

Aus dem Zentrum für Neurochirurgie der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Funktionelle Neurochirurgie und Stereotaxie  
Direktorin: Universitätsprofessorin Dr. med. V. Visser-Vandewalle

Rezeptorautoradiographische Analyse des medialen orbitofrontalen Kortex

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Magali Keil  
aus Ochtrup

promoviert am 17. August 2021

Aus dem Zentrum für Neurochirurgie der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Funktionelle Neurochirurgie und Stereotaxie  
Direktorin: Universitätsprofessorin Dr. med. V. Visser-Vandewalle

Rezeptorautoradiographische Analyse des medialen orbitofrontalen Kortex

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Magali Keil  
aus Ochtrup

promoviert am 17. August 2021

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln

2022

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachterin: Universitätsprofessorin Dr. med. V. Visser-Vandewalle

2. Gutachterin: Professorin Dr. rer. nat. H. Endepols

#### Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Eine Einführung in den Teil Material und Methoden durch Prof. Dr. med. Dr. med. h. c. Karl Zilles und PD Dr. rer. nat. Nicola Palomero-Gallagher vom Institut für Neurowissenschaften und Medizin (INM-1), Forschungszentrum Jülich.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

#### Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 24/2011) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den  
03. September 2019

Unterschrift:

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Autoradiographien wurden ohne meine Mitarbeit im C. u. O. Vogt-Institut für Hirnforschung der Universität Düsseldorf und im INM-1-Institut des Forschungszentrums Jülich durchgeführt.

Mein Dank gilt folgenden Personen, die mich während der Bearbeitung meiner Dissertation unterstützt haben:

Prof. Dr. Karl Zilles, der diese Arbeit engagiert und geduldig betreut hat.

PD Dr. Nicola Palomero-Gallagher, die viel Zeit und Mühe investiert hat, um jederzeit zur Stelle zu sein.

Prof. Dr. Veerle Visser-Vandewalle, die mich als Promovendin unterstützt hat.

Danken möchte ich ebenso Dr. Utako Barnikol, die den Grundstein für die Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Karl Zilles gelegt hat.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht und mich auf dem Weg begleitet haben.

Dieses Projekt wurde aus Mitteln des Forschungs- und Innovationsprogramms der Europäischen Union Horizon 2020 im Rahmen der Fördervereinbarung Nr. 785907 (HBP SGA2) finanziert.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	7
1.1	Entwicklung der modernen Hirnkartierung	7
1.1.1	Die frühen Anfänge der Hirnkartierung und ihre Grenzen	7
1.1.2	Objektive Analyseverfahren und Komparabilität moderner Hirnkarten	9
1.2	Der orbitofrontale Kortex	11
1.2.1	Die funktionelle Rolle des orbitofrontalen Kortex	11
1.2.2	Anatomie und funktionelle Konzepte zur Unterteilung des orbitofrontalen Kortex	12
1.2.3	Zytoarchitektur und Wahrscheinlichkeitskarten des medialen orbitofrontalen Kortex	15
1.3	Fragestellung	17
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	18
2.1	Gewebeaufbereitung	18
2.2	Inkubation mit radioaktiv markierten Liganden	19
2.3	Autoradiogramme, Digitalisierung und Visualisierung	22
2.4	Bestimmung mittlerer Rezeptordichten	23
2.5	Rezeptorfingerprints	27
2.6	Hierarchische Clusteranalyse und Multidimensionale Skalierung	27

<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	30
3.1	Mittlere Rezeptordichten und Rezeptorfingerprints	30
3.2	Vergleich mit anderen rezeptorautoradiographisch untersuchten Kortexarealen	35
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	39
4.1	Gradienten innerhalb von Fo1-Fo3 – Vergleich mit vorbeschriebenen Karten des medialen orbitofrontalen Kortex	39
4.2	Funktionelle Einordnung des medialen orbitofrontalen Kortex	43
4.3	Kritische Auseinandersetzung mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit – Ausschöpfen statistischer Testverfahren	45
4.4	Spiegeln post-mortem-Studien die Rezeptorverteilung in vivo wider?	46
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	47
<b>6</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	49
<b>7</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	50
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	51
<b>9</b>	<b>Lebenslauf</b>	62

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Entwicklung der modernen Hirnkartierung

### 1.1.1 Die frühen Anfänge der Hirnkartierung und ihre Grenzen

Seit mehr als einem Jahrhundert wurden viele verschiedene architektonische Karten der menschlichen Großhirnrinde publiziert. Diesen Bemühungen liegt das Ziel zu Grunde, das Gehirn als unvergleichbar komplexes Organ zu verstehen und dieses Verständnis medizinisch anzuwenden. Eine der ältesten und sicherlich am meisten genutzten Methoden, den Kortex in seiner Struktur zu untersuchen, ist die Beschreibung und Unterteilung anhand der Zytoarchitektur. Korbinian Brodmann veröffentlichte 1909 die Monographie „Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde“ und damit die bekannteste und noch bis heute am häufigsten verwendete Kartierung der Großhirnrinde. (13) Diese beschreibt basierend auf regionaler Verteilung, Form und Größe von Zellkörpern in den Korterschichten 43 unterscheidbare Areale. Dabei verwendete er in der Nomenklatur ein numerisches System von dorsal nach ventral, um Homologien zwischen Arealen verschiedener Säugetierarten benennen zu können. Darüber hinaus versuchte er in weiteren Arbeiten die Brücke zur Funktion der jeweiligen Areale zu schlagen, indem er beispielsweise seine Beobachtungen mit elektrophysiologischen Studien an Tieren in Einklang zu bringen versuchte. (15) Die fortwährende Aktualität seiner Arbeit ist unter anderem Talaraich und Tournoux zu verdanken, die 1988 basierend auf Brodmanns Karte einen stereotaktischen Atlas kreierten, welcher die Lokalisation im dreidimensionalen Raum ermöglichte. (99) Abgesehen von Brodmanns zytoarchitektonischer Kartierung gab es aber auch im frühen 20. Jahrhundert viele weitere Versuche, den Kortex in abgrenzbare Einheiten zu strukturieren. Schon vor Brodmann veröffentlichten Campbell 1905 und Smith 1907 entsprechende Karten. (17, 97) Während Campbell klinische, anatomische und physiologische Beobachtungen vereinte und damit vierzehn Areale bestimmte, erstellte Smith eine Karte mit rund 50 Arealen anhand der Myeloarchitektur. Auch Oskar Vogt, welcher den Begriff Myeloarchitektur erstmals etablierte, und seine Frau Cécile Vogt

bedienten sich dieser. (108) Sie hatten das langfristige Ziel, eine multimodale Karte zu entwickeln, die funktionelle Observationen aus Studien mit Affen und die zytoarchitektonischen Beobachtungen Brodmanns vereinen sollte. (106, 107) Von Economo und Koskinas nahmen gleichfalls Bezug auf Brodmann und entwickelten dessen zytoarchitektonische Beschreibung des Kortex weiter, indem sie die Zytoarchitektur nicht nur zur Einteilung nutzten, sondern auch eingehender beschrieben und klassifizierten. (26) Sie identifizierten mit über 100 Arealen deutlich mehr als Brodmann und entwickelten eine eigene Nomenklatur mit Buchstaben, die Lokalisation, dominierende Zytoarchitektur und etwaige Subareale spezifizierten.

Neben den oben genannten Wissenschaftlern gab es viele weitere, deren Ziel es war, die Großhirnrinde möglichst genau zu kartieren. (8, 82, 83, 86, 97) Die Anzahl der voneinander abweichenden Karten ist dementsprechend groß. Diese Abweichungen beziehen sich sowohl auf die Anzahl der beschriebenen Areale als auch auf deren Ausdehnung sowie topographische Lage und Beziehung zueinander. Abgesehen von der Tatsache, dass unterschiedliche Konzepte gewählt und miteinander verglichen wurden (z. B. Zyto- vs. Myeloarchitektur), ist eines der grundlegenden Probleme die beobachterabhängige Methode, mit der die Kartierungen vorgenommen wurden. Die Studien basierten meist auf einer rein visuellen Inspektion von Nissl- oder Myelin gefärbten histologischen Schnitten, wodurch die Festlegung interarealer Grenzen höchst subjektiv war. Darüber hinaus offenbarten sich weitere Probleme wie die zweidimensionale Darstellung anhand schematischer Zeichnungen. Auf diese Weise ist es nicht möglich, die Karten adäquat miteinander zu vergleichen, da Form und Größe einzelner Gyri sowie die Sulcuspuster variieren und dabei weder einem tatsächlichen Gehirn nachempfunden sind, noch einem statistisch definierten Durchschnittsgehirn entsprechen. Des Weiteren fehlen in diesen Darstellungen die Kortexanteile, die in den Sulci verschwinden. Hierzu gibt es beispielsweise in Brodmanns Monographie teilweise Ergänzungen im Text, in dem er etwa die Ausdehnung des primären auditorischen Kortex vom Gyrus temporalis superior bis in die Fissura lateralis beschreibt. (13) Durch die lückenhafte Darstellung gehen Informationen zu annähernd Zweidritteln der Kortexoberfläche verloren oder beruhen lediglich auf Vermutungen. (114) Dieses Problem tauchte insbesondere auch bei der bereits

erläuterten Überführung von Brodmanns Karte in ein dreidimensionales Referenzgehirn auf und erweckt den Eindruck, dass Sulci verlässliche anatomische Landmarken für die Lokalisierung von Arealgrenzen darstellen. Dieser Sachverhalt wurde jedoch bereits von den Vorreitern in Zweifel gezogen und durch zahlreiche Studien widerlegt. (3, 13, 36, 39, 108, 122)

Trotz der Nachteile und Ungenauigkeiten werden bis heute modifizierte Versionen der Karte nach Brodmann genutzt, um Informationen bildgebender Verfahren, welche die Konzepte zur Hirnkartierung revolutioniert haben, zu interpretieren. In Anbetracht der aufgezeigten Probleme ist es nicht verwunderlich, dass die entstandenen Karten nicht präzise genug sind, um dem hohen Differenzierungsgrad der funktionellen Bildgebung zu genügen und die daraus erhaltenen Informationen exakt abzubilden. (37, 81)

### 1.1.2 Objektive Analyseverfahren und Komparabilität

#### moderner Hirnkarten

Aus den in 1.1.1 erläuterten Schwierigkeiten und Grenzen ergeben sich klare Anforderungen an moderne Hirnkarten. Multimodale Ansätze sollten möglichst viele Informationen zusammentragen, um dem hohen Differenzierungsgrad des Kortex gerecht zu werden. Das Engagement in diesem Bereich der neurowissenschaftlichen Grundlagenforschung hat mit Einführung funktioneller Bildgebungsverfahren wie der Positronen-Emissions-Tomographie und funktionellen Magnetresonanztomographie in den 1980er und -90er Jahren zugenommen. Diese Techniken ermöglichen die in-vivo-Lokalisation neuronaler Aktivität und ersetzen das Studieren von Funktionen bestimmter Hirnareale allein anhand neurologischer Defizite nach Gehirnläsionen. [z. B. (54)]

Trotz dieser bahnbrechenden neuen Möglichkeiten sollten multimodale Ansätze ebenso mikrostrukturelle Analysen beinhalten. Erst die Korrelation solcher Analysen mit der Funktion definierter Areale kann zu einem tieferen Verständnis der Funktionsweise des menschlichen Gehirns führen. Die erhobenen Daten sollten hierbei beobachterunabhängig sein. Für eine objektive Untersuchung der Zytoarchitektur wurde beispielsweise der Grey Level Index als Parameter der

Volumenfraktion von Zellkörpern im Querschnitt des Kortex eingeführt. (90, 113) Das Identifizieren von Arealgrenzen an digitalisierten, zellkörpergefärbten Schnitten mithilfe eines Computer-Algorithmus ist dadurch exakter und deutlich reproduzierbarer als durch die visuelle Inspektion. (121) Die Areale von mehreren auf diese Weise untersuchten post-mortem-Gehirnen werden in einem nächsten Schritt dreidimensional rekonstruiert und räumlich normalisiert, um interindividuelle Unterschiede auszugleichen. (45) Hierfür werden die rekonstruierten Gehirne an das Referenzgehirn des Montreal Neurological Institute angepasst. (29, 30) Auf diese Weise entstehen Wahrscheinlichkeitskarten der Großhirnrinde, in denen die interindividuelle Variabilität berücksichtigt ist. Hierbei gibt jedes Voxel des Referenzgehirns den Grad der Überlappung der untersuchten Gehirne für das jeweilige Areal an. (89, 90, 91, 123) Zur überlappungsfreien Darstellung der Areale wird in sogenannten maximalen Wahrscheinlichkeitskarten für jedes Voxel das Areal ausgewählt, dessen Auftretenswahrscheinlichkeit am höchsten ist.

Abgesehen von der Entwicklung beobachterunabhängiger Analyseverfahren etablierter Konzepte wurden im Sinne des multimodalen Ansatzes auch histochemische und immunhistochemische Methoden weiterentwickelt. Dazu gehört die Kartierung des Kortex anhand der Verteilung von Neurotransmitterrezeptoren. (78, 106, 118, 119, 121, 123) Mittels Rezeptorautoradiographie kann die regionale Verteilung der Rezeptoren untersucht werden. Bisherige Studien haben gezeigt, dass zyto- und myeloarchitektonisch definierte Arealgrenzen auch mit einer Änderung in der Rezeptorverteilung einhergehen und somit reproduzierbar sind. (119, 123) Dabei zeigt nicht jeder untersuchte Rezeptor jede bereits bekannte Grenze an. Vielmehr können verschiedene Rezeptortypen auch zusätzliche Grenzen offenbaren, welche mit den bisherigen Techniken nicht definiert werden konnten. Somit ist die Rezeptorautoradiographie eine vielversprechende Methode, um noch komplexere Muster in der Kortexarchitektur zu entdecken. (27, 33, 70) Darüber hinaus liefert sie wertvolle funktionelle Informationen, die in direkter Beziehung zur Zyto- und Myeloarchitektur stehen [s. 4.2].

## 1.2 Der orbitofrontale Kortex

### 1.2.1 Die funktionelle Rolle des orbitofrontalen Kortex

Der orbitofrontale Kortex befindet sich oberhalb der Orbita an der ventralen Seite des Frontallappens. Er ist damit Teil des Präfrontalen Kortex, welcher zu den Assoziationskortexen gehört.

Bereits im 19. Jahrhundert wurden Hypothesen zur Funktion des orbitofrontalen Kortex aufgestellt. Ausschlaggebend hierfür war der Patient Phineas Gage, ein 25-jähriger Vorarbeiter einer amerikanischen Eisenbahngesellschaft, der 1848 im Zuge eines Arbeitsunfalls Hirnverletzungen im Bereich des orbitofrontalen Kortex erlitt. John Martyn Harlow, der Arzt, welcher Phineas Gage nach dem Unfall behandelte, verfasste eine Abhandlung über seinen Patienten und die Symptome, die infolge der Verletzung auftraten. (43) Harlow berichtet von einer schnellen körperlichen Genesung seines Patienten, die jedoch mit einer starken Veränderung seiner Persönlichkeit einherging. Während Gage vor seinem Unfall als ausgeglichen, höflich und strukturiert galt, wurde er danach als unbeständig, respektlos und impulsiv beschrieben. Darüber hinaus bemerkte man insbesondere auch seine unflexible Reaktionsweise sowie die Unfähigkeit, Pläne zu erstellen und diese in die Tat umzusetzen. (41)

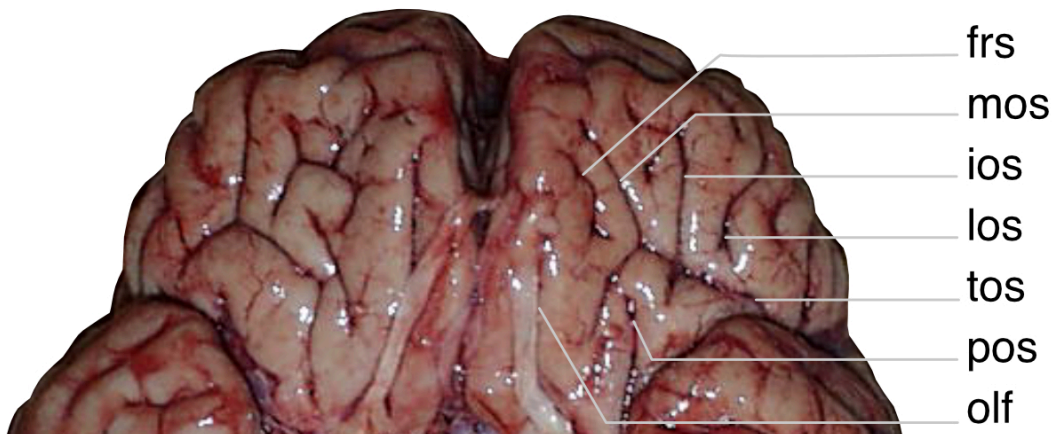
Auch in aktuellen Studien zeigt sich, dass Patienten mit Läsionen im Bereich des orbitofrontalen Kortex impulsiver handeln als gesunde Kontrollgruppen bzw. als Patienten mit Läsionen im Frontallappen, die sich nicht im Bereich des orbitofrontalen Kortex befinden. (10, 102) Der orbitofrontale Kortex scheint eine wichtige Rolle in höheren Lern- und Entscheidungsprozessen zu spielen. (22, 32, 49, 50, 95, 101) So konnte in Studien mit Aufgabenstellungen, die das Erlernen unterschiedlicher Reaktionen auf verschiedene Stimuli forderten, neuronale Aktivität im medialen orbitofrontalen Kortex nachgewiesen werden. (42, 93, 102, 111) Dabei scheint der orbitofrontale Kortex die Vorhersehbarkeit des Ergebnisses einer Reaktion unabhängig davon zu kodieren, ob das Ergebnis als positiv oder negativ bewertet wird. (66) Darüber hinaus lösen olfaktorische und gustatorische Stimuli Aktivität im orbitofrontalen Kortex aus. (6, 38, 57)

Diese Erkenntnisse lassen vermuten, dass auch bei psychischen Erkrankungen, die mit impulsivem Verhalten einhergehen, Veränderungen im Bereich des orbitofrontalen Kortex zu finden sind. Ein Beispiel hierfür sind Suchterkrankungen, bei denen diese Hypothese bestätigt werden konnte. (94, 96) Bildgebende Studien weisen darauf hin, dass der orbitofrontale Kortex und seine Verbindungen zu anderen Hirnarealen bei verschiedenen Aspekten des Drogenmissbrauchs eine Rolle spielen. (53, 62, 79, 110) Abgesehen von Suchterkrankungen findet man ebenso Auffälligkeiten bei anderen psychiatrischen Erkrankungen wie der Borderline-Persönlichkeitsstörung, Schizophrenie, depressiven Störungen oder Zwangsstörungen. (1, 53, 67, 73, 112)

### 1.2.2 Anatomie und funktionelle Konzepte zur Unterteilung des orbitofrontalen Kortex

Das Sulcus-Muster des orbitofrontalen Kortex zeigt eine große interindividuelle Variabilität. (21) Trotzdem gibt es eine gewisse Kontinuität bezüglich des Sulcus olfactorius, des Sulcus orbitalis medialis, Sulcus orbitalis lateralis und Sulcus orbitalis transversus, welche regelmäßig identifiziert werden können. (80) [s. Abb. 1]

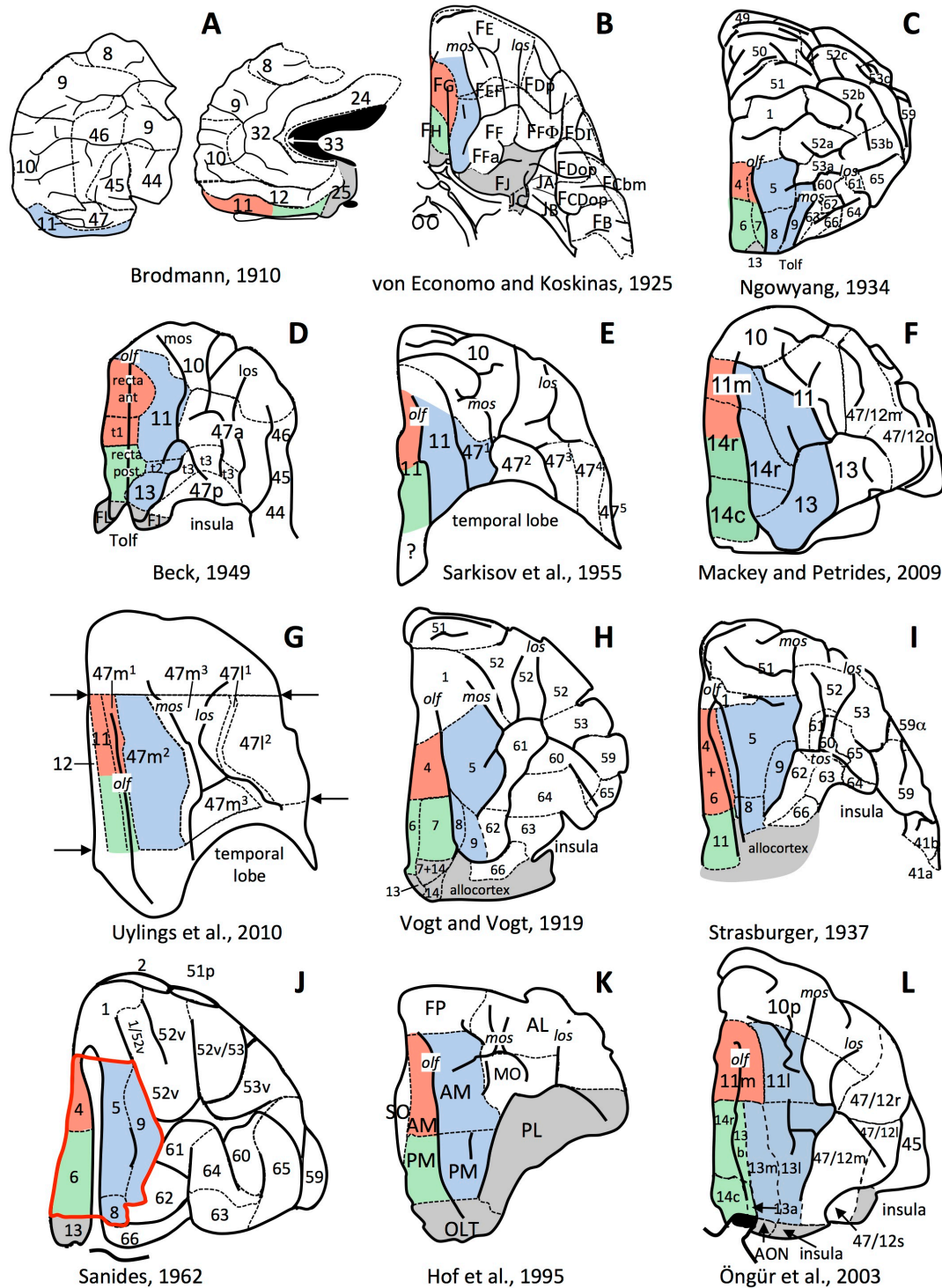
Brodmann unterteilte den gesamten ventralen Anteil des Frontallappens in drei Areale (13, 14) [s. Abb. 2 (45)]. Den bedeutendsten Anteil hat Area 11 (= Area präfrontalis), welche sich über den gesamten Gyrus orbitalis medialis und einen Teil des Gyrus rectus erstreckt. Begrenzt wird sie rostral durch den Sulcus frontomarginalis, medial durch den Sulcus rostralis inferior und lateral durch den Sulcus orbitalis medialis. Lateral davon schließt sich der mediale Anteil von Area 47 (= Area orbitalis lateralis) an, deren laterale Ausdehnung bis auf die Pars orbitalis des Gyrus frontalis inferior auf der lateralen Hirnoberfläche reicht. Im rostralen Bereich der Ventralfläche des Frontallappens ist ein kleiner Anteil der Area 10 (= Area frontopolaris) lokalisiert.



**Abb. 1** Sulcismuster des orbitofrontalen Cortex. Ventralansicht. **frs** Sulcus fragmentosus, **ios** Sulcus orbitalis intermedius, **los** Sulcus orbitalis lateralis, **mos** Sulcus orbitalis medialis, **olf** Sulcus olfactorius, **pos** Sulcus orbitalis posterior, **tos** Sulcus orbitalis transversus.

Nach Brodmann haben weitere Autoren den orbitofrontalen Kortex ebenfalls allein auf der Zytoarchitektur basierend untersucht. [s. Abb. 2] (9, 26, 63, 71, 88, 105) Diese Karten sind jedoch deutlich detailreicher als die von Brodmann. Von Economo und Koskinas beispielsweise präparierten jeden Gyrus und Sulcus senkrecht zu seiner Achse, um der Dreidimensionalität des gewundenen Kortex gerecht zu werden. (103) Mackey und Petrides hingegen bedienten sich bald ein Jahrhundert später bereits einer beobachterunabhängigen Methode mittels oben erläuterten Dichteprofile. Auch Uylings et al. nutzten den technischen Fortschritt und fertigten vor Präparation der untersuchten post-mortem Gehirne MRT-Aufnahmen an, auf die die Gewebeschnitte mit zytoarchitektonisch definierten Grenzen projiziert wurden. Andere Autoren stützten sich auf die Myeloarchitektur oder eine Kombination myelo- und zytoarchitektonischer bzw. zyto- und immunhistochemischer Studien. (48, 74, 87, 98, 108)

Eine Übereinstimmung dieser Karten ist die Einteilung in einen medialen und einen lateralen orbitofrontalen Kortex. Dabei scheint der Sulcus orbitalis medialis als zuverlässige Landmarke die Grenze zwischen beiden Regionen zu markieren. Diese Einteilung wird auch durch funktionelle Bildgebungsstudien gestützt, welche den medialen Anteil bei erwarteter Belohnung bzw. den lateralen bei erwarteter Strafe involviert sehen. (58, 72)



**Abb. 2** Veröffentlichte Karten des orbitofrontalen Kortex mit mutmaßlichen Homologien mit Area Fo1, Fo2 und Fo3 von Henssen et al. (45) Die Abbildung ist der zitierten Quelle entnommen. Die arabischen Zahlen in A, D, E und G entsprechen der Brodmann'schen Nomenklatur oder einer Anlehnung (14); die in C und J-L beziehen sich auf die Nomenklatur von Vogt und Vogt. (107) Die Pfeile in G kennzeichnen das in der Publikation erforschte Areal. Mögliche Homologien mit den Areas der zitierten Publikation werden farblich dargestellt (Fo1 rot, Fo2 grün und Fo3 blau), ebenso der Übergang zwischen Iso- und Alloccortex (grau). **AON** Anteriorer nucleus olfactorius, **los** Sulcus orbitalis lateralis, **mos** Sulcus orbitalis medialis, **olf** Sulcus olfactorius, **Tolf** Tuberculum olfactorius.

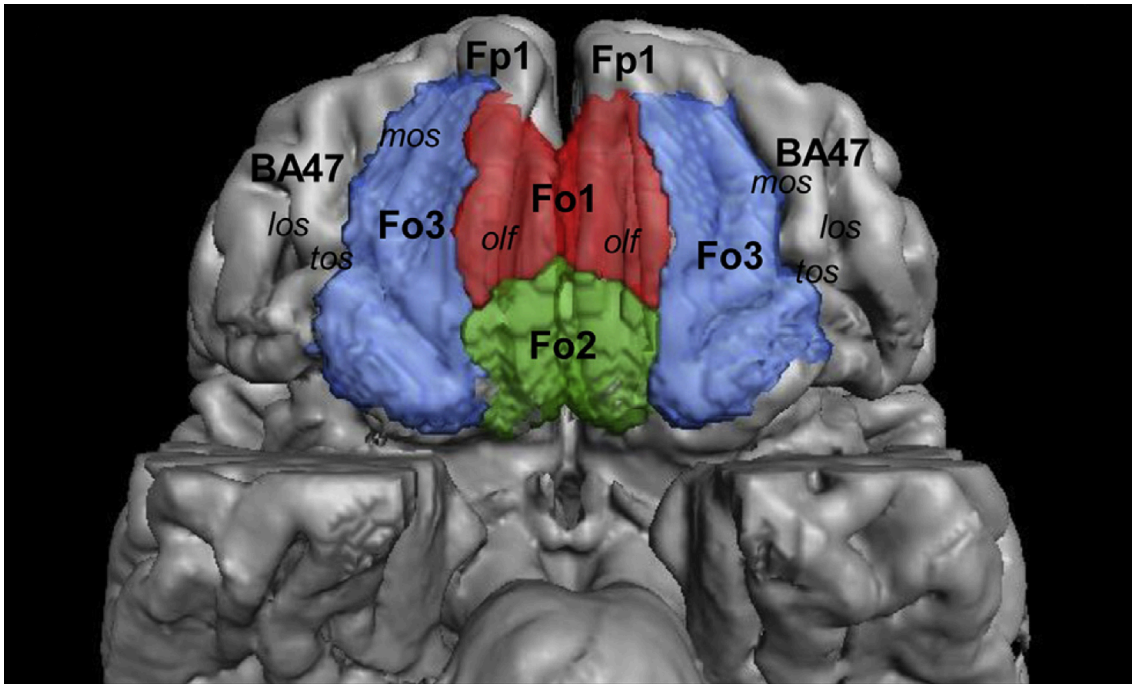
Auch in einer Studie zur Konnektivität des orbitofrontalen Kortex mit dem Hypothalamus konnte eine entsprechende Unterteilung in einen lateralen und einen medialen Teil gezeigt werden. (47)

Eine Metaanalyse funktioneller Bildgebungsstudien ergab nicht nur die Unterteilung in medial und lateral, sondern auch in einen anterioren und einen posterioren Anteil. (59) Letzteres scheint einer hierarchischen Verarbeitung zu entsprechen, bei der einfache Verstärker im posterioren und abstraktere, subjektive Verstärker im anterioren orbitofrontalen Kortex verarbeitet werden. Eine andere Studie wiederum schlägt eine Einteilung in einen zentralen und einen inferiolateralen orbitofrontalen Kortex vor, bei der die Bewertung des Stimulus keine Rolle spielt. (79) In dieser neurophysiologischen Studie mit Rhesusaffen wiesen die Ergebnisse darauf hin, dass diese beiden Areale Informationen zur Wertigkeit eines Stimulus aus unterschiedlichen Quellen verarbeiten.

### 1.2.3 Zytoarchitektur und Wahrscheinlichkeitskarten des medialen orbitofrontalen Kortex

Die in 1.2.2 beschriebenen Karten des orbitofrontalen Kortex stellen rein schematische, zweidimensionale Zeichnungen dar, die die interindividuelle Variabilität unberücksichtigt lassen und den Vergleich bzw. das Zusammenführen mit Informationen funktioneller Bildgebung erschweren. Darüber hinaus wurden meist beobachterabhängige Methoden, oftmals die rein visuelle Inspektion histologischer Schnitte, genutzt. Dementsprechend unterscheiden sie sich deutlich in der Zahl der definierten Areale und deren Größe und Lage zueinander. Aus diesem Grund führten Henssen et al. eine beobachterunabhängige zytoarchitektonische Analyse wie in 1.1.2 erläutert durch, um Wahrscheinlichkeitskarten des medialen orbitofrontalen Kortex zu erstellen. (45) Henssen et al. definierten hierbei drei zytoarchitektonisch voneinander abgrenzbare Areale, die als Fo1, Fo2 und Fo3 bezeichnet wurden. [s. Abb. 3 (45)] Fo1 befindet sich auf dem Gyrus rectus sowie im Sulcus olfactorius und grenzt rostral an die Areale Fp1 und Fp2, welche im Großen und Ganzen einer Unterteilung der Brodmann Area frontopolaris in einen lateralen (Fp1) und einen

medialen (Fp2) Teil entspricht. (11) Posterior endet Fo1 in etwa auf Höhe des Sulcus orbitalis transversus und grenzt an Fo2. Die mediale Begrenzung wird rostral durch Fp1, Fp2 sowie im Wesentlichen durch Brodmann Area 12 und weiter posterior durch Area s32 des anterioren cingulären Kortex definiert. (75) Lateral schließt sich Fo3 an.



**Abb. 3** Maximale Wahrscheinlichkeitskarten der von Henssen et al. definierten Areas Fo1, Fo2 und Fo3 innerhalb des medialen orbitofrontalen Kortex. (45) Das Bild zeigt den Ausschnitt einer Abbildung der zitierten Quelle. **Fp1** Area frontopolaris (11), **BA47** Brodmann Area 47. In kursiv: **los** Sulcus orbitalis lateralis, **mos** Sulcus orbitalis medialis, **olf** Sulcus olfactorius, **tos** Sulcus orbitalis transversus.

Fo2 liegt äquivalent zu Fo1 auf dem Gyrus rectus sowie im Sulcus olfactorius und erstreckt sich von seiner rostralen Begrenzung durch Fo1 bis zum olfaktorischen Kortex. Es grenzt medial ebenso an die Area s32 sowie lateral an Fo3.

Fo3 belegt einen Großteil des Gyrus orbitalis medialis und reicht von der medialen Grenze mit Fo1 und Fo2 bis zum gleichnamigen Sulcus orbitalis medialis, an den sich der laterale orbitofrontale Kortex anschließt. Rostral wird Fo3 begrenzt durch die Frontopolarregion, caudal schließt sich der anteriore Inselkortex an. Im Gegensatz zu der sehr konstanten Anordnung von Gyrus rectus und Sulcus olfactorius in individuellen Hirnhemisphären, finden sich in der räumlichen

Beziehung zwischen Sulcus olfactorius und Sulcus orbitalis medialis deutliche interindividuelle Unterschiede. Aus diesem Grund ist die räumliche Ausdehnung von Fo3 signifikant variabler als die von Fo1 und Fo2.

Die zytoarchitektonische Abgrenzung dieser drei Areale des medialen orbitofrontalen Kortex wurde als Grundlage der in dieser Arbeit durchgeführten rezeptorautoradiographischen Analyse genutzt (s. Kapitel 2.4).

### **1.3 Fragestellung**

Vor dem Hintergrund der hohen Anforderungen an multimodale Atlanten des Gehirns dient diese Arbeit dazu, einen Beitrag zur neurochemischen und funktionell-anatomischen Charakterisierung des Kortex zu leisten. Hierfür soll der mediale orbitofrontale Kortex auf seine Rezeptorarchitektur hin untersucht werden. Folgende Fragen werden hierbei bearbeitet:

1. Wie ist die mittels autoradiographischer Analyse ermittelte Rezeptorarchitektur des medialen orbitofrontalen Kortex charakterisiert?
2. Spiegelt die Rezeptorarchitektur die zytoarchitektonische Trennung des medialen orbitofrontalen Kortex in drei Areale wie in 1.2.3 beschrieben wider?
3. Kann der mediale orbitofrontale Kortex rezeptorautoradiographisch in weitere Subareale unterteilt werden?
4. Ähneln die Rezeptorarchitektur des medialen orbitofrontalen Kortex der anderer (frontaler) Assoziationskortex?

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Gewebeaufbereitung

Vier menschliche Hemisphären, drei linke und eine rechte, von drei post-mortem Gehirnen wurden rezeptorautoradiografisch untersucht. Hierbei handelte es sich um ein weibliches und zwei männliche Gehirne, welche aus dem Körperspender-Programm des Anatomischen Instituts der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf stammen. [s. Tab. 1] Neurologische oder psychiatrische Erkrankungen der Spender waren nicht bekannt. Aufgrund der möglichen, in unterschiedlichen Studien nachgewiesenen veränderten Expression und Affinität von Neurotransmitterrezeptoren bei neuropsychiatrischen Erkrankungen, stellt dies für die anschließende Untersuchung eine wichtige Grundlage dar. (23, 24, 40, 64) Ein weiterer bedeutender Faktor ist die post-mortem Zeit, die hier zwischen zwölf und sechzehn Stunden lag. (16, 55, 98) Hirnstamm und Kleinhirn wurden nach Entnahme der Gehirne aus dem Schädel entfernt. Außerdem wurden die Großhirnhemisphären durch Durchtrennung des Balkens getrennt.

Gehirn	Hemisphäre	Geschlecht	Alter	Todesursache	post-mortem-Zeit
1	links	männlich	78	Multiorganversagen bei Pneumonie mit Sepsis	12 Std.
2	links	weiblich	75	Plötzlicher Herztod	16 Std.
3	links/rechts	männlich	79	Herzstillstand	12 Std.

**Tab. 1** Übersicht über die untersuchten Gehirne bzw. Hemisphären.

Die Hemisphären wurden koronar in fünf bzw. sechs 2-3 cm große Scheiben geteilt, zunächst in Isopentan schockgefroren und dann luftdicht bei  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Auf eine Gewebefixierung musste zu Gunsten einer unveränderten Rezeptorstruktur und -affinität verzichtet werden. (46, 85) Am Abend vor der weiteren Verarbeitung wurden die Scheiben bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  zwischengelagert.

Die Schnittserien wurden mit Hilfe eines Großschnitt-Kryostat-Mikrotoms (PolyCryocut, Reichert-Jung/Leica, Wien, Österreich) bei ebenfalls ca.  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  angefertigt, auf vorgekühlte, mit Gelatine beschichtete Objektträger aufgebracht und mit kalter Luft vorgetrocknet. Die Schnittdicke betrug  $20\text{ }\mu\text{m}$ . Danach lagerten die Schnitte zur weiteren Trocknung über Nacht in mit Trockenperlen gefüllten luftdichten Behältern.

## 2.2 Inkubation mit radioaktiv markierten Liganden

Vor der weiteren Verarbeitung wurden die Schnittserien in Gruppen bzw. Schnittebenen eingeteilt. Ziel war es, konsekutive Schnitte einer Ebene jeweils mit einem anderen Radioliganden bzw. einem Radioliganden und einem Kompetitor zur Ermittlung der spezifischen Bindungsstellen (s.u.) zu inkubieren. Die Liganden waren mit Tritium, einem betastrahlenden Isotop des Wasserstoffs, markiert. Insgesamt wurden 15 Rezeptoren verschiedener Neurotransmittersysteme autoradiographisch untersucht. [s. Tab. 2]

Vier Glutamat-Rezeptoren (AMPA, NMDA, Kainat und mGluR2/3) wurden mit [ $^3\text{H}$ ]-AMPA, [ $^3\text{H}$ ]-MK-801, [ $^3\text{H}$ ]-Kainat und [ $^3\text{H}$ ]-Ly 341495 markiert. Ferner wurden GABAerge Rezeptoren ( $\text{GABA}_A$ ,  $\text{GABA}_B$  und die  $\text{GABA}_A$ -assoziierte Benzodiazepin-Bindungsstelle) mit [ $^3\text{H}$ ]-Muscimol, [ $^3\text{H}$ ]-CGP-54626 und [ $^3\text{H}$ ]-Flumazenil sowie cholinerge Rezeptoren ( $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ) mit [ $^3\text{H}$ ]-Pirenzepin, [ $^3\text{H}$ ]-Oxotremorin und [ $^3\text{H}$ ]-4-DAMP markiert. Darüber hinaus wurden adrenerge Rezeptoren ( $\alpha_1$  und  $\alpha_2$ ) mit [ $^3\text{H}$ ]-Prazosin und [ $^3\text{H}$ ]-RX-821002, serotonerge Rezeptoren ( $5\text{-HT}_{1A}$  und  $5\text{-HT}_2$ ) mit [ $^3\text{H}$ ]-8-OH-DPAT und [ $^3\text{H}$ ]-Ketanserin sowie der Adenosinrezeptor  $A_1$  mit [ $^3\text{H}$ ]-DPCPX markiert. Die Schnitte wurden hierfür zunächst im entsprechend auch in der Hauptinkubation genutzten Puffer vorinkubiert, um sie zu rehydrieren und die Bindungsstellen für die Radioliganden von endogenen Substanzen zu befreien. Das Procedere verlief für jeden Rezeptor nach einem standardisierten Protokoll. (118, 119, 123) [s. Tab 2] In der Hauptinkubation wurden die Schnitte mit den Radioliganden inkubiert. Hierbei musste berücksichtigt werden, dass die Tritium-markierten Liganden nicht nur an die gewünschten spezifischen Bindungsstellen, sondern auch an unspezifische

Bindungsstellen binden, welche im weiteren Verlauf im Autoradiogramm auftauchen würden. Um den Grad dieser unspezifischen Bindungen messen zu können, wurden zuvor in drei Gruppen bzw. Schnittebenen pro Hirnscheibe doppelt so viele Schnitte wie Rezeptoren, also insgesamt 30 Schnitte, angefertigt. Hier wurden für jeden Rezeptor die jeweils nachfolgenden Schnitte zusätzlich zu dem Tritium-markierten Liganden und einem für die Bindungsstellen des jeweiligen Rezeptors hochaffinen Kompetitor versetzt. Dieser Kompetitor war in der Inkubationslösung in 1.000- bis 10.000-facher Konzentration vorhanden, um das Bindungsgleichgewicht Richtung Kompetitor zu verschieben. In diesen Schnitten markierten die Tritium-markierten Liganden also nur die unspezifischen Bindungsstellen. Da der Anteil der unspezifischen Bindungen in allen Fällen unabhängig vom Rezeptortyp weniger als 10 % der Gesamtbindungen betrug, wurden die Werte der Gesamtbindung als geschätzte Werte der spezifischen Bindungen akzeptiert. Nach der Hauptinkubation wurden die Schnitte, ebenfalls nach Rezeptor-spezifischem Protokoll, zunächst mit Puffer, danach mit destilliertem Wasser gewaschen, um ungebundene Liganden sowie Puffersalze zu entfernen. Die mit [<sup>3</sup>H]-AMPA sowie [<sup>3</sup>H]-Kainat inkubierten Schnitte wurden anschließend zusätzlich mittels einer Acetonlösung mit 2,5 % Glutaraldehyd fixiert. Die Schnitte wurden danach unter kaltem Luftstrom getrocknet. Schnitte zur Untersuchung der Kainat-Rezeptoren sowie die mit [<sup>3</sup>H]-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthin markierten Schnitte zur Untersuchung des A<sub>1</sub>-Rezeptors wurden unter warmer, gefolgt von kalter Luft bzw. nur unter warmem Luftstrom getrocknet.

System	Rezeptor	Ligand	Pharmakologie	Kompetitor	Inkubationspuffer	Vorinkubation	Hauptinkubation	Waschvorgang
Glutamaterg	AMPA	<sup>3</sup> H]-AMPA (10 nM)	Agonist	Quisqualat (10 µM)	50 mM Tris-Acetat (+ 100 mM KSCN) <sup>2</sup>	3 x 10 Min. (4°C)	45 min (4°C)	4 x 4 Sek. (4°C) <sup>1</sup> + 2 x 2 Sek. in 100 ml Aceton + 2,5 ml Glutaraldehyd (22°C)
		<sup>3</sup> H]-MK-801 (3,3 nM)	Antagonist	(+ )MK 801 (100 µM)	50 mM Tris-Acetat + 50 µM Glutamat (+ 30 µM Glycin + 50 µM Spermidin) <sup>2</sup>	15 Min. (4°C)	60 min (22°C)	2 x 5 min (4°C) <sup>1</sup> + Eintauchen in Aquadest (22°C) (E.i.A.)
GABAerg	Kainat	<sup>3</sup> H]-Kainat (9,4 nM)	Agonist	SYM-2081 (100 µM)	50 mM Tris-Acetat (+ 10 mM Ca <sup>2+</sup> , Acetat) <sup>2</sup>	3 x 10 Min. (4°C)	45 Min. (4°C)	3 x 4 Sek. (4°C) <sup>1</sup> + 2 x 2 Sek. in 100 ml Aceton + 2,5 ml Glutaraldehyd (22°C)
		<sup>3</sup> H]-Ly 341495 (1,0 nM)	Antagonist	L-Glutamat (1 mM)	10 mM Phosphat-puffer (+ 100 mM KBr) <sup>2</sup>	2 x 5 Min. (22°C)	60 Min. (4°C)	2 x 5 Min. <sup>1</sup> + E.i.A.
Cholinerg	M <sub>1</sub>	<sup>3</sup> H]-Muscimol (7,7 nM)	Agonist	GABA (10 µM)	50 mM Tris-Citrat	3 x 5 Min. (4°C)	40 Min. (4°C)	3 x 3 Sek. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
		<sup>3</sup> H]-CGP-54626 (2,0 nM)	Antagonist	CGP-55845 (100 µM)	50 mM Tris-HCl + 2,5 mM CaCl <sub>2</sub>	3 x 5 Min. (4°C)	60 Min. (4°C)	3 x 2 Sek. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
Noradrenerg	α <sub>1</sub>	<sup>3</sup> H]-Flumazenil (1,0 nM)	Antagonist	Clonazepam (2 µM)	170 mM Tris-HCl	15 Min. (4°C)	60 Min. (4°C)	2 x 1 Min. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
		<sup>3</sup> H]-Pirenzepin (1,0 nM)	Antagonist	Pirenzepin (2 µM)	Modifizierter Krebs buffer	15 Min. (4°C)	60 Min. (4°C)	2 x 1 Min. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
Adenosin	A <sub>1</sub>	<sup>3</sup> H]-Oxotremorin (1,7 nM)	Agonist	Carbachol (10 µM)	20 mM HEPES-Tris + 10 mM MgCl <sub>2</sub> + 300 nM Pirenzepin	20 Min. (22°C)	60 Min. (22°C)	2 x 2 Min. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
		<sup>3</sup> H]-4-DAMP (1,0 nM)	Antagonist	Atropinsulfat (10 µM)	50 mM Tris-HCl + 0,1 mM PSMF + 1 mM EDTA	15 Min. (22°C)	45 Min. (22°C)	2 x 5 Min. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
Serotonerg	5-HT <sub>1A</sub>	<sup>3</sup> H]-Prazosin (0,2 nM)	Antagonist	Phentolamin Mesylat (10 µM)	50 mM Na/K-Phosphat Puffer	15 Min. (22°C)	60 Min. (22°C)	2 x 5 Min. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
		<sup>3</sup> H]-RX-821002 (1,4 nM)	Antagonist	Phentolamin Mesylat (10 µM)	50 mM Tris-HCl + 100 µM MnCl <sub>2</sub>	15 Min. (22°C)	90 Min. (22°C)	5 Min. (4°C) <sup>1</sup> + E.i.A.
Adenosin	A <sub>1</sub>	<sup>3</sup> H]-8-OH-DPAT (1,0 nM)	Agonist	5-Hydroxytryptamin (1 µM)	170 mM Tris-HCl (+ 4 mM CaCl <sub>2</sub> + 0,01 % Ascorbat) <sup>2</sup>	30 Min. (22°C)	60 Min. (22°C)	5 Min. (4°C) <sup>1</sup> + 3 x E.i.A.
		<sup>3</sup> H]-Ketanserin (1,14 nM)	Antagonist	Mianserin (10 µM)	170 mM Tris-HCl	30 Min. (22°C)	120 Min. (22°C)	2 x 10 Min. (4°C) <sup>1</sup> + 3 x E.i.A.
Adenosin	A <sub>1</sub>	<sup>3</sup> H]-DPCPX (1,0 nM)	Antagonist	R-PIA (100 µM)	170 mM Tris-HCl + 2 U/l Adenosin-Desaminase (+ 100 µM Gpp(NH)pp) <sup>3</sup>	15 Min. (4°C)	120 Min. (22°C)	2 x 5 Min. (4°C) <sup>1</sup>

<sup>1</sup> 1 min Inkubationspuffer, <sup>2</sup> nur während Hauptinkubation, <sup>3</sup> nur während des Waschvorgangs

Tab. 2 Inkubationsprotokoll mit Übersicht der verwendeten Radioliganden.

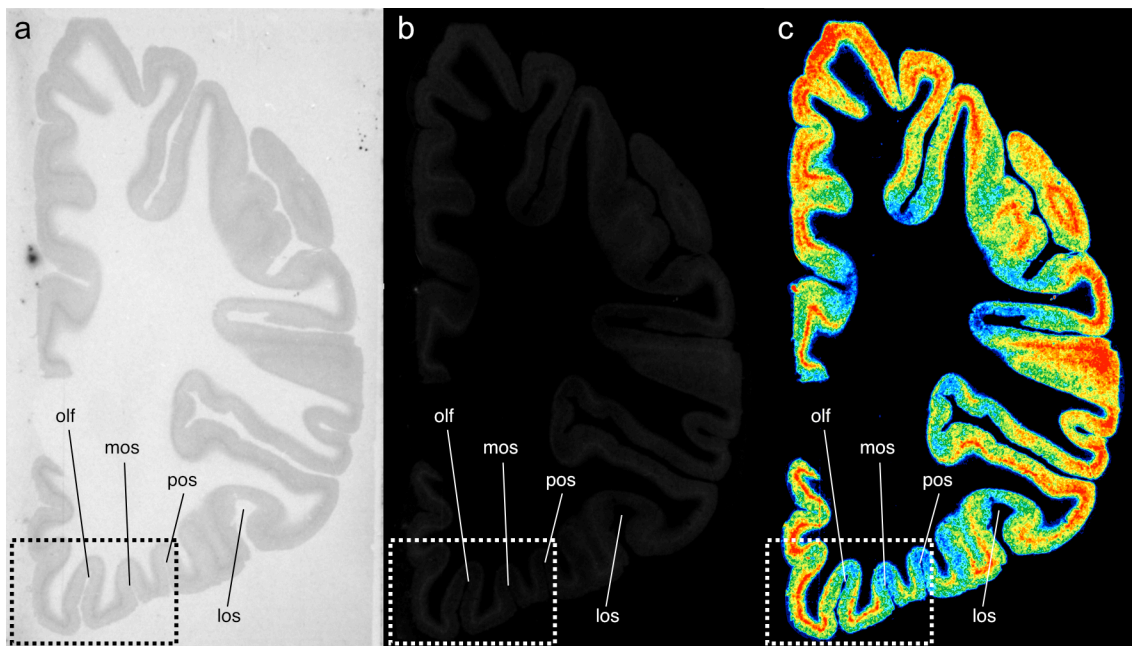
## 2.3 Autoradiogramme, Digitalisierung und Visualisierung

Die Schnitte wurden bei 4°C auf  $\beta$ -strahlungssensitiven Filmen (Hyperfilm, Amersham) abhängig vom verwendeten Liganden zwischen 10 und 12 Wochen exponiert, um ausreichend hohe Grauwerte für die zur Digitalisierung genutzte CCD-Kamera (s.u.) zu erzielen. Hierbei wurden außerdem Eichstandards mit bekannter Radioaktivität exponiert. Nach Entwicklung, Fixierung und Trocknung der Filme mussten diese für die Auswertung zunächst mit Hilfe der an eine CCD-Kamera (Sony/Tokyo) gekoppelten High-End Bildanalyse-Software KS400® (Zeiss, Deutschland) digitalisiert werden. (121, 123) Die Grauwerte auf den Autoradiogrammen sind ein Maß für die Radioaktivität: je grauer, desto höhere Radioaktivität und somit auch Rezeptordichte. [s. Abb. 4a] Allerdings verhalten sich Grauwerte und Radioaktivität (C) nicht linear, sodass die Eichstandards zur Erstellung einer nicht-linearen Transformationskurve genutzt wurden, durch die die radioaktive Konzentration in fmol/g Protein aus den Grauwerten eines jeden Pixels berechnet werden konnte. Die Konzentration wurde gleichzeitig mit Rücksicht auf die spezifische Aktivität und die Dissoziationskonstante der Liganden korrigiert:

$$C = \frac{R}{E} \times \frac{1}{B} \times \frac{1}{W_p} \times \frac{1}{S_A} \times \frac{K_D + L}{L} \times 10^{12}$$

R ist hierbei die Radioaktivität eines Eichstandards, E die Leistung des Szintillationsdetektors, B die radioaktive Zerfallsrate,  $W_p$  das Proteingewicht eines Eichstandards,  $S_A$  die spezifische Aktivität des jeweiligen Liganden,  $K_D$  die Dissoziationskonstante des Liganden und L die freie Konzentration des Liganden während der Inkubation. In einem zweiten Schritt wurden die Autoradiogramme linearisiert, sodass die Grauwerte eine lineare Funktion der radioaktiven Konzentration darstellten. [s. Abb. 4b]

Unterschiede in den so entstanden Grauwerten sind für das menschliche Auge nicht ausreichend differenzierbar, sodass die Autoradiogramme für die visuelle Inspektion der regionalen und laminären Rezeptorverteilung linear kontrastverstärkt und in Spektralfarben pseudo-farbkodiert wurden. [s. Abb. 4c]

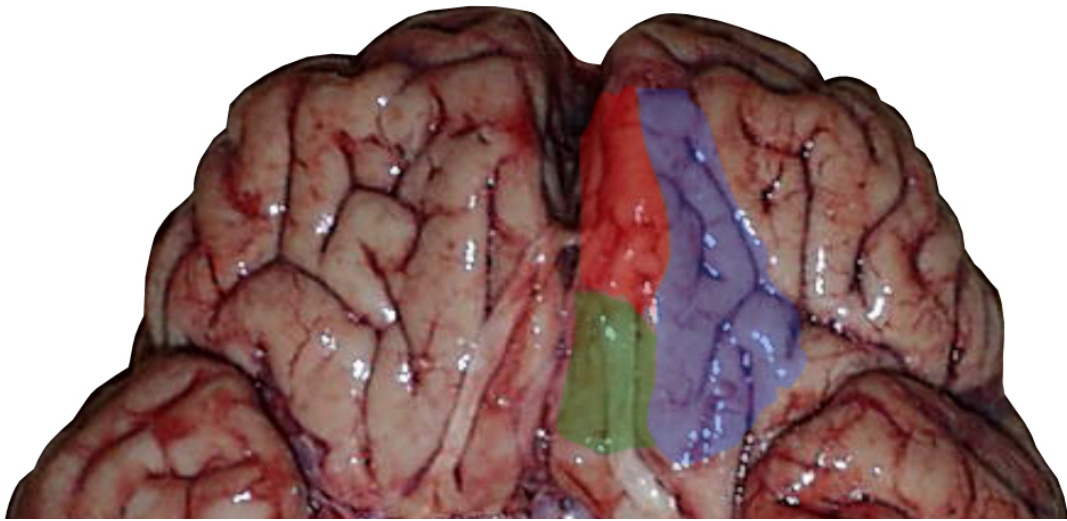


**Abb. 4** Beispielhaftes Autoradiogramm des mit [ $^3\text{H}$ ]-Oxotremorin markierten  $M_2$ -Rezeptors. a Unbearbeitetes Autoradiogramm. b Linearisiertes Autoradiogramm. c Pseudo-farbkodiertes Autoradiogramm. Die gestrichelte Umrandung kennzeichnet die untersuchte Region. **los** Sulcus orbitalis lateralis, **mos** Sulcus orbitalis medialis, **olf** Sulcus olfactorius, **pos** Sulcus orbitalis posterior.

## 2.4 Bestimmung mittlerer Rezeptordichten

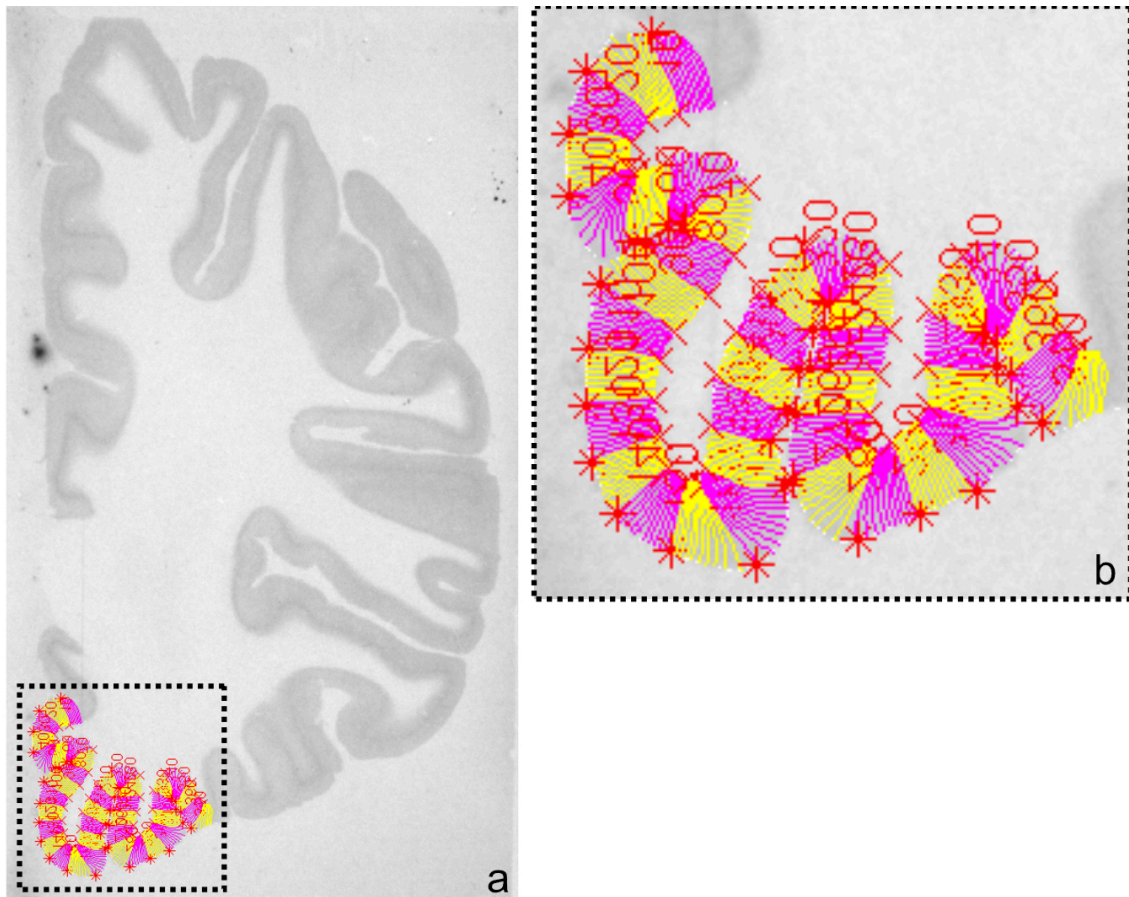
Zur rezeptorautoradiographischen Analyse wurden mittlere Rezeptordichten über die gesamte Kortexbreite berechnet. Als Grundlage zur Auswahl der Messstellen diente die von Henssen et al. bereits durchgeführte zytoarchitektonische Analyse des medialen orbitofrontalen Kortex. (45) Die im Rahmen jener Arbeit erstellte maximale Wahrscheinlichkeitskarte wurde auf die Basalansicht der vier zu untersuchenden Hemisphären projiziert. [s. Abb. 5] Dabei wurden makroskopische Landmarken zur Hilfe genommen, um die wahrscheinliche Lage und Ausdehnung der Areale Fo1, Fo2 und Fo3 zu bestimmen.

In einem nächsten Schritt wurden jeweils 3-5 konsekutive Schnittebenen im Bereich von Fo1 und Fo3 (weiter rostral) sowie von Fo2 und Fo3 (weiter kaudal) festgelegt, innerhalb derer Rezeptordichten für die verschiedenen Areale berechnet werden sollten. Es wurden also insgesamt rund doppelt so viele Schnittebenen für Fo3 festgelegt wie für Fo1 und Fo2, da sich Fo3 über die gesamte Länge des medialen orbitofrontalen Kortex lateral von Fo1 und Fo2 erstreckt.



**Abb. 5** Beispielhafte Projektion von Fo1, Fo2 und Fo3 nach Henssen et al. auf eine untersuchte Hirnhemisphäre. Rot kennzeichnet die Ausdehnung von Fo1, grün die von Fo2, blau die von Fo3.

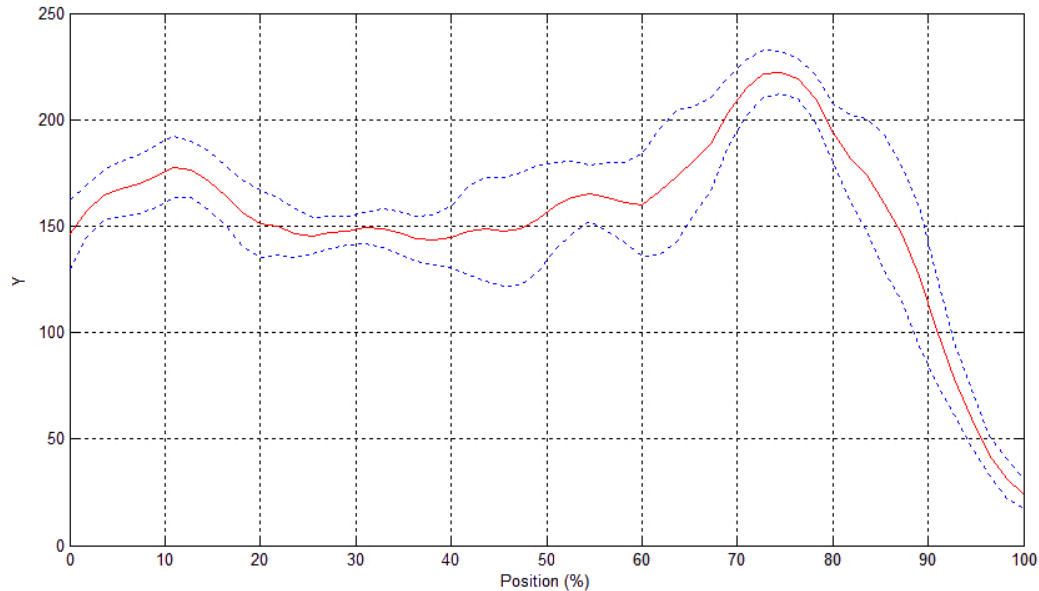
An den Autoradiogrammen dieser Schnittebenen wurden Konturlinien angelegt, um die Begrenzung des Kortex zu definieren. Die äußere Konturlinie definierte hierbei die piale Oberfläche, die innere die Mark-Rinden-Grenze. Zwischen diesen Konturlinien wurden in einem automatisierten Verfahren äquidistante Traversen erzeugt, die in einem 90°-Winkel zu den Konturlinien und somit senkrecht zu den kortikalen Schichten sowie möglichst parallel zu den kortikalen Zellsäulen verlaufen sollten. (5, 91, 92) [s. Abb. 6] Dieses automatisierte Verfahren beruht auf der Laplace-Gleichung und soll insbesondere im Bereich ungerade verlaufender Kortextbereiche verhindern, dass Traversen verschiedene kortikale Zellsäulen kreuzen und die Ergebnisse somit verfälscht werden. Differenzen in der Kortextdicke wurden durch lineare Interpolation ausgeglichen, sodass die Profile eine einheitliche Länge von 100 Bildpunkten aufwiesen.



**Abb. 6** Beispielhafte Ansicht nach Erzeugung äquidistanter Traversen. a Ansicht der gesamten Schnittebene. Die gestrichelte Umrandung kennzeichnet das untersuchte Areal. b Vergrößerung des untersuchten Areals.

Pro Areal und Hemisphäre wurden in den Schnittbildern mit angelegten Profilen repräsentative Stellen des Kortex ausgewählt, an denen aus 10 aufeinanderfolgenden Profilen ein mittleres Rezeptorprofil über die Kortexbreite berechnet und graphisch dargestellt wurde. [s. Abb. 7] Daraus konnte die mittlere Rezeptordichte in fmol/mg Protein (= Fläche unter der Kurve) von der pialen Oberfläche bis zur Mark-Rinden-Grenze extrahiert werden. Voraussetzungen der gewählten Messstellen waren vor allem ein orthogonaler Anschnitt im Zielbereich ohne Schneide- oder andere im Rahmen der Methode aufgetretene Artefakte. Im Bereich von Fo1 wurde in jedem analysierten Schnitt jeder Hemisphäre an folgenden Stellen gemessen: auf der Kuppe des Gyrus rectus medial des Sulcus olfactorius, folgend als Subareal Fo1a bezeichnet; in der medialen Wand des Sulcus olfactorius, folgend als Subareal Fo1b bezeichnet; in der lateralen Wand des Sulcus olfactorius, folgend als Subareal Fo1c bezeichnet.

Analog hierzu wurde in konsekutiven Schnitten weiter posterior für Fo2 gemessen und die Subareale entsprechend Fo2a, Fo2b und Fo2c benannt.



**Abb. 7** Beispielhaftes mittleres Rezeptorprofil für den mit [<sup>3</sup>H]-Oxotremorin markierten M<sub>2</sub>-Rezeptor in Area Fo1. Die x-Achse gibt die Position innerhalb des Kortex in Prozent an. 0 % ist hierbei die äußere Konturlinie (≈ piale Oberfläche) und 100 % die innere Konturlinie (≈ Mark-Rinden-Grenze). Die y-Achse gibt die Rezeptordichte in fmol/mg Protein an.

Aufgrund der geringen interindividuellen Variation in der Kortexanatomie in diesem Bereich konnten die Messstellen konstant gewählt werden. Da die Anordnung der Gyri und Sulci lateral des Sulcus olfactorius, demzufolge auch im Bereich von Fo3, deutlich mehr interindividuelle Unterschiede zeigt, konnten die Messstellen nicht mit der gleichen Einheitlichkeit definiert werden. Die Messstellen wurden hier folgendermaßen gewählt: auf dem Gyrus orbitalis medialis lateral des Sulcus olfactorius, folgend als Subareal Fo3a bezeichnet; auf dem Gyrus orbitalis medialis medial des Sulcus orbitalis medialis bzw. in der medialen oder lateralen Wand des Sulcus orbitalis medialis, folgend als Subareal Fo3b bezeichnet.

Aus den Messwerten der Schnittebenen pro Areal, Transmitterrezeptor und Hemisphäre wurden zunächst Mittelwerte pro Hemisphäre und nachfolgend Gesamtmittelwerte pro Subareal und Rezeptor mit Standardabweichung berechnet.

## 2.5 Rezeptorfingerprints

Die Rezeptorarchitektur der verschiedenen Areale wurde mittels sogenannter Fingerprints veranschaulicht. (vgl. Abb. 8) Dabei wurden pro untersuchtem Areal die über alle vier Hemisphären gemittelten mittleren Dichten in ein Polar-Koordinatensystem eingetragen und durch Linien miteinander verbunden. So entstand ein charakteristisches Vieleck, der Fingerprint. Die Form des Vielecks verbildlicht die relativen Unterschiede in der Dichte der einzelnen Rezeptoren, die Größe die Gesamtrezeptordichten. Diese analytische Methode wurde eingeführt, um die Komplexität der Rezeptorverteilung besser darstellen zu können. (121) Da hierfür ein einheitliches Koordinatensystem mit immer gleicher Reihenfolge in der Anordnung der verschiedenen Rezeptortypen verwendet wird, können die Fingerprints rezeptorautoradiographisch untersuchter Kortexareale in Form und Größe miteinander verglichen werden. Ähnlichkeiten von Fingerprints verschiedener Areale und damit Ähnlichkeiten in ihrer neurochemischen Organisation lassen so auf Gemeinsamkeiten in ihren funktionellen Charakteristika schließen.

## 2.6 Hierarchische Clusteranalyse und Multidimensionale Skalierung

Die Gesamtmittelwerte der mittleren Rezeptordichte der 15 untersuchten Rezeptoren in den beschriebenen Arealen des medialen orbitofrontalen Kortex wurden für eine hierarchische Clusteranalyse zum Vergleich mit anderen Arealen, die bereits rezeptorautoradiographisch analysiert wurden, genutzt. Hierfür wurde zunächst eine Normierung der Werte mittels z-Transformation aller in die Analyse eingehender Rezeptordichten vorgenommen. Die so entstandenen z-Werte wurden dann für jedes Areal zu einem 15-dimensionalen Vektor als Eingangsvariable für die Clusteranalyse zusammengefasst. Die z-Transformation (Z) stellt ein Hilfsmittel in der Statistik zur Standardisierung von Stichproben für eine bessere Vergleichbarkeit dar und wird folgendermaßen durchgeführt:

$$z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

Hierbei steht X für den jeweiligen Messwert, hier die mittlere Dichte von einem Rezeptor in einem Areal, sowie  $\mu$  für den arithmetischen Mittelwert, hier der Mittelwert des Rezeptors über alle Areale und  $\sigma$  für die entsprechende Standardabweichung. Auf diese Weise wurde erreicht, dass jeder Rezeptor, unabhängig von seiner jeweiligen Dichte, die gleiche Gewichtung auf den Vektor hatte. Verglichen wurden die Areale des medialen orbitofrontalen Kortex mit den frontopolaren Regionen Fp1 und Fp2, die der Unterteilung von Brodmann Area 10 in einen lateralen und medialen Anteil entsprechen (11); mit den Areas 1, 2 sowie 3a und 3b des primären somatosensorischen Kortex (35, 36, 39); dem primär motorischen Kortex (Area 4 nach Brodmann) (33); dem primären (Area 41), sekundären (Area 42) und tertiären Anteilen (im Bereich der Area 22 auf dem Gyrus temporalis superior) des auditorischen Kortex (68, 69, 70); mit dem Broca-Zentrum im Bereich von Area 44 und 45 nach Brodmann (3); den Areas 23, 24, 25, 31 und 32 im Bereich des funktionell zum limbischen System gehörenden Gyrus cinguli (13, 75, 77); sieben Arealen des inferioren Parietallappens (18, 19), die sich ungefähr im Bereich der von Brodmann beschriebenen Area 39 und 40 befinden; mit fünf Arealen des visuellen Kortex (2, 60, 86, 117) sowie weiteren acht Arealen des frontalen (Area 6, 8, 9, 46 und 47) und des temporalen (Area 20, 21 und 38) Kortex. (13) Für den Vergleich wurden euklidische Distanzen zwischen den Vektoren aller Areale berechnet, welche die Ähnlichkeit oder Unähnlichkeit der Areale in ihrer Rezeptorzusammensetzung wiedergaben. Die Areale wurden nach dem Ward-Linkage-Verfahren geclustert. Hierbei werden diejenigen Cluster zusammengeführt, welche die minimalste Erhöhung der Varianz im neuen Cluster erzeugen. Zur Visualisierung der hierarchischen Clusterung diente ein Dendogramm. (vgl. Abb. 11)

Darüber hinaus wurde mit den gleichen Arealen eine multidimensionale Skalierung durchgeführt - ebenfalls unter Nutzung der euklidischen Distanzen zwischen den Vektoren. Dabei wurden die Areale anhand der Vektoren in einem zweidimensionalen Graphen so angeordnet, dass die Distanzverhältnisse

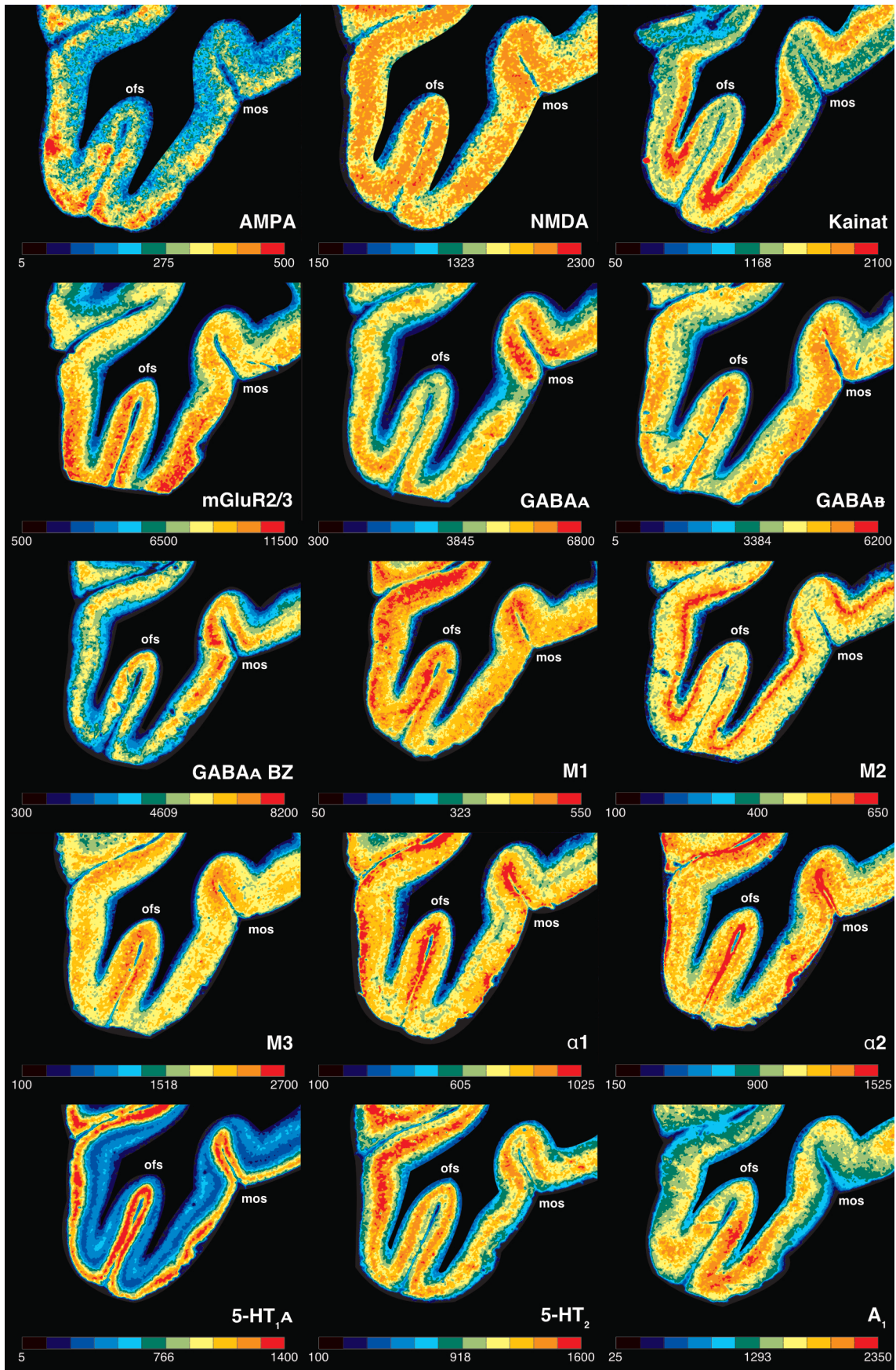
möglichst gut dargestellt und Ähnlichkeit bzw. Unähnlichkeit der Areale deutlich wurden. (vgl. Abb. 12)

## 3 ERGEBNISSE

### 3.1 Mittlere Rezeptordichten und Rezeptorfingerprints

Die durchgeführte Pseudo-Farbkodierung der einzelnen Schnitte ermöglichte die visuelle Inspektion der Rezeptorverteilung zur ersten Orientierung. [s. Abb. 8] Diese erlaubt unter anderem, die unterschiedliche laminäre Verteilung der einzelnen Rezeptoren nachzuvollziehen. Die meisten Rezeptortypen befinden sich in höherer Dichte in den supragranulären Schichten. Eine Ausnahme bildet hierbei der Kainat-Rezeptor, der in den infragranulären Schichten die höchste Dichte aufweist. Auch der  $M_2$ -Rezeptor findet sich nicht vorwiegend in den supragranulären Schichten, sondern bildet ein „Band“ mit der höchsten Rezeptordichte in näher zur Mark-Rinden-Grenze gelegenen Schichten. Änderungen im laminären Muster eines jeweiligen Rezeptors können dabei Arealgrenzen anzeigen.

Tabelle 3 zeigt die über den gesamten Kortex gemittelten Rezeptordichten mit Standardabweichung pro Areal und Rezeptor. Sie verdeutlicht die Unterschiede nicht nur in den gemessenen Absolutwerten eines Rezeptortypes in den verschiedenen Arealen, sondern insbesondere auch das Verhältnis der Rezeptordichten in einem Areal. Hierbei fällt auf, dass die Standardabweichung regelhaft hoch ist, die Absolutwerte der einzelnen Hemisphären eines Rezeptortyps in einem Areal also stark variieren.



**Abb. 8** Übersicht pseudo-farbkodierter Autoradiogramme aller Rezeptoren der gleichen Schnittebene. Kainat- und M<sub>2</sub>-Rezeptor stechen mit einer höheren Rezeptordichte in den tiefer gelegenen Schichten heraus. Die Farbskalen geben die Rezeptordichte in fmol/mg Protein an.

Areal	Statistik	AMPA	NMDA	Kainat	mGluR2/3	GABA <sub>A</sub>	GABA <sub>A</sub>	GABA <sub>B</sub>	GABA <sub>A</sub>	BZ	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	$\alpha_1$	$\alpha_2$	5-HT <sub>1A</sub>	5-HT <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>
Fo1a	M	416	1236	915	5699	2198	2996	3268	405	315	1013	543	798	475	597	970		
	SD	110	296	323	2171	1221	951	691	157	115	663	195	201	178	309	280		
Fo1b	M	411	1345	769	5130	2108	2988	3373	443	305	1095	566	978	656	627	947		
	SD	136	266	354	1771	1207	925	864	157	120	705	194	155	165	292	294		
Fo1c	M	385	1309	760	5030	2102	2954	3307	440	299	1062	552	932	600	629	1007		
	SD	125	278	351	1629	1135	856	864	161	114	661	191	159	186	284	339		
Fo2a	M	352	1418	613	4072	1809	2790	3028	432	140	848	421	607	381	415	1109		
	SD	69	377	214	1696	325	592	552	126	63	523	72	186	82	63	402		
Fo2b	M	382	1413	489	4034	1767	2686	2830	490	173	898	461	821	556	528	1054		
	SD	122	324	204	1452	263	719	306	118	69	501	100	236	135	112	231		
Fo2c	M	379	1409	511	3864	1713	2677	3004	474	167	847	435	779	506	521	1085		
	SD	122	324	226	1216	237	608	630	117	68	495	95	200	82	107	262		
Fo3a	M	366	1253	729	4860	1892	2605	3004	400	230	923	475	767	424	512	1070		
	SD	128	338	386	1945	1005	689	630	134	117	552	145	152	116	185	293		
Fo3b	M	354	1255	628	4127	1831	2540	3042	419	228	916	452	798	449	541	1040		
	SD	132	399	309	1533	1020	713	837	137	114	614	163	202	166	244	319		

**Tab. 3** Mittelwerte (M) und Standardabweichung (SD) der Rezeptordichten pro Areal. Rot kennzeichnet die Fo1-Subareale, grün Fo2- und blau Fo3-Subareale.

Die anhand der über alle Hemisphären gemittelten Absolutwerte erstellten Rezeptorfingerprints verdeutlichen einmal mehr die Unterschiede in der Rezeptordichte, welche den Fingerprints eine charakteristische Form verleihen. [s. Abb. 9] Die teilweise sehr subtilen Unterschiede präsentieren sich erst bei genauerer Betrachtung. Allen Arealen bzw. Subarealen gemein ist die hohe Dichte an GABA-ergen Rezeptoren, insbesondere  $GABA_B$  und die  $GABA_A$ -assoziierte Benzodiazepin-Bindungsstelle, sowie des Glutamatrezeptors  $mGluR2/3$ . Der  $GABA_A$ -Rezeptor ist in allen Subarealen von Fo1, Fo2 und Fo3 in höherer Konzentration vorhanden, jedoch nicht im gleichen Maße wie die zuvor genannten, was zu der charakteristischen „Kerbe“ in den Fingerprints führt.

Diese „Kerbe“ ist in den Fo2-Subarealen tiefer als in denen von Fo1 und Fo3, die Differenz in der Rezeptordichte von  $GABA_A$  im Vergleich zu  $GABA_B$  und  $mGluR2/3$  ist hier also größer. Bei den anderen elf der insgesamt fünfzehn untersuchten Rezeptoren finden sich jeweils kleinere Ausschläge im NMDA-Rezeptor, dem muscarinischen Acetylcholinrezeptor  $M_3$  sowie  $\alpha_2$  und dem Adenosinrezeptor  $A_1$ . Diese Ausschläge in der Rezeptordichte führen an der Stelle zu einer vierzackigen, sternförmigen Ausprägung der Fingerprints aller Subareale. Am ausgeprägtesten findet man sie jedoch in den Subarealen von Fo2, wo insbesondere der Ausschlag beim NMDA-Rezeptor im Vergleich größer, aber auch der bei  $\alpha_2$  deutlicher ist.

Neben den Unterschieden zwischen den Arealen Fo1, Fo2 und Fo3 gibt es auch in einem geringeren Maße Abweichungen in den Subarealen eines Areals. Bei Fo1a beispielsweise ist der vierzackige, sternförmige Teil des Fingerprints weniger ausgeprägt im Vergleich zu Fo1b und Fo1c, die Ausschläge in der Rezeptordichte der oben genannten Rezeptoren sind hier also weniger ausgeprägt. Bei Fo2b fällt die Differenz in der Rezeptordichte zwischen  $GABA_B$  und der  $GABA_A$ -assoziierten Benzodiazepin-Bindungsstelle geringer aus als bei Fo2a und Fo2c.

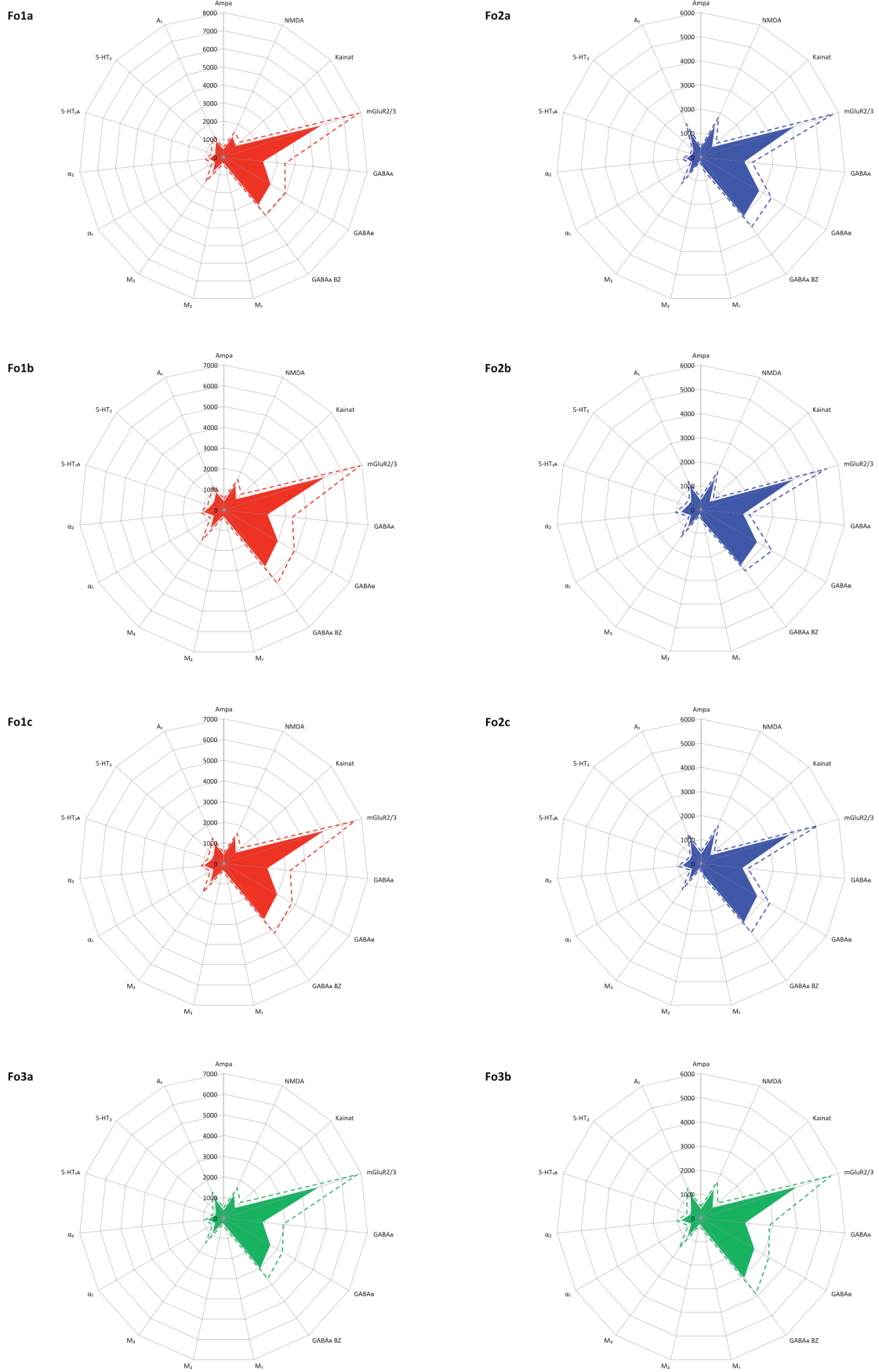


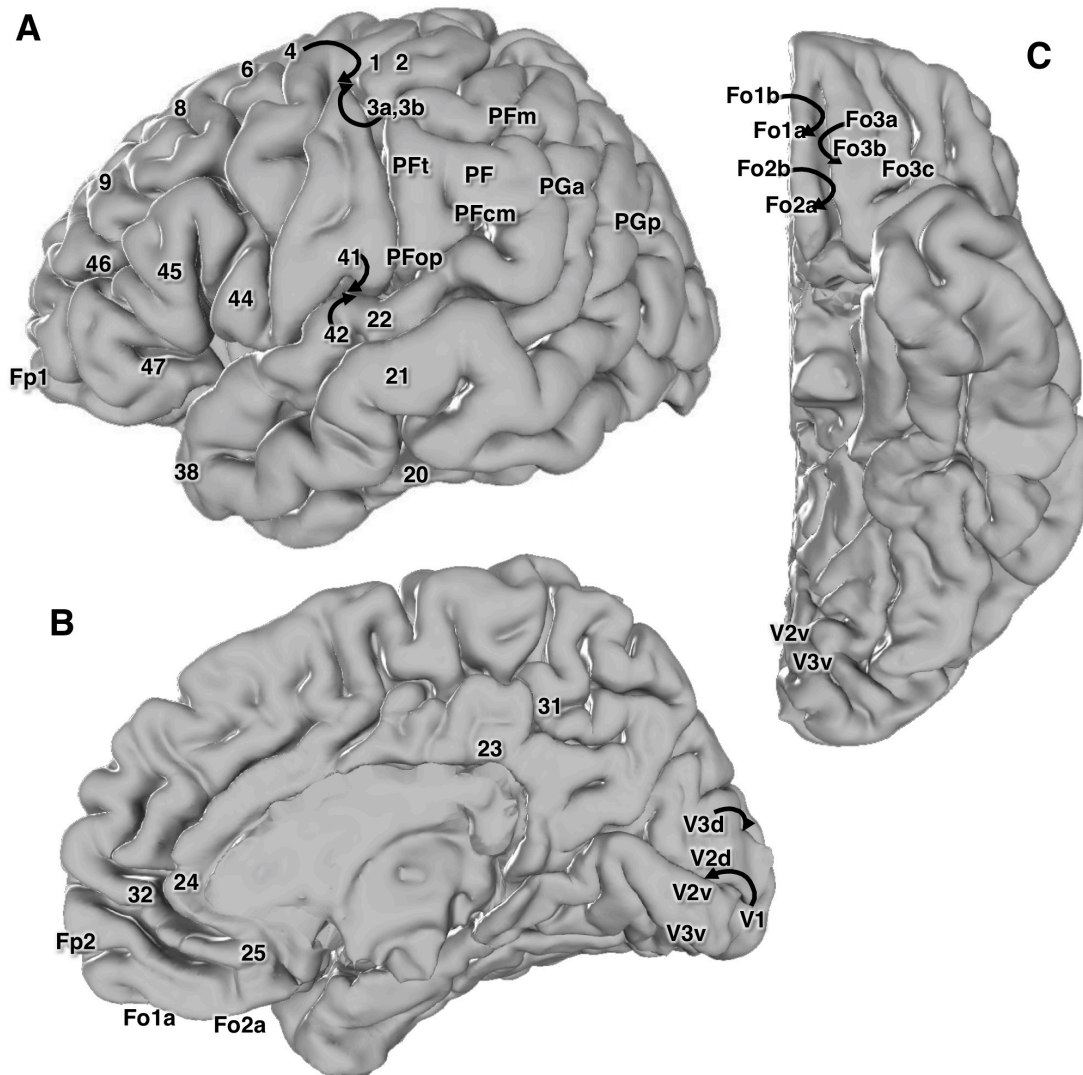
Abb. 9 Fingerprints von Fo1, Fo2 und Fo3-Subarealen mit Rezeptordichten in fmol/mg Protein.

## **3.2 Vergleich mit anderen rezeptorautoradiographisch untersuchten Kortexarealen**

Um die Rezeptorarchitektur mit anderen bereits untersuchten kortikalen Arealen vergleichen zu können, wurde sich der in 2.1.6 erläuterten hierarchischen Clusteranalyse und der multidimensionalen Skalierung bedient. Die Lokalisierung der in die Analyse eingeflossenen Areale zeigt Abbildung 10.

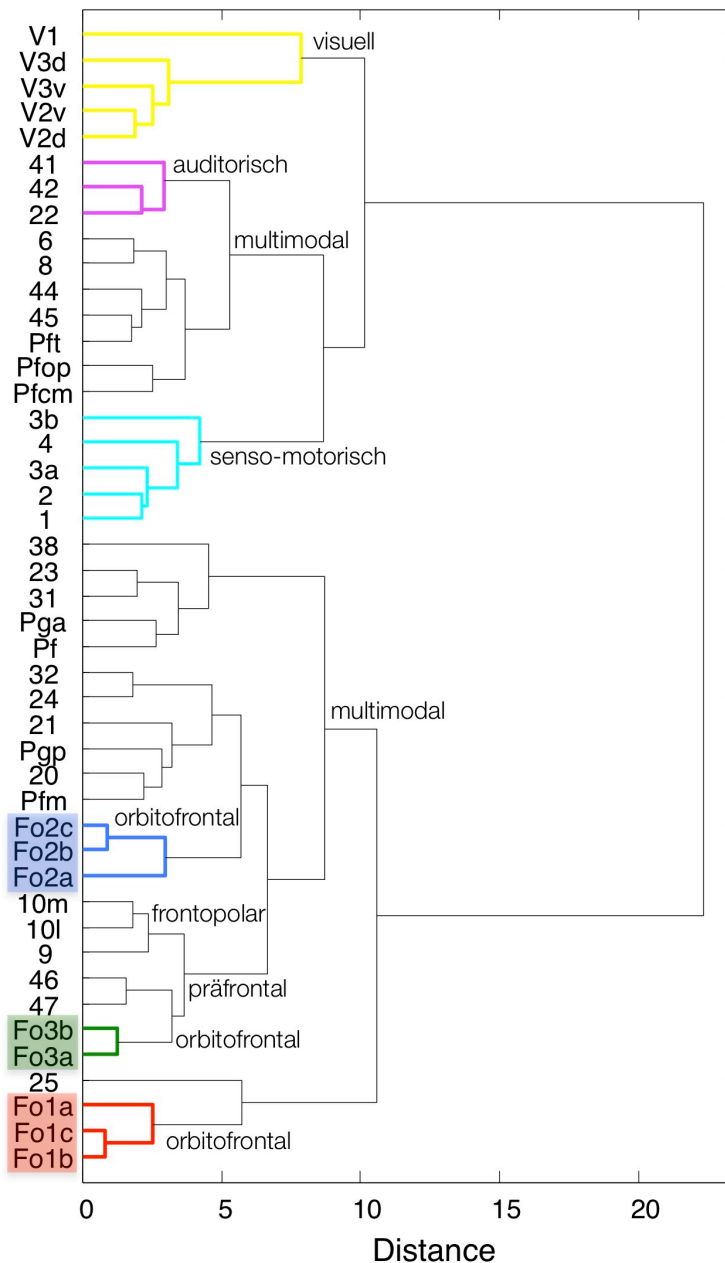
In der hierarchischen Clusteranalyse wird auf den ersten Blick sehr deutlich, dass sich Fo1, Fo2 und Fo3 klar von Primärkortex wie dem primären motorischen Kortex (Area 4 nach Brodmann), dem primären somatosensorischen Kortex (Areas 1, 2 sowie 3a und 3b), dem primären auditorischen Kortex (Area 41) sowie dem primären visuellen Kortex (V1, entspricht Area 17 nach Brodmann) unterscheiden und dementsprechend von vorneherein in verschiedene Cluster aufgetrennt sind. [s. Abb. 11] Auch die mit diesen funktionell klar definierten Arealen assoziierten Sekundär- und Tertiärkortex unterscheiden sich rezeptorarchitektonisch entschieden vom medialen orbitofrontalen Kortex. So sind ebenso die Subareale der visuellen Regionen V2 (V2v und V2d), welche der Area 18 nach Brodmann entsprechen, sowie die von V3 (V3v und V3d), die gemeinsam mit anderen Subarealen der Area 19 nach Brodmann entsprechen, grundlegend getrennt geclustert. Außerdem sind hier der sekundäre auditorische Kortex, Area 41 nach Brodmann, und tertiäre Anteile wie Area 22 zu nennen. Darüber hinaus fallen auch Area 6, die den prämotorischen und den supplementärmotorischen Kortex beherbergt, und das Broca-Zentrum mit Area 44 und 45 darunter.

Nahe Verwandtschaft in der Rezeptorarchitektur besteht hingegen für Fo1a, Fo1b und Fo1c mit der Area 25, die auch als Area subcallosa bezeichnet wird und auf dem rostralen Anteil des Gyrus cinguli liegt. Diese vier Areale stellen ein gemeinsames Cluster dar, welches sich klar von den anderen untersuchten Arealen abgrenzt. Die Fo1-Subareale clustern sich noch weiter auf, wobei der größte gemeinsame Nenner bei Fo1b und Fo1c zu finden ist. Auch Fo3a und Fo3b bilden Cluster mit topographisch nachbarschaftlichen Arealen. Die größte Ähnlichkeit in der Rezeptorstruktur besteht hier mit Area 46 und Area 47. Letztere erstreckt sich von frontolateral bis nach ventrolateral und befindet sich damit in direkter topographischer Nachbarschaft zu Fo3.



**Abb. 10** Lokalisation aller in die Clusteranalysen eingeflossenen Areale. **Pf/Pfcm/Pfm/Pfop/Pft** Subareale des rostralen Anteils der Area 40 nach Brodmann. **Pga/Pgp** Anteile des Gyrus angularis. **V1** Primärer visueller Kortex (Area 17 nach Brodmann). **V2d/V2v** Areale des sekundären visuellen Kortex (Area 18 nach Brodmann). **V3d/V3v** Areale des tertiären visuellen Kortex (zur Area 19 nach Brodmann gehörig). Die arabischen Zahlen stehen für die entsprechenden Brodmann-Areale. Hierbei stellen 10l (= Fp1) und 10m (= Fp2) eine Unterteilung der Frontopolarregion dar.

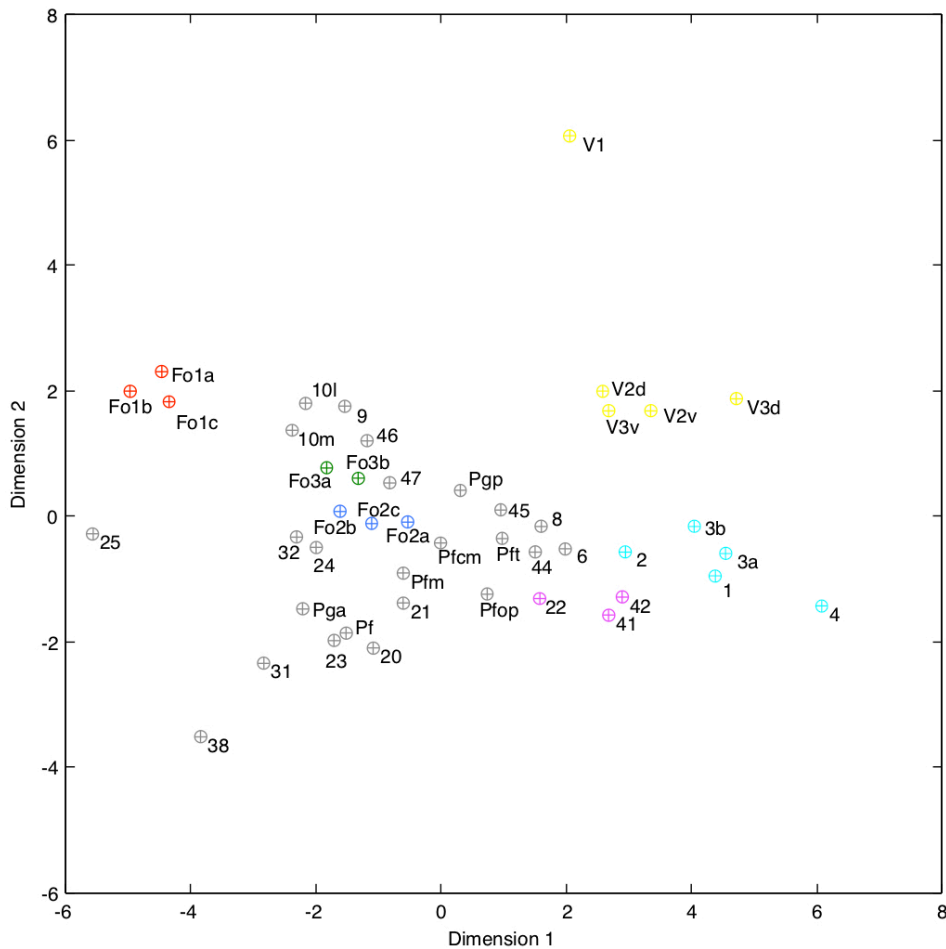
Auf der übergeordneten Ebene bilden diese vier Areale ein Cluster mit der rostral an den orbitofrontalen Kortex angrenzenden Frontopolarregion bestehend aus den Arealen 10m und 10l sowie der sich posterior anschließenden Area 9. Fo2a, Fo2b und Fo2c bilden Cluster mit einer heterogeneren Auswahl an Arealen, unter denen sich mit den Areas 24 und 32 Anteile des Gyrus cinguli befinden, aber auch Anteile des temporalen Kortex (Areas 20 und 21) sowie des inferioren Parietallappen (Pfm und Pgp).



**Abb. 11** Hierarchische Clusteranalyse der Fo1-, Fo2- und Fo3-Subareale mit anderen rezeptorautoradiographisch untersuchten Arealen. Für Erläuterungen zu den Arealen s. Abb. 10.

Die multidimensionale Skalierung stellt noch einmal in besonderem Maße die Ähnlichkeit der Fo2- mit den Fo3-Subarealen heraus, während die Subareale von Fo1 eine deutliche Distanz nicht nur zu diesen, sondern auch zu allen anderen in die Analyse mit eingeflossenen Arealen aufweisen. [s. Abb. 12] Auch die durch die hierarchische Clusteranalyse dargestellte, scheinbare rezeptorarchitektonische Ähnlichkeit von Fo1 und Area 25 wird in der multidimensionalen Skalierung relativiert. Hier zeigt sich viel mehr, dass die Frontopolarregion und Area 9, wenn

auch trotz allem mit deutlicher Distanz, im Verhältnis Fo1 näher sind als Area 25. Die Ähnlichkeit zwischen den Fo2- und Fo3-Arealen sowie deren Beziehung zu den Arealen, mit denen sie geclustert wurden, stellt sich auch in der multidimensionalen Skalierung dar und unterstützt somit die Aussage der hierarchischen Clusteranalyse.



## 4 DISKUSSION

### 4.1 Gradienten innerhalb von Fo1-3 – Vergleich mit vorbeschriebenen Karten des medialen orbitofrontalen Kortex

Eine Nervenzelle exprimiert verschiedenste Rezeptor-Subtypen unterschiedlicher Neurotransmittersysteme, sodass in einem definierten Kortexareal ein Muster dieser unterschiedlichen Rezeptoren zu finden ist. Um dieses System möglichst realistisch abzubilden, sollten also möglichst viele Rezeptoren verschiedener Transmittersysteme abgebildet werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine rezeptorautoradiographische Untersuchung des medialen orbitofrontalen Kortex anhand von 15 verschiedenen Rezeptorensubtypen vorgenommen. Auf Grundlage einer bereits erfolgten zytoarchitektonischen Kartierung dieser Region wurden die rezeptorarchitektonischen Eigenschaften der Areale Fo1, Fo2 und Fo3 untersucht und in ihren Gemeinsamkeiten und Unterschieden beschrieben. (45) Der Fokus in diesem Ansatz ist die über alle Kortexschichten gemittelte Rezeptorkonzentration, die in einem ersten Schritt für alle untersuchten Rezeptoren innerhalb definierter Kortexabschnitte mit Standardabweichung pro Areal und Rezeptor berechnet wurde. Hierbei zeigten sich deutliche Unterschiede mit entsprechend hoher Standardabweichung. Dies kann durch unterschiedliche post-mortem-Zeiten der verwendeten Gehirne bei gleichzeitig notwendigem Verzicht auf eine Gewebefixierung der Schnitte erklärt werden. Zur Darstellung der Rezeptorarchitektur in einem Areal wurden Rezeptorfingerprints genutzt. Darüber hinaus wurden die Areale mit Hilfe von Clusteranalyseverfahren untereinander und mit anderen rezeptorautoradiographisch analysierten Regionen des Kortex verglichen.

Vorausgegangene Studien zeigten, dass ähnlich geformte Rezeptorfingerprints neurochemisch verwandte Areale mit ähnlicher Funktion anzeigen und sich in ihrer Form von funktionell anderen Regionen unterscheiden. (34, 118, 119) So konnte beispielsweise nachgewiesen werden, dass sich die Rezeptorfingerprints des Motorkortex signifikant von denen des primären und sekundären

somatosensorischen Kortex sowie dem limbischen System zugehörigen Arealen unterscheiden. Aus diesem Grund ist die große Ähnlichkeit zwischen den Fingerprints von Fo1 und denen von Fo2 und Fo3 einleuchtend, gleichzeitig unterstützen die vorhandenen Unterschiede zwischen diesen Arealen die zytoarchitektonische Abgrenzung nach Henssen et al. (45)

Da die visuelle Inspektion der pseudo-farbkodierten Bilder nicht hinreichend Aufschluss über eine mögliche Abgrenzung von Subarealen innerhalb von Fo1, Fo2 und Fo3 ergab, wurden die Messstellen innerhalb dieser Areale anhand von Hinweisen einzelner Rezeptoren sowie mit Hilfe der zytoarchitektonischen Karten von Henssen et al. gewählt. (45) Die feinen intra-arealen Unterschiede sind dementsprechend sowie vor dem Hintergrund der geringen Anzahl untersuchter Hemisphären kritisch zu betrachten, dennoch kann hier von einem Gradienten innerhalb von Fo1a, Fo1b und Fo1c sowie innerhalb der Fo2- und Fo3-Areale gesprochen werden. Diese Gradienten könnten also auf weitere Unterteilungen hindeuten, die sich zytoarchitektonisch nicht abbilden, jedoch mit einem Funktionsunterschied einhergehen können.

Henssen et al. verglichen die eigens definierten Areale Fo1-3 mit anderen Karten des orbitofrontalen Kortex und zeigten mögliche Homologien auf. [(45); vgl. Abb. 2] Teilweise stellen Fo1-3 dabei weitere Unterteilungen vorher beschriebener Areale dar oder werden selbst durch vorbeschriebene Areale unterteilt. Mit Ausnahme der von Ngowyang oder Beck vorgeschlagenen Karten, scheinen die myeloarchitektonischen Arbeiten eine feinere Unterteilung vorzunehmen als zytoarchitektonische Beobachtungen. (9, 71) Vogt und Vogt schlugen eine Abgrenzung von sechs Arealen innerhalb des medialen orbitofrontalen Kortex vor. (107) Strasburger, welcher die gleiche Myelinfärbung nutzte, unterteilte den Bereich in fünf Areale. (97) Beide sahen den lateral des Sulcus olfactorius liegenden Teil des medialen orbitofrontalen Kortex dreigeteilt. Während Vogt und Vogt den posteromedialen Anteil in Area 6 und 7 teilten, bestand dieser bei Strasburger allein aus Area 11. Diese feinere Unterteilung kommt den in dieser Arbeit erhobenen Gradienten deutlich näher, welche auf eine Unterteilung von Fo1 bzw. weiter posterior Fo2 hindeuten. Allerdings scheinen die Grenzen eher im Sulcus olfactorius zu verschwinden und nicht wie im Falle der von Vogt und Vogt vorgeschlagenen Karte auf dem Gyrus rectus zu liegen. Eine exakte Unterteilung

von Fo3 ist zwar mit den erhobenen Daten nicht möglich, dennoch deuten die Ergebnisse ebenso auf Gemeinsamkeiten mit den Karten von Vogt und Vogt sowie Strasburger hin.

Ein besonderes Augenmerk verdient der Vergleich mit den Beobachtungen von Hof et al. und Öngür et al., die sich zwar nicht wie die vorliegende Arbeit auf Transmitterrezeptoren fokussierten, sich aber ebenfalls der Chemoarchitektur widmeten und damit ein anderes Konzept verfolgten als die klassischen zyto- und myeloarchitektonischen Karten. (48, 74) Hof et al. markierten mittels Antikörpern nicht-phosphoryliertes Neurofilamentprotein sowie die Calcium-bindenden Proteine Parvalbumin und Calretinin. Letztere kommen nicht ubiquitär, sondern nur in bestimmten Neuronen vor. Eine Gemeinsamkeit vieler dieser Neurone ist, dass sie eine Subpopulation GABA-erger Neurone darstellen. (12, 20, 44, 56, 120) Anhand von Nissl-gefärbten Schnitten wurde der orbitofrontale Kortex vor der chemoarchitektonischen Betrachtung in drei Sektoren geteilt, die jeweils die gesamte Ventralfläche des Frontallappens von medial nach lateral überspannten und von anterior nach posterior angeordnet waren. Die chemoarchitektonische Einteilung anhand des Vorkommens der drei Proteine in den Kortexschichten ergab für den medialen orbitofrontalen Kortex eine antero- und eine posteromediale Region und somit eine gröbere Abgrenzung als die meisten zyto- und myeloarchitektonischen Karten. Öngür et al. nutzten zur mikroanatomischen Analyse Nissl- und Myelin-gefärbte Schnitte und stellten histochemisch Acetylcholinesterase-positive Zellen und Nervenfasern sowie ebenfalls Parvalbumin-positive Zellen und nicht-phosphoryliertes Neurofilamentprotein dar. (74) Außerdem wurde ein Neuronen-spezifischer monoklonaler Antikörper genutzt, um selektiv Neuronen ohne Gliazellen darzustellen. Eigenständige Areale wurden so definiert, dass sie Änderungen in mindestens zwei unterschiedlichen Färbungen zeigten und darüber hinaus an gleicher Stelle in mehreren Gehirnen gefunden werden konnten. Insgesamt wurden auf diese Weise 23 Areale im orbitalen und medialen präfrontalen Kortex beschrieben. Im direkten Vergleich mit der Unterteilung des medialen orbitofrontalen Kortex von Henssen et al. (45) und den im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten ergeben sich teilweise Gemeinsamkeiten, aber auch deutliche Unterschiede. Die von Öngür et al. definierte Area 11m entspricht im Großen und Ganzen Fo1. Wie Fo1 erstreckt sie

sich medial und lateral des Sulcus olfactorius und reicht posterior bis zu einer imaginären Verbindungslinie des Sulcus orbitalis transversus der beiden Großhirnhemisphären. Posterior davon, also dem Areal, das in etwa Fo2 entspricht, befinden sich Area 14r und 14c auf dem Gyrus rectus und Area 13b in der medialen Wand des Sulcus olfactorius. Area 13m erstreckt sich von der lateralen Wand des Sulcus olfactorius bis in etwa zur Hälfte des Gyrus orbitalis medialis. 14r und 14c entsprechen somit dem in dieser Arbeit als Fo2a bezeichneten Gradienten, 13b entspricht Fo2b. 13m hingegen enthält Fo2c und Fo3a. Ein wesentlicher Unterschied ist, dass die Areale 11l und in geringerem Maße auch 13l, welche sich lateral 11m und 13m anschließen, deutlich über den Sulcus orbitalis medialis hinausgehen. Damit widersprechen sie nicht nur der Einteilung von Henssen et al. (45) und den Ergebnissen dieser Arbeit, sondern auch der durch anatomische und funktionelle Studien allgemein geläufigen Einteilung in einen medialen und einen lateralen orbitofrontalen Kortex anhand des Sulcus orbitalis medialis. [vgl. Kapitel 1.2.2] Neben der Charakterisierung zerebraler Aktivierungsmuster im orbitofrontalen Kortex bei bestimmten Experimenten wie der Ausübung einer bestimmten Aufgabe oder etwa der Präsentation eines Reizes, wurde der orbitofrontale Kortex auch anhand seiner Konnektivität mit anderen Hirnregionen im Ruhezustand untersucht. Kahnt et al. identifizierten durch das Clustern von Resting-state-fMRT-Daten sechs Areale. (51) Zwei davon – der mediale und der posterior-zentrale orbitofrontale Kortex – decken dabei etwa den Bereich ab, in dem sich Fo1-Fo3 befinden. Die Ergebnisse einer ergänzenden Arbeit deuten darauf hin, dass das Konnektivitätsmuster durch Dopamin beeinflusst und geändert werden kann. (52) Die funktionelle Organisation des orbitofrontalen Kortex änderte sich unter Blockade des D<sub>2</sub>-Rezeptors mit dem Dopaminrezeptor-Antagonisten Amisulprid und führte so zu einer anderen Unterteilung. Diese Daten weisen also darauf hin, dass sich Kortexabschnitte abgesehen von der unterschiedlichen Kartierung nach mikroanatomischen und chemoarchitektonischen Gesichtspunkten auch funktionell verschiedenen Bedingungen anpassen. Die Funktionsweise definierter Areale gewinnt dadurch an Komplexität und die Notwendigkeit multimodaler Kartierungsansätze, in denen es nicht nur eine allgemeingültige Karte geben kann, wird umso deutlicher.

Eine weitere Art der Kortexcharakterisierung basiert auf der magnetresonanztomographischen Volumenmessung der grauen Substanz, wie sie in einer Arbeit von Liu et al. genutzt wurde. (61) Die Autoren argumentieren, eine Analyse anhand von fMRT-Daten sei nicht verlässlich, da der orbitofrontale Kortex in Nachbarschaft zu den luftgefüllten Sinus liegt und es dadurch mit der genutzten Technik zu Signalartefakten komme. (25, 65) Mit ihrer Methode definierten sie fünf Areale und prüften dabei, ob interhemisphärische oder Geschlechtsunterschiede vorliegen. Während zwischen den Hemisphären kleine Unterschiede im Bereich des lateralen orbitofrontalen Kortex gefunden wurden, konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gehirnen männlicher und weiblicher Individuen gefunden werden.

## **4.2 Funktionelle Einordnung des medialen orbitofrontalen Kortex**

Trotz der eingeschränkten Aussagekraft bezüglich der intra-arealen Architektur lässt sich feststellen, dass auch die in der vorliegenden Arbeit genutzten multivariaten Analyseverfahren die Interpretation der Rezeptorfingerprints unterstützen. Durch diese sollte überprüft werden, ob die Areale des medialen orbitofrontalen Kortex in ihrer Rezeptorarchitektur den Arealen gleichen, die in anatomischer Nachbarschaft liegen oder sich funktionell ähnlich sind bzw. ob sie sich von funktionell anderen Arealen unterscheiden. Sowohl die hierarchische Clusteranalyse als auch die multidimensionale Skalierung charakterisieren die Unterschiede und Gemeinsamkeiten der „Gesamt-Rezeptorarchitektur“ der verschiedenen Areale. Alle Rezeptoren werden also gleichzeitig betrachtet, ohne die Rezeptorkonzentration einzelner Rezeptoren zwischen den Arealen zu vergleichen.

Die hierarchische Clusteranalyse trennt hier nicht nur inter-areal zwischen Fo1, Fo2 und Fo3, sondern auch deren Gradienten. Die sehr deutliche Trennung von Arealen wie dem primären motorischen, dem primären somatosensorischen, dem primären auditorischen Kortex sowie dem primären visuellen Kortex bildet die grundlegend andere Funktion dieser Regionen gut ab. Genauso wie andere

Studien zuvor zeigt dies, dass unterschiedliche Funktionen sich in der neurochemischen Struktur des Kortex widerspiegeln: je ähnlicher sich Areale funktionell sind, desto ähnlicher sind sie sich in ihrer Rezeptorarchitektur. (113,117) Die hierarchische Clusteranalyse der zytoarchitektonisch definierten Areale Fo1, Fo2 und Fo3 mit anderen Arealen des frontalen Kortex zeigt ebenso wie die vorliegende rezeptorautoradiographische Analyse eine größere Ähnlichkeit zwischen Fo2 und Fo3 im Vergleich zu Fo1. (45) Im Gegensatz zu den vorliegenden Daten konnte Area 47 in der zytoarchitektonischen Analyse klar von Fo1, Fo2 und Fo3 abgegrenzt werden. Dies stützt die Hypothese, dass der mediale orbitofrontale Kortex getrennt vom lateralen Teil des orbitofrontalen Kortex betrachtet werden muss. Die vorliegende Arbeit zeigt jedoch, dass Fo3 rezeptorarchitektonisch Area 47 ähnlicher ist als Fo1 und Fo2. Ebenso findet sich in den vorliegenden Daten keine Bestätigung der zytoarchitektonischen Verwandtschaft von Fo1 zur Frontopolarregion, welche rezeptorarchitektonisch ebenfalls Fo3 ähnlicher ist.

Wie in Kapitel 1.1.2 erläutert, haben bisherige autoradiographische Rezeptorstudien offenbart, dass die Rezeptorarchitektur bereits zytoarchitektonisch definierte Grenzen zwischen Arealen bestätigen kann, dies aber nicht für jeden einzelnen Rezeptor gilt. Darüber hinaus können einzelne Rezeptoren auch weitere Grenzen anzeigen. Vor diesem Hintergrund stehen die vorliegenden Ergebnisse der rezeptorarchitektonischen Clusteranalyse nicht zwingend im Widerspruch zu denen der zytoarchitektonischen. Sie können viel mehr als Hinweis auf die grundsätzliche funktionelle Einheit im System des frontolateralen Assoziationskortex dienen.

Die multidimensionale Skalierung unterstützt die Ergebnisse der hierarchischen Clusteranalyse mit Ausnahme des Verhältnisses von Fo1 zu Area 25. Zwar bilden beide Areale in der Clusteranalyse ein gemeinsames Cluster, in der multidimensionalen Skalierung allerdings scheint Fo1 insgesamt der Frontopolarregion im Vergleich mehr zu ähneln. Das gemeinsame Cluster könnte durch die Tatsache erklärt werden, dass beide Areale entsprechende Distanz zu den anderen Arealen haben.

### **4.3 Kritische Auseinandersetzung mit den Ergebnissen – Ausschöpfen statistischer Testverfahren**

Die durchgeführten Analysen erlauben, wie in und Kapitel 3 und 4.2 erläutert, Aussagen darüber, ob die Rezeptorarchitektur eines Areals der eines anderen Areals A oder B ähnlicher ist. Um die Frage zu beantworten, welche spezifischen Unterschiede bestehen, bräuchte es eine Einzelfallanalyse, wie sie im Rahmen anderer Studien bereits durchgeführt wurde. (28) Mit Hilfe dieser wäre es möglich konkret zu testen, ob es einen statistisch signifikanten Unterschied in der mittleren Konzentration eines Rezeptors zwischen zwei Arealen gibt und dementsprechend, ob es in der Gesamtheit der Rezeptorarchitektur signifikante Unterschiede gibt. Eine Methode, die für gewöhnlich für solch eine Testung zu Anwendung kommt, ist die Varianzanalyse. Mit dieser kann getestet werden, ob sich die Mittelwerte mehrerer unabhängiger Gruppen (hier Kortexareale) unterscheiden. Der Datensatz der vorliegenden Arbeit ist jedoch für die Durchführung einer Varianzanalyse nicht geeignet, da im Vergleich zu der Anzahl der in die Untersuchung eingeflossenen Rezeptortypen die Anzahl der untersuchten Hemisphären zu gering ist. Bei einem gepaarten t-Test, welcher im Grunde allein für den Vergleich zwischen nur zwei unabhängigen Gruppen geeignet ist, verhält es sich ähnlich. Hier müsste aufgrund vieler Einzeltests der gleichen Datengruppe eine Bonferroni-Korrektur vorgenommen werden, um der Alphafehlerkumulierung entgegen zu wirken. Dieser können die vorliegenden Daten aufgrund der zu geringen Datenmenge ebenfalls nicht standhalten.

#### 4.4 Spiegeln post-mortem-Studien die Rezeptorverteilung in vivo wider?

Rezeptorstudien sind sowohl technisch als auch zeitlich sehr aufwendig und fließen dennoch als wichtige Komponente in die moderne Kartierung des menschlichen Cortex ein. Vor diesem Hintergrund und der Tatsache, dass das Hirngewebe der Aufbereitung und Inkubation mit radioaktiv markierten Liganden ausgesetzt ist, stellt sich die Frage, ob post-mortem-Rezeptorstudien die Situation in vivo widerspiegeln. Zilles et al. haben beispielhaft gezeigt, dass diese Hypothese aufrecht erhalten werden kann. (117) In einer PET-Studie wurde die Verteilung der GABA<sub>A</sub>-assoziierten Benzodiazepin-Bindungsstelle mit Flumazenil als Radioligand untersucht. Diese zeigte anhand der gemessenen Radioaktivität eine deutlich höhere Rezeptordichte im primären visuellen Cortex V1 im Vergleich zum sekundären visuellen Cortex V2. Damit bestätigten sich sowohl die gleichzeitig erhobenen rezeptorautoradiographischen Daten sowie zuvor gewonnene zytoarchitektonische Ergebnisse und Wahrscheinlichkeitskarten. (2)

Auch in anderen Neurotransmitterrezeptorstudien wurden in vivo-Daten mit post-mortem-Resultaten verglichen. Forutan et al. erhoben mittels PET die zerebrale Verteilung des serotonergen 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptors gesunder Probanden. (31) Bei dem Vergleich mit den Daten rezeptorautoradiographischer Studien des gleichen Rezeptors erhielten sie übereinstimmende Ergebnisse. Hierbei zeigte sich lediglich eine geringere Sensitivität der PET, sodass die Ergebnisse bei rezeptorautoradiographisch erhobenen geringeren Änderungen in der Rezeptordichte auseinander gingen. Auch im Tierversuch wurden bereits PET-Daten mit rezeptorautoradiographischen Daten verglichen. (7) Hier zeigten sich ebenfalls übereinstimmende Ergebnisse bezüglich der Rezeptorverteilung mit ebenso geringerer Sensitivität der PET. Diese Studien deuten klar darauf hin, dass die Rezeptorautoradiographie als post-mortem-Methode die Rezeptorverteilung in vivo widerspiegelt und darüber hinaus sogar sensitiver als die PET ist.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Rezeptorautoradiographie wurde bereits zur Untersuchung vieler anderer zytoarchitektonisch definierter Kortexareale genutzt. Diese Methode erlaubt es zum einen die neurochemische Struktur der Areale zu verstehen. Zum anderen ist es möglich innerhalb der Areale weitere Abgrenzungen vorzunehmen, welche zyto- oder myeloarchitektonisch nicht nachweisbar sind. Darüber hinaus spielen Rezeptoren eine Schlüsselrolle in der Signaltransduktion und ergänzen moderne Hirnkarten somit nicht nur um anatomisch-strukturelle, sondern auch funktionell relevante Informationen. Damit reiht sich dieser Ansatz in die Arbeit vieler anderer aktueller Hirnkartierungsprojekte ein und leistet einen essentiellen Beitrag im Rahmen neurowissenschaftlicher Grundlagenforschung zur Dekodierung der komplexen Funktionsweise des Gehirns. (s. 4)

In der vorliegenden Arbeit wurde der mediale orbitofrontale Kortex rezeptorautoradiographisch untersucht und Vergleiche mit vorliegenden Karten desselben Kortexareals sowie mit der Rezeptorarchitektur anderer Kortexes gezogen. Die Ergebnisse der rezeptorautoradiographischen Analyse spiegeln die zytoarchitektonische Einteilung des medialen orbitofrontalen Kortex nach Henssen et al. in die drei Areale Fo1, Fo2 und Fo3 wider. (45) Darüber hinaus ergeben sich aufgrund der erhobenen Gradienten in den untersuchten Regionen innerhalb dieser Areale Hinweise darauf, dass eine weitere Unterteilung in Subareale möglich ist, welche mutmaßlich mit Unterschieden in der Funktion einhergehen. Insbesondere vor dem Hintergrund der komplexen Lern- und Entscheidungsprozesse, in die der orbitofrontale Kortex eingebunden ist, erscheint eine feinere funktionelle Trennung sinnvoll. Für eine definitive Abgrenzung mit entsprechendem bildmorphologischem Korrelat in den pseudo-farbkodierten Bildern sollten weitere Untersuchungen mit mehr Hemisphären erfolgen und die Abgrenzungen statistisch belegt werden. Mit Hilfe der Clusteranalyseverfahren konnte nachgewiesen werden, dass die Areale des medialen orbitofrontalen Kortex in ihrer Rezeptorarchitektur anderen Regionen des frontalen Assoziationskortex ähneln. Im Gegensatz dazu differieren sie in besonderem Maße von primären Kortexes des motorischen, somatosensorischen, visuellen und akustischen Systems.



## 6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1 Sulcuspuster des orbitofrontalen Cortex.

Abb. 2 Veröffentlichte Karten des orbitofrontalen Cortex mit mutmaßlichen Homologien mit Area Fo1, Fo2 und Fo3 von Henssen et al. (45)

Abb. 3 Maximale Wahrscheinlichkeitskarten der von Henssen et al. definierten Areas Fo1, Fo2 und Fo3 innerhalb des medialen orbitofrontalen Cortex. (45)

Abb. 4 Beispielhaftes Autoradiogramm des mit [<sup>3</sup>H]-Oxotremorin markierten M<sub>2</sub>-Rezeptors.

Abb. 5 Beispielhafte Projektion von Fo1, Fo2 und Fo3 nach Henssen et al. auf eine untersuchte Hirnhemisphäre.

Abb. 6 Beispielhafte Ansicht nach Erzeugung äquidistanter Traversen. a Ansicht der gesamten Schnittebene.

Abb. 7 Beispielhaftes mittleres Rezeptorprofil für den mit [<sup>3</sup>H]-Oxotremorin markierten M<sub>2</sub>-Rezeptor in Area Fo1.

Abb. 8 Übersicht pseudo-farbkodierter Autoradiogramme aller Rezeptoren der gleichen Schnittebene.

Abb. 9 Fingerprints von Fo1, Fo2 und Fo3-Subarealen mit Rezeptordichten in fmol/mg Protein.

Abb. 10 Lokalisation aller in die Clusteranalysen eingeflossenen Areale.

Abb. 11 Hierarchische Clusteranalyse der Fo1-, Fo2- und Fo3-Subareale mit anderen rezeptorautoradiographisch untersuchten Arealen.

Abb. 12 Multidimensionale Skalierung der Fo1-, Fo2- und Fo3-Subareale mit anderen rezeptor-autoradiographisch untersuchten Hirnarealen.

## 7 TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1 Übersicht über die untersuchten Gehirne bzw. Hemisphären.

Tab. 2 Inkubationsprotokoll mit Übersicht der verwendeten Radioliganden.

Tab. 3 Mittelwerte (M) und Standardabweichung (SD) der Rezeptordichten pro Areal.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

1. Abe Y, Sakai Y, Nishida S, Nakamae T, Yamada K, Fukui K, Narumoto J (2015). Hyper-influence of the orbitofrontal cortex over the ventral striatum in obsessive-compulsive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol.* 25(11): 1898-905
2. Amunts K, Malikovic A, Mohlberg H, Schormann T, Zilles K (2000). Brodmann's areas 17 and 18 brought into stereotaxic space - Where and how variable? *Neuroimage.* 11(1): 66-84
3. Amunts K, Schleicher A, Bürgel U, Mohlberg H, Uylings HBM, Zilles K (1999). Broca's region revisited: cytoarchitecture and intersubject variability. *J Comp Neurol.* 412(2): 319-41
4. Amunts K, Zilles K (2015). Architectonic mapping of the human brain beyond Brodmann. *Neuron.* 88(6): 1086-107
5. Annese J, Pitiot A, Dinov ID, Toga AW (2004). A myelo-architectonic method for the structural classification of cortical areas. *Neuroimage.* 21(1): 15-26
6. De Araujo IE, Rolls ET, Kringelbach ML, McGlone F, Phillips N (2003). Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci.* 18(7): 2059-68
7. Aznavour N, Rbah L, Léger L, Buda C, Sastre JP, Imhof A, Charnay Y, Zimmer L (2006). A comparison of in vivo and in vitro neuroimaging of 5-HT 1A receptor binding sites in the cat brain. *J Chem Neuroanat.* 31(3): 226-32
8. Bailey P, von Bonin G (1951). *The isocortex of man.* Urbana, Ill.: University of Illinois Press
9. Beck E (1949). A cytoarchitectural investigation into the boundaries of cortical areas 13 and 14 in the human brain. *J Anat.* 83(2): 147-57
10. Berlin HA, Rolls ET, Kischka U (2004). Impulsivity, time perception, emotion and reinforcement sensitivity in patients with orbitofrontal cortex lesions. *Brain.* 127(5): 1108-26
11. Bludau S, Eickhoff SB, Mohlberg H, Caspers S, Laird AR, Fox PT, Schleicher A, Zilles K, Amunts K (2014). Cytoarchitecture, probability maps and functions of the human frontal pole. *Neuroimage.* 93(2): 260-75

12. Van Brederode JF, Mulligan KA, Hendrickson AE (1990). Calcium-binding proteins as markers for subpopulations of GABAergic neurons in monkey striate cortex. *J Comp Neurol.* 298(1): 1-22
13. Brodmann K (1909). Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellbaues. Leipzig: J. A. Barth
14. Brodmann K (1910). Feinere Anatomie des Großhirns. In: Lewandowsky M (ed). *Handbuch der Neurologie.* 1. Band: Allgemeine Neurologie. Berlin: Springer, pp. 206-307
15. Brodmann K (1914). Zweiter Abschnitt: Physiologie des Gehirns. In: Von Bruns P (ed.) *Neue Deutsche Chirurgie,* 11. Band: Allgemeine Chirurgie der Gehirnkrankheiten. I. Teil. Stuttgart: Verlag von Ferdinand Enke, pp. 87-426
16. Burke RE, Greenbaum D (1987). Effect of postmortem factors on muscarinic receptor subtypes in rat brain. *J Neurochem.* 49 (2): 592-6
17. Campbell AW (1905). *Histological studies on the localisation of cerebral function.* Cambridge: University Press
18. Caspers S, Eickhoff SB, Geyer S, Scheperjans F, Mohlberg H, Zilles K, Amunts K (2008). The human inferior parietal lobule in stereotaxic space. *Brain Struct Funct.* 212(6): 481-95
19. Caspers S, Geyer S, Schleicher A, Mohlberg H, Amunts K, Zilles K (2006). The human inferior parietal cortex: cytoarchitectonic parcellation and interindividual variability. *Neuroimage.* 33(2): 430-48
20. Celio MR (1986). Parvalbumin in most gamma-aminobutyric acid-containing neurons of the rat cerebral cortex. *Science.* 231(4741): 995-7
21. Chiavaras MM, Petrides M (2000). Orbitofrontal sulci of the human and macaque monkey brain. *J Comp Neurol.* 422(1): 35-54
22. Chudasama Y, Robbins TW (2003). Dissociable contributions of the orbitofrontal and infralimbic cortex to Pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: further evidence for the functional heterogeneity of the rodent frontal cortex. *J Neurosci.* 23(25): 8771-80
23. Cremer JN, Amunts K, Graw J, Piel M, Rösch F, Zilles K (2015). Neurotransmitter receptor density changes in Pitx3ak mice - A model relevant to Parkinson's disease. *Neuroscience.* 285: 11-23

24. Cremer JN, Amunts K, Schleicher A, Palomero-Gallagher N, Piel M, Rösch F, Zilles K (2015). Changes in the expression of neurotransmitter receptors in Parkin and DJ-1 knockout mice - A quantitative multireceptor study. *Neuroscience*. 311: 539-51
25. Devlin JT, Russell RP, Davis MH, Price CJ, Wilson J, Moss HE, Matthews PM, Tyler LK (2000). Susceptibility-induced loss of signal: comparing PET and fMRI on a semantic task. *Neuroimage*. 11(6 Pt 1): 589-600
26. Von Economo K, Koskinas G (1925). *Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen*. Berlin: Springer
27. Eickhoff SB, Rottschy C, Zilles K (2007). Laminar distribution and co-distribution of neurotransmitter receptors in early human visual cortex. *Brain Struct Funct*. 212(3-4): 255-67
28. Eickhoff SB, Schleicher A, Scheperjans F, Palomero-Gallagher N, Zilles K (2007). Analysis of neurotransmitter receptor distribution patterns in the cerebral cortex. *Neuroimage*. 34(4): 1317-30
29. Evans AC, Janke AL, Collins DL, Baillet S (2012). Brain templates and atlases. *Neuroimage*. 62(2): 911-22
30. Evans AC, Marrett S, Neelin P, Collins L, Worsley K, Dai W, Milot S, Meyer E, Bub D (1992). Anatomical mapping of functional activation in stereotactic coordinate space. *Neuroimage*. 1(1): 43-53
31. Forutan F, Estalji S, Beu M, Nikolaus S, Hamacher K, Coenen HH, Vosberg H, Müller-Gärtner HW, Larisch R (2002). Distribution of 5HT<sub>2A</sub> receptors in the human brain: comparison of data in vivo and post mortem. *Neuroimage*. 41(4): 197-201
32. Fellows LK, Farah MJ (2003). Ventromedial frontal cortex mediates affective shifting in humans: evidence from a reversal learning paradigm. *Brain*. 126(Pt 8): 1830-7
33. Geyer S, Ledberg A, Schleicher A, Kinomura S, Schormann T, Bürgel U, Klingberg T, Larsson J, Zilles K, Roland PE (1996). Two different areas within the primary motor cortex of man. *Nature*. 382(6594): 805-7
34. Geyer S, Matelli M, Luppino G, Schleicher A, Jansen Y, Palomero-Gallagher N, Zilles K (1998). Receptor autoradiographic mapping of the mesial motor and premotor cortex of the macaque monkey. *J Comp Neurol*. 397(2): 231-50

35. Geyer S, Schleicher A, Zilles K (1999). Areas 3a, 3b, and 1 of human primary somatosensory cortex. *Neuroimage*. 10(1): 63-83
36. Geyer S, Schormann T, Mohlberg H, Zilles K (2000). Areas 3a, 3b, and 1 of human primary somatosensory cortex. Part 2. Spatial normalization to standard anatomical space. *Neuroimage* 11(6 Pt 1): 684-96
37. Geyer S, Weiss M, Reimann K, Lohmann G, Turner R (2011). Microstructural parcellation of the human cerebral cortex - from Brodmann's - post-mortem map to in vivo mapping with high-field magnetic resonance imaging. *Front Hum Neurosci*. 5: 19
38. Gottfried JA, O'Doherty J, Dolan RJ (2002). Appetitive and aversive olfactory learning in humans studied using event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci*. 22(24): 10829-37
39. Grefkes C, Geyer S, Schormann T, Roland P, Zilles K (2001). Human somatosensory area 2: observer-independent cytoarchitectonic mapping, interindividual variability, and population map. *Neuroimage*. 14(3): 617-31
40. Griffiths PD, Perry RH, Crossman AR (1994). A detailed anatomical analysis of neurotransmitter receptors in the putamen and caudate in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 169(1-2): 68-72
41. Haas LF (2001). Phineas Gage and the science of brain localisation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 71(6): 761
42. Hampton AN, Bossaerts P, O'Doherty JP (2006). The role of the ventromedial prefrontal cortex in abstract state-based inference during decision making in humans. *J Neurosci*. 26(32): 8360-7
43. Harlow JM (1993). Recovery from the passage of an iron bar through the head. *Hist Psychiatry*. 4(14 Pt 2): 271-81
44. Hendry SH, Jones EG (1991). GABA neuronal subpopulations in cat primary auditory cortex: co-localization with calcium binding proteins. *Brain Res*. 543(1): 45-55
45. Henssen A, Zilles K, Palomero-Gallagher N, Schleicher A, Mohlberg H, Gerboga F, Eickhoff SB, Bludau S, Amunts K (2016). Cytoarchitecture and probability maps of the human medial orbitofrontal cortex. *Cortex*. 75: 87-112

46. Herkenham M (1988). Influence of tissue treatment on quantitative receptor autoradiography. In: Van Leeuwen FW, Buijs RM, Pool CW, Pach O (eds). *Molecular Neuroanatomy*. Amsterdam New York Oxford: Elsevier, pp. 111-120
47. Hirose S, Osada T, Ogawa A, Tanaka M, Wada H, Yoshizawa Y, Imai Y, Machida T, Akahane M, Shirouzu I, Konishi S (2016). Lateral–medial dissociation in orbitofrontal cortex-hypothalamus connectivity. *Front Hum Neurosci* 10: 244
48. Hof PR, Mufson EJ, Morrison JH (1995). Human orbitofrontal cortex: cytoarchitecture and quantitative immunohistochemical parcellation. *J Neurosci* 15(1): 48-68
49. Hornak J, O’Doherty J, Bramham J, Rolls ET, Morris RG, Bullock PR, Polkey CE (2004). Reward-related reversal learning after surgical excisions in orbitofrontal or dorsolateral prefrontal cortex in humans. *J Cogn Neurosci*. 16(3): 463-78
50. Izquierdo A, Suda RK, Murray EA (2004). Bilateral orbital prefrontal cortex lesions in rhesus monkeys disrupt choices guided by both reward value and reward contingency. *J Neurosci*. 24(34): 7540-8
51. Kahnt T, Chang LJ, Park SQ, Heinzle J, Haynes JD (2012). Connectivity-based parcellation of the human orbitofrontal cortex. *J Neurosci*. 32(18): 6240-50
52. Kahnt T, Tobler PN (2017). Dopamine modulates the functional organization of the orbitofrontal cortex. *J Neurosci* 37(6): 1493-504
53. Kanahara N, Sekine Y, Haraguchi T, Uchida Y, Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M (2013). Orbitofrontal cortex abnormality and deficit schizophrenia. *Schizophr Res*. 143(2-3): 246-52
54. Kleist K (1934). *Gehirmpathologie*. Leipzig: J. A. Barth
55. Kontur PJ, Al-Tikriti M, Innis RB, Roth RH (1994). Postmortem stability of monoamines, their metabolites, and receptor binding in rat brain regions. *J Neurochem*. 62(1): 282-90
56. Kosaka T, Heizmann CW, Tateishi K, Hamaoka Y, Hama K (1987). An aspect of the organizational principle of the gamma-aminobutyric acidergic system in the cerebral cortex. *Brain Res*. 409(2): 403-8

57. Kringelbach ML, O'Doherty J, Rolls ET, Andrews C (2003). Activation of the human orbitofrontal cortex to a liquid food stimulus is correlated with its subjective pleasantness. *Cereb Cortex*. 13(10): 1064-71
58. Kringelbach ML, Rolls ET (2003). Neural correlates of rapid reversal learning in a simple model of human social interaction. *Neuroimage*. 20(2): 1371-83
59. Kringelbach ML, Rolls ET (2004). The functional neuroanatomy of the human orbitofrontal cortex: evidence from neuroimaging and neuropsychology. *Prog Neurobiol*. 72(5): 341-72
60. Kujovic M, Zilles K, Malikovic A, Schleicher A, Mohlberg H, Rottschy C, Eickhoff SB, Amunts K (2013). Cytoarchitectonic mapping of the human dorsal extrastriate cortex. *Brain Struct Funct*. 218(1): 157-72
61. Liu H, Qin W, Qi H, Jiang T, Yu C (2015). Parcellation of the human orbitofrontal cortex based on gray matter volume covariance. *Hum Brain Mapp*. 36(2): 538-48
62. London ED, Ernst M, Grant S, Bonson K, Weinstein A (2000). Orbitofrontal cortex and human drug abuse: functional imaging. *Cereb Cortex*. 10 (3): 334-42
63. Mackey S, Petrides M (2009). Architectonic mapping of the medial region of the human orbitofrontal cortex by density profiles. *Neuroscience*. 159(3): 1089–107
64. Mann JJ, Brent DA, Arango V (2001). The neurobiology and genetics of suicide and attempted suicide: a focus on the serotonergic system. *Neuropsychopharmacology*. 24(5): 467-77
65. Merboldt KD, Fransson P, Bruhn H, Frahm J (2001). Functional MRI of the human amygdala? *Neuroimage*. 14(2): 253-7
66. Metereau E, Dreher JC (2015). The medial orbitofrontal cortex encodes a general unsigned value signal during anticipation of both appetitive and aversive events. *Cortex*. 63: 42-54
67. Miguel-Hidalgo JJ, Whittom A, Villarreal A, Soni M, Meshram A, Pickett JC, Rajkowska G, Stockmeier CA (2014). Apoptosis-related proteins and proliferation markers in the orbitofrontal cortex in major depressive disorder. *J Affect Disord*. 158: 62-70

68. Morosan P, Rademacher J, Palomero-Gallagher N, Zilles K (2004). Anatomical organization of the human auditory cortex: Cytoarchitecture and transmitter receptors. In: Heil P, König E, Budinger E (eds). *Auditory Cortex – Towards a Synthesis of Human and Animal Research*. Mahwah, New Jersey: Lawrence Erlbaum, pp. 27-50
69. Morosan P, Rademacher J, Schleicher A, Amunts K, Schormann T, Zilles K (2001). Human primary auditory cortex: cytoarchitectonic subdivisions and mapping into a spatial reference system. *Neuroimage*. 13(4): 684-701
70. Morosan P, Schleicher A, Amunts K, Zilles K (2005). Multimodal architectonic mapping of human superior temporal gyrus. *Anat Embryol (Berl)*. 210(5-6): 401-6
71. Ngowyang G (1934). *Die Cytoarchitektonik des menschlichen Stirnhirn. I. Teil. Cytoarchitektonische Felderung der Regio granularis und Regio dysgranularis*. Shanghai: Monogr Nat Res Inst Psychol Acad Sin 7: 1-68
72. O'Doherty J, Kringelbach ML, Rolls ET, Hornak J, Andrews C (2001). Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nat Neurosci*. 4(1): 95-102
73. Ohtani T, Bouix S, Hosokawa T, Saito Y, Eckbo R, Ballinger T, Rausch A, Melonakos E, Kubicki M (2014). Abnormalities in white matter connections between orbitofrontal cortex and anterior cingulate cortex and their associations with negative symptoms in schizophrenia: a DTI study. *Schizophr Res*. 157(1-3): 190-7
74. Öngür D, Ferry AT, Price JL (2003). Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *J Comp Neurol*. 460(3): 425-49
75. Palomero-Gallagher N, Mohlberg H, Zilles K, Vogt B (2008). Cytology and receptor architecture of human anterior cingulate cortex. *J Comp Neurol*. 508(6): 906-26
76. Palomero-Gallagher N, Zilles K (2009). Transmitter receptor systems in cingulate regions and areas. In: Vogt BA (ed). *Cingulate Neurobiology & Disease*. New York: Oxford University Press, pp. 31.63
77. Pazos A, Probst A, Palacios JM (1987). Serotonin receptors in the human brain – III. Autoradiographic mapping of serotonin-1 receptors. *Neuroscience*. 21(1): 97-122

78. Porrino L, Lyons D (2000). Orbital and medial prefrontal cortex and psychostimulant abuse: studies in animal models. *Cereb Cortex*. 10(3): 326-33
79. Rich EL, Wallis JD (2014). Medial-lateral organization of the orbitofrontal cortex. *J Cogn Neurosci*. 26(7): 1347-62
80. Rodrigues TP, Rodrigues MA, Paz Dde A, Costa MD, Centeno RS, Chaddad Neto FE, Cavalheiro S (2015). Orbitofrontal sulcal and gyrus pattern in human: an anatomical study. *Arq Neuropsiquiatr* 73(5): 431-5
81. Roland PE, Zilles K (1998). Structural divisions and functional fields in the human cerebral cortex. *Brain Res Rev*. 26(2-3): 87-105
82. Rose M (1927). Gyrus limbicus anterior und Regio retrosplenialis (Cortex holoprotychus quinquestratificatus). *Vergleichende Architektonik bei Tier und Mensch*. *J Psychol Neurol* 35: 65-173
83. Rose M (1928). Die Inselrinde des Menschen und der Tiere. *J Psychol Neurol*. 37: 467-624
84. Rotter A, Birdsall N, Burgen A, Field P, Hulme E, Raisman G (1979). Muscarinic receptors in the central nervous system of the rat. I. Technique for autoradiographic localization of the binding of [3H]propylbenzilylcholine mustard and its distribution in the forebrain. *Brain Res*. 180(2): 141-65
85. Rottschy C, Eickhoff SB, Schleicher A, Mohlberg H, Kujovic M, Zilles K, Amunts K (2007). Ventral visual cortex in humans: cytoarchitectonic mapping of two extrastriate areas. *Hum Brain Mapp*. 28(10): 1045-59
86. Sanides F (1962). *Die Architektonik des menschlichen Stirnhirns*. Monogr Gesamtgeb Neurol Psychiatr (Band 98). Berlin: Springer
87. Sarkisov S, Filimonoff IN, Preobrasenskaya NS (1949). *Cytoarchitecture of the human cortex cerebri*. Moscow: Medgiz
88. Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Kowalski T, Schormann T, Palomero-Gallagher N, Zilles K (2000). A stereological approach to human cortical architecture: identification and delineation of cortical areas. *J Chem Neuroanat*. 20(1): 31-47
89. Schleicher A, Amunts K, Geyer S, Morosan P, Zilles K (1999). Observer-independent method for microstructural parcellation of cerebral cortex: A quantitative approach to cytoarchitectonics. *Neuroimage*. 9(1): 165-77

90. Schleicher A, Morosan P, Amunts K, Zilles K (2009). Quantitative architectural analysis: a new approach to cortical mapping. *J Autism Dev Disord.* 39(11): 1568-81
91. Schmitt O, Böhme M (2002). A robust transcortical profile scanner for generating 2-d traverses in histological sections of richly curved cortical courses. *Neuroimage.* 16(4): 1103-19
92. Schoenbaum G, Chiba AA, Gallagher M (1999). Neural encoding in orbitofrontal cortex and basolateral amygdala during olfactory discrimination learning. *J Neurosci.* 19(5): 1876-84
93. Schoenbaum G, Roesch MR, Stalnaker TA (2006). Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends Neurosci.* 29(2): 116-24
94. Schoenbaum G, Setlow B, Nugent SL, Saddoris MP, Gallagher M (2003). Lesions of orbitofrontal cortex and basolateral amygdala complex disrupt acquisition of odor-guided discriminations and reversals. *Learn Mem.* 10(2): 129-40
95. Schoenbaum G, Shaham Y (2008). The role of orbitofrontal cortex in drug addiction: a review of preclinical studies. *Biol Psychiatry.* 63(3): 256-62
96. Smith GE (1907). A new topographical survey of the human cerebral cortex, being an account of the distribution of the anatomically distinct cortical areas and their relationship to the cerebral sulci. *J Anat Physiol.* 41(Pt 4): 237-54
97. Strasburger EH (1937). Die myeloarchitektonische Gliederung des Stirnhirns beim Menschen und Schimpansen. I. Teil. Myeloarchitektonische Gliederung des menschlichen Stirnhirns. *J Psychol Neurol.* 47: 461-91
98. Syapin PJ, Ritchie T, Noble L, Noble EP (1987). Postmortem changes in rat brain: studies on membrane-bound enzymes and receptors. *J Neurochem.* 48(4): 1285-90
99. Talairach J, Tournoux P (1988). Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. 1st ed. Stuttgart: Thieme
100. Teitelbaum H (1964). A comparison of effects of orbitofrontal and hippocampal lesions upon discrimination learning and reversal in the cat. *Exp Neurol.* 9: 452-62
101. Thorpe SJ, Rolls ET, Maddison S (1983). The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp Brain Res.* 49 (1): 93-115

102. Torregrossa MM, Quinn JJ, Taylor JR (2008). Impulsivity, compulsivity, and habit: the role of orbitofrontal cortex revisited. *Biol Psychiatry*. 63(3): 253-5
103. Triarhou L (2013). The Cytoarchitectonic Map of Constantin von Economo and Georg N. Koskinas. In: *Microstructural Parcellation of the Human Cerebral Cortex*. Berlin: Springer, pp. 33-53
104. Uylings HB, Sanz-Arigita EJ, de Vos K, Pool CW, Evers P, Rajkowska G (2010). 3-D cytoarchitectonic parcellation of human orbitofrontal cortex correlation with postmortem MRI. *Psychiatry Res*. 183(1): 1-20
105. Vogt BA, Plager MD, Crino PB, Bird ED (1990). Laminar distributions of muscarinic acetylcholine, serotonin, GABA and opioid receptors in human posterior cingulate cortex. *Neuroscience*. 36(1): 165-74
106. Vogt C, Vogt O (1907). Zur Kenntnis der elektrisch erregbaren Hirnrindengebiete bei den Säugetieren. *J Psychol Neurol*. 8: 227-456
107. Vogt C, Vogt O (1919). Allgemeine Ergebnisse unserer Hirnforschung. *H Psychol Neurol*. 25: 279-462
108. Vogt O (1903). Zur anatomischen Gliederung des Cortex cerebri. *J Psychol Neurol*. 2: 160-80
109. Volkow ND, Fowler JS (2000). Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex*. 10(3): 318-25
110. Wallis JD, Miller EK (2003). Neuronal activity in primate dorsolateral and orbital prefrontal cortex during performance of a reward preference task. *Eur J Neurosci*. 18(7): 2069-81
111. Wolf RC, Thomann PA, Sambataro F, Vasic N, Schmid M, Wolf ND (2012). Orbitofrontal cortex and impulsivity in borderline personality disorder: an MRI study of baseline brain perfusion. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 262(8): 677-85
112. Wree A, Schleicher A, Zilles K (1982). Estimation of volume fractions in nervous tissue with an image analyzer. *J Neurosci Methods* 6(1-2): 29-43
113. Zilles K, Amunts K (2009). Receptor mapping: architecture of the human cerebral cortex. *Curr Opin Neurol*. 22(4): 331-9
114. Zilles K, Armstrong E, Schleicher A, Kretschmann HJ (1988). The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anat Embryol (Berl)* 179 (2): 173-

115. Zilles K, Palomero-Gallagher N (2017). Multiple Transmitter Receptors in Regions and Layers of the Human Cerebral Cortex. *Front Neuroanat.* 11: 78
116. Zilles K, Palomero-Gallagher N, Geyer S, Schleicher A (2004). Transmitter receptors and functional anatomy of the cerebral cortex. *J Anat.* 205(6): 417-32
117. Zilles K, Palomero-Gallagher N, Grefkes C, Scheperjans F, Boy C, Amunts K, Schleicher A (2002). Architectonics of the human cerebral cortex and transmitter receptor fingerprints: reconciling functional neuroanatomy and neurochemistry. *Eur Neuropsychopharmacol.* 12(6): 587-99
118. Zilles K, Qü MS, Köhling R, Speckmann EJ (1999). Ionotropic glutamate and GABA receptors in human epileptic neocortical tissue: quantitative in vitro receptor autoradiography. *Neuroscience.* 94(4): 1051-61
119. Zilles K, Schlaug G, Matelli M, Luppino G, Schleicher A, Qü MS, Dabringhaus A, Seitz R, Roland PE (1995). Mapping of human and macaque sensorimotor areas by integrating architectonic, transmitter receptor, MRI and PET data. *J Anat.* 187(Pt 3): 515-37
120. Zilles K, Schleicher A, Langemann C, Amunts K, Morosan P, Palomero-Gallagher N, Schormann T, Mohlberg H, Bürgel U, Steinmetz H, Schlaug G, Roland PE (1997). Quantitative analysis of sulci in the human cerebral cortex: development, regional heterogeneity, gender difference, asymmetry, intersubject variability and cortical architecture. *Hum Brain Mapp.* 5(4): 218-21
121. Zilles K, Schleicher A, Palomero-Gallagher N, Amunts K (2002). Quantitative analysis of cyto- and receptor architecture of the human brain. In: *Mazziotta JC, Toga A (ed). Brain Mapping: The Methods.* USA: Elsevier, p. 573-602

## 9 MAGALI KEIL – CURRICULUM VITAE

### Erfahrung und Qualifikation

Assistenzärztin, Neurologie ..... 05/2018 – laufend  
St. Lukas Klinik, Solingen

Ärztliche Mitarbeiterin ..... 04/2017 – 03/2018  
BetterDoc GmbH, Köln

Studentische Hilfskraft ..... 02/2012 – 03/2017  
Klinisches Zentrallabor, St. Katharinen-Hospital Frechen

### Ausbildung

Humanmedizin, Staatsexamen ..... 10/2010 – 06/2016  
Universität zu Köln

#### Praktisches Jahr:

Chirurgie, St. Elisabeth-Krankenhaus Köln-Hohenlind

Innere Medizin, Marienhospital Brühl

Neurologie, Diakonissenkrankenhaus Flensburg

#### Famulaturen:

Allgemeinmedizin, Hausarztpraxis Köln

Innere Medizin, St. Hubertus-Stift Bedburg

Anästhesie, Clinique Saint Jean, Montpellier, Frankreich

Neurologie, Universitätsklinik Köln

Neurowissenschaften, Bachelor of Science ..... 10/2007 – 09/2010  
Universität zu Köln

Bachelorarbeit: "Zebrafish ora genes show spatially  
restricted expression patterns in the  
olfactory epithelium"

#### Praxissemester:

Laboratory for Motor Learning and Neural Plasticity,

Department of Psychology,

Concordia University, Montreal, Canada

Abitur ..... 06/2007  
Städtisches Gymnasium Ochtrup