

Aus der Abteilung für Neuroanatomie der Heinrich-Heine Universität
Düsseldorf

Kommissarischer Leiter

Prof. Dr. med. J.K. Mai

Das Cholinesterase-Verteilungsmuster im menschlichen Striatum
unter besonderer Berücksichtigung der Insulae terminales
striatales

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christofer Hartz-Schütt

1989

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer
Dekan

Referent: Prof. Dr. Mai
Korreferent: Prof. Dr. Hartwig

Das Cholinesterase-Verteilungsmuster im menschlichen Striatum unter besonderer Berücksichtigung der Insulae terminales striatales.

Christofer Hartz-Schütt

Abstract

Einleitung: Die basale Vorderhirnregion bildet eine Vielzahl anatomisch unterschiedlicher Strukturen mit limbischen, vegetativen, motorischen und endokrinen Funktionen. Zahlreiche neurologische und psychiatrische Erkrankungen finden ihr morphologisches Korrelat in dieser heterogenen Region. Ein Grund für die Heterogenität ist das Auftauchen von Zellinseln, die eine große Bedeutung bei degenerativen Erkrankungen erlangen. Ob diese Inseln einer topographischen Gliederung unterliegen, welchen morphologischen Aufbau sie zeigen und welche hodologischen Verhältnisse vorliegen, wurde untersucht.

Methode: Fünf Gehirne ohne neurologische/psychiatrische Krankengeschichte wurden untersucht. Frontale Serienschritte wurden angefertigt und mittels vier verschiedener Methoden die Cholinesterase mit und ohne einen Inhibitor unspezifischer Esterasen dargestellt. Zellfärbungen und Markscheidenfärbungen wurden zur Korrelation herangezogen. Die lückenlose serielle Schnittserie erlaubte eine vollständige Rekonstruktion des Gewebes.

Resultate: Das Verteilungsmuster der Cholinesterase des Striatums und der angrenzenden Strukturen wurde diagrammatisch wiedergegeben.

Die Inseln gruppieren sich im ventralen Striatum in fünf Gruppen: Aufgrund ihrer Topographie wurden Insulae substriatales, -subventriculares, -olfactoriae, -magnae und -interstitiales voneinander unterschieden. Die Inseln zeigen eine weitgehende morphologische Übereinstimmung, zeigen jedoch sowohl verschiedene Faserbezüge als auch unterschiedliche histochemische Eigenschaften. Es handelt sich um kleinzellige, ovoide und extrem stark Acetylcholinesterase-positive Inselkerne, die meist exzentrisch in einem Inselhof eingebettet liegen. In Abhängigkeit ihrer Topographie zeigen die Inselhöfe der verschiedenen Inselgruppen eine unterschiedliche Cholinesterase-Aktivität.

Durch extrem starke Acetylcholinesterase-positive Gewebebrücken des Striatums treten die Inseln des ventralen Striatums in enge Beziehung zum dorsalen Striatum.

Diskussion: Aufgrund der charakteristischen histochemischen Eigenschaften der Inseln eröffnen sich einerseits neue Differenzierungsmöglichkeiten der basalen Vorderhirnregion, andererseits werden durch die Beteiligung der Insel neue Einblicke in neurologische/pathologische Prozesse möglich.

Inhaltsverzeichnis

1.	Abstract.....	4
2.	Einleitung.....	5
3.	Material und Methode.....	7
3.1.	Gehirne.....	7
3.2.	Fixierung.....	7
3.3.	Schnittebene.....	7
3.4.	Gefrierschnitte.....	8
3.5.	Histochemische Techniken.....	8
3.5.1.	Methode nach Koelle und Friedenwald.....	8
3.5.2.	Methode nach Henderson.....	8
3.5.3.	Methode nach Hedreen.....	9
3.5.4.	Methode nach Hedreen zur Dunkelfeldmikroskopie.....	9
3.5.5.	Methode nach Bayliss und Todrick.....	9
3.6.	Histologische Färbemethoden.....	9
3.6.1.	Methode nach Spielmeyer.....	9
3.6.2.	Methode nach Nissl.....	10
3.7.	Analyse.....	10
4.	Resultate.....	11
4.1.	Vergleich der verschiedenen Methoden zur Darstellung der CHE-Aktivität.....	11
4.2.	Beschreibung der Diagramme.....	16
4.3.	Zusammenfassung.....	42
4.3.1.	Nucleus caudatus.....	42
4.3.2.	Putamen.....	42
4.3.3.	Fundus subventricularis.....	43
4.3.4.	Tuberculum olfactorium.....	43
4.3.5.	Globus pallidus.....	44
4.3.6.	Thalamus.....	44
4.3.7.	Nucleus basalis von Meynert / Nucleus diagonalis...	44
4.3.8.	Corpus amygdaloideum.....	45
4.3.9.	Fibrae cortico-lenticulares.....	46
4.4.	Insulae terminales.....	48
4.4.1.	Insulae terminales substriatales.....	48
4.4.2.	Insulae terminales subventriculares.....	49
4.4.3.	Insulae terminalis olfactoriae.....	50
4.4.4.	Insulae terminales magnae.....	50
4.4.5.	Insulae terminales interstitiales.....	51
4.4.6.	Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Insulae terminales - Tabellarische Übersicht.....	54
5.	Diskussion.....	56
5.1	ACHE und cholinerge Neurone.....	56
5.1.1.	Die Studien von Koelle.....	56
5.1.2.	Die Studien von Shute und Lewis.....	56
5.1.3.	ChAT und cholinerge Neurone.....	57

5.1.4.	Hinweise auf andere Funktionen der ACHE.....	58
5.2.	Inseln des ventralen Striatums.....	60
5.2.1.	"Islotes olfativos" - Calleja.....	60
5.2.2.	"Insulae olfactoriae striatales" - Brockhaus.....	60
5.2.3.	"Insulae terminales" - Sanides.....	62
5.2.4.	Enzymhistochemische Charakterisierung der Insulae terminales striatales.....	64
5.3.	Tierexperimentelle Befunde.....	68
5.3.1.	Topographie.....	68
5.3.2.	Cytologie.....	68
5.3.3.	Hodologie.....	68
5.3.4.	Neurotransmitter, Neuropeptide.....	70
5.3.5.	Funktion.....	71
6.	Literaturverzeichnis.....	73

2. Einleitung:

Bereits in früheren Jahren haben detaillierte zyto- und myeloarchitektonische Untersuchungen Anlaß gegeben, das Striatum auch des Menschen in zahlreiche Einzelareale zu gliedern. Brockhaus [1] unterteilte das Striatum in drei Hauptabschnitte: Nucleus caudatus und Putamen, die zusammen das makroskopisch homogen erscheinende dorsale Striatum bilden und den Fundus striati, der auch als ventrales Striatum bezeichnet wird. Das Brockhaus'sche Gliederungsprinzip besitzt trotz der neueren histochemischen und biochemischen Verfahren auch heute noch Gültigkeit. So empfiehlt z.B. das National Institute of Mental Health [2] mit der kürzlich erfolgten englischsprachigen Übersetzung der Brockhaus'schen Arbeit, dessen Nomenklatur für die Arealisierung des Striatums einzusetzen.

Heute gewinnt die immunhistochemische Anatomie des Striatums zunehmend an Bedeutung, weil sich hier eine sehr große Anzahl von neuroaktiven Substanzen nachweisen lassen. Diese Substanzen sind nicht diffus im Striatum verteilt sondern bilden auf Schnittpräparaten mosaikartige Kompartimente, die dreidimensional als ein komplexes labyrinthäres System imponieren. Solche, als Striosome [3] bezeichneten Kompartimente, zeigen enzymhistochemisch eine geringe Acetylcholinesterase- (ACHE-) Aktivität, während die komplementäre Matrix eine hohe ACHE-Aktivität aufweist. Eine striosomale Gliederung findet sich vor allem im dorsalen Striatum. Es ist anzunehmen, daß bestimmte pharmakologische Interaktionen an diese Kompartimente, die komplementäre Matrix oder deren Grenzen gebunden sind.

Ganz im Gegensatz zum dorsalen Striatum zeigt das ventrale Striatum des basalen Vorderhirns ein sehr heterogenes Strukturgefüge. Es gliedert sich nach Brockhaus [1] in den Fundus subventricularis medialis und den Fundus subventricularis lateralis, die, einschließlich der Insulae olfactoriae striatales gemeinsam als Nucleus accumbens septi (Ziehen) bezeichnet wurden, den Fundus caudatus und den Fundus putaminis. In enger topographischer Beziehung stehen eine Vielzahl anderer Strukturen, wie z.B. der Nucleus diagonalis, der Nucleus basalis, der Interstitialkern der Stria terminalis, das ventrale Segment des Pallidum externum, der laterale Hypothalamus, das Tuberculum olfactorium, das Claustrum substriatale, die Ansa lenticularis und das Amygdaloideum.

Ein weiterer Grund für die Heterogenität der basalen Vorderhirnregion ist das Erscheinen von Zellhaufen, die erstmals 1882 von Ganser [4] und später 1893 von Calleja [5] (Calleja'sche Inseln) beschrieben worden sind. Diese für die basale Vorderhirnregion charakteristischen Zellhaufen zeigen

eine phylogenetische Konstanz bei allen Vertebraten. Auch beim Menschen fallen diese Inseln durch ihren kleinzelligen granulären Charakter, die Dichte der Zellagerung, den konzentrischen Aufbau und durch ihre Markscheidenarmut auf. Ein charakteristisches topisches Merkmal der Inseln ist ihre Anordnung längs der telodiiencephalen Grenze. Aus diesem Grund führte Sanides [6] den in dieser Arbeit übernommenen Begriff "Insulae terminales" ein.

Aufgrund der Vielzahl der anatomisch unterschiedlichen Strukturen des basalen Vorderhirns mit limbischen, vegetativen, motorischen und endokrinen Funktionen finden zahlreiche pathologische Prozesse ihr anatomisch morphologisches Korrelat in dieser Region. Bei verschiedenen neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen, wie z.B. Morbus Alzheimer [7], Morbus Parkinson [8], Chorea Huntington [9] und Korsakoff'sches Syndrom [10], ist das ventrale Striatum Gegenstand der klinischen und neuropathologischen Forschung.

Durch die Darstellung der CHE-Aktivität in Korrelation zu Markscheiden- und Zellfärbungen lassen sich nicht nur die strukturellen und topographischen Unterschiede zwischen dorsalem und ventralem Striatum herausarbeiten, ebenso gelingt eine genauere Analyse der Inselbildungen bezüglich ihrer Morphologie, Topographie und Hodologie an menschlichen Hirnschnittpräparaten.

3. Material und Methode:

3.1. Gehirne

Fünf Gehirne ohne neurologische oder psychiatrische Krankheitsgeschichte wurden aus dem neuropathologischen Institut der Universität Düsseldorf untersucht:

	Alter	Geschlecht	Hirngewicht*	Todesursache	postmortale Verweildauer	Hemisphäre
1.	66	weiblich	1140 g	Aortenaneurysma	28 Stunden	links
2.	70	weiblich	1080 g	Herzversagen	26 Stunden	rechts
3.	82	männlich	1190 g	Herz-u. Nierenvers.	18 Stunden	rechts
4.	76	männlich	1215 g	Mesenterialinfarkt	20 Stunden	links
5.	65	männlich	1290 g	Herzinfarkt	25 Stunden	links

* nach Autopsie und Fixierung in Formalin

Nach Präparation des Neurocraniums und äußerlicher Inspektion der Gehirne wurden diese in physiologische Kochsalzlösung gelegt und unverzüglich zur histologischen und histochemischen Aufarbeitung in das Labor des Institutes für Hirnforschung überführt.

3.2. Fixierung

Nach Durchspülung der Arteria basilaris und beider Carotiden mit physiologischer Kochsalzlösung wurden die Gehirne in 4%ige Formalinlösung gelegt. Am folgenden Tag wurden ca. 1½ Stunden lang 4 Liter 4%iges Formalin durch die Arteria basilaris und beide Carotiden perfundiert. Anschließend wurden die beiden Hemisphären in der Fissura longitudinalis cerebri voneinander getrennt und laminiert (s.u.).

Die so gewonnenen Gewebelöcke wurden von den weichen Hirnhäuten befreit, von allen Seiten fotografiert und über Nacht in eine 4%-Formalin-30%-Saccaroselösung mit einer Temperatur von 4°C überführt.

3.3. Schnittebene

Es wurde die frontale Schnittebene gewählt. Der Gewebelöck wurde mit 4 Schnitten, die streng parallel bzw. im rechten Winkel zur Intercommissurenlinie verlaufen, aus der Hemisphäre herausgeschnitten:

1. Frontalschnitt am Vorderrand des Temporallappens
2. Frontalschnitt ca. 2 cm hinter dem Corpus mamillare
3. Sagittalschnitt durch die Inselrinde
4. Horizontalschnitt über dem Corpus callosum

3.4. Gefrierschnitte

Der Gewebeblock wurde auf einem Tetrander der Firma Jung AG Heidelberg, die von Herrn Dipl. ing. Tödter (Heidelberg, Sandhausen) als Gefrierschneidemaschine umgebaut wurde, geschnitten. Es handelt sich um einen Tetrander mit einer Gefrierplatte und adaptiertem Gefrieraggregat. Nach dem Gefriervorgang wurden bei -20°C in anterior-posteriorer Richtung mit einer scharfen Kanüle (1,5 mm Durchmesser) drei Zylinder in das Marklager gestanzt. Diese Markierungen dienten als Fixpunkte zur Rekonstruktion. Geschnitten wurde mit einer Schnittdicke von 100 μm . Die Schnitte wurden fortlaufend auf 20 Küvetten verteilt und in Phosphatpuffer pH 7,8 aufgefangen. Auf diese Weise entstanden pro Küvette jeweils Serien mit einem Schnittabstand von 2 mm bei 100 μm Schnittdicke. Jede Schnittserie wurde einer unterschiedlichen histochemischen / histologischen Methode unterzogen:

3.5. Histochemische Techniken

3.5.1. Methode nach Koelle und Friedenwald [11]

a) Herstellung des Inkubationsmediums:

α) Kupfer-II-sulfat 5 Hydrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	2,5g/100 ml H_2O
β) Natriumacetat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	13,6g/100 ml H_2O
γ) Acetylthiocholinjodid ($\text{CH}_3\text{COS}_2\text{CH}_2\text{N}_3\text{CH}_2\text{J}$)	1g/40 ml H_2O

40 ml der Acetylthiocholinlösung werden tropfenweise mit 70 ml der Kupfersulfatlösung versetzt. Dies ergibt eine braun-schwarze Lösung. Nach 30 minütiger Zentrifugation bei 2500 U/Min werden 100 ml Überstand sorgfältig abpipettiert (grüne Lösung). Diese Lösung wird mit 620 mg Glycin und 24,0 ml Natriumacetat versetzt und mit Aqua bidest. auf 500 ml aufgefüllt.

Nach 24 Stunden bei 4°C ist die Inkubationslösung gebrauchsfertig und 14 Tage haltbar.

- b) Dreimaliges Spülen der Schnitte in jeweils frischem Phosphatpuffer pH 7,8; jeweils ca. 10 Sek.
- c) Inkubation der Schnitte im Dunkeln bei Zimmertemperatur ca. 22°C , (3-8 Stunden)
- d) Spülen wie b).
- e) Entwicklung der Schnitte (farbgebende Reaktion = Postinkubation)
250 ml Aqua dest werden mit 3 ml Essigsäure versetzt.
In 225 ml dieser Lösung werden 5 g Natriumsulfit gelöst.
Die Reaktion erfolgt in wenigen Sekunden.
- f) Spülen wie b)
- g) Aufziehen der Schnitte auf eiweißglycerinbeschichtete Objektträger, Trocknen auf einem Strecktisch bei 40°C .
- h) Dehydratation in aufsteigender Alkoholreihe, Xylol, Einschluß in Eukitt

3.5.2. Methode nach Henderson [12]

Die Schritte 2.5.1a) bis d) entsprechen der Methode nach Koelle und Friedenwald. Die farbgebende Reaktion (Postinkubation) wird hier mit Silbernitrat durchgeführt und Natriumthiosulfat zur Hin-

tergrundaufhellung eingesetzt.

- e) Silbernitrat (AgNO_3) 5 bis 10 % (je nach Intensität der Inkubationsreaktion). Die Reaktion erfolgt in wenigen Sekunden.
- f) Dreimaliges Spülen in Aqua dest.; jeweils ca. 10 Sek.
- g) Natriumthiosulfat-5-Hydrat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 5 %
- h), i), j) wie 2.5.1 f), g), h)

3.5.3. Methode nach Hedreen [13]

- a) Herstellung des Inkubationsmediums:

Acetylthiocholinjodid	25 mg
Acetatpuffer pH 6,0	32.5 ml
Natriumcitrat 0,1 M	2 ml
Kupfersulfat 0,03 M	5 ml
Aqua dest.	9,5 ml
Kaliumhexacyanoferrat 0,005 M	1 ml
- b) Fünfmaliges Spülen in Acetatpuffer pH 6,0; jeweils ca. 10 Sek.
- c) Inkubation der Schnitte im Dunkeln bei Zimmertemperatur ca. 22°C (3-8 Stunden)
- d) Spülen wie b)
- Entwicklung der Schnitte (farbgebende Reaktion) in zwei Schritten:
- e) Ammoniumsulfidlösung 1% (ca. 30 Sek.)
- f) Fünfmaliges Spülen in Natriumnitrat 8,5 g/l; jeweils ca. 10 Sek.
- g) Silbernitratlösung 0,1 %
- h) wie f)
- i), j) wie 2.5.1. g), h)

3.5.4. Methode nach Hedreen [13] zur Dunkelfeldmikroskopie

Bei dieser Methode wird zur Postinkubation eine Kaliumhexacyanoferratlösung ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ = rotes Blutlaugensalz) 2 % verwendet. Die Inkubation und alle anderen Schritte werden wie unter 2.5.3. beschrieben durchgeführt.

3.5.5. Methode nach Bayliss und Todrick [14]

Bevor die oben beschriebenen histochemischen ACHE-Nachweismethoden 2.5.1. bis 4.) zur Anwendung kommen, werden die Schnitte in einer Lösung mit dem Inhibitor für unspezifische Cholinesterasen (Butyrylcholinesterase) ISO-OMPA (Tetraisopropylpyrophosphoramid) in einer Konzentration von 10^{-5} M ca. 30 Minuten bei Zimmertemperatur präinkubiert.

3.6. Histologische Färbemethoden

3.6.1 Methode nach Spielmeyer (Markscheidenfärbung)

- a) Spülen in Phosphatpuffer pH 7,8
- b) Aufziehen der Schnitte auf eiweißglycerinbeschichtete Objektträger
- c) Trocknen auf einem Strecktisch bei 40°C
- d) 99 % Ethanol (5 Min.)

- e) Celloidin 1% in Äther-Alkohol_{absolut}-Gemisch (1:1) zur Fixierung der Schnitte auf dem Objektträger
- f) 70 % Ethanol (1½ Std.)
- g) 2,5 % Eisenalaun (Ammoniumeisen-III-sulfat) (2 Std.)
- h) Aqua dest. (20 Min.)
- i) 70 % Ethanol (3 Min.)
- j) Haematoxylin (2½ Std.)
- k) Aqua dest. (10 Min.)
- l) 2,5 % Eisenalaun (1 Std.)
- m) Spülen in Aqua dest.
- n) Dehydratation in aufsteigender Alkoholreihe, 10-minütige Verweildauer in 99 %-igem Alkohol zur Celloidinauflösung, Xylol, Einschluß in Eukitt

3.6.2. Methode nach Nissl (Zellfärbung)

- a) Spülen in Phosphatpuffer
- b) Aufziehen der Schnitte auf eiweißglycerinbeschichtete Objektträger
- c) Trocknen der Schnitte auf einem Strecktisch bei 40°C
- d) Kresylviolettlösung 1 % wässrig; gepuffert pH 3,5; 56°C; 2-5 Min.
- e) Spülen in 1 %iger Essigsäure
- f) Differenzierung in 99 % Ethanol
- g) Dehydratation in aufsteigender Alkoholreihe, Xylol, Einschluß in Eukitt

3.7. Analyse

Die makroskopische Auswertung der mit unterschiedlichen Methoden behandelten Schnitte, wurde durch Rekonstruktionszeichnungen, die mit Hilfe eines Zeichenprojektors (Zeiss, Jena) vergrößert angefertigt wurden, vorgenommen. Die Schnitte wurden darüberhinaus fotografiert, vergrößert abgezogen und in genauer Reihenfolge geordnet, sodaß die verschiedenen Darstellungen der einzelnen histochemischen und histologischen Methoden anhand der jeweiligen Nachbarschnitte direkt korreliert werden konnten, und eine dreidimensionale Rekonstruktion möglich wurde. In diese Zeichnungen wurden die Befunde der mikroskopischen Auswertung (Zellgröße, -morphologie, -dichte, -verteilung, Faserverläufe, intra/extrazelluläre und intraaxonale ACHE/BuCHE-Aktivitäten) integriert. Zur Mikroskopie wurde ein vollautomatisches Fotomikroskop der Firma Zeiss (Oberkochen/Württ.) mit entsprechenden Übersichtsobjektiven (Zeiss Luminare) verwendet. Aufgrund der hohen Schnittzahl war es möglich, die einzelnen Strukturen in Ausdehnung und Verlauf sukzessiv, trotz der außergewöhnlich großen Polymorphie, in ihrer Kontinuität verfolgen zu können. Die Befunde wurden in 16 Diagrammen wiedergegeben. Pro Diagramm flossen die Befunde von ca. 18 enzymhistochemisch / histologisch behandelten Schnitten ein. Zusätzlich wurden die Insulae terminales in Detailzeichnungen dargestellt.

4. Resultate

4.1. Vergleich der verschiedenen Methoden zur Darstellung der ACHE- Aktivität

Die Intensität und Spezifität der Cholinesterase-Aktivität wird entscheidend von einer guten Fixierung bestimmt. Die Enzymaktivität nimmt in Abhängigkeit von der post-mortalen Verweildauer, der Fixierungszeit, Fixierungstemperatur und der Fixierungsmittelkonzentration ab. Durch entsprechend längere Inkubationszeiten, kurze Fixierungszeiten, tiefe Fixierungstemperaturen und gering gehaltene Fixierungsmittelkonzentrationen kann die Reduktion der Enzymaktivität kompensiert werden. Findet die Inkubation erst 14 bis 16 Tage post mortem statt, ist ein befriedigendes Ergebnis nicht mehr zu erwarten.

Die Reduktion der Enzymaktivität durch die Fixierung ist bei Temperaturen von 37-40°C besonders stark. Bei einer Fixierungstemperatur von ca. 4°C ist eine relative Resistenz der Cholinesterasen gegenüber dem inaktivierenden Effekt der Formalinlösung festzustellen [15,16]. Nach Durchführung der günstigsten Fixierungsmodalitäten unter Beachtung der geeigneten Fixierungszeit, Fixierungsmittelkonzentration und Fixierungstemperatur führen die verschiedenen Methoden der ACHE-Darstellung zu einem entsprechend spezifischen und intensiven Ergebnis.

Die nach Koelle und Friedenwald [11] behandelten Schnitte zeigen makroskopisch ein deutliches Verteilungsmuster der ACHE-Aktivität. Durch die leichte Bräunung der Markscheiden ist der Kontrast zu ACHE-positiven Bereichen weniger deutlich als bei den anderen Methoden. Die Areale mit geringer ACHE-Aktivität innerhalb stark ACHE-positiver Bereiche, wie z.B. die striosomale Gliederung im Nucleus caudatus lassen sich mit dieser Methode gut darstellen. Mikroskopisch können einzelne Zellen und Fasern aufgrund der relativ starken Hintergrundfärbung weniger gut dargestellt werden.

Bei Anwendung der Methode nach Henderson [12] wird ein extrem hoher Kontrast zwischen den ACHE-positiven und -negativen Arealen erzielt. Durch die Behandlung der Schnitte mit Natriumthiosulfat zur Hintergrundaufhellung erscheinen das Marklager und die nicht ACHE-positiven Areale sehr hell, während die ACHE-positiven Strukturen durch das reduzierte Silbernitrat eine schwarz-braune Markierung erhalten. Die Transparenz der ACHE-positiven Bereiche war bei langen Inkubationszeiten sehr gering. In Abhängigkeit der post-mortalen Verweildauer konnte bei relativ kurzen Inkubationszeiten ein zufriedenstellendes Resultat erzielt werden. In Bereichen hoher Enzymaktivität konnte eine

Differenzierung der verschiedenen Aktivitätsgrade aufgrund der unterschiedlichen Transparenz vorgenommen werden. Bei guter Detailgenauigkeit können auch mikroskopisch ACHE-positive Zellen und Fasern dargestellt werden. In Bereichen sehr hoher ACHE-Aktivitätsdichte ist die cytologische Analyse aufgrund der geringen Transparenz nicht möglich.

Durch die Methode nach Hedreen [13] kann die Cholinesterase-Aktivität selbst noch in der Hirnrinde nachgewiesen werden. Es handelt sich um eine sehr sensitive Methode, die sowohl die Acetylcholinesterase- als auch die Butyryl- und Propionylcholinesterase-Aktivität sehr differenziert zur Darstellung bringt. Auch die Areale sehr hoher ACHE-Aktivität bleiben transparent. Diese Methode erzielt ein makroskopisch deutlich abgestuftes Bild der unterschiedlichen Esterase-Aktivitätsstärken. Mikroskopisch können selbst in Bereichen hoher Aktivität Cholinesterase-positive Zellen und Fasern sichtbar gemacht werden.

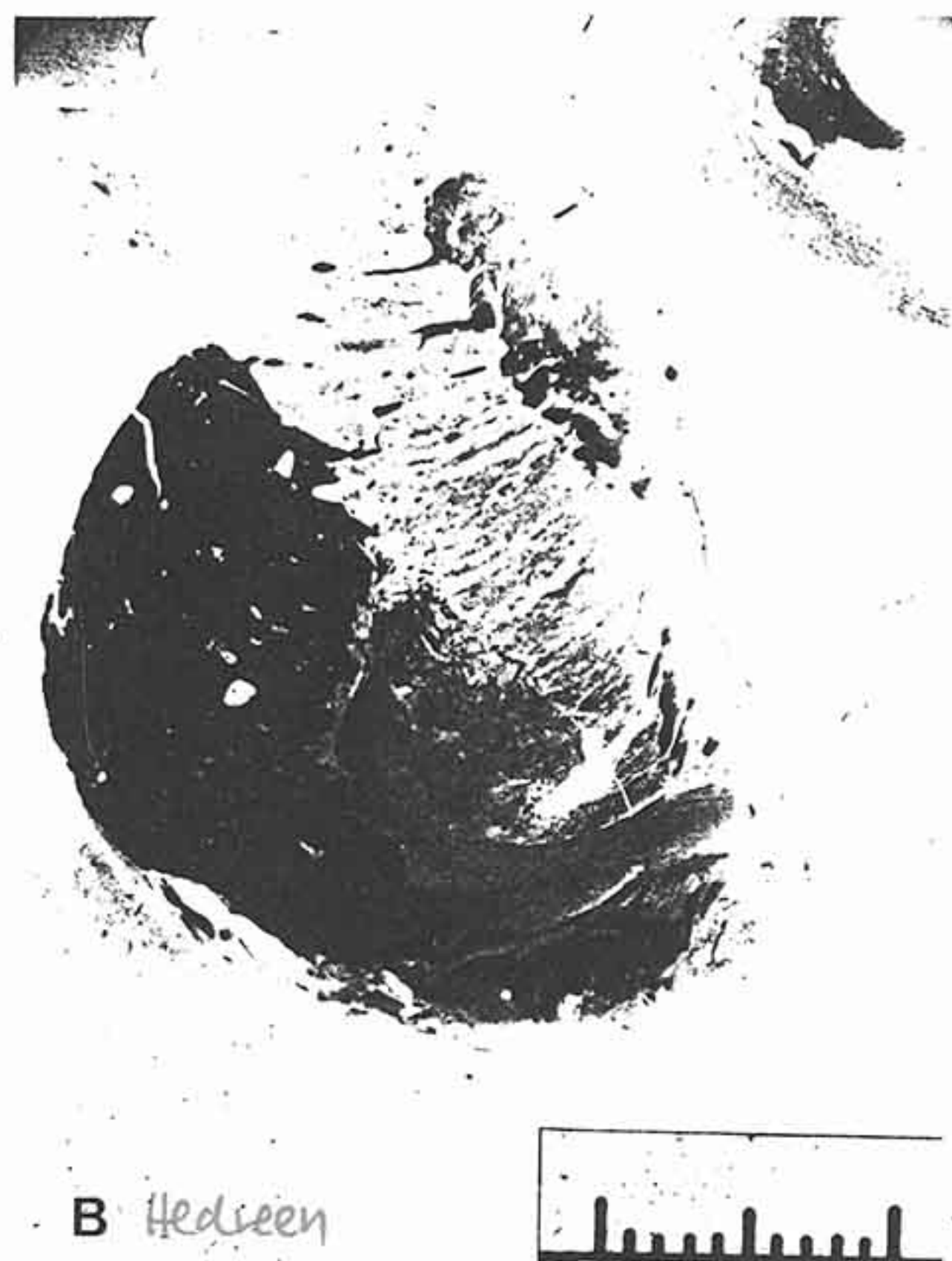
Bevor diese Methoden zur Anwendung kommen, können die Schnitte in einer ISO-OMPA-Lösung (Tetraisopropylpyrophosphoramid) präinkubiert werden (Methode nach Bayliss und Todrick [14]), wodurch die unspezifischen Cholinesterasen inhibiert, d.h. nicht dargestellt werden. Ebenfalls wird die Transparenz der stark ACHE-positiven Bereiche verbessert. Welche Areale von der Inhibition betroffen sind, ist der Beschreibung der einzelnen Diagramme zu entnehmen.

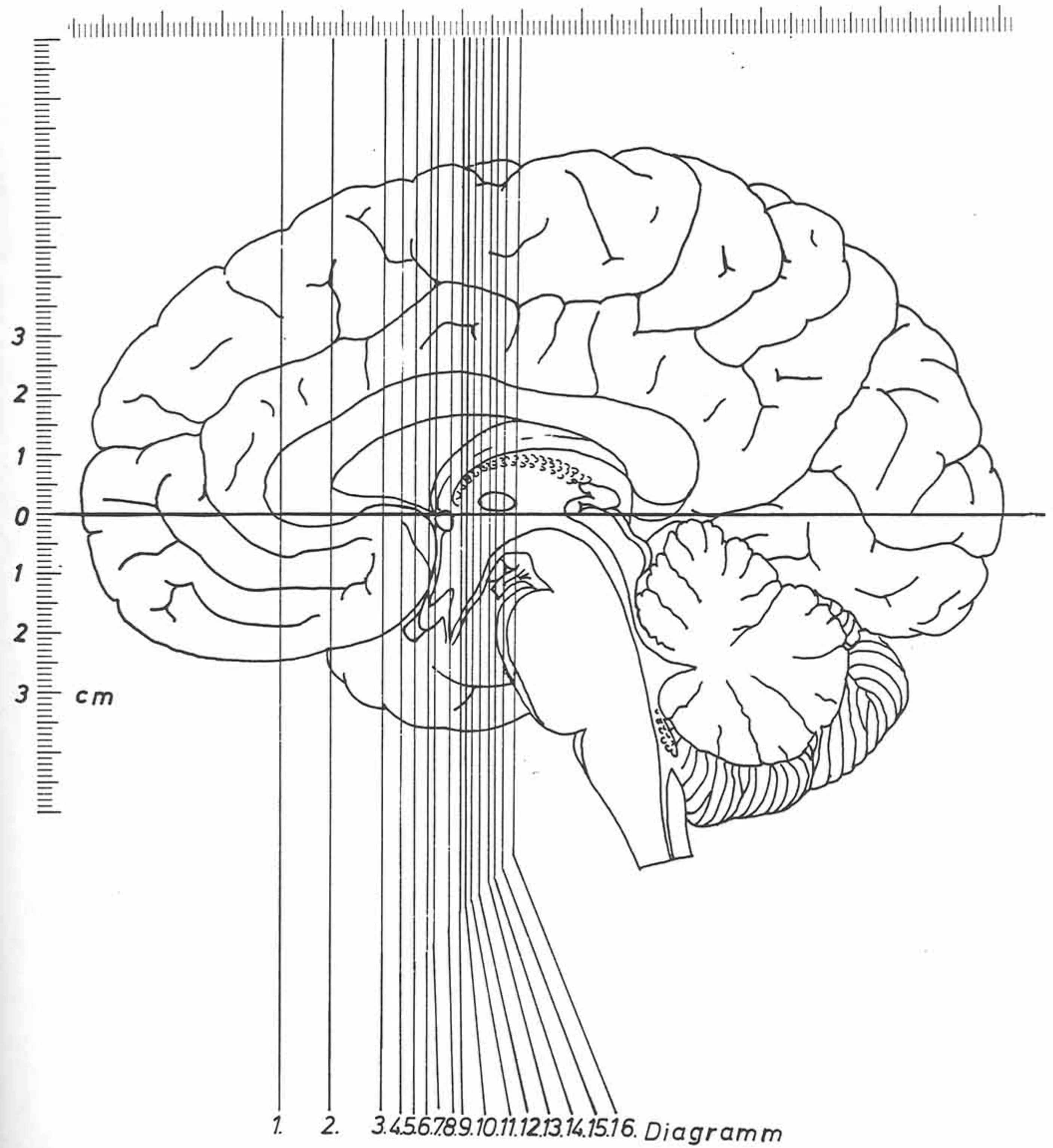
Da bei der Methode nach Henderson der Hintergrund sehr klar bleibt und der Kontrast sehr hoch ist, eignet sich diese Methode in Kombination mit dem Inhibitor ISO-OMPA gut, um neben der ACHE-Aktivität die Zellen durch die Färbemethode nach Nissl gegenzufärben.

Als Grundlage der Schraffuren sind die Befunde von fünf untersuchten Gehirnen zusammengefaßt worden. Die verschiedenen Methoden mit ihren unterschiedlichen Aussagewerten wurden dabei berücksichtigt und in einem Diagramm integriert. Die Diagramme geben das Cholinesterase-Verteilungsmuster wieder. Es können keine Aussagen über die Richtung von Faserverläufen getroffen werden; ob es sich um Afferenzen oder Efferenzen handelt kann nicht entschieden werden.

Photographien:

- A. Methode nach Koelle und Friedenwald [11]
- B. Methode nach Hedreen [13]
- C. Methode nach Henderson [12] und Präinkubation in ISO-OMPA
- D. Methode nach Henderson [12]

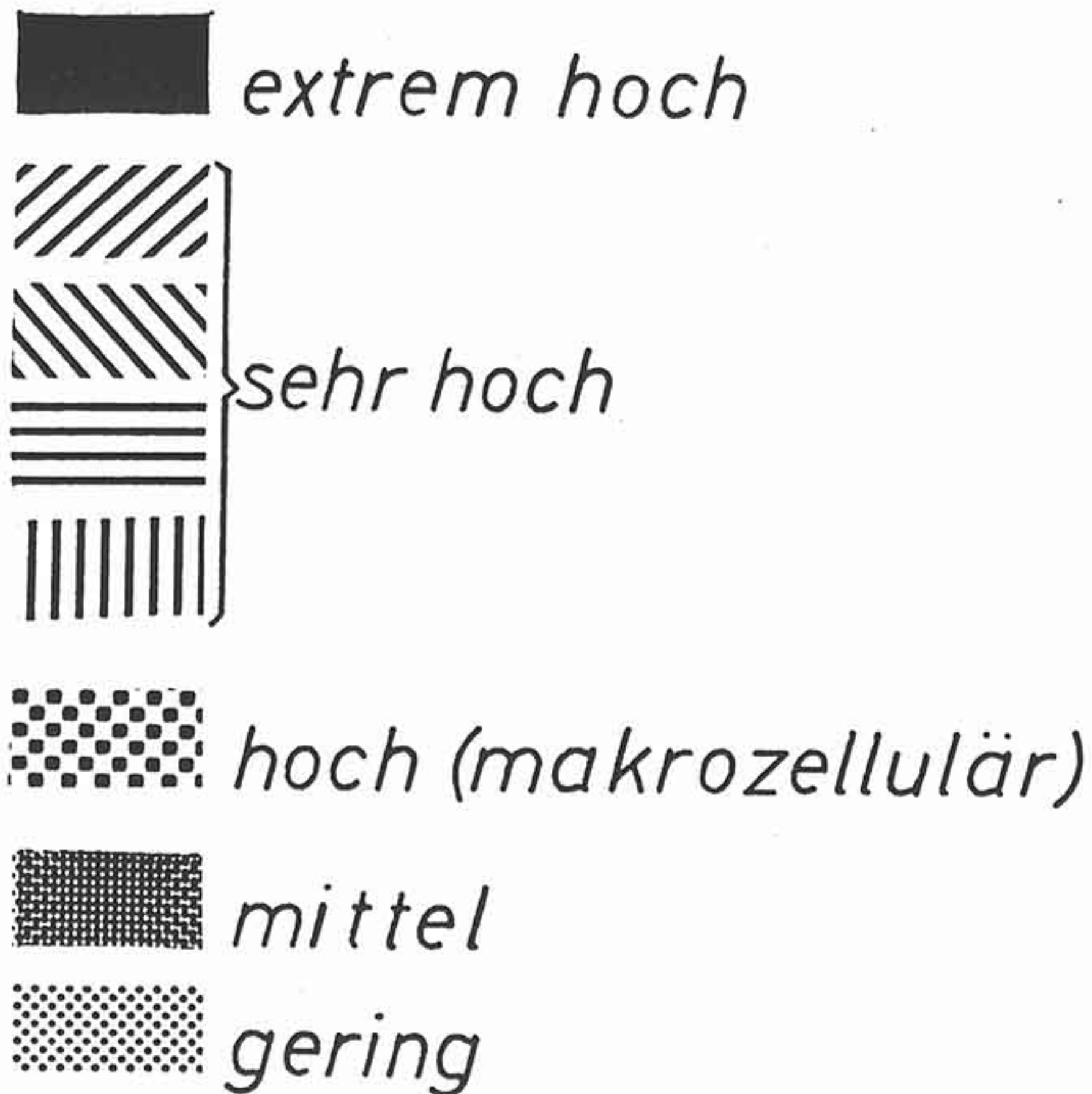




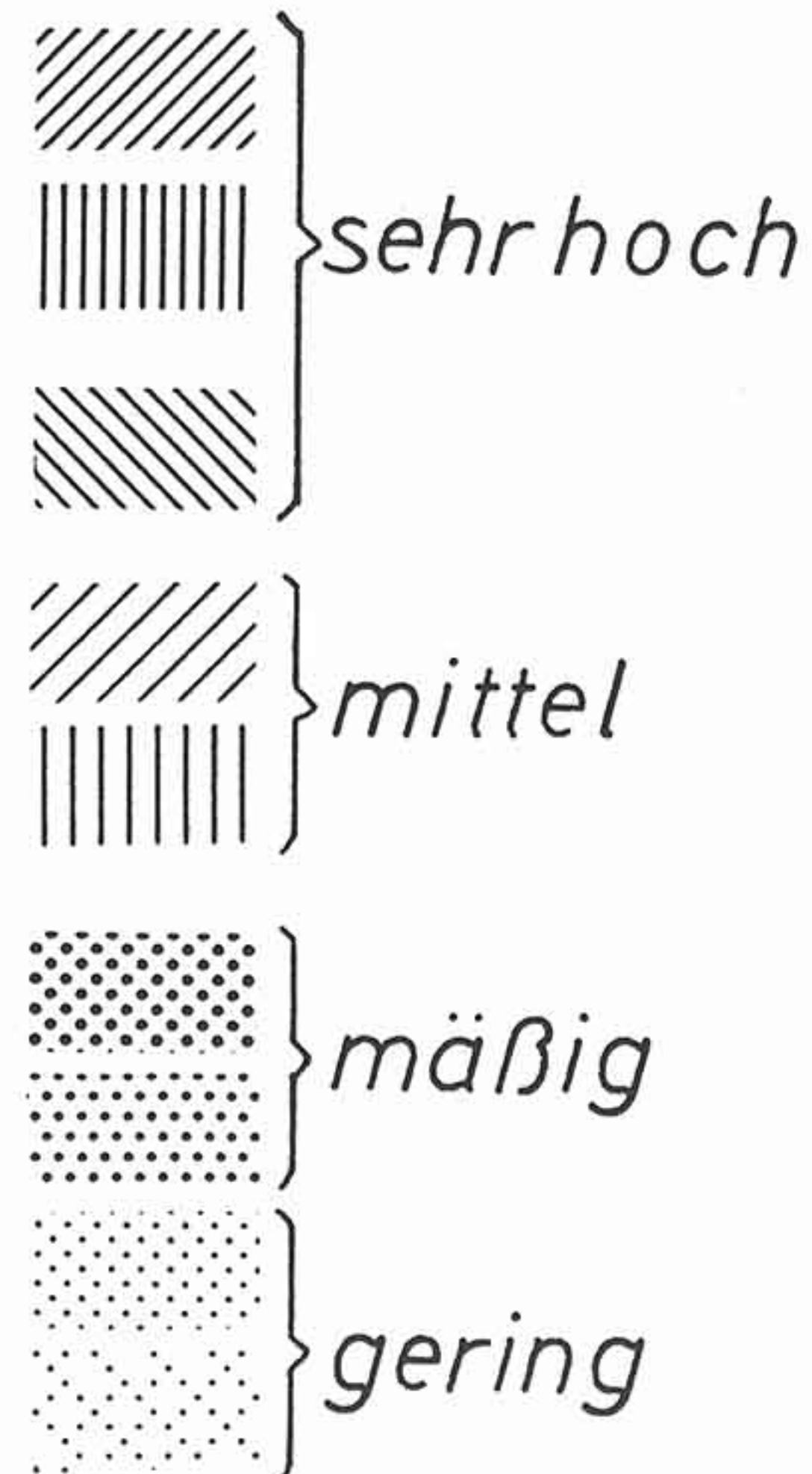
0 = Intercommissurenlinie

Einführungsdiagramm zur Angabe der Schnittstufen
und des Niveaus der Frontalschnittebene

*Intensität der ACHE-Aktivität
durch ISO-OMPA
nicht inhibierbar*



inhibierbar



4.2. Beschreibung der Diagramme

Diagramm 1, Schnittfolge 1-12

Das erste Diagramm repräsentiert die ersten 12 Schnitte der Frontalschnittserie. Die Schnittebene führt durch das Genu corporis callosi (CC). Das Cornu anterius ventriculi lateralis (VL) ist zusammen mit dem Caput nuclei caudati (cd) angeschnitten. Basal im Sulcus olfactorius liegt der Tractus olfactorius (T1). Die Area subcallosa (ASc), die Gyri orbitales (Gor) und der Gyrus rectus (Gr) sind abgebildet.

Der rostrale Nucleus caudatus zeigt eine hohe, durch ISO-OMPA nicht inhibierbare ACHE-Aktivität. Der tangentielle Anschnitt der lateralen Ventrikeloberfläche täuscht eine sehr breite Subependymschicht (Sep) zwischen Ventrikel und Caudatuskopf vor.

Im Caudatuskopf erscheint eine parallel zur Ventrikeloberfläche verlaufende subventrikuläre Zone (cd.sv), die durch eine geringe und durch ISO-OMPA völlig hemmbare Esterase-Aktivität charakterisiert ist.

Die ventro-lateralen zipfeligen Ausziehungen des Nucleus caudatus besitzen eine extrem hohe ACHE-Aktivität. In weiter caudal gelegenen Schnittebenen (D.2 ff.) erscheinen diese Areale als Kapsel (Cpt), die ventro-lateral das Putamen (Pt) von der Capsula externa (C.e) abgrenzt. Diese Areale extrem hoher ACHE-Aktivität können enzymhistochemisch dem Putamen zugerechnet werden.

Die laterale Begrenzung des Caudatuskopfes ist durch myelinisierte Fasern der Capsula interna (C.i) durchsetzt. Somit bildet sich in dieser Ebene nach ventrolateral noch keine geschlossen Form.

Im Marklager stellen sich die Fibrae cortico-lenticulares (FCL) dar, deren CHE-Aktivität durch ISO-OMPA erlischt. Im Bereich des Gyrus cinguli (Gc), der Area cingularis anterior ventralis (Feld 24 nach Brodmann), verlaufen die Fibrae cortico-lenticulares mediales (FCL.m) eng gebündelt in der cytomedullären Übergangszone. Die Area infraradiata ventralis (AIr.v) des dem Corpus callosum aufsitzenden Gyrus cinguli, sowie das Induseum griseum mit der Stria longitudinalis lateralis (Sl.l) und medialis (Sl.m) besitzen eine hohe und durch ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität. Im Marklager der Area subcallosa, der Gyri orbitales, des Lobus frontalis und Lobus parietalis verlaufen die Fasern diffuser und sind aufgrund der starken Divergenz in der cytomedullären Übergangszone nur noch sehr schwach nachweisbar. Durch die Konvergenz im Bereich der Capsula externa stellen sie sich bereits makroskopisch deutlich als Faserbündel dar (FCL.l). Im Rostrum des Corpus callosum verlaufen subventriculär bis zur ventro-medialen Oberfläche des Caudatuskopfes Fasern der Radiatio olfactoria medialis (Ro.m), die ebenfalls durch eine ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität charakterisiert sind.

Diagramm 2 ; Schnittfolge 12 - 52

In Diagramm 2 sind das Caput des Nucleus caudatus (cd), der rostrale Anteil des Putamens (Pt) und der Fundus subventricularis medialis (F.sv.m) angeschnitten.

Diese striatalen Areale besitzen eine hohe ACHE-Aktivität. Ventro-medial des schwach ACHE-positiven Caudatus subventricularis (cd.sv) grenzt ein unregelmäßig konfiguriertes Band extrem hoher ACHE-Aktivität, das sich vom dorsalen Fundus subventricularis bis zum dorso-lateralen Caudatusrand erstreckt. Von der dorso-lateralen Oberfläche des Nucleus caudatus läßt sich diese hohe ACHE-Aktivität in die lateralen Bereiche der Pontes grisei striatales verfolgen, die schließlich an der ventro-lateralen Begrenzung des Putamens in die Capsula putaminalis (Cpt) übergeht. Die Capsula putaminalis reicht bis zum dorso-medialen Rand des Fundus subventricularis.

Die Grenze zwischen Fundus subventricularis und dem übrigen Striatum läßt sich enzymhistochemisch nicht scharf ziehen. Der Fundus subventricularis besitzt eine gleich hohe ACHE-Aktivität wie der Nucleus caudatus und das Putamen. Die ACHE-Aktivität ist jedoch homogener verteilt, da dieser Bereich in weit geringerem Maße von myelinisierten Fasern der Capsula interna durchzogen wird.

Am unteren Ventrikelwinkel stellt sich die Vena thalamo-striata (VT) und ein rostraler Anteil der Stria terminalis (ST) dar. Die myelinisierten Fasern der Stria terminalis zeigen keine ACHE-Aktivität, sie schließen jedoch ein Areal hoher ACHE-Aktivität ein, das die Stria terminalis im weiteren Verlauf nach caudal begleitet.

Die Fibrae cortico-lenticulares laterales (FCL.l) verlaufen zwischen dem sich erstmals klar abgrenzbaren Claustrum (CL) innerhalb der Capsula externa (C.e). Die Fasern der Radiatio olfactoria medialis (Ro.m) verbinden sich am ventralen Pol des Striatums mit den Fasern der Fibrae cortico-lenticulares mediales und laterales, die sich der ventro-lateralen Oberfläche des Fundus subventricularis allmählich angenähert haben und sich ventral mit der Capsula putaminalis verbinden.

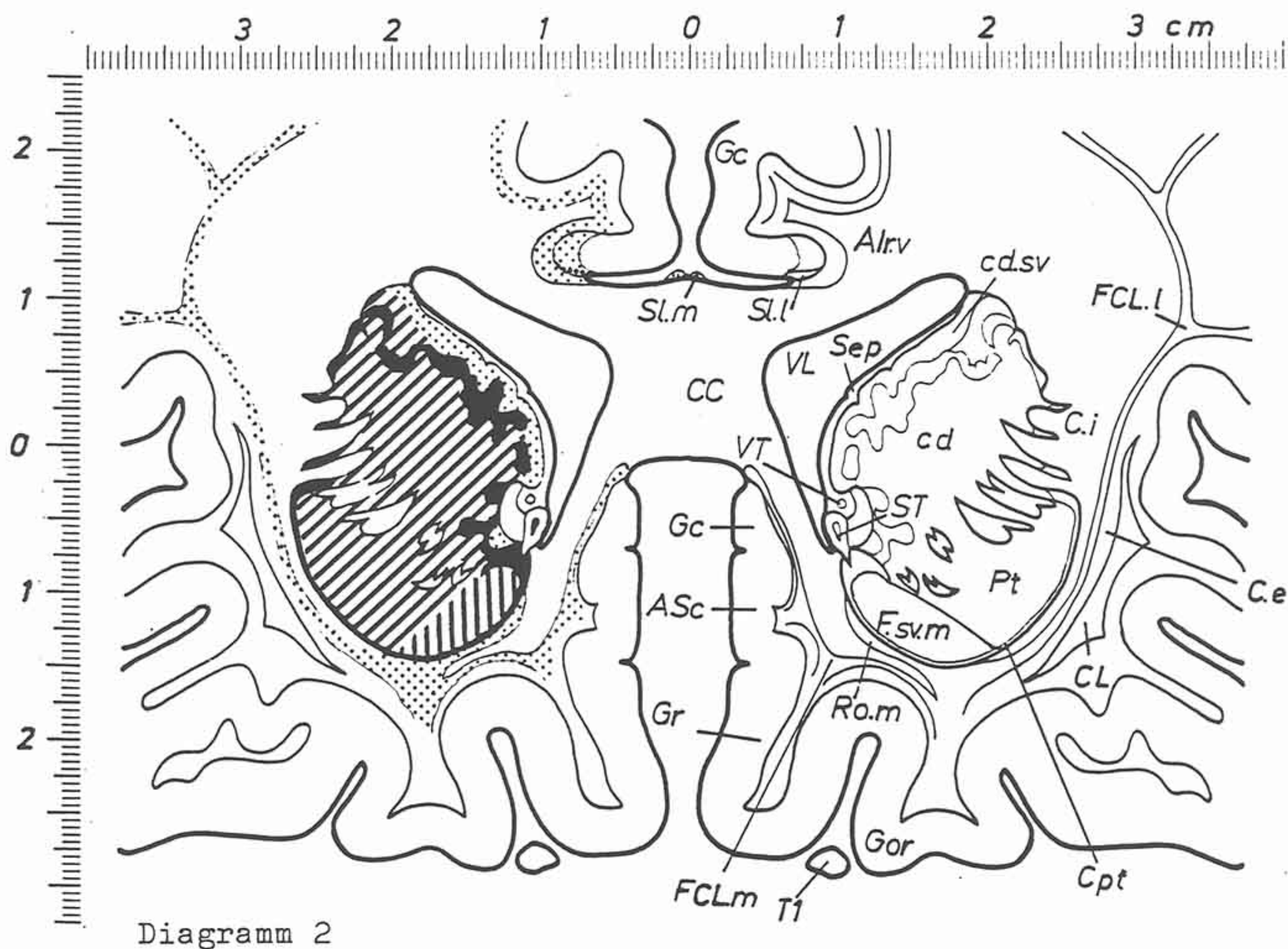
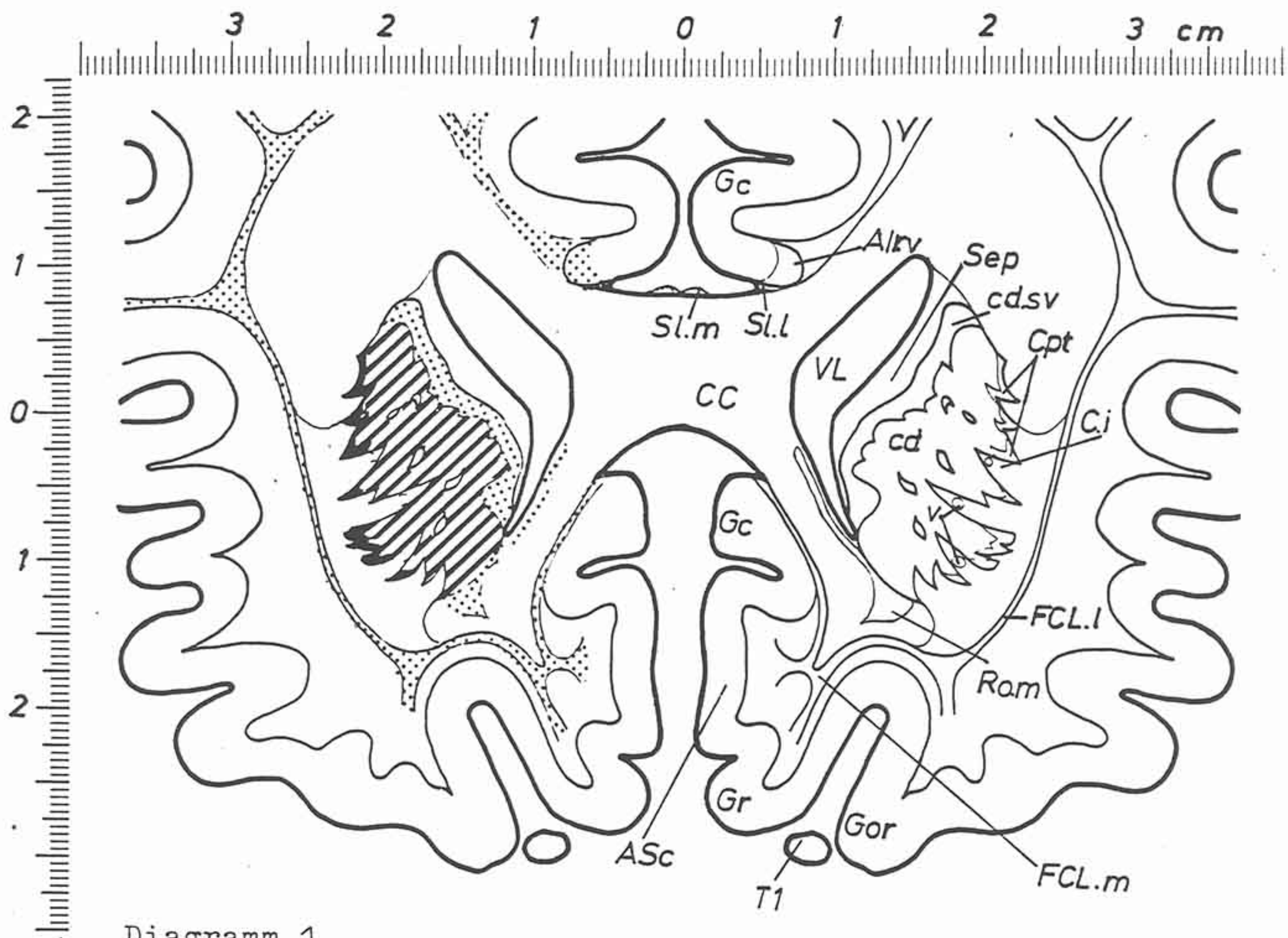


Diagramm 3 ; Schnittfolge 53 - 80

Der Caudatuskopf, das Putamen und der Fundus subventricularis lateralis und medialis sind dargestellt. Der Tractus olfactorius (T1) geht an der Basis des Stirnlappens in den Nucleus olfactorius anterior (o.a) über. Dieser trennt den Gyrus olfactorius lateralis pars anterior (Go.l.a) vom Gyrus paraterminalis (Gpt), dessen ventraler Teil nach Retzius [17] als Gyrus diagonalis (Gd) bezeichnet wird.

Im Nucleus caudatus ist das stark ACHE-positive, unterhalb des Caudatus subventricularis gelegene, Band unterbrochen und bildet einzelne Areale extrem hoher ACHE-Aktivität. Zwischen diesen Arealen finden sich Striosome, die insbesondere bei ISO-OMPA behandelten Schnitten durch ihre geringe ACHE-Aktivität auffallen. In den mit ISO-OMPA behandelten Schnitten erscheint der Caudatus subventricularis wesentlich breiter als in den nicht inhibierten Schnitten, sodaß hier eine Übergangszone zwischen den Arealen hoher Aktivität und dem ACHE-negativen Caudatus subventricularis angenommen werden kann.

Am unteren Ventrikelwinkel finden sich die Vena thalamostriata und die Stria terminalis wieder. Hier geht der Nucleus caudatus ohne scharfe Begrenzung in den Fundus caudati (Fcd) über, der im dorsomedialen Bereich tropfen- bis spindelförmige Areale zeigt, die eine sehr hohe ACHE-Aktivität aufweisen und von ACHE-negativen Kuppen überdeckt sind. Die ventrolateralen Spitzen dieser Areale erstrecken sich bis in den Fundus subventricularis lateralis. Dadurch erscheint dieser heterogener und weist eine höhere ACHE-Aktivität auf als der Fundus subventricularis medialis. Eine exakte Grenzziehung ist mittels der enzymhistochemischen Methoden auch hier nur annäherungsweise möglich.

Die Capsula putaminalis endet in dieser Ebene ventral am Übergangsbereich zwischen Putamen und Fundus subventricularis lateralis. In dieser Region bildet die Capsula putaminalis zahlreiche Ausfransungen, die mit den Fibrae cortico-lenticulares verschmelzen. Lateral verlaufen diese Fasern dicht an der Oberfläche der Capsula putaminalis. Der Truncus und das Rostrum des Corpus callosum (CC) sind in dieser Ebene erstmals durch das Septum pellucidum getrennt. Es findet sich eine starke, durch ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität der Fibrae cortico-lenticularis medialis (FCL.m) an der ventralen Oberfläche des Rostrums des Corpus callosum, wobei einzelne Fasern das Rostrum vertikal durchziehen und sich paramedian im Septum pellucidum nach dorsal bis zum Truncus des Corpus callosum fortsetzen.

Diagramm 4 ; Schnittfolge 81-120

In dieser Ebene ist das äußere Glied des Globus pallidus (GF.e) zum ersten Mal angeschnitten.

Der Nucleus caudatus stellt sich weiterhin mit seinem typischen ACHE-Verteilungsmuster dar. In Höhe der Vena thalamo-striata und der Stria terminalis löst sich der Nucleus caudatus allmählich vom Fundus subventricularis. Die ventralen Caudatusanteile (Fcd) weisen weiterhin spindelförmige Areale auf, die eine sehr hohe ACHE-Aktivität besitzen. Ihre lateralen Fortsätze ziehen sowohl durch die Capsula interna als auch durch das Pallidum externum und erreichen die mediale Oberfläche des Putamens und die dorsalen Bereiche des Fundus subventricularis lateralis.

An der medialen Oberfläche des Fundus subventricularis medialis stellen sich zum ersten Mal Anteile der Insulae terminales magnae (ITmg) dar. Ventral des Fundus subventricularis medialis geht aus der Capsula putaminalis ein stark ACHE-positives Band hervor, aus dem die Fibrae cortico-lenticulares mediales hervorgehen, die sich nach rostral (s.Dig.1-3) ausbreiten und hier ihre Verbindung mit dem Striatum eingehen.

Im Bereich der ventralen Verschmelzungszone zwischen Capsula putaminalis und den Fibrae cortico-lenticulares laterales erscheinen erstmals die Insulae terminales substriatales (ITs), die enge topographische Beziehungen zu den Gefäßen dieser Region (Substantia perforata) aufweisen.

Zwischen diesem Inselfeld und dem Gyrus olfactorius lateralis pars anterior (Go.l.a) schiebt sich das ventrale Claustrum (CL.v).

Aus dem Nucleus olfactorius anterior (oa) gehen die Stria olfactoria medialis (sl.m) und die Stria olfactoria lateralis (sl.l) hervor.

Der Gyrus diagonalis geht ohne scharfe Abgrenzung in den Gyrus olfactorius medialis (Go.m) über.

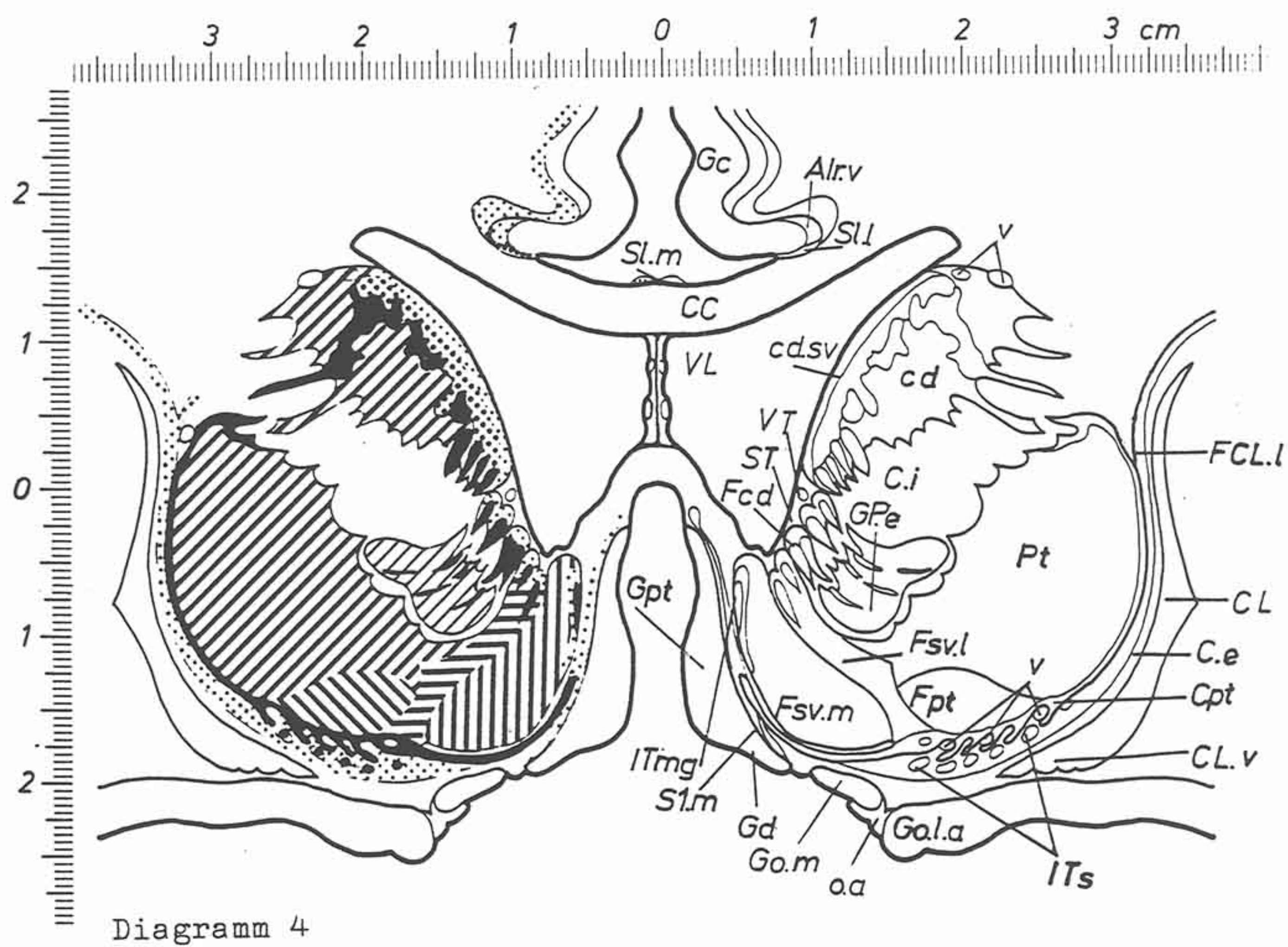
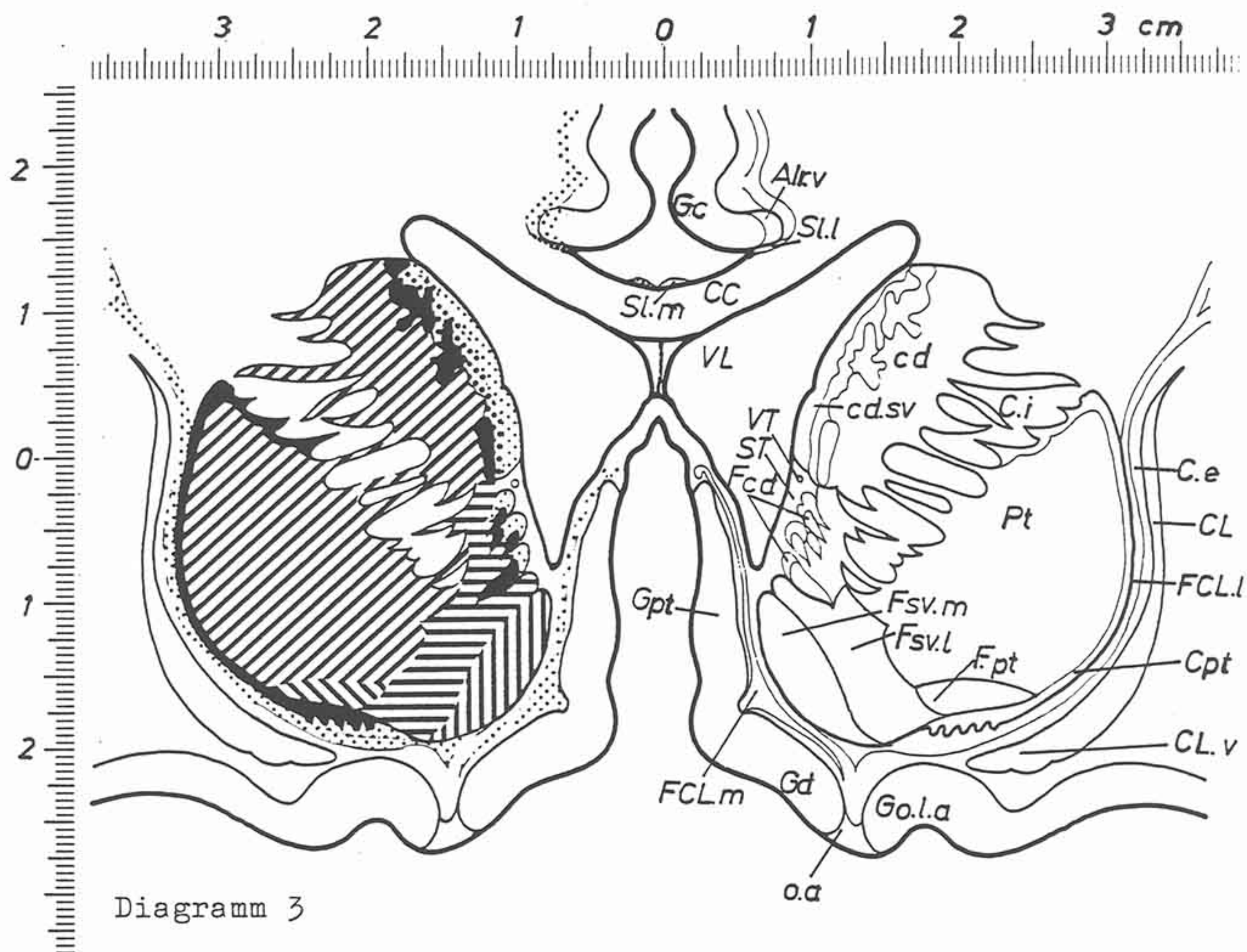


Diagramm 5 ; Schnittfolge 121-130

Diese Ebene liegt unmittelbar vor dem lateralen Schenkel der Commissura anterior (C.a). An der ventralen Striatumoberfläche sind bereits myelinisierte Fasern der Pars olfactoria der Commissura anterior (C.a.o) angeschnitten. Das Tuberculum olfactorium (TbO), das diagonale Band (DB) und der Nucleus diagonalis (d) stellen sich erstmals dar.

Die Ausdehnung der ACHE-positiven Caudatusareale werden deutlich größer und setzen sich weiterhin in den Pontes striatales bis zur Capsula putaminalis fort. Die ventralen spindelförmigen und stark ACHE-positiven Caudatusanteile (Fcd) durchqueren einerseits das äußere Glied des Globus pallidus und erreichen die mediale Putamenfläche. Andererseits setzt sich die ACHE-Aktivität nach ventral fort und verzweigt sich im Fundus subventricularis lateralis, der aus diesem Grund im Gegensatz zum Fundus subventricularis medialis heterogener erscheint und eine stärkere ACHE-Aktivität besitzt.

An der ventralen Oberfläche des Striatums erscheint medial der myelinisierten Fasern der Commissura anterior pars olfactoria (C.a.o) das Tuberculum olfactorium (TbO); lateral das substriatale Inselfeld (ITs). Das Tuberculum olfactorium weist eine geringe CHE-Aktivität auf. Die Grenze zwischen dem Tuberculum olfactorium und dem Fundus subventricularis medialis (Fsv.m) wurde aufgrund der ISO-OMPA behandelten Schnitte gezogen, wobei im Stratum moleculare und im Stratum densocellulare des Tuberculum olfactorium die CHE-Aktivität vollständig inhibiert wird, während sich der Fundus subventricularis durch eine starke ACHE-Aktivität kontrastiert. Dorsomedial schließen sich die Insulae terminales magnae (ITmg) an das Tuberculum olfactorium an.

Zwischen den Insulae terminales magnae und dem Fundus subventricularis medialis ziehen nach dorsomedial schwach myelinisierte Fasern der Stria olfactoria medialis (S1.m).

Im diagonalen Band (DB), das eine ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität besitzt, verlaufen Fasern zum Septum.

Medial der Insulae terminales magnae ist erstmals der Nucleus diagonalis (d) angeschnitten, dessen makrozelluläre Neurone hohe ACHE-Aktivität zeigen.

Neben der Stria olfactoria lateralis (S1.l), ein medial des Gyrus olfactorius lateralis pars anterior (Go.l.a) nach lateral verlaufendes myelinisiertes Faserband, stellt sich die Stria olfactoria pars interna (S1.i) dar, ein ebenfalls myelinisiertes Faserband, das sich ventral zwischen das substriatale Inselfeld und den Nucleus olfactorius lateralis (o.l) schiebt. Der Nucleus olfactorius lateralis wird medial vom Tuberculum olfactorium und Fundus subventricularis lateralis, ventral vom Gyrus olfactorius lateralis pars anterior, dorsal vom substriatalem Inselfeld und lateral vom Claustrum begrenzt. Er zeigt eine nur geringe ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität.

Diagramm 6 ; Schnittfolge 131-140

In dieser Schnittebene ist der laterale Schenkel der Commissura anterior (C.a) zum ersten Mal getroffen. Es stellen sich noch caudale Anteile des Fundus caudati dar.

Die Areale sehr starker ACHE-Aktivität im Nucleus caudatus verlagern sich zunehmend in die dorsolateralen und ventralen Bereiche des Nucleus caudatus, während die striosomale Gliederung im medialen Bereich in Erscheinung tritt.

Am unteren Ventrikelwinkel wird der Fundus caudati durch den Interstitialkern der Stria terminalis (ist) abgelöst, der sich dorsomedial der Commissura anterior darstellt. Die CHE-Aktivität ist gering und durch ISO-OMPA vollständig inhibierbar. In diesem Areal zeigen sich einzelne kleinzellige stark ACHE-positive Inselkerne (s.Diag.7; ITist)

Die starke ACHE-Aktivität des Fundus caudati, die ventral bis in den Fundus subventricularis lateralis reicht, umschreibt die Commissura anterior in ihrem gesamten Verlauf, einschließlich der Pars olfactoria (s.Dig.7).

Der Fundus subventricularis medialis zeigt im dorsomedialen Bereich eine streifige Anordnung stark ACHE-positiver Areale. Er begrenzt weiterhin das Tuberculum olfactorium nach dorsal.

Ventral der Commissura anterior grenzt sich deutlich das ventrale Pallidum ab. Die mit ISO-OMPA behandelten Schnitte zeigen eine vollständige Hemmung der CHE-Aktivität des gesamten Pallidums.

Zwischen den Insulae terminales magnae und dem Fundus subventricularis medialis sind Fasern der Stria olfactoria medialis nachweisbar.

Das Claustrum, das selbst keine CHE-Aktivität zeigt, wird ventral durch die Fibrae cortico-lenticulares ventrolaterales (FCL.v.l) in einzelne separate Claustrumareale unterteilt.

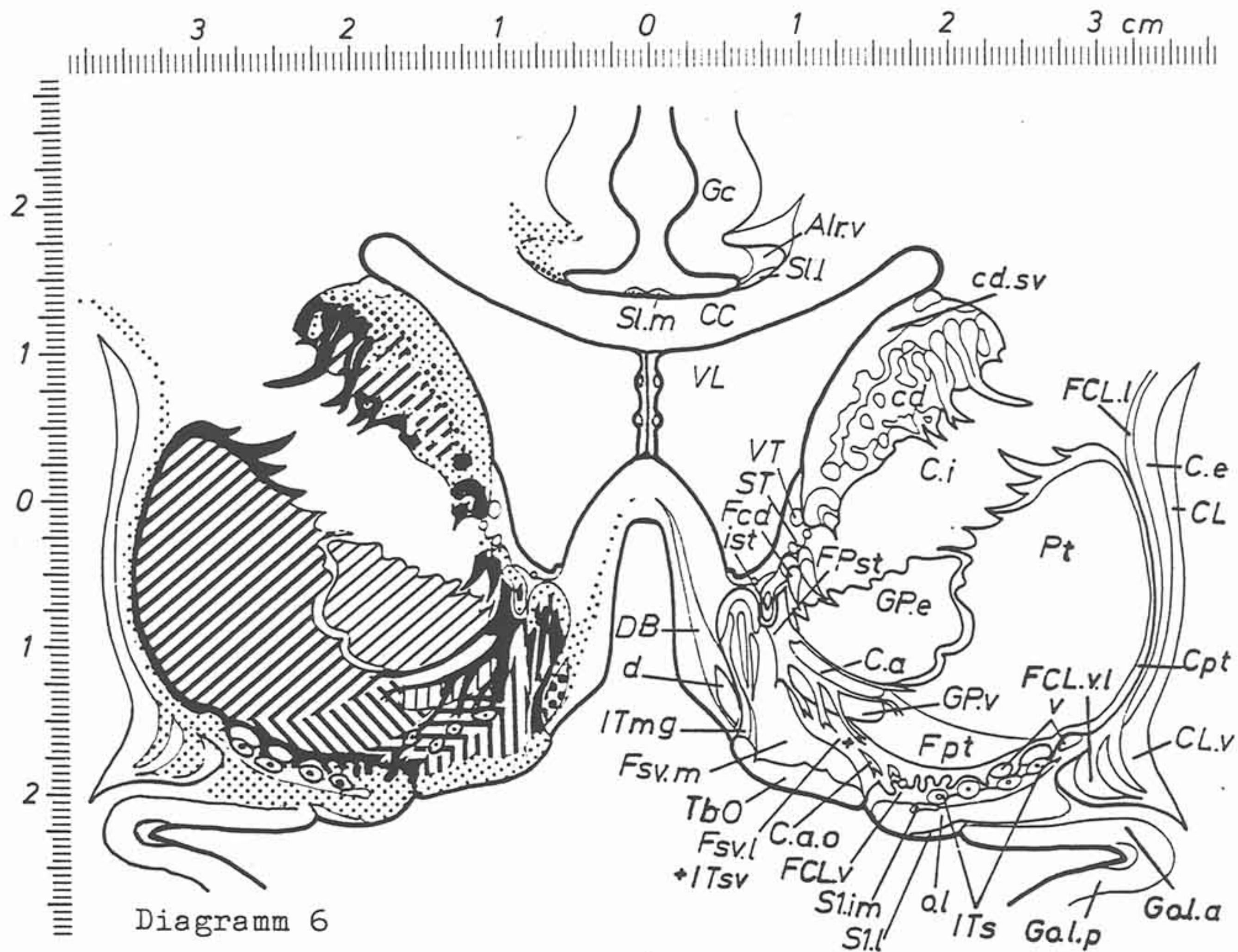
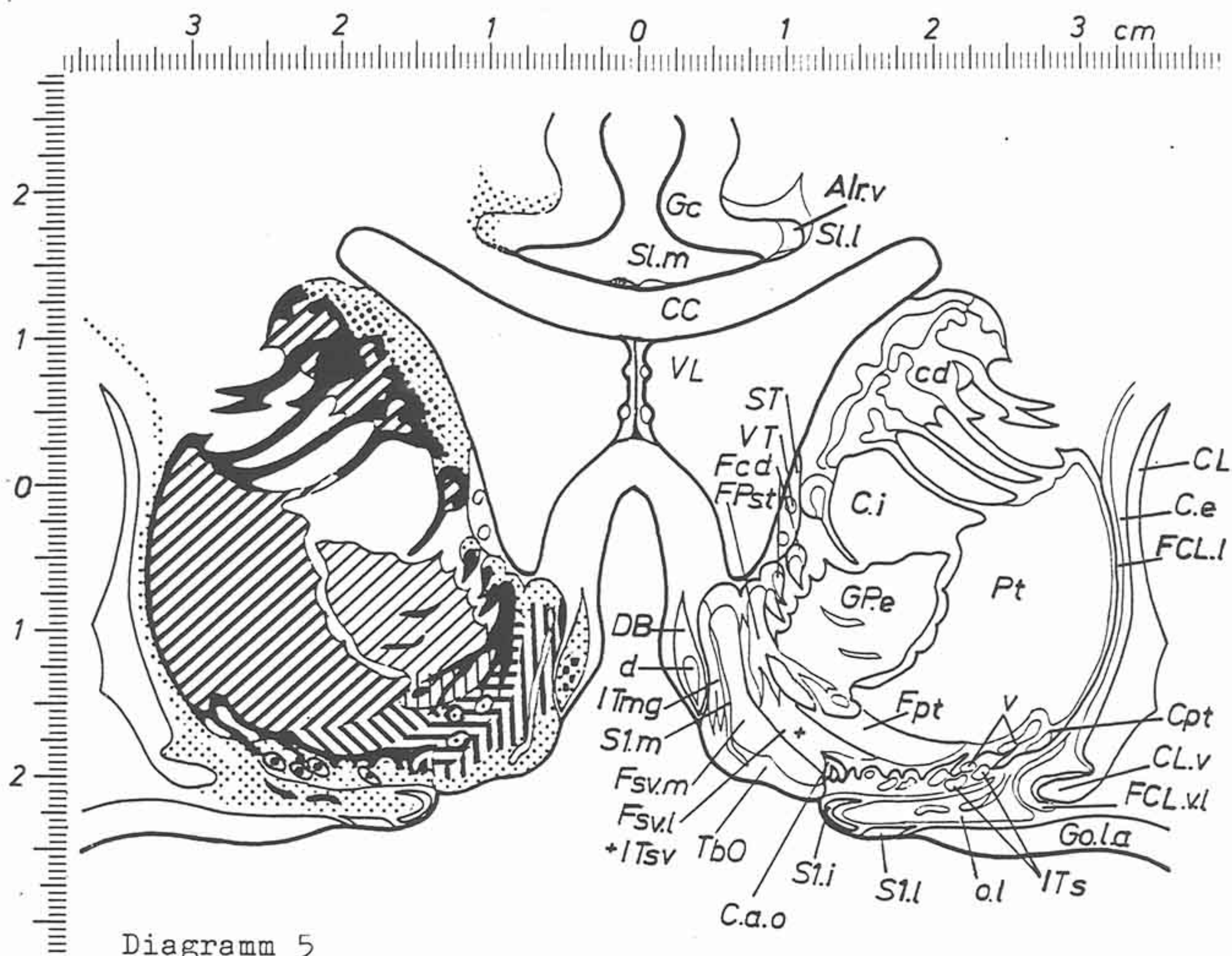


Diagramm 7 ; Schnittfolge 141-162

Die Ebene zeigt den rostralen Anschnitt des inneren Gliedes des Globus pallidus, den Interstitialkern der Stria terminalis, die Pars olfactoria der Commissura anterior und den caudalen Abschnitt des Fundus subventricularis lateralis.

Die ACHE-Verteilung im Corpusbereich des Nucleus caudatus zeigt keine Veränderungen. Ventral des Nucleus caudatus und dorsal der Commissura anterior bildet sich aus dem Fundus caudati ein extrem stark ACHE-positives Band, das die Capsula interna medial begrenzt. Parallel zu dieser ventralen striatalen Zellbrücke verlaufen die myelinisierten Fasern der Stria terminalis. Aus diesem Grund wird dieser Bereich als Fibræ parastriaterminales (FPst) bezeichnet.

Der Interstitialkern der Stria terminalis, der eine durch ISO-OMPA hemmbare ACHE-Aktivität aufweist, schmiegt sich medial an dieses Band an und liegt am unteren Ventrikelwinkel dorsal des medialen Commissurenabschnittes. Im Interstitialkern finden sich kleinzellige Zellinseln hoher ACHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA nicht inhibiert werden (ITist).

Das ACHE-positive Band begleitet sowohl die Commissura anterior nach lateral als auch die Pars olfactoria nach ventral, wo es sich in den caudalen Abschnitten des Fundus subventricularis lateralis, der den Fundus subventricularis medialis vollständig verdrängt hat, breitflächig auffächert. Im caudalen Fundus subventricularis lateralis finden sich die Insulae terminales subventriculares (ITsv).

Das substriatale Inselnfeld (ITs) schließt sich lateral an den Fundus subventricularis an.

Der Nucleus diagonalis und das diagonale Band finden sich medial des Fundus subventricularis lateralis.

Zwischen der Commissura anterior und der Commissura anterior pars olfactoria schiebt sich das ventrale Pallidum ein, das sich aufgrund der vollständigen Hemmbarkeit der Cholinesterase-Aktivität mit ISO-OMPA deutlich vom Fundus subventricularis abgrenzt. Das dorsale Pallidum gliedert sich erstmals durch einen CHE-freien Saum in eine Pars externa und interna, wobei die lateralen Abschnitte, die der Lamina medullaris pallidi lateralis und medialis (LM.l, LM.m) zugewandt sind, eine deutlich höhere CHE-Aktivität aufweisen. ISO-OMPA inhibiert ebenfalls die CHE-Aktivität des dorsalen Pallidums vollständig.

Diagramm 8 ; Schnittfolge 163-176

In dieser Ebene sind das Chiasma opticum, der vordere Abschnitt des Corpus amygdaloideum, der Fornix und der Nucleus basalis erstmals angeschnitten.

Der dorsolaterale Nucleus caudatus zeigt eine starke und homogene ACHE-Verteilung. Das am ventralen Rand des Corpus caudati beginnende ACHE-positive Band (FPst) verläuft ventralwärts am medialen Rand der Capsula interna, verzweigt sich im inneren Glied des Globus pallidum, umscheidet die Commissura anterior und fächert sich zwischen dem dorso-medialen Rand des Nucleus basalis pars diffusa und dem lateralen Hypothalamus auf.

Am unteren Ventrikelwinkel, medial dieses Bandes, ist der caudale Anteil des Interstitialkerns der Stria terminalis noch sichtbar.

Der Meynert'sche Basalkernkomplex enthält medial noch makrozelluläre Neurone des Nucleus diagonalis. Es handelt sich nach Brockhaus [1] um die Pars diffusa des Nucleus basalis. Lateral ist der rostrale Teil der Pars compacta des Nucleus basalis angeschnitten. Diese makrozellulären Neurone, die hohe ACHE-Aktivität aufweisen, liegen in einer Umgebung, die ebenfalls eine hohe ACHE-Aktivität besitzt. Dorsal wird der Nucleus basalis vom ventralen Pallidum begrenzt. Eine Trennung dieser beiden Strukturen durch die Lamina medullaris lateralis wird in dieser Ebene noch nicht beobachtet. Ventral des Nucleus basalis fügen sich caudale Anteile des Tuberculum olfactorium mit den typischen Inselbildungen an (ITo).

Wie auch in Diagramm 6 und 7 erkennbar, trennt der Angulus olfactorius (Limen insulae) den vorderen (Go.l.a) vom hinteren Schenkel (Go.l.p) des Gyrus olfactorius lateralis.

Die stark ACHE-positive Capsula putaminalis spaltet sich ventrolateral in vier Anteile auf:

Einerseits reicht die Capsula putaminalis bis an die laterale Spitze der Commissura anterior, wo sie sich mit der ACHE-Aktivität, die die Commissura anterior umhüllt, verbindet. Andererseits verläuft ein Ast der Capsula putaminalis bis an den lateralen Rand des Tuberculum olfactorium und das olfactorische Inselfeld. Weitere Zellbrücken reichen in die caudalen Anteile des Nucleus olfactorius lateralis, der ventral an den Gyrus olfactorius lateralis pars anterior grenzt. An der lateralen Seite des Putamens besteht eine Aufzweigung der Capsula putaminalis, aus der Fasern mit ISO-OMPA inhibierbarer CHE-Aktivität hervorgehen, die an der medialen Seite des Claustrum profundum verlaufen und bis zum vorderen Mandelkerngebiet reichen. Sie werden als Fibrae cortico-lenticulares ventro-laterales bezeichnet.

In dieser Ebene umschließt das ventrale Claustrum von dorsal den rostralen Anteil des Mandelkernkomplexes (ap.l), der noch keine CHE-Aktivität besitzt.

Median ist das Chiasma opticum (CO) erstmals angeschnitten. Der Nucleus supraopticus (so) zeigt keine ACHE-Aktivität.

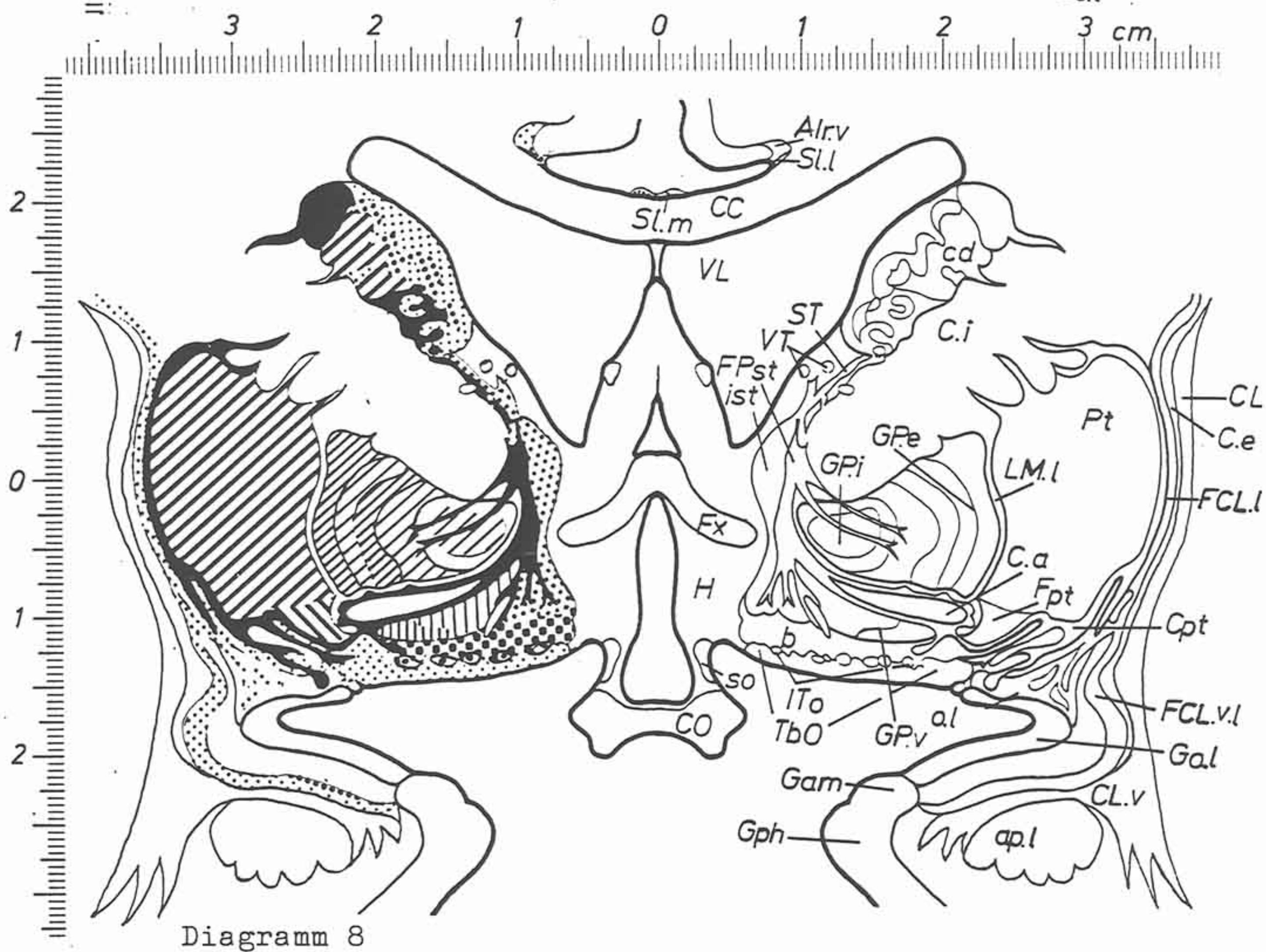
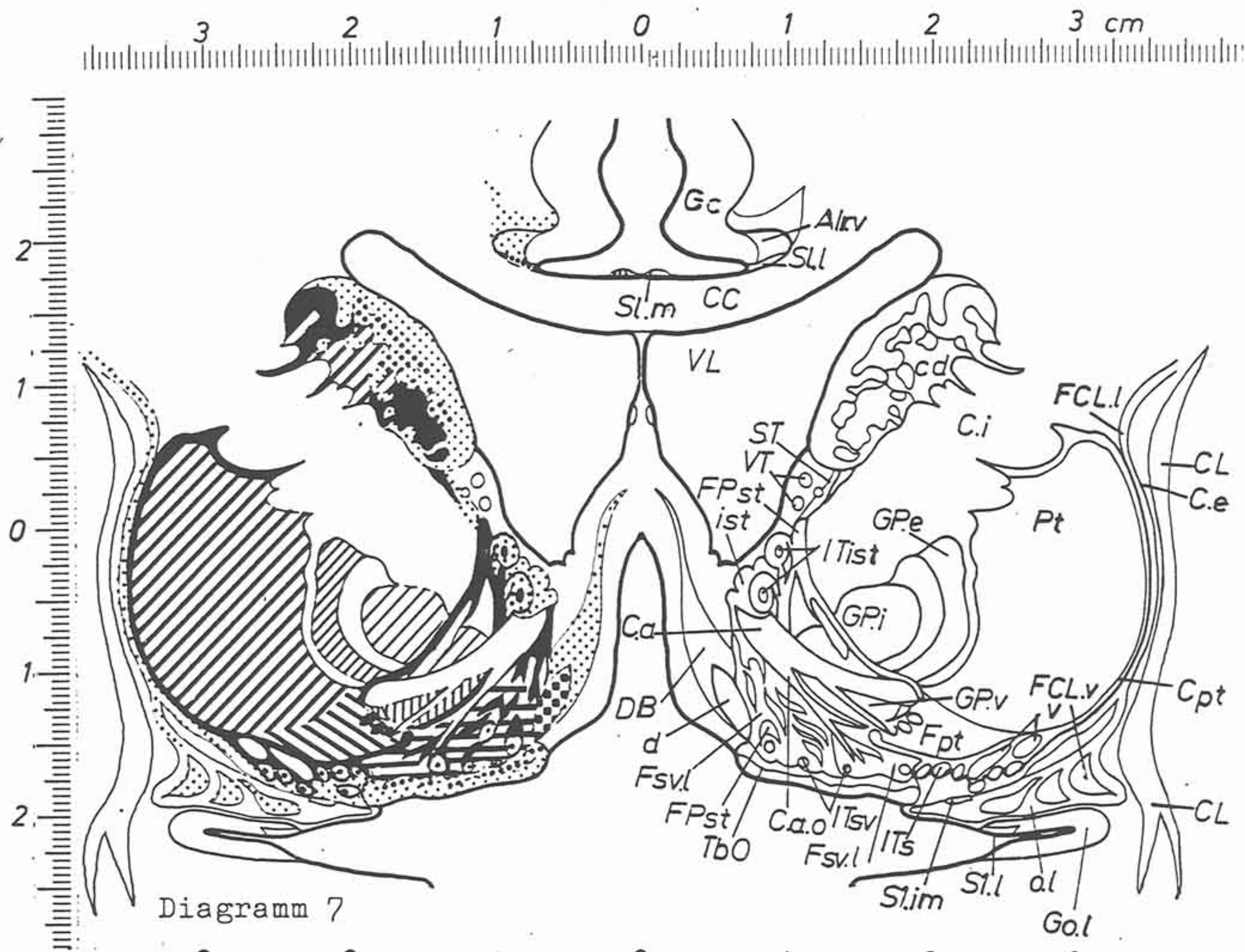


Diagramm 9, Schnittfolge 177-190

In dieser Ebene stellt sich der Thalamus (t) mit seinem reticulären Anteil (t.r) und der Hypothalamus dar.

Im Thalamus reticularis (t.r) finden sich kleine locker verstreute Zellen mit geringer ISO-OMPA hemmbarer CHE-Aktivität.

Fasern der Stria terminalis (ST) verlaufen am medialen Rand des Thalamus. Sie lassen sich bis zum medialen Vorderhirnbündel (MFB) verfolgen. Die Fasern der Stria terminalis (ST) werden nicht mehr von ACHE-positivem Gewebe begleitet.

Die Fasern des Pedunculus thalami inferior (PT.i) zeigen eine schwache, ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität, die über den Fasciculus lenticularis (FL) bis zum inneren Pallidumglied reicht.

Auffallend sind Areale starker CHE-Aktivität in der ventromedialen Lamina medullaris medialis (LM.m). Auch die CHE-Aktivität in der Lamina medullaris medialis wird, wie die gesamte pallidäre CHE-Aktivität durch ISO-OMPA inhibiert.

Ventral der nach lateral fortschreitenden Commissura anterior und ventral des Pallidum ventrale erstreckt sich die Pars compacta des Nucleus basalis. Seine Neurone reichen vereinzelt bis in die Lamina medullaris medialis hinein.

Die Aufzweigung der ventralen Anteile der stark ACHE-positiven Capsula putaminalis ist weiterhin sichtbar. Die Zellbrücken liegen nun abgelöst vom Putamen in den Fibræ cortico-lenticulares ventrolaterales (FCL.v.l), die im Marklager des Gyrus olfactorius lateralis (Go.l) verlaufen und bis zum Nucleus amygdaloideum profundus lateralis (ap.l) zu verfolgen sind.

Diagramm 10, Schnittfolge 191-205

Diese Ebene führt durch die Pars infundibularis des Hypothalamus (H). Der Thalamus lateralis (t.l) stellt sich dar. Der Mandelkernkomplex gliedert sich in verschiedene Unterkerne.

Im Corpus des Nucleus caudatus zeigt sich weiterhin die starke ACHE-Aktivität im dorso-lateralen Bereich. Der ventrale Bereich des Corpus des Nucleus caudatus zeigt ebenfalls eine starke ACHE-Aktivität.

Die Fasern der Stria terminalis (ST) ziehen dorso-medial über den Thalamus und reichen bis an den Fornix (Fx) und den Nucleus paraventricularis (pv).

Die Fasern der Ansa lenticularis (AL), des Pedunculus thalami inferior (PT.i), des Fasciculus lenticularis (FL) und des medialen Vorderhirnbündels (MFE) zeigen eine leichte und ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität.

Der Umfang des Nucleus basalis wird kleiner. Die ebenfalls stark ACHE-positive Umgebung der makrozellulären Neurone grenzt als Teil des Nucleus basalis direkt an das ventrale Pallidum. Die stark ACHE-positiven makrozellulären Neurone des Nucleus basalis lassen sich bis in die ventralen Abschnitte der Lamina medullaris lateralis (LM.l) in Nachbarschaft der Commissura anterior (C.a) nachweisen.

Die Commissura anterior wird vollständig von der hohen ACHE-Aktivität der Capsula putaminalis umschlossen.

Dorsomedial des Tractus opticus (T2) und medial des Nucleus supraopticus pars lateralis (so), der selbst keine CHE-Aktivität aufweist, zeigt sich die Decussatio supraoptica ventralis (Dso), mit Fasern mäßiger CHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA inhibiert wird.

Der Mandelkernkomplex gliedert sich in folgende Unterkerne:

a) Der Nucleus amygdaloideus profundus lateralis (ap.l) besitzt eine geringe CHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA vollständig inhibiert wird. An der dorsalen und ventralen Grenze ist dieser Bereich von einigen mäßig CHE-positiven Arealen begrenzt, die durch ISO-OMPA ebenfalls inhibiert werden.

b) Der Nucleus amygdaloideus profundus intermedius (ap.im) zeigt im dorsalen Anteil eine hohe und durch ISO-OMPA nicht inhibierbare ACHE-Aktivität. Sie grenzt sich zur dorsalen Umgebung scharf ab. Nach ventral nimmt die ACHE-Aktivität kontinuierlich ab und geht ohne scharfe Begrenzung in den

c) Nucleus amygdaloideus profundus ventralis (ap.v) über. Dieser besitzt eine nur mäßige CHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA inhibiert wird.

d) Der Nucleus amygdaloideus profundus medialis (ap.m) besitzt in dieser Ebene eine schwache und ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität.

e) Der Nucleus amygdaloideus anterior (a.a) und

f) der Nucleus amygdaloideus medialis (a.m) besitzen eine geringe CHE-Aktivität, die ebenfalls durch ISO-OMPA inhibiert wird.

g) Der Nucleus amygdaloideus corticalis (a.co) zeigt in dieser Ebene noch keine ACHE-Aktivität.

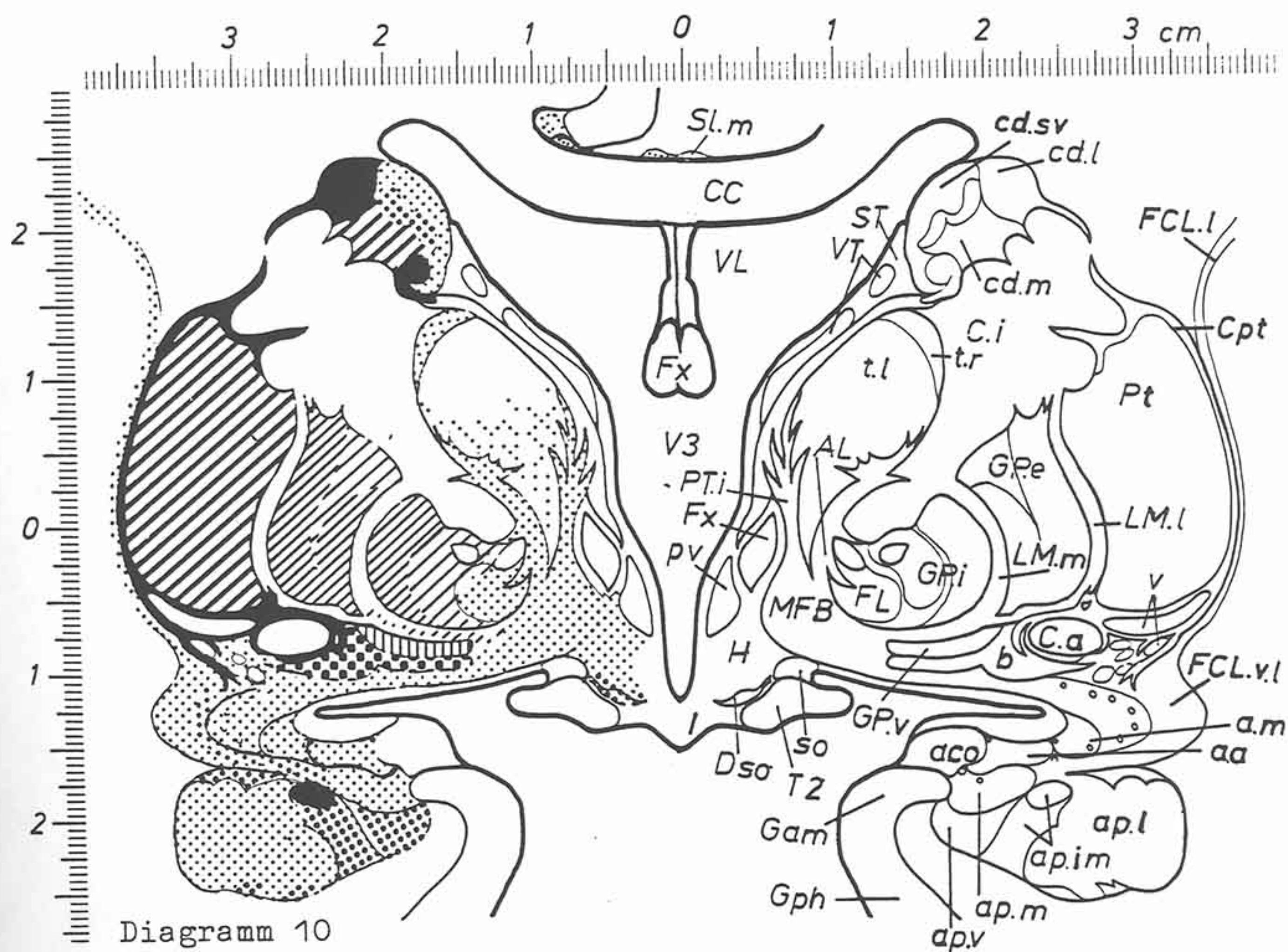
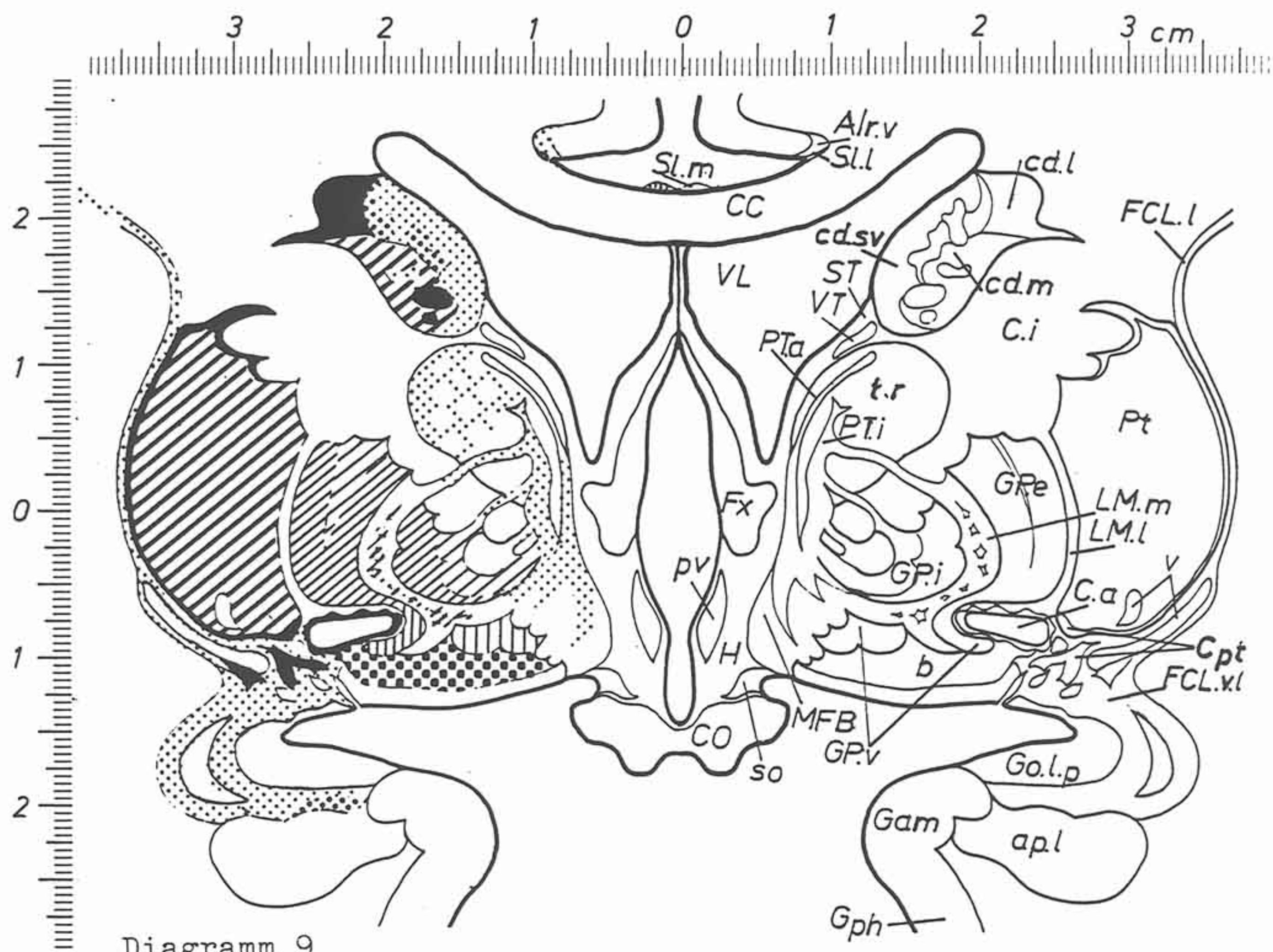


Diagramm 11, Schnittfolge 206-230

Diese Ebene zeigt die Ansa lenticularis (AL). Der Nucleus thalami anterior (t.a) ist erstmals angeschnitten.

Der ventrale Bereich des Nucleus caudatus wird nun vom Nucleus caudatus subventricularis eingenommen, der nur eine sehr geringe und ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität aufweist. Der Nucleus caudatus lateralis (cd.l) zeigt weiterhin sehr starke ACHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA nicht gehemmt wird.

Die starke ACHE-Aktivität der Pontes grisei striatales, die vom Nucleus caudatus lateralis ausgehen und zur Capsula putaminalis (Cpt) ziehen, lassen sich in dieser Ebene auch deutlich an der medialen Putamengrenze und in der Lamina medullaris lateralis (LM.l) darstellen. Diese hohe ACHE-Aktivität verschmilzt ventral mit der hohen pericommissuralen ACHE-Aktivität.

Die Zellen des Nucleus basalis liegen dicht an den Fasern der Commissura anterior und erstrecken sich ventral des inneren und äußeren Pallidumgliedes.

Dorsal des Tractus opticus (T2) und ventral der Ansa lenticularis (AL) verlaufen mäßig starke und ISO-OMPA inhibierbare CHE-positive supraoptische Commissurenfasern, die sich bis zur Lamina medullaris medialis verfolgen lassen.

Zwischen der Ansa lenticularis und dem Fornix (Fx) findet sich ein perifornicales Feld mit Zellen schwacher und ISO-OMPA inhibierbarer CHE-Aktivität.

Die Ansa lenticularis zeigt Fasern mit mäßig starker und ISO-OMPA inhibierbarer CHE-Aktivität, die ventromedial um die Capsula interna (C.i) ziehen und bis an den Thalamus reticularis reichen.

Im Mandelkernkomplex grenzt sich dorsal des Nucleus amygdaloideus anterior (a.a) der Nucleus amygdaloideus centralis ab (a.ce), der erst weiter caudal (Dig.12) deutliche ACHE-Aktivität zeigt. Ventromedial stülpt er sich in den Nucleus amygdaloideus anterior ein, der dadurch ein kokardenartiges Aussehen erhält.

Der Nucleus amygdaloideus profundus lateralis (ap.l) zeigt eine Zweiteilung. Der laterale Anteil zeigt keine CHE-Aktivität. Der mediale Anteil, der an den Nucleus amygdaloideus profundus intermedius grenzt, besitzt eine geringfügige und ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität.

Der dorsale Anteil des Nucleus amygdaloideus profundus intermedius (ap.im) mit starker und mittels ISO-OMPA nicht inhibierbarer ACHE-Aktivität nimmt an Größe zu. Nach ventral wird die ACHE-Aktivität allmählich schwächer. Die CHE-Aktivität im Nucleus amygdaloideus profundus ventralis ist nur gering und durch ISO-OMPA inhibierbar.

Diagramm 12 , Schnittfolge 231-250

Diese Ebene führt durch den Nucleus thalami medialis (t.m), die Fibrae perforantes pedunculi (Fpp), den Fasciculus thalamicus (H1) und den Fasciculus lenticularis (H2).

Der Nucleus caudatus zeigt das gleiche ACHE-Aktivitäts-Verteilungsmuster wie in der vorangegangenen Ebene. Das Putamen und Pallidum nehmen nach caudal an Umfang allmählich ab. Das Pallidum externum zeigt an seiner dorsolateralen Spitze eine sehr hohe und durch ISO-OMPA nicht inhibierbare ACHE-Aktivität. Es handelt sich um die Verschmelzung der Pontes striatales mit dem Pallidum externum.

Die Lamina medullaris lateralis ist weiterhin von Zellbrücken hoher ACHE-Aktivität durchzogen, die vom Nucleus caudatus lateralis bis an die ventromediale Spitze des Putamens zu verfolgen sind.

Die Commissura anterior begrenzt lateral den Nucleus basalis und dorsolateral den Mandelkernkomplex. Ihre ventralen Anteile werden von Fasern hoher ACHE-Aktivität durchzogen, die aus der pericommissuralen ACHE-Aktivität hervorgegangen sind. Caudal der Ansa lenticularis (Diag. 11) finden sich in dieser Ebene die Fibrae perforantes pedunculi (Fpp), ein kammförmiges Areal mit mäßiger und ISO-OMPA hemmbarer ACHE-Aktivität.

Zwischen dem ventralen Putamen und dem Mandelkernkomplex, der jetzt seine größte Ausdehnung zeigt, liegen an der medialen Seite der Commissura anterior die Zellen des lateralen Nucleus basalis mit hoher ACHE-Aktivität.

Zwischen den medialen Zellen des Nucleus basalis und der ventralen Lamina medullaris medialis verlaufen die supraoptischen Fasern, die sich bis zur ventromedialen Spitze des externen Pallidumgliedes verfolgen lassen.

Der Nucleus amygdaloideus profundus intermedius (ap.im) zeigt im dorsalen Bereich weiterhin eine starke ACHE-Aktivität. Der ventrale Anteil dieses Kerngebietes läßt sich zum Teil durch ISO-OMPA inhibieren. Der Nucleus amygdaloideus profundus ventralis (ap.v) zeigt eine geringe und durch ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität. Der Nucleus amygdaloideus profundus lateralis (ap.l) weist weiterhin die in Diagramm 11 beschriebene Zweiteilung auf. Auch der Nucleus amygdaloideus profundus medialis zeigt in dieser Ebene eine Zweiteilung. Er besitzt in seiner dorsalen Hälfte eine mäßig starke, ISO-OMPA nicht inhibierbare, ACHE-Aktivität, während der ventrale, oval geformte Anteil eine nur geringe und ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität aufweist. Der Nucleus amygdaloideus centralis (a.ce) besitzt eine ebenso starke ACHE-Aktivität wie der dorsale Anteil des Nucleus amygdaloideus profundus medialis. Der Nucleus amygdaloideus centralis stülpt sich ventromedial in den Nucleus amygdaloideus anterior (a.a) ein, sodaß dieser ebenfalls aus zwei Anteilen besteht, nämlich einem peripheren ACHE-negativen Anteil, der einen zentralen Anteil mit geringer und ISO-OMPA hemmbarer CHE-Aktivität umschließt. Die Nuclei amygdaloidei medialis und -corticalis zeigen keine ACHE-Aktivität.

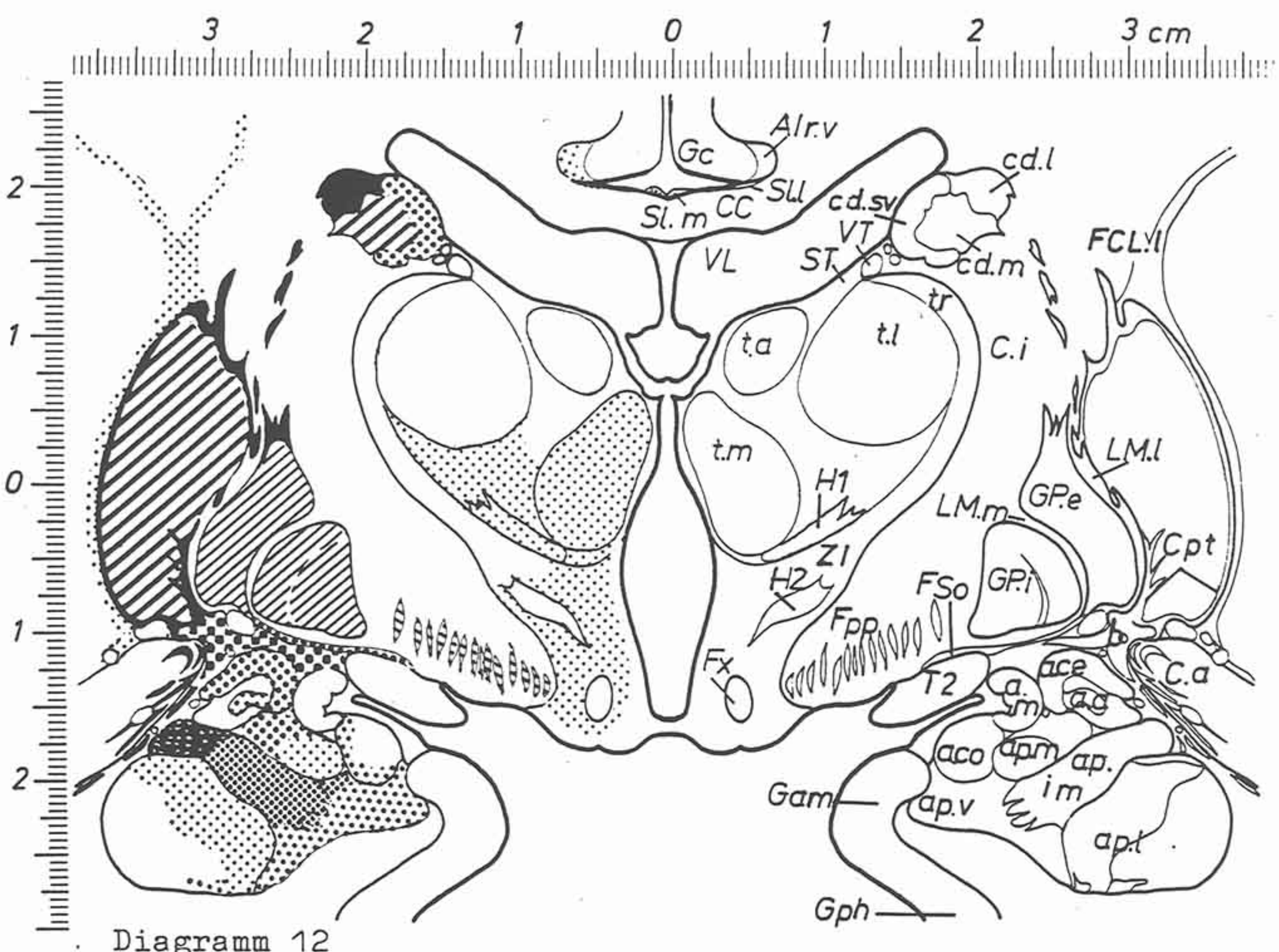
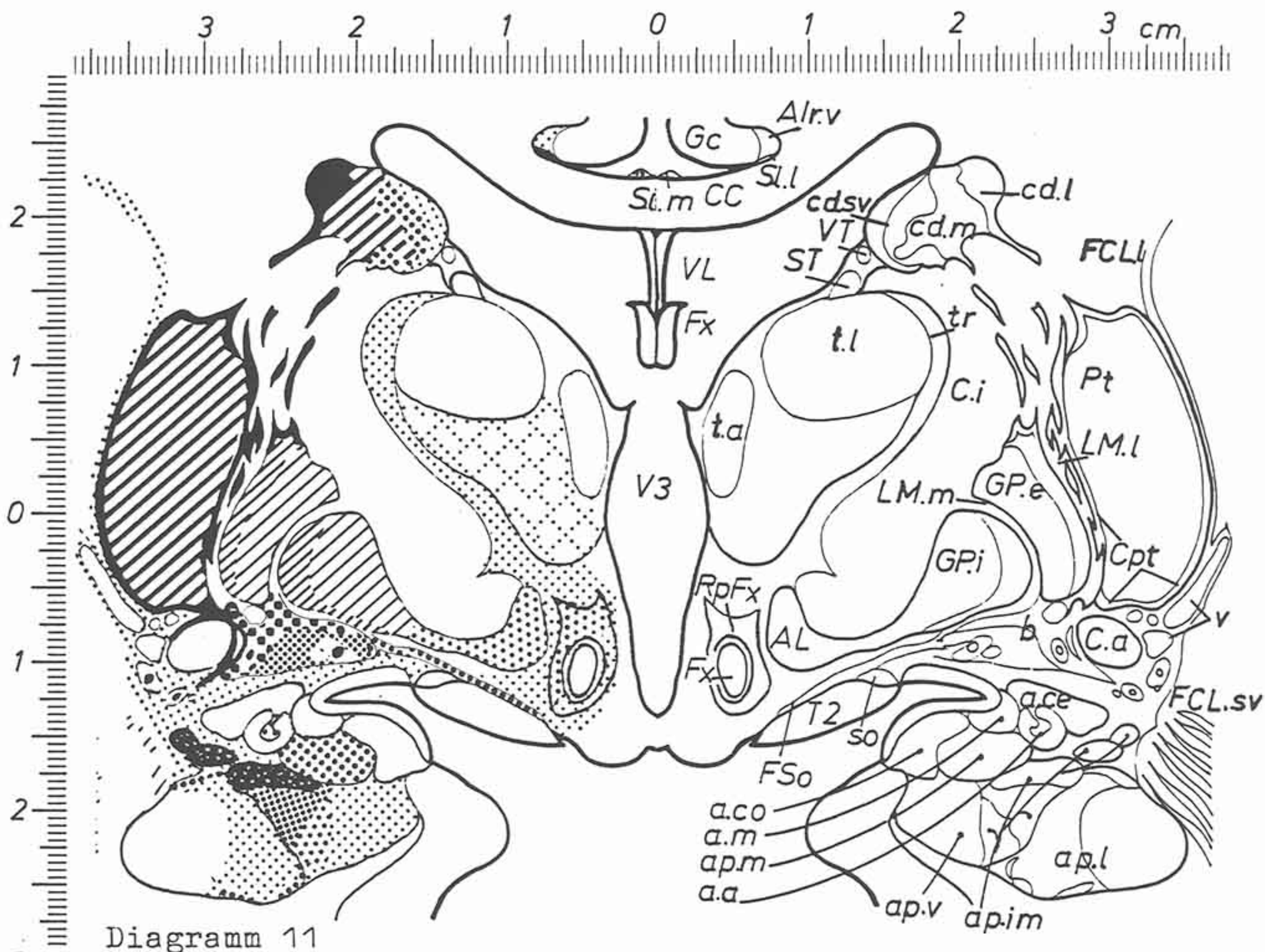


Diagramm 13 , Schnittfolge 251-265

In dieser Ebene sind der Nucleus subthalamicus und das Corpus mamillare erstmals angeschnitten.

Der Nucleus caudatus, das Putamen und der Globus pallidus stellen sich in gleicher Weise, wie in Diagramm 12 beschrieben, dar.

Zwischen der Commissura anterior und dem Mandelkern findet sich der Pedunculus caudati, der die ventrale Verbindung zwischen der Cauda des Nucleus Caudatus und dem Putamen repräsentiert. Er zeigt eine mäßig starke und ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität. Ventral ist die Cauda des Nucleus caudatus angeschnitten, die eine starke ACHE-Aktivität zeigt.

Fasern hoher ACHE-Aktivität ziehen weiterhin in die dorso-medialen Anteile der Commissura anterior.

Aus der Capsula putaminalis lassen sich Fasern hoher ACHE-Aktivität nach ventral, entlang des medialen Randes des Pedunculus caudati bis an den dorsalen Rand des Nucleus amygdaloideus profundus lateralis verfolgen,

Die Unterkerne des Mandelkernkomplexes stellen sich, wie in Diagramm 12 beschrieben, dar. Insgesamt nimmt der Umfang des Corpus amygdaloideum ab. Lediglich der Nucleus amygdaloideus anterior nimmt etwas an Größe zu. Um ihn gruppieren sich im Nucleus amygdaloideus centralis kleine stark ACHE-positive, mittels ISO-OMFA nicht inhibierbare Areale, die aus der Capsula putaminalis hervorgegangen sind.

Der Nucleus amygdaloideus profundus ventralis zeigt in ventralen Abschnitten keine CHE-Aktivität. Hier finden sich myelinisierte Fasern der Stria terminalis.

Diagramm 14 , Schnittfolge 266-280

Diese Ebene verläuft mitten durch den Nucleus thalamicus anterior. Das Cornu inferius des Ventriculus lateralis und der rostrale Anteil des Hippocampus sind angeschnitten. Die Commissura anterior ist zum letzten Mal mit ihren kompakten Faseranteilen dargestellt.

Die thalamischen Kerngebiete gliedern sich in den Thalamus reticularis, Thalamus lateralis, Nucleus thalamicus anterior und Nucleus thalamicus medialis . Der Nucleus thalamicus medialis und der Nucleus subthalamicus weisen eine leichte und ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität auf.

Die Zellen des Nucleus basalis stellen sich in dieser Ebene letztmals dar. Eine kleine Gruppe von Basaliszellen gruppiert sich zwischen der dorsomedialen Spitze der Commissura anterior und der Capsula putaminalis, die ventrolateral weit in eine zweite weitaus größere Gruppe von Basaliszellen hineinreicht. Diese Basaliszellgruppe zieht sich weit in die Lamina medullaris lateralis hinein. Ventral grenzt sie an den Nucleus amygdaloideus centralis und lateral an den Pedunculus caudati.

Im Mandelkernkomplex stellen sich jetzt die Nuclei amygdaloidei corticalis und -medialis, die bisher keine CHE-Aktivität zeigten, mit mäßig starker, ISO-OMPA inhibierbarer CHE-Aktivität dar.

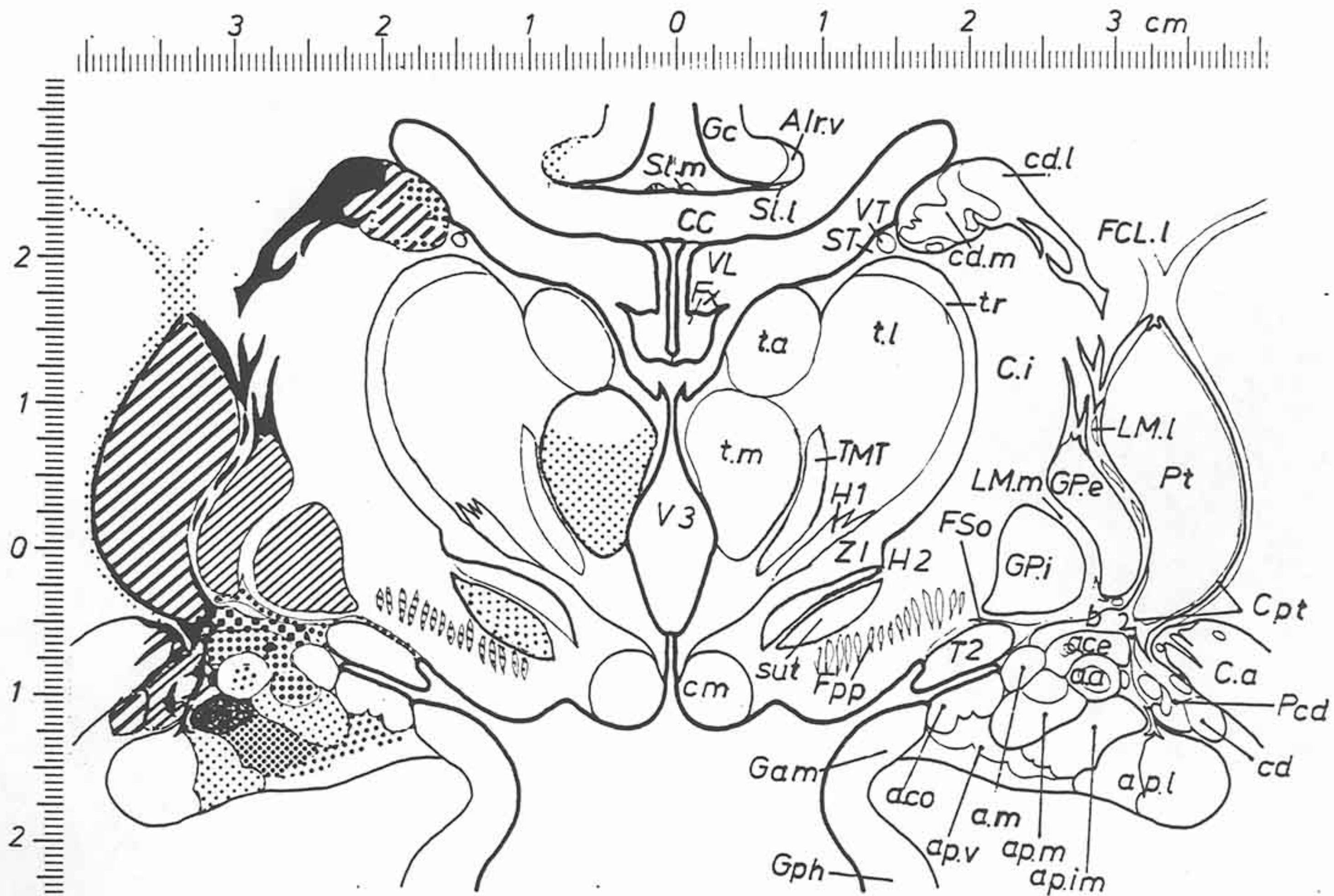


Diagramm 13

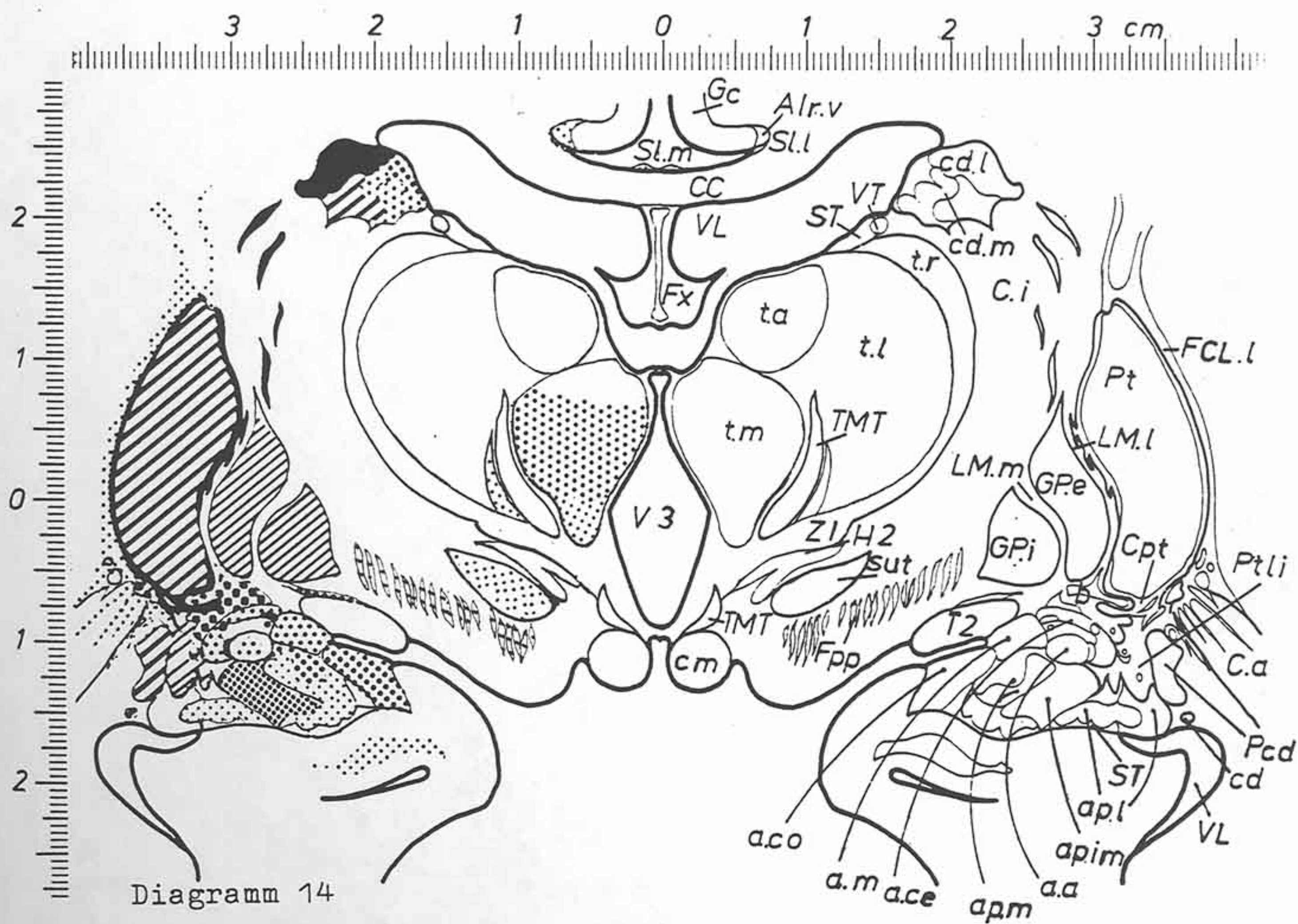


Diagramm 14

Diagramm 15 , Schnittfolge 281-290

In dieser Ebene stellt sich der caudale Pol des Corpus mamillare dar. Der Hippocampus ist rostral angeschnitten. Die Commissura anterior stellt sich nicht mehr dar.

Die sehr starke ACHE-Aktivität im lateralen Caudatus läßt sich weiterhin über die Pontes striatales und die Capsula putaminalis bis in die Lamina medullaris lateralis und medialis verfolgen. Sie findet sich in dieser Ebene auch am dorsomedialen Rand des externen Pallidumgliedes und setzt sich in der Lamina medullaris medialis nach ventral weiter fort.

Zwischen dem ventralen Pol des Putamens und dem Corpus amygdaloideum separiert sich durch eine laterale Einkerbung des Putamenrandes, das Putamen limitans (Pt.li). Die rostral (Dig.14) gelegenen Zellen des Nucleus basalis sind in dieser Ebene nicht mehr nachweisbar. Das Putamen limitans zeigt eine gleich starke ACHE-Aktivität wie das Putamen, ist jedoch nicht von einer Capsula putaminalis mit extrem starker ACHE-Aktivität umgeben. Der Pedunculus caudati mit etwas geringerer ACHE-Aktivität bildet das Verbindungsglied zwischen der Cauda des Nucleus caudatus und dem Putamen limitans.

Die Fibræ cortico-lenticulares ziehen vom Putamen limitans nach ventrolateral und folgen dem Verlauf der divergierenden Fasern der Commissura anterior.

Der Nucleus amygdaloideus corticalis ist in dieser Ebene nicht mehr sichtbar.

Der rostromediale Anteil des Hippocampus zeigt eine sehr leichte und ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität.

Diagramm 16 , Schnittfolge 281-300

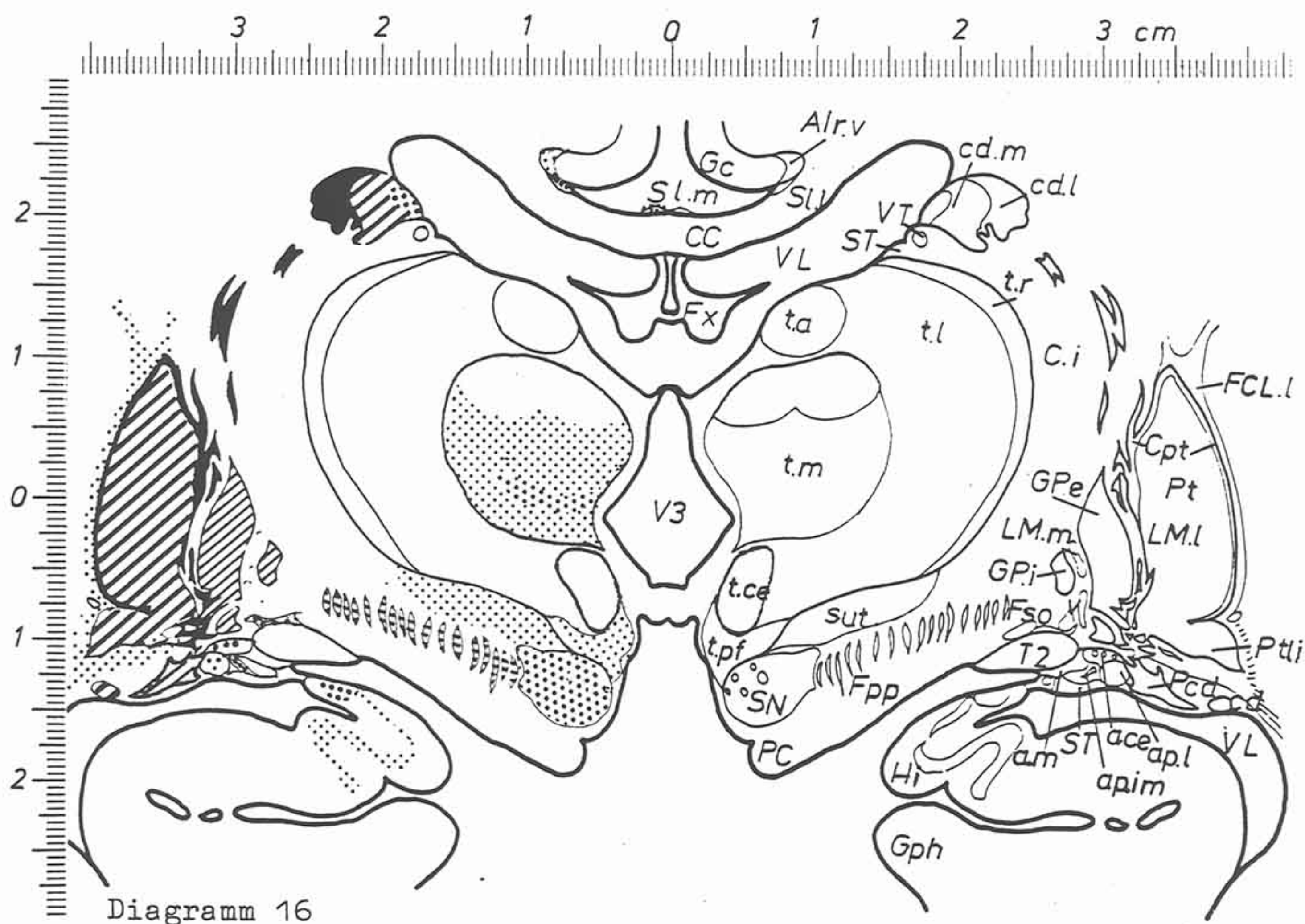
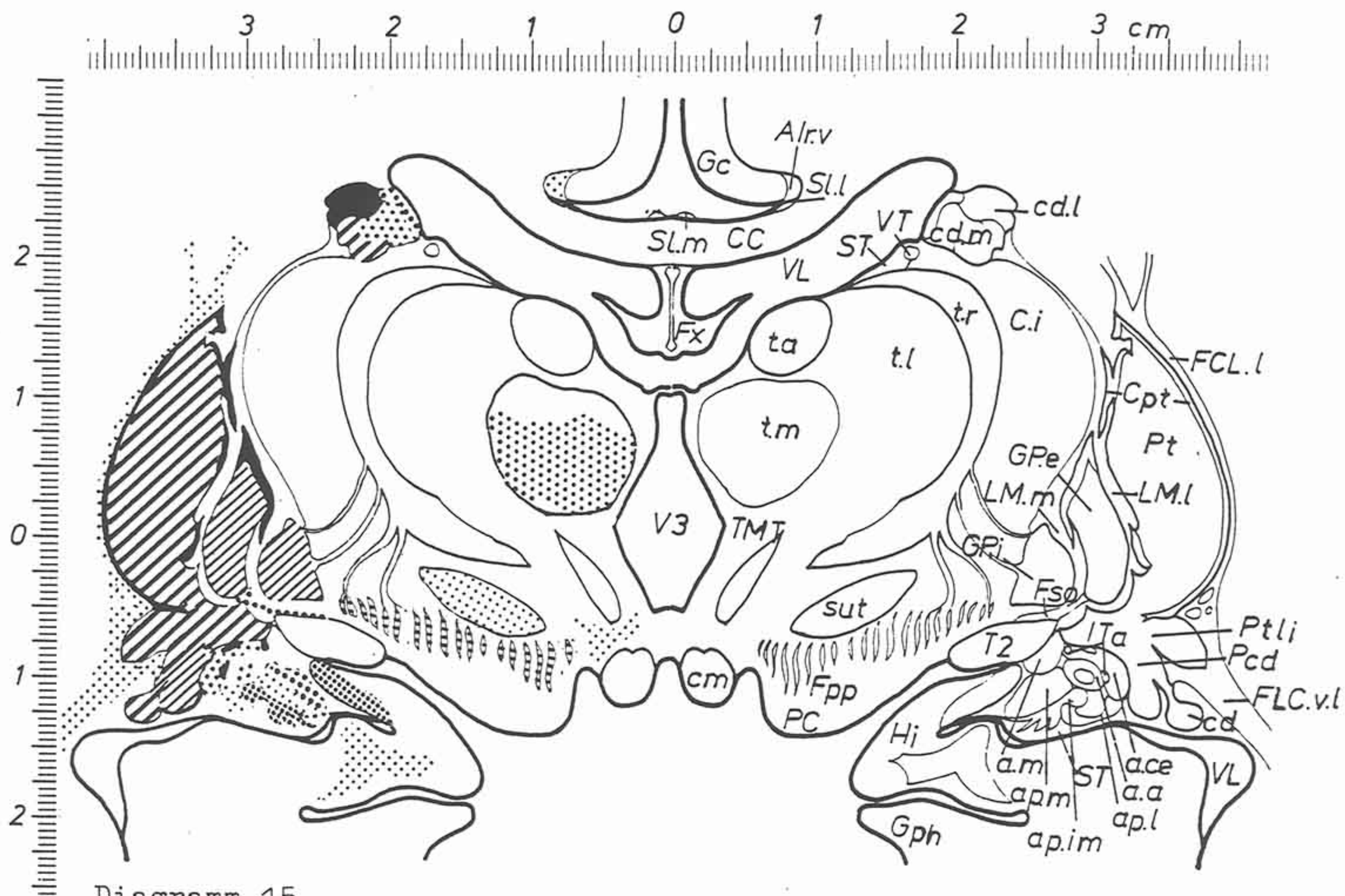
In dieser Ebene ist die Substantia nigra (SN) rostral angeschnitten. Das Corpus amygdaloideum und das Pallidum internum stellen sich nur noch mit ihrem caudalen Ende dar.

Die starke ACHE-Aktivität der Zellbrücken innerhalb der Lamina medullaris lateralis ist hier weiterhin sehr deutlich. Sie reicht ventral bis zur Capsula interna pars sublenticiformis. Dort verbindet sich der ventromediale Putamenbereich mit dem ventrolateralen externen Pallidumglied.

Über dem Unterhorn des Ventriculus lateralis finden sich der Caudatusschweif und der caudale Anteil des Pedunculus caudati, der bis in die Capsula interna pars sublenticiformis reicht.

Dorsomedial der Pedunculi cerebri (PC) zeigt sich die Substantia nigra, die eine ISO-OMPA inhibierbare CHE-Aktivität besitzt.

Im Mandelkern ist der Nucleus amygdaloideus intermedius gerade noch sichtbar. Der Nucleus amygdaloideus anterior bleibt bis in die caudalen Abschnitte noch relativ groß und zeigt weiterhin eine zentrale, ISO-OMPA hemmbare CHE-Aktivität.



Liste der Abkürzungen:

.a	(pars) anterior
.ce	(pars) centralis
.co	(pars) corticalis
.e	(pars) externa
.i	(pars) interna
.if	(pars) inferior
.im	(pars) intermedia
.l	(pars) lateralis
.o	(pars) olfactoria
.p	(pars) posterior
.pf	(pars) parafascicularis
.r	(pars) reticularis
.m	(pars) medialis
.v	(pars) ventralis
a	Nucleus amygdaloideus
Air	Area infraradiata
AL	Ansa lenticularis
ap	Nucleus amygdaloideus profundus
ASc	Area subcallosa
b	Nucleus basalis (Meynert)
C	Capsula
Ca	Commissura anterior
CC	Corpus callosum
cd	Nucleus caudatus
CL	Clastrum
cm	Corpus mamillare
CO	Chiasma opticum
Cpt	Capsula putaminalis
d	Nucleus diagonalis (Broca)
DB	Bandeletta diagonalis (Broca)
Dso	Decussatio supraoptica
Fcd	Fundus caudati
FL	Fasciculus lenticularis
FCL	Fibrae cortico-lenticulares
Fpp	Fibrae perforantes pedunculi
FPst	Fibrae parastriaterminalis
Fpt	Fundus putaminis
FSo	Fibrae supraopticae
Fsv	Fundus subventricularis
Fx	Fornix
Gam	Gyrus ambiens
Gc	Gyrus cinguli
Gd	Gyrus diagonalis (Retzius)
Go	Gyrus olfactorius
Gor	Gyrus orbitalis
GF	Globus pallidus

Gph	Gyrus parahippocampalis
Gpt	Gyrus paraterminalis
Gr	Gyrus rectus
Gsl	Gyrus semilunaris
H	Hypothalamus
H1	Hippocampus
H1	Fasciculus thalamicus (Forel)
H2	Fasciculus lenticularis (Forel)
I	Infundibulum
IG	Induseum griseum
ist	Nucleus interstitialis stria terminalis
ITist	Insulae terminales interstitiales
ITmg	Insulae terminales magnae (Calleja)
ITo	Insulae terminales olfactoriae
ITs	Insulae terminales substriatales
ITsv	Insulae terminales subventriculares
LM	Lamina medullaris
MFB	mediales Vorderhirnbündel
o	Nucleus olfactorius
PC	Pedunculus cerebri
Pcd	Pedunculus caudati
Pt	Putamen
PT	Pedunculus thalami
Ptli	Putamen limitans
pv	Nucleus paraventricularis
Ro	Radiatio olfactoria
RpFx	Regio paraforncialis
S1	Stria olfactoria
Sep	Subependym
S1	Stria longitudinalis
SN	Substantia nigra
so	Nucleus supraopticus
ST	Stria terminalis
sut	Subthalamus
t	Thalamus
TbO	Tuberculum olfactorium
TMT	Tractus mamillo-thalamicus
T1	Tractus olfactorius
T2	Tractus opticus
v	vas
V3	Ventriculus tertius
VL	Ventriculus lateralis
VT	Vena thalamo-striata
ZI	Zona incerta

4.3. Zusammenfassung

4.3.1. Nucleus caudatus

Im Nucleus caudatus zeigt sich eine heterogene Cholinesterase-Verteilung. Ein unmittelbar subventriculärer Saum des Nucleus caudatus zeigt im Caput- und Corpusbereich eine sehr geringe CHE-Aktivität. Die mit ISO-OMPA behandelten Schnitte machen deutlich, daß es sich bei dieser subventriculären Cholinesterase-Aktivität um eine unspezifische Cholinesterase-Aktivität handelt.

Unterhalb dieses Saumes finden sich Areale extrem hoher ACHE-Aktivität, die sich einerseits dorsolateral über die Pontes striatales in das Putamen fortsetzt. Andererseits erstreckt sich die extrem starke ACHE-Aktivität bandförmig vom ventralen Pol des Nucleus caudatus entlang der medialen Seite der Capsula interna und parallel der Stria terminalis-Fasern bis in den Fundus subventricularis lateralis.

In Höhe der Commissura anterior spaltet sich diese ventrale ACHE-positive Gewebebrücke. Sie begrenzt lateral den Interstitialkern der Stria terminalis, verzweigt sich im inneren und äußeren Pallidumglied, umschneidet die Commissura anterior einschließlich der Commissura anterior pars olfactoria und reicht bis an die dorsale Grenze des Tuberculum olfactorium und an den lateralen Hypothalamus.

Die striosomale Gliederung wird nur im Caudatuskopf deutlich. Diese Areale mit stark reduzierter ACHE-Aktivität liegen zwischen den Bereichen extrem hoher ACHE-Aktivität. Sie erscheinen teilweise als Einsenkungen des ACHE-negativen subventriculären Caudatussaumes. Ein dreidimensionales labyrinthäres System der Striosome konnte nur teilweise beobachtet werden. Meist handelt es sich um in sich geschlossene Kompartimente.

4.3.2. Putamen

Das Putamen zeigt eine sehr starke ACHE-Aktivität. In rostralen Schnittebenen zeigt die laterale Begrenzung an der Capsula externa eine extrem hohe ACHE-Aktivität. Caudal zeigt sie sich zusätzlich am dorsomedialen und medialen Rand des Putamens und in der Lamina medullaris lateralis. Diese als Capsula putaminalis bezeichnete ACHE-Aktivität geht aus der extrem hohen ACHE-Aktivität des Nucleus caudatus hervor. Die Capsula putaminalis umschließt das Putamen, verzweigt sich dorsal im substriatalen Inselfeld und reicht bis an die laterale Seite des Tuberculum olfactorium und Fundus subventricularis. Die pericommissurale ACHE-Aktivität, die rostral aus dem ventralen Pol des Nucleus caudatus hervorgeht, verbindet sich im ventralen Striatum mit der Capsula putaminalis. Ventrolateral in der

Ebene der ersten Anschnitte des Corpus amygdaloideum spaltet sich die Capsula putaminalis auf und verläuft medial um die Commissura anterior nach ventral, strahlt in den lateralen und intermediären Teil des Corpus amygdaloideum ein und begleitet die myelinisierten Fasern der Commissura anterior als einzelne Faserbündel (FCL) mit ISO-OMPA hemmbarer Cholinesterase-Aktivität.

4.3.3. Fundus subventricularis

Der Fundus subventricularis teilt sich aufgrund der cytologischen und enzymhistochemischen Befunde in den Fundus subventricularis lateralis und medialis. Der Fundus subventricularis medialis besitzt eine starke und homogene ACHE-Aktivität. Er wird nicht von myelinisierten Fasern der Capsula interna durchzogen. Der mediale Rand wird von den Insulae terminales magnae (Calleja) gebildet, die ventral durch das dünne myelinisierte Faserbündel der Stria olfactoria medialis vom Fundus subventricularis medialis getrennt werden. Der dorsale Pol des Fundus subventricularis medialis reicht bis an den unteren Ventrikelwinkel und findet sich in direkter topographischer Nähe zum lateralen Septum.

Der Fundus subventricularis lateralis zeigt eine sehr heterogen verteilte ACHE-Aktivität. Der Fundus subventricularis lateralis wird in rostralen Abschnitten von zahlreichen Faserbündeln der Capsula interna durchzogen. Der ventrale Pol des Nucleus caudatus (Fundus caudati) geht ohne scharfe Grenze in den Fundus subventricularis lateralis über. Die extrem hohe ACHE-Aktivität fächert sich ventral der Commissura anterior in zahlreiche Äste (FPst) auf, wodurch das Verteilungsmuster der ACHE-Aktivität im Fundus subventricularis lateralis sehr heterogen erscheint.

Vor dem Eintritt der Commissura anterior in das externe Pallidumglied zweigt sich die Pars olfactoria als zartes Bündel, oft ganz in Einzelfäden zersplittert, von dem basalen Umfang der Commissura anterior ab und fächert sich im Fundus subventricularis auf. Diese myelinisierten Fasern werden, wie die Pars posterior der Commissura anterior, von extrem hoher ACHE-Aktivität umschieden. An den ventralen Endigungen dieser myelinisierten Fasern der Commissura anterior pars olfactoria finden sich die Insulae terminales subventriculares.

4.3.4. Tuberculum olfactorium

Das Tuberculum olfactorium schließt sich ventral an den Fundus subventricularis an und bildet die basale Oberfläche des Gehirns. Im Grenzbereich zwischen Fundus subventricularis und Tuberculum olfactorium (Stratum multiforme) finden sich die Insulae terminales olfactoriae. Die ACHE-Aktivität ist in dieser Schicht im Vergleich zum Fundus sub-

ventricularis reduziert. Die mit ISO-OMPA behandelten Schnitte lassen noch eine mäßig starke ACHE-Aktivität erkennen, wodurch die extrem starke ACHE-Aktivität der Inselkerne, deren Aktivität durch ISO-OMPA nicht inhibiert werden, besonders prominent erscheint. Die basalen Schichten (Stratum moleculare und Stratum densocellulare) des Tuberculum olfactorium zeigen bei ISO-OMPA behandelten Schnitten keine ACHE-Aktivität mehr.

4.3.5. Globus pallidus

Das Pallidum externum und -internum läßt sich durch die Darstellung der Cholinesterase-Aktivität exakt abgrenzen. Die Commissura anterior zerteilt das externe Pallidumglied in einen dorsalen und ventralen Anteil. Das ventrale Pallidum liegt medial im Winkel zwischen der Pars olfactoria und der Pars posterior der Commissura anterior, lateral stößt es an den Fundus putaminis. Das gesamte Pallidum stellt sich aufgrund der hohen Aktivität unspezifischer Cholinesterasen dar, denn die mit ISO-OMPA behandelten Schnitte zeigen keine Cholinesterase-Aktivität. Die lateralen Bereiche, d.h. die der Lamina medullaris lateralis bzw. medialis zugewandte Zone des externen und internen Pallidumgliedes, weisen eine wesentlich höhere Cholinesterase Aktivität auf als die übrigen Pallidumbereiche. In caudalen Schnittebenen wird deutlich, daß die starke ACHE-Aktivität der Pontes striatales sich mit der dorso-medialen Seite des externen Pallidumgliedes verbindet. Diese Areale sind durch ISO-OMPA nicht inhibierbar.

Die Ansa lenticularis zeigt eine geringe Cholinesterase-Aktivität, die sich bei ISO-OMPA behandelten Schnitten nicht darstellt.

4.3.6. Thalamus

Die mit ISO-OMPA behandelten Schnitte zeigen, daß der Thalamus keine ACHE-Aktivität besitzt. Im reticulären Thalamus zeigt sich eine geringe CHE-Aktivität. Die Perikarya der reticulären Thalamus-Neurone stellen sich deutlich dar.

Die Pedunculi inferior und anterior thalami lassen sich aufgrund einer leichten unspezifischen Cholinesterase-Aktivität abgrenzen. Der Nucleus thalami anterior und der laterale Thalamus besitzen keine Cholinesterase-Aktivität. Der Thalamus medialis und der Nucleus subthalamicus zeigen eine geringe Cholinesterase-Aktivität, die vollständig durch ISO-OMPA inhibiert werden kann und somit keine spezifische ACHE-Aktivität besitzt.

4.3.7. Nucleus basalis von Meynert / Nucleus diagonalis

Der Nucleus basalis von Meynert wird dorsal vom Putamen, Globus pallidus und Commissura anterior, lateral vom Corpus amygdaloideum und medial vom Hypothalamus begrenzt. Die Perikarya der makrozellulären Neurone des Nucleus basalis zeigen eine starke ACHE-Aktivität. Die Umgebung der Basaliszellen entspricht dem cytologischen und enzymhistochemischen Aufbau des Putamens. Der Nucleus basalis wird sowohl von der lateral einstrahlenden Capsula putaminalis erreicht, als auch von den Zellbrücken, die vom ventralen Pol des Nucleus caudatus (FPst), medial der Capsula interna nach ventral verlaufen. In Höhe der Commissura anterior stellen sich zunächst die makrozellulären Neurone des Nucleus diagonalis dar, die weiter caudal ohne scharfe Grenze in den Nucleus basalis übergehen. Die Fasern des diagonalen Bandes sowie die als Fibrae cortico-lenticulares mediales bezeichneten Fasern sind bis zum Nucleus diagonalis zu verfolgen. Die lateralen Fibrae cortico-lenticulares der Capsula externa gehen aus dem Nucleus basalis hervor. In caudalen Schnittebenen liegen die großen Neurone der pericommissuralen ACHE-Aktivität dicht an. Mit dem fortschreitenden Verlauf der Commissura anterior nach lateral erstrecken sich die Basaliszellen bis in die ventralen Abschnitte der Lamina medullaris lateralis, in der die Pontes striatales mit ihrer extrem hohen ACHE-Aktivität die mediale Capsula putaminalis bilden. In diesen caudalen Schnittebenen begrenzt der Nucleus basalis dorsal den Nucleus amygdaloideus centralis. Somit findet sich der Nucleus basalis im Mittelpunkt der höchsten ACHE-positiven Strukturen der basalen Vorderhirnregion.

4.3.8. Corpus amygdaloideum

Die einzelnen Subregionen des Corpus amygdaloideum lassen sich durch ihre unterschiedliche Intensität der Cholinesterase-Aktivitäten gut abgrenzen. Der Nucleus amygdaloideus profundus intermedius zeigt eine starke ACHE-Aktivität, die nach ventral allmählich abnimmt. Die ISO-OMPA behandelten Schnitte inhibieren die ventralen Abschnitte des intermediären Kerns vollständig.

An der dorsomedialen Seite des Nucleus amygdaloideus profundus intermedius schließt sich der Nucleus amygdaloideus profundus medialis an. Dieser besitzt in rostralen Schnittebenen dorsomedial eine höhere ACHE-Aktivität, die sich in caudaler Richtung dorsolateral ausbreitet. Insgesamt zeigt dieser Kern eine mäßig starke ACHE-Aktivität.

Der Nucleus amygdaloideus profundus lateralis zeigt eine Zweiteilung. Der laterale Anteil zeigt keine Cholinesterase-Aktivität, während der mediale Anteil, der an den Nucleus amygdaloideus profundus intermedius grenzt, eine geringe unspezifische Cholinesterase-Aktivität besitzt.

Der Nucleus amygdaloideus profundus ventralis zeigt ebenfalls eine schwache unspezifische Cholinesterase-Aktivität. Der Nucleus amygdaloideus centralis besitzt in caudalen Schnittebenen eine mäßig starke ACHE-Aktivität, die sich ventromedial in den Nucleus amygdaloideus anterior fortsetzt. Der Nucleus amygdaloideus anterior zeigt daher im Innern eine mäßig starke ACHE-Aktivität, während seine Peripherie keine Cholinesterase-Aktivität besitzt. Im Nucleus amygdaloideus centralis erscheinen kleine extrem starke ACHE-positive Areale, die als ventrale Ausläufer der Capsula putaminalis interpretiert werden.

Der Nucleus amygdaloideus corticalis zeigt ebenso wie der Nucleus amygdaloideus medialis keine Cholinesterase-Aktivität.

4.3.9. Fibrae cortico-lenticulares

Das cortico-lenticuläre Fasersystem besitzt eine Cholinesterase-Aktivität, die durch ISO-OMPA inhibiert wird.

Die Fibrae cortico-lenticulares laterales (FCL.l) verlaufen in der Capsula externa relativ scharf gebündelt. Sie divergieren im Marklager des Lobus frontalis und reichen bis an die cytomedulläre Übergangszone des frontalen Cortex. Ventral verlaufen die Fasern im Marklager der Gyri orbitales und der Gyrus rectus, wobei die lateralen und medialen Fibrae cortico-lenticulares unmittelbar an der ventralen Oberfläche des Striatums in den rostralen Ebenen miteinander verbunden sind. In der Ebene des rostralen Fundus subventricularis lagern sich die Fasern dicht an die Capsula putaminalis an und durchziehen die ventralen Ausfransungen der Capsula putaminalis, an die sich das substriatale Inselfeld (ITs) anschließt. In weiter caudal gelegenen Schnittebenen lassen sich die Fasern bis in den Nucleus basalis verfolgen. Medial im Marklager der Area subcallosa erscheinen die Fibrae cortico-lenticulares mediales (FCL.m) stark gebündelt und ziehen bis zum Rostrum des Corpus callosum. Das Rostrum corporis callosi wird von einigen Fasern vertikal durchzogen. Dorsal des Rostrums steigen die Fasern im Septum pellucidum bis unter den Balken auf, der wiederum von einzelnen Fasern vertikal durchzogen wird. Dorsal auf dem Corpus callosum erscheint das Induseum griseum mit den Striae longitudinales lateralis und medialis, die ebenfalls eine ISO-OMPA hemmbare Cholinesterase-Aktivität aufweisen.

Medial des Fundus subventricularis medialis erstreckt sich das diagonale Band mit den makrozellulären stark ACHE-positiven Neuronen des Nucleus diagonalis. Die Fasern des diagonalen Bandes zeigen ebenfalls eine ISO-OMPA hemmbare Cholinesterase-Aktivität, die präcommissural, wie die Fibrae cortico-lenticulares mediales in das Septum pellucidum ziehen und bis in das Corpus des Fornix zu verfolgen sind. Eine scharfe Abgrenzung zwischen den Fasern des diagonalen Bandes und den Fibrae cortico-lenticulares mediales ist enzymhistochemisch nicht zu treffen.

In Höhe der ersten Mandelkernanschnitte verlaufen die Fibræ cortico-lenticulares ventrolaterales (FCL.v.l) vom ventralen Pol des Putamens, bzw. von den caudalen Anteilen des Nucleus basalis dorsal an den Mandelkernkomplex. Die Commissura anterior wird in caudalen Schnittebenen von den cortico-lenticulären Fasern durchflochten. Die myelinisierten Fasern der Commissura anterior werden von den ISO-OMPA hemmbaren, CHE-positiven cortico-lenticulären Fasern begleitet und sind bis in die cytomedulläre Übergangszone des temporalen Cortex zu verfolgen.

4.4. Insulae terminales

4.4.1. Insulae terminales substriatales (ITs)

Die ITs sind in Diagramm 4 bis 7 angedeutet und als Detaildiagramm 1 dargestellt.

Sie bilden insgesamt ein Inselfeld, das sich ventro-lateral an die Capsula putaminalis (Cpt) anschließt und in der Capsula externa (C.e) von den Fibrae cortico-lenticulares laterales (FCL.l) durchzogen wird. Dieses Feld wird medial vom Tuberculum olfactorium (TbO), lateral vom Claustrum (CL), dorsal vom Fundus putaminalis (Fpt) und ventral vom Nucleus olfactorius lateralis (o.l) und Fasern der Stria olfactoria intermedia (Sl.im) begrenzt. Die basale Gehirnoberfläche wird von zahlreichen Gefäßen der Substantia perforata anterior (Rami laterales der Arteriae centrales anterolaterales) durchbrochen. Eine topographische Beziehung der Inseln zu diesen Gefäßen der A. cerebri media, pars sphenoidales ist zu beobachten.

Die ventrale Capsula putaminalis weist dorsal des Inselfeldes zahlreiche Ausbuchtungen auf, in die sich die ITs mit ihrem typischen Aufbau einfügen. Tangentiale oder quere Anschnitte der ventralen Ausläufer der Capsula putaminalis können leicht mit Inselbildungen verwechselt werden, wenn sie im Schnittbild ihre Kontinuität zur Capsula putaminalis verloren haben. Diese "Pseudoinseln" besitzen jedoch nicht die typischen Inselcharakteristika.

Eine ITs weist drei charakteristische Merkmale auf:

1. Inselkern:

Ein in der Nisslfärbung bereits auffälliges Zellcluster bildet das Zentrum einer ITs. Es handelt sich um kleine (5-6 μ m) rundliche, sehr dicht zusammengedrückte Zellen mit stark basophiler Anfärbbarkeit. Die ACHE-Aktivität ist in diesem Zentrum extrem hoch und durch ISO-OMPA nicht inhibierbar. Das Zentrum erscheint als ein scharf abgrenzbares, in sich geschlossenes Areal.

2. Inselhof:

Der Inselkern liegt exzentrisch in einer ovalen, in der dreidimensionalen Rekonstruktion eiförmigen, Umgebung, dem Inselhof. Die Nisslfärbung zeigt in diesem Bereich eine Reduktion der Gliazellen. Eine ACHE-Aktivität läßt sich im Inselhof nicht nachweisen, sodaß sich der Hof der ITs sehr deutlich, von der hohen ACHE-Aktivität der Ausläufer der Capsula putaminalis einerseits und der ISO-OMPA inhibierbaren ACHE-Aktivität der Fibrae cortico-lenticulares andererseits, abgrenzen läßt. Die Fibrae cortico-lenticulares reichen lediglich an die Peripherie des Inselhofes. Durch die Färbung nach Spielmeyer lassen sich ovale Aufhellungsbereiche im Bereich der ITs nachweisen. Die myelinisierten Fasern der Capsula externa sparen die Insulae terminales substriatales aus.

3. Gewebebrücken:

Die ITs stehen durch schwach ACHE-positive und ISO-OMPA geringfügig hemmbare Gewebebrücken mit der Capsula putaminalis in Verbindung. Diese Gewebebrücken winden sich meist spiralförmig in dem Hof um das Inselzentrum herum, sodaß die Inseln eine runde oder ellipsoide Gestalt annehmen. Der Längsdurchmesser eines Inselhofes verläuft tangential zur Putamenoberfläche. Er beträgt ca. 1.4 mm.

4.4.2. Insulae terminales subventriculares (ITsv)

Die ITsv sind in Diagramm 6 bis 8 und im Detaildiagramm 2 dargestellt.

Sie liegen in den ventrocaudalen Abschnitten des Fundus subventricularis lateralis, der dadurch in diesem Bereich ein sehr heterogenes ACHE-Aktivitätsverteilungsmuster aufweist.

Der Fundus subventricularis wird in diesen Schnittebenen medial vom Nucleus diagonalis, ventral vom Tuberculum olfactorium, lateral vom Inselfeld der ITs und dorsal vom ventralen Pallidum begrenzt.

Die Heterogenität der ACHE-Aktivitätsverteilung im Fundus subventricularis lateralis ist einerseits durch die CHE-negativen, myelinisierten Fasern der Commissura anterior pars olfactoria, die von stark ACHE-positiven Zellbrücken umschieden werden, bedingt, andererseits durch das stark ACHE-positive Zentrum der ITsv. Die Inseln gruppieren sich um die ventralen Fasern der Commissura anterior pars olfactoria, wobei die ventralen myelinisierten Fasern der Commissura anterior pars olfactoria den Inselhof von dorsomedial umfassen und tangential in den Inselhof einstrahlen, während die stark ACHE-positiven pericommissuralen Zellbrücken die Peripherie der Inselhöfe umfassen.

Die ITsv fallen im Nisslpräparat ebenfalls durch ihre kleinzelligen Zellcluster auf, die das Zentrum der ITsv bilden. Das Zentrum besitzt eine extrem hohe ACHE-Aktivität. Der Inselhof läßt sich durch die nach Spielmeyer gefärbten Schnitte markieren.

Da die ITsv, im Gegensatz zu den ITs, in der Matrix des ACHE-positiven Fundus subventricularis liegen, und der Hof der ITsv eine gleich hohe ACHE-Aktivität wie der Fundus subventricularis selbst aufweist, sind die ITsv durch den ACHE-Aktivitätsnachweis nur dann sicher zu identifizieren, wenn gleichzeitig das extrem hohe ACHE-aktive Inselzentrum mit angeschnitten ist.

Der Längsdurchmesser beträgt ca. 1.2 mm und orientiert sich längs der Commissura anterior pars olfactoria.

4.4.3. Insulae terminales olfactoriae (ITo)

Die ITo sind in Diagramm 8 angedeutet und im Detaildiagramm 3 dargestellt.

Dieses Inselfeld grenzt an den Nucleus basalis, wobei sich die einzelnen Inseln in das Tuberculum olfactorium einbuchten. Nachdem sich der rostral gelegene Fundus subventricularis lateralis nicht mehr darstellt, organisiert sich der Nucleus basalis mit seinen locker verstreut liegenden stark ACHE-positiven makrozellulären Neuronen unterhalb des ventralen Pallidums. Ventral des Nucleus basalis im Übergang zum basal gelegenen Tuberculum olfactorium, das im Stratum moleculare und Stratum densocellulare eine sehr geringe und durch ISO-OMPA vollständig hemmbare CHE-Aktivität besitzt, finden sich die ITo, die sich in das Stratum multiforme einsenken. Die nur mäßig durch ISO-OMPA inhibierbaren Inselhöfe erscheinen als CHE-positive Ausbuchtungen, die sich in die CHE-negativen Schichten des Tuberculum olfactorium einsenken. Die mit ISO-OMPA behandelten Schnitte zeigen eine geringe ACHE-Aktivität im Inselhof, während der Inselkern weiterhin eine extrem starke ACHE-Aktivität aufweist. Die Nisslfärbung zeigt auch hier die kleinzelligen Zellcluster, die den Inselkern bilden.

Die Peripherie der Inselhöfe wird von den am weitesten nach ventromedial reichenden Ausläufern der Capsula putaminalis erreicht. Der rostale Anteil des Inselfeldes steht in enger topographischer Beziehung zur Pars horizontalis des diagonalen Bandes.

Der Durchmesser der ITo beträgt ca. 0,8 mm.

4.4.4. Insulae terminales magnae (ITmg)

Die ITmg sind in Diagramm 5 und 6 angedeutet und im Detaildiagramm 4 wiedergegeben.

Das Inselfeld erstreckt sich entlang dem medialen Rand des Fundus subventricularis medialis. Es durchbricht die basale Riechrinde (TbO) in ihrem medialen Anteil und steigt in einem Bogen nach dorsal bis in die Höhe der Commissura anterior auf. Präcommissural verläuft die Inselgruppe in medial konvexem Bogen und erreicht die Höhe des unteren Ventrikelwinkels des Vorderhorns.

Die im allgemeinen sehr schwach ausgebildete Stria olfactoria medialis verläuft lateral der ITmg. Medial der ITmg findet sich der Nucleus diagonalis und das diagonale Band.

Das ACHE-Aktivitätsverteilungsmuster stellt sich im Fundus subventricularis medialis relativ homogen dar. Das Feld der medialen Inselgruppe erfährt durch die Inselbildungen einen vertikal gestreiften Charakter, wobei diese Streifen hohe ACHE-Aktivität besitzen und sich längs des medialen Fundus subventricularis-Randes orientieren. Die ACHE-positiven Streifen zeigen an ihrem dorsalen Bereich eine leichte Auftreibung, in denen die typischen kleinzelligen Zellcluster zu finden sind, sodaß diese Streifen analog zu den oben beschriebenen Inseln als Inselhöfe zu beschreiben sind.

Die Färbung nach Nissl zeigt, daß sich typischerweise das größte Zellcluster am medial konvexen Bogen präcommissural unterhalb des Ventrikelwinkels befindet. Zahlreiche kleinere Zellcluster erstrecken sich im gesamten Verlauf des Inselfeldes. Es handelt sich hierbei ebenfalls um kleine, ovale, dicht zusammengedrückte Zellen, mit starker basophiler Anfärbbarkeit und extrem hoher ACHE-Aktivität.

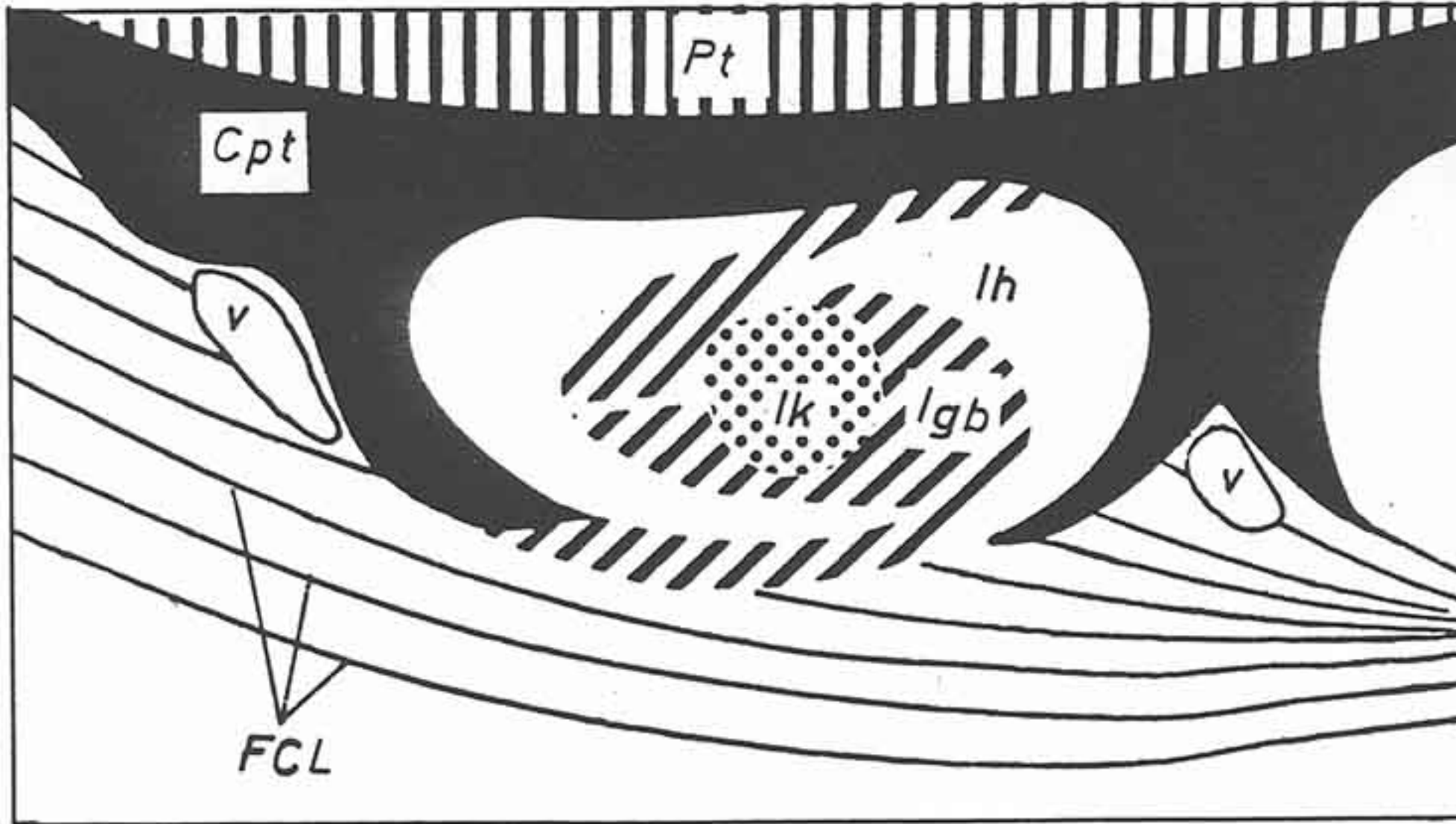
Der Längsdurchmesser des Inselfeldes beträgt ca. 10 mm.

4.4.5. Insulae terminales interstitiales (ITist)

Die ITist sind in Diagramm 7 wiedergegeben und im Detaildiagramm 5 dargestellt.

Sie finden sich ventrolateral der subependymalen Schicht des Vorderhorn-Ventrikelwinkels am Interstitialkern der Stria terminalis. Die Inseln gruppieren sich dorsomedial und ventromedial der medialen Commissura anterior. Die dorsale Begrenzung des Inselfeldes wird vom Nucleus caudatus und der Vena thalamostriata gebildet. Lateral verlaufen die myelinisierten Fasern der Stria terminalis nach ventral. Diese Fasern werden von einem sehr stark ACHE-positiven und ISO-OMPA nicht inhibierbaren Gewebeband (FPst) begleitet. Medial dieser ACHE-positiven Zone zweigen kurze Äste in die Peripherie der ITist-Höfe ab. Die Inselhöfe besitzen eine CHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA vollständig inhibiert wird.

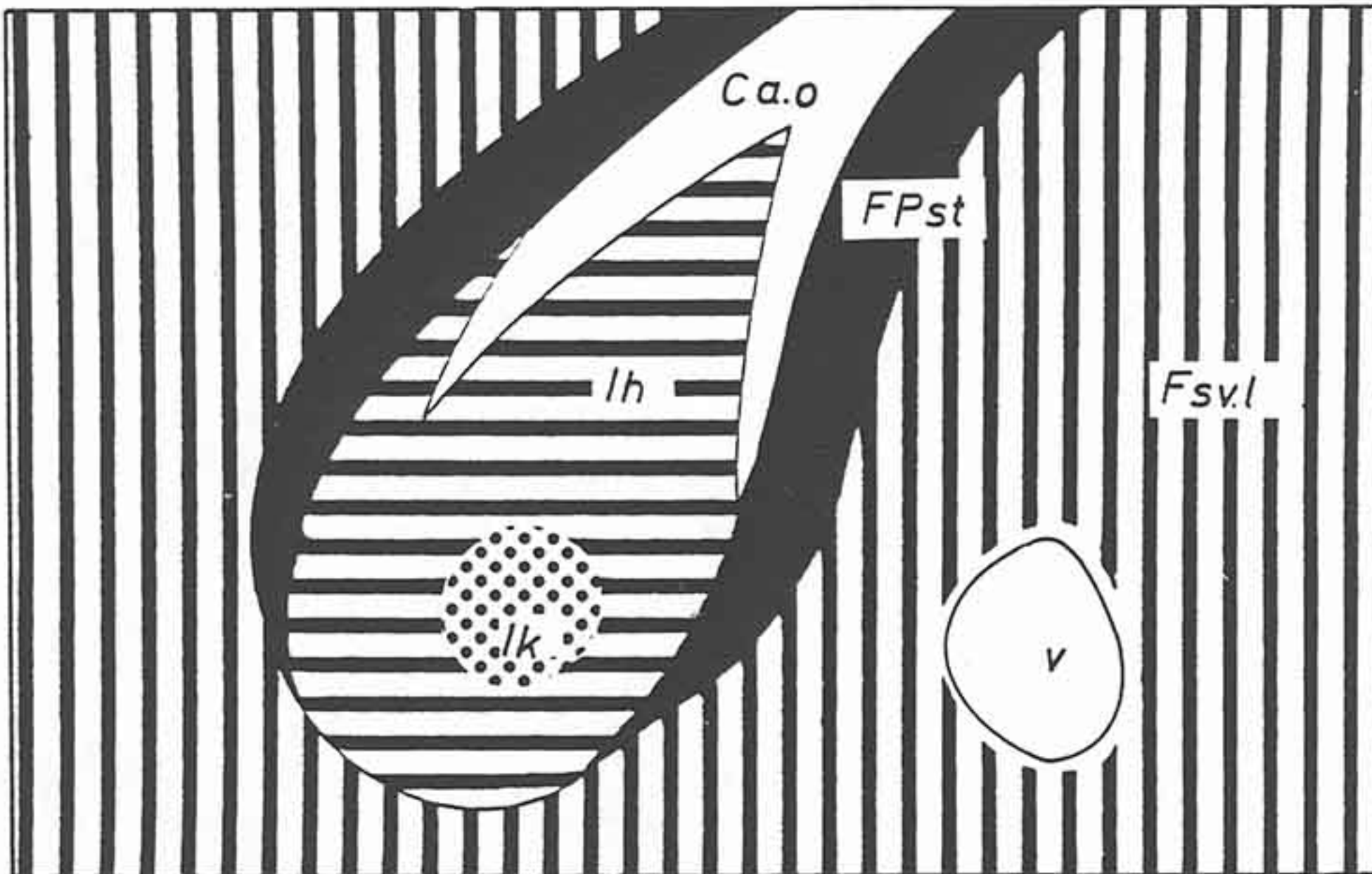
Die im Nisslpräparat auffallenden großen, kleinzelligen und basophilen Zellcluster am Interstitialkern der Stria terminalis zeigen wiederum eine starke durch ISO-OMPA nicht inhibierbare ACHE-Aktivität. Die fünf bis acht einzelnen Inselhöfe lassen sich enzymhistochemisch kaum vom Nucleus interstitialis striae terminalis abgrenzen. Eine ITist hat einen Längsdurchmesser von ca. 2,5 mm.



Detaildiagramm 1

Insula terminalis
substriatalis

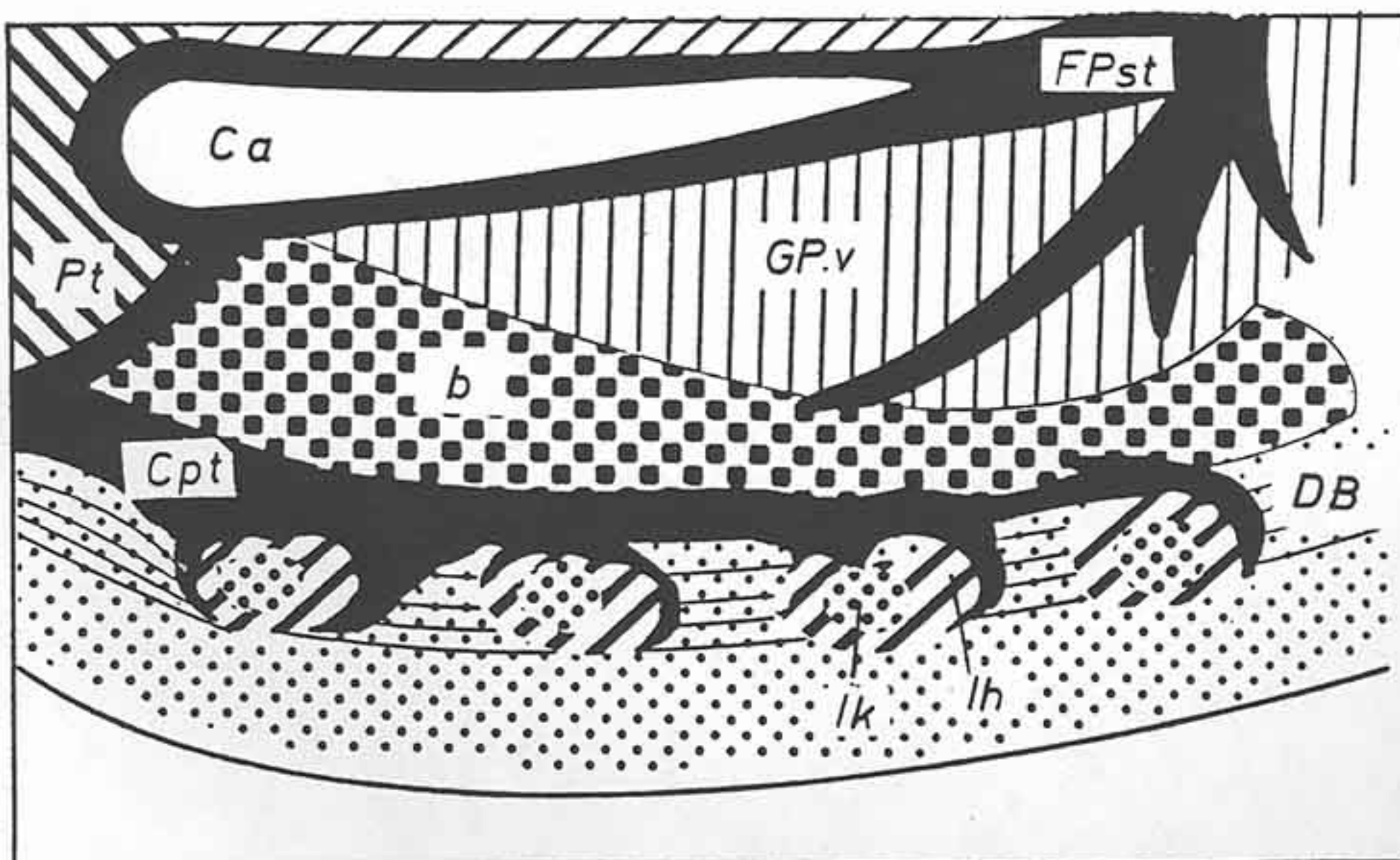
(1 : 45)



Detaildiagramm 2

Insula terminalis
subventricularis

(1 : 45)



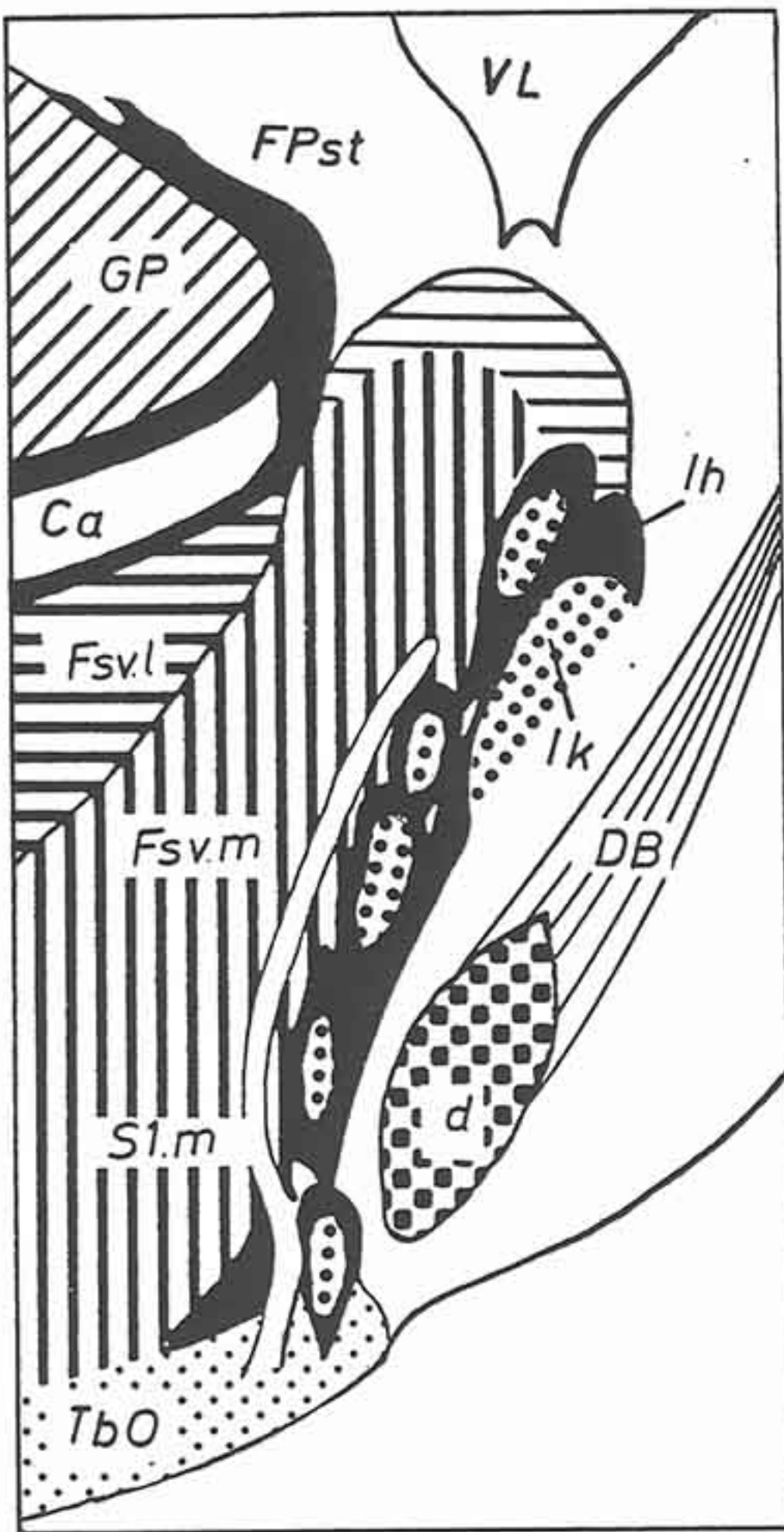
Detaildiagramm 3

Insulae terminales
olfactoriae

(1 : 25)

Insulae terminales
magnae

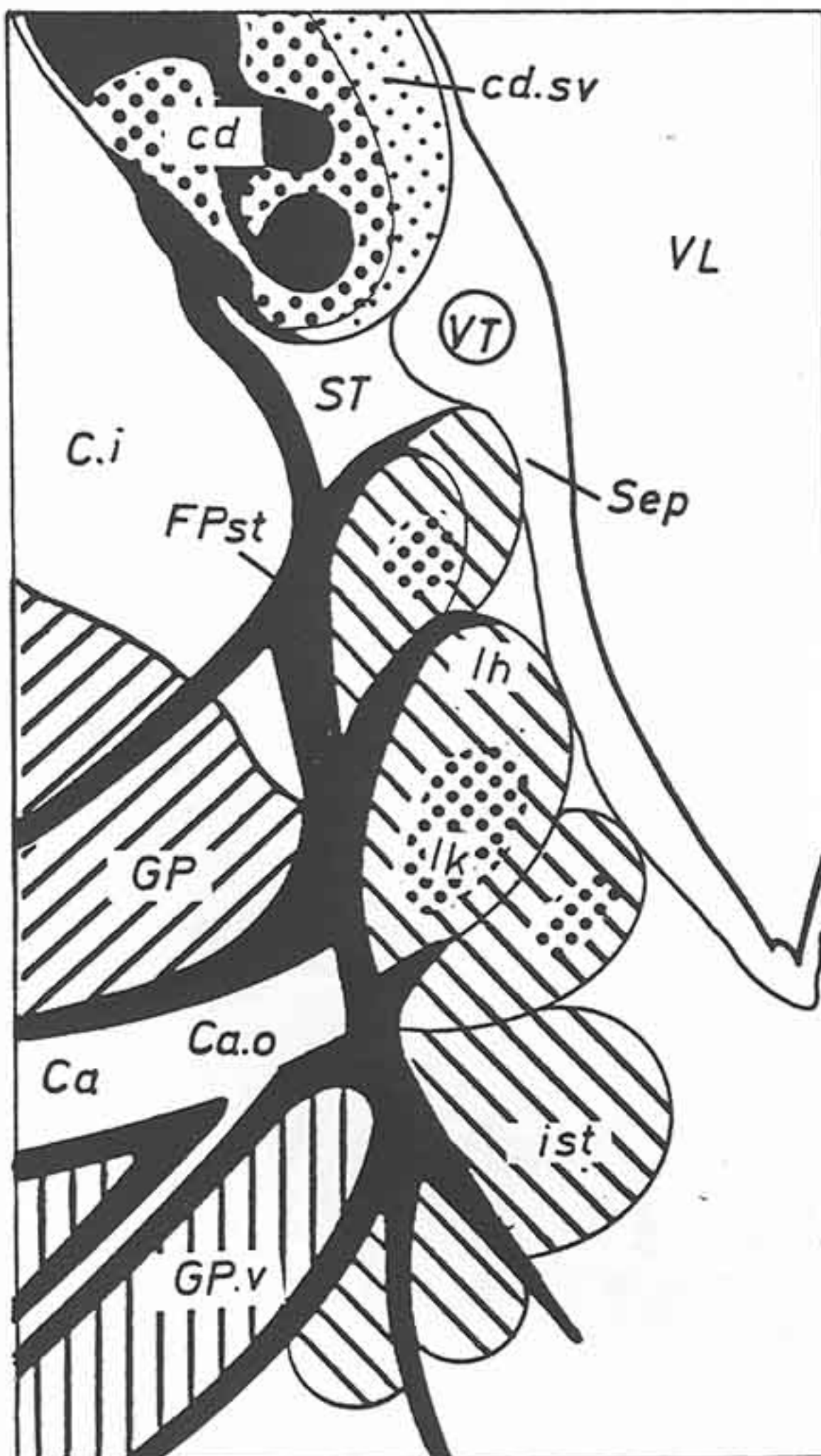
(1 : 8)



Detaildiagramm 5

Insulae terminales
interstitiales

(1 : 15)



Ih = Inselhof

Ik = Inselkern

4.4.6. Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Insulae terminales - Tabellarische Übersicht

Aufgrund topographischer und histochemischer Ergebnisse können fünf verschiedene Inselgruppen unterschieden werden. Sie finden sich in der basalen Vorderhirnregion und gruppieren sich entlang der Capsula putaminalis, bzw. den medialen stark ACHE-positiven Gewebebrücken, die in Kontinuität mit dem Fundus caudati stehen. Diese medialen Gewebebrücken zeigen eine direkte topographische Beziehung zu den Fasern der Stria terminalis und werden aus diesem Grund als *Fibrae parastriaterminalis* bezeichnet.

Die Inseln selbst zeigen einen prinzipiell weitgehend übereinstimmenden morphologischen Aufbau. Es handelt sich in allen Fällen um Zellcluster aus sehr kleinen (5-6 μm), runden, dicht zusammengedrängten, basophilen Zellen, die eine extrem starke ACHE-Aktivität aufweisen. Dieses Zellcluster stellt den Inselkern dar, der meist exzentrisch in einem Inselhof liegt. Der Inselhof weist in Abhängigkeit der Topographie eine unterschiedliche ACHE-Aktivität auf:

Die substriatalen Inselkerne werden von Gewebebrücken der Capsula putaminalis spiralartig umschlossen. Die Inselhöfe selbst zeigen keine Cholinesterase-Aktivität. Die Inselhöfe der subventriculären Inseln zeigen eine durch ISO-OMPA nicht inhibierbare ACHE-Aktivität, die der ACHE-Aktivität des Fundus subventricularis lateralis entspricht. Die als Inselhöfe definierten Areale der Insulae terminales magnae zeigen eine extrem starke ACHE-Aktivität, die in etwa die gleiche Stärke der Capsula putaminalis erreicht. Die olfactorischen Inselhöfe zeigen eine geringe CHE-Aktivität, die durch ISO-OMPA nicht vollständig inhibierbar ist. Die CHE-Aktivität der interstitiellen Inselhöfe ist hingegen durch ISO-OMPA vollständig hemmbar.

Die fünf unterschiedlichen Inselgruppen stehen zu jeweils verschiedenen Fasersystemen in enger topographischer Beziehung. Die substriatalen Inseln werden ventral von den myelinisierten Fasern der Capsula externa umschlossen, in der die *Fibrae cortico-lenticulares* enzymhistochemisch zur Darstellung gebracht wurden. Die subventriculären Inseln verteilen sich im Bereich der ventralen Aufzweigungen der myelinisierten Fasern der Commissura anterior pars olfactoria. Das olfactorische Inselfeld wird von Fasern des diagonalen Bandes pars horizontalis durchzogen. Der laterale Rand der Insulae terminales magnae wird von den Fasern der Stria olfactoria medialis gebildet. Unmittelbar medial der nur schwach myelinisierten Fasern der Stria terminalis finden sich die Insulae terminales interstitiales, die darüberhinaus eine enge topographische Beziehung zum medialen Teil der Commissura anterior eingehen.

Tabellarische Übersicht:

Insulae terminales	Topographie	Faser- bezug	ACHE- Akt. / Inhibition (ISO-OMPA)*
1. substria- tales	ventro-lat. Putamenrand	C.e.	negativ / Ø
2. subventri- culares	Fu.sv.lat.	C.a.o.	stark pos. / keine
3. olfac- toriae	Stratum mul- tiforme d.TbO	DB.h	mäßig pos. / mäßig
4. magnae	medialer Fu.sv.med.	S1.m	stark pos. / schwach
5. intersti- tiales	Interstitial- kern der ST	ST	schwach pos./ vollständig

*der Inselhöfe

5. Diskussion

5.1. ACHE und cholinerge Neurone

Seit den Studien von Koelle [18,19] und Koelle und Friedenwald [11] war es fragwürdig, ob und in welchem Umfang die Verteilung der ACHE in neuronalem Gewebe als ein Marker für cholinerge Neurone herangezogen werden kann. Die bloße Präsenz von ACHE innerhalb eines bestimmten Neurons ist keine ausreichende Begründung, um dieses Neuron als cholinerg zu klassifizieren. Es wurde angenommen, daß in Relation zur Intensität der ACHE-Aktivität, die stark-positiven ACHE-Neurone gleichzeitig ACH als auch das synthetisierende Enzym ChAT beinhalten müsste.

5.1.1. Die Studien von Koelle

Die ACHE-Aktivität der neuronalen Elemente des Rattengehirns wurde von Koelle [19] subjektiv als hochgradig, mäßig leicht oder gering klassifiziert. Auf der Basis seiner Ergebnisse in Korrelation anderer biochemischer ACHE-Befunde von Burgen und Chipman [20], ACH-Befunde von MacIntosh [21] und der biochemischen ChAT-Befunde von Feldberg und Vogt [22] postulierte Koelle, in Analogie zur hochgradigen ACHE-Aktivität der Motoneurone, deren cholinergischer Charakter außer Frage steht, daß seine als hochgradig bis mäßig eingestuften ACHE-positiven neuronalen Regionen cholinerg seien [19,20]. Zwei Befunde ziehen die Koelle'sche Annahme in Zweifel: Einige der neuronalen Zellkörper der Pars compacta der Substantia nigra beinhalten sowohl Dopamin als auch ACHE [23], sodaß diese als dopaminerg zu interpretieren sind. Die Zellkörper des Locus coeruleus zeigen zwar auch eine ACHE-Aktivität, besitzen aber vor allem Norepinephrin [24], und werden aus diesem Grund als catecholaminerg klassifiziert.

5.1.2. Die Studien von Shute und Lewis

Ein Jahrzehnt nach den Studien von Koelle haben Shute und Lewis [25,26] und Lewis und Shute [27] mittels Läsionstechniken ("radio frequency methodes") und nachfolgender ACHE-Histochemie versucht, die Projektionen der cholinergen Neurone im Rattengehirn darzustellen. Sie klassifizierten ein Neuron als cholinerg, wenn sowohl der Zellkörper als auch das zugehörige Axon eine hochgradige ACHE-Aktivität aufweist. Als Resultat ihrer Untersuchungen postulierten Shute und Lewis [26] die Existenz von zwei großen aufsteigenden Bahnen des 'cholinergen' reticulären Systems, die dorsale und ventrale tegmentale Bahn. Darüberhinaus wurden Projektionen des 'cholinergen' limbischen Systems abgegrenzt, die afferent zur Hippocampusformation, zum medialen Cortex, zum Cerebellum, zum aufsteigenden 'cholinergen' reticulären System und zu nicht neuronalen Strukturen sind [26].

Wie die Ergebnisse von Koelle können die Interpretationen von Lewis und Shute aufgrund der heutigen Untersuchungsergebnisse nicht vollständig bestätigt werden. Zum Beispiel korreliert die von Lewis und Shute genannte "ventrale tegmentale Bahn" mit den telencephalen Projektionsneuronen der dopaminergen Zellen der Pars compacta der Substantia nigra und dem angrenzenden ventromedialen mesencephalen Tegmentum. Das synthetisierende Enzym ChAT konnte in der entsprechenden Zellpopulation nicht nachgewiesen werden [23,28,29].

Die von Lewis und Shute als Teil des cholinergen limbischen Systems interpretierten dorsalen und medialen Raphekerne werden heute als monoaminerg betrachtet.

5.1.3. ChAT und cholinerge Neurone

Die beste Methode zur Darstellung cholinergischer Neurone wäre der direkte Nachweis des ACh selbst. ACh ist post mortem hochgradig instabil, weshalb eine histochemische Methode für seine Bestimmung nicht verfügbar ist. Indirekte Methoden, verbunden mit der histochemischen Lokalisation der synthetisierenden und abbauenden Enzyme, die an den cholinergen Mechanismen beteiligt sind, werden als Ersatz herangezogen.

Aufgrund der hohen Substratspezifität ist der beste Marker cholinergischer Neurone das synthetisierende Enzym Cholinacetyltransferase (ChAT). Frühere Versuche, ChAT durch histochemische Methoden nachzuweisen, blieben erfolglos. In letzter Zeit wurden immunhistochemische Methoden entwickelt, wobei das Gewebe mit monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern gegen ChAT reagiert [30-35]. Die Immunspezifität der meisten Antikörper ist jedoch in Frage gestellt worden oder noch nicht hinreichend getestet worden [36,37]. Dieses Problem wird z.B. aufgrund der fehlenden Übereinstimmung der Befunde von McGeer und Mitarbeitern [34] deutlich, die in früheren Studien mit polyklonalen Antikörpern cholinerge Neurone im Striatum als mittelgroße Zellen mit nicht eingekerbten Nuclei und wenigen Dornen (Spines) beschrieben [38]. Mit einem anderen polyklonalen Antikörper berichteten sie wenig später von ChAT-positiven großen bedornten Zellen mit langen Dendriten [32,39]. Arbeiten, mit dem von Eckenstein [31] entwickelten ChAT-Antikörper, zeigten, daß es sich im Striatum sowohl um mittelgroße als auch um große ChAT-positive Zelltypen handelt.

Zur Zeit bestehen noch Diskrepanzen über die Verteilung der ChAT-positiven Zellen in extrastriatalen Gebieten des Rattengehirns. Houser und Mitarbeiter [40] fanden ChAT-positive Zellen in den medialen Habenularkernen, während Armstrong und Mitarbeiter [41] diese nicht nachweisen konnten. Eckenstein und Sofroniew [42] zeigten, daß alle AChE-haltigen Neurone im Caudatus-Putamen-Komplex und Nucleus basalis ChAT-positiv seien, während Levey und

Mitarbeiter [43] in der gleichen Region einige ACHE-positive Zellen fanden, die sich als ChAT-negativ darstellten.

In dem Bemühen, cholinerge Neurone zu identifizieren, ist die Lokalisation ACHE-positiver Neurone auch weiterhin eine hilfreiche Methode, auch wenn der Nachweis von ACHE in einem Neuron nicht zwangsläufig bedeutet, daß das Neuron als cholinerg identifiziert werden kann. Obwohl alle Zellen, die bekanntermaßen ACH als ihren Transmitter benutzen ACHE beinhalten, sind nicht alle ACHE-positiven Zellen funktionell und pharmakologisch cholinerg [16].

Trotz der oben genannten Einwände, haben sich zahlreiche, der durch die ACHE-Histochemie gewonnenen Ergebnisse aufgrund der neueren Untersuchungsverfahren, bestätigt. Viele der von Koelle genannten ACHE-positiven Kerngebiete wurden später als ChAT-positiv verifiziert, wie z.B. die Motoneurone des ventralen Horns im Rückenmark, Zellen der Hirnnervenkerne und Neurone im Caudatus-Putamenkomplex, Nucleus accumbens und diagonales Band [42-45].

Ebenso hat sich die von Shute und Lewis [26] und Lewis und Shute [27] beschriebene septo-hippocampale Projektion und die Projektion zum Neocortex von ACHE-positiven Zellkörpern, die ventral und medial des Globus pallidus liegen, als cholinerg erwiesen [44-49]. Hoover und Jacobowitz [50] haben aufgrund der ChAT-Biochemie, kombiniert mit Läsionsversuchen, die dorsale tegmentale Bahn von Shute und Lewis [26] als cholinerg bestätigt.

5.1.4. Hinweise auf andere Funktionen der ACHE

Susan Greenfield [51] nennt sechs verschiedene Gründe, die dafür sprechen, daß die ACHE noch andere als cholinerge Funktionen besitzt:

(1) In verschiedenen Bereichen des Gehirns ist die ACHE-Aktivität relativ groß, während die ChAT-Aktivität nur gering ist. (2) Neurone können ACHE beinhalten, die weder eine ChAT-Aktivität zeigen noch einen cholinergen Input aufweisen oder ACH als ihren Transmitter benutzen. (3) ACHE existiert nicht nur in seiner bekanntermaßen membran-gebundenen Form, sondern auch als lösliches Endo- und Exoenzym. (4) Die Freisetzung von ACHE in den Liquor erfolgt nicht parallel zur ACH-Freisetzung.

(5) Die Freisetzung von ACHE wird nicht zwangsläufig durch Stimulation oder Blockade der ACH-Rezeptoren beeinflusst. (6) ACHE hat außer der Hydrolyse des ACH's noch andere physiologische Wirkungen.

Die Funktion der nur schwach ACHE-positiven Neurone, die keine ChAT-Aktivität zeigen, d.h. nicht an cholinergen Mechanismen beteiligt sind, können als cholinoceptive Neurone verstanden werden, wobei die Funktion der ACHE eine Limitierung der ACH-Wirkung gewährleistet [52]. Diese Vorstellung erklärt nicht die Existenz der ACHE in den dopaminergen Neuronen der Substantia nigra, die keinen

cholinergen Input erhalten, d.h. nicht cholinozeptiv sind [53,54].

Neuere Studien [55-57] deuten darauf hin, daß ACHE nicht nur ACH hydrolysiert. Aufgrund zwei weiterer aktiver Zentren (Trypsin-ähnliche Endopeptidase, Zink- oder Cobald-abhängige Exopeptidase) ist die ACHE in der Lage, bestimmte Neuropeptide, wie z.B. Substanz P, Leu- und Met-Enkephalin [58,59] zu hydrolysieren. Diese Funktion könnte eine Rolle bei der Regulation neuroaktiver Peptide spielen (Neuromodulation).

Eine dritte funktionelle Bedeutung, die sowohl vom cholinergen als auch vom peptidergen System unabhängig zu sein scheint, kommt der Freisetzung der löslichen ACHE zu. Die lösliche ACHE wird vom peripheren als auch vom zentralen Nervensystem in vitro und in vivo freigesetzt [60-64]. Welche Auswirkungen dies nach sich zieht ist bis heute ungeklärt.

5.2. Inseln des ventralen Striatums

Inselartige Zusammenballungen von Zellen wurden erstmals 1882 von Ganser [4] an Maulwurfgehirnen und später 1893 von Calleja [5] an Kaninchengehirnen mittels cyto- und myeloarchitektonischen Methoden beschrieben. Diese Inseln sind charakteristische Bestandteile des ventralen Striatums, die zur Heterogenität dieser Region wesentlich beitragen. Sie zeigen eine phylogenetische Konstanz bei allen Vertebraten und sind an menschlichen Gehirnen von Brockhaus [1,2] und Sanides [6], auf dem Boden myelo- und cytoarchitektonischer Studien, eingehender untersucht worden. Fallon et al. [65] charakterisierten die Inseln aufgrund histochemischer Befunde im basalen Vorderhirn der Ratte.

5.2.1. "Islotes olfativos" - Calleja (1893)

Calleja [5] hatte als erster die dicht zusammengedrängten Zellen als wesentliches Charakteristikum des Tuberculum olfactorium beschrieben und aufgrund der von ihm wahrscheinlich gemachten Faserverbindungen mit dem Bulbus olfactorius auf einen Zusammenhang mit der Riechfunktion hingewiesen. Der Begriff "islotes olfativos", die eigentlichen Calleja'schen Inseln, beschreibt lediglich die sich im Kresylbild mehr oder weniger gut abgrenzbaren kleinzelligen Zellcluster im Tuberculum olfactorium und am medialen Rand des Nucleus accumbens von Ziehen (Fundus subventricularis medialis nach Brockhaus). Nur letztere Inselgruppe wird meist als *Insula Calleja magna* in der Literatur angegeben. Diese bereits im Nisslbild auffälligen kleinzelligen Zellcluster werden in dieser Arbeit als Inselzentrum dargestellt. Sie bilden somit nur eine Komponente einer einzelnen Insel. Der Inselhof und die striatalen Zellbrücken sind in früheren Arbeiten als solche nicht identifiziert worden.

5.2.2. "Insulae olfactoriae striatales" - Brockhaus (1942)

Der von Brockhaus [1,2] gewählte Begriff "Insulae olfactoriae striatales" deutet auf eine olfactorische und eine striatale Topographie. Die so bezeichneten Insel-"gebiete" umfassen nach Brockhaus bereits mehr als die von Calleja als "Islotes olfativos" beschriebenen Zellgruppen. Aufgrund cytoarchitektonischer Befunde unterscheidet Brockhaus bereits einen kleinzelligen von einem großzelligen Anteil der Inseln und weist aufgrund seiner vergleichend anatomischen Befunde auf eine verschiedene Herkunft dieser beiden Komponenten hin. Nach Brockhaus entspricht der kleinzellige Anteil den eigentlichen Calleja'schen Inseln, die sich mit striatalen Zellgruppen vermischen, in der Rinde des Tuberculum olfactorium ausbreiten und somit streng genommen nicht zum Striatum gehören. Den großzelligen Anteil

faßt er als echten Striatumanteil auf. Beide Komponenten seien jedoch "so innig miteinander verschmolzen", sodaß sie beim Menschen einen durchaus zusammengehörigen Komplex bilden.

Dieser cytoarchitektonische Befund konnte in dieser Arbeit durch die enzymhistochemischen Methoden der ACHE-Aktivitätsverteilung bestätigt werden. Der nach Brockhaus kleinzellige, nicht striatale Anteil entspricht dem extrem stark ACHE-positiven Inselzentrum. Der großzellige striatale Anteil entspricht den in den Inselhof einstrahlenden, etwas schwächer ACHE-positiven, striatalen Zellbrücken, die das Inselzentrum umhüllen, wodurch im cytologischen Bild der Eindruck einer "innigen Verschmelzung" entsteht. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß die striatalen Gewebebrücken kontinuierlich aus der Capsula putaminalis, bzw. aus der medialen, vom ventralen Pol des Corpus nuclei caudati hervorgehenden, stark ACHE-positiven Gewebebrücke, hervorgehen. Diese erstreckt sich im Fundus subventricularis lateralis parallel zu den myelinisierten Fasern der Commissura anterior pars olfactoria.

Eine dem Makrosmatiker homologe Rindenschicht des Tuberculum olfactorium existiert nach Brockhaus beim mikrosomatischen Affen und besonders beim Menschen nicht mehr oder nur noch in "ganz spärlichen, rudimentären Resten", sodaß er in seinen Diagrammen ein Tuberculum olfactorium gar nicht erst kennzeichnet. Er kommt zu der Einschätzung, daß im weitaus größten Teil des Tuberculum olfactorium das Striatumgewebe (Fundus subventricularis lateralis) frei an der Hirnoberfläche liegt und nur zum Teil eine vielleicht als "rindenähnlich" zu bezeichnende, geringfügige Umwandlung seiner oberflächlichen Schichten aufweist.

Die Abgrenzung des Tuberculum olfactorium erfolgte in dieser Arbeit allein aufgrund enzymhistochemischer Befunde und nicht aufgrund cytologischer Befunde. Es zeigte sich im Bereich des Tuberculum olfactorium eine Reduktion der ACHE-Aktivität, die basal an der freien Hirnoberfläche durch ISO-OMFA vollständig inhibiert werden konnte, sodaß eine Schichtung in diesem Bereich durchaus zu beobachten ist.

Mit den üblichen histologischen Methoden ist nicht sicher zu entscheiden, ob der Mensch ein "echtes" Tuberculum olfactorium hat oder, zumindest stellenweise, subcorticale Strukturen "nackt" an die Oberfläche treten.

Aufgrund der "baulichen Ungleichförmigkeit" und den "verschiedenen Differenzierungshöhen" der unterschiedlichen Inselgruppen, die sich enzymhistochemisch durch unterschiedliche ACHE-Aktivitätsstärken der Inselhöfe manifestieren, nehmen die Inseln nach Brockhaus eine Sonderstellung ein, da sie sich nicht in sein für das Striatum angenommenes System der "arealen Gradation", bzw. der "striatalen Differenzierungsreihe" eingliedern lassen.

Die topographische Verteilung der von Brockhaus angegebenen und diagrammatisch wiedergegebenen Inselgebiete beim Menschen beschränkt sich nicht allein auf den Bereich des Tuberculum olfactorium. Dies deckt sich mit den in dieser

Arbeit erhobenen Befunden. Aus diesem Grund wird der Begriff "Insulae olfactoriae" als Bezeichnung aller Inselgruppen verworfen und nur für die Inselgruppe, die im Bereich des Tuberculum olfactorium zu finden ist, reserviert. Brockhaus gibt die Lage der Inselgebiete, die er trotz ihrer "sehr verschiedenen Differenzierungshöhe" nicht weiter differenziert, medial, ventromedial, ventral und ventrolateral vom Fundus striati an. Er weist besonders auf eine weitere Inselgruppe hin, die "stets in dem untersten Teil der äußeren Kapsel zwischen Claustrum und Putamen liegt". Diese entsprechen den enzymhistochemisch am besten abgrenzbaren, in der vorliegenden Arbeit als substriatal bezeichneten, Inseln.

Abweichend von Brockhaus werden in dieser Arbeit darüberhinaus an der lateralen Seite des unteren Ventrikelwinkels Inseln des Interstitialkerns der Stria terminalis beschrieben. An dieser Stelle sondert Brockhaus ein Zellareal ab, das "stärker noch als die Insulae olfactoriae vom Bauplan des gesamten Striatums abweicht", für das er die Bezeichnung "Nucleus subcaudatus" einführt. Obwohl Brockhaus darauf hinweist, daß der Nucleus subcaudatus besonders beim Menschen eine Neigung zur Bildung größerer und kleinerer Inseln zeigt, die mehr oder weniger tief in den Fundus subventricularis lateralis eingebettet liegen, ordnet er dieses Areal nicht den Insulae olfactoriae striatales zu, sondern betont, daß es sich hierbei um ein eigenständiges Areal ("Sonderbezirk") handelt, das sich wie auch die Inseln nicht in die von ihm angenommene striatale Differenzierungsreihe einordnen läßt. Die tief im Fundus subventricularis lateralis liegenden Inseln werden in der vorliegenden Arbeit topographisch von den Inseln des Nucleus interstitialis der Stria terminalis getrennt und als subventriculäre Inseln beschrieben.

Die enzymhistochemischen Befunde zeigen, daß sich alle Zellareale, die Brockhaus nicht in sein System der striatalen Differenzierungsreihe einordnen konnte, als echte Inselareale darstellen.

5.2.3. "Insulae terminales" - Sanides (1957)

Sanides [6] führte die Bezeichnung "Insulae terminales" ein, da er als charakteristisches topisches Merkmal der Inseln, ihre Anordnung längs "der telodiencephalen Grenze", als Hauptwesenszug erachtet.

Er definierte die Inseln aufgrund cytologischer Kriterien als "kleine, meist rundlich oder oval umgrenzte, sich aufgrund ihres Zellaufbaus von einem sie allseitig umgebenden Grau oder Marklager gut abhebende Zellansammlungen".

Drei Inseltypen ($\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ -Inseln), die sich in der Größe der sie zusammensetzenden Zellen ($\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ -Zellen) unterscheiden, wurden von ihm differenziert. Diese γ -Zellen seien kleiner als die kleinen Striatumzellen, wobei die γ_1 -Zellen die kleinsten (5-6 μm), die γ_2 -Zellen etwas größer (10 μm) und die γ_3 -Zellen einen Durchmesser von bis zu 14 μm besitzen sollen. Dieser Durchmesser entspricht bereits der Größe der kleinen Striatumzellen, wodurch die Abgrenzung zu Striatumzellen sicherlich außerordentlich schwer fallen dürfte.

γ_1 -Inseln sind nach Sanides Zellareale, die sich überwiegend aus γ_1 -Zellen zusammensetzen, jedoch stets auch γ_2 -Zellen bzw. "Übergangsformen" erkennen lassen. Der Durchmesser eines solchen Zellareals sei "im allgemeinen" kleiner als 80 μm , im Fundus striati beobachtet er jedoch auch größere " γ_1 -Komplexe".

γ_2 -Inseln definierte er als weniger einheitlich aufgebaute Zellareale mit einem Überwiegen der γ_2 -Zellen mit häufigen "Übergängen zu γ_3 -Zellen", ohne daß das Übergewicht der γ_2 -Zellen verloren ginge. Die Zellagerung sei weniger dicht, der Umfang der Inseln größer, eine Aufhellung des Grundfasernetzes sei deutlich und eine "angedeutete Kapselbildung" sei zu beobachten. In diesem Zusammenhang beschrieb Sanides die γ_2 -Zellen als "strangartige Gebilde". Die γ_3 -Inseln setzten sich sowohl aus γ_2 - als auch aus γ_3 -Zellen zusammen, wobei letztere das Übergewicht hätten. Sie trügen alle Merkmale der γ_2 -Inseln und zeigten einen "räumlichen Übergang der einen in die andere [Insel-] Art innerhalb eines geschlossenen Zellstranges".

Bei der Beschreibung der Inseln beschränkte sich Sanides auf die Untersuchung nur jedes 25. Schnittes einer Frontalschnittserie. Dies hatte zur Folge, daß er echte Inseln nicht von "Zellbrücken", "Zellsträngen", "Zellstreifen" oder "Zellkomplexen" differenzierte. Aufgrund dieses systematisch-methodischen Fehlers wurden zahlreiche Zellareale als Inseln identifiziert, die sich bei kontinuierlicher und dreidimensionaler Rekonstruktion des frontal geschnittenen Gewebes eindeutig als striatale Gewebebrücken darstellen. In dieser Arbeit werden nur solche Zellareale als Inseln beschrieben, die Sanides "Kokardenbildungen" nennt, was in seiner cytologischen Terminologie als Einbettung einer kleinen γ_1 -Insel in eine größere γ_2 -Insel beschrieben wurde.

Werden die cytologischen Befunde von Sanides mit der enzym-histochemischen Darstellung der ACHE-Verteilung korreliert, so zeigt sich, daß lediglich die Verteilung der γ_1 -Zellareale mit den Inselzentren, die eine extrem hohe ACHE-Aktivität aufweisen, übereinstimmen.

So werden z.B. die striatalen Gewebebrücken caudal des substriatalen Inselfeldes, die parallel zu den Vasa perforantes verlaufen von Sanides als juxtavasculäre γ_2 -Inseln gedeutet. Bei den von Sanides als γ_2 -Zellinseln ("Zellstreifen", "Zellstränge") beschriebenen Areale des

Supraamygdaloideum handelt es sich um striatale Gewebebrücken der Capsula putaminalis, bzw. der Fibræ parastriaterminalis pars pericommissuralis. Ebenfalls ist die von Sanides angegebene "Caudatusrandinsel" (γ_3) keine echte Insel. Dieses relativ konstante Areal findet sich am ventralen Rand des Nucleus caudatus in Höhe des rostralen Thalamus. Es geht kontinuierlich aus der striosomal komplementären Matrix des Nucleus caudatus hervor und verbindet sich mit der nach ventral verlaufenden Gewebebrücke zwischen der Capsula interna und den Fasern der Stria terminalis. Auch diese striatalen Gewebebrücken wurden von Sanides bereits erkannt, allerdings als γ_2 -Inseln interpretiert. Die von ihm als γ_1 -Inseln identifizierten Inseln in diesem Bereich sind in dieser Arbeit als Inseln des Interstitialkerns der Stria terminalis dargestellt (vergl. Diagramm 7, Detaildiag. 5,). Da Sanides die Gewebebrückenanschnitte als Inseln interpretierte, gab er eine sehr hohe Anzahl dicht zusammengedrängter Inseln im Fundus striati an. Diese überschreitet bei weitem die Anzahl der in dieser Arbeit als subventriculär und olfactorisch klassifizierten Inseln, die den typischen Aufbau einer echten Insel erkennen lassen.

5.2.4. Enzymhistochemische Charakterisierung der Insulae terminales striatales

Die Ergänzung und Spezifizierung der cyto- und myelo-architektonischen Ergebnisse mittels enzymhistochemischer Befunde der ACHE-Aktivitätsverteilung führt zur folgenden Charakterisierung einer Insel:

Eine Insel setzt sich aus einem Inselzentrum (Inselkern), einem Inselhof und striatalen Gewebebrücken zusammen.

Das Inselzentrum ist eine rundliche oder oval umgrenzte Zellansammlung aus kleinen (5-6 μm), dicht gelagerten Zellen, die eine extrem hohe durch ISO-OMPA nicht inhibierbare ACHE-Aktivität aufweisen.

Der Inselhof besteht aus ca. 10 μm großen Zellen. Er zeigt je nach topographischer Lage eine unterschiedliche ACHE-Aktivität. Substriatale Inselhöfe zeigen typischerweise keine Cholinesterase-Aktivität. Subventriculäre Inselhöfe zeigen eine starke und ISO-OMPA nicht inhibierbare Cholinesterase-Aktivität. Die olfactorischen Inselhöfe zeigen eine mäßig starke und teilweise Hemmbarkeit der Cholinesterase durch ISO-OMPA. Die Insulae magnae besitzen eine extrem starke ACHE-Aktivität, die geringfügig durch ISO-OMPA inhibiert werden kann. Die Inselhöfe der interstitialen Inseln zeigen eine schwache Cholinesterase-Aktivität, die vollständig durch ISO-OMPA inhibiert werden kann.

Die striatalen Zellbrücken setzen sich aus kleinen Striatumzellen (14 μm) zusammen, die eine starke ACHE-Aktivität aufweisen und in der Regel mit myelinisierten

Fasersystemen (Capsula externa/-interna, Stria terminalis, Stria olfactoria, Commissura anterior) assoziiert sind.

Die extrem starke ACHE-Aktivität der striatalen Gewebebrücken sind in Diagramm 17 dargestellt. Die Schemazeichnung zeigt die fünf Inselgruppen im ventralen Striatum. Allen Inselgruppen gemeinsam ist die enge Anbindung an stark ACHE-positive Gewebebrücken. Ausgehend von der striosomal komplementären Matrix des Nucleus caudatus setzt sich die extrem starke ACHE-Aktivität des lateralen Nucleus caudatus in die Pontes striatales bis in die Capsula putaminalis fort. Diese verläuft medial der Capsula externa bis zum Fundus subventricularis medialis. Die extrem starke ACHE-Aktivität des Fundus caudati setzt sich prä- und postcommissural, parallel zu den Fasern der Stria terminalis und medial der Capsula interna nach ventral in den Fundus subventricularis lateralis fort. Die Commissura anterior wird von diesen striatalen Gewebebrücken umschieden, verbindet sich mit der lateralen Gewebebrücke (Capsula putaminalis) und reicht bis tief in das Supraamygdaloideum. In Höhe des Pedunculus caudati besteht eine innige Verbindung mit dem Corpus amygdaloideum (Nucleus amygdaloideus profundus lateralis und intermedius).

Die so gestaltete Verbindung der ventralen striatalen Areale mit dem Nucleus caudatus ist ontogenetisch durch die Aufspaltung des Colliculus ganglionaris, die sich im 2. Monat aufgrund des Einwachsens der weißen Fasern der Capsula interna vollzieht, erklärbar. Die Bildung der inneren Kapsel hat eine Zerreißung des Basalganglions in eine dorsomedial gelegene Portion (Nucleus caudatus) und das ventrolateral gelegene Putamen zur Folge.

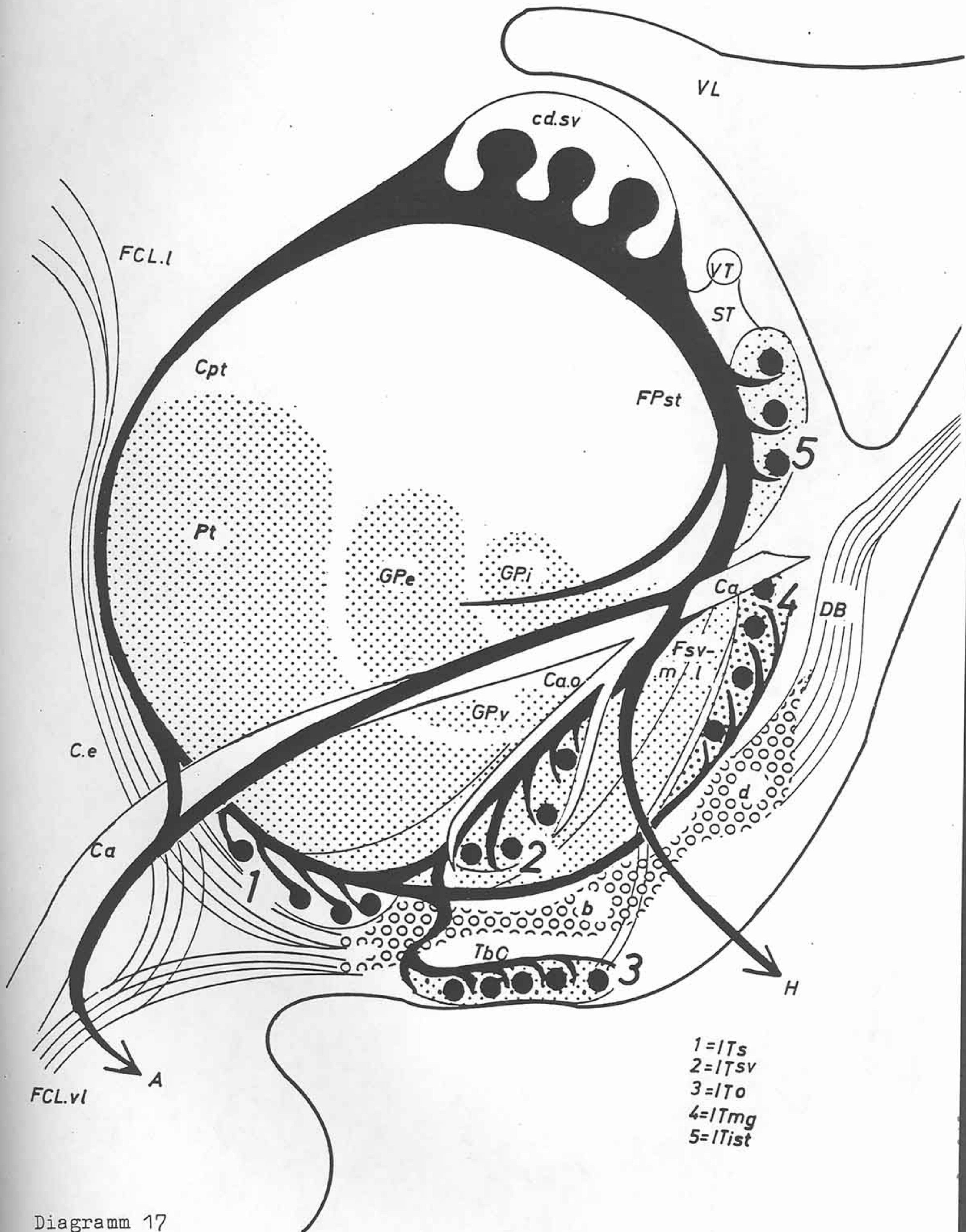
Der Ganglienhügel zeigt einen medialen und lateralen Wulst, die durch einen Sulcus voneinander getrennt werden ("strio-caudate-sulcus" nach Johnston [66]). Der mediale Wulst bildet einen Teil des Kopfes des Nucleus caudatus, womit Johnston [66] den Fundus striati gemeint hat.

Die mediale striatale Gewebebrücke (FPst) verzweigt sich nicht nur im Fundus subventricularis lateralis, sondern verbindet sich darüberhinaus mit dem Globus pallidus und dem lateralen Hypothalamus, d.h. mit diencephalen Arealen.

Sowohl durch die Aufspaltung des Ganglienhügels durch die Capsula interna als auch durch das Vordringen von Zellmassen aus dem Gebiet des Subthalamus, die sich dann als Globus pallidus etablieren, also keine Derivate des Colliculus ganglionaris darstellen, werden die ursprünglichen Grenzen zwischen Diencephalon und Telencephalon (Basalganglien) verwischt. Diese Umbildungsvorgänge haben auch Auswirkungen auf die äußere Gestaltung des Grenzbezirkes zur Folge. Echte Grenzlinien zwischen den beiden prosencephalen Teilen können nach Abschluß der Ontogenese nicht mehr überall eindeutig gezogen werden.

Die hier erhobenen Befunde deuten darauf hin, daß die Inselfelder sich in den Grenzbezirken der einzelnen Zell-

areale etablieren, die einerseits das ventrale Striatum zusammensetzen und andererseits mit diencephalen Strukturen in enge Nachbarschaft treten. Aus diesem Grund wurde der von Sanides gewählte Begriff Insulae "terminales" beibehalten, ohne damit einen Grenzcharakter zum Ausdruck bringen zu wollen. Vielmehr wird durch die Beschreibung der fünf topographisch verschiedenen Inselgruppen deutlich, wie innig sich die Verflechtung zwischen ventralem und dorsalem Striatum einerseits und telencephalen und diencephalen Strukturen andererseits, gestaltet. Da die Inseln des basalen Vorderhirns durch striatale Gewebebrücken an das dorsale Striatum "angebunden" sind, werden die Inseln als Insulae terminales striatales bezeichnet.



5.3. Tierexperimentelle Befunde

Die Insulae Calleja, als phylogenetisch konstantes Merkmal in Vertebraten, wurden an verschiedenen Säugetieren wie z.B. Cetacea [67], Marsupialia [68], Rodentia [69-74], Carnivora [75,76] und Primaten [77] beschrieben.

Über die rein morphologische Beschreibung hinaus befassen sich neuere tierexperimentelle Studien mit der Organisation, Hodologie und Funktion der Inseln.

5.3.1. Topographie

In Übereinstimmung mit zahlreichen anderen Autoren [78-84] beschrieb Fallon et al. [65] den Inselkomplex als die am weitesten rostral und ventral gelegene Komponente des ventralen Striatum und ventralen Pallidum. Der Inselkomplex der Ratte setzt sich nach Fallon et al. [85] aus sieben granulären Zellclustern in der ersten (molekularen) und dritten (polymorphen) Schicht des Tuberculum olfactorium sowie der Insulae Calleja magna, die sich zwischen der septalen Region, dem Nucleus accumbens und dem Nucleus diagonalis erstreckt, zusammen. Die topographische Verteilung der Inseln beschränkt sich infolgedessen auch bei der Ratte nicht nur auf das Tuberculum olfactorium, bzw. das olfactorische System.

5.3.2. Cytologie

Die cytoarchitektonischen Befunde (Golgi- und Nissl-Studien) von Fallon et al. [65] zeigten, daß bei der Ratte drei verschiedene Zelltypen, die sich aufgrund ihrer Größe voneinander differenzieren lassen, den Aufbau einer Insel charakterisieren. Die Calleja'schen Inseln im engeren Sinne setzen sich bei der Ratte aus kleinen (7-9 μm) granulären Zellen zusammen, um die sich mittelgroße (10-20 μm) und große (20-35 μm) Zellen in typischer Weise anordnen. Das Modell einer "Standard-Insel" beschreibt Fallon als einen neuropilreichen Kern ("core"), der ventral von den granulären Zellen halbmondförmig umschlossen wird. Auf dem Kern sitzt eine, sich aus mittelgroßen und großen Zellen zusammengesetzte Kappe ("cap"), die ventral mit einem stark neuropil-reichen Randsaum, der die granulären Zellen ventral umschließt, in Verbindung steht. Dorsal geht die kappenartige Region kontinuierlich in eine pallidale Zellbrücke über. Diese Standard-Insel ragt gewöhnlich aus der polymorphen Schicht bis tief in die pyramidale Schicht des Tuberculum olfactorium hinein, wobei die pyramidale Schicht dorsal kontinuierlich über striatale Zellbrücken mit dem Caudatus-Putamen-Accumbens-Komplex in Verbindung steht.

Im Gegensatz zu den Fallon'schen Befunden an der Ratte konnte im menschlichen Gehirn eine direkte Kontinuität zu pallidalen Zellbrücken enzymhistochemisch nicht dargestellt werden, wohl aber zu striatalen Zellbrücken. Da diese im Inselhof eingebettet liegen, bzw. den Inselhof umschließen, beteiligen sie sich am Aufbau einer Insel. Der Inselhof, der cytologisch mit der "cap"-Region zu vergleichen ist, stellt sich im menschlichen Gehirn als separates Kompartiment einer Insel dar. Nach Fallon et al. [65] grenzen sich die Inseln der Ratte durch einen neuropilreichen Randsaum ("rim-region") von den striatalen Zellbrücken ab.

Die von Ribak und Fallon [86] licht- und elektronenmikroskopisch erhobenen Befunde zeigten eine große Übereinstimmung der Inselzellen mit striatalen und pallidalen Neuronen hinsichtlich ihrer ultrastrukturellen Charakteristika. Die granulären Inselzellen ähneln den mittelgroßen, bedornten Neuronen des Neostriatum in vielerlei Hinsicht: Beide Zelltypen besitzen relativ große, glatt konturierte Nuclei mit Ansammlungen von Hetero-chromatin, zeigen einen relativ kleinen Zytoplasmasaum mit wenigen Organellen und zeigen Dornen (Spines) auf ihren Somata. Die Somata treten in Gruppen von 2-3 Zellen auf, die in direktem (ephaptischen) Kontakt miteinander stehen und mit relativ wenig Axon-terminalen verbunden sind.

Die größeren Zellen der Inseln zeigen Charakteristika, die mit den großen Zellen des Globus pallidus vergleichbar sind: Beide Zelltypen besitzen euchromatische Nuclei mit tiefen Kernfalten, prominente Nisslkörper und zahlreiche Organellen im Cytoplasma des Perikaryons. Darüberhinaus zeigen sie glatte spitz zulaufende Dendriten, die von Axonterminalen bedeckt werden und symmetrische Synapsen bilden. Die somale Oberfläche, die mit zahlreichen Terminalen verknüpft ist, bildet symmetrische Synapsen.

5.3.3. Hodologie

Golgi- und elektronenmikroskopische Studien [86,87] zeigten, daß die granulären Zellen untereinander durch interaxonale Verbindungen und ephaptische Zellkontakte in Verbindung stehen. Die ephaptischen Zellkontakte lassen auf eine elektrische Kopplung und eine mögliche elektrophysiologische Synchronisation der granulären Zellen schließen [86]. Die Dendriten der granulären Zellen sind wahrscheinlich in die Peripherie des Zellclusters ("rim-region") orientiert. Sie zeigen zahlreiche axonale Dornen (Spines) und axodendritische Synapsen [65].

Mittels zahlreicher histochemischer und axoplasmatischer Transportstudien konnte Fallon et al. [65,87] zahlreiche Afferenzen und Efferenzen der Inselzellen im Rattengehirn darstellen: Demnach erreichen dopaminerge und cholecystokininerge Afferenzen die Dendriten der granulären Zellen aus der Substantia nigra, der ventralen tegmental Area. Sowohl superfiziell gelegene Inseln [65] als auch tiefergelegene

Inseln [88] erhalten Fasern aus den Mitralzellen des Bulbus olfactorius. Afferenzen aus dem temporalen und orbitalen Cortex, die lediglich die superfiziellen Inseln erreichen, sind für den Rhesusaffen beschrieben worden [89].

Efferenzen der granulären Zellen beschränken sich auf die umliegenden Strukturen, wie die septale Region, den Nucleus accumbens und das Tuberculum olfactorium. Da nur ausgiebige Injektionen von Meerrettich-Peroxidase in das Corpus amygdaloideum und den piriformen Cortex eine retrograde Anreicherung in den granulären Zellen zeigten, kleinere Injektionsmengen jedoch keine Anreicherungen erkennen ließen, wird eher eine eng begrenzte Projektion der granulären Zellen angenommen. Es erscheint auch möglich, daß die granulären Zellen lediglich die mittelgroßen und großen Zellen der Inseln innervieren [87]. Die Verbindungen der mittelgroßen und großen Inselzellen ist hingegen sehr viel ausgedehnter [90]: Als efferente Projektionsgebiete wurden angegeben: Tuberculum olfactorium, ventrales Pallidum, Septum, piriformer Cortex, periamygdaloidärer Cortex, Nucleus amygdaloideus corticalis, Nucleus amygdaloideus ventralis, Area lateralis hypothalamica, Forel'sche Feld H, Area tegmentalis ventralis, supramammilärer Komplex, Nucleus gemini, Nucleus thalami medialis und -intralaminaris, thalamische Kerne der Mittellinie und Nucleus habenularis lateralis.

Mit Ausnahme der lateralen Habenula führen alle efferenten Gebiete auch afferente Fasern zu den Inseln. Es besteht eine auffallende Wechselseitigkeit der Verbindungen [65]. Darüberhinaus projiziert die dorsale Raphe in den Inselkomplex.

Da der Inselkomplex nahezu die gleichen Verbindungen aufweist wie das Pallidum, und die Afferenzen der Inseln, einschließlich der Projektion der dorsalen Raphe, striato-pallidalen Afferenzen entsprechen, legt diese Hodologie eine Einbindung des Inselkomplexes in das striato-pallidale System sehr nahe.

5.3.4. Neurotransmitter, Neuropeptide

Die charakteristischen Neurotransmitter und -peptid-Verteilungsmuster der Inseln wurde von Fallon et al. [65] mittels immunhistochemischer und Histofluoreszenz-Methoden untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß der Inselkomplex sowohl monoaminerge (Dopamin, Norepinephrin) und neuropeptid-erge Fasern (Leu-enkephalin, Met-enkephalin, Substanz P, Cholecystokinin, Luliberin) als auch ACHE-positive Somata und Dendriten enthält. Die Randsäume der Inseln ("rim-regiones") kennzeichnete Fallon et al. als striatales Gewebe, da sich überwiegend dopaminerge und cholecystokininerge Fasern darstellten. Die synaptische Zone in der mittel- und großzelligen "cap" und "core"-Region, die überwiegend durch Enkephalin-, Substanz P- und γ -Amino-buttersäure-(GABA-) haltige Fasern charakterisiert wurde, ist als pallidale Struktur klassifiziert worden. Obwohl jede

einzelne Substanz in zahlreichen anderen Hirnregionen nachgewiesen werden kann, ist die spezifische Überlappung und die typische Kombination der oben genannten Neurotransmitter und -peptide in den eng begrenzten Inselkompartimenten ein charakteristisches Merkmal für striatale und pallidale Strukturen.

Hohe Konzentrationen von GABA und ihr synthetisierendes Enzym Glutamatdecarboxylase (GAD) wurde von Krieger und Mitarbeitern [91] im Tuberculum olfactorium der Ratte nachgewiesen. Sie konnten zeigen, daß die höchsten Konzentrationen von GABA und GAD in der polymorphen Schicht des Tuberculum in den granulären Zellen (Calleja'schen Inseln) zu finden sind.

Mesulam und Mitarbeiter [92] konnte zeigen, daß die Konzentration cholinerg (ChAT-positiver) Neurone im ventralen Striatum des Affen um die Calleja'schen Inseln sehr hoch ist. Obgleich sie die granulären Zellen als ChAT-negativ beschreiben, stellt sich das Neuropil in den Inseln als stark ChAT-positiv dar. Die Autoren schreiben den Inseln aufgrund dieser Befunde einen cholinozeptiven Charakter zu.

5.3.5. Funktion

Die Funktion des Inselkomplexes ist weitgehend ungeklärt. Die Einbindung der Inseln in das Allo/Neo-cortico-striato-pallidale System läßt Rückschlüsse auf eine Beteiligung an extrapyramidal-motorischen Funktionen zu. Aufgrund der Projektionen zu motorischen, limbischen, olfaktorischen, endokrinen und spezifisch thalamischen Arealen müssen jedoch ebenso andere Funktionen angenommen werden.

Pfaff und Keiner [93] beschrieben Estradiol konzentrierende Zellen in und um die Calleja'schen Inseln, wobei das Tuberculum olfactorium selbst weitgehend ausgespart blieb. Aufgrund des Nachweises von Estradiol konzentrierenden Neuronen in zahlreichen anderen limbischen und extrahypothalamischen Regionen, wie im Nucleus amygdaloideus medialis und corticalis, den lateralen Septumkernen, dem Interstitialkern der Stria terminalis, dem diagonalen Band von Broca, dem ventralen Hippocampus, dem piriformen und entorhinalen Cortex, postulieren die Autoren ein limbisch-hypothalamisches System von Estrogen konzentrierenden Neuronen, das sich an der Kontrolle des Paarungsverhaltens und Gonadotropin-Freisetzung der Hypophyse beteiligen könnte.

Fallon und Mitarbeiter [65] konnten durch Injektionen von [³H]Estradiol in ovariectomierten weiblichen Ratten autoradiographisch eine Anreicherung der Substanz in mittelgroßen und großen Zellen der medialen und lateralen Septumkerne, im diagonalen Band, Tuberculum olfactorium und den Calleja'schen Inseln darstellen. Die Verteilung der [³H]Estradiol angereicherten Zellen deckt sich mit der Verteilung der LH-RH-Immunreaktivität. Etwa zwei Drittel der Estradiol positiven Zellen zeigen eine ACHE-Aktivität. Diese Befunde passen zu den neuroendokrinologischen Resultaten von

Muth, Crowley und Jacobowitz [94], die zeigen konnten, daß die cholinerge Aktivität in bestimmten Hirnregionen der Ratte, wie z.B. dem Mandelkern, dem Nucleus diagonalis, der ventralen tegmental Area, der medialen präoptischen Area durch Gonadektomie und gonadale Hormon-Behandlung beeinflusst wird. Die Autoren vermuten eine Beteiligung des cholinergen Systems an den Rückkopplungseffekten von Estradiol, Progesteron und Testosteron.

Fallon und Mitarbeitern [65] weisen darauf hin, daß der Inselkomplex als Komponente des striatopallidalen Systems in Verbindung mit neuroendokrinen Funktionen stehen könne und Teil eines "Endokrin-corticostriatopallidalen Systems" sei.

6. Literaturverzeichnis:

1. Brockhaus, H. (1942): Zur feineren Anatomie des Septum und des Striatum; Journal für Psychologie und Neurologie, Bd. 51, Heft 1 u.2.
2. Brockhaus, H. (1942): The finer anatomy of the septum and of the striatum. J.Psychol.Neurol. 51,1-56. (Translated in Pope A. (ed.) (1983). Human brain dissection. US Government Printing Office Publication 381-132:3096, pp.73-163).
3. Graybiel, A.M. and Ragsdale, C.W. (1983): Biochemical anatomy of the striatum. In Chemical Neuroanatomy (ed. Emson, P.C.) pp.427-504. Raven Press, New York.
4. Ganser, S. (1882): Vergleichend-anatomische Studien über das Gehirn des Maulwurfs. Morph. Jb.,7: 591-725.
5. Calleja, C. (1893): La región olfactorie de cerebro.N. Moya, Madrid.
6. Sanides, F. (1957): Die Insulae terminales des Erwachsenenengehirns des Menschen. J. für Hirnforschung, Bd.3, Heft 2/3.
7. Coyle, J.T., Price, D.L., DeLong, M.R. (1983): Alzheimer's disease: A disorder of cortical cholinergic innervation. Science, 219,1184-1190.
8. Candy, J.M., Perry, R.H., Perry, E.K., Irving, D., Blessed, G., Fairbairn, A.F., Tomlinson, B.E. (1983): Pathological changes in the nucleus of Meynert in Alzheimer's and Parkinson's diseases. J.of the Neurol. Sciences, 54:59: 277-289.
9. Clark, A.W., Parhad, I.M., Folstein, S.E., Whitehouse, P.J., Hedreen, J.C., Price, D.L., Chase, G.A. (1983): The nucleus basalis in Huntington's disease. Neurology, 33: 1262-1267.
10. Arendt, T., Bigl, V., Arendt, A., Tennstedt, A. (1983): Loss of neurons in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease, Paralysis agitans and Korsakoff's disease. Acta Neuropathol. 61:101-108
11. Koelle, G.B., Friedenwald J.S. (1949): A histochemical method for localizing cholinesterase activity. Proc. Soc. Exp. Biol.,70,617-622.
12. Henderson, J.R. (1967): The use of silver for intensifying sulfide deposits in the cholinesterase technique. Stain Technol., Vol.42, No.2, 101-102
13. Hedreen, J.C., Bacon, S.J., Price, D.L. (1985): A modified histochemical technique to visualize acetylcholinesterase-containing Axons. J. of Histochem. and Cytochem., Vol.33, No.2, 134-140.
14. Bayliss, B.J., Todrick, A. (1956): The use of a selective acetylcholinesterase inhibitor in the estimation of pseudo-cholinesterase activity in rat brain. Biochem. J., 62, 62-67.
15. Robinson, P.M. (1971): The demonstration of acetylcholinesterase in autonomic axons with the electronmicroscope. Prog. Brain Res.,34,357-370.
16. Silver, A. (1974): The Biologie of Cholinesterases. American Elsevier, New York.
17. Retzius, G. (1892): Das Menschenhirn. Studien in der Makroskopischen Morphologie. Stockholm: Norstedt & Söhne

18. Koelle, G.B. (1953): Cholinesterases of the tissues and sera of rabbits. *Biochem. J.*, 53:217-226.
19. Koelle, G.B. (1954): The histochemical localization of cholinesterases in the central nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 100:211-235.
20. Burgen, A.S.V., Chipman, L.M. (1951): Cholinesterase and succinic dehydrogenase in the central nervous system of the dog. *J. Physiol. (London)*, 114:296-305.
21. MacIntosh, F.C. (1941): The distribution of acetylcholine in the peripheral and the central nervous system. *J. Physiol. (London)*, 99:436-442.
22. Feldberg, W., Vogt, M. (1949): Acetylcholine synthesis in different regions of the central nervous system. *J. Physiol. (London)*, 107:372-381.
23. Butcher, L.L., Marchand, R. (1978): Dopamin neurons in the pars compacta of the substantia nigra contain acetylcholinesterase: histochemical correlations on the same brain section. *Eur. J. Pharmacol.*, 52:415-417.
24. Albanese, A., Butcher, L.L. (1980): Acetylcholinesterase and catecholamine distribution in the locus coeruleus of the rat. *Brain Res. Bull.*, 5:127-134.
25. Shute, C.C.D., Lewis, P.R. (1965): Cholinesterase-containing pathways of the hindbrain: afferent cerebellar and centrifugal cochlear fibres. *Nature (London)*, 205:242-246.
26. Shute, C.C.D., Lewis, P.R. (1967): The ascending cholinergic reticular system: neocortical, olfactory and subcortical projections. *Brain*, 90:497-520.
27. Lewis, P.R., Shute, C.C.D. (1967): The cholinergic limbic system: projections to hippocampal formation, medial cortex, nuclei of the ascending cholinergic reticular system, and the subfornical organ and supra-optic crest. *Brain*, 90:521-540.
28. Butcher, L.L. (1977): Nature and mechanisms of cholinergic-monoaminergic interactions in the brain. *Life Sci.*, 21:1207-1226.
29. Butcher, L.L., Talbot, K. (1978): Acetylcholinesterase in rat nigro-neostriatal neurons: experimental verification and evidence for cholinergic-dopaminergic interactions in the substantia nigra and caudate-putamen complex. In: Butcher, L.L. (Ed.), *Cholinergic-Monoaminergic Interactions in the Brain*, pp.25-95. Academic Press, New York.
30. Chao, L., Kan, K.S.K., and Hung, F. (1982): Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase in rabbit forebrain. *Brain Res.*, 235:65-82.
31. Eckenstein, F., Barde, Y.-A., and Thoenen, H. (1981): Production of specific antibodies to choline acetyltransferase purified from pig brain. *Neuroscience*, 6:993-1000.
32. Kimura, H., McGeer, P.L., Peng, J.H., and McGeer, E.G. (1980): Choline acetyltransferase-containing neurons in rodent brain demonstrated by immunohistochemistry. *Science*, 208:1057-1059.
33. Levey, A.I., and Wainer, B.H. (1981): Monoclonal antibodies against choline acetyltransferase (ChAT): Intraspecies and interspecies reactivities. *Neurosci. Abstr.*, 7:121.
34. McGeer, P.L., McGeer, E.G., Singh, V.K., and Chase, W.H. (1974): Choline acetyltransferase localisation in the central nervous system by immunohistochemistry. *Brain Res.*, 81:373-379.

35. Park, D. H., Ross, M. E., Baker, H., Reis, D. J., and Joh, T. H. (1981): Production and characterization of antibodies to choline acetyltransferase of rat striata for immunohistochemistry. *Neurosci. Abstr.*, 7:493.
36. Rossier, J. (1981): Serum monospecificity: A prerequisite for reliable immunohistochemical localization of neuronal markers including choline acetyltransferase. *Neuroscience*, 6:989-991.
37. Rossier, J. (1975): Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase: Real or artefact? *Brain res.*, 98:619-622.
38. Hattori, T., Singh, V. K., McGeer, E. G., and McGeer, P. L. (1976): Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase containing neostriatal neurons and their relationship with dopaminergic synapses. *Brain Res.*, 102:164-173.
39. Kimura, H., McGeer, P. L., Peng, J. H., and McGeer, E. G. (1981): The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 200:151-201.
40. Houser, C. R., Crawford, G. D., Barber, R. P., Salvaterra, P. M., Vaughn, J. E. (1983): Organisation and morphological characteristics of cholinergic neurons: an immunocytochemical study with a monoclonal antibody to choline acetyltransferase. *Brain Res.*, 266:97-119.
41. Armstrong, D. M., Saper, C. B., Levey, A. I., Wainer, B. H., Terry, R. D. (1983): Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.*, 216:53-68.
42. Eckenstein, F., Sofronniew, M. V. (1983): Identification of central cholinergic neurons containing both choline acetyltransferase and of central neurons containing only acetylcholinesterase. *J. Neuroscience*, 3:2286-2291.
43. Levey, A. I., Wainer, B. H., Mufson, E. J., Mesulam, M. M. (1983): Co-localization of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase in the rat cerebrum. *Neuroscience*, 9:9-22.
44. Woolf, N. J., Eckenstein, F., Butcher, L. L. (1983): Cholinergic projections from the basal forebrain to the frontal cortex: a combined fluorescent tracer and immunohistochemical analysis. *Neurosci. Lett.*, 40:93-98.
45. Woolf, N. J., Eckenstein, F., Butcher, L. L. (1983): Cholinergic projections revealed by choline acetyltransferase (ChAT) immunohistochemistry and fluorescent tracer histology performed on the same tissue section. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 9:967.
46. Butcher, L. L., Woolf, N. J. (1982): Cholinergic and serotonergic system in the brain and spinal cord: anatomic organization, role in intercellular communication process, and interactive mechanisms. In: Buijs, R. M., Pévet, P., Swaab, D. F. (Eds.), *Chemical Transmission in the Brain, Progress in Brain Research, Vol. 55*, pp. 3-40. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
47. Bigl, V., Woolf, N. J., Butcher, L. L. (1982): Cholinergic projections from the basal forebrain to frontal, parietal, temporal, occipital, and cingulate cortices: a combined fluorescent tracer and acetylcholinesterase analysis. *Brain Res. Bull.*, 8:727-749.
48. Mesulam, M. M., Mufson, E. J., Levey, A. I., Wainer, B. H. (1983): Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.*, 214:170-197.

49. Woolf, N. J., Butcher, L. L. (1982): Cholinergic projection to the basolateral amygdala: a combined Evans Blue and acetylcholinesterase analysis. *Brain Res. Bull.*, 8:751-763.
50. Hoover, D. B., Jacobowitz, D. M. (1979): Neurochemical and histochemical studies of the effect of a lesion of the nucleus cuneiformis on the cholinergic innervation of discrete areas of the rat brain. *Brain Res.*, 170:113-122.
51. Greenfield, S. (1984): Acetylcholin may have novel functions in the brain. *Trends in Neurosciences*, Okt. 84:364-368.
52. Bolam, J. P., Ingham, C. A., Smith, A. D. (1984): The section-Golgi-impregnation procedure-3. Combination of Golgi-impregnation with enzym histochemistry and electron microscopy to characterize acetylcholinesterase-containing neurons in the rat neostriatum. (1984): *Neuroscience*, Vol. 12, 3, 687-709
53. Butcher, L. L., Talbot, K., Bilezikjian, L. (1975): Acetylcholinesterase neurons in dopamine-containing regions of the brain. *J. Neural Transm.*, 37, 127-153.
54. Butcher, L. L. and Woolf, N. J. (1982): Monoaminergic-cholinergic relationships and the chemical communication matrix of the substantia nigra and neostriatum. *Brain Res. Bull.* 9:475-492.
55. Ismael, Z., Millar, T. J., Small, D. H., and Chubb, I. W. (1986): Acetylcholinesterase generates enkephalin-like immunoreactivity when it degrades the soluble proteins (chromogranins) from adrenal chromaffin granules. *Brain Res.*, 376:230-238.
56. Small, D. H., Ismael, Z., and Chubb, I. W. (1987): Acetylcholinesterase exhibits trypsin-like and metalloexopeptidase-like activity in cleaving a model peptide. *Neuroscience*, Vol. 21, No. 3:991-995.
57. Millar, T. J., and Chubb, I. W. (1984): Treatment of sections of chick retina with acetylcholinesterase increases the enkephalin and substance P immunoreactivity. *Neuroscience* Vol. 12, No. 2:441-451.
58. Chubb, I. W., Hodgson, A. J., and White, G. H. (1980): Acetylcholinesterase hydrolyzes substance P. *Neuroscience*, 5:2065-2072.
59. Chubb, I. W., Ranieri, E., Hodgson, A. J., and White, G. H. (1982): The hydrolysis of leu- and met-enkephalin by acetylcholinesterase. *Neurosci. Lett. (Suppl.)*, 8:S39.
60. Greenfield, S. A., and Shaw, S. G. (1982): Release of acetylcholinesterase and aminopeptidase in vivo following infusion of amphetamine into the substantia nigra. *Neuroscience* 7, 2883-2893.
61. Chubb, I. W., Goodman, S., and Smith, A. D. (1976): Is acetylcholinesterase secreted from central neurons into the cerebrospinal fluid? *Neuroscience* 1:57-62.
62. Fuenmayor, L., Smith, A. D. and Vogt, M. (1976): Acetylcholinesterase in perfusates of the cat's cerebral ventricles. *J. Physiol., Lond.* 263:165.
63. Greenfield, S., Cheramy, A., Leviel, V., and Glowinski, J. (1980): In vivo release of acetylcholinesterase in cat substantia nigra and caudate nucleus. *Nature* 284:355-357.
64. Greenfield, S. A., Chubb, I. W. and Smith, A. D. (1979): The effect of chlorpromazine on the concentration of acetylcholinesterase in the cerebrospinal fluid of rabbits. *Neuropharmacology*, 18:127-132.

65. Fallon, J.H., Loughlin, S.E., Ribak, C.E. (1983): The islands of Calleja complex of rat basal forebrain. III. Histochemical evidence for a striatopallidal system. *J. Comp. Neurol.*, 218:91-120.
66. Johnston, J.B. (1922): Evolution of the forebrain. *J. Comp. Neurol.* 35.
67. Breathnach, A.S. (1953): The olfactory tubercle, prepyriform cortex and precommissural region of the porpoise (*Phocaena phocaena*). *J. Anat.*, 87, 96-113.
68. Obenchain, J.B. (1925): The brain of the South American marsupials, *Caenolestes* and *Orolestes*. *Field Mus. Nat. Hist.*, pub. 224, Zool. Ser., 14 :175-232.
69. Gurdjian, E.S. (1925): Olfactory connections in the albino rat, with special reference to the stria medullaris and the anterior commissure. *J. Comp. Neurol.*, 38, 127-163.
70. O'Leary, J.L. (1937): Structure of the primary olfactory cortex of the mouse. *J. Comp. Neurol.*, 67:1-31.
71. Hasoya, Y. (1973): Electron microscopic observations of the granule cells (Calleja's island) in the olfactory tubercle of rats. *Brain Res.*, 54, 330-334.
72. Creps, E.S. (1974): The time of neuron origin in preoptic and septal areas of the mouse: an autoradiographic study. *J. Comp. Neurol.*, 157, 161-243.
73. Salter, F.C. (1974): A morphological study of the medial olfactory areas of the telencephalon in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J. Hirnforsch.*, 15, 299-317.
74. Johnson, T.N. (1957): Studies on the brain of a guinea pig. I. The nuclear pattern of certain basal telencephalic centers. *J. Comp. Neurol.*, 107, 353-377.
75. Fox, C.A. (1940): Certain basal telencephalic centers in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 72, 1-62.
76. Lauer, E.W. (1945): Certain olfactory centers of the forebrain of the giant panda (*Ailuropoda Melandeuca*). *J. Comp. Neurol.*, 82, 313-341.
77. Snider, R.S., and Lee, J.C. (1961): *A Stereotaxic Atlas of the Rhesus Monkey Brain (Macaca mulatta)*. University of Chicago Press, Chicago.
78. Hill, J.M., Switzer, R.C. (1979): The relationship between the islands of Calleja and the striato-pallidal complex: A histochemical study. *Soc. Neurosci. Abstr.* 5, 72.
79. Fallon, J.H., Ribak (1980): Multiple neurotransmitter studies in the islands of Calleja complex of the basal forebrain. III. Connections, correlations and reservations. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 6, 114.
80. Goldschmidt, R.B., Heimer, L. (1980) The rat olfactory tubercle: Its connections and relation to the striato-pallidal system. *Soc. Neurosci. Abst.* 6, 271.
81. Isaacs, S., Fallon, J.H., Ribak, C.E. (1980): Multiple neurotransmitter studies in the islands of Calleja complex of the basal forebrain: I. Light microscopie. *Soc. Neurosci. Abstr.* 6, 114.
82. Newman, R., Winans, S.S. (1980): An experimental study of the ventral striatum of the golden hamster. II. Neuronal connections of the olfactory tubercle. *J. Comp. Neurol.*, 191, 193-212.

83. Richmann, L., Ribak, C.E., Isaacs, S., Houser, C., Fallon, J.H. (1980): Multiple neurotransmitter studies in the islands of Calleja complex of the basal forebrain. II. Electron microscopy. Soc. Neurosci. Abstr., 6, 114.
84. Milhouse, E., Heimer (1982): A Golgi study of the olfactory tubercle of the rat. Anat. Rec. 202, 130A.
85. Fallon, J.H., Riley, J.N., Sipe, J.C., Moore, R.Y. ((1978): The islands of Calleja: Organization and connections. J. Comp. Neurol., 181:375-396.
86. Ribak, C.E., Fallon, J.H. (1982): The islands of Calleja complex of the basal forebrain of the rat. I. Light and electron microscopic observations. J. Comp. Neurol. 205, 207-218.
87. Fallon, J.H., Moore, R.Y. (1978): Catecholamine innervation of the basal forebrain. III. Olfactory bulb, anterior olfactory nucleus, olfactory tubercle and piriform cortex. J. Comp. Neurol., 180, 533-544.
88. Scott, J.W. (1980): The organization of projections from the olfactory bulb to the piriform cortex and olfactory tubercle in the rat. J. Comp. Neurol., 194, 519-534.
89. VanHoesen, G.W., Mesulam, M.M., Haaxma, R. (1976): Temporal cortical projections to the olfactory tubercle in the rhesus monkey. Brain Res., 109, 375-381.
90. Fallon, J.H. (1983): The islands of Calleja complex of rat basal forebrain. II: Connections of medium and large sized cells. Brain Res. Bull., 10, 775-793.
91. Krieger, N.R., Megill, J.R., Sterling, P. (1983): Granule cells in the rat olfactory tubercle accumulate ^3H - γ -Aminobutyric acid. J. Comp. Neurol., 215, 465-471.
92. Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Levey, A.I., Wainer, B.H. (1984): Atlas of cholinergic neurons in the forebrain and upper brainstem of the macaque based on monoclonal choline acetyltransferase immunohistochemistry and acetylcholinesterase histochemistry. Neurosci., 12, 3, 669-686.
93. Pfaff, D., Keiner, M. (1973): Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. J. Comp. Neurol., 151, 121-158.
94. Muth, E.A., Crowley, W.R., Jacobowitz, D.M. (1980): Effect of gonadal hormones on luteinizing hormone in plasma and on choline acetyltransferase activity and acetylcholine levels in discrete nuclei of the rat brain. Neuroendocrinology, 30, 329-336.