehrere funktionell gleichartige Zellgruppen an der Mittellinie im Hirnstamm nichtmenschlicher Primaten (Makaken) neuroanatomisch zu charakterisieren und die homologen Gruppen im Menschen zu identifizieren. Diese Zellgruppen sollen Efferenzkopien prämotorischer Neurone erhalten und diese zur Flocculus-Region des Kleinhirns leiten (Langer et al., 1985a; Nakamagoe et al., 2000). Diese Informationen über Augenbewegungen benötigt ein Teil des Kleinhirns für einen neuronalen Integrationsprozess, auf den noch näher eingegangen werden wird. Büttner-Ennever und Büttner (1988) bezeichneten diese Zellgruppen auch als Zellgruppen des paramedianen Traktes (PMT) (**Abb.1.1**). Obwohl diese nur in wenigen klinischen Untersuchungen beachtet wurden (Büttner et al., 1995; Maas et al., 1991; Leigh and Zee, 1999) dürfte ihnen eine wichtige Rolle bei der Blickstabilisierung zukommen (Büttner-Ennever, 1992; Nakamagoe et al., 2000).

Da die PMT-Zellen im Tegmentum des Hirnstammes vorkommen und in keinem scharf abgrenzbaren Kerngebiet zu finden sind, werden sie gewöhnlich zur *Formatio reticularis* gerechnet. Bevor auf diese PMT- Zellgruppen eingegangen wird (Abschnitt 1.2), soll der Hirnstamm sowie die *Formatio reticularis* näher dargestellt werden (Abschnitt 1.1.1).

Funktionell sollen die PMT-Neurone für gezielte Augenbewegungen zuständig sein (Büttner-Ennever,1992). Daher wird anschließend auf die wichtigsten

Augenbewegungstypen (Abschnitt 1.1.2) sowie auf Integrationsgebiete für die Augenposition (Abschnitt 1.1.3), eingegangen.

Da die Informationen der PMT-Neurone im Kleinhirn (Flocculus-Region) verrechnet und zum Hirnstamm zurückgegeben werden (Teil eines neuronalen Integrationsprozesses), wird noch auf die Rolle des Kleinhirns bei koordinierten Augenbewegungen eingegangen (Abschnitt 1.1.4).

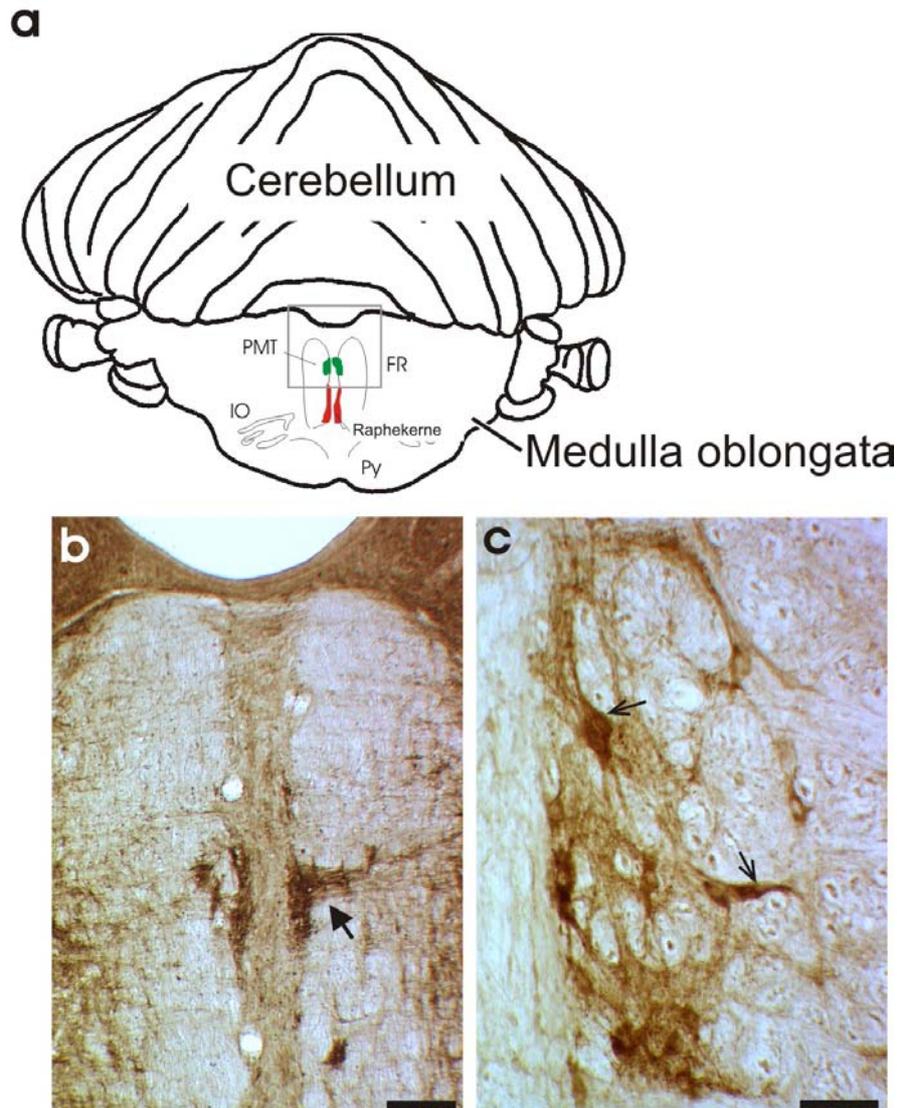


Abb.1.1: Die Abbildung zeigt exemplarisch eine PMT-Gruppe (grün) an der Mittellinie der *Medulla oblongata* des Makaken (a). Die Raphekerne (rot), liegen ventral zu den PMT-Zellen. Lateral zum paramedianen Trakt (PMT) liegt die *Formatio reticularis* (FR). In (b) ist eine histochemische, in (c) eine immunhistochemische Darstellung von PMT-Zellgruppen an der Mittellinie zu sehen. Beide male wurde das Enzym Cytochrom-c-Oxidase nachgewiesen. Der Nachweis über gewebeeigene Enzymaktivität von Cytochrom-c-Oxidase (COE) in (b) hebt das Neuropil deutlich hervor (Pfeil). Mit Hilfe des immunhistochemischen Nachweises von Cytochrom-c-Oxidase (CO) in (c), kann das Neuropil und einzelne Zellen (dünne Pfeile) deutlicher von einander abgegrenzt werden. Balken in b=500 μ c=50 μ . Abkürzungen siehe Anhang.

Dies konnte er unter anderem daran erkennen, da zwischen Hinterhorn und Vorderhorn die Grenze zwischen grauer und weißer Substanz aufgelockert erschien. Besonders gilt dies für das Zervikalmark. Folgende Zitate sollen dies verdeutlichen:

„ ... Diese Gegend gewinnt bei dem Übergang der Medulla spinalis zur oblongata ein hervorragendes Interesse. In dem erwähnten Winkel erscheint eine maschenförmige Anordnung der grauen Substanz, die man als eine diffuse Zerklüftung derselben auffassen kann, und in deren Maschen die Bündel der Seitenstränge gelegen sind. Man kann sich diese Anordnung in verschiedener Weise entstanden denken, entweder dadurch, dass die graue Masse um die weisse herumwuchert, oder dass zu den Seitensträngen hinziehende Faserbündel die graue Substanz gar nicht verlassen, sondern sich in ihr zu Strängen anhäufen und sie auseinanderdrehen.[...]

Alle diese Umstände treten hier, wie demnächst im Einzelnen auseinanderzusetzen, zusammen, um das Bild zu erzeugen, welches den Namen **formatio reticularis** erhalten hat.[...] Das nämliche Prinzip hat man sich in grösster Ausdehnung nun in der Medulla oblongata zu denken, die man in den oberen Partien ohne Fehler als ein fein aufgelöstes Maschenwerk grauer Substanz ansehen kann, in deren Maschen die Bündel der weissen Stränge verlaufen. ... “ (Deiters, 1865, S. 159).

Diese „maschenförmige Anordnung der grauen Substanz“, kurz *Formatio reticularis* ist im Hirnstamm sehr ausgeprägt (**Abb.1.3**) und die Funktion ihrer Zellen ist auch heute noch nicht in allen Details geklärt.

Im Jahre 1877 gab Forel eine erste klare Definition über die *Formatio reticularis* (Forel, 1877). Er beschrieb sie damals als relativ homogene "Zellsäulen", die sich vom rostralen Mesenzephalon caudalwärts bis ins Rückenmark erstrecken (**Abb. 1.3**). Die Dendriten dieser Nervenzellen verlaufen dabei in Bündeln, was das Bild einer netzartigen Formung (Anordnung) ergibt. Der von Forel definierte anatomische Begriff „*Formatio reticularis*“ ist bis heute gültig.

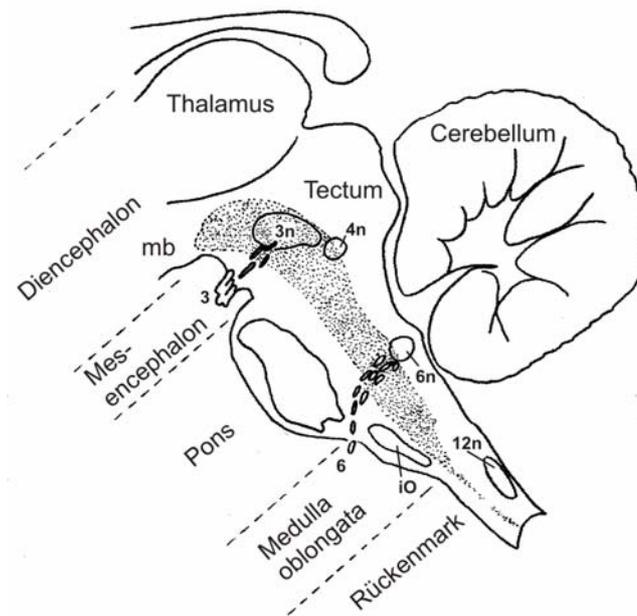


Abb. 1.3: Sagittalschnitt durch den Hirnstamm eines Primaten. Die punktierte Fläche zeigt die Ausdehnung der *Formatio reticularis*, im Hirnstamm und ihre Fortsetzung im Rückenmark, an. Aus Büttner-Ennever and Büttner 1988, verändert. Abkürzungen siehe Anhang.

Fast ein Jahrhundert später beschrieben Olszewski und Baxter die Zytoarchitektur des Hirnstammes genauer, besonders im Hinblick auf verschiedene Kerngebiete (Olszewski and Baxter, 1954). Mit Hilfe der Atlanten dieser Autoren, war eine Grundlage geschaffen, die es ermöglichte, weitere anatomische sowie physiologische Studien in der *Formatio reticularis* voranzutreiben. Vergleiche des Menschen mit verschiedenen Vertebraten wie der Taube (Karten and Hodos, 1967), der Ratte (Valverde, 1962; Newman, 1985 a,b), des Meerschweinschen (Petrovicky, 1966) sowie des Gorillas (Noback, 1959), zeigten erstaunliche Homologien auf. Diese zytoarchitektonischen Ähnlichkeiten der *Formatio reticularis* bei Vertebraten dürften wohl eine phylogenetisch sehr alte, stabile Struktur kennzeichnen (Nieuwenhuys et al., 1991). Aber auch nach Erforschung der Zytoarchitektur und deren Vergleich mit anderen Spezies war über die Verbindungsmuster der einzelnen Gebiete sowie über deren funktionelle Zusammenhänge noch wenig bekannt. Büttner-Ennever und Büttner konnten zahlreiche Gebiete im Hirnstamm bzw. in der *Formatio reticularis* definieren und deren Verbindungen aufklären, die mit der Steuerung von Augenbewegungen (Okulomotorik) korrelierten (Büttner-Ennever and

Büttner, 1988). Diese Art der funktionellen Neuroanatomie des Hirnstammes ist daher ein interessanter Forschungsgegenstand. Ziel ist es, die vielen Verschaltungen und die Generierung einzelner Augenbewegungen zu untersuchen.

1.1.2. Augenbewegungstypen.

Das optische System wurde im Laufe der Evolution immer besser an die Notwendigkeit angepasst, während unterschiedlichster Bewegungen des Körpers und des Kopfes relativ zur Umwelt, Objekte stabil auf der Retina zu halten. Dabei dürfte die ursprünglichste Art der Augenbewegung der vestibuläre Reflex sein. Hierbei folgen die Augen blitzartig, in entgegengesetzter Richtung, einer Kopfbewegung. Man kann dieses Verhalten bei primitiven Vertebraten wie z.B. Fischen beobachten. Dieser vestibuläre Reflex wurde sehr früh in der Evolution mit dem optischen System verknüpft. In der Folge wurde es auch möglich, durch das koordiniertere Nachfolgen beider Augen (optokinetische Antwort), größere visuelle Felder auf der Retina zu stabilisieren. Die neuroanatomischen Strukturen, welche die Augenbewegungen unterstützen, wurden von Leigh und Zee (1999) klar zusammengefasst.

1.1.2.1. Vestibulo-okulärer Reflex.

Der vestibulo-okuläre Reflex (VOR) stabilisiert das retinale Bild, indem er während einer Kopfbewegung eine kompensatorische Augenbewegung auslöst.

Die dafür notwendigen afferenten Signale werden in den Haarzellen des Bogenganges generiert. Dabei feuern diese in Abhängigkeit von der Winkelgeschwindigkeit des Kopfes in einer bestimmten Ebene. Das Geschwindigkeitssignal wird direkt zu den vestibulären Kernen, genauer zu den *Nucleus vestibularis superior* bzw. *medialis* und zur Flocculus Region geleitet. Von da aus führt die Verbindung über den *Fasciculus medialis longitudinalis* und den oberen Kleinhirnstiel weiter zu den okulomotorischen Motoneuronen der *Nuclei oculomotorius*, *trochlearis* und *abducens* (Goldberg and Fernandez, 1980).

Um die Augenbewegung zu regulieren, benötigen die okulomotorischen Neurone ein Positions-, wie auch ein Geschwindigkeitssignal. Daher muss das vestibuläre

Geschwindigkeitssignal über die Zeit integriert werden. Das so errechnete Positionssignal wird ebenfalls den okulomotorischen Motoneuronen übermittelt (Fernandez and Goldberg, 1971; Cannon and Robinson, 1987). Die hierfür notwendigen anatomischen Strukturen werden noch besprochen werden (Abschnitt 1.1.3).

1.1.2.2. Optokinetischer Nystagmus.

Das Gehirn besitzt außer des VORs eine weitere Möglichkeit, um ein stabiles Bild der Umwelt auf der Retina abzubilden. Da der VOR hochfrequente, kurzzeitige Kopfbewegungen kompensiert, kommt es bei anhaltenden, niederfrequenten Kopfbewegungen zum optokinetischen Nystagmus (OKN) (Robinson, 1981).

Hierbei wird das afferente Signal nicht in den Bogengängen, sondern in der Retina erzeugt. Dort registrieren richtungsspezifische Ganglionzellen mit großen rezeptiven Feldern die Bewegung und projizieren direkt zu den Kernen des akzessorischen optischen Traktes und zum Prätektum (Simpson, 1984; Scalia, 1972 a,b). Von dort aus wird das Geschwindigkeitssignal des Gesichtsfeldes zu den vestibulären Kernen geleitet. Die vestibulären Kerne erhalten somit auch optokinetische Eingänge (Waespe und Henn, 1987).

1.1.2.3. Langsame Augenfolgebewegungen.

Das System der Augenfolgebewegung erlaubt, kleine bewegte Objekte visuell zu verfolgen. Diese Art der Augenbewegung kommt nur in Arten mit Fovea vor und dient dazu, ein schärferes Abbild während einer Objektbewegung auf der Retina zu gewährleisten. Der Geschwindigkeitsstimulus auf der Fovea ist hierbei ein wichtiger Parameter.

Die Augenfolgebewegungen oder smooth pursuit eye movements (SPEM) treten mit Latenzen von 100-150 ms auf (Robinson 1965) und erreichen beim Affen und Menschen Geschwindigkeiten von mehr als 100 °/sec (Lisberger et al., 1981; Simons and Büttner, 1985), wohingegen diese bei der Katze nur 20 °/sec betragen (Robinson, 1981). Unter normalen Bedingungen sind nicht nur die Augen, sondern auch der Kopf an der Objektverfolgung beteiligt. Der VOR, welcher die Augen in die

entgegengesetzte Richtung zur Kopfbewegung treibt, wird hierbei unterdrückt. Daher wird eine SPEM-Störung von einer gestörten VOR-Unterdrückung begleitet.

Für das Zustandekommen dieser SPEM bedarf es eines komplexen visookulomotorischen Transformationsprozesses, bei dem zahlreiche Strukturen des Cortex cerebri (Area MT; Maunsell and Van Essen, 1983), des Kleinhirns (Flocculus-Region und Vermis (Lobulus VI); Zee et al., 1981) sowie des Hirnstammes (dorsolaterale pontine Kerne; May et al., 1985) beteiligt sind. Dabei sind die exakten anatomischen Verbindungen noch nicht völlig geklärt. Unklar ist, auf welcher Ebene die Transformation des visuellen Signals in ein okulomotorisches Signal erfolgt (Büttner and Büttner-Ennever, 1988). Es gibt auch Hinweise dafür, dass die vestibulären Kerne an der SPEM-Generierung mitbeteiligt sind. Aus anatomischen Studien ist bekannt, dass Purkinjezellen aus der Flocculus-Region in die Vestibulariskerne projizieren (Lisberger and Pavelko, 1984). Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Übertragung eines SPEM Signals zu den okulomotorischen Motoneuronen (Chubb and Fuchs, 1982).

1.1.2.4. Sakkaden.

Sakkaden sind schnelle, konjugierte Augenbewegungen, die eine Änderung der Augenposition zur Folge haben und durch phasische bzw. tonische Aktivierungen der entsprechenden extraokulären Muskeln zustande kommen. Der phasische (schnelle) Anteil einer Sakkade überwindet die Augenviskosität, der tonische Anteil wirkt der Muskelelastizität entgegen und hält dadurch die neue Augenposition aufrecht (Robinson, 1981). In Arten ohne Fovea, wie z.B. beim Kaninchen, können Sakkaden nur im Zusammenhang mit Kopfbewegungen zustande kommen (Robinson, 1981).

Bei Primaten können Sakkaden Geschwindigkeiten bis zu 700 °/sec erreichen. Dabei beträgt die Latenzzeit bis eine neue Sakkade generiert wird im Allgemeinen 200-250 msec., minimal 70 msec. (Robinson, 1981).

Schnelle Augenbewegungen, ähnlich den Sakkaden, werden vom vestibulären wie auch vom optokinetischen System getriggert und bilden die schnelle Phase des vestibulären oder optokinetischen Nystagmus'. Diese werden im Hirnstamm generiert. Ein Kerngebiet im Tegmentum der Pons, die paramediane pontine *Formatio reticularis* (PPRF) enthält die unmittelbar prämotorischen Neurone für horizontale Sakkaden (Bender and Shanzer, 1964; Cohen et al., 1968; Goebel et al,

1971). Der rostrale interstitiale Kern des *Fasciculus longitudinalis medialis* (riMLF) im Mesenzephalon enthält die unmittelbar prämotorischen Neurone für vertikale Sakkaden (Kömpf et al., 1979; Pierrot-Deseilligny et al., 1982; Büttner-Ennever et al., 1982; Hassler, 1972; King and Fuchs, 1979 ; Büttner et al., 1977a; Büttner-Ennever and Büttner, 1978; Steiger and Büttner-Ennever, 1978; Graybiel, 1977a,b). Diese projizieren zu den okulomotorischen Motoneuronen, wobei sie von einander unabhängigen, phasischen sowie tonischen, Signalen versorgt werden und so unabhängig aktiviert werden können.

1.1.2.5. Vergenz.

Bei Objekten, die sich auf die Augen zu - bzw. von ihnen wegbewegen, werden konjugierte Augenbewegungen durch Konvergenz bzw. Divergenz ersetzt. Diese können asymmetrisch sein und werden von kortikalen Arealen gesteuert, die der Tiefenanalyse dienen (Stereopsie) (Mays and Porter, 1984).

Hier ist noch wenig über die prämotorischen Strukturen im Hirnstamm, sowie über deren Verbindungen bekannt. Einige prämotorische Neurone dorsal bzw. dorsolateral zum *Nucleus oculomotorius* kommen hierbei in Frage (Mays et al., 1986).

1.1.3. Blickstabilisierung.

Die Blickstabilisierung ist ein aktiver Prozess. Dabei feuern die Motoneurone der Augenmuskeln tonisch, um die Augenposition aufrecht zu erhalten.

Für alle Arten von konjugierten Augenbewegungen wie Sakkaden, vestibulo-okulärer Reflex, optokinetischer Nystagmus sowie Augenfolgebewegungen ist die Augengeschwindigkeit derjenige Parameter, welcher den prämotorischen Neuronen übermittelt wird. Um daraus die Augenposition zu ermitteln, bedarf es einer Transformation, die mathematisch als Integration bezeichnet wird (Robinson, 1989)*. Neurone, die das gewährleisten, bezeichnet man als Integrationsneurone. Das

* Da ja bekannterweise die Integration einer Geschwindigkeits-Zeit-Funktion $v(t)$ nach der Zeit, die Positions- oder Orts-Zeit-Funktion $x(t)$ ergibt.

Integrationsgebiet für die vertikale Augenposition liegt im interstitiellen Cajalkern (iC), für die horizontale Augenposition liegt es im *Nucleus praepositus hypoglossi* (ph).

Der iC liegt dorsolateral zum *Nucleus oculomotorius* (**Abb.1.4**). Zahlreiche physiologische Untersuchungen in diesem Gebiet (Szentagothai, 1943; Hess, 1954; Hassler and Hess, 1954; Hyde and Toczek, 1962) haben gezeigt, dass die Aktivität von iC-Neuronen mit vertikalen Augenbewegungen korreliert ist. Läsionsstudien an der Katze (Anderson et al. 1979; Fukushima, 1987) zeigten weiter, dass dieses Kerngebiet an der neuronalen Integration beteiligt ist. So führt eine bilaterale iC-Läsion zu einem Zurückdriften der Augen bzw. der Kopfstellung nach Auslösen einer vertikalen Sakkade (Fukushima, 1987).

Der ph liegt am Boden des vierten Ventrikels, zwischen XII und VI Hirnnerven gelegen (**Abb. 1.4**). Dieser, zusammen mit den medialen Vestibulariskernen, dürfte an der neuronalen Integration der horizontalen Augenbewegungen beteiligt sein (Cannon and Robinson, 1987). Für die neuronale Integration der vertikalen bzw. torsionellen Augenbewegungen ist der iC verantwortlich (Crawford et al., 1991; Fukushima et al., 1992).

Die Integrationsgebiete (iC, ph), zusammen mit ihren Verbindungen zu den Vestibulariskernen und deren Verbindung zum Kleinhirn (**Abb.1.5**), sind essenziell für die Haltung der Augenposition, d.h. für die Blickstabilisierung. Das Kleinhirn unterstützt dabei den neuronalen Integrationsprozess über ein positives Feedback-Signal (Leigh and Zee, 1999).

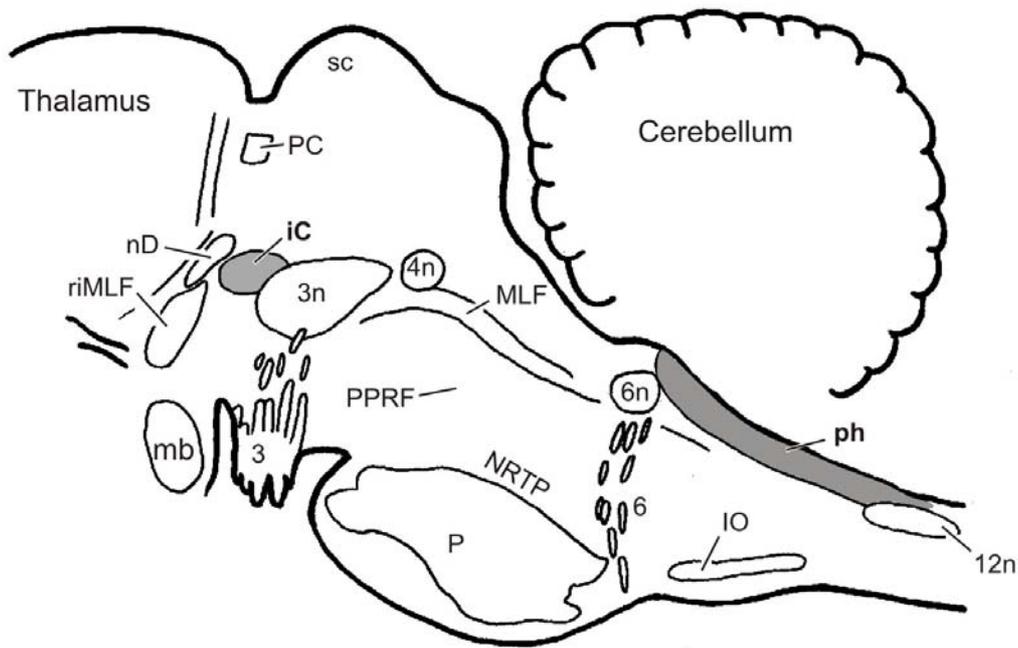


Abb.1.4: Sagittalschnitt durch den Hirnstamm eines Primaten. Die grauen Flächen zeigen den Integrationskern für vertikale Augenbewegungen, den interstitieller Cajalkern (iC), bzw. den Integrationskern für horizontale Augenbewegungen, den *Nucleus praepositus hypoglossi* (ph) an. Abkürzungen, siehe Anhang.

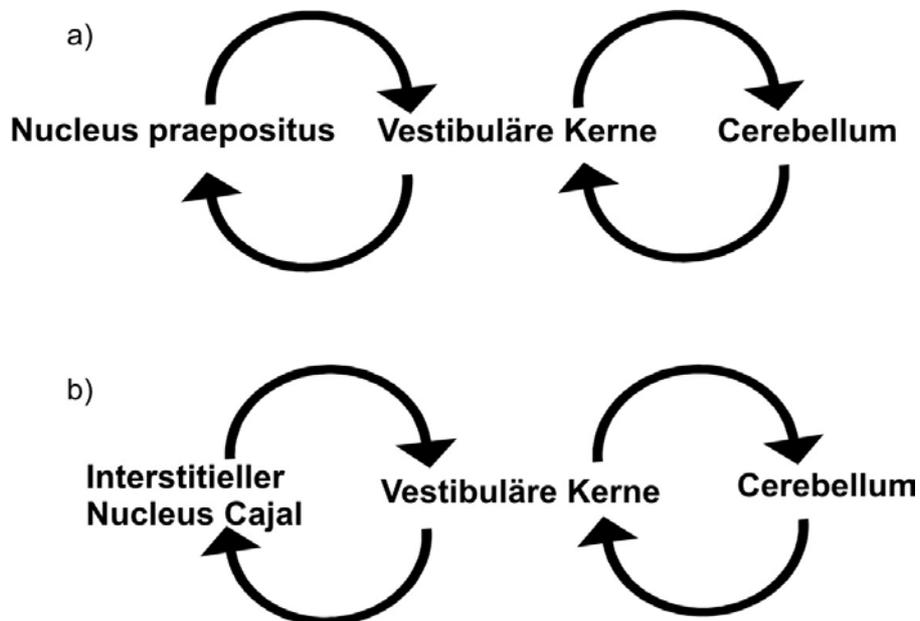


Abb.1.5: (a) zeigt schematisch vereinfacht die Integrationsgebiete für die horizontalen, (b) für die vertikalen Augenbewegungen. Zusammen mit ihren Verbindungen zu den Vestibulariskernen und dem Cerebellum sind sie essenziell für die Blickstabilisierung. Beide Integrationsgebiete erhalten ein positives Feedback-Signal.

1.1.4. Kleinhirn (Cerebellum).

Alle PMT-Neurone projizieren zur Flocculus-Region des Kleinhirns. Das Kleinhirn generiert zwar keine Bewegungen, ist aber für die Koordination sämtlicher Motorik, einschließlich der Augenbewegungen, von essenzieller Bedeutung. Spielt es bei der motorischen Steuerung der Skelettmuskulatur die Rolle der Feinabstimmung, so fallen koordinierte Augenbewegungen bei verschiedenartigen Kleinhirnläsionen aus.

Aufgrund phylogenetischer Studien (Larsell, 1967; Larsell, 1970; Larsell and Jansen, 1972; Voogd, 1967; Voogd, 1969) teilt man das Kleinhirn in drei unterschiedliche Anteile auf (**Abb. 1.6**):

- ◆ **Archicerebellum:** *Flocculus* mit *Lingula* und *Nodulus* bilden den ältesten Anteil. Da es funktionell mit den Vestibulariskernen verbunden ist, wird es auch als Vestibulocerebellum bezeichnet.
- ◆ **Palaeocerebellum:** Einige zum Wurm (*Vermis*) gehörende Abschnitte und der *Paraflocculus* bilden diesen alten Anteil. Da es die spinozerebellären Bahnen der propriozeptiven Sensibilität aus der Muskulatur aufnimmt, bezeichnet man es auch als Spinocerebellum.
- ◆ **Neocerebellum:** Die Kleinhirnhemisphären, welche bei den Primaten stark ausgeprägt sind, bilden den evolutiv neuesten Anteil. Es nimmt via Brückenkerne die großen kortikozerebellären Verbindungen von der Großhirnrinde auf (Pontocerebellum), und stellt somit den Apparat für die Feinabstimmung der willkürlichen Bewegung dar.

Oculomotorische Regionen im Cerebellum

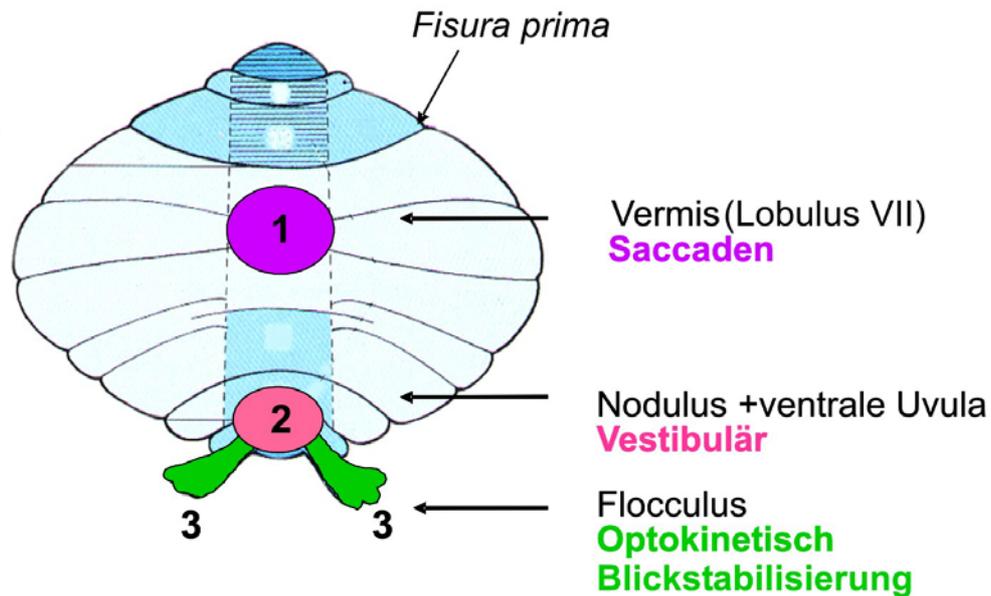


Abb.1.6: Schematische Gliederung des Kleinhirns. Es zeigt die drei Regionen im Kleinhirnkortex, welche die Augenbewegungen kontrollieren. Das Palaeocerebellum ist hellblau, das Neocerebellum grau dargestellt. Die Zuordnungen zu Sakkaden (Lobulus VII), vestibulären Antworten (Nodulus und ventrale Uvula) und optokinetischen Antworten (Flocculus), basieren auf neuroanatomischen und physiologischen Studien (Voogd and Barmack, in press).

Verbunden ist das Kleinhirn mit dem Hirnstamm über drei zur Mittellinie symmetrisch angeordnete Kleinhirnstiele. Für eine koordinierte Augenbewegung ist vor allem das Vestibulocerebellum von Bedeutung. Dabei wird als Flocculus-Region der Flocculus einschließlich des ventralen Paraflocculus bezeichnet. Wichtig ist die Flocculus-Region vor allem bei VOR und SPEM. Läsionen führen hier zu unkoordinierten Augenbewegungen (Zee et al., 1981). Der Flocculus erhält überwiegend Eingänge, via Moosfasern, von den vestibulären Kerne sowie dem *Nucleus praepositus hypoglossi* (ph) (Highstein et al., 1987), der Formatio reticularis und der PMT-Zellgruppen (Blanks et al., 1983; Langer et al., 1985a; Kotchabhakdi and Walberg, 1977; Brodal and Brodal, 1985). Purkinjezellen projizieren ihrerseits zu den vestibulären Kernen, einschließlich der γ -Gruppe. Im Gegensatz zum Flocculus enthält der ventrale Paraflocculus hauptsächlich Eingänge aus den pontinen Kernen und dem NRTP (Voogd and Barmack, in press). Läsionen der Flocculus-Region führen zu Defiziten im SPEM und zur fehlenden Unterdrückung des VORs (Zee et al., 1981).

Da eine Läsion der Flocculus-Region zu keiner völligen Aufhebung des SPEM führt, muss noch eine weitere Kleinhirnstruktur beteiligt sein. Möglich wären posteriore Anteile der *Vermis* (Lobi VI und VII) (Suzuki et al., 1981) (**Abb.1.6**).

Für die Sakkadensteuerung ist die dorsale *Vermis*, speziell die Lobi VI und VII, sowie der kleinste Kleinhirnkern, *Nucleus fastigii*, verantwortlich (Noda, 1991; Robinson et al., 1993; Straube et al., 1994; Fuchs et al., 1993; Büttner et al., 2003).

1.2. Zellgruppen des paramedianen Traktes (PMT-Neurone).

Die Projektionen von den Vestibulariskernen zum Flocculus sind gut bekannt. Aber weitaus mehr Neurone, welche zum Flocculus projizieren, liegen zerstreut im paramedianen Trakt (PMT) des Hirnstamms (**Abb.1.1**). Entlang der Mittellinie oder Naht (Raphe) von Pons und Medulla, liegen nahe den Raphekernen einige kleine Zellgruppen, die unabhängig über retrograde Tracerexperimente in der Flocculus-Region bei Ratte (Blanks et al., 1983), Katze (Brodal 1957, 1981; Sato et al., 1983) und Makaken (Somana und Walberg, 1978; Langer et al., 1985a) beschrieben wurden. Langer et al. (1985a) führten in diesem Zusammenhang die Bezeichnung „paramedianer Trakt“ ein, womit ein kompakter Trakt beidseits der Mittellinie gemeint ist, welcher zahlreiche Projektionsbahnen enthält, wie den tectospinalen bzw. reticulospinalen Trakt und den *Fasciculus longitudinalis medialis* (MLF). Diese Neuronengruppen wurden von Büttner-Ennever und Büttner (1988) daher als "paramediane-Trakt-Neurone" oder kurz PMT-Neurone bezeichnet.

1.2.1. PMT-Neuronengruppen bei verschiedenen Säugerarten einschließlich des Menschen.

Die Zellgruppen des paramedianen Traktes (PMT) sind in unterschiedlichen Säugerarten verschieden bezeichnet worden. Daher besteht noch keine einheitliche Nomenklatur zur Beschreibung dieser Zellgruppen.

Ratte:

Blanks et al. (1983) unterteilten zum Flocculus projizierende Neurone in der Ratte mittels retrograder Tracerinjektionen in zwei Hauptgruppen. Eine rostral vom *Nucleus abducens* gelegene, „intermediate-interstitial nuclei of the MLF“, und eine caudal

davon gelegene „caudal-interstitial nuclei of the MLF“. Diese Bezeichnung ist jedoch verwirrend und sollte daher nicht mehr benutzt werden.

Katze:

Brodal (1957, 1981) kennzeichnete mit neuroanatomischen Methoden in der Medulla der Katze drei Untergruppen des *Nucleus reticularis paramedianus* (pm). Die weitest mediale Zellgruppe bezeichnete er als „accessory division“ des pm (acc.pm). Die lateralen Zellgruppen unterteilte er in eine „ventrale“ und „dorsale“ Untergruppe. Die acc.pm geht caudal in den *Nucleus Roller* über. Sato et al. (1983) identifizierte in der Katze mit elektrophysiologischen Methoden Zellgruppen, welche zur Flocculus-Region projizieren. Die Zellgruppen caudal zum *Nucleus abducens*, bezeichnete er als „the accessory group of the paramedian reticular nucleus“, jene rostral vom *Nucleus abducens*, als „the dorsal nucleus of the raphe“.

Makake:

Somana und Walberg konnten alle drei Untergruppen der Katze (Brodal 1957, 1981) im Makaken bestätigen und zeigen, dass diese zum Kleinhirn projizieren (Somana and Walberg, 1978). Langer et al. (1985a) unterscheiden beim Makaken sieben Gruppen, welche in **Abb. 1.7** von caudal nach rostral dargestellt sind:

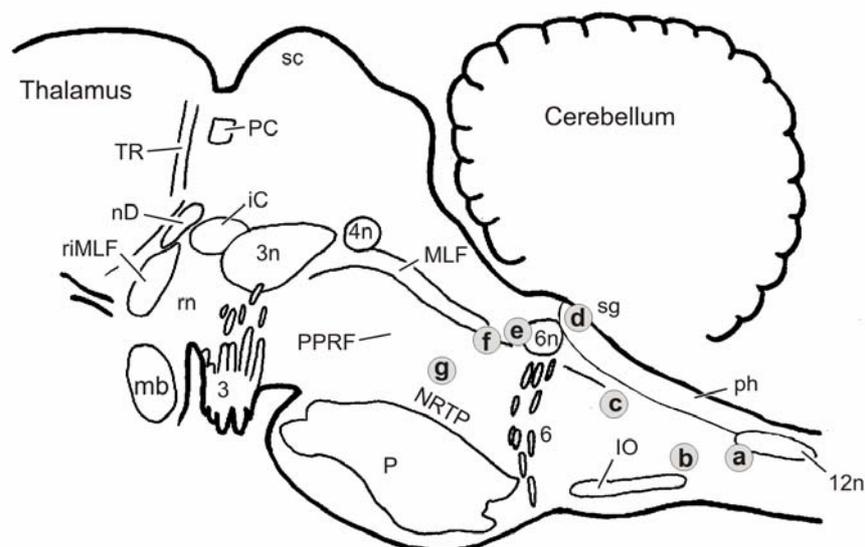


Abb.1.7: Sagittalschnitt durch den Hirnstamm eines Primaten. Die Buchstaben geben PMT-Neuronengruppen nach Langer et al. (1985a) an.

(a) *Nucleus interfascicularis dorsalis* der Medulla. (b) *Nucleus interfascicularis ventralis* der Medulla. (c) *Nucleus paraphales*. (d) *Nucleus supragenualis*. (e) Dorsale Kappe des *Nucleus abducens*. (f) *Nucleus interfascicularis* der Präabduzensregion. (g) Dorsale pontine Gruppe der Mittellinie.

Mensch:

Unabhängig beschrieben Olszewski und Baxter (1954) im Hirnstamm des Menschen eine kompakte Zellgruppe in der rostralen Medulla, die sie mit *Nucleus paraphales* bezeichneten und ventral mit *Nucleus arcuatus*. Olszewski und Baxter nahmen an, dass es sich bei diesen beiden Kernen um zwei in die Medulla verrückte pontine Kerne handelt. Da die pontinen Kerne eine starke Projektion zum Kleinhirn aufweisen, könnte auch dieser Kern ins Kleinhirn projizieren. Langer et al. (1985a) bezeichneten im Makaken ebenso einen Kern in der rostralen Medulla mit *Nucleus paraphales*. Dabei ist nicht klar, ob es sich exakt um denselben Kern handelt. Aus vergleichend anatomischen Studien in Lage und Gestalt hat er große Ähnlichkeit mit dem im Menschen. Bisher wurde kein Versuch unternommen, zu überprüfen, inwieweit es sich hier um die Neuronengruppe, homolog zum Makaken, handelt.

Langer et al., 1985a	Buresch, 2005	Olszewski and Baxter, 1954
<i>Nucleus interfascicularis dorsalis</i> (ifm d)	} PMT-1	
<i>Nucleus interfascicularis ventralis</i> (ifm v)		
<i>Nucleus paraphales</i> (nrpr)	PMT-2	<i>Nucleus paraphales</i> (nrpr)
<i>Nucleus supragenualis</i> (sg)	PMT-3	
Dorsale Kappe des <i>Nucleus abducens</i>	PMT-4	
<i>Nucleus interfascicularis</i> (Ifpa) der Präabduzensregion	PMT-5	
Dorsale pontine Gruppe an der Mittellinie	PMT-6	

Tab.1.1: Gegenüberstellung der unterschiedlich bezeichneten PMT-Neurone im Makaken (Langer et al., 1985a) und Menschen (Olszewski and Baxter, 1954; Buresch, 2005). Der Vereinfachung und Vereinheitlichung wegen werden die PMT-Gruppen in dieser Arbeit im Makaken und Menschen mit *PMT-1*, *PMT-2*, *PMT-3*, *PMT-4*, *PMT-5* und *PMT-6* bezeichnet. Die nah beieinander liegenden Gruppen ifm d und ifm v werden in *PMT-1* zusammengefasst.

1.2.2. Efferente Verbindungen der PMT-Gruppen.

Die PMT-Gruppen sind zum einen über ihre Efferenzen zur Flocculus-Region definiert (Büttner-Ennever, 1992). Dabei ist die Bezeichnung „Flocculus-Region“ keine scharf abgegrenzte anatomische Struktur (Voogd, 1964; Gerrits and Voogd, 1982). Jene anatomische Struktur, welche Flocculus und Paraflocculus trennt, wird als posterolaterale Fissur bezeichnet. Sie kann bei Ratte und Katze leicht identifiziert werden, jedoch nicht beim ausgewachsenen Primaten.

Larsell (1970) konnte anhand von fetalem Material die Lokalisation der posterolateralen Fissur am ausgewachsenen Primaten ermitteln. Dies ermöglichte die Flocculus-Region bei den Primaten zu definieren. Weiter dürften die PMT-Gruppen zur Vermis (Lobi VII und VIII) projizieren (Somana and Walberg, 1978).

1.2.3. Afferente Verbindungen der PMT-Gruppen.

Weiter konnten die PMT-Neuronengruppen über ihre Afferenzen definiert werden. Dabei wurden zahlreiche Eingänge von prämotorischen Strukturen, welche für die Augenbewegung von Bedeutung sind, ermittelt.

McCrea et al. (1986) zeigten Eingänge von internukleären Neuronen des *Nucleus abducens* (abd. intern.) auf. Da die PMT-Zellgruppen an der Mittellinie liegen, werden sie oft mit den Raphekernen (*N. raphes pontis*, *N. raphes magnus*, *N. raphes dorsalis* und *N. raphes obscurus*) verwechselt (McCrea et al., 1987a,b). Doch unterscheiden sie sich wie folgt: Die PMT-Gruppen liegen genau genommen seitlich der Mittellinie im paramedianen Trakt. Manchmal bilden sie Zellbrücken mit den Gruppen in der *Formatio reticularis* aus. Ihre Zellkörper sind meist größer als die der Raphekerne, sie sind stark chromophil und wahrscheinlich nicht serotoninerg (Büttner-Ennever, 1992). Siehe **Abb.1.1a**.

Die horizontalen, exzitatorischen „burst Neurone“ in der PPRF, sowie die inhibitorischen „burst Neurone“ (IBN) senden ebenso Axone zu den PMT-Gruppen (Strassman et al., 1986 a,b). Sekundäre vestibuläre Neurone der vertikalen und horizontalen Kanäle projizieren auch zu den PMT-Gruppen (McCrea et al., 1987 a,b). Es wurde darüber hinaus Eingänge von vertikalen bzw. torsionellen prämotorischen Integrationsgebieten (iC), sowie des riMLF, nachgewiesen (Büttner-Ennever et al., 1989).

Alle diese afferenten Verbindungen beruhen auf Daten von Primaten. Blanks und Torigoe (1983) berichteten auch von Eingängen des pH in der Ratte. Folgende **Abb.1.8** fasst dies nochmals zusammen.

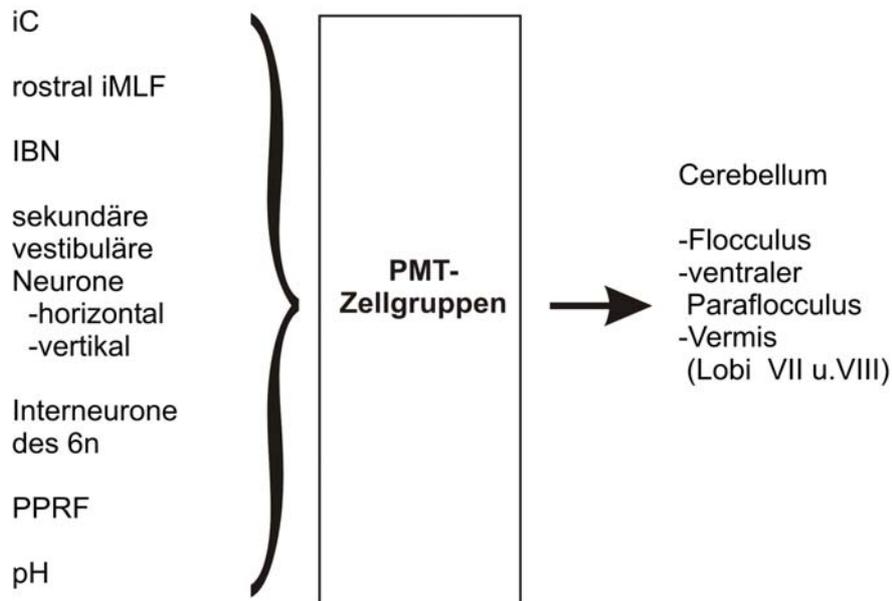


Abb.1.8: Ein- und Ausgänge auf die PMT-Gruppen. Aus Büttner Ennever and Büttner (1988), verändert.

Somit kann man sagen, dass -zumindest bei den meisten Säugern- die Flocculus-Region indirekte Eingänge aus den prämotorischen Gebieten erhält, zusätzlich zu den Eingängen der Vestibulariskerne.

1.2.4. Physiologie.

Elektrophysiologische Ableitungen ergaben, dass PMT-Neurone ähnliche Signale zum Kleinhirn leiten, wie die prämotorischen Neurone zu den Motoneuronen. So konnten Nakao et al. (1980) in der dorsalen PPRF der Katze eine „burst-tonic“-Aktivität von solchen Neuronen ableiten, welche zum Flocculus projizieren. Diese Neurone erhielten ihrerseits Informationen über einen horizontalen Sakkaden-burst sowie über die horizontale Augenposition. Nakamagoe et al. (2000) leiteten an einer PMT-Gruppe ab, welche rostral zum *Nucleus abducens* liegt. Sie bezeichneten sie mit up-BT, da deren „burst-tonic“-Aktivität mit vertikalen Augenbewegungen nach oben korrelierte. Eine Inaktivierung führte zu einem downbeat Nystagmus, d.h. die

Augen waren nach oben gedriftet. Nach Meinung von Nakamagoe et al. (2000) könnte die Inaktivierung der PMT-Zellgruppe die Purkinjezellaktivität im Flocculus mindern, wodurch deren inhibitorischer Einfluß auf die Neurone in den Vestibulariskernen scheinbar vermindert wird. Cheron et al. (1995) leiteten in einer Zellgruppe oberhalb des MLF, dorsal zum *Nucleus abducens*, in der Katze ähnliche burst-tonic Signale für horizontale Augenbewegungen ab. Sie bezeichneten diese Region als *Nucleus incertus*, welcher in der Nähe des *Nucleus interfascicularis* der Präabduzensregion (Langer et al., 1985a) liegt.

Im Flocculus selber waren ähnliche burst-tonic Signale abzuleiten (Miles et al., 1980; Noda and Suzuki, 1979). Nach einer bilateralen Läsion der Flocculus-Region war am Makaken ein Defizit bei der Blickstabilisierung, sowie des SPEM zu verzeichnen (Zee et al., 1981). Die Augen drifteten in die ursprüngliche Position zurück (gaze-evoked nystagmus).

Eine mögliche Hypothese ist, dass die PMT-Neurone eine Efferenz-Kopie, prämotorischer Neurone, welche physiologisch ein burst-tonic Muster zeigen, zum Kleinhirn weiterleiten und somit an der Blickstabilisierung beteiligt sind (Büttner-Ennever und Horn, 1996). Die integrierte Geschwindigkeitsinformation der Integrationskerne (iC bzw. ph), welche die Information über die Augenposition kodiert, gelangt zum einen zu den Motoneuronen der Augenmuskeln und könnte zum anderen, via PMT-Neurone, dem Kleinhirn vermittelt werden.

1.2.5. Zusammenfassende Definition der PMT-Zellgruppen.

Im Folgenden seien kurz die markantesten Merkmale der PMT-Zellgruppen genannt.

- ◆ Die PMT-Zellgruppen sind an der Mittellinie im bzw. seitlich des *Fasciculus longitudinalis medialis* (MLF) in der Pons und Medulla verteilt.
- ◆ Die PMT-Zellgruppen erhalten mehrere Inputs aus prämotorischen Regionen.
- ◆ Die PMT-Zellgruppen projizieren ihrerseits über den hinteren Kleinhirnstiel zum Flocculus bzw. ventralen Paraflocculus.
- ◆ Die PMT-Zellgruppen könnten via Efferenzkopie ein motorisches Feedback-Signal der Augenposition an das Kleinhirn weiterleiten.

Zusammenfassend wird dies in der **Abb.1.9** gezeigt.

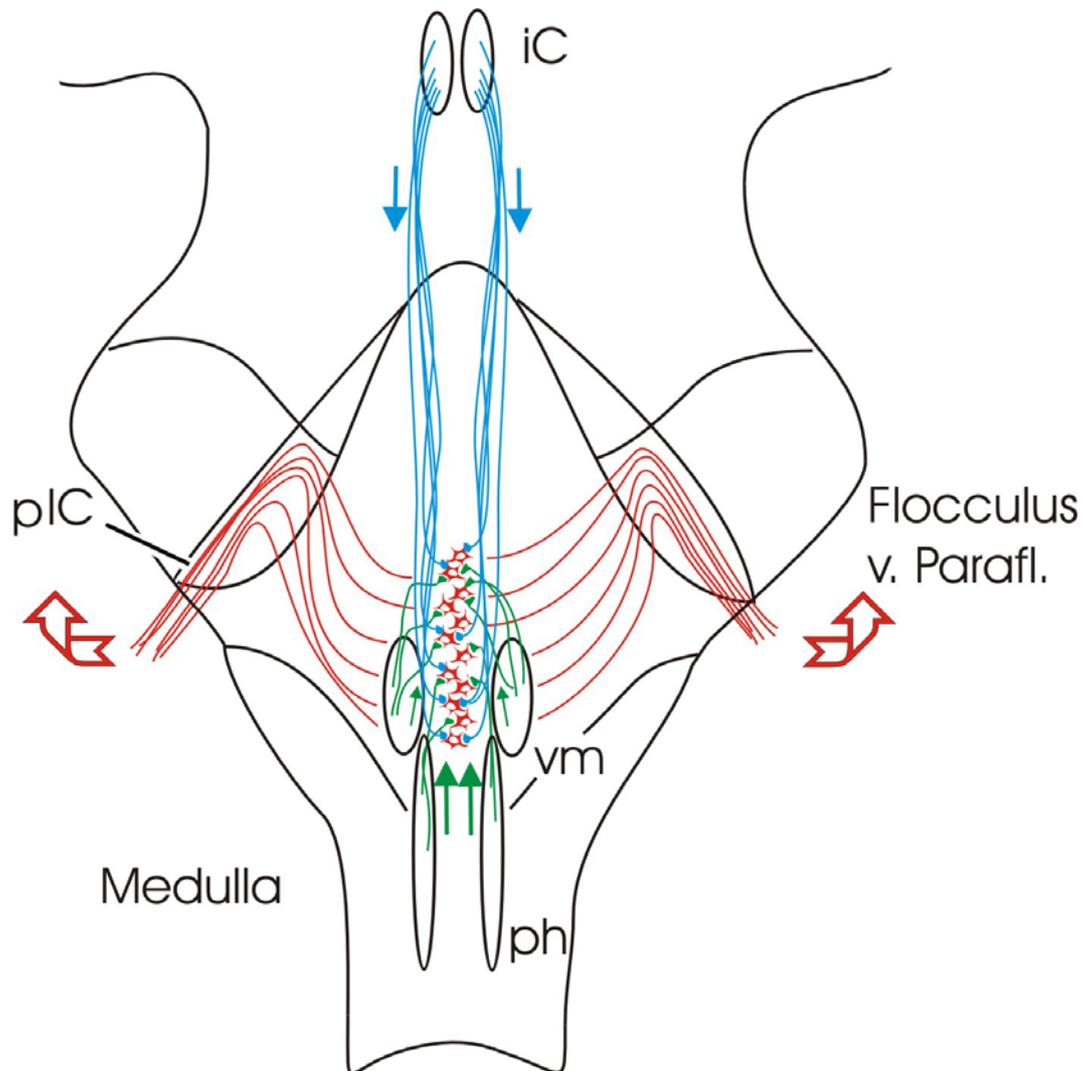


Abb.1.9: Schematische Zusammenfassung der wichtigsten Eigenschaften der PMT-Zellgruppen anhand von Affendaten. Die PMT-Zellgruppen (rot) an der Mittellinie, projizieren über den hinteren Kleinhirnstiel (*Pedunculus cerebellaris inferior*) - pIC - zum Flocculus bzw. ventralen Paraflocculus (rote Pfeile). Der interstitielle *Nucleus Cajal* (iC), ein Integrationsgebiet für vertikale Augenbewegungen (blau), sowie der *Nucleus praepositus hypoglossi* (ph) als auch Anteile des *Nucleus vestibularis medialis* (vm), Integrationsgebiete für horizontale Augenbewegungen (grün), projizieren ebenso zu diesen Zellgruppen. Somit könnten die PMT-Neurone eine prämotorische Efferenz-Kopie zum Kleinhirn weiterleiten.

1.3. Zielsetzung.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die neuroanatomische Charakterisierung der PMT-Gruppen an nichtmenschlichen Primaten (Makaken) und die Identifizierung der PMT-Neurone beim Menschen, wo sie noch nicht beschrieben wurden. Dabei könnte eine Identifizierung dazu beitragen, neurologische Defizite in der Blickstabilisierung besser zu verstehen.

Als Grundlage hierfür dienten Daten nichtmenschlichen Primaten, welche die PMT-Gruppen definieren und zwar über folgende Eigenschaften:

(1) über ihre Ausgänge zum Flocculus. Nach einer HRP-Injektion in den Flocculus bzw. ventralen Paraflocculus waren PMT-Neurone retrograd markiert worden. (Langer et al., 1985a).

(2) über ihre Morphologie und Histologie. In Abgrenzung zu den Raphekernen, die viele serotoninerge Neurone enthalten.

(3) über ihre Eingänge. Nach ^3H -Leuzin-Injektionen in prämotorische Regionen für vertikale und horizontale Augenbewegungen, waren die PMT-Zellgruppen mit markierten Terminalen bedeckt (Büttner-Ennever et al., 1989).

Mit Hilfe von einigen histochemischen Markern sollen diese PMT-Gruppen zuerst am Makaken bestätigt werden. Mit einem oder mehreren die PMT-Gruppen positiv markierenden Markern sollen so die homologen Gruppen im Menschen vergleichend nachgewiesen werden.

2. Material und Methoden.

2.1. Material.

2.1.1. Primaten.

1) Tracerfälle: Es standen 2 Fälle zur Verfügung mit Injektionen von ^3H -Leuzin (**Abb.2.1**). Der Nachweis erfolgte mit autoradiographischen Methoden (Büttner-Ennever et al., 1989). Ein weiterer Fall (*Ger*) mit WGA-HRP Injektion in den ventralen Paraflocculus, wobei der Tracer mit TMB (Tetramethyl Benzidin) nachgewiesen wurde (Glickstein et al., 1994).

Fall	Art	Art der Fixation	Injektionsort	Tracer
<i>B46</i>	<i>Macaca mulatta</i>	Perfusion	riMLF, iC	^3H -Leuzin
<i>Z21</i>	<i>Macaca mulatta</i>	Perfusion	6n	^3H -Leuzin
<i>Ger</i>	<i>Macaca fascicularis</i>	Perfusion	vpf	WGA-HRP

Tab. 2.1: Daten zu den verwendeten Tracerfällen. Abkürzungen, siehe Anhang.

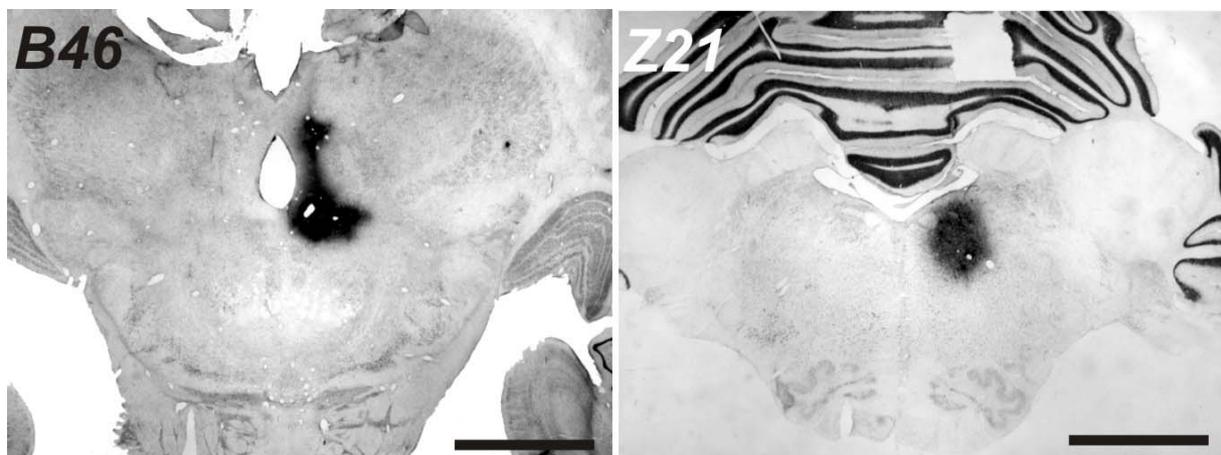


Abb. 2.1: Injektionsorte der Fälle *B46* und *Z21*. Die Injektionen von ^3H -Leuzin erfolgten im Fall *B46* im riMLF bzw. iC. Im Fall *Z21* erfolgte die Injektion in den 6n. Balken = 0,5 mm.

2) Histologische Marker: Zum Austesten verschiedener histochemischer bzw. immunhistochemischer Marker wurden perfundierte bzw. immersionsfixierte Gehirne von 4 Makaken (*Macaca mulatta*, *Macaca fascicularis*) verwendet.

Fall	Art	Art der Fixation
P2-01	<i>Macaca mulatta</i>	Perfusion
PZ99	<i>Macaca mulatta</i>	Immersionsfixation
S31	<i>Macaca fascicularis</i>	Perfusion
Y60	<i>Macaca fascicularis</i>	Perfusion

Tab. 2.2: Daten zu den verwendeten Fällen für die histologischen Färbungen. Abkürzungen, siehe Anhang.

2.1.2. Mensch.

Hirnmateriale vom Menschen wurde aus der Hirnbank (Brain-Bank) der Ludwig-Maximilians-Universität München, mit Einverständnis der dortigen Ethikkommission, bezogen. Alter zwischen 29 und 81 Jahren. Davon waren zwei männlichen und zwei weiblichen Geschlechts.

2. 2. Methoden.

2. 2.1. Organentnahme und Fixieren.

2. 2.1.1. Primaten.

Das Primatenmaterial war zum Teil schon histologisch bearbeitet, zum Teil wurden die histochemischen sowie immunhistochemischen Färbungen eigens für diese Untersuchungen durchgeführt.

Die meisten Primatengehirne wurden perfundiert. Dazu wurden die Tiere mit einer Überdosis Nembutal (96 mg/kg) getötet und transcardial perfundiert. Zuerst mit physiologischer NaCl-Lösung, dann mit gepuffertem 4%igen Paraformaldehyd (PFA) (Horn et al., 1994).

2. 2.1.2. Mensch.

Die Gehirne bzw. der Hirnstamm der jeweiligen Menschen wurden sofort nach der Sektion weiterbehandelt. Zur histologischen Aufarbeitung wurden sie entweder in 4% PFA immersionsfixiert, oder bei -60°C schockgefroren und bei -80°C aufbewahrt. Diese wurden nur für die Immuncytochemie einige Minuten in 4% PFA fixiert.

2.2.2. Gefrierschneiden.

Die immersionsfixierten Schnitte wurden unter Trockeneis geschnitten. Als Cryoschutz diente ein Sucrosegradient von (10%, 20% und 30%).

Für die größeren Gehirne des Menschen und des Makaken wurde ein Tetrander der R.Jung AG Heidelberg verwendet. Die Schnittdicke lag bei 40 µm. Die Schnitte wurden in 0,1M PB aufgefangen und zum weiteren Bearbeiten bei 4°C aufbewahrt.

Die schockgefrorenen Schnitte wurden im gefrorenen Zustand mit TissueTech auf dem Objektisch fixiert und mit einem Mikrotom-Kryostat (Typbezeichnung: Cryo-Star HM 560MV) der Firma Microm 20 µm dünn geschnitten. Dabei wurde jeder Schnitt einzeln auf den Objektträger (SuperFrost Plus) der Firma Menzel-Gläser aufgefangen und bei -80°C aufbewahrt.

2.2.3. Nachweismethoden.

2.2.3.1. Immuncytochemische Nachweise.

Jedem immuncytochemischen Nachweis mit Hilfe von DAB (Diaminobenzidin) ging eine Inhibition endogener Peroxidasen voraus. Dazu wurden die Schnitte 15-30 min bei Raumtemperatur (RT) in einem Gemisch aus 3% H₂O₂, 10 % Methanol und 0,1 M Phosphatpuffer (PB) inkubiert.

Jedem Arbeitsschritt folgte ein dreimaliges Spülen mit 0,1 M PB.

Nach der Inkubation mit dem zweiten Antikörper (AK, biotinyliert) folgten für alle Nachweise:

- 1h Inkubation in ABC Kit (1 Tropfen A + 1 Tropfen B in 5 ml 0,1 M PB) oder EAP (Extraavidin Peroxidase)1/1000.

- DAB Reaktion: 0,05% DAB + 0,003% H₂O₂ in 0,1 M PB. Die Inkubation erfolgte so lange bis makroskopisch die Färbung gut erkennbar war. Anschließend wurden die Schnitte aufgezogen, entwässert und eingedeckt.

2.2.3.1.1. Monoklonal Maus anti-Mensch Cytochrom c Oxidase.

Erster Tag :

- 1h Präinkubation bei RT in 2% Normal Pferdeserum verdünnt in 0,1M PB mit 0,3% Triton-X 100.
- Inkubiert über Nacht bei RT in Maus anti-Mensch Cytochrome c Oxidase (1/100 – 1/200).

Zweiter Tag :

- 2h Inkubation bei RT in biotinylierten Pferd anti-Maus (1/200).

2.2.3.1.2. Monoklonal Maus anti- Parvalbumin.

Erster Tag :

- 1h Präinkubation bei RT in 2% Normal Pferdeserum verdünnt in 0,1M PB mit 0,3% Triton-X 100.
- Inkubiert über Nacht bei RT in Maus anti-Parvalbumin (1/2500 – 1/5000).

Zweiter Tag :

- 2h Inkubation bei RT in biotinylierten Pferd anti-Maus (1/200).

2.2.3.1.3. Polyklonal Kaninchen anti-Calretinin bzw. polyklonal Kaninchen anti-Calbindin.

Erster Tag :

- 1h Präinkubation bei RT in 2% Normal Ziegenserum verdünnt in 0,1M PB mit 0,3% Triton-X 100.
- Inkubiert über Nacht bei RT in Kaninchen anti-Calretinin bzw. Kaninchen anti-Calbindin (1/2500).

Zweiter Tag :

- 2h Inkubation bei RT in biotinylierten Ziege anti-Kaninchen (1/200).

2.2.3.1.4. Polyklonal Kaninchen anti-Choline Acetyltransferase.

Erster Tag :

- 1h Präinkubation bei RT in 2% Normal Ziegenserum verdünnt in 0,1M PB mit 0,3% Triton-X 100.
- Inkubiert über Nacht bei RT in Kaninchen anti-Choline Acetyltransferase (1/2000).

Zweiter Tag :

- 2h Inkubation bei RT in biotinylierten Ziege anti-Kaninchen (1/200).

2.2.3.1.5. Polyklonal Kaninchen anti-Serotonin (Makaken).

Erster Tag :

- 1h Präinkubation bei RT in 2% Normal Ziegenserum verdünnt in 0,1M PB mit 0,3% Triton-X 100.
- Inkubiert über Nacht bei RT in Kaninchen anti-Serotonin(1/10 000).

Zweiter Tag :

- 1h Inkubation bei RT in biotinylierten Pferd anti-Maus (1/200).

2.2.3.1.6. Monoklonal Maus anti-PH8 (Menschen).

Erster Tag :

- Demaskierung im Wasserbad (+80°C) in 0,01 M Citrar-Puffer (pH=8,8) für 15 min. Danach im Citrat-Puffer abkühlen lassen auf RT. Waschen für je 10 min. in 0,1 M TBS (pH=7,6), dann in 0,1M PB (pH=7,4).
- 1h Präinkubation bei RT in 5% Normal Pferdeserum verdünnt in 0,1M PB mit 0,3% Triton-X 100.
- Inkubiert für zwei Nächte bei 4°C in Maus anti-PH8(1/2000).

Dritter Tag :

- 1h Inkubation bei RT in biotinylierten Ziege anti-Kaninchen (1/200).

2.2.3.2. Histochemische Färbungen.

2.2.3.2.1. Enzymatischer Nachweis von Acetylcholinesterase (AChE).

Lösung J-B (nach Geneser-Jensen und Blackstad ,1971) für 100 ml:

100 mg Ach-iodid, 7,2 mg EtPHCl, 75 mg Glycin, 50 mg CuSO₄, 410 mg NaCH₃COO in 100 ml H₂O dest lösen (blaue, klare Lösung), mit Essigsäure auf pH 5 einstellen.

- Gefrierschnitte dreimal je 10 min in 0,25 M TBS waschen.
- über Nacht in Lösung J-B inkubieren.
- dreimal je 10 min in 0,25 M TBS waschen.
- in 10%iger K₃Fe(CN)₆ Lösung (gelb) inkubieren, bis Schnitte nach ca. 5 min braun.
- Anschließend die Schnitte 2-3 mal in H₂O dest waschen.

2.2.3.2.2. Enzymatischer Nachweis von Cytochrom-Oxidase (COE).

Inkubationslösung (nach Wong-Riley ,1979) vor Gebrauch frisch ansetzen!

Inkubationslösung in folgender Reihenfolge mischen und filtrieren.

50 mg DAB, 90 ml 0,1M PBS (pH = 7,4), 25 mg Cytochrom c (Typ III Sigma 2506), 4 g Sucrose.

- Schnitte 10 min in 0,1M PB (pH = 7,4) waschen.
- Schnitte bei 37°C 3-6h inkubieren, Reaktion alle 30min überprüfen (gegebenenfalls Cytochrom c erhöhen).
- Anschließend die Schnitte 2-3 mal in 0,1M PB (pH = 7,4) waschen.

2.2.3.3. Nisslfärbung.

Die Übersichtsfärbungen erfolgten nach einer gängigen Labormethode mit 0.5% Kresylviolett nach Nissl.

2.2.4. Aufziehen der Schnitte.

Die Schnitte wurden schwimmend aus einer 0,01 M PB-Lösung aufgezogen. Als Objektträger verwendete man mit Gelatine (0,25%)-Chromalaun (0,0006%) beschichtete 76×26 mm Objektträger. Die Schnitte wurden an der Luft getrocknet und danach eingedeckt.

2.2.5. Entwässern und Eindecken.

Die Schnitte wurden in einer aufsteigender Alkoholreihe entwässert und nach einem 0,5 h Xylolbad mit DPX Mountant for histology (Fluka 44581) eingedeckt.

2.2.6. Auswertung.

Die Untersuchung der histologischen Präparate erfolgte am Lichtmikroskop. Diese wurden teilweise durch Hellfeldmikrofotographien (Leica DMRB) dokumentiert.

Das Sichtbarmachen der Terminalen von ³H-Leucine, nach autoradiographischem Nachweis, erfolgte unter Seitenbelichtung von einer Kaltlichtlampe.

Die Fotographien wurden mit einer CCD-Kamera (Hamamatsu Color Chilled 3CCD) aufgenommen und die digitalen Bilder mit entsprechender Software (Adobe Photoshop, CorelDRAW) weiterbearbeitet.

Für die Rekonstruktionen wurden von ausgesuchten Transversalschnitten Umrisszeichnungen mit einer Camera lucida (Bausch & Lomb) angefertigt. Das genauere Einzeichnen von Zellen bzw. Terminalen erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops.

3. Ergebnisse.

3.1. PMT-Neurone bei nichtmenschlichen Primaten.

Ziel dieser Arbeit war die Identifizierung und Charakterisierung von PMT-Neuronen, zunächst im Hirnstamm von Primaten, da deren Gehirn dem Gehirn des Menschen neuroanatomisch sehr nahe steht. Anschließend wurden die PMT-Neurone, die Informationen über Augenbewegungen zur Flocculus-Region leiten, auch im Menschen identifiziert. Folgender Ergebnissteil ist in 5 Abschnitte **3.1.1** bis **3.1.5** unterteilt.

Zu Beginn soll auf Tracerexperimente eingegangen werden, in denen die Zellkörper der PMT-Neurone anhand einer Injektion in den Flocculus bzw. ventralen Paraflocculus mit einem retrograden Tracer dargestellt wurden (Abschnitt **3.1.1**). Die in der Literatur oft unterschiedlich bezeichneten PMT-Neurone, wurden der Einfachheit halber mit einer neuen Nomenklatur, als *PMT-1* bis *PMT-6*, bezeichnet.

Da solche Tracerexperimente im Menschen nicht durchgeführt werden können, wurden Möglichkeiten versucht, die mit Tracern beim Makaken identifizierten Gruppen der PMT-Neurone, mit histologischen Markern darzustellen. Die Ergebnisse werden im Abschnitt (**3.1.2**) beschrieben.

Die histologischen Marker der PMT-Neurone wurden folgendermaßen abgesichert: Da behauptet wird, dass alle prämotorischen Regionen für Augenbewegungen auf die PMT-Neurone projizieren (Büttner-Ennever et al., 1989), wurde geprüft, ob auch die histologisch gekennzeichneten Zellen solche Afferenzen erhalten. Mit Hilfe je einer radioaktiven Leuzininjektion in zwei dieser prämotorischen Regionen, wurden markierte Terminalen über den in Frage stehenden PMT- Zellgruppen nachgewiesen (Abschnitt **3.1.3**).

Wegen der Verwechslung der wenig bekannten PMT-Neurone mit den gut bekannten serotoninergen „Rapheneuronen“ in der Literatur (McCrea et al., 1987a,b), wurde die Verteilung beider Populationen genauer untersucht (Abschnitt **3.1.4**). Im letzten

Abschnitt (3.1.5) wird auf die Zellmorphologie der PMT-Neurone ausführlicher eingegangen.

3.1.1. Identifizierung der PMT- Neurone im Makaken durch Injektion retrograder Tracer in die Flocculusregion.

Anhand einer ventralen Paraflocculusinjektion (Fall Ger, Leihgabe N. Gerrits, Rotterdam, ref: Glickstein et al., 1994) konnten retrograd markierte, potenzielle PMT-Neurone ausgewertet werden. Es wurde hierbei der Tracer WGA-HRP, eine Meerrettich-Peroxidase, welche an ein Weizenkeim-Agglutinin gekoppelt war, verwendet. Dieser kann mit TMB (Tetramethyl Benzidin) nachgewiesen werden. Die histologischen Schnitte wurden untersucht und deren Zellverteilung an der Mittellinie rekonstruiert. Die Rekonstruktion der Frontalschnitte zeigt **Abb.3.1**. Die retrograd markierten Zellen an der Mittellinie sind durch Symbole dargestellt. Markierte Neurone in anderen Hirnarealen wurden nicht berücksichtigt.

Wie auch Langer et al. (1985a) beschrieben, sind die PMT-Zellen von caudal nach rostral als ein Kontinuum anzusehen. An bestimmten Stellen jedoch kann man diese Zellen zu deutlichen Gruppen zusammengefasst finden (Langer et al., 1985a).

Da in der Literatur die Bezeichnungen dieser sechs Gruppen von Tierart zu Tierart unterschiedlich gebraucht wurden (Abschnitt 1.2.1), werden sie im Folgenden vereinfacht mit *PMT-1* (weitest caudale Gruppe) bis *PMT-6* (weiter rostrale Gruppe) bezeichnet (**Abb. 3.2**).

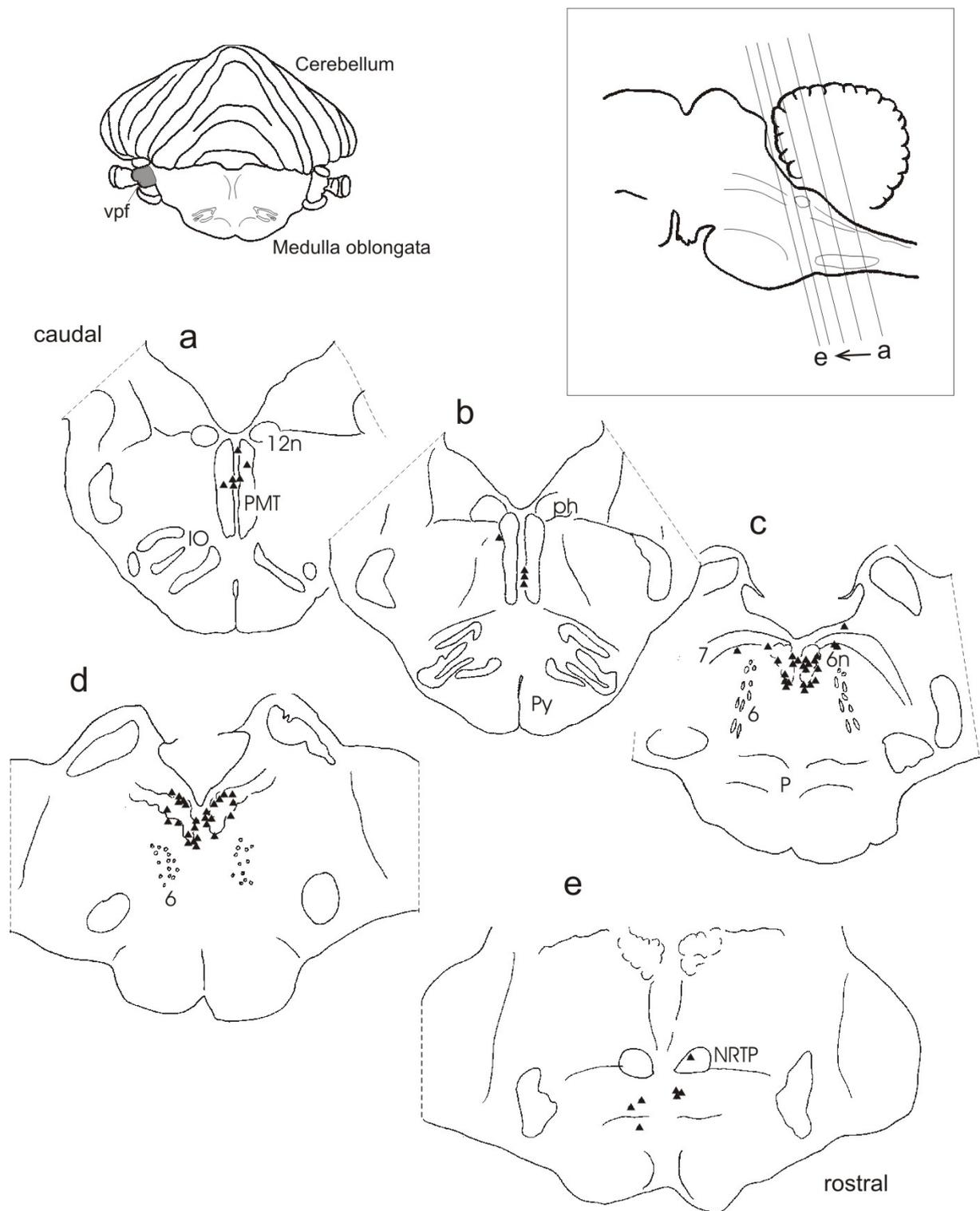


Abb.3.1: Schema einer ventrale Paraflocculusinjektion (vpf) im Fall Ger (Glickstein et al., 1994) Die Rekonstruktionen der Frontalschnitte zeigen die nach einer TMB-Reaktion retrograd markierten Zellen an der Mittellinie an. Zellen in anderen Hirnarealen wurden nicht eingezeichnet. Jedes Dreieck stellt eine Zelle dar. Die Schnittdicke betrug 50 μ . Zwecks Übersicht wurden Zellen von zwei Nachbarschnitten in einem Bild dargestellt. Oben links ist der Ort der Injektion dargestellt. Oben rechts: Schnittebenen der Bilder a-e. Abkürzungen siehe Anhang.

3.1.2. Identifizierung der PMT-Neurone im Makaken durch histologische Marker.

Eigene Beobachtungen zeigten, dass in Gruppen *PMT-1* bis *PMT-6* mit einigen histologischen Markern das Neuropil stark anzufärben war, mit anderen Markern nicht. Es wurden eine Reihe von histologischen Färbungen auf die PMT-Gruppen getestet, um die besten Marker herauszufinden. Es zeigte sich, dass die caudalen Gruppen bis zum Abduzenskern mit den verwendeten Markern am sichersten zu identifizieren waren. Im folgendem werden die sechs Gruppen von caudal nach rostral beschrieben.

3.1.2.1. Auswahl der geeigneten Marker.

Für diese Untersuchung wurden folgende Marker getestet:

- Enzymatischer Nachweis von Acetylcholinesterase (AChE)
- Enzymatischer Nachweis von Cytochrom-c-Oxidase (COE)
- Immunhistochemischer Nachweis von Cytochrom-c-Oxidase (CO)
- Immunhistochemischer Nachweis von Calretinin (CR)
- Immunhistochemischer Nachweis von Calbindin (CB)
- Immunhistochemischer Nachweis von Parvalbumin (PAV)
- Immunhistochemischer Nachweis von Serotonin (5-HT)

Enzymatischer Nachweis von Acetylcholinesterase (AChE) bzw. Cytochrom-c-Oxidase (COE):

Aus der Untersuchung der sechs Regionen potenzieller PMT-Neurone (*PMT-1* bis *PMT-6*), sind als geeignete Marker AChE und COE (**Abb.1.1**) zu nennen. Diese stellten das für diese Gruppen auffällige Neuropil sehr gut dar (**Abb.3.3,a-Abb.3.7,a**). Jedoch konnten nicht immer Einzelzellen dargestellt werden.

Cytochrom-c-Oxidase (CO):

Die Zellen selber konnten mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers (AK) gegen CO besser dargestellt werden. Dieser reagierte immunpositiv auf viele potenzielle PMT-Zellgruppen (**Abb.3.3,b-Abb.3.7,b**).

Calretinin (CR):

Mit Calretinin konnten die PMT-Neurone weniger deutlich dargestellt werden als mit AchE und CO (**Abb. 3.3,c - Abb.3.7,c**).

Calbindin (CB):

Calbindin war zur Darstellung der PMT-Neurone ungeeignet. Es konnte die Zellmorphologie einiger anderer, nicht putativer PMT-Zellgruppen, gut dargestellt werden (**Abb.3.4,d – Abb.3.7,d**). Calbindin stellte auch Zellen oberhalb, aber nicht innerhalb, des *Nucleus supragenualis* (sg) dar (**Abb.3.5,d** Pfeil). In ihrer Morphologie waren alle CB positiven Zellen groß, polygonal und multipolar, nur die an der Mittellinie gelegenen waren eher fusiform. Die Intensität der Färbung war nicht einheitlich, manchmal waren die Neurone tiefbraun, manchmal nur schwach gefärbt.

Parvalbumin (PAV, ohne Abbildung):

Parvalbumin war zur Darstellung der PMT-Neurone ungeeignet. Im Vergleich zu angrenzenden Gebieten, wiesen die PMT-Neurone hierbei nur eine schwache Intensität auf.

Serotonin (5-HT):

Zur Orientierung an den Raphekernen bezog man sich auf Taber et al. (1960).

Serotonin (5-HT) sollte keine Neurone der putativen PMT-Gruppen darstellen (Büttner-Ennever, 1992; Büttner-Ennever und Horn, 1996). Deshalb war der Nachweis von 5-HT geeignet, Zellen mit überwiegend fusiformer Morphologie, was auf Zellen des *Nucleus raphes obscurus* schließen lässt (**Abb.3.3e**), von den *PMT-1* Zellen an der Raphe zu unterscheiden. In der *PMT-2* Region waren nur wenige Zellen des *Nucleus raphes obscurus* markiert. Die weiter ventral gelegenen Zellen des *Nucleus raphes pallidus* sind in **Abb.3.4e** nicht gezeigt. Ebenso sind die ventral zum *Nucleus abducens* gelegenen, serotoninergen Zellen des *Nucleus raphes magnus* in **Abb.3.5e** nicht dargestellt. Deren Verteilung wird in Abschnitt **3.1.4** näher behandelt. Der Antikörper gegen Serotonin stellte des Weiteren Zellen in den rostralen Raphekernen dar, so im *Nucleus raphes dorsalis*. Die serotoninergen Zellen des *Nucleus centralis superior* sowie seitlich des MLF konnten ebenso dargestellt werden. Diese sind nicht klar von der *PMT-5* Gruppe zu unterscheiden

(**Abb. 3.6,e**). Die serotoninergeren Zellen in **Abb.3.7e** dürften ihrer Lage nach zum *Nucleus raphes pontis* gehören.

Zusammenfassend zeigten sich die enzymatischen Nachweise von AchE und COE, sowie der immunhistochemische Nachweis von CO als am besten geeignete Marker für alle putativen PMT-Neurone bzw. -Gruppen. Zur Identifizierung der einzelnen Gruppen eignete sich AchE am besten, da hier auch das Neuropil der PMT-Neurone deutlicher dargestellt werden konnte. Für die bessere Darstellung der Zellmorphologie war der immunhistologische Nachweis von CO geeigneter.

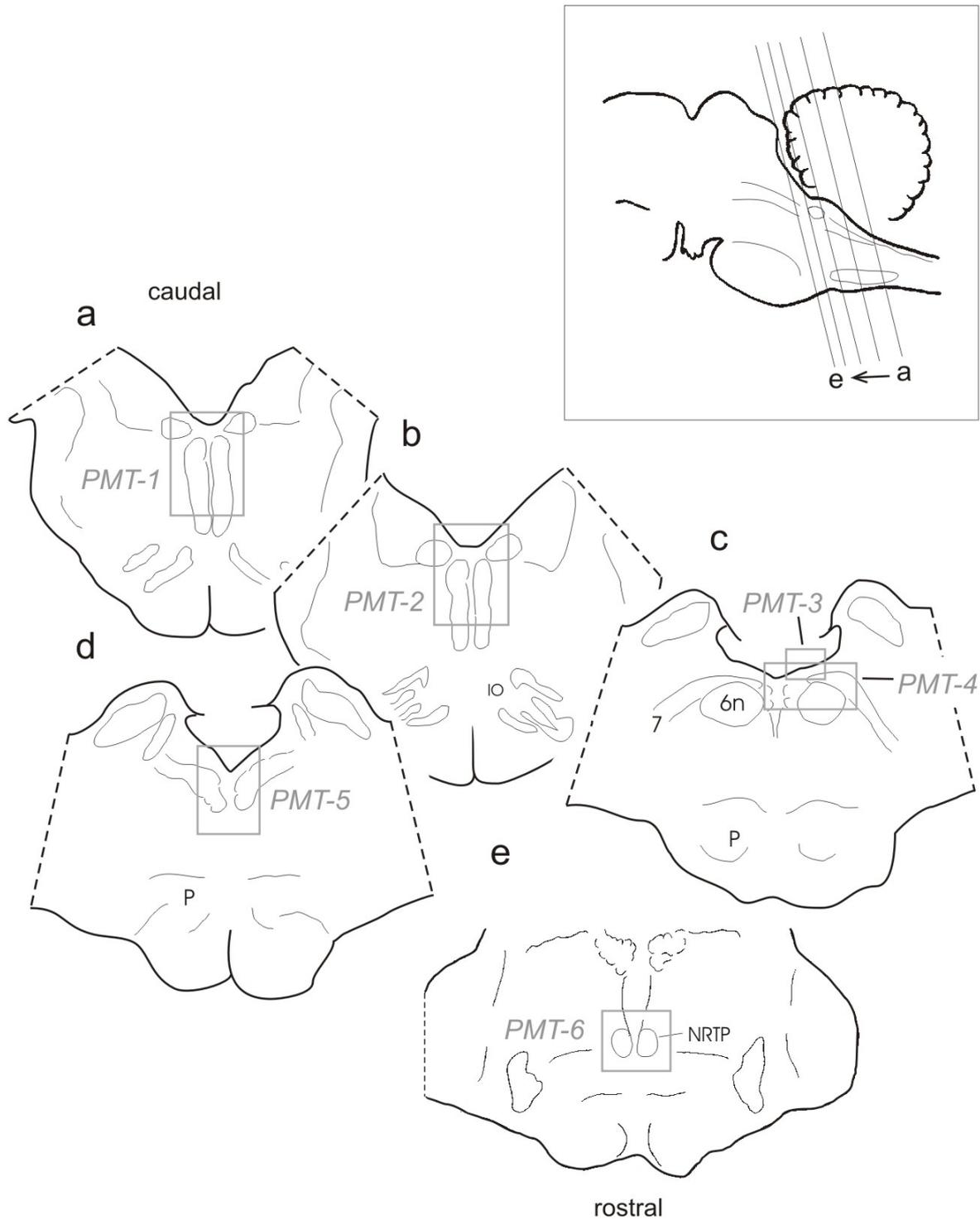


Abb.3.2: Vereinfachte Bezeichnung der sechs von Langer et al.,1985a beschriebenen und definierten PMT-Gruppen, welche an der Mittellinie verteilt als lose Gruppen den Hirnstamm von der Medulla bis zum Pons durchziehen. Die grauen Kästen zeigen den Ausschnitt der Frontalschnitte in den folgenden Abbildungen (Abb.3.3 - Abb.3.7) an. *PMT-3* u. *PMT-4* werden zusammen in einem Bild gezeigt. Abkürzungen siehe Anhang.

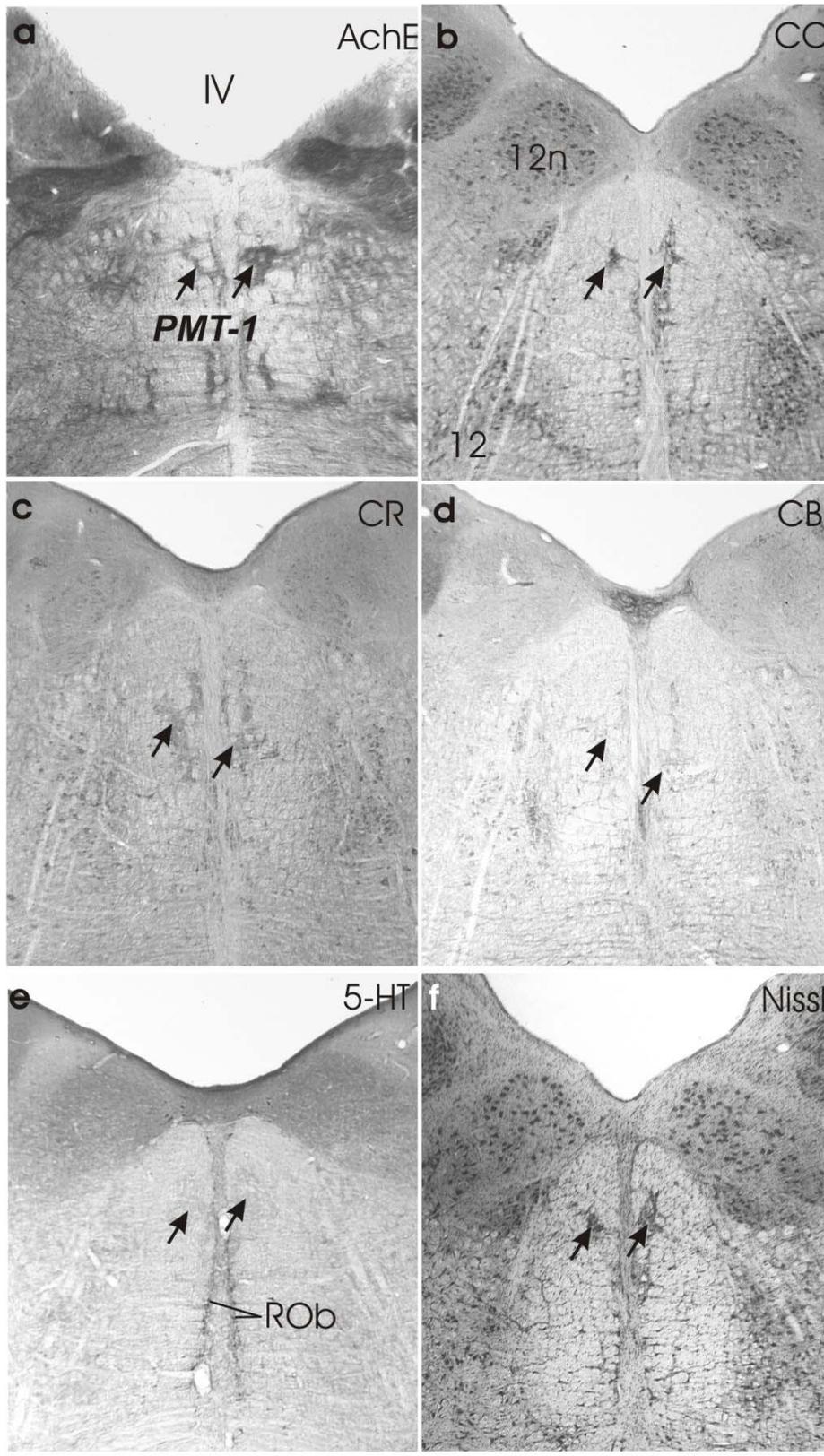


Abb.3.3: Hellfeldaufnahmen von Frontalschnitten in der *PMT-1* Ebene mit unterschiedlichen Markern: AchE, CO, CR, CB, 5-HT und Nissl. (a Fall S31; b-d, f Fall PZ99; e Fall P2-01). In f ist zum Vergleich eine Nissl-Färbung dargestellt. Die Pfeile verweisen auf Zellgruppen an der Mittellinie. Der *Nucleus raphes obscurus* (ROb) enthielt deutlich sichtbare, immunpositive 5-HT (serotoninerge) Zellen. AchE, CO stellten die *PMT-1* Zellgruppen am deutlichsten dar. Maßstab: a-f = 1mm. Abkürzungen siehe Anhang.

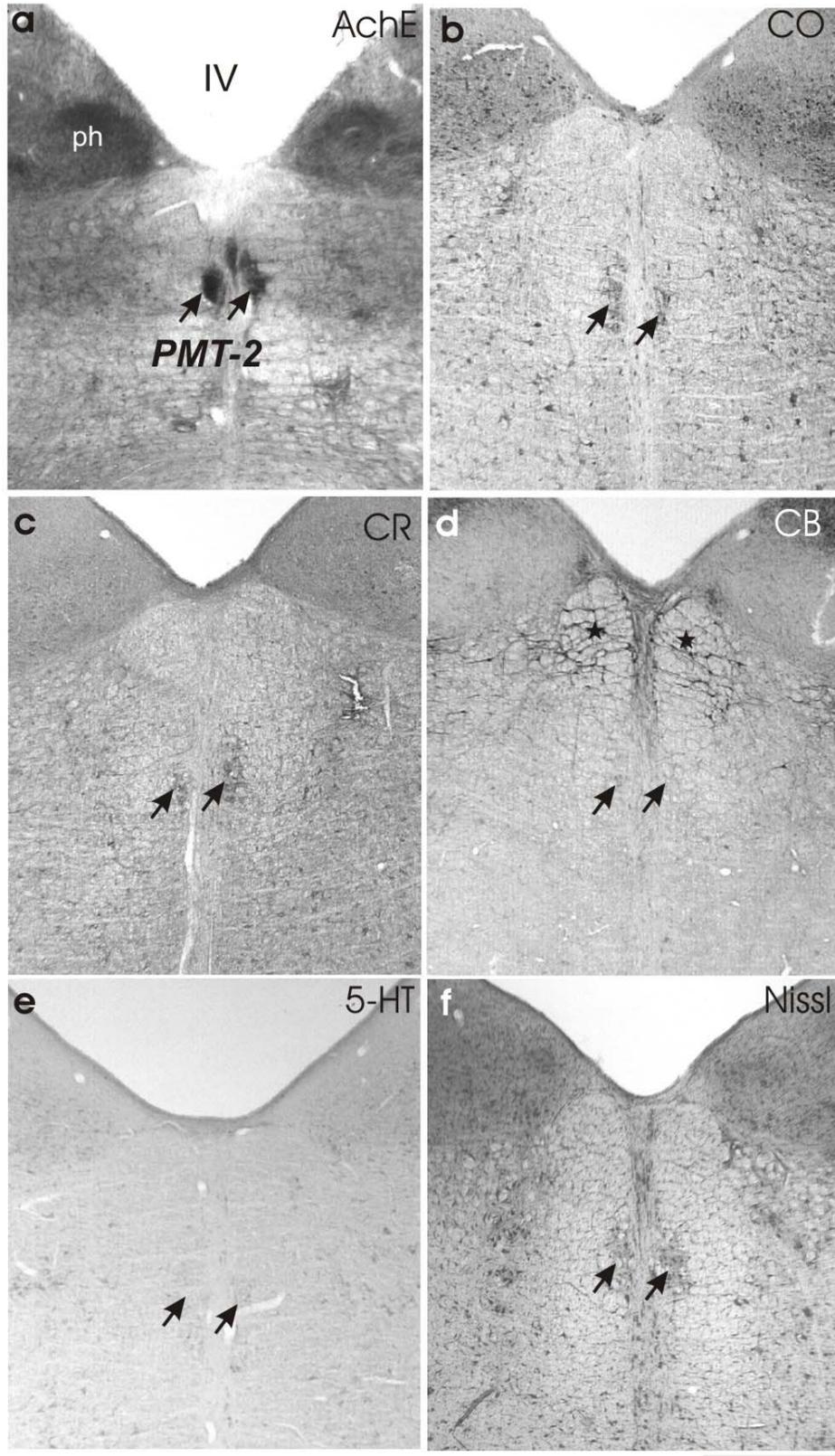


Abb.3.4: Hellfeldaufnahmen von Frontalschnitten in der *PMT-2* Ebene mit unterschiedlichen Markern: AchE, CO, CR, CB, 5-HT und Nissl. (a Fall S31; b-d, f Fall PZ99; e Fall P2-01). In f ist zum Vergleich eine Nissl-Färbung dargestellt. Die Pfeile verweisen auf die *PMT-2* Gruppe an der Mittellinie. AchE, CO stellten diese Zellgruppen am deutlichsten dar. Die Sterne in (d) verweisen auf immunpositive CB Zellen, welche nicht zu den *PMT-2* Zellen gerechnet werden konnten. In e waren serotonerge Zellen weiter ventral gelegen. Die *PMT-2* Zellen konnten mit 5-HT nicht dargestellt werden. Maßstab: a-f = 1mm. Abkürzungen siehe Anhang.

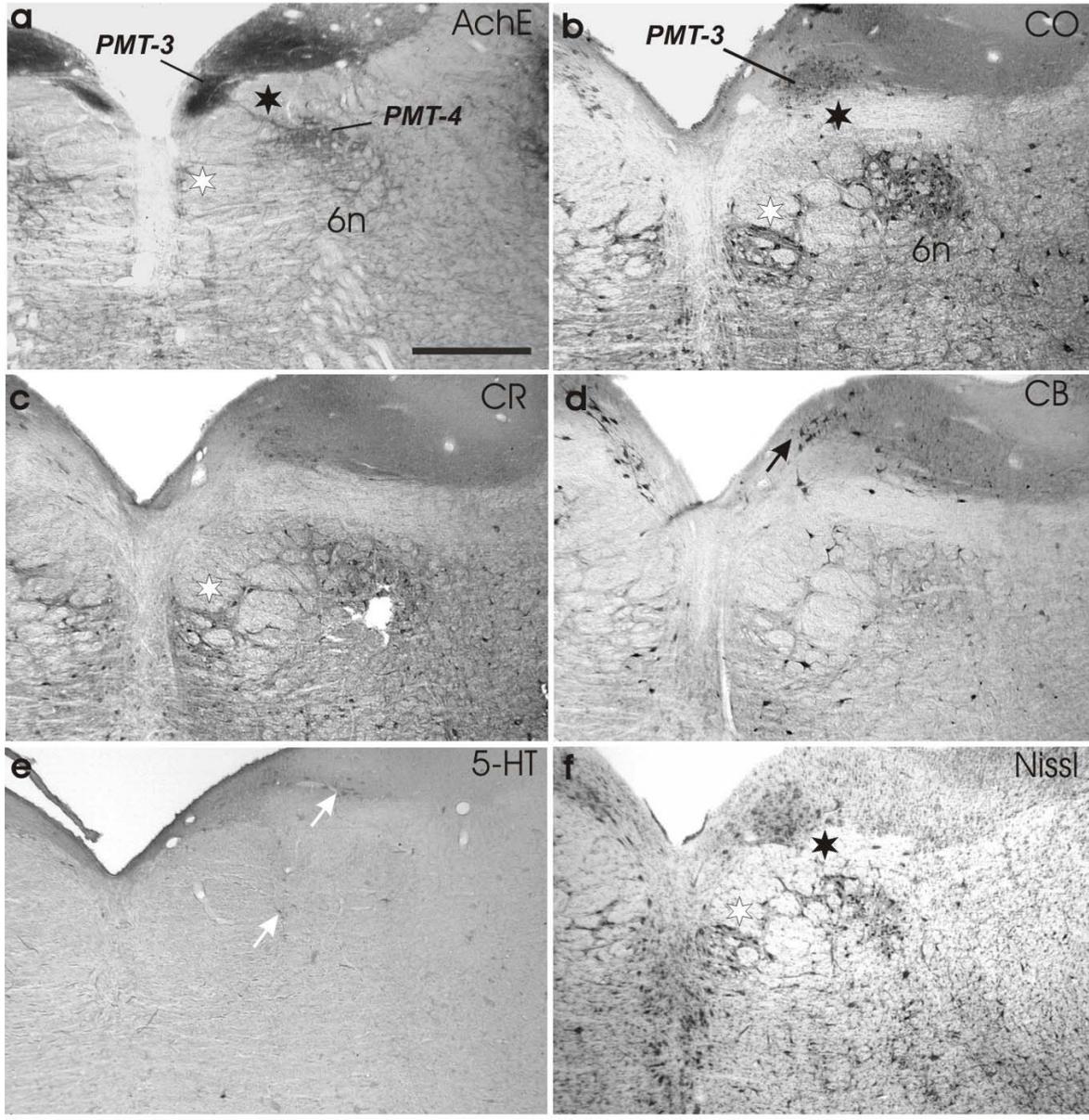


Abb.3.5: Hellfeldaufnahmen von Frontalschnitten in der *PMT-3* und *-4* Ebene mit unterschiedlichen Markern: AchE, CO, CR, CB, 5-HT und Nissl. (**a** Fall S31; **b-d,f** Fall PZ99; **e** Fall P2-01). In **f** ist zum Vergleich eine Nissl-Färbung dargestellt. Der schwarze Stern verweist auf Zellbrücken zwischen den *Nucleus supragenualis* (sg) und dem *Nucleus abducens* (6n). Der weiße Stern verweist auf Zellbrücken zwischen der Mittellinie und dem 6n. Der Pfeil zeigt auf Zellen um den sg. AchE, CO stellten diese Zellgruppen am besten dar. Die weißen Pfeile in **e** zeigen immunpositive 5-HT Zellen an. Ventral im *Nucleus raphes magnus* (nicht gezeigt), waren mehrere 5-HT Zellen zu finden. Maßstab: **a-f** = 1mm. Abkürzungen siehe Anhang.

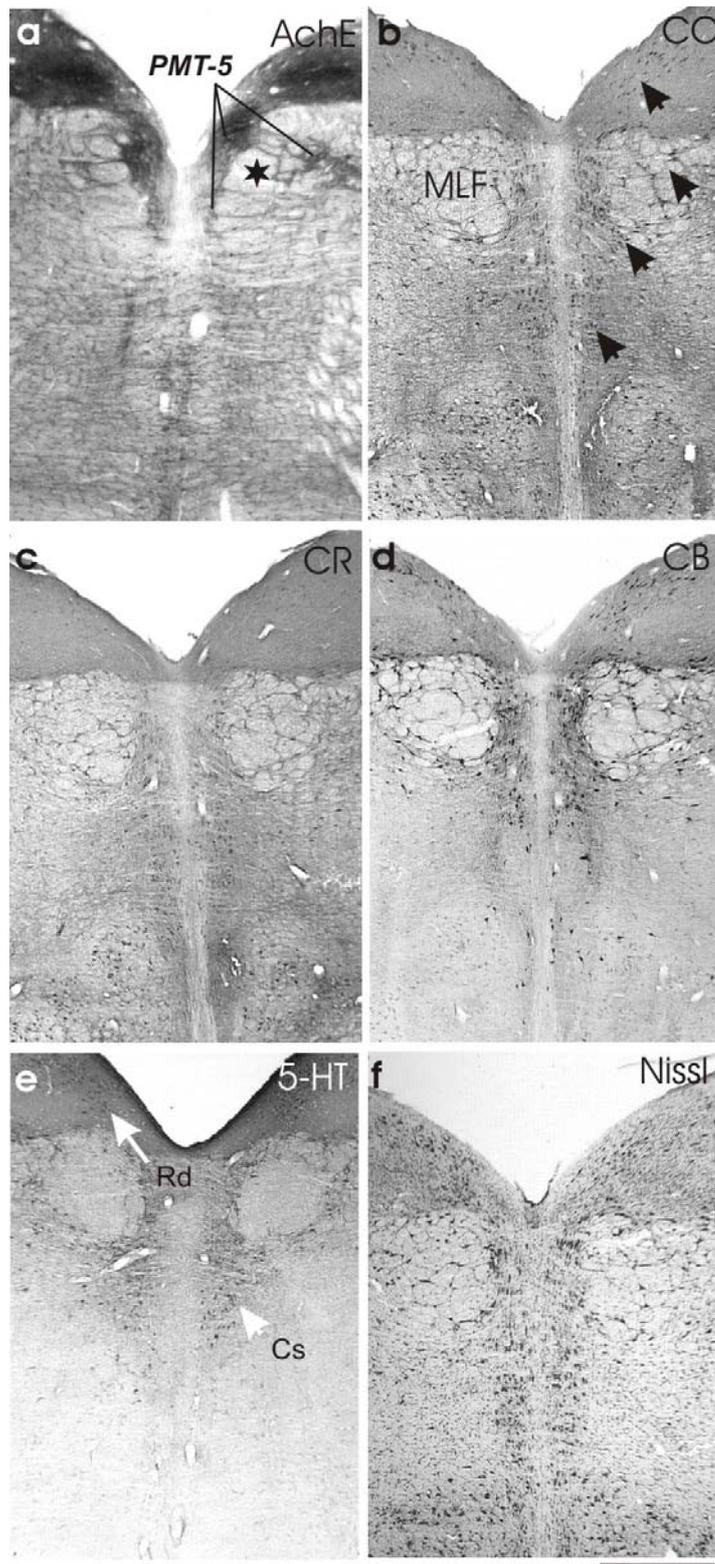


Abb.3.6: Hellfeldaufnahmen von Frontalschnitten in der *PMT-5* Ebene mit unterschiedlichen Markern: AchE, CO, CR, CB, 5-HT und Nissl. (**a** Fall S31; **b-d,f** Fall PZ99; **e** Fall P2-01). In **f** ist zum Vergleich eine Nissl-Färbung dargestellt. Die schwarzen Pfeile verweisen auf putative PMT-Neurone. Der Stern verweist auf Zellbrücken. Die weißen Pfeile verweisen auf serotoninerge Zellen des *Nucleus raphes dorsalis* (Rd). Die serotoninergeren Zellen an der Mittellinie gehören zum *Nucleus centralis superior* (Cs). Maßstab: **a-f** = 1mm. Abkürzungen siehe Anhang.

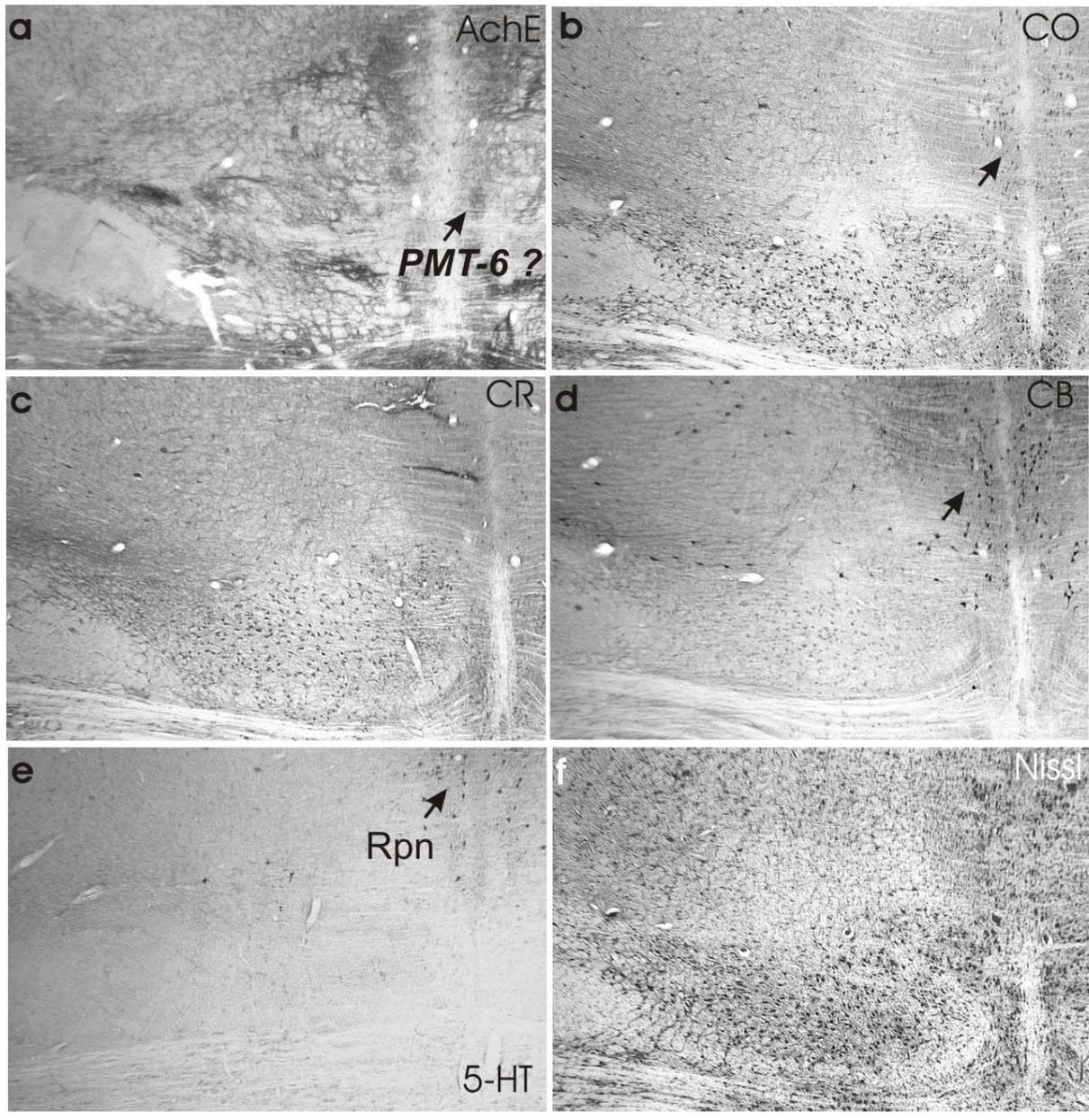


Abb.3.7: Hellfeldaufnahmen von Frontalschnitten in der *PMT-6* Ebene mit unterschiedlichen Markern: AchE, CO, CR, CB, 5-HT und Nissl. (**a** Fall *S31*; **b-d,f** Fall *PZ99*; **e** Fall *P2-01*). In **f** ist zum Vergleich eine Nissl-Färbung dargestellt. Die Pfeile verweisen auf Zellen an der Raphe. Das Neuropil war an der Mittellinie deutlich schwächer, als in benachbarten Gegenden (**a** Pfeil). Die serotonergen Zellen gehören der Lage nach zum *Nucleus raphes pontis* (Rpn). Maßstab: **a-f** = 1mm. Abkürzungen siehe Anhang.

3.1.3. Vergleich der Verteilung von AchE Markierung putativer PMT-Neurone und Terminalen aus prämotorischen Kerngebieten.

Es wurden alle sechs Gruppen, welche mit Hilfe von AchE dargestellt werden konnten, mit der Verteilung der Afferenzen aus prämotorischen Kerngebieten verglichen. Hierfür wurden die ³H-Leuzin-Injektionen (Fälle *B46* und *Z21*) herangezogen. Die Injektionsorte sind im Abschnitt **2.1.1** dargestellt. Der Fall *B46* hatte eine Injektion in den interstitiellen *Nucleus Cajal* (iC) bzw. rostralen interstitiellen *Nucleus des Fasciculus longitudinalis medialis* (riMLF) erhalten. Dieses ist ein prämotorisches Gebiet für vertikale Augenbewegungen. Der Fall *Z21* hatte eine Injektion im *Nucleus abducens* (6n) und möglicherweise in den *Nucleus praepositus hypoglossi* (ph). Im 6n projizieren internucleäre Neurone zu den PMT-Gruppen (**Abb.1.8**). Der ph ist ein Integrationsgebiet für horizontale Augenbewegungen. Die Schnitte wurden ausgewertet und an Hand von Strichzeichnungen dokumentiert, um sie so mit den histologischen Färbungen vergleichen zu können.

Hierbei war im Allgemeinen festzustellen, dass im Fall *B46* die Terminalen mehr auf der ipsilateralen Seite zu finden waren. Im Fall *Z21* jedoch auf der kontralateralen Seite zum Injektionsort.

3.1.3.1. Vergleich in *PMT-1*.

Von Langer et al. (1985a) wurden Zellpopulationen in der Medulla beschrieben, die im mittleren Teil der *Formatio reticularis* liegen und im paramedianen Trakt (PMT) eingebettet sind bzw. seitlich dazu liegen (**Abb.3.8a**). Da diese einen mehr oder weniger kompakten Kern bilden, bezeichneten Langer et al.(1985a) diese Gruppe als *Nucleus interfascicularis* (ifm). Dieser variiert von Individuum zu Individuum, jedoch kann eine dorsale (*d*), wie eine ventrale (*v*) Untergruppe unterschieden werden (**Abb.3.8a**). Langer et al.(1985a) teilen diese als zwei eigenständige Gruppen ein. Da aber diese sehr nahe bei einander liegen, werden sie hier als *PMT-1* Gruppe zusammengefasst. Diese Zellgruppe liegt zwischen *Nucleus hypoglossus* und *Nucleus praepositus hypoglossi* verteilt.

Mit Hilfe der Enzymaktivität von AchE konnte das Neuropil der *PMT-1* Zellgruppen gut dargestellt werden (**Abb.3.8,a1**). Diese Zellen waren über „Zellbrücken“

(Neuropil) mit den weiter lateral liegenden Zellen verbunden (**Abb.3.8a,a1**). Die Analyse der Tracerfälle zeigte, dass die *PMT-1* Gruppe Terminalen aus dem iC bzw. riMLF erhielt (**Abb. 3.8b**), nur sehr schwach jedoch vom 6n bzw. ph.

3.1.3.2. Vergleich in *PMT-2*.

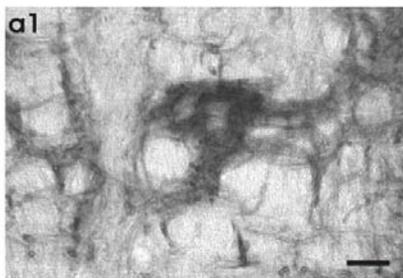
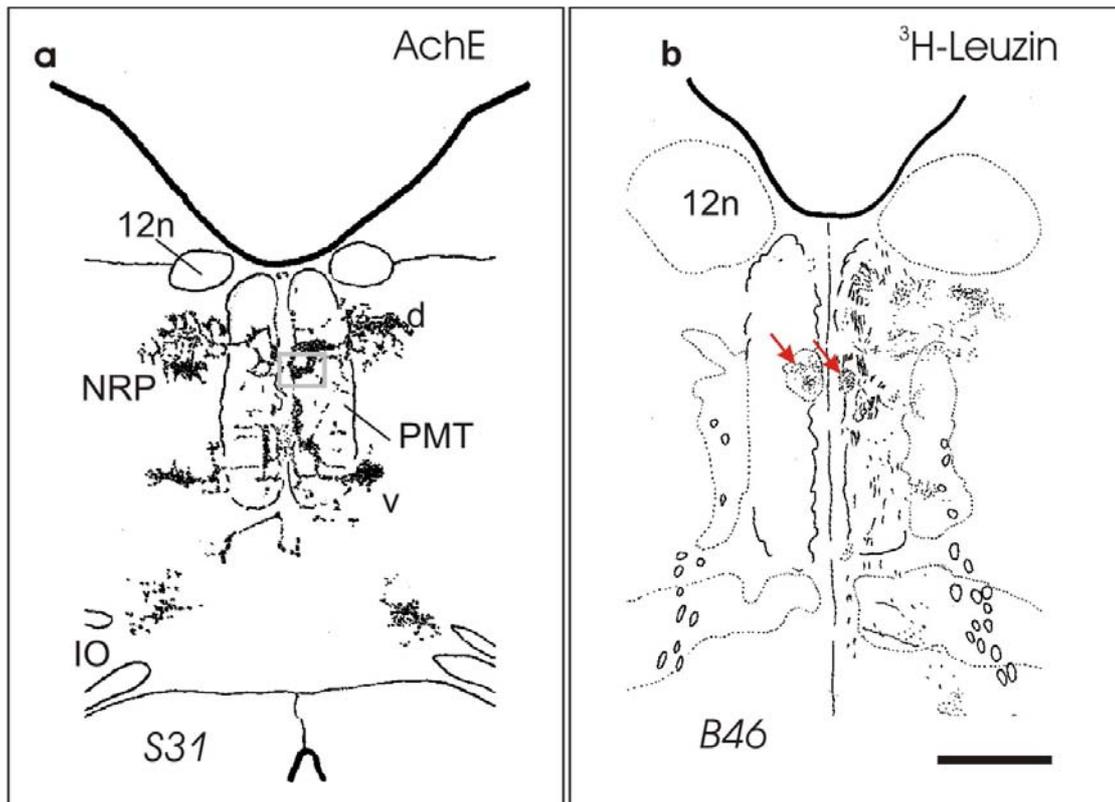
In Höhe des *Nucleus praepositus hypoglossi*, zeigte sich eine zweite Gruppe (*PMT-2*) mit hoher Enzymaktivität von AchE und starker Neuropilanfärbung, die etwa in der Mitte des *Nucleus raphes obscurus* (ROb) lagen und im MLF eingebettet waren (**Abb.3.9a,a1**). Diese kompakte Zellgruppe, welche nach lateral mit dem *Nucleus reticularis paragigantocellularis dorsalis* (NRPd) verbunden ist, enthielt ebenso Terminalen aus der prämotorischen Region für vertikale Augenbewegungen (riMLF, iC) (**Abb.3.9b**). Aus prämotorischen Gebieten für die horizontalen Augenbewegungen (6n, ph) waren auch hier keine Terminalen zu finden. Langer et al.(1985a) bezeichneten diese Zellgruppe als *Nucleus paraparaphales* (nrpr).

3.1.3.3. Vergleich in *PMT-3* und *PMT-4*.

Eine weitere klar zu unterscheidende Gruppe, *PMT-3*, lag in einem Kerngebiet dorsal zum Fazialisnerven, der von Langer et al. (1985a) als *Nucleus supragenualis* (sg) bezeichnet wurde. Der enzymatische Nachweis von AchE zeigte wiederum eine starke Neuropilanfärbung (**Abb.3.10a,a1**). Auffällig war hierbei, dass dieses Neuropil „Brücken“ zum dorsalen Teil des *Nucleus abducens* (6n) bildete (**Abb.3.10,a1** Stern). Diese als „dorsale Kappe“ des 6n bezeichnete Region hielten Langer et al. (1985a) für eine weitere *PMT*-Gruppe und wird hier als *PMT-4a* bezeichnet. Dieser dorsale Teil des 6n bildet wiederum „Brücken“ mit Zellgruppen an der Mittellinie (**Abb.3.10,a2** Stern). Terminalen aus dem riMLF bzw. iC waren an der *PMT-3* Gruppe häufiger zu finden als aus 6n (**Abb.3.10b**). Dagegen erhielt die Zellgruppe an der Mittellinie zwischen den Abduzuskernen massive Eingänge aus 6n bzw. ph (**Abb.3.10c**). Diese Zellgruppe wird als *PMT-4b* bezeichnet, da diese prämotorische Eingänge aus einer Region für horizontale Augenbewegungen erhielt und sich somit von der *PMT-4a* Gruppe unterschied. Die Terminalen aus riMLF bzw. iC terminierten eher an der

„dorsalen Kappe“ (*PMT-4a*), wohingegen jene aus 6n im gesamten Abduzenskern zu finden waren (in **Abb.3.10c** graue Fläche).

PMT-1



S31 AchE

Abb.3.8: Frontalschnitte durch die *Medulla oblongata*, um die Zellgruppe *PMT-1* im Makaken darzustellen. (a) zeigt eine Rekonstruktion des Neuropils nach einem enzymatischen AchE-Nachweis. Der Übersicht halber wurde das Neuropil nur an der Mittellinie und lateral davon eingezeichnet. (a1) zeigt einen Ausschnitt des Neuropils im MLF als Hellfeldaufnahme von (a) (graues Kästchen), um die Intensität der Färbung bei dieser Gruppe zu verdeutlichen. In (b) ist schematisch die Silberkörnerverteilung an der Mittellinie nach einer ³H-Leuzin-Injektion im rostralen Mesenzephalon (riMLF, iC) und anschließender Autoradiographie zu sehen. Die Pfeile verweisen auf die zu vergleichenden Regionen. Balken a, b=1 mm a1=100µ. Abkürzungen siehe Anhang.

PMT-2

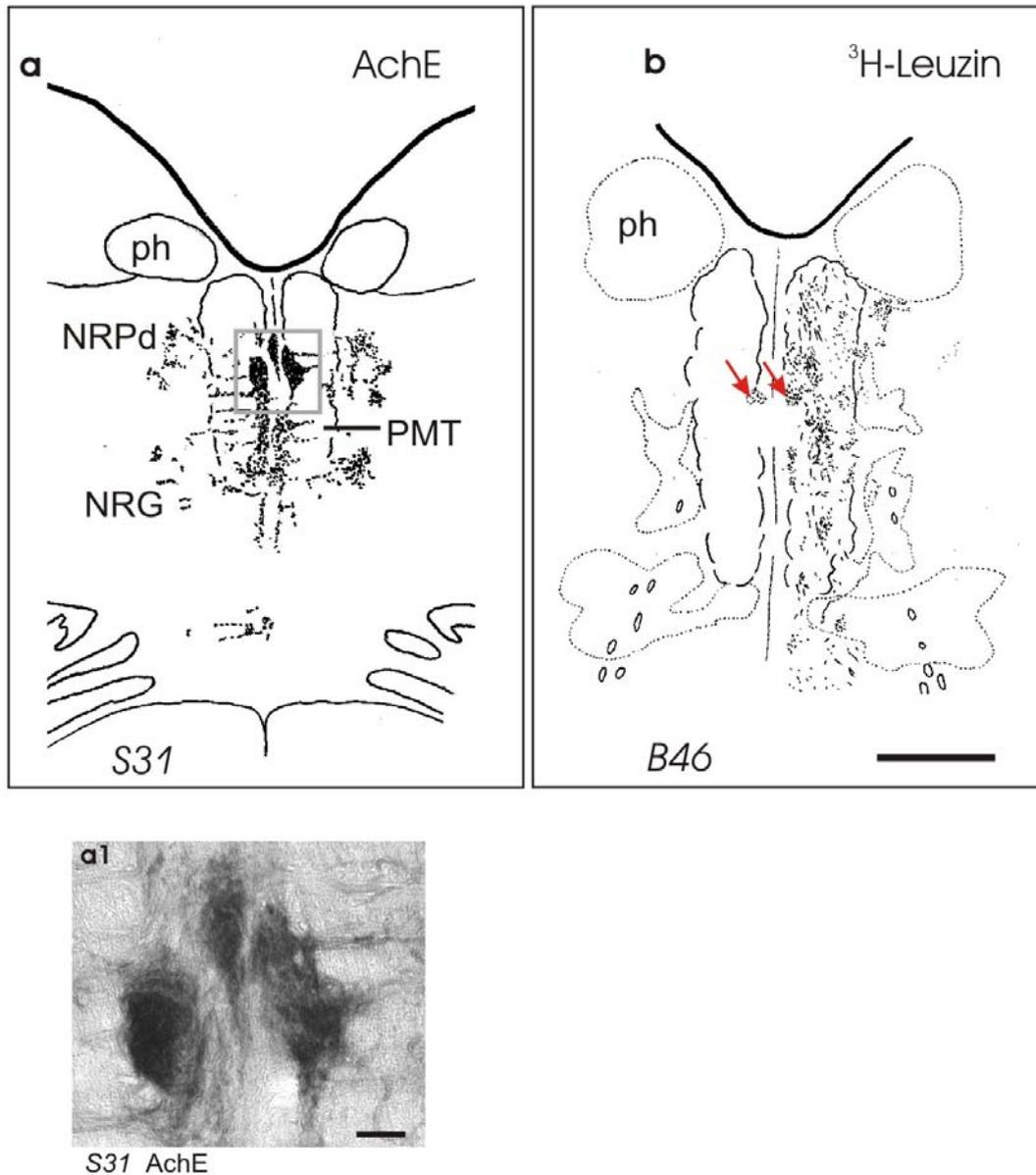


Abb.3.9: Frontalschnitte durch die *Medulla oblongata*, um die Zellgruppe *PMT-2* im Makaken darzustellen. (a) zeigt eine Rekonstruktion des Neuropils nach einem enzymatischen AchE-Nachweis. Der Übersicht halber wurde das Neuropil nur an der Mittellinie und lateral davon eingezeichnet. (a1) zeigt einen Ausschnitt des Neuropils im MLF als Hellfeldaufnahme von (a) (graues Kästchen), um die Intensität der Färbung bei dieser Gruppe zu verdeutlichen. In (b) ist schematisch die Silberkörnerverteilung an der Mittellinie nach einer ³H-Leuzin-Injektion im rostralen Mesenzephalon (riMLF, iC) und anschließender Autoradiographie zu sehen. Die Pfeile verweisen auf die zu vergleichenden Regionen. Balken a, b=1 mm c=100 μ . Abkürzungen siehe Anhang.

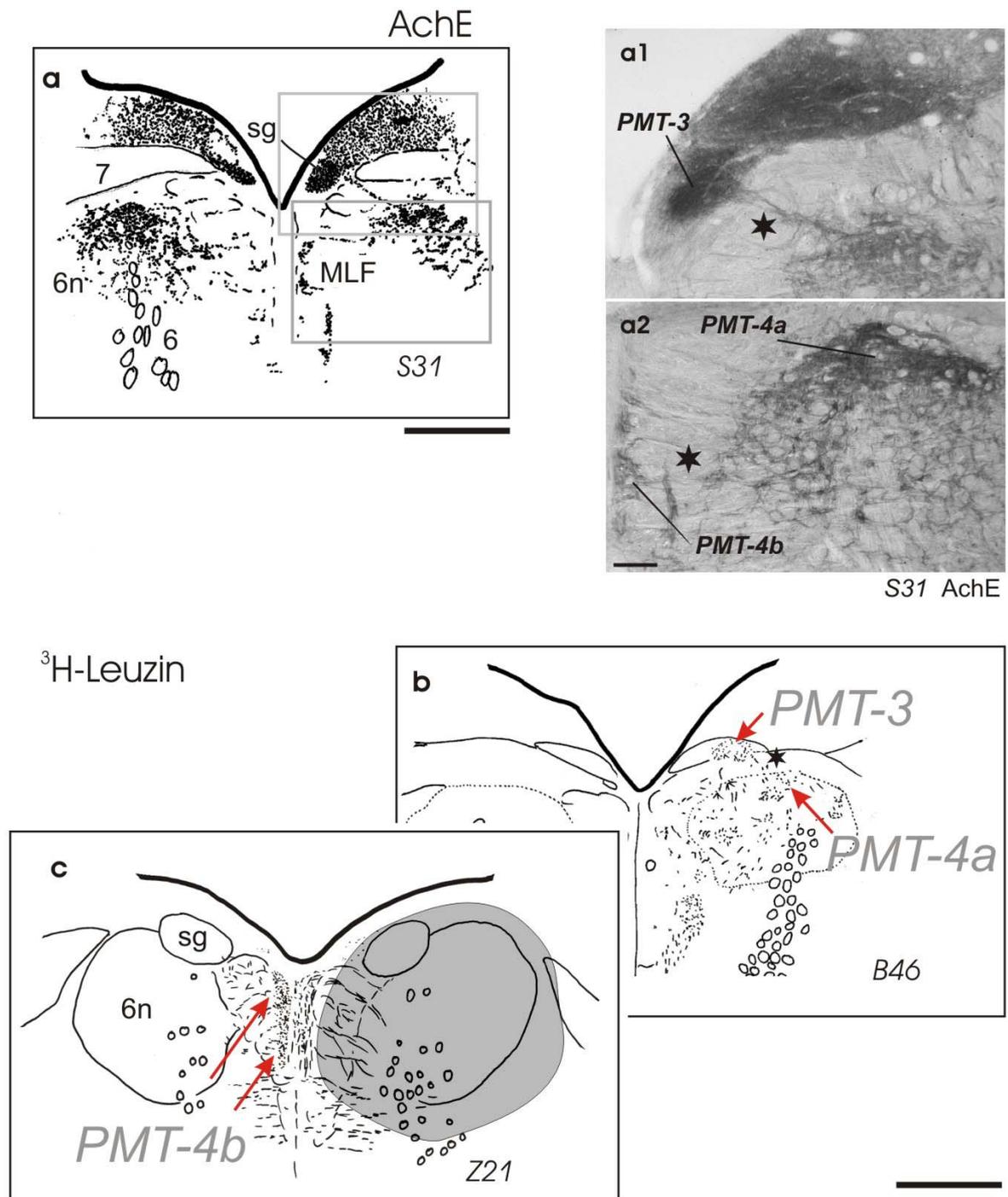


Abb.3.10: Frontalschnitte durch den *Nucleus abducens*, um die Zellgruppen *PMT-3*, *PMT-4a* und *PMT-4b* im Makaken darzustellen. (a) zeigt eine Rekonstruktion des Neuropils nach einem enzymatischen AchE-Nachweis. (b) und (c) zeigen die Silberkörnerverteilung (Terminalen) an der Mittellinie aus Integrationsgebieten für vertikale (b) und horizontale Augenbewegungen (c). Die Pfeile verweisen auf die zu vergleichenden Regionen. Die Sterne verweisen auf Zellbrücken. Im rechten 6n war die Dichte an Silberkörnern sehr hoch (durch graue Fläche unterlegt). (a1) u. (a2) zeigen einen Ausschnitt des Neuropils als Hellfeldaufnahme von (a) (graue Kästen). Balken a-c=1 mm a1,a2 =100µ. Abkürzungen siehe Anhang.

3.1.3.4. Vergleich in *PMT-5*.

Der von Langer et al. (1985) als *Nucleus interfascicularis* der Präabduzensregion bezeichnete Kern (ifpa) bildet mit der dorsalen Kappe des *Nucleus abducens* ein Kontinuum. An dieser Gruppe konnten vor allem Eingänge aus riMLF bzw. iC nachgewiesen werden (**Abb.3.11b**). Diese Gruppe wurde mit *PMT-5a* bezeichnet. Hier wurden zwei weitere Gruppen gefunden. Eine unterhalb des MLF, die Eingänge aus prämotorischen Kernen für vertikale Augenbewegungen (iC, riMLF) erhielt und mit *PMT-5c* bezeichnet wurde (**Abb.3.11b,a2** Pfeile). Die zweite Gruppe lag unterhalb des vierten Ventrikels nahe des *Nucleus raphes dorsalis* (*PMT-5b*). Es terminierten dort wenige Fasern aus 6n (**Abb.3.11c**). Alle Gruppen, *PMT-5a,b* und *c* konnten mit AchE abgegrenzt werden (**Abb.3.11a,a1,a2**).

3.1.3.5. Vergleich in *PMT-6*.

Die weitest rostrale Gruppe putativer PMT-Zellen bezeichneten Langer et al. (1985a) als pontine Gruppe an der dorsalen Mittellinie. Langer et al. unterscheiden hierbei vier Subgruppen, wobei der *Nucleus reticularis tegmenti pontis* (NRTP) eine davon ist. Diese Gruppen waren am schwersten abzugrenzen, da die pontine Region generell eine starke Neuropilfärbung aufwies (**Abb.3.12a**). An der Mittellinie waren ausschließlich Terminalen von 6n zu finden (**Abb.3.12c**). Hier war das Neuropil schwächer als in den übrigen Regionen (**Abb.3.12a1**). Wegen der Terminalen aus prämotorischen Kernen und weil diese sehr nahe an der Mittellinie lagen, wurde der Bereich mit *PMT-6* bezeichnet. Unterhalb des MLF waren Terminalen aus riMLF bzw. iC zu finden (**Abb.3.12b**). Außer den Zellgruppen an der Mittellinie beschrieb Langer et al. (1985a) noch Zellgruppen lateral davon. An diesen terminierten Axone aus riMLF bzw. iC. Hierbei ist es jedoch nicht sicher, ob es sich bei dieser weit lateral gelegene Gruppe, um Neurone handelt, welche mit Augenbewegungen korrelieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass alle PMT-Gruppen (außer *PMT-6*) mit Hilfe von AchE dargestellt, und ihre Rolle bei der Augenbewegung durch den Vergleich der Afferenzen aus prämotorischen Kerngebieten (iC, riMLF bzw. 6n), gezeigt werden konnte. Es konnte weiter gezeigt werden, dass die Gruppen *PMT-1*, *PMT-2*, *PMT-3*, *PMT-4a*, *PMT-5a* sowie *PMT-5c* den vertikalen Augenbewegungen zuzuordnen sind. Dagegen sind den Gruppen *PMT-4b* und *PMT-5b* horizontale Augenbewegungen zuzuordnen.

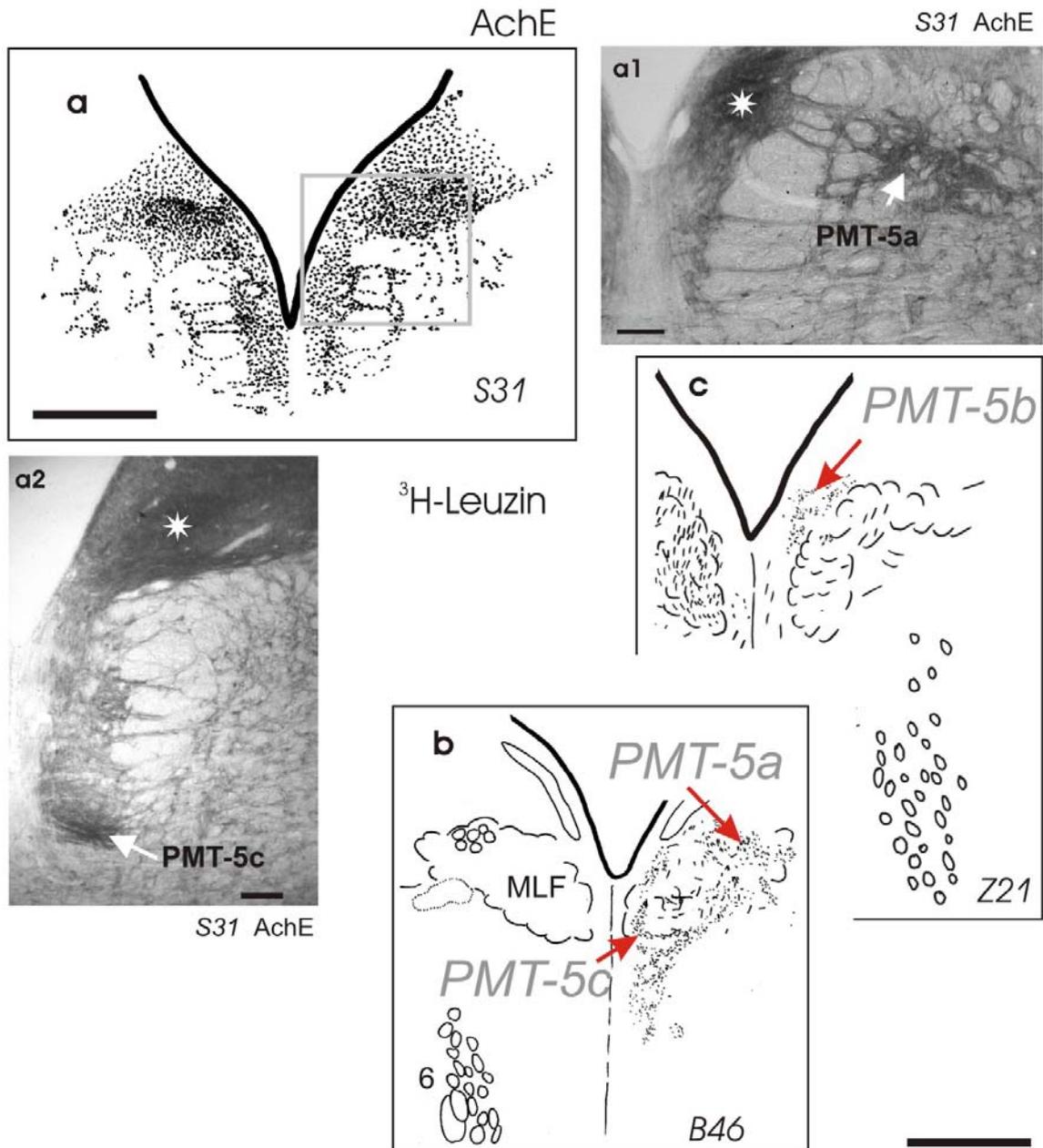


Abb.3.11: Frontalschnitte durch die caudale Pons, um die Zellgruppen *PMT-5a*, *PMT-5b* und *PMT-5c* im Makaken darzustellen. (a) zeigt eine Rekonstruktion des Neuropils nach einem enzymatischen AchE-Nachweis. Der Übersicht halber wurde das Neuropil nur an der Mittellinie und lateral davon eingezeichnet. (b) und (c) zeigen die Silberkörnerverteilung (Terminalen) an der Mittellinie aus Integrationsgebieten für vertikale (b) und horizontale Augenbewegungen (c). Die Pfeile verweisen auf die zu vergleichenden Regionen. (a1) zeigt einen Ausschnitt des Neuropils im MLF als Hellfeldaufnahme von (a) (grauer Kasten), um die Intensität der Färbung bei dieser Gruppe zu verdeutlichen. Der Pfeil verweist auf das Neuropil im MLF. (a2) zeigt einen Ausschnitt des Neuropils im Nachbarschnitt als Hellfeldaufnahme. Der Pfeil verweist auf das Neuropil ventral vom MLF. Die Sterne zeigen jeweils das dunkle Neuropil unterhalb des vierten Ventrikels an. Balken a-c = 1mm a1,a2=100µ. Abkürzungen siehe Anhang.

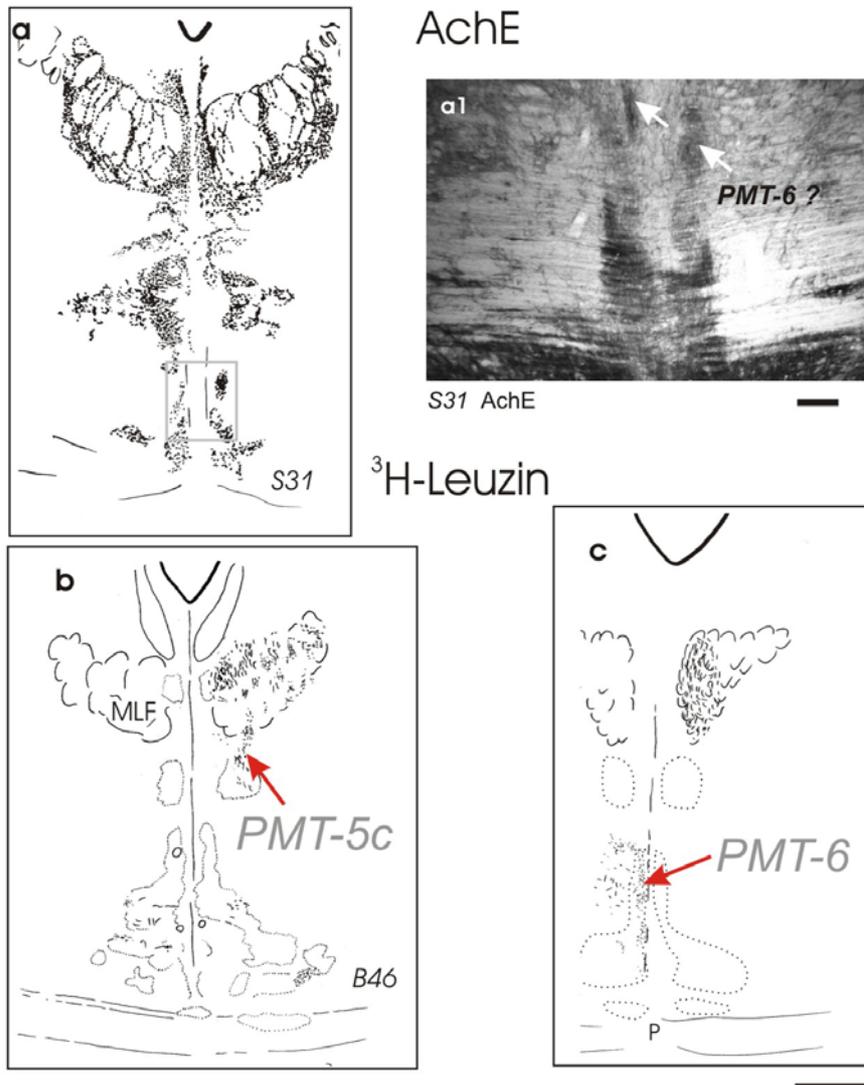


Abb.3.12: Frontalschnitte durch den Pons, um die Zellgruppe *PMT-6* im Makaken darzustellen. (a) zeigt eine Rekonstruktion des Neuropils nach einem enzymatischen AchE-Nachweis. (b) und (c) zeigen die Silberkörnerverteilung (Terminalen) an der Mittellinie aus Integrationsgebieten für vertikale (b) und horizontale Augenbewegungen (c). Die Pfeile verweisen auf die zu vergleichenden Regionen. (a1) zeigt einen Ausschnitt des Neuropils an der Mittellinie als Hellfeldaufnahme von (a) (grauer Kasten). Die Pfeile verweisen auf das schwächer dargestellte Neuropil an der Mittellinie. Balken a-c=1 mm a1=100 μ . Abkürzungen siehe Anhang.

3.1.4. Abgrenzung der PMT-Neurone von serotoninerger Raphe-Neuronen und cholinergen Motoneuronen.

Da die PMT-Neurone in der Literatur oft mit den Raphekernen verwechselt werden (McCrea et al., 1987a,b), sollen im Folgenden die Raphezellen, welche Serotonin (5-HT) enthalten, den PMT-Neuronen gegenüber gestellt werden.

Im *Nucleus abducens* besteht eine Verwechslung mit den Motoneuronen. Um diese voneinander abzugrenzen, wurde ein Marker für Motoneurone verwendet. Dazu eignete sich der immunhistochemische Nachweis gegen das Protein Cholin-Acetyltransferase (ChAT). Diese Unterscheidung wird anschließend dargestellt.

In **Abb.3.13** ist die Verteilung der serotoninerger, sowie der potenziellen PMT-Neurone schematisch wiedergegeben. Da CO als Marker für PMT-Neurone auch alle anderen Neurone darstellt, wurde versucht, diese von den benachbarten „Rapheneuronen“, welche 5-HT positiv sind, abzugrenzen. Die einzelnen Regionen werden wieder mit *PMT-1* bis *PMT-6* bezeichnet.

3.1.4.1. Abgrenzung der Zellen bei *PMT-1*.

Hier waren die potenziellen PMT-Neurone deutlich von den „Raphezellen“ abgetrennt. Diese lagen dorsal, als kleine Gruppe von Neuronen, deren Neuropil stark angefärbt war, vor. Die ventral gelegenen serotoninerger Neurone sind Zellen des *Nucleus raphes obscurus*.

3.1.4.2. Abgrenzung der Zellen bei *PMT-2*.

Auch hier lag eine eindeutige Abgrenzung vor. Die potenziellen PMT-Neurone lagen als kleine Gruppe zusammen. Die dorsal gelegenen, serotoninerger Neurone, dürften zum *Nucleus raphes obscurus*, die ventral gelegenen zum *Nucleus raphes pallidus*, gehören.

3.1.4.3. Abgrenzung der Zellen bei PMT-3 u. 4.

Die potenziellen PMT-Neurone lagen getrennt von den ventralen serotoninerger Neuronen getrennt. Die serotoninerger Zellen an der Mittellinie ventral zum MLF gehören zum *Nucleus raphes magnus*. Die wenigen serotoninerger Neurone zwischen den Abduzuskernen dürften Ausläufer des dorsalen *Nucleus raphes obscurus* sein.

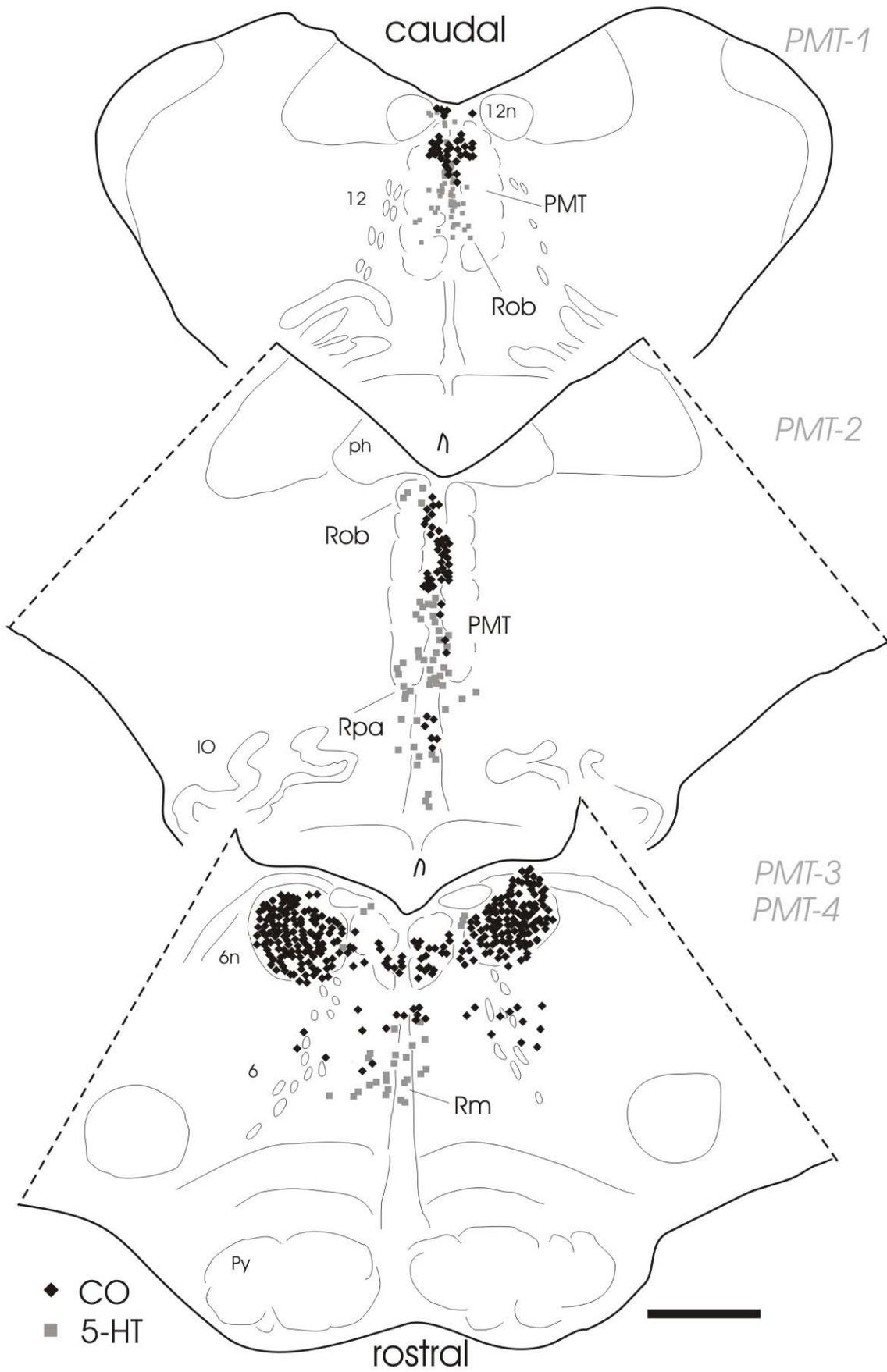
Die Unterscheidung potenzieller PMT-Neurone von den Motoneuronen des *Nucleus abducens* wird anschließend gezeigt.

3.1.4.4. Abgrenzung der Zellen bei PMT-5.

Hier lag die Verteilung ziemlich gemischt vor. Unterhalb des vierten Ventrikels im *Nucleus raphes dorsalis* waren beide Zellpopulationen vertreten, ebenso im MLF. Unterhalb der MLF war eine mehr oder weniger dichte Zellansammlung zu finden, die frei von serotoninerger Neuronen war. (**Abb.3.12**, Stern). Hierbei dürfte es sich um die Gruppe *PMT-5c* handeln.

3.1.4.5. Abgrenzung der Zellen bei PMT-6.

Die weiter rostrale PMT-Gruppe ist nach Langer et al.(1985a) teilweise im *Nucleus reticularis tegmenti pontis* (NRTP) zu finden. In dieser Region befanden sich ausschließlich CO-positive Neurone. Dorsal kamen beide Populationen vor. Diese serotoninerger Zellen gehören zum *Nucleus centralis superior*.



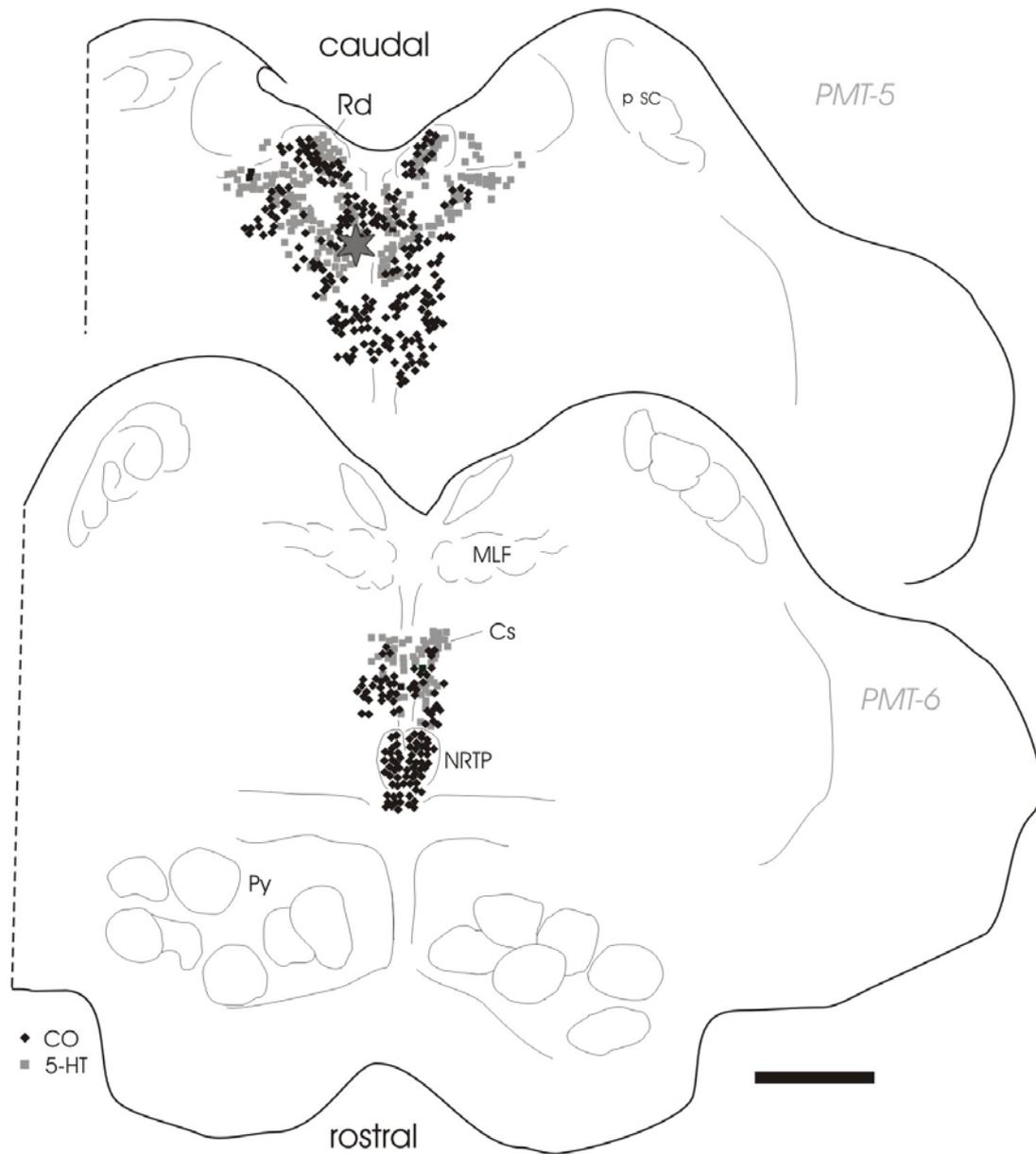


Abb.3.13: Rekonstruktion zweier übereinander gelegter Schnitte (Schnittdicke je 40 μ), die die Verteilung von CO-bzw. 5-HT-immunpositiver Neurone im Makaken zeigt. Bei *PMT-1* bis *PMT-4* liegt die Verteilung potenzieller PMT-Neurone (immunpositiver CO Zellen) dorsal, die der 5-HT positiven mehr caudal. Bei *PMT-5* liegen beide Populationen mehr oder weniger gemischt vor. Bei *PMT-6* sind potentielle PMT-Neurone caudal gelegen (NRTP). Unterhalb der MLF war eine mehr oder weniger dichte Zellansammlung zu finden, die frei von serotoninerger Neuronen war (Stern). Balken = 2 mm. Abkürzungen siehe Anhang.

3.1.4.6. Zellen innerhalb des *Nucleus abducens*.

Um die potenziellen *PMT-4* Neurone im *Nucleus abducens* von den cholinergen Motoneuronen abzugrenzen, wurde versucht diese mit verschiedenen Markern zu unterscheiden. Es zeigte sich, dass für potenzielle *PMT*-Neurone der Antikörper gegen Cytochrom-c-Oxidase (CO) am besten geeignet war. Die cholinergen Motoneurone ließen sich am besten mit dem Antikörper gegen Cholin-Acetyl-Transferase (ChAT) darstellen. **Abb.3.14** zeigt eine Rekonstruktion zweier übereinander gelegter Schnitte (Schnittdicke je 40 μ) des Falles Y60.

Wie sich zeigte, waren ChAT positive Neurone überwiegend im Kern dargestellt. Wohingegen CO-positive Neurone in und um den Kern herum, sowie innerhalb des MLF vorkamen. Alle CO-positiven Neurone innerhalb des MLF waren von caudal nach rostral nachzuweisen. Die ChAT positive Neurone hingegen verschwanden vor und nach dem Abduzenskern. Der *Nucleus supragenualis* (sg) zeigte überwiegend CO-positive Neurone auf (**Abb.3.14b**). Auch hier konnte eine verstärkte Neuropilanfärbung nachgewiesen werden (unterlegte Fläche). Diese war im sg, dem dorsalen Teil des 6n und innerhalb der MLF am deutlichsten.

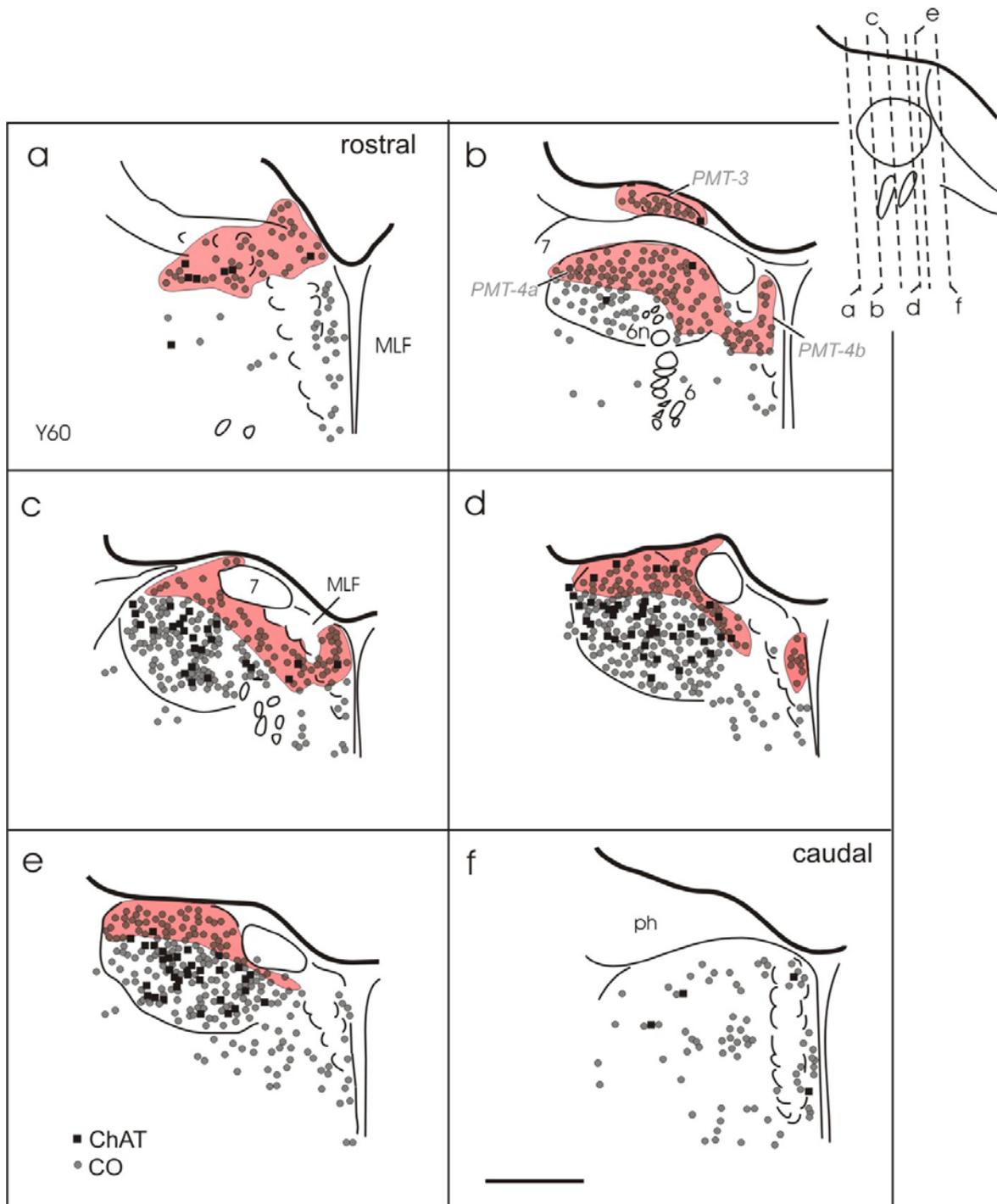
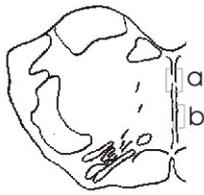


Abb.3.14: Verteilung von CO bzw. ChAT immunpositiver Neurone im *Nucleus abducens* des Makaken, um potenzielle PMT-Neurone (CO) von den Motoneuronen (ChAT) zu unterscheiden. Rekonstruktion zweier übereinander gelegter Schnitte (Fall Y60; Schnittdicke je 40 μ). Die rot unterlegte Fläche zeigt eine starke Neuropilanfärbung in diesem Gebiet an. Es ist dies der dorsale Teil des *Nucleus abducens* ("dorsale Kappe") PMT-4a, PMT-3 und die dorsale MLF, PMT-4b. ChAT ist ein guter Marker für Motoneurone, welche im MLF bzw. der "dorsalen Kappe" seltener vorkamen als im *Nucleus abducens*. Balken = 1 mm. Oben rechts: Schnittebene der Bilder a-f im *Nucleus abducens*. Abkürzungen siehe Anhang.

3.1.5. Zellmorphologie der PMT-Gruppen.

Vergleicht man die retrograd markierten Zellen im Fall *Ger* mit den CO- bzw. 5-HT-immunpositiven Zellen, so zeigen sich Unterschiede in der Zellmorphologie. Die 5-HT-positiven Zellen der Raphekerne waren in ihrer Morphologie sehr variabel. Es gab fusiforme, sowie polygonale Zellen. Die CO-positiven Zellen, sowie die TMB-markierten, waren fast ausschließlich polygonal in ihrer Morphologie. In der Größe waren sie alle gleich, soweit man dies im Lichtmikroskop erkennen konnte. Eine quantitative Auswertung, z.B. eine Zellmessung, wurde nicht durchgeführt.

Das eindeutigste Unterscheidungsmerkmal zwischen CO- und 5-HT-Zellen war deren Zellkern. Alle PMT-Neurone wiesen, nach einem immunhistochemischen CO Nachweis, einen großen, meist deutlich sichtbaren Zellkern auf. Bei den retrograd markierten TMB-Zellen war dieser meist auch zu erkennen. Dagegen hatten sämtliche 5-HT Zellen, nach einem immunhistochemischen 5-HT Nachweis, einen kleinen, meist nur schwer zu erkennenden Zellkern. Dieses Merkmal war ohne quantitative Auswertung zu erkennen, und dient als eindeutiger morphologischer Unterschied zwischen den PMT-Neuronen und den serotoninergen Rapheneuronen. Stellvertretend für alle PMT-Gruppen (*PMT-1* bis *PMT-6*) sind in **Abb.3.15** die verschiedenen Zelltypen von *PMT-1* dargestellt. Auffälligstes Merkmal ist der große Zellkern in (a) und (c), Pfeile.



PMT-1

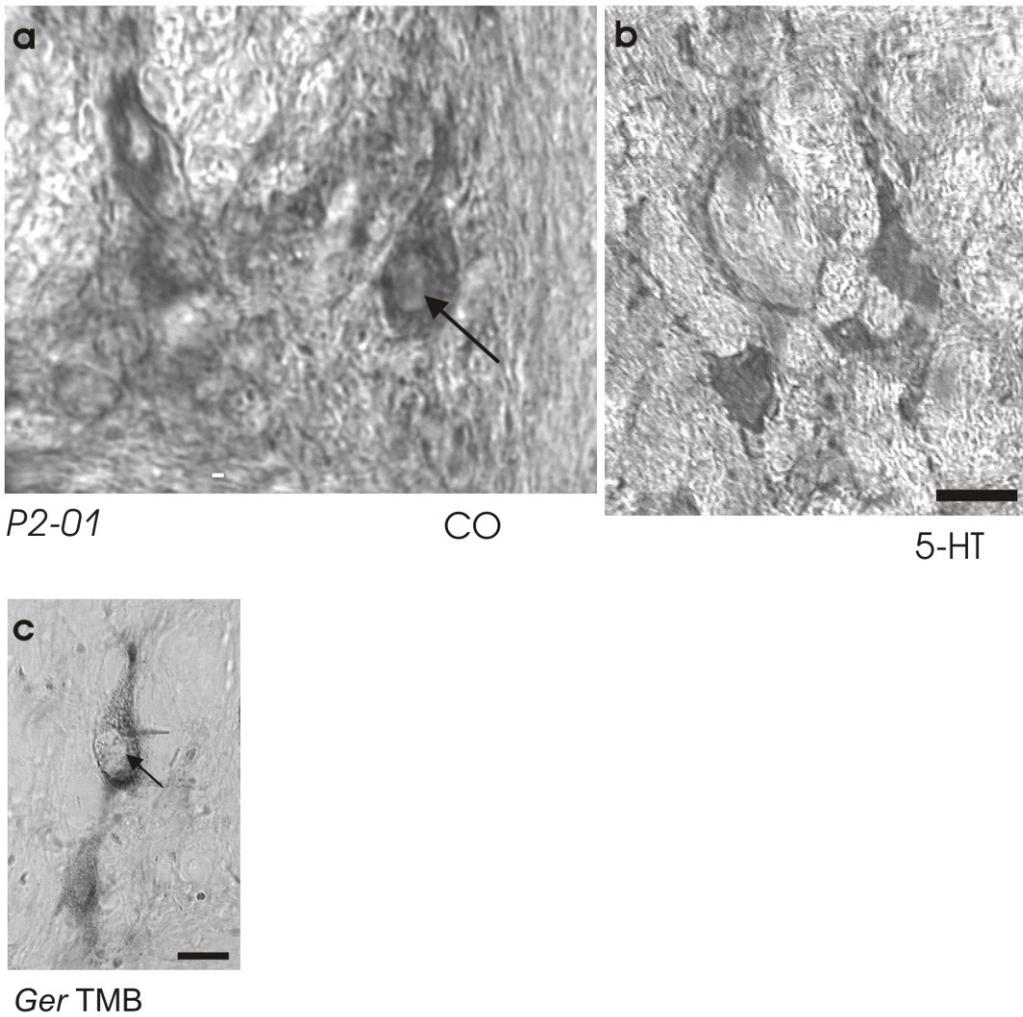


Abb.3.15: Gegenüberstellende Morphologie CO-immunpositiver und 5-HT-immunpositiver Zellen im Fall *P2-01*, sowie retrograd markierter Zellen (Fall *Ger*). Stellvertretend für alle PMT-Neurone wurden die in *PMT-1* dargestellt. **(a)** Zellen an der Mittellinie. **(b)** Zellen des *Nucleus raphe obscurus* (ROb). **(c)** TMB-markierte Zellen an der Mittellinie. Auffallend ist der große Zellkern bei **(a)** und **(c)**, Pfeil. Balken = 20 μ . Abkürzungen siehe Anhang.

3.2. Vergleichbare PMT-Neurone beim Menschen.

3.2.1. Identifizierung vergleichbarer Neurone im Hirnstamm des Menschen und ihre Charakterisierung als PMT-Neurone.

Mit Hilfe der Daten des Makaken von Langer et al.(1985a), des Falles *Ger* (**Abb.3.1**) und der histologischen Marker AchE und CO gelang es, die putativen PMT-Neurone im Menschen zu identifizieren und vergleichend darzustellen. Wichtig für die Unterscheidung der PMT-Neurone von den serotoninergen Rapheneuronen war deren Gegenüberstellung durch den Marker 5-HT (Abschnitt **3.1.4**).

Jedoch zeigte sich, dass der immunhistochemische Nachweis von Serotonin (5-HT) im Humanmaterial im Gegensatz zum Makaken schwierig war. Beim Menschen waren die Zellen nur sehr schwach dargestellt und konnten vom Hintergrund schwer unterschieden werden. In der Literatur wird darauf hingewiesen, dass Serotonin, als Derivat einer Aminosäure, postmortal sehr schnell metabolisiert wird (Haan et al., 1987). Der Nachweis serotoninergener Zellen im Menschen konnte dennoch erbracht werden, indem Serotonin synthetisierende Enzyme nachgewiesen wurden. PH8 ist ein Antikörper, mit welchem die Syntheseenzyme Tryptophan-Hydroxylase, Tyrosin-Hydroxylase sowie Phenylalanin-Hydroxylase nachgewiesen werden können (Haan et al., 1987; Halliday et al., 1988). Die Epitope aller drei Enzyme sind nahe verwandt. Tyrosin-Hydroxylase ist für die Synthese von Catecholaminen wichtig. Tryptophan-Hydroxylase und Phenylalanin-Hydroxylase dagegen für die Serotoninsynthese. Da im formalinfixierten Gewebe das Antigen für Tyrosin-Hydroxylase maskiert wird, können mit PH8 nur die Serotonin synthetisierenden Enzyme nachgewiesen werden (Haan et al., 1987; Baker et al., 1991; Halliday et al., 1993). Im Fall *M4-04* konnten mit Hilfe des Antikörpers PH8 serotoninerge Neurone dargestellt werden.

3.2.1.1. Vergleichbare PMT-1 Zellen.

Der Vergleich dieser Gruppe im Menschen zeigte ein ähnliches Bild wie im Makaken. Am Übergang zwischen *Nucleus hypoglossus* und *Nucleus praepositus hypoglossi* zeigten sich an der Mittellinie und im MLF Zellgruppen mit auffällig starker Neuropilanfärbung durch AchE (**Abb.3.16a** Pfeile). Diese Gruppen waren auch hier über „Zellbrücken“ miteinander verbunden. Die Zellgruppe konnte auch mit dem immunhistochemischen Nachweis von CO dargestellt werden. Hierbei war das

Neuropil nur schwach gefärbt dargestellt (**Abb.3.16b**). Im Gegensatz zu den serotoninergeren Neuronen (**Abb.3.16c**), war bei diesen ein Zellkern erkennbar (**Abb.3.16b1**, Pfeil). Die Verteilung beider Zellpopulationen ist in **Abb.3.16d** schematisch dargestellt. Beide kommen an der Mittellinie vor, wobei die serotoninergeren Neurone mehr lateral liegen. Die inselartig verteilten CO-positiven Zellen an der Mittellinie (**Abb.3.16d**, unterlegte Punkte) stellen eine eigene Population putativer *PMT-1* Neurone dar.

3.2.1.2. Vergleichbare *PMT-2* Zellen.

Der von Olszewski und Baxter (1954) bezeichnete *Nucleus pararafales* liegt als schmaler Kern nahe der Raphe auf Höhe des *Nucleus praepositus hypoglossi* in der rostralen Medulla oblongata. Die Bezeichnung, *Nucleus pararafales* wurde von Langer et al. (1985a) analog im Makaken für *PMT-2* Zellen verwendet (hier *PMT-2* Zellen). Das Neuropil dieser schmalen Zellgruppen konnte mit Hilfe von AchE dargestellt werden (**Abb.3.17a**, Pfeile). Mit Hilfe des immunhistochemischen Nachweises von CO konnte diese Zellgruppe ebenso dargestellt werden (**Abb.3.17b** Pfeile). Jedoch war das Neuropil nicht so deutlich hervorgehoben. Serotoninergeren Neurone waren nur außerhalb des *Nucleus pararafales* gelegen (**Abb.3.17e1,e2**). Der *Nucleus pararafales* findet ventral eine Fortführung in den *Nucleus arcuatus* (**Abb.3.17,c,e2**). Dieser war ebenso frei von serotoninergeren Neuronen. Die Zellen des *Nucleus pararafales* waren dorso-ventral ausgerichtet und wiesen einen deutlich sichtbaren Zellkern auf (**Abb.3.17b1**, Pfeil). Einen deutlich sichtbaren Zellkern wiesen auch die Zellen im *Nucleus arcuatus* auf. Die Ausrichtung dieser Zellen war jedoch im Unterschied zum *Nucleus pararafales* nicht einheitlich (**Abb.3.17b1,c1**). In ihrer Größe waren sie gleich denen im *Nucleus pararafales*. Von gleicher Größe waren auch die serotoninergeren Zellen außerhalb des *Nucleus pararafales*. Doch war bei ihnen der Zellkern nicht gut zu erkennen (**Abb.3.17 d**).

PMT-1

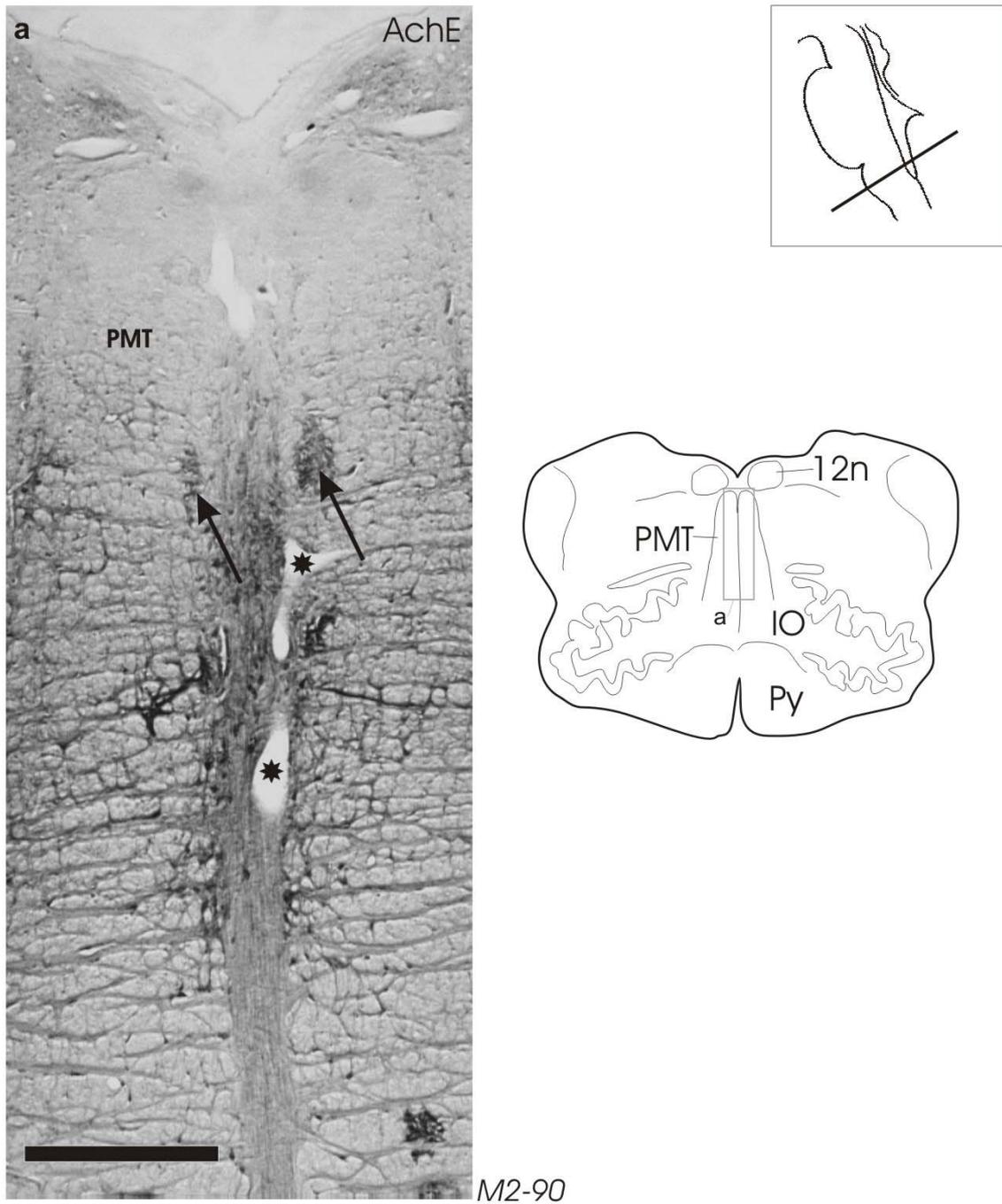
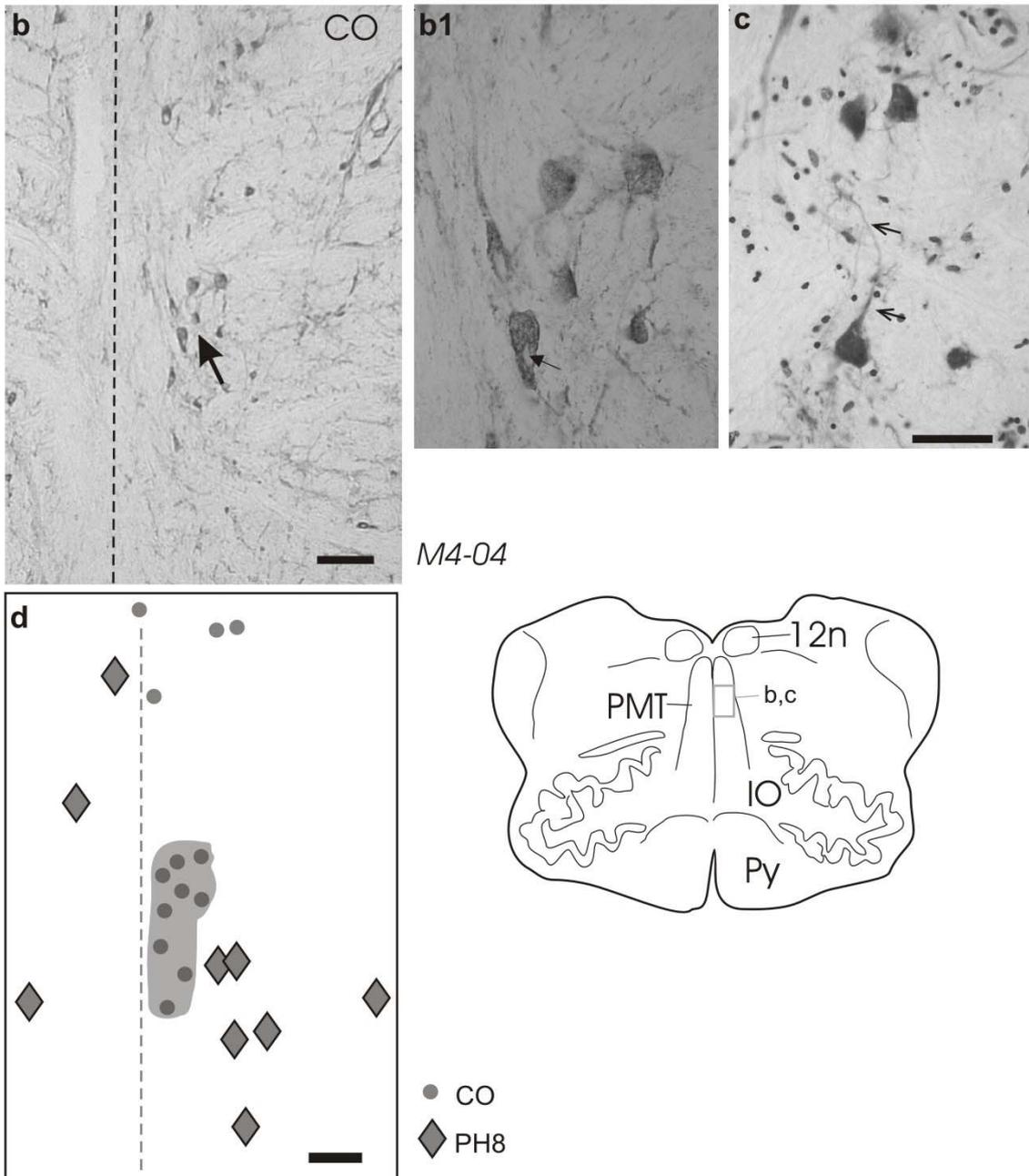


Abb.3.16: Frontalschnitte durch die *Medulla oblongata* des Menschen mit *PMT-1* Zellgruppen. (a) zeigt eine enzymatische Acetylcholin-Esterase (AChE) Färbung. Diese hebt die Gruppe durch eine starke Neuropilfärbung deutlich hervor (Pfeile). Die Sterne verweisen auf Blutgefäße.

PMT-1



M4-04

Abb.3.16f: (b) immunpositive Cytochrom-c-Oxidase (CO) Zellen an einer vergleichbaren Stelle (Pfeil). In (b1) sind diese Zellen mit ihren deutlich sichtbaren Zellkern (Pfeil) vergrößert dargestellt. (c) zeigt einen Nachbarschnitt auf welchem serotoninerge Neurone, mittels PH8, dargestellt wurden. Dieser wurde anschließend nach Nissl gegengefärbt. Die schwarzen Punkte sind Zellkerne der Glia. Die kl. Pfeile verweisen auf einen Dendriten. Die Zellkerne der serotoninergen Zellen konnten nicht dargestellt werden. (d) zeigt schematisch die Verteilung putativer PMT-Neurone (unterlegte graue Punkte), sowie der serotoninergen Neurone (graue Rauten). Die gestrichelte Linie zeigt die Mittellinie an. Balken a = 1 mm; b,d = 100 μ ; b1,c = 50 μ . Abkürzungen siehe Anhang.

PMT-2 Nucleus pararafales (nrpr)

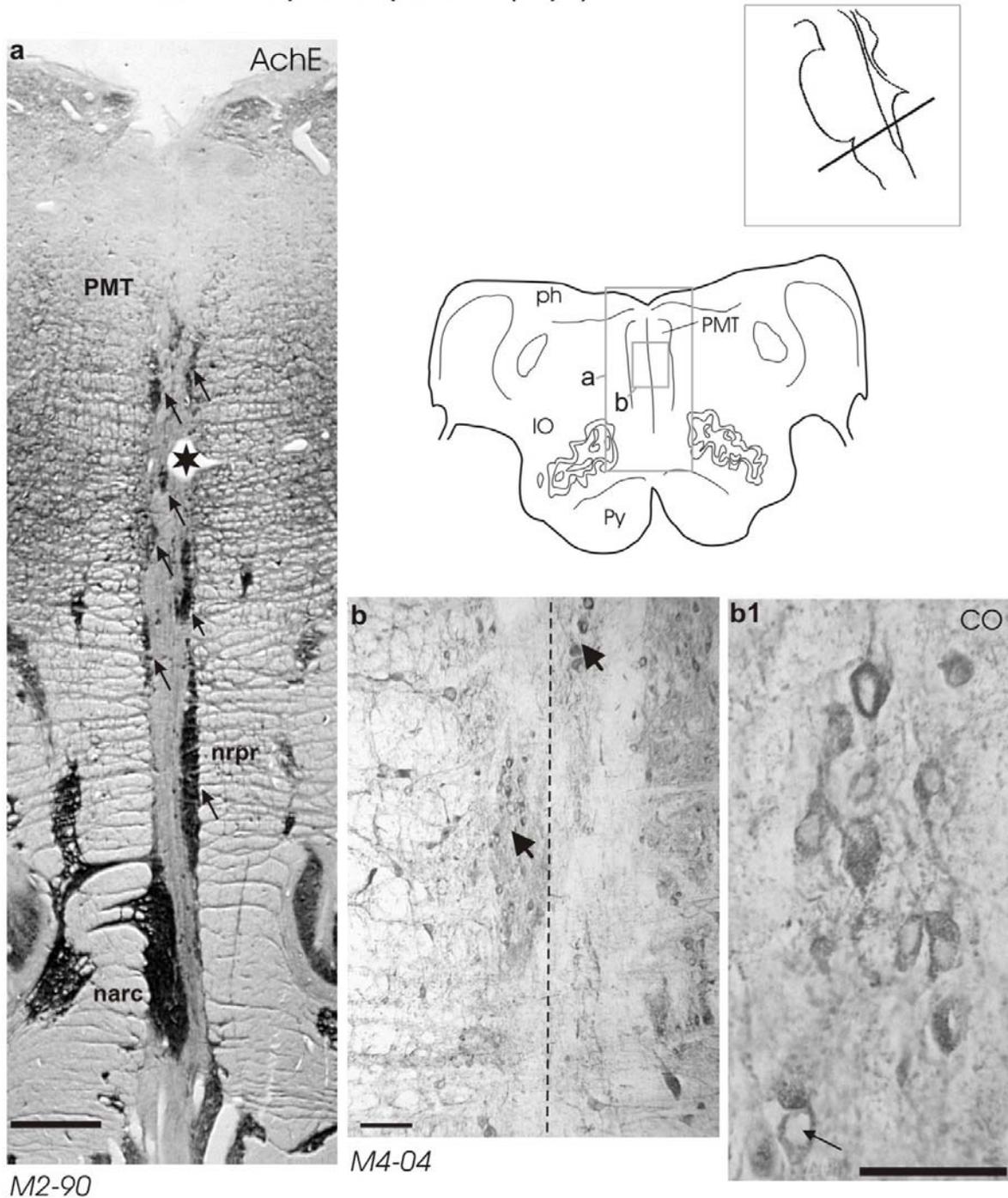
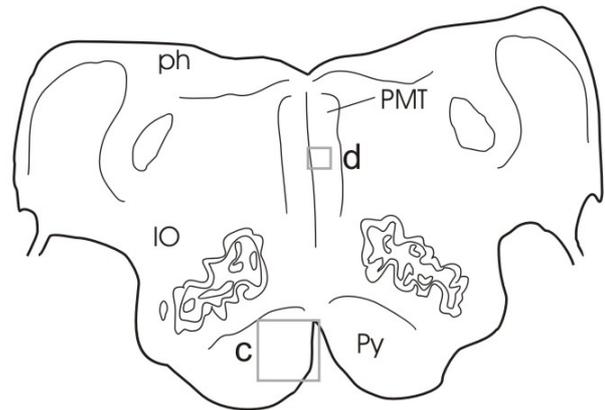


Abb.3.17: Frontalschnitte durch die *Medulla oblongata* des Menschen mit *PMT-2* Zellgruppen. (a) Enzymatische Acetylcholin-Esterase (AChE)-Färbung. Diese hebt die Gruppe durch eine starke Neuropilfärbung deutlich hervor (Pfeile). Der weiter ventral gelegene *Nucleus arcuatus* (narc) ist ebenso dargestellt. Der Stern verweist auf ein Blutgefäß. (b) zeigt immunpositive Cytochrom-c-Oxidase Zellen an einer vergleichbaren Stelle. Hier ist das Neuropil schwächer hervorgehoben (Pfeile). In (b1) ist eine Vergrößerung von (b). Die Zellen mit großem Zellkern (Pfeil) sind dorso-ventral ausgerichtet. Die gestrichelte Linie zeigt die Mittellinie an. Balken **a** = 1mm; **b** = 100µm; **b1** = 50µm.



M4-04

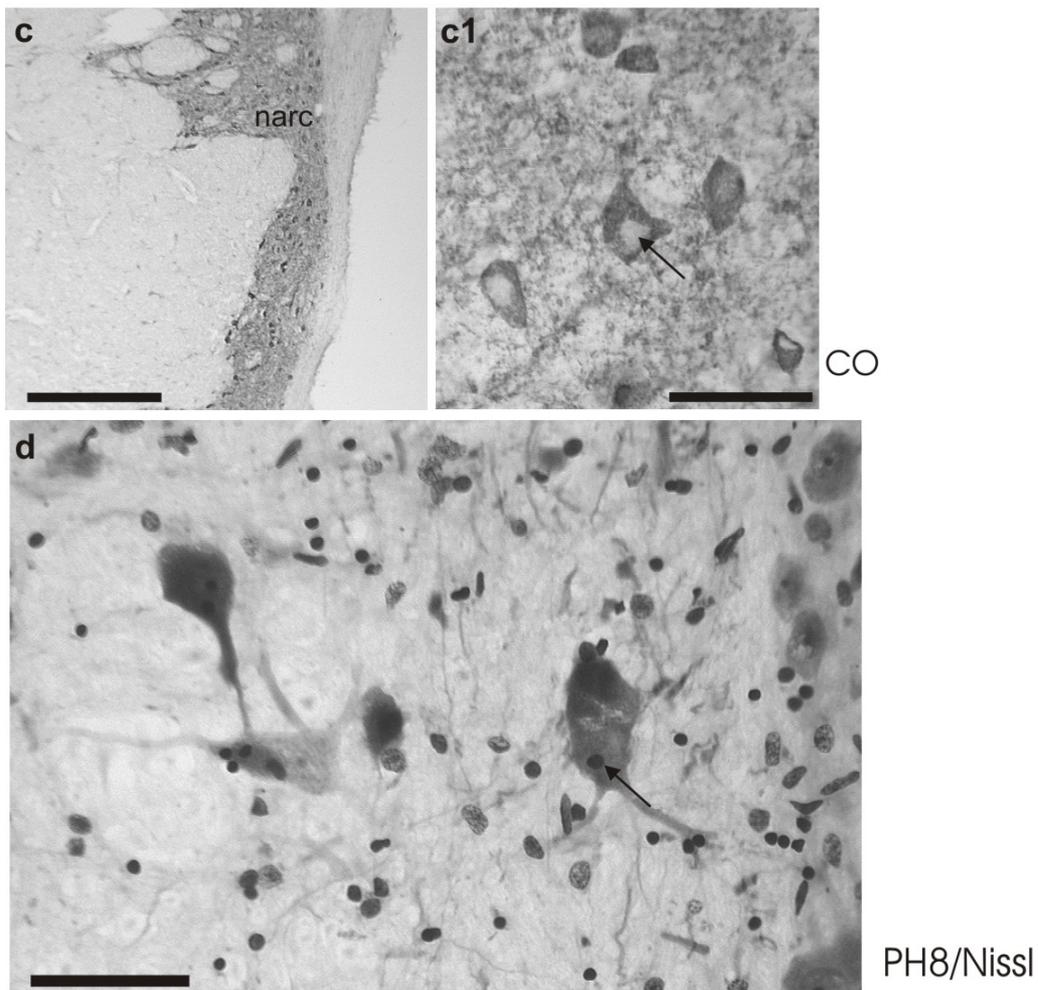


Abb.3.17f: In (c) ist ein Ausschnitt des *Nucleus arcuatus* (narc) mit immunpositiven Cytochrom-c-Oxidase (CO) Zellen wiedergegeben. Hier sind die Zellen in keine bestimmte Richtung ausgerichtet. In ihrer Größe und Zellkern (c1, Pfeil) unterscheiden sie sich nicht von den Zellen des *Nucleus pararaphales* (nrpr). (d) Nachbarschnitt auf welchem serotonerge Neurone, mittels PH8, dargestellt wurden. Dieser wurde anschließend nach Nissl gegengefärbt. Die schwarzen Punkte sind Zellkerne der Glia. Ein solcher überlagert hier ein Neuron (Pfeil). Die Zellkerne der serotoninergen Neurone konnten nicht dargestellt werden. Balken c = 500µ; c1,d = 50µm.

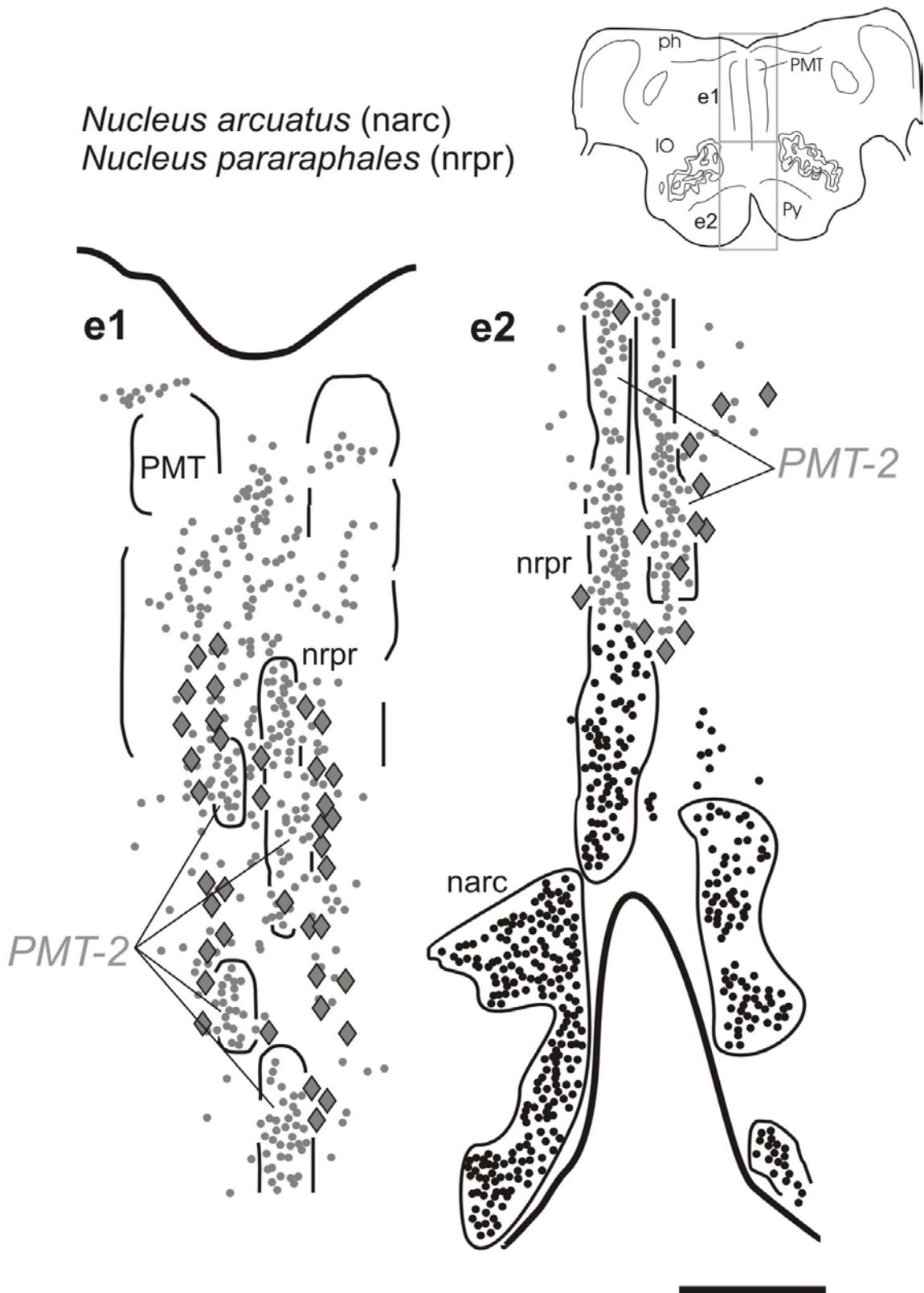


Abb.3.17ff: In (e1,e2) ist die Verteilung serotoninerger Neurone (graue Rauten), sowie der CO-positiven Neuronen gezeigt. Die grauen Punkte zeigen CO-Zellen mit dorso-ventraler Ausrichtung. Diese liegen auch im *Nucleus pararafales* (nrpr), hier als *PMT-2* bezeichnet. Weiter ventral gehen diese in Zellen (schwarze Punkte) des *Nucleus arcuatus* (narc) über. Hier haben die Zellen keine spezielle Ausrichtung. Die serotoninergeren Zellen liegen fast nur außerhalb dieser Zellgruppen. Balken e = 1mm. Abkürzungen siehe Anhang.

3.2.1.3. Vergleichbare *PMT-3* u. -4 Zellen.

Der *Nucleus supragenualis* (sg) wies auch im Menschen eine starke Neuropilfärbung auf (**Abb.3.18a,b** hohler Pfeil) und bildet „Zellbrücken“ zum dorsalen *Nucleus abducens* (6n), wobei hier das Neuropil im ganzen Abduzenskern gleich stark mit AchE angefärbt war, was eine Abgrenzung der PMT-Zellen der „dorsalen Kappe“, wie im Makaken nicht ermöglichte.

Eine starke Neuropilanfärbung zeigten auch Gruppen innerhalb des MLF. Doch diese waren nicht so mittelliniennah wie im Makaken gelegen (**Abb.3.18a1,b** Pfeile), bildeten doch ebenso „Zellbrücken“ zum *Nucleus abducens* aus. Entsprechend seiner Lage und Gestalt wird der *Nucleus supragenualis* als *PMT-3* bezeichnet. Der dorsale Teil des *Nucleus abducens* dürfte mit *PMT-4a*, die mittelliniennahe Zellgruppe im MLF, mit *PMT-4b* bezeichnet werden. Serotoninerge Zellen waren, ebenso wie im Makaken, hier nur ventral zu finden. Die Zellen zwischen den Abduzenskernen (**Abb.3.18b3**), sowie im dorsalen *Nucleus abducens* (**Abb.3.18b2**) und im *Nucleus supragenualis* (**Abb.3.18b1**), hatten alle einen großen Zellkern, wie alle übrigen PMT-Neurone.

3.2.1.4. Zellen innerhalb des *Nucleus abducens*.

Da die Neuropilanfärbung anders als beim Affen keine gute Abgrenzung der „dorsalen Kappe“ des *Nucleus abducens* erbrachte, musste man an Hand der Zellverteilung im Abduzenskern Rückschlüsse auf die Lage der PMT-Neurone ziehen. Da, wie beim Makaken gezeigt, ChAT ein verlässlicher Marker für Motoneurone -aber nicht für PMT-Neurone- ist, konnte durch Übereinanderlegen benachbarter Schnitte, die Verteilung zweier Zellpopulationen dargestellt werden. Da der Fall *M1-02* eine Schnittdicke von 20µm hatte, wurden je zwei CO- und je zwei ChAT-Schnitte in einer Rekonstruktion dargestellt. Somit zeigte die Rekonstruktion eine Zellanzahl von einer Schnittdicke von 80µm an. Dies ermöglichte einen Vergleich mit dem Makaken, da hier ebenso die Schnittdicke der Rekonstruktion 80µm betrug. Wie in **Abb.3.19** zu sehen, lagen weniger ChAT-Zellen als CO-Zellen im MLF verteilt. Die CO-Zellen waren auch im dorsalen *Nucleus abducens* häufiger (**Abb.3.19c-e** Pfeile). Die ChAT-Zellen streuten mehr um den Abduzenskern als beim Makaken, doch waren sie bei der putativen PMT Region deutlich reduziert. Auffällig

war noch die große Anzahl an ChAT-Neuronen, welche rostral zum Abduzenskern lagen (**Abb.3.19a**).

Hiermit konnte gezeigt werden, dass Gebiete putativer *PMT-4* Neurone im Abduzenskern, auch im Menschen, keine cholinergen Motoneurone enthalten.

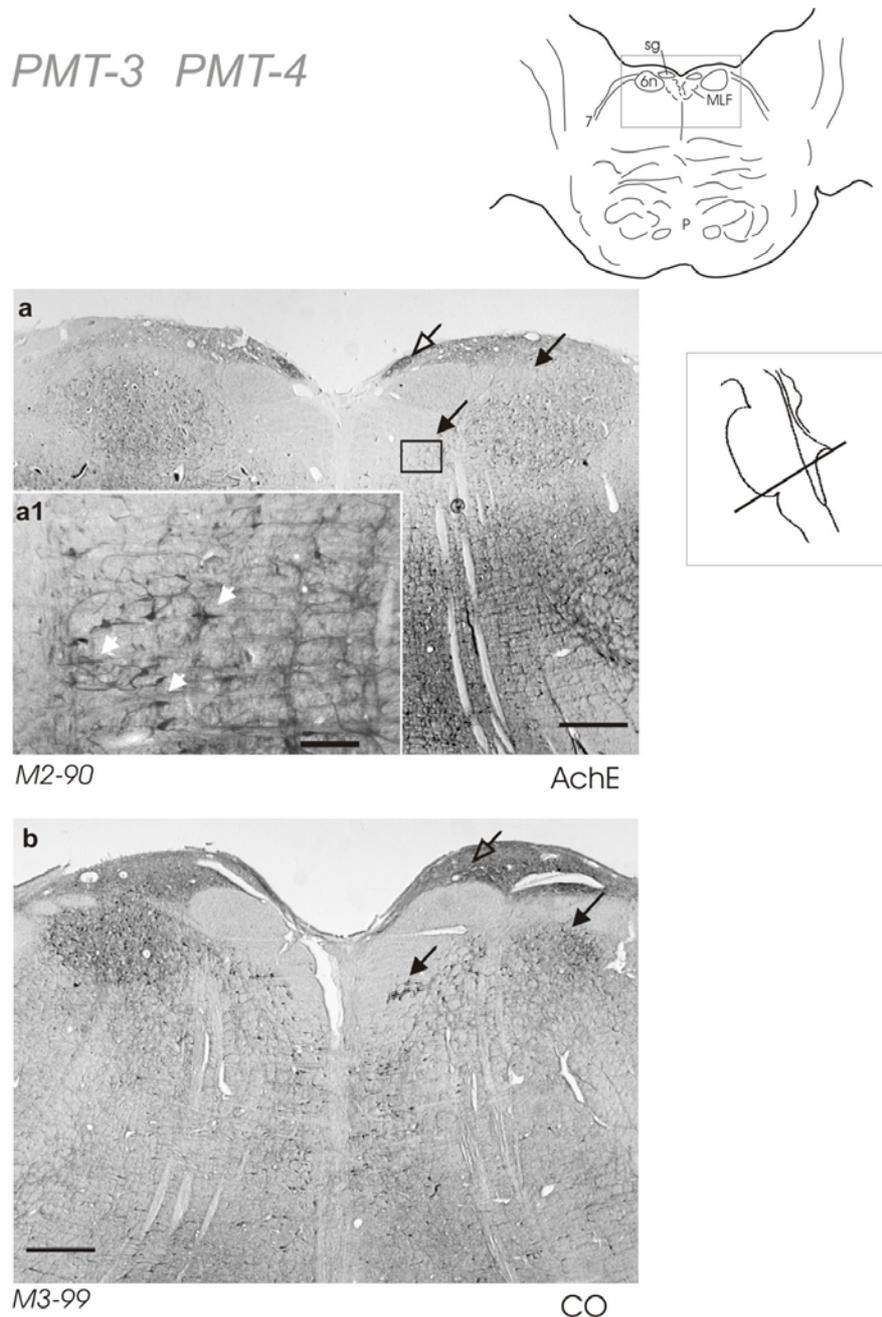


Abb.3.18: Frontalschnitte durch die caudale Pons des Menschen, um vergleichbare *PMT-3* u.-*4* Zellgruppen darzustellen. **(a)** zeigt eine enzymatische Acetylcholin-Esterase (AChE)-Färbung. Außer im *Nucleus supragenualis* (sg hohler Pfeil) ist das Neuropil im dorsalen Teil des *Nucleus abducens* (6n) schwächer gefärbt. **(b)** zeigt immunpositive Cytochrom-c-Oxidase Zellen an einer vergleichbaren Stelle. Das Kästchen in **(a)**, verweist auf Neurone medial zum 6n (**a1**). Hier verweisen die weißen Pfeile auf Neurone, welche in **(b)** durch ihr Neuropil stärker hervorgehoben wurden. Balken **a,b** = 1mm **a1**= 200 μ . Abkürzungen siehe Anhang.

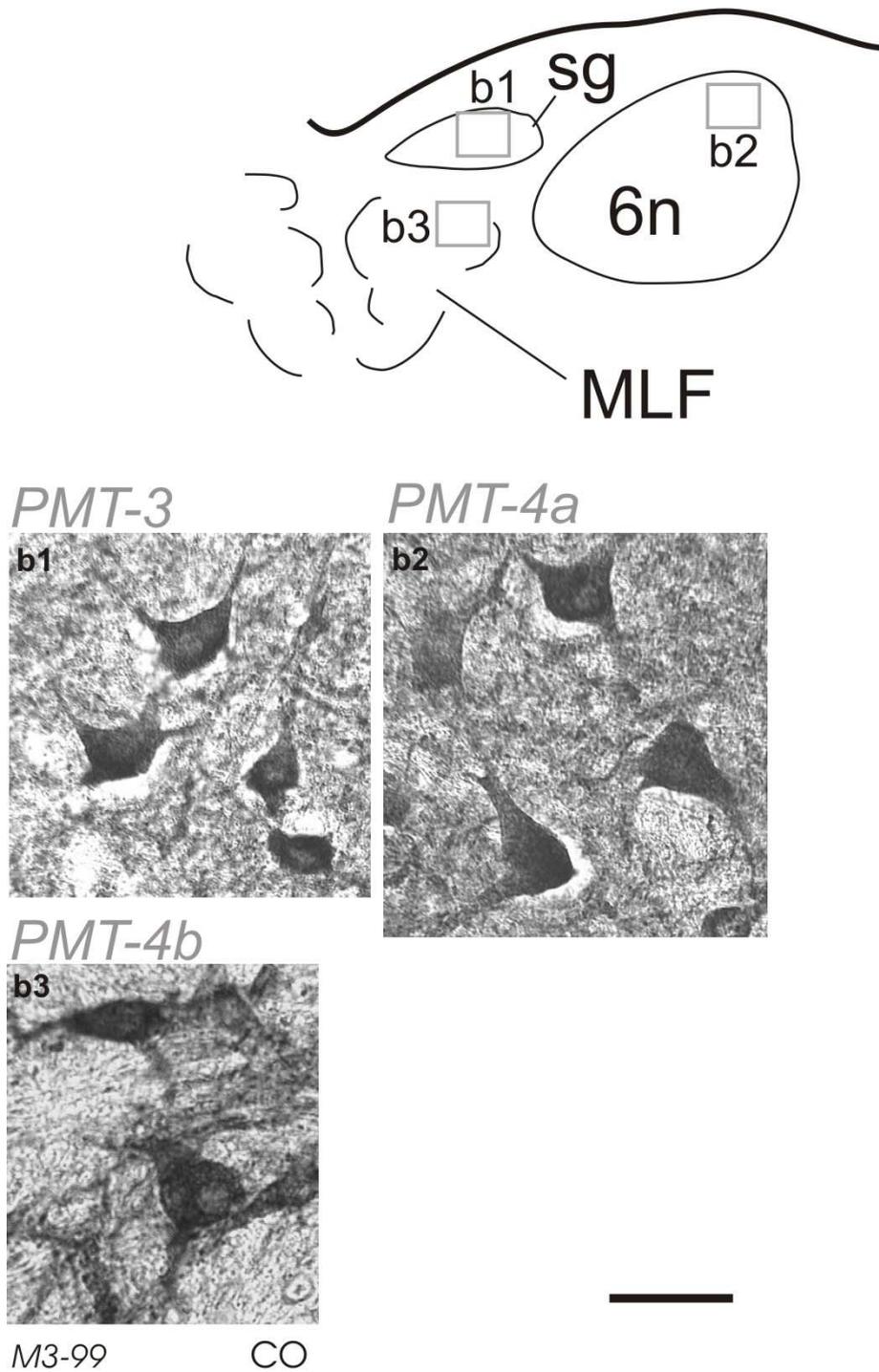


Abb.3.18f: Die immunpositiven Cytochrom-c-Oxidase (CO) Zellen zwischen den Abduzenskernen (**b3**), im dorsalen *Nucleus abducens* (**b2**), sowie im *Nucleus supragenualis* (**b1**), hatten alle einen relativ großen Zellkern, der hier unterschiedlich gut zu sehen ist. Balken = 50µ. Abkürzungen siehe Anhang.

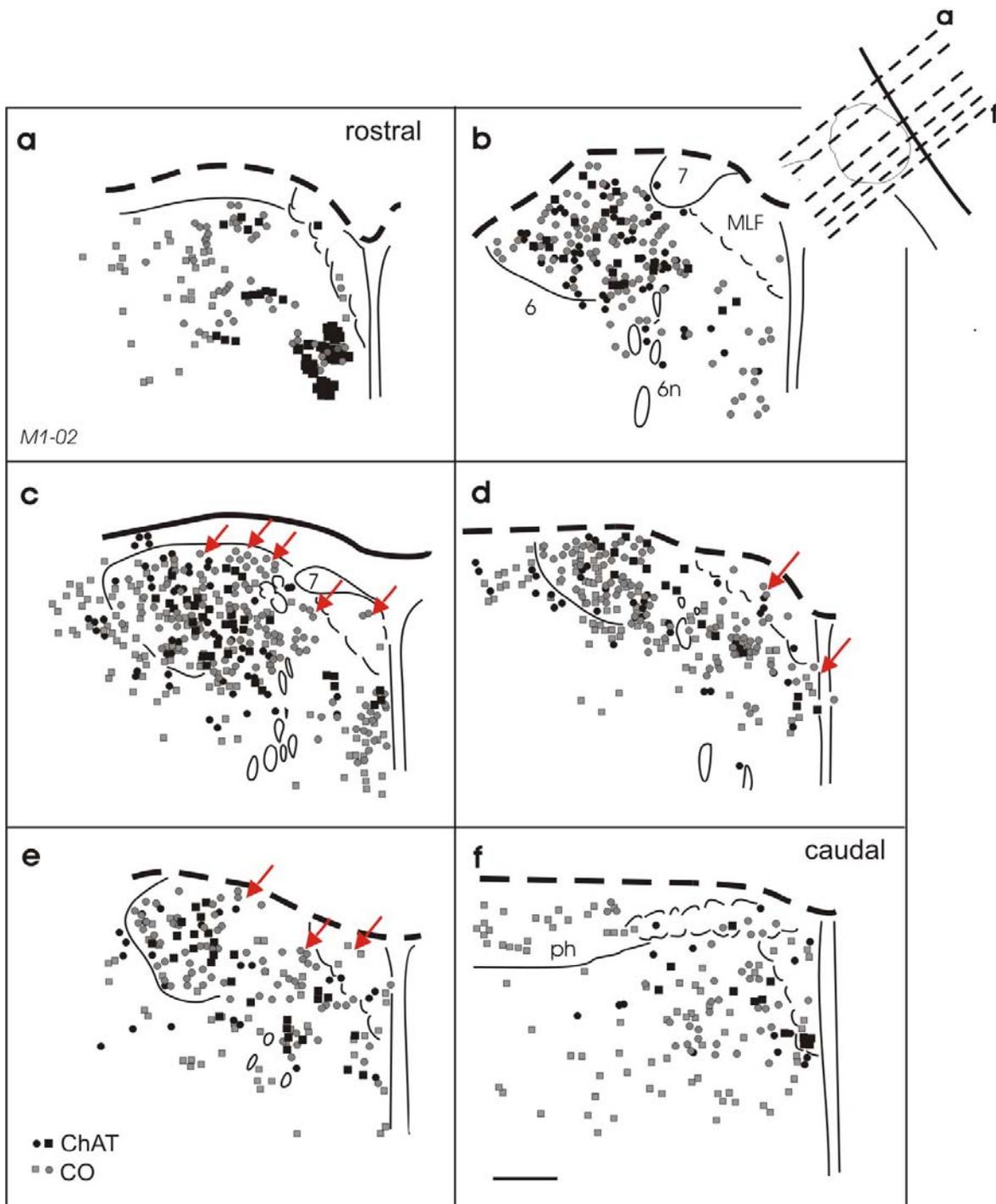


Abb.3.19: Rekonstruktion von vier übereinander gelegten Schnitten (Fall *M1-02*; Schnittdicke je 20μ). Es zeigt die Verteilung von CO- bzw. ChAT-immunpositiver Neurone im *Nucleus abducens* des Menschen, um potenzielle PMT-Neurone (CO) von den Motoneuronen (ChAT) zu unterscheiden. Das Neuropil war hier nicht so eindeutig auf bestimmte Regionen beschränkt. Doch waren an den mit Pfeilen markierten Stellen wesentlich mehr CO-Zellen als ChAT-Zellen nachzuweisen. Die ChAT-positiven-Zellen sind ein guter Marker für Motoneurone. Diese sind im MLF bzw. der "dorsalen Kappe" viel weniger verteilt als im 6n. Balken = 1 mm. Oben rechts: Schnittebene der Bilder a-f im *Nucleus abducens*. Abkürzungen siehe Anhang.

3.2.1.5. Vergleichbare *PMT-5* u. *PMT-6* Zellen.

Die Präabduzensregion, also rostral zum *Nucleus abducens*, hatte auch innerhalb des MLF eine starke Neuropilanfärbung aufzuweisen. Diese war auch ventral zum MLF vorhanden und zog sich entlang der Raphe bis in den Pons hinein (**Abb.3.20a** Pfeile).

Die im Makaken als *PMT-5b* bezeichnete dorsal zum MLF gelegene Gruppe war hier schwer zu identifizieren (**Abb.3.20a,b** *PMT-5b*). Es waren die CO-positiven, putativen PMT-Neurone von den serotoninergen Neurone des *Nucleus raphes dorsalis* nur schwer zu unterscheiden.

Anders lagen die Verhältnisse bei *PMT-5a*. In dieser interfaszikulären Region des MLF waren - wie beim Makaken - serotoninerge wie auch CO-Zellen zu finden (**Abb.3.20a,b** *PMT-5a*). Diese Gruppe konnte auch gut mit dem enzymatischen Nachweis von AchE dargestellt werden (**Abb.3.20f**). Obwohl im MLF CO-immunpositive PMT-Neurone, sowie serotoninerge Neurone vorkamen, konnten PMT-Neurone durch ihren sichtbaren Zellkern (**Abb.3.20,e** Pfeil) von serotoninergen Neuronen (**Abb.3.20d** Pfeil) unterschieden werden.

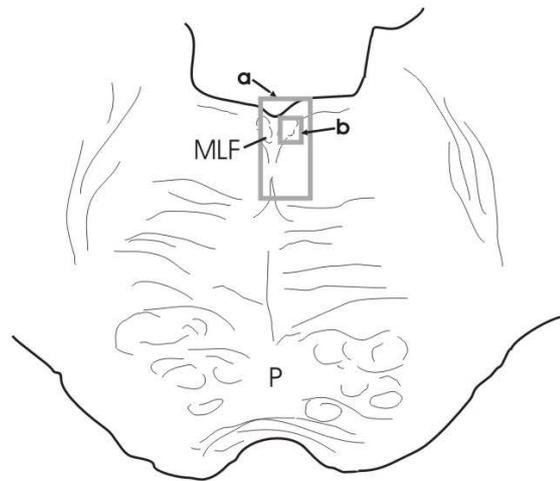
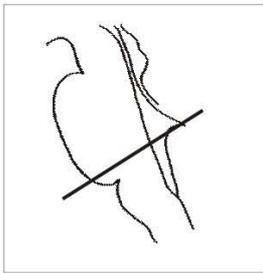
Die *PMT-5c* Gruppe an der Mittellinie, ventral zum MLF, war dagegen frei von serotoninergen Zellen (**Abb.3.20a,b**, cStern). Diese lagen nur zerstreut um diese Gruppe herum (**Abb.3.20b** *PMT-5c*). Diese Gruppe konnte eindeutig mit dem Marker CO dargestellt werden (**Abb.3.20c**). Die Zellen (**Abb.3.20c1**) entsprachen denen der *PMT-5a* Gruppe (**Abb.3.20e**) und zeigten wie diese einen deutlich sichtbaren Zellkern. Auch hier ließen sämtliche serotoninerge Neurone den Zellkern nicht erkennen.

Da die *PMT-6* Gruppe am Makaken nicht sicher identifiziert werden konnte, war hiermit ein Vergleich nicht möglich.

3.2.1.6. Morphologie der PMT-Zellen beim Menschen.

Die Zellen waren in allen identifizierten Regionen putativer PMT-Neurone, wie beim Makaken, gleichartig. Der morphologische Hauptunterschied zu den serotoninergen Rapheneuronen war auch hier der Zellkern. Die PMT-Neurone zeigten einen großen, oft deutlich erkennbaren Zellkern auf. Der Zellkern bei den Rapheneuronen, war klein und oft schwer zu erkennen. Dieses Merkmal war auch beim Menschen eindeutig. In der Zellgröße und der Form waren sie eher gleich.

PMT-5



M3-99

CO

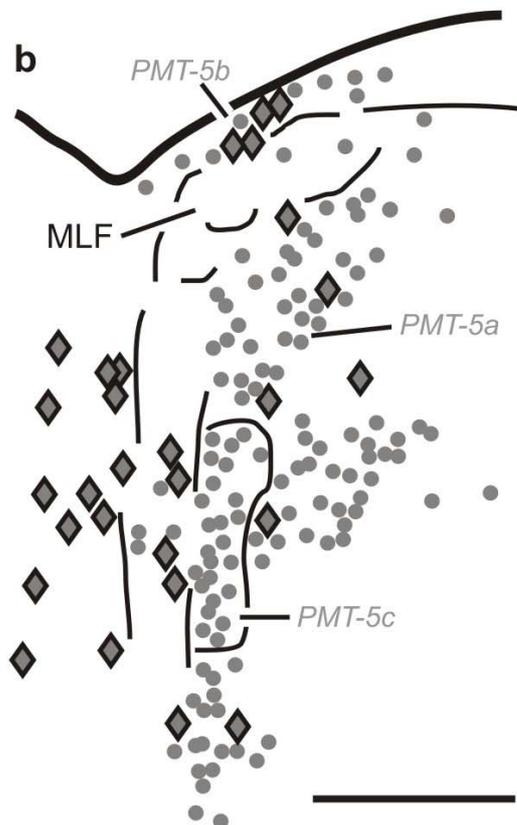
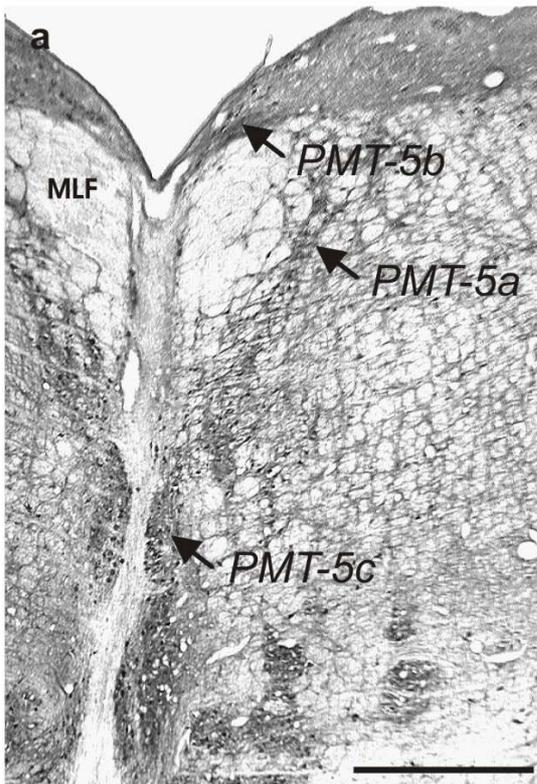


Abb.3.20: Frontalschnitte durch den Pons des Menschen, um vergleichbare *PMT-5* Zellgruppen darzustellen. (a) zeigt Neuronengruppen (Pfeile) durch eine immunhistochemische Cytochrom-c-Oxidase (CO) Färbung an. In (b) ist die Verteilung serotoninergener Neurone (graue Rauten), sowie der CO positiven Neuronen (graue Punkte) gezeigt. In *PMT-5b* kommen beide Populationen vor. Die schmale *PMT-5c* Zellgruppe ist frei von serotoninergenen Neuronen. Balken **a,b** = 1 mm. Abkürzungen siehe Anhang.

PMT-5c

M4-04

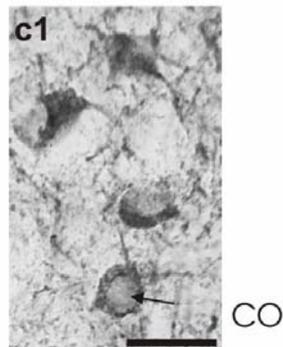
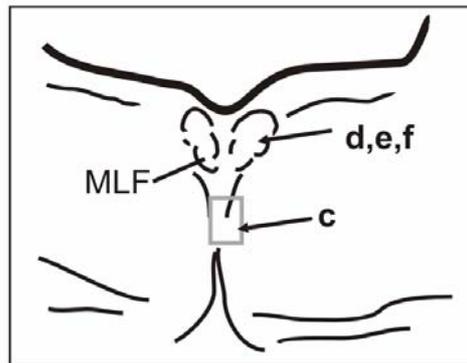
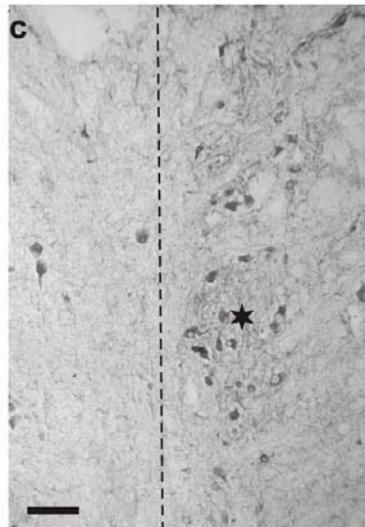
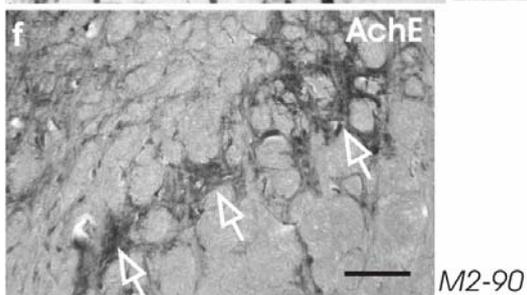
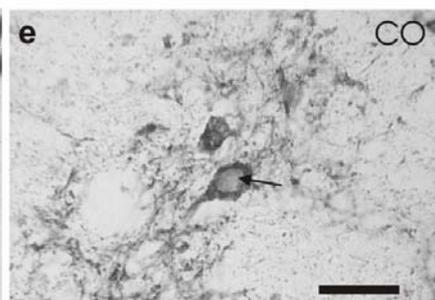
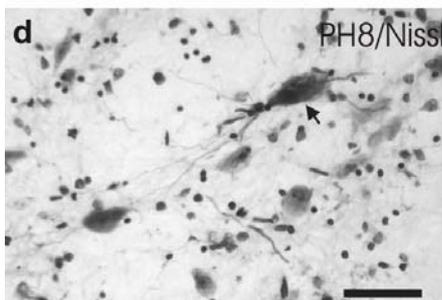
*PMT-5a*

Abb.3.20f: (c) zeigt eine Zellgruppe CO positiver Zellen unterhalb des MLF an der Mittellinie (gestrichelte Linie) durch einen Stern an. Diese Neurone (c1) zeigten wie die innerhalb des MLF (e) einen deutlich sichtbaren Zellkern (Pfeile). (d) zeigt eine serotoninerge Zelle (Pfeil) ohne sichtbaren Zellkern. (f) zeigt zum Vergleich die *PMT-5a* Zellgruppe, mit stark hervorgehobenen Neuropil durch AchE (hohle Pfeile), innerhalb des MLF. **c** = 100 μ ; **c1,d,e** = 50 μ ; **f** = 200 μ . (e) und (f) sind Nachbarschnitte. Abkürzungen siehe Anhang.

4. Diskussion.

Auf Grund der starken Neuropilanfärbung war der enzymatische Nachweis von Acetylcholin-Esterase (AChE) der beste Marker zur Darstellung der PMT-Gruppen. Diese Gruppen wurden zur Vereinfachung mit *PMT-1* bis *PMT-6* bezeichnet. Es konnte, bis auf die Gruppe *PMT-6*, alle von Langer et al. (1985a) beschriebenen Gruppen identifiziert und dargestellt werden. Durch Vergleiche der dargestellten PMT-Gruppen, mit den Eingängen (Afferenten) aus prämotorischen Kerngebieten war es erstmalig möglich, sie in horizontale und vertikale Gruppen zu unterscheiden. Aus diesen gewonnenen Daten der Makaken war man in der Lage die PMT-Gruppen im Menschen zu identifizieren.

4.1. Nichtmenschliche Primaten.

4.1.1. Auswahl geeigneter Marker.

Zur Identifizierung von Neuronengruppen im Vertebratengehirn werden seit längerem enzymatische sowie immunhistologische Nachweise als Marker benutzt. So konnten schon wichtige okulomotorische Neurone mit dieser Methode in den Makaken und Menschen identifiziert werden (Horn et al., 1995, 2000; Horn and Büttner-Ennever 1998).

In dieser Arbeit ermöglichte der enzymatische Nachweis von AChE die Darstellung des Neuropils der PMT-Gruppen, sowie der immunhistologische Nachweis von CO die Darstellung der Zellen der PMT-Gruppen. Das deutlich erkennbare Neuropil war ein wichtiges Kriterium zur Identifizierung dieser Zellgruppe (siehe **Abb.1.1** und Abschnitt **3.1.2.1.**). Der Marker CO konnte auch an Paraffinschnitten, sowie an länger fixiertem Hirnmaterial erfolgreich eingesetzt werden. Der enzymatische Nachweis von AChE gelingt nur in sehr kurz fixiertem Hirnmaterial.

Der immunhistochemische Nachweis von calziumbindenden Proteinen wie CR, CB oder PAV war ziemlich unterschiedlich. Calziumbindende Proteine wurden deshalb als Marker gewählt, da vermutet wird, diese könnten mit einer tonischen Neuronenaktivität korrelieren (Elliot and Snider, 1995). Am besten gelang die

Darstellung der PMT-Neurone mit CR. Alle anderen calziumbindenden Proteine ergaben ein schlechtes Ergebnis.

Grund für die schwache Darstellung der calziumbindenden Proteine könnte die Fixierung sein. Der Fall *PZ99* war im Gegensatz zu den meisten Affenfällen immersionsfixiert. Diese Fixationsart dringt langsamer in das Gewebe ein als bei der Perfusionsfixierung. Autolytische Prozesse könnten Ursache für die unzureichende Darstellung sein.

4.1.2. Darstellung vertikaler sowie horizontaler PMT-Zellgruppen.

Die genaue Auswertung zweier Makakenfälle (siehe Abschnitt **2.1.1.**) ermöglichte die Unterteilung der PMT-Gruppen in horizontale (Eingänge aus Integrationsgebiete für horizontale Augenbewegungen, riMLF und iC) und vertikale (Eingänge aus Integrationsgebiete für vertikale Augenbewegungen, Interneurone des 6n) Gruppen.

4.1.2.1. *PMT-1* und *PMT-2* Zellen.

Vergleicht man die histochemischen Färbungen, so liegt es nahe, das Gebiet, welches Langer et al. (1985a), mit ifm bezeichnete, vereinfachend mit *PMT-1* zu identifizieren (siehe **Tab. 1.1**). Die Zytoarchitektur dieser Zellen, stimmt mit denen im Fall *Ger* durch TMB dargestellten Zellen überein.

Die *PMT-1* Zellgruppe dürfte mit dem accessorischen *Nucleus reticularis paramedianus* der Katze homolog sein (Brodal and Torvic, 1954). Somana und Walberg (1978) hatten diese Gruppe an der Katze und am Affen verglichen und auch hier eine accessorische (mediane) sowie eine dorsale und eine ventrale Untergruppe, welche lateral dazu lagen, beschrieben.

Über die Physiologie dieser Zellen liegen z.Z. leider noch keinerlei Daten vor. Jedoch konnten McCrea et al. (1987b) nach HRP Injektionen in Axone *des Nucleus vestibularis medialis*, Projektionen zu den *PMT-1* Neuronen nachweisen. Die Injektionen wurden nach Ableitungen an diesen Axonen vorgenommen. Sie zeigten elektrophysiologisch ein burst-tonic Aktivitätsmuster und wurden als position-vestibular-pause Neurone, PVP-Neurone, nach Tomlinson und Robinson (1984) bezeichnet. Da diese Zellgruppe an der Raphe gelegen ist, wurde sie mit dem *Nucleus raphes obscurus* verwechselt, oder als solcher bezeichnet (McCrea et al.,

1987a,b). Hierbei handelte es sich jedoch sehr wahrscheinlich um die *PMT-1* bzw. *PMT-2* Zellgruppe.

Der von Langer et al.(1985) als *Nucleus pararaphales* (nrpr) bezeichnete Kern ist nach unserer Datenlage mit der *PMT-2* Zellgruppe identisch (siehe **Tab. 1.1**). Auch über diese Gruppe liegen noch keinerlei physiologische Daten vor.

Bei beiden Gruppen (*PMT-1* und *PMT-2*) konnten Eingänge aus prämotorischen Gebieten, für vertikale Augenbewegungen (iC, riMLF) nachgewiesen werden. Eingänge aus prämotorischen Gebieten, für horizontale Augenbewegungen (6n, ph) konnten nicht nachgewiesen werden. Somit dürfte es sich an der Mittellinie der rostralen Medulla um zwei sich abgrenzende Neuronengruppen handeln, welche mit den serotoninergeren Zellen des nahe liegenden *Nucleus raphes obscurus* bzw. *Nucleus raphes pallidus* keinerlei funktionelle Beziehungen haben. Morphologisch unterschieden sie sich von den Rapheneuronen durch ihren deutlich sichtbaren großen Zellkern. Obwohl sich diese Zellen an der Mittellinie gruppieren und oft in der Literatur mit Zellen des *Nucleus raphes obscurus* und *Nucleus raphes pallidus* verwechselt wurden, kann man sie mit Hilfe von Markern, wie AchE und CO bzw. über ihre Zytoarchitektur von den als Raphe-Neuronen bezeichneten Zellgruppen deutlich unterscheiden (**Abb. 3.13**).

4.1.2.2. *PMT-3* und *PMT-4* Zellen.

Der *Nucleus supragenualis* (sg), welcher von Langer et al. (1985a) ebenfalls als eine potenzielle *PMT*-Gruppe bezeichnet wird, rechnet Brodal zum Perihypoglossal-Komplex, welcher u. a. den *Nucleus praepositus hypoglossi*, enthält (Brodal and Brodal, 1983). Dieser bildet mit dem *Nucleus abducens* (6n) „Zellbrücken“, welche mit AchE und dem Antikörper gegen CO, dargestellt werden konnten. Da man sie als eigenständige Gruppe ansehen konnte, wurden sie als *PMT-3* Zellen bezeichnet.

Langer et al. (1986) konnten durch Tracingexperimente zeigen, dass nach Injektion in den *Musculus rectus lateralis* keinerlei Zellen in der „dorsalen Kappe“ des 6n dargestellt werden konnten, d.h. dort liegen keine Motoneurone. Da Langer et al. (1985a) auch zeigen konnten, dass diese zum Flocculus projizieren, ist zumindest beim Makaken sicher, dass es sich hierbei um eine eigenständige Zellpopulation handelt, welche mit *PMT-4a* bezeichnet wurde. Diese eigenständige Zellpopulation

bildet wiederum „Zellbrücken“, mit Zellen medial zum MLF. Hierbei waren keine serotoninerger Zellen vorhanden. Langer et al. (1986) konnten hier ebenso durch Tracingexperimente zeigen, dass nach Injektion in den *Musculus rectus lateralis* hierbei ebenfalls keine Motoneurone darzustellen waren. Wegen der unterschiedlichen prämotorischen Eingänge ist diese Gruppe von der *PMT-4a* Gruppe zu trennen und als neue, eigenständige Gruppe mit *PMT-4b* zu bezeichnen. Das Kontinuum, welches auf Grund der „Zellbrücken“ zwischen den Gruppen *PMT-3*, *PMT-4a* und *PMT-4b* zustande kommt, dürfte als eine Einheit angesehen werden. Dafür sprechen die Ähnlichkeiten in der Morphologie (großer Zellkern), die gute Darstellung auf Grund ihres stark färbenden Neuropils und die Terminalen prämotorischer Gebiete, welche in den Gruppen *PMT-3*, *PMT-4a* und *PMT-4b* zu finden waren. Dass in diesen Zellpopulationen keine Motoneurone mit ChAT dargestellt werden konnten, untermauert die Hypothese einer funktionell eigenständigen Zellgruppe, die einen anderen Transmitter enthält als die Motoneurone, zum Flocculus projiziert und prämotorische Eingänge erhält. Zellen in der Gruppe *PMT-3* haben ein burst-tonic Verhalten, was mit dem burst-tonic Verhalten von Moosfasern im Flocculus korrelieren könnte (Langer et al. 1985a). Serotoninerge Zellen des *Nucleus raphes magnus* befanden sich zu ventral, um sie mit den Gruppen *PMT-3* bzw. *PMT-4a* und *4b* zu verwechseln (**Abb. 3.13**).

4.1.2.3. *PMT-5* Zellen.

In dieser Region waren zum ersten Mal serotoninerge Zellen vermischt mit putativen *PMT*-Neuronen zu finden. So konnte man diese im *Nucleus raphes dorsalis* und seitlich des MLF, nachweisen (**Abb. 3.13**).

Die interfaszikulär im MLF liegende *PMT-5a* Zellgruppe erhält Terminalen aus prämotorischen Gebieten für vertikale Augenbewegungen. Elektrophysiologische Ableitungen in dieser Zellgruppe ergaben, dass ein Teil dieser Neuronen ähnliche Signale zum Kleinhirn weiterleiten wie die prämotorischen Neurone zu den Motoneuronen (Langer et al., 1985a).

Eine weitere Gruppe konnte ventral zum MLF nachgewiesen werden. Hier waren prämotorische Eingänge für vertikale Augenbewegungen nachzuweisen. Da diese Gruppe isoliert zu der bekannten und von Langer et al.(1985a) beschriebenen zu unterscheiden war, wurde sie mit *PMT-5c* bezeichnet.

Im Gegensatz zu den caudalen Gruppen *PMT-1* und *PMT-2*, von denen physiologisch wenig bekannt ist, liegen bei dieser Gruppe physiologische Daten vor. So konnten Nakao et al. (1980) in der dorsalen, pontinen *Formatio reticularis* (PPRF) der Katze eine „burst-tonic“-Aktivität von Neuronen ableiten, welche Informationen über einen horizontalen Sakkaden-burst, sowie über die horizontale Augenposition erhält und zum Flocculus projizieren. Nakamagoe et al. (2000) leiteten an einer *PMT*-Gruppe an der Katze ab, welche rostral zum *Nucleus abducens* liegt. Sie bezeichneten sie mit up-BT, da deren „burst-tonic“-Aktivität mit vertikalen Augenbewegungen korrelierte. Es dürfte sich hierbei um Regionen handeln, welche mit der *PMT-5b* oder *PMT-5c* Gruppe übereinstimmt (**Abb. 4.1**). Cheron et al. (1995) leiteten von Neuronen an der Katze ab, welche zum überwiegenden Teil mit horizontalen Augenbewegungen korrelierten. Dieses Kerngebiet bezeichneten sie mit *Nucleus incertus*. Diesen könnte man mit den wenig gesicherten Zellen unterhalb des vierten Ventrikels, der *PMT-5b* Gruppe vergleichen. Es terminieren hierhin zwar Axone aus horizontalen prämotorischen Gebieten (6n), doch ist die Neuropilfärbung nicht einheitlich auf dieses Gebiet beschränkt.

4.1.2.4. *PMT-6* Zellen.

Die Zellgruppen in der pontinen Region wiesen zwar allgemein eine starke Neuropilfärbung auf, doch an der Mittellinie war diese etwas schwächer (**Abb.3.7a**). Da an der Mittellinie jedoch Terminalen aus prämotorischen Gebieten zu finden waren (**Abb.3.12**), könnte es sich hierbei um die von Langer et al. (1985a) bezeichneten Gruppe des *Nucleus reticularis tegmenti pontis* (NRTP) handeln. Dieser projiziert zum Flocculus und ist eine von vier Untergruppen, welche Langer et al. (1985a) einteilen. Diese Flocculusprojektion konnte in anderen Säugern wie der Katze (Hoddevik, 1978; Blanks and Blanks, 1980, Sato et al., 1983), der Ratte (Blanks et al.,1983) sowie dem Meerschweinchen (Yamamoto, 1979) bestätigt werden. Obwohl sie nahe an der Mittellinie zu finden waren und Eingänge aus prämotorischen Gebieten bekamen, ist die *PMT-6* Gruppe von allen bisherigen *PMT*-Gruppen, die unsicherste auf Grund ihrer schwachen Neuropilfärbung. Serotoninerge Zellen waren dorsal vom NRTP gelegen und können dem Nucleus centralis superior (Cs) zugeordnet werden (**Abb. 3.13**).

4.1.3. Zellen innerhalb des *Nucleus abducens*.

Die Darstellung zweier unterschiedlicher Zellpopulationen innerhalb des *Nucleus abducens* erbrachte den Hinweis, dass im dorsalen Teil dieses Kerns keinerlei oder nur sehr wenige ChAT-Neurone dargestellt werden konnten. Da hier jeweils Nachbarschnitte ausgewertet wurden, war es legitim sie der Übersicht halber in einer Rekonstruktion zu zeigen. Dies ermöglichte die Darstellung zweier Neuronengruppen in einer Darstellung (**Abb.3.14**).

Die starke Neuropilanfärbung in den Gruppen *PMT-3*, *PMT-4a* und *PMT-4b* (unterlegt), legt auch hier nahe, dass es sich um eine eigenständige Zellpopulation handelt. Der Anteil an ChAT-positiven-Neuronen war im Verhältnis gering. ChAT ist ein Marker für Motoneurone, der in den *PMT-4* Neuronen nicht enthalten ist. Obwohl CO in ziemlich allen Zellen nachzuweisen war, war es im Abduzenskern möglich, mit Hilfe eines zweiten Markers (ChAT), diese von den Motoneuronen abzugrenzen.

4.1.4. Einteilung der PMT-Gruppen in vertikale und horizontale Subgruppen.

Bisher konnte gezeigt werden, dass verschiedene PMT-Gruppen existieren (Langer et al., 1985a). Sie definierten die PMT-Gruppen anhand ihrer Projektion zum Flocculus. Die vorliegende Arbeit zeigt erstmals eine Unterteilung in vertikale und horizontale Gruppen. Dies gelang durch die Auswertung von Fällen mit ³H-Leuzin-Injektionen in prämotorische Areale für vertikale bzw. horizontale Augenbewegungen (siehe **Abb.2.1**). Je nach Dichte der Terminalen, welche an den entsprechenden PMT-Gruppen zu finden waren, konnte diese in horizontale PMT- bzw. vertikale PMT-Gruppen eingeteilt werden. Bekommt eine PMT-Gruppe überwiegend aus dem Integrationsgebiet für horizontale Augenbewegungen, also aus 6n Eingänge, so kann man vermuten, dass dieses Signal für horizontale Augenbewegungen auch zum Flocculus weitergeleitet wird. Ebenso dürfte dies für vertikale Augenbewegungen zutreffen. **Tab.4.1** fasst die einzelnen Gruppen und Subgruppen zusammen und vergleicht sie mit Langer et al. (1985a).

Langer et al., 1985a	Buresch, 2005	Lokalisation der Subgruppe	Eingänge aus prämotorischen Arealen
<i>Nucleus interfascicularis dorsalis</i> bzw. <i>ventralis</i> der Medulla	<i>PMT-1</i>	keine	<i>iC ,riMLF</i>
<i>Nucleus pararaphales</i>	<i>PMT-2</i>	keine	<i>iC ,riMLF</i>
<i>Nucleus supragenualis</i>	<i>PMT-3</i>	keine	<i>iC ,riMLF</i>
Dorsale Kappe des <i>Nucleus abducens</i>	<i>PMT-4a</i>	„dorsale Kappe“	<i>iC ,riMLF</i>
	<i>PMT-4b</i>	mittelliniennah	<i>6n(Interneurone)</i>
<i>Nucleus interfascicularis</i> der Präabduzensregion	<i>PMT-5a</i>	interfaszikulär	<i>iC ,riMLF</i>
	<i>PMT-5b</i>	ventrikelnah	<i>6n(Interneurone)</i>
	<i>PMT-5c</i>	ventral	<i>iC ,riMLF</i>
Dorsale pontine Gruppe der Mittellinie	(<i>PMT-6</i>)	keine	<i>6n(Interneurone)</i>

Tab.4.1: Erstmalige Einteilung der PMT-Gruppen in vertikale und horizontale Subgruppen. Die in dieser Arbeit verwandte Nomenklatur (Buresch, 2005) wird nochmals mit der von Langer et al. (1985a) verwandten gegenübergestellt. Wie sich zeigte kamen vertikale und horizontale Gruppen unterschiedlich vor. Bei *PMT-6* war man sich nicht sicher, ob es sich dabei um eine PMT-Gruppe nach Definition handelte, daher in Klammern gesetzt.

Bei der *PMT-4* Gruppe konnte man zwei funktionelle Untergruppen finden. Die mittelliniennahe Untergruppe an der dorsalen Mittellinie bekam Eingänge aus Integrationsgebieten für horizontale Augenbewegungen, *PMT-4b*. Der dorsale Teil des *Nucleus abducens* bekam deutlich erkennbare Eingänge aus Integrationsgebieten für vertikale Augenbewegungen, *PMT-4a*. Die Eingänge aus den Interneuronen des *6n* konnten hier nicht ausgewertet werden, da der Fall *Z21* im *Nucleus abducens* an einer Seite nicht auszuwerten war (**Abb.3.10**). Im gegenüberliegenden Kern konnten wenige bis keine Terminalen gefunden werden.

Ebenso gab es drei Untergruppen bei *PMT-5*. Hier bekamen die Gruppe innerhalb des MLF, sowie die Gruppe ventral zum MLF, Eingänge aus Integrationsgebieten für vertikale Augenbewegungen. Diese wurden mit *PMT-5a* und *PMT-5c* bezeichnet.

Die Untergruppe *PMT-5b* hatte nur wenige Terminalen aus Integrationsgebieten für horizontale Augenbewegungen aufzuweisen. Bei *PMT-6* war man sich nicht sicher, ob es sich dabei um eine PMT-Gruppe nach Definition handelte. Es gab hier Eingängen aus Integrationsgebieten für horizontale Augenbewegungen, doch war das Neuropil an der Mittellinie nur schwach gefärbt (vergleiche **Abb.3.7.a** mit **Abb.3.12.c**).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mehr Terminalen aus Integrationsgebieten für vertikale Augenbewegungen zu finden waren als für horizontale. Die Ergebnisse werden in **Abb.4.1** noch einmal schematisch zusammengefasst. Die gefunden Zellgruppen und deren funktionelle Einteilung passen gut mit den Regionen retrograd markierten Zellen, nach einer ventralen Paraflocculus-Injektion überein (vergleiche **Abb.3.1**).

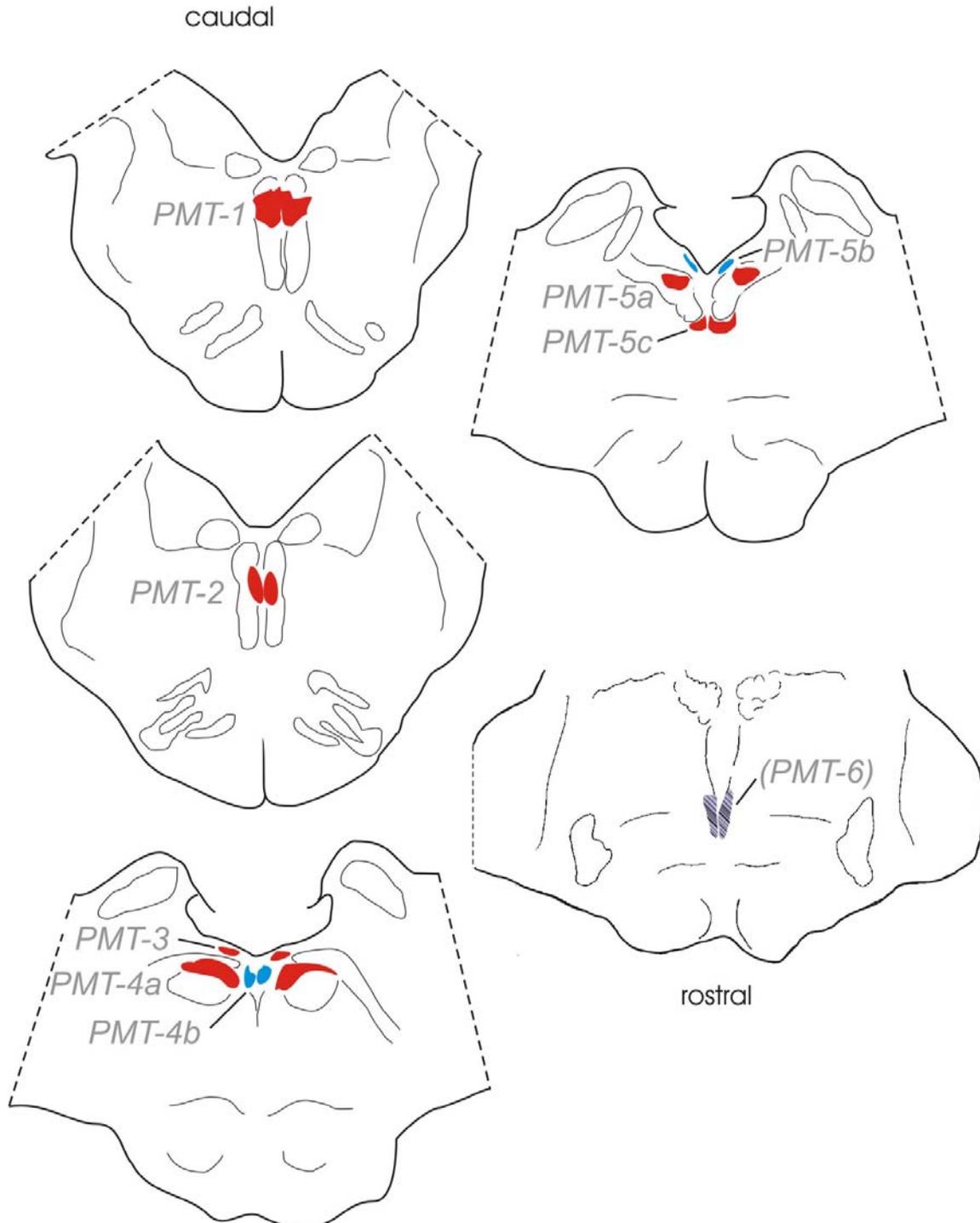


Abb.4.1: Schematische Wiedergabe der Einteilung der sechs PMT-Gruppen und deren Subgruppen im Makaken. Vergleiche Abb.3.1. Gebiete, die überwiegend Eingänge aus Integrationsgebieten für vertikale Augenbewegungen (iC, riMLF) erhielten, wurden rot hervorgehoben. Diejenigen, welche Eingänge aus Integrationsgebieten für horizontale Augenbewegungen (6n) erhielten, wurden blau hervorgehoben. Es ist zu bemerken, dass mehr Terminalen aus Integrationsgebieten für vertikale Augenbewegungen zu finden waren als für horizontale. Die *PMT-4* Gruppe konnte in zwei Untergruppen a und b eingeteilt werden. Die *PMT-5* Gruppen in a, b und c. Die *PMT-6* Gruppe ist schwächer hervorgehoben, da es nicht ganz eindeutig war, ob es sich dabei um eine echte PMT-Gruppe handelte. Abkürzungen siehe Anhang.

4.2. Mensch.

4.2.1. Vergleichbare PMT-Zellgruppen im Menschen.

Da im Makaken fünf PMT-Zellgruppen (*PMT-1* bis *PMT-5*), mit deren Untergruppen, mittels histologischer Marker, sicher identifiziert werden konnten, wurde erfolgreich versucht diese Gruppen auch im Menschen zu beschreiben. Bei *PMT-1* bis *PMT-5* konnte man deren Neuropil mit dem enzymatischen Nachweis von Acetylcholin-Esterase (AChE) darstellen (Fall *M2-90*). Bei der *PMT-6* Gruppe waren die Ergebnisse nicht so klar. Der immunhistochemische Nachweis von CO stellte ebenso diese Zellgruppen dar. Im Fall *M3-99* war das Neuropil stärker hervorgehoben, als das im Fall *M4-04* gezeigt werden konnte. Das lag nicht zuletzt an der unterschiedlichen Dicke der Schnitte. Die Schnitte im Fall *M3-99* hatten eine Schnittdicke von 40µ, im Fall *M4-04* von 20µ. Aus färbetechnischen Gründen mussten diese dünner geschnitten werden. Dies machte sich in der weniger starken Neuropilfärbung bemerkbar.

Mit Hilfe des Markers PH8 konnten serotoninerge Neurone auch im Menschen dargestellt werden (Haan et al., 1987; Baker et al., 1991; Halliday et al., 1993). Es zeigte sich vor allem bei den Gruppen *PMT-1* bis *PMT-4* und *PMT-5b*, dass keine serotoninergen Neurone innerhalb dieser Gruppen zu finden waren. Diese neuen PMT-Gruppen lagen zwar ähnlich der serotoninergen Rapheneuronen an der Mittellinie verteilt, sind jedoch funktionell von diesen zu unterscheiden, da ihre Funktion in der Blickstabilisierung liegt. Ähnlich wie beim Makaken, waren in *PMT-5a* serotoninerge Neurone mit PMT-Neuronen zwischen den Faszikeln des MLF vermischt.

4.2.1.1. *PMT-1* Zellen.

Der Vergleich dieser Zellgruppe im Menschen zeigte, dass an der Mittellinie der Medulla, auf Höhe des *Nucleus hypoglossus*, vereinzelt kleinere Zellgruppen lagen, deren Neuropil hervorgehoben werden konnte und diese nicht serotoninerge waren. Auf Grund dieser Eigenschaften ließ sich folgern, dass diese Neurone zu einer PMT-Gruppe gerechnet werden dürfen. Da diese in der caudalen Medulla lagen, wurden sie analog zum Makaken mit *PMT-1* bezeichnet.

4.2.1.2. PMT-2 Zellen.

Rostral zur *PMT-1* Gruppe, auf Höhe des *Nucleus praepositus hypoglossi* an der Mittellinie der Medulla, lag eine weitere Gruppe von Neuronen mit den gleichen Eigenschaften. Diese Zellgruppen waren den Neuronen des dorsalen *Nucleus pararafales* (Olszewski and Baxter, 1954) morphologisch wie histochemisch ziemlich ähnlich. Der *Nucleus pararafales* bildet an der Mittellinie entlang, einzelne zu Gruppen zusammengefasste Bereiche, deren Neuropil, mit Hilfe von AchE, deutlich sichtbar gemacht werden konnte. Ebenso waren diese Neurone nicht serotoninerg. Nach ventral ging der *Nucleus pararafales* in den *Nucleus arcuatus* kontinuierlich über. Diese Zellen waren in ihrer Morphologie ähnlich denen im *Nucleus pararafales*, polygonal und multipolar. Der *Nucleus arcuatus* war ebenso frei von serotoninergen Zellen. Wie weit der *Nucleus pararafales* nach ventral mit der *PMT-2* Gruppe des Makaken homolog ist, konnte auf Grund dieser Datenlage nicht entschieden werden (**Abb.4.2 PMT-2**). Dennoch werden der *Nucleus pararafales* und der *Nucleus arcuatus* als Kerne mit unbekannter Funktion bezeichnet (Olszewski and Baxter, 1954). Auf Grund der starken Neuropilanfärbung des *Nucleus pararafales* und der wenigen serotoninergen Neurone in diesen Kernen, wurde der dorsale Teil als *PMT-2* gleichgesetzt. Seine Funktion liegt daher eindeutig in der Blickstabilisierung.

4.2.1.3. PMT-3 Zellen.

Der *Nucleus supragenualis* (sg) konnte mit Hilfe des enzymatischen Acetylcholin-Esterase (AchE) Nachweises gut dargestellt werden. Da dieser von Langer et al. (1985a), als eigenständige PMT-Gruppe bezeichnet wurde, ist diese Gruppe höchstwahrscheinlich mit der des Makaken homolog und wird hier als *PMT-3* bezeichnet.

4.2.1.4. PMT-4 Zellen.

Leider war hier das Neuropil im dorsalen Teil des *Nucleus abducens*, im Gegensatz zum Affen, nicht sehr stark angefärbt. Doch andere Gruppen, wie der sg, konnte gut dargestellt werden. Dies dürfe im Fall *M2-90* sich um ein färbetechnisches Artefakt handeln. Wahrscheinlich war das Gewebe in dieser Region zu stark fixiert, was einen

hinreichenden AchE-Nachweis nicht mehr ermöglichte. Der immunhistochemische Nachweis von CO zeigte zwischen den Abduzenskernen, eine Gruppe mit deutlicher Neuropilfärbung. Das Neuropil war auch hier im dorsalen Abduzenskern nur schwach darstellbar. Dies war im gesamten Abduzenskern gleich bleibend. Nur durch den Vergleich mit potenziellen Motoneuronen (ChAT), war man in der Lage, die putativen *PMT-4a* Neurone im *Nucleus abducens* darzustellen. Die Gruppe zwischen den Abduzenskernen, medial zum MLF, war wiederum erkennbar und wurde als *PMT-4b* Gruppe identifiziert.

4.2.1.5. PMT-5 Zellen.

Die Präabduzensregion, welche mit der dorsalen Kappe des *Nucleus abducens* ein Kontinuum bilden soll (Langer et al., 1985a), war auch im Menschen gut darzustellen. Das stark angefärbte Neuropil war auch im Menschen zu finden und dürfte von der Lage her mit der *PMT-5a* Gruppe homolog sein. Auch kamen hier, ähnlich wie beim Makaken, serotoninerge und CO-positive-Neurone gemischt vor.

Die am Makaken weniger gesicherte Region *PMT-5b* war beim Menschen ebenso schwer zu erkennen. Dabei dürfte es sich um Zellen handeln, welche unmittelbar nahe zum *Nucleus raphes dorsalis* liegen, jedoch von diesen Zellen unterschieden werden müssen.

Anders lagen die Verhältnisse in der ventral zum MLF gelegenen Gruppe von Neuronen, welche nicht serotoninerge waren und im Makaken eine eigenständige Gruppe bildeten. Dort war die PMT-Gruppe eher von der Mittellinie nach lateral, u-förmig, gerichtet (**Abb.4.1 PMT-5c**). Beim Menschen war die Gruppe eher als Kern mit dorso-ventraler Ausrichtung zu erkennen (**Abb.4.2 PMT-5c**). Diese Gruppe dürfte mit der im Makaken beschriebenen *PMT-5c* Gruppe homolog sein.

Die Übersicht in **Abb.4.2** zeigt die homologen PMT-Gruppen in Menschen, welche mit Vergleichen am Makaken gefunden wurden. Da die *PMT-6* Gruppe im Makaken nicht hinreichend beschrieben werden konnte, ist diese auch im Menschen nicht gezeigt.

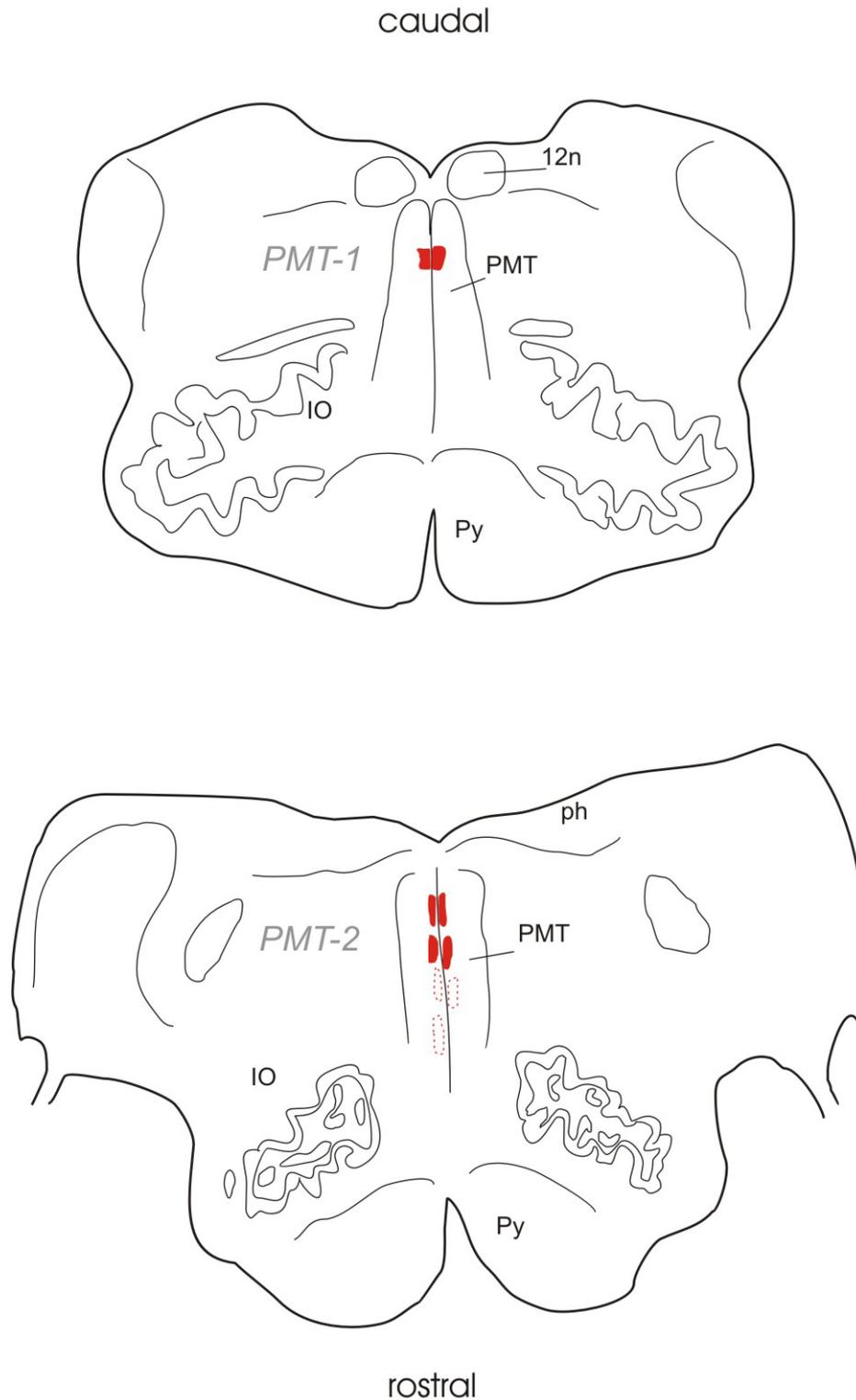


Abb.4.2: Schematische Übersicht aller im Menschen beschriebenen und mit Daten vom Makaken verglichenen PMT-Gruppen (*PMT-1* bis *PMT-5*). Da auf Grund der Daten nicht entschieden werden konnte, wie weit die *PMT-2* Gruppe nach ventral reicht, wurde diese Gruppe im ventralen Abschnitt schwächer dargestellt. Die *PMT-6* Gruppe konnte im Makaken nicht eindeutig identifiziert werden, daher ist sie auch hier nicht dargestellt. Abkürzungen siehe Anhang.



Abb.4.2 f

4.3. Identifizierung der PMT-Neurone bei Primaten und Menschen.

Auf Grund der vergleichbaren Verteilung der PMT-Gruppen beim Makaken und Menschen, dürfen die PMT-Neurone in Zukunft nicht mehr mit den serotoninergeren Rapheneuronen verwechselt werden. Der Vergleich CO-positiver PMT-Neurone mit serotoninergeren Raphe-Neuronen an der Mittellinie erbrachte den Beweis: McCrea et al. (1987a,b) hatten beide Zellpopulationen nicht sauber voneinander getrennt.

Das Ziel dieser Arbeit war dahingehend erreicht, die meisten PMT-Neurone im Primatengehirn eindeutig abzugrenzen und die analogen Gruppen im Menschen zu identifizieren. Die von Langer et al. (1985a) beschriebenen PMT-Gruppen konnten erstmalig funktionell unterteilt und näher charakterisiert werden. Die Gruppen *PMT-4b*, *PMT-5b* und *PMT-5c*, wurden als eigenständige Gruppen erstmalig beschrieben.

4.4. Bedeutung der PMT-Neurone bei der Blickstabilisierung.

Wie in Abschnitt 1.1.3. gezeigt, sind neuronale Integratoren für die Blickstabilisierung von großer Bedeutung. Als Integrator für die vertikalen Augenbewegungen ist der interstitielle Cajalkern (iC), für die horizontale Augenbewegung der *Nucleus prepositus hypoglossi* (ph), zusammen mit dem medialen Vestibulariskern, zuständig. Deren Information gelangt über die Vestibulariskerne zum Kleinhirn. Ebenso besteht eine Rückantwort vom Kleinhirn über die Vestibulariskerne zu den Integratoren (**Abb.1.5**).

Es konnte weiter gezeigt werden, dass sämtliche PMT-Gruppen aus prämotorischen Arealen Eingänge bekommen und diese zum Flocculus bzw. ventralen Paraflocculus projizieren (Büttner-Ennever et al., 1989 und eigene Beobachtung). Hier konnte eine anatomische Rückprojektion vom Flocculus zu den PMT Zellen nicht nachgewiesen werden (Langer et al., 1985b). Nakamagoe et al. (2000) zeigten durch gezieltes Ausschalten einer dieser PMT-Gruppen, dass dies zu Defiziten in der Blickstabilisierung führt (siehe Abschnitt 1.2.4). Deren physiologische Daten korrelierten mit vertikalen Augenbewegungen. Aus ihren Daten ist zu entnehmen, dass es sich hierbei um die *PMT-5b* bzw. *PMT-5c* handelt (**Abb.4.1** und **Abb.4.2**). Die Auswertungen am Makaken zeigten eindeutig, dass eine dieser beiden PMT-Zellgruppen (*PMT-5c*) Eingänge aus prämotorischen Regionen für vertikale Augenbewegungen (iC) erhielten.

In dieser Arbeit konnte weiter gezeigt werden, dass die PMT-Gruppen in horizontale und vertikale aufgeteilt werden können (siehe Abschnitt 4.1.5). Die einzelnen Gruppen liegen getrennt vor. Dies konnte im Makaken auf Grund unterschiedlicher afferenter Projektionen nachgewiesen werden. Im Menschen konnten diese Gruppen ebenso dargestellt werden. Jedoch kann die Frage nach horizontalen oder vertikalen PMT-Neuronen nur an Hand von kleinsten Läsionen am Makaken eindeutig gelöst werden. Ob die funktionelle Aufteilung der PMT-Gruppen sich auch beim Menschen so verhält wie beim Makaken, kann genau genommen nur die phylogenetische Verwandtschaft beider Species beantworten.

Am wahrscheinlichsten ist die Annahme, dass die Übermittlung von Augenpositionsinformationen zum Kleinhirn auf zwei getrennte Wege möglich ist. Zusätzlich zu den Vestibulariskernen, ermöglichen dies die PMT-Gruppen, welche am deutlichsten bei den Primaten, einschließlich des Menschen, ausgeprägt wurden. Da ihr Vorkommen mit der Ausdifferenzierung des visuellen Systems einhergeht, wäre dies mit der Fähigkeit zu erklären, Augenbewegungen unabhängig von der Kopfbewegung zu generieren. Niedere Säuger, wie die Ratte, können die Augenbewegung von der Kopfbewegung nicht entkoppeln.

4.5. Pathologie.

Da die PMT-Neurone nun auch im Menschen beschrieben und hinreichend charakterisiert wurden, soll nun abschließend auf die Pathologie der PMT-Neurone bei Augenbewegungen eingegangen werden.

Störungen der Augenbewegungen, wie Nystagmen, sind meist Läsionen des Hirnstamms und/oder des Kleinhirns zuzuordnen. Driftet das Auge in die ursprüngliche Augenposition zurück, so bezeichnet man dies als gaze-evoked nystagmus. Untersuchungen an Patienten zeigten, dass der postsakkadische Drift nach Läsion mit einer Zeitkonstanten von mehr als 1,3 sec. erfolgt. Somit ist diese wesentlich länger als jene nach einer Läsion in die Region des *Nucleus praepositus hypoglossi*, (ph), welche nur 200 msec. beträgt (Büttner and Büttner-Ennever, 1988). Da nach einer Hirnstamm Läsion das Auge wesentlich schneller in die Ausgangsposition zurückdriftet, ist zu vermuten, dass der Integrator (ph) bei horizontal geführten Sakkaden ausschlaggebend für die Augenposition ist und er hierbei vom Flocculus unterstützt wird (Büttner and Büttner-Ennever, 1988).

Eine seltene Art von Nystagmen, ist der „upbeat“-Nystagmus. Hier driften beide Augen nach unten. Es ist den Patienten nicht möglich geradeaus zu schauen bzw. einem Punkt zu folgen (SPEM Defizit).

Einigen Berichten nach sind Läsionen in der Medulla dafür verantwortlich (Keane and Itabashi, 1987 ; Rousseaux et al., 1991). Baloh und Yee (1989) beschrieben eine sehr caudale Lesion in der Medulla oblongata (**Abb.4.3**). So weit nach caudal kann sich der ph jedoch nicht erstrecken, deren Läsion ebenso einen vertikalen Nystagmus auslösen könnte. Eine mögliche anatomische Struktur könnten die beiden caudalsten *PMT-1* und *PMT-2* Gruppen bilden. Sie reichen weit nach caudal in die Region, in der die Läsionen von Baloh und Yee (1989) beschrieben wurden (Büttner et al., 1995).

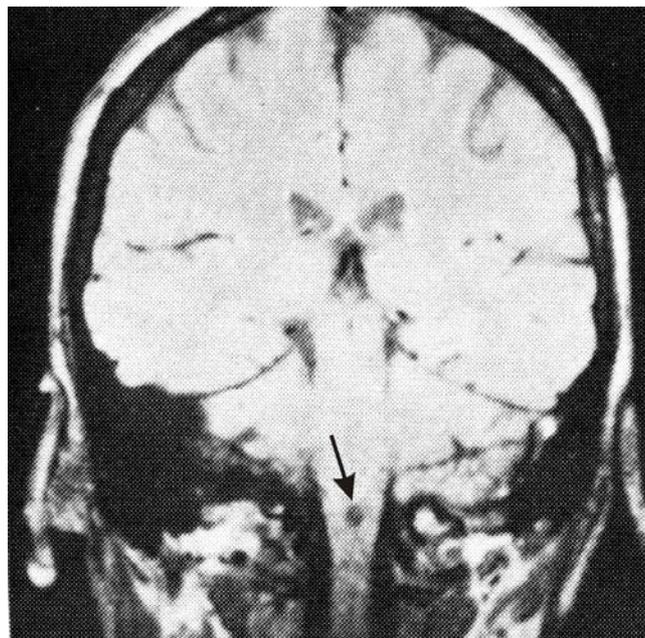


Abb.4.3.: Coronale MRI Aufnahme eines Patienten mit upbeat Nystagmus. Der Pfeil deutet die Läsion in der caudalen Medulla an. Aus Baloh and Yee (1989), verändert.

4.6. Ausblick.

In der folgenden Arbeit wurden fünf PMT-Gruppen, mit neuen Untergruppen im Makaken und Menschen identifiziert und histologisch beschrieben werden. Bei der *PMT-6* Gruppe war man sich, auf Grund der schwachen Neuropilanfärbung, unsicher. Daher wurde sie auch im Menschen hier nicht näher beschrieben. Sämtliche PMT-Gruppen wurden durch Vergleiche einzelner Frontalschnitte ermittelt. Hierbei konnte man ihre Lage an der Mittellinie gut darstellen und beschreiben. Weiter gelang es erstmalig die PMT-Gruppen in horizontale und vertikale Subgruppen aufzuteilen. Es konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die PMT-Gruppen in vertikalen sowie horizontalen Gruppen getrennt vorliegen. Langer et al. (1985a) beschrieben die PMT-Zellen auch als ein Kontinuum entlang der Medulla und Pons. In wie weit dieses Kontinuum besteht konnte hiermit nicht eindeutig geklärt werden. Dies bedarf einer genaueren, computergestützten Auswertung, mit Hilfe einer speziellen Software (Neurolucida).

Die PMT-Zellgruppen sind auch Gegenstand neuester biokybernetischer Modellierungen (Dean et al., 2002; Glasauer, 2003; Porrill et al., 2004). Das Feedback-Signal der Augenposition, welches die PMT-Neurone dem Kleinhirn vermitteln, wird hierbei mathematisch modelliert. Die PMT-Neurone werden hierbei bei der neuronalen Integration berücksichtigt (Abschnitt 1.1.3). Wird die Zeitkonstante in diesen Modellen variiert, so ergeben sich Nystagmen wie im Abschnitt 4.5 beschrieben (Glasauer, 2003).

5. Literatur.

- Anderson JH, Precht W and Pappas C (1979) Changes in the vertical vestibulo-ocular reflex due to kainic acid lesions of the interstitial nucleus of Cajal. *Neurosci. Lett.* 14: 259-264.
- Aschoff JC and Cohen B (1971) Changes in saccadic eye movements produced by cerebellar cortical lesions. *Exp. Neurol.* 32: 123-133.
- Baker KG, Halliday GM, Halasz P, Hornung JP, Geffen LB, Cotton RGH and Törk I (1991) Cytoarchitecture of Serotonin-Synthesizing Neurons in the Pontine Tegmentum of the Human Brain. *Synapse* 7: 301-320.
- Baker KG, Halliday GM, Kril JJ and Harper CG (1996) Chronic Alcoholics without Wernicke-Korsakoff Syndrome or Cirrhosis Do Not Lose Serotonergic Neurons in the Dorsal Raphe Nucleus. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 20:(1). 61-66.
- Baloh RW and Yee RD (1989) Spontaneous vertical nystagmus. *Rev. Neurol.* 145: 527-532.
- Belknap DB and McCrea RA (1988) Anatomical connections of the prepositus and abducens nuclei in the squirrel monkey. *J Comp. Neurol.* 268: 13-28.
- Bender MB and Shanzer S (1964) Oculomotor pathways defined by electric stimulation and lesions in the brain stem of the monkey. In: MB Bender (Ed), *The Oculomotor System*, Harper and Row, New York, pp 81-140.
- Blanks RH and Blanks JC (1980) Afferents to the cerebellar flocculus in cat conveying visual input. *ARVO Abstr.* 58.
- Blanks RHI and Torigoe Y (1983) Two neuronal groups associated with the medial longitudinal fasciculus (MLF) of cat and rat, that convey vestibular impulses to cerebellar flocculus. *Soc. Neurosci. Abstr.* 9: 608.
- Blanks RHI, Precht W and Torigoe Y (1983) Afferent Projections to the Cerebellar Flocculus in the Pigmented Rat Demonstrated by Retrograde Transport of Horseradish Peroxidase. *Exp. Brain Res.* 52: 293-306.

Brodal A (1952) Experimental demonstration of cerebellar connexions from the perihypoglossal nuclei (nucleus intercalatus, nucleus praepositus hypoglossi, and nucleus of Roller) in the cat. *J Anat.* 86: 110-129.

Brodal A (1957) The reticular formation of the brain stem. Anatomical aspects and functional correlations. The William Ramsay Henderson Trust Lectures No. XVIII. Oliver and Boyd, Edinburgh.

Brodal A (1981) *Neurological Anatomy*. Oxford University Press, Oxford.

Brodal A and Brodal P (1983) Observations on the projection from the perihypoglossal nuclei onto the cerebellum in the macaque monkey. *Arch. Ital. Biol.* 121: 151-166.

Brodal A and Brodal P (1985) Observations on the secondary vestibulocerebellar projections in the macaque monkey. *Exp. Brain Res.* 58: 62-74.

Brodal A and Torvik A (1954) Cerebellar projection of paramedian reticular nucleus of medulla oblongata in cat. *J Neurophysiol.* 17: 484-495.

Büttner U, Büttner-Ennever JA and Henn V (1977a) Vertical eye movement related unit activity in the rostral mesencephalic reticular formation of the alert monkey. *Brain Res.* 130: 239-252.

Büttner U, Büttner-Ennever JA (1988) Present concepts of oculomotor organisation. In: Büttner-Ennever JA (ed) *Neuroanatomy of the Oculomotor System*. Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford 3-32.

Büttner U and Waespe W (1984) Purkinje cell activity in the primate flocculus during optokinetic stimulation, smooth-pursuit eye movements and VOR-suppression. *Exp. Brain Res.* 55: 97-104.

Büttner U, Helmchen Ch, Büttner-Ennever JA (1995) The localizing value of nystagmus in brainstem disorders. *Neuro-ophthalmology.* 15: 283-290.

- Büttner U, Glasauer S, Glonti L, Guan Y, Kipiani E, Kleine J, Siebold C, Tchelidze and Wilden A (2003) Multimodal Signal Integration in Vestibular Neurons of the primate Fastigial Nucleus. Reprinted from: *The Oculomotor and Vestibular Systems. Their Function and Disorders.* pp 241-251. Volume 1004 of the *Annals of the New York academy of Science.*
- Büttner-Ennever JA (1981a) Anatomy of medial rectus subgroups in the oculomotor nucleus of the monkey. In: AF Fuchs and W Becker (Eds), *Progress in Oculomotor Research*, Elsevier, Amsterdam, 247-252.
- Büttner-Ennever JA (1992) Paramedian Tract Cell Groups: A Review of Connectivity and Oculomotor Function. In: Shimazu H Shinoda Y (ed) *Vestibular and Brain Stem Control of Eye, Head and Body Movements.* Japan Scientific Societies Press, Tokyo/S. Karger, Basel 323-330.
- Büttner-Ennever JA and Akert K (1981) Medial rectus subgroups of the oculomotor nucleus and their abducens input in the monkey. *J Comp. Neurol.* 197: 17-21.
- Büttner-Ennever JA and Büttner U (1978) A cell group associated with vertical eye movements in the rostral mesencephalic reticular formation of the monkey. *Brain Res.* 151: 31-47.
- Büttner-Ennever JA, Büttner U (1988) The reticular formation. In: Büttner-Ennever JA (ed) *Neuroanatomy of the Oculomotor System.* Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford 119-176.
- Büttner-Ennever JA Horn AKE (1996) Pathways from Cell Groups of the Paramedian Tracts to the Floccular Region. In: Highstein SM et al. *New Directions in Vestibular Research.* *Annals of the New York Academy of Sciences* 781: 532-540.
- Büttner-Ennever JA, Büttner U, Cohen B and Baumgartner G (1982) Vertical gaze paralysis and the rostral interstitial nucleus of the medial longitudinal fasciculus. *Brain.* 155:125-149.
- Büttner-Ennever JA, Cohen B, Pause M and Fries W (1988) Raphe Nucleus of the Pons Containing Omnipause Neurons of the Oculomotor System in the Monkey, and Its Homologue in Man. *J Comp. Neurol.* 267: 307-321.
- Büttner-Ennever JA, Horn AKE, Schmidtke K (1989) Cell Groups of the Medial Longitudinal Fasciculus and Paramedian Tracts. *Rev. Neurol. (Paris)* 145: 533-539.

Cannon SC and Robinson DA (1987) Loss of the neural integrator of the oculomotor system from brain stem lesions in monkey. *J Neurophysiol.* 57: 1383-1409.

Carpenter RSH (1972) Cerebellectomy and the transfer function of the vestibulo-ocular reflex in the decerebrate cat. *Proc. Roy. Soc. B* 181: 353-374.

Cheron G, Saussez S, Gerrits N and Godaux E (1995) Existence in the Nucleus Incertus of the Cat of Horizontal-Eye-Movement-Related Neurons Projecting to the Cerebellar Flocculus. *74(3):* 1367-1372.

Chrawford JD, Cadera W, Vilis T (1991) Generation of torsional and vertical eye position signals by the interstitial nucleus of Cajal. *Science.* Jun 14; 252(5012): 1551-1553.

Chubb MC and Fuchs AF (1982) Contribution of γ group of vestibular nuclei and dentate nucleus of cerebellum to generation of vertical smooth eye movements. *J Neurophysiol.* 48: 75-99. Crawford JD, Cadera W and Vilis T (1991) Generation of torsional and vertical eye position signals by the interstitial nucleus of Cajal. *Science* 252: 1551-1553.

Cohen B, Komatsuzaki A and Bender MB (1968) Electrooculographic syndrome in monkeys after pontine reticular formation lesions. *Arch. Neurol.* 18: 78-92.

Dean P, Porrill J and Stone JV (2002) Decorrelation control by the cerebellum achieves oculomotor plant compensation in simulated vestibulo-ocular reflex. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269: 1895-1904.

Deiters O (1865) *Untersuchungen über Gehirn und Rückenmark des Menschen und der Säugetiere.* Herausgegeben von M Schultze. Druck und Verlag von Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig.

Dow RS and Manni E (1964) The relationship of the cerebellum to extraocular movements. In MB Bender (Ed.), *The Oculomotor System*; Hoeber, New York, pp. 280-292.

Elliot LJ and Snider DW (1995) Parvalbumin is a marker of ALS-resistant motor neurons. *NeroReport* 6: 449-452.

- Fernandez, C and Goldberg, JM (1971) Physiology of peripheral neurons innervating semicircular canals of the squirrel monkey. II Response to sinusoidal stimulation and dynamics of peripheral vestibular system. *J Neurophysiol.* 34: 661-675.
- Forel, A (1877) Untersuchungen über die Haubenregion und ihre oberen Verknüpfungen im Gehirn des Menschen und einiger Säugetiere, mit Beiträgen zu den Methoden der Gehirnuntersuchungen. *Arch. Psychiat.* 7: 1-495.
- Fuchs AF, Robinson FR, Straube A. (1993) Role of the caudal fastigial nucleus in saccade generation. I. Neuronal discharge pattern. *J Neurophysiol.* 70(5): 1723-40.
- Fukushima K (1987) The interstitial nucleus of Cajal and its role in the control of movements of head and eyes. *Progr. Neurobiol.* 29: 107-192.
- Fukushima K, Kaneko CRS and Fuchs AF (1992) The neuronal substrate of integration in the oculomotor system. *Prog. Neurobiol.* 39: 609-639.
- Geneser-Jensen FA, Blackstad TW (1971) Distribution of acetyl cholinesterase in the hippocampal region of the guinea pig. I. Entorhinal area, parasubiculum, and presubiculum. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 114(4):460-81.
- Gerrits NM and Voogd J (1982) The climbing fiber projections to the flocculus and adjacent paraflocculus in the cat. *Neuroscience* 7: 2971-2991.
- Glasauer S (2003) Cerebellar Contribution to Saccades and Gaze Holding. A Modelling Approach. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1004: 206-219.
- Glickstein M, Gerrits N, Lralj-Hans I, Mercier B, Stein J, and Voogd J (1994) Visual Pontocerebellar Projections in the Macaque. *J Comp. Neurol.* 349: 51-72.
- Godaux E, Mettens P, Cheron G. Related Articles (1993) Differential effect of injections of kainic acid into the prepositus and the vestibular nuclei of the cat. *J Physiol.* 472: 459-82.

- Goebel HH, Komatsuzaki A, Bender MB and Cohen B (1971) Lesions of the pontine tegmentum and conjugate gaze paralysis. *Arch. Neurol. (Chic.)* 24: 431-440.
- Goldberg JM and Fernandez C (1980) Efferent vestibular system in the squirrel monkey: anatomical location and influence on afferent activity. *J Neurophysiol.* 43: 986-1025.
- Graybiel AM (1977a) Direct and indirect preoculomotor pathways of the brainstem: an autoradiographic study of the pontine reticular formation in the cat. *J Comp. Neurol.* 165: 37-78.
- Graybiel AM (1977b) Organization of oculomotor pathways in the cat and rhesus monkey. In: R Baker and A Berthoz (Eds), *Control of Gaze by Brain Stem Neurons, Developments in Neuroscience Vol. 1*, Elsevier, Amsterdam, pp. 79-88.
- Haan EA, Jennings IG, Cuello AC, Nakata H, Fujisawa H, Chow CW, Kushinsky R, Brittingham J and Cotton RGH (1987) Identification of serotonergic neurons in human brain by a monoclonal antibody binding to all three aromatic amino acid hydroxylases. *Brain Research.* 426: 19-27.
- Halliday G, Ellis J, Heard R, Caine D and Harper C (1993) Brainstem Serotonergic Neurons in Chronic Alcoholics with and without the Memory Impairment of Korsakoff's Psychosis. *J Neuropathol. Exp. Neurol.* 52:(6) 567-579.
- Halliday GM, Li YW, Joh TH, Cotton RGH, Howe PRC, Geffen LB and Blessing WW (1988) Distribution of Monoamine-Synthesizing Neurons in the Human Medulla Oblongata. *J Comp. Neurol.* 273: 301-317.
- Hassler R (1972) Supranuclear structures regulating binocular eye and head movements. In: J Dichgans and E Bizzi (Eds.), *Cerebral Control of Eye Movements and Motion Perception, Bibl. Ophthal. Vol.82*, Karger, Basel, pp. 207-219.
- Hassler R and Hess WR (1954) Experimentelle und anatomische Befunde über die Drehbewegungen und ihre nervösen Apparate. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 192: 488-526.
- Hess WR (1954) *Das Zwischenhirn, Syndrome, Lokalisationen, Funktionen.* Schwabe, Basel. For translation see: *Biological Order and Brain Organization. Selected Works of WR Hess*, Edited by K. Akert (1981) Springer, Berlin.

- Highstein SM, Goldberg JM, Moschovakis AK and Fernandez C (1987) Secondary neurons. Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the Squirrel monkey: II Correlation with output pathways of secondary neurons. *J Neurophysiol.* 58: 714-739.
- Hoddevik G (1978) The projections from the nucleus reticularis tegmenti pontis onto the cerebellum in the cat. A study using methods of anterograde degeneration and retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Anat. Embryol.* 153: 227-242.
- Horn AKE and Büttner-Ennever JA (1998) Premotor Neurons for Vertical Eye Movements in the Rostral Mesencephalon of Monkey and Human: Histologic Identification by Parvalbumin Immunostaining. *J Comp. Neurol.* 392: 413-427.
- Horn AKE, Büttner-Ennever JA, Wahle P and Reichenberger I (1994) Neurotransmitter Profile of Saccadic Omnipause Neurons in Nucleus Raphe Interpositus. *J Neuroscience.* 14(4): 2032-2046.
- Horn AKE, Büttner-Ennever JA, Suzuki Y and Henn V (1995) Histological Identification of Premotor Neurons for Horizontal Saccades in Monkey and Man by Parvalbumin Immunostaining. *J Comp. Neurol.* 359: 350-363.
- Horn AKE, Büttner-Ennever JA, Gayde M and Messoudi A (2000) Neuroanatomical Identification of Mesencephalic Premotor Neurons Coordinating Eyelid With Upgaze in the Monkey and Man. *J Comp. Neurol.* 420: 19-34.
- Hyde JE and Toczek S (1962) Functional relation of interstitial nucleus to rotatory movements evoked from zona incerta stimulation. *J Neurophysiol.* 25: 455-466.
- Jansen J and Brodal A (1940) Experimental studies on the intrinsic fibers of the cerebellum. II: The corticonuclear projections. *J Comp. Neurol.* 73: 267-321.
- Jansen J and Brodal A (1942) Experimental studies on the intrinsic fibers of the cerebellum. The cortico-nuclear projections in the rabbit and monkey (*Macacus rhesus*). *Skrifter Urigill av det Norske Videnskaps-Academi i Oslo, I. Matematisk-Naturvidenskapelig Klass*, 3: 1-50.
- Judge SJ (1987) Optically-induced changes in tonic vergence and AC/A ratio in normal monkeys with lesions of the flocculus and ventral paraflocculus. *Exp. Brain Res.* 66: 1-9.

Karten JH and Hodos W (1967) A Stereotaxic Atlas of the Brain of the Pigeon (*Columba livia*). The Johns Hopkins Press, Baltimore.

Kaufmann GD, Mustari MJ, Miselis RR and Perachio AA (1996) Transneuronal Pathways to the Vestibulocerebellum. *J Comp. Neurol.* 370: 501-523.

Keane JR and Itabashi HH (1987) Upbeat nystagmus: clinicopathologic study of two patients. *Neurology* 37: 491-494.

Keller EL (1974) Participation of medial pontine reticular formation in eye movement generation in monkey. *J Neurophysiol.* 37: 316-332.

Keller EL and Crandall WF (1983) Neuronal responses to optokinetic stimuli in the pontine nuclei of behaving monkey. *J Neurophysiol.* 49: 169-187.

King WM and Fuchs AF (1979) Reticular control of vertical saccadic eye movements by mesencephalic burst neurons. *J Neurophysiol.* 42: 861-876.

Kömpf D, Pasik T, Pasik P and Bender MB (1979) Downwardgaze in monkeys. Stimulation and lesion studies. *Brain* 102: 527-558.

Kotchabhakdi N and Walberg F (1977) Cerebellar afferents from neurons in motor nuclei of cranial nerves demonstrated by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 137: 158-163.

Langer T, Fuchs AF, Scudder CA and Chubb MC (1985a) Afferents to the Flocculus of the Cerebellum in the Rhesus Macaque as Revealed by Retrograde Transport of Horseradish Peroxidase. *J Comp. Neurol.* 235: 1-25.

Langer T, Fuchs AF, Chubb MC, Scudder CA and Lisberger SG (1985b) Floccularefferents in the rhesus macaque as revealed by autoradiography and horseradish peroxidase. *J Comp. Neurol.* 235: 26-37.

- Langer T, Kaneko CRS, Scudder CA and Fuchs AF (1986) Afferents to the Abducens Nucleus in the Monkey and Cat. *J Comp. Neurol.* 245: 379-400.
- Larsell O (1967) *The Comparative Anatomy and Histology of the Cerebellum from Myxinoidea through Birds.* J Jansen (Ed), University of Minnesota Press, Minneapolis.
- Larsell O (1970) *The Comparative Anatomy and Histology of the Cerebellum from Monotremes through Apes.* University of Minnesota Press, Minneapolis.
- Larsell O and Jansen J (1972) *The Comparative Anatomy and Histology of the Cerebellum: The Human Cerebellum, Cerebellar Connections and Cerebellar Vortex.* University of Minnesota Press, Minneapolis.
- Leigh RJ and Zee DS (1999) *The Neurology of Eye Movements.* Oxford University Press. New York Oxford. Third Edition.
- Lisberger SG and Fuchs AF (1978a) Role of primate flocculus during rapid behavioral modification of vestibuloocular reflex. I. Purkinje cell activity visually guided horizontal smooth-pursuit eye movements and passive head rotation. *J Neurophysiol.* 45: 733-763.
- Lisberger SG and Pavelko TA (1984) Functional properties of brainstem cells inhibited from the cerebellar flocculus in monkey. *Soc. Neurosci. Abstr.* 10: 988.
- Lisberger SG, Miles FA, Optican LM and Eighmy BB (1981) Optokinetic response in monkey: Underlying mechanisms and their sensitivity to long-term adaptive changes in vestibuloocular reflex. *J Neurophysiol.* 45: 869-890.
- Llinás RR and Simpson JI (1981) Cerebellar control of movement, In: AL Towe and ES Luschei (Eds), *Handbook of Behavioral Neurobiology.* Vol, 5 pp. 231-302.
- Maas EF, Ashe J, Spiegel P, Zee DS and Leigh RJ (1991) Acquired pendular nystagmus in toluene addiction. *Neurology.* 41: 282-285.

- Maciewicz RJ and Spencer RF (1977) Oculomotor and abducens internuclear pathways in the cat. In: R Baker and A Berthoz (Eds), *Control of Gaze by Brain Stem Neurons*, Elsevier, Amsterdam, pp. 99-108.
- Maciewicz RJ, Kaneko CRS, Highstein SM and Baker R (1975) Morphophysiological identification of interneurons in the oculomotor nucleus that project to the abducens nucleus in the cat. *Brain Res.* 96: 60-65.
- Maunsell JHR and Van Essen DC (1983) The connections of the middle temporal visual area (MT) and their relationship to a cortical hierarchy in the macaque monkey. *J Neurosci.* 3: 2563-2586.
- May JG, Keller EL and Crandall WF (1985) Changes in eye velocity during smooth pursuit tracking induced by microstimulation in the dorsolateral pontine nucleus of the macaque. *Soc. Neurosci. Abstr.* 11: 79.
- Mays LE and Porter JD (1984) Neural control of vergence eye movements: Activity of abducens and oculomotor neurons. *J Neurophysiol.* 52: 743-761.
- Mays LE, Porter JD, Gamlin PDR and Tello CA (1986) Neural control of vergence eye movements: neurons encoding vergence velocity. *J Neurophysiol.* 56: 1007-1021.
- McCrea RA (1988) The nucleus prepositus. In: Büttner-Ennever JA (ed) *Neuroanatomy of the Oculomotor System*. Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford 119-176.
- McCrea RA, Strassman A and Highstein SM (1986) Morphology and physiology of abducens motoneurons and internuclear neurons intracellularly injected with horseradish peroxidase in alert squirrel monkeys. *J Comp. Neurol.* 243: 291-308.
- McCrea RA, Strassman A, May E and Highstein SM (1987a) Anatomical and physiological characteristics of vestibular neurons mediating the horizontal vestibulo-ocular reflex in squirrel monkey. *J Comp. Neurol.* 264: 547-570.
- McCrea RA, Strassman A and Highstein SM (1987b) Anatomical and physiological characteristics of vestibular neurons mediating the vertical vestibulo-ocular reflex in squirrel monkey. *J Comp. Neurol.* 264: 571-594.

- Melvill Jones G and Milsum JH (1970) Characteristics of neural transmission from the semicircular canal to the vestibular nuclei of cats. *J Physiol. (Lond.)*, 209: 295-316.
- Mettens P, Godaux E, Cheron G, Galiana HL (1994) Effect of muscimol microinjections into the prepositus hypoglossi and the medial vestibular nuclei on cat eye movements. *J Neurophysiol.* 72(2): 785-802.
- Miles FA, Fuller JH, Braitman DJ and Dow BM (1980a) Long-term adaptive changes in primate vestibuloocular reflex. III. Electrophysiological observations in flocculus of normal monkeys. *J Neurophysiol.* 43: 1427-1476.
- Nakamagoe K, Iwamoto Y and Yoshida K (2000) Evidence for Brainstem Structures Participating in Oculomotor Integration. *Science* 288: 857-859
- Nakao S, Curthoys IS and Markham CH (1980) Eye movement related neurons in the cat pontine reticular formation: Projection to the flocculus. *Brain Res.* 183: 291-299.
- Newman DB (1985a) Distinguishing rat brainstem reticulospinal nuclei by their neuronal morphology. I. Medullary Nuclei. *J Hirnforsch.* 26: 187-226.
- Newman DB (1985b) Distinguishing rat brainstem reticulospinal nuclei by their neuronal morphology. II. Pontine and Mesencephalic Nuclei. *J Hirnforsch.* 26: 385-418.
- Nieuwenhuys R, Voogd J, van Huijzen Chr (1991) *Das Zentralnervensystem des Menschen*. Übersetzt von W. Lange. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York. Zweite, vollständig überarbeitete Auflage.
- Nieuwenhuys R, Ten Donkelaar HJ and Nicholson C (1998) *The Central Nervous System of Vertebrates*. Vol. 1-3. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- Noda H (1991) Cerebellar control of saccadic eye movements: its neural mechanisms and pathways. *Jpn J Physiol.* 41(3): 351-68. Review.

- Noda H and Suzuki DA (1979) Processing of eye movement signals in the flocculus of the monkey. *J Physiol. (Lond.)* 294: 349-364.
- Noback CR (1959) Brain of the gorilla. II. Brain stem nuclei. *J Comp. Neurol.* 111: 345-386.
- Olszewski J and Baxter D (1954) *Cytoarchitecture of the Human Brainstem.* S. Karger, Basel.
- Optican LM and Robinson DA (1980) Cerebellar-dependent adaptive control of the primate saccadic system. *J Neurophysiol.* 44: 1058-1075.
- Petrovicky P (1966) A comparative study of the reticular formation of the guinea pig. *J Comp. Neurol.* 128: 85-108.
- Pierrot-Deseilligny C, Chain F, Gray F, Serdaru M, Escourolle R and Lhermitte F (1982) Parinaud's syndrome. Electro-oculographic and anatomical analysis of six vascular cases with deductions about vertical gaze organization in the premotor structures. *Brain* 105: 667-696.
- Porrill J, Dean P and Stone JV (2004) Recurrent cerebellar architecture solves the motor-error problem. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: 789-796.
- Ritchie L (1976) Effects of cerebellar lesions on saccadic eye movements. *J Neurophysiol.* 39: 1246-1256.
- Robinson DA (1965) The mechanics of human smooth pursuit eye movement. *J Physiol. (London)* 180: 569-591.
- Robinson DA (1974) The effect of cerebellectomy on the cat's vestibulo-ocular integrator. *Brain Res.* 71: 195-207.

Robinson DA (1975) in basic mechanisms of ocular motility and their clinical implications. Lennerstrand G and Bach-y-Rita P Eds. Oxford Univ. Press, New York. Pp.337-374.

Robinson DA (1981) Control of eye movements. In: Brooks VB (ed) Handbook of Physiology. Section 1: The Nervous System, Vol.II, Part 2, American Physiological Society, Bethesda, MD, 1275-1320.

Robinson DA (1989) Integrating with neurons. *Ann. Rev. Neurosci.* 12: 33-45.

Robinson FR, Straube A, Fuchs AF (1993) Role of the caudal fastigial nucleus in saccade generation. II. Effects of muscimol inactivation. *J Neurophysiol.* 70(5): 1741-58.

Ron S and Robinson DA (1973) Eye movements evoked by cerebellar stimulation in the alert monkey. *J Neurophysiol.* 36:1004-1022.

Rousseaux M, Dupart T, Lesion F, Barbaste P and Hache JC (1991) Upbeat and downbeat nystagmus occurring successively in patient with posterior medullary haemorrhage. *J Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 54: 367-369.

Sato Y, Kawasaki T and Ikarashi K (1983) Afferent projections from the brainstem to the three floccular zones in cat. II Mossy fibre projections. *Brain Res.* 272: 37-48.

Sato Y Kawasaki T (1990) Operational unit responsible for plane-specific control of eye movement by cerebellar flocculus in cat. *J Neurophysiol.* 64(2): 551-64.

Scalia F (1972a) The termination of retinal axons in the pretectal region of mammals. *J. Comp. Neurol.* Jun 145(2): 223-57.

Scalia F (1972b) Retinal projections to the olivary pretectal nucleus in the tree shrew and comparison with the rat. *Brain Behav. Evol.* 6(1): 237-52.

Simons B and Büttner U (1985) The influence of age on optokinetic nystagmus. Eur.Arch. Psychiatry Neurol. Sci. 234(6): 369-73.

Simpson JI (1984) The accessory optic system. Annu. Rev. Neurosci. 7: 13-41.

Somana R and Walberg F (1978) Cerebellar afferents from the paramedian reticular nucleus studied with retrograde transport of horseradish peroxidase. Anat. Embryol. (Berl.) 154: 353-368.

Spencer RF and Baker R (1987) Differential glycine-and GABA-mediated inhibition in the extraocular motor nuclei of the cat and monkey. Neurosci. Suppl. 22: S 383.

Steiger HJ and Büttner-Ennever JA (1978) Relationship between motoneurons and internuclear neurons in the abducens nucleus: a double retrograde tracerstudy in the cat. Brain Res. 148: 181-188.

Steinbusch HWM and Nieuwenhuys R (1983) The Raphe Nuclei of the Rat Brainstem: A Cytoarchitectonic and Immunohistochemical Study. Chemical Neuroanatomy. Edited by P C Emson, Raven Press New York. 131 ff.

Steinhausen W (1933) Über die Beobachtung der Cupula in den Bogengang ampullendes Labyrinths des lebenden Hechts. Pflügers Arch. ges.

Strassman A, Highstein SM and McCrea RA (1986a) Anatomy and physiology of saccadic burst neurons in the alert squirrel monkey. I: Excitatory burst neurons. J Comp. Neurol. 249: 337-357.

Strassman A, Highstein SM and McCrea RA (1986b) Anatomy and physiology of saccadic burst neurons in the alert squirrel monkey. II: Inhibitory burst neurons. J Comp. Neurol. 249: 358-380.

Straube A, Helmchen C, Robinson F, Fuchs A, Büttner U (1994) Saccadic dysmetria is similar in patients with a lateral medullary lesion and in monkeys with a lesion of the deep cerebellar nucleus. J Vestib Res. 4(5):327-33.

- Suzuki DA, Noda H and Kase M (1981) Visual and pursuit eye movement-related activity in posterior vermis of monkey cerebellum. *J Neurophysiol.* 46: 1120-1139.
- Szentagothai J (1943) Die zentrale Innervation der Augenbewegungen. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 116: 721-760.
- Taber E, Brodal A and Walberg F (1960) The raphe nuclei of the brain stem in the cat. I. Normal topography and cytoarchitecture and general discussion. *J Comp. Neurol.* 114: 161-187.
- Tomlinson RD and Robinson DA (1984) Signals in vestibular nucleus mediating vertical eye movements in the monkey. *J Neurophysiol.* 51: 1121-1136.
- Valverde F (1962) Reticular formation of the albino rats brainstem: cytoarchitecture and corticofugal connections. *J Comp. Neurol.* 119: 25-54.
- Voogd J (1964) *The Cerebellum of the Cat: Structure and Fibre Connexions.* Van Gorcum's Thesis, Assen.
- Voogd J (1967) Comparative aspects of the structure and fiber connections of the mammalian cerebellum. In: CA Fox and RS Snider (Eds), *Progress in Brain Research*, Vol. 25, The Cerebellum, Elsevier, Amsterdam, pp. 94-135.
- Voogd J (1969) The importance of fiber connections in the comparative anatomy of the mammalian cerebellum. In: R Linás (Ed), *Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development*, American Medical Association, Chicago, pp.493-541.
- Voogd J and Barmack N. Oculomotor Cerebellum. In: JA Büttner-Ennever (Ed), *Neuroanatomy of the oculomotor System.* *Prog. Brain Res.* In press.
- Waespe W and Henn V (1981) Visual-vestibular interaction in the flocculus of the alert monkey. II. Purkinje cell activity. *Exp. Brain Res.* 43: 349-360.

Waespe W and Henn V (1987) Gaze stabilization in the primate. The interaction of the vestibulo-ocular reflex, optokinetic nystagmus, and smooth pursuit. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 106:37-125. Review. No abstract available.

Wong-Riley MTT (1979) Changes in the visual system of monocularly sutured or enucleated kittens demonstrable with cytochrome oxidase histochemistry. *Brain Res.* 171: 11-28.

Yamamoto M (1979) Topographical representation in rabbit cerebellar flocculus for various afferent inputs from the brainstem investigated by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Neurosci. Lett.* 12: 29-34.

Zee DS, Leigh RJ, Mathieu-Millaire F. Related Articles (1980) Cerebellar control of ocular gaze stability. *Ann Neurol.* 7(1): 37-40.

Zee DS, Yamazaki A, Butler PH and Gücer G (1981) Effects of ablation of flocculus and paraflocculus on eye movements in primates. *J Neurophysiol.* 45: 878-899.

6. Anhang.

6.1. Anatomische Abkürzungen.

Cs	<i>Nucleus centralis superior</i>	PC	<i>Commissura posterior</i>
ct	<i>Corpus trapezoideum</i>	pd	prä dorsales Bündel
FR	<i>Formatio reticularis</i>	ph	<i>Nucleus praepositus hypoglossi</i>
f	<i>Nucleus fastigii</i>		
floc	<i>Flocculus</i>	pIC	<i>Pedunculus cerebellaris inferior</i>
IBN	Inhibitorische "burst" Neurone	PMT	paramedianer Trakt
iC	interstitieller <i>Nucleus Cajal</i>	pSC	<i>Pedunculus cerebellaris superior</i>
ifm	<i>Nucleus interfascicularis</i> der Medulla (a) accessorische, (d) dorsale, (v) ventrale Untergruppe	Ppl	<i>Nucleus papillioformis</i>
ifpa	<i>Nucleus interfascicularis</i>	PPRF	paramediane pontine <i>Formatio reticularis</i>
IO	<i>Oliva inferior</i>	Py	<i>Tractus pyramidalis</i>
lc	<i>Locus coeruleus</i>	Rd	<i>Nucleus raphes dorsalis</i>
mb	<i>Corpora mamillaria</i>	rga	<i>Nucleus reticularis gigantocellularis pars alpha</i>
MLF	<i>Fasciculus longitudinalis medialis</i>	riMLF	rostraler interstitieller <i>Nucleus</i> des MLF
nD	<i>Nucleus Darkschewitsch</i>	rl	<i>Nucleus reticularis lateralis</i>
NRG	<i>Nucleus reticularis gigantocellularis</i>	rls	<i>Nucleus reticularis lateralis pars subtrigeminalis</i>
NRL	<i>Nucleus reticularis lateralis</i>	Rm	<i>Nucleus raphes magnus</i>
NRP	<i>Nucleus reticularis parvocellularis</i>	rn	<i>Nucleus ruber</i>
<i>NRPd</i>	<i>Nucleus reticularis paragigantocellularis dorsalis</i>	Ro	<i>Nucleus Roller</i>
<i>narc</i>	<i>Nucleus arcuatus</i>	ROb	<i>Nucleus raphes obscurus</i>
nrpr	<i>Nucleus pararaphales</i>	Rpn	<i>Nucleus raphes pontis</i>
NRTP	<i>Nucleus reticularis tegmenti pontis</i>	Rpa	<i>Nucleus raphes pallidus</i>
OC	<i>Chiasma opticum</i>	sc	<i>Colliculus superior</i>
P	<i>Pons</i>	sg	<i>Nucleus supragenualis</i>
		TR	<i>Tractus retroflexus</i>
		SO	<i>Oliva superior</i>

IV	Vierter-Ventrikel	3	<i>Nervus nuclei oculomotores</i>
Vk	Vestibulariskomplex	4n	<i>Nucleus trochlearis</i>
vl	<i>Nucleus vestibularis lateralis</i>	5	<i>Nervus trigeminus pars</i>
vm	<i>Nucleus vestibularis medialis</i>		<i>spinalis</i>
Vp	Vierhügelplatte	5mt	<i>Nucleus motorius nervi</i>
vpf	ventraler Paraflocculus		<i>trigemini</i>
vs	<i>Nucleus vestibularis superior</i>	6	<i>Nervus abducens</i>
		6n	<i>Nucleus abducens</i>
vsp	<i>Nucleus vestibularis spinalis</i>	7	<i>Nervus facialis</i>
vx x	Gruppe des <i>Nucleus vestibularis</i>	7g	Knie des <i>Nucleus facialis</i>
		7n	<i>Nucleus facialis</i>
vy y	Gruppe des <i>Nucleus vestibularis</i>	8	<i>Nervus vestibulocochlearis</i>
		12	<i>Nervus hypoglossus</i>
3n	<i>Nucleus oculomotorius</i>	12n	<i>Nucleus hypoglossus</i>

6.2. Weitere Abkürzungen.

Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Complex
abs.	absolut
AchE	Enzymatischer Nachweis von Acetylcholinesterase
Ach-iodid	Acetylthiochlorid-iodid (Sigma A5751)
AK	Antikörper
AS	Aminosäure
BSA	Rinderserumalbumin
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	zirka
CB	Calbindin
ChAT	Cholin-Acetyl-Transferase
CO	Cytochrom -c- Oxidase
COE	Enzymatischer Nachweis von Cytochrom -c- Oxidase
CR	Calretinin
CuSO ₄	Kupfersulfat
DAB	3,3'-Diaminobenzidin (Sigma D5637)
EAP	Extraavidin Peroxidase
EtOH	Ethanol
EtPHCl	Ethopropazinhydrochlorid(-thiazin) (Sigma E2880)
h	Stunde
H ₂ O dest	Einfach destilliertes Wasser
³ H-Leuzin	Mit Tritium markierte Aminosäure Leuzin
k	kilo
K ₃ Fe(CN) ₆	Kaliumhexacyanoferrat(III) (Merk A231973)
l	Liter
μ	mikro
m	milli
M	Molar
min	Minuten
mol	1 mol ist die Stoffmenge eines Systems, das aus ebensoviel Einzelteilchen besteht wie Atome in 12·10 ⁻³ kg des ¹² C enthalten sind (6,022·10 ²³).
MRI	Magnetic Resonance Imaging
n	nano
NaCH ₃ COO	Natriumacetatanhydrid
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	Natrium-di-hydrogenphosphat Monohydrat (Merk A673646)
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	di-Natriumhydrogenphosphat Dihydrat (Merk K26596680)
(NH ₄) ₂ Ni (SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	Ammonium-Nickelsulfat
PB	Phosphatpuffer
PAV	Parvalbumin
PFA	Paraformaldehyd
pH	pH-Wert (pondus hydrogenii)
PH8	Antikörper gegen Tryptophan Hydroxylase, Tyrosin Hydroxylase u. Phenylalanin Hydroxylase

RT	Raumtemperatur
sec	Sekunde(n)
Tab.	Tabelle
TB	Tris[hydroxymethyl]aminomethane (Trizma® Base) (Sigma T1503)
TBS	Trizma® Base + Natrium Chlorid
Triton X-100	t-Octylphenoxypolyethoxyethanol
vol.	Volumen
v/v	Volumen pro Volumen
w/v	Gewicht pro Volumen
5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)

6.3. Verbrauchsmaterial.

6.3.1. Pufferlösungen.

0,2 M Phosphat-Puffer (PB) für 5 L:

A: 26,22 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 950 ml H_2O dest. lösen

B: 114,17 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 4050 ml H_2O dest. lösen

A in **B** solange zugeben bis pH = 7,4 erreicht ist.

0,5 M TBS:

82,2 g NaCl + 60,5 g TB in 1 L H_2O dest. lösen. Mit HCl auf pH = 7,6 einstellen.

0,01 M Citrat-Puffer:

2,94 g Natrium Citrat in 1L H_2O dest. lösen. Mit 0,1 M NaOH auf pH=8,8 einstellen.

6.3.2. Antikörper (AK).

Bei den AK handelte es sich ausschließlich um Immunglobuline G (IgG).

Primäre AK:

- Polyklonal Kaninchen anti-Choline Acetyltransferase (Chemicon: AB143)
- Polyklonal Kaninchen anti-Calbindin (Swant: CB-38)
- Polyklonal Kaninchen anti-Calretinin (Swant: 7699/4)
- Monoklonal Maus anti-Mensch Cytochrom c Oxidase (Molecular Probes: A-6404)
- Monoklonal Maus anti-Parvalbumin (Swant: 235)

- Polyklonal Kaninchen anti-Serotonin (Incstar DiaSorin: 20080)
- Monoklonal Maus anti-Mensch Tryptophan Hydroxylase, Tyrosin Hydroxylase u. Phenylalanin Hydroxylase (Clone: PH8) (Chemicon: MAB5278)

Sekundäre AK:

- Ziege anti-Kaninchen (biotiniliert) (Vector: BA-1000)
- Pferd anti-Maus (biotiniliert) (Vector: BA-2001)

6.3.3. Normalseren.

Normal Ziegenserum (Vector S-1000)

Normal Pferdeserum (Vector S-2000)

6.3.4. Wichtige Nachweischemikalien.

DAB (Sigma D5637)

ABC Kit (Vector, Burlingame PK-4000)

Extravidin-Peroxidase (Sigma E2886)

7. Danksagung.

Für das Thema und die intensive Betreuung möchte ich Frau Prof. Dr. Büttner-Ennever herzlich danken. Mein Dank gilt weiter Frau PD. Dr. Horn-Bochtler, für so manchen nützlichen Hinweis und einiger hilfreicher Ideen.

Danken möchte ich weiter Herrn Prof. Dr. med. Winfried Lange für seine großzügige Platzvergabe, sowie dem technischen Personal für die freundliche und herzliche Unterstützung. Dabei gilt mein besonderer Dank Herrn A. Messoudi (MPh).

Lebenslauf

Name: Norbert Buresch

Jahrgang: 1968

Geburtsort: Freising

Familienstand: ledig

Ausbildung, Schule: 1974 - 1983 Grund- und Hauptschule Dorfen
1983 - 1986 Gärtnerlehre
1987 - 1988 Berufsaufbauschule Mühldorf / Inn
1988 - 1990 Berufsoberschule für Agrarwirtschaft Landshut
(fachgebundene Hochschulreife)

Studium: 1991 - 1997 Diplom Studiengang Biologie (Hauptfach
Zoologie), an der Technischen Universität
München
1998 - 2000 Graduiertenkolleg „Sensorische Interaktion in
biologischen und technischen Systemen“ an der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berufliche Tätigkeit: 1990 -1991 Gärtner am MPI für Biochemie Martinsried bei
München
2000 - 2003 wiss. Angestellter (Forschungs-und
Lehrtätigkeit) am Anatomischen Institut der
Ludwig-Maximilians-Universität München