

Die Dynamik der Entstehung kolumnärer Systeme in der Sehrinde von Katzen

Eine Studie zum Einfluß visueller Erfahrung und kortikalen
Wachstums

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

- Dr. rer. nat. -

der Fakultät für Biologie

der Universität Bielefeld

vorgelegt von

Stefan Rathjen

aus Lage

Magdeburg und Bielefeld 2000

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Funktionelle Anatomie des visuellen Systems.....	2
1.2 Pränatale Entwicklung des visuellen Kortex	9
1.3 Kolumnäre Organisation des visuellen Kortex.....	11
1.3.1 Okulardominanzkolumnen	12
1.3.2 Entwicklung und Plastizität von Okulardominanzkolumnen	14
1.4 Langreichweitige intraareale Axonsysteme im visuellen Kortex	19
1.4.1 Entwicklung und Plastizität langreichweitiger intraarealer Horizontalverbindungen	22
1.5 Ziele dieser Arbeit.....	26
2. Material und Methoden	27
2.1 Versuchstiere.....	27
2.2 Induktion eines Schielwinkels	27
2.3 Autoradiographie mit 2-Deoxyglukose	28
2.3.1 Applikation der 2-Deoxyglukose und Reizgebung.....	28
2.3.2 Histologische Aufarbeitung	29
2.3.3 Bildverarbeitung und Analyse der Autoradiogramme	30
2.4 Magnetresonanztomographie (MRT).....	34
2.4.1 MRT-Datenaufnahme.....	34
2.4.2 Analyse der MRT-Bilder	35
2.5 Retrogrades Tracing mit Latexmikrosphären.....	36
2.5.1 Applikation der fluoreszierenden Latexmikrosphären	37
2.5.2 Histologische Aufarbeitung	38
2.5.3 Bildverarbeitung und Analyse der markierten Zellen.....	39
3. Ergebnisse	46
3.1 Entwicklung funktioneller Okulardominanzkolumnen bei normalsichtigen und schielenden Katzen	46
3.1.1 Kinetik der Entstehung von Okulardominanzkolumnen.....	46
3.1.2 Periodizität der Okulardominanzkolumnen.....	53
3.2 Postnatales Wachstum der primären Sehrinde (Area 17)	55
3.2.1 Vergleich der Entwicklung von Area 17 und Okulardominanzkolumnenabstand.....	57
3.2.2 Wachstum von Area 17 in Relation zum Körpergewicht	58

3.3 Postnatales Wachstum des Katzenshirns	59
3.3.1 Maximale anteroposteriore Ausdehnung des Telencephalons ...	65
3.3.2 Hirnvolumen	66
3.3.3 Oberfläche des Neokortex	67
3.3.4 Vergleich des Wachstums der Flächen von Area 17 und Neokortex.....	68
3.3.5 Einfluß des Körpergewichts auf das Hirnwachstum	69
3.4 Entwicklung langreichweitiger Horizontalverbindungen in Area 17 bei normalsichtigen und schielenden Katzen	71
3.4.1 Verteilung retrograd markierter Neurone im Corpus geniculatum laterale	71
3.4.2 Verteilung retrograd markierter Neurone in der primären Sehrinde.....	74
3.4.3 Reichweite langreichweitiger Horizontalverbindungen	78
3.4.4 Selektivität langreichweitiger Horizontalverbindungen	80
4. Diskussion	87
4.1 Entwicklung funktioneller Okulardominanzkolumnen und der Einfluß visueller Erfahrung.....	87
4.1.1 Kinetik der Entstehung von Okulardominanzkolumnen.....	87
4.1.2 Periodizität von Okulardominanzkolumnen	91
4.2 Postnatales Wachstum der primären Sehrinde	97
4.2.1 Einfluß des Wachstums auf die Entwicklung der Okulardominanzkolumnen	98
4.3 Postnatales Wachstum des Katzenshirns	102
4.4 Entwicklung langreichweitiger Horizontalverbindungen und der Einfluß visueller Erfahrung.....	104
4.4.1 Anzahl und Reichweite von Horizontalverbindungen	104
4.4.2 Selektivität von Horizontalverbindungen	107
4.5 Zusammenhänge in der Entwicklung von langreichweitigen Horizontalverbindungen und Okulardominanzkolumnen	110
5. Zusammenfassung.....	113
6. Abkürzungsverzeichnis	114
7. Literaturverzeichnis	115

1. Einleitung

Die meisten höheren Organismen haben im Laufe ihrer Evolution einen Lichtsinn entwickelt, also die Möglichkeit, mit Hilfe photorezeptorischer Mechanismen in spezialisierten Sehorganen zeitlich schnelle und räumlich begrenzte Helligkeitsänderungen erfassen zu können. Über die Wahrnehmung von Lichtintensität hinausgehend hat sich eine Vielfalt von Leistungen und Funktionen des Sehens herausgebildet, die sich aus den verschiedenen Parametern des Lichtes und der Anordnung und Struktur der Sinneszellen ergeben. Zu diesen visuellen Leistungen zählen u.a. das Vermögen, Bewegungen innerhalb des Gesichtsfeldes wahrzunehmen, die Unterscheidung der Form von Dingen, die Tiefenwahrnehmung oder das Farbsehen. Die neuronalen Mechanismen, die diesen visuellen Funktionen zugrundeliegen, sind aus mehreren Gründen besonders intensiv untersucht worden. Zum einen gewinnt der Lichtsinn bei den höheren Wirbellosen und den Wirbeltieren zunehmend an Bedeutung, vor allem bei Tintenfischen, Krebsen, Insekten sowie Vögeln und Säugern. So ist das visuelle System bei der Ausführung von Verhaltensweisen wie der Nahrungssuche oder dem Paarungsverhalten von entscheidender Bedeutung. Zum anderen spielt das Sehen im menschlichen Leben eine herausragende Rolle. Es ist als Sinneseindruck im Vergleich zu Modalitäten wie Hören oder Riechen wesentlich besser objektivierbar und begrifflich faßbar. Nicht zuletzt sind auch praktische Gründe ausschlaggebend. Sie liegen in der guten Zugänglichkeit zu diesem sensorischen System durch das natürliche „Fenster“, dem Auge, als einem vorgeschobenen Hirnteil und schließlich am Medium Licht, das durch seine besonders leicht und exakt kontrollierbare Reizgebung große Vorteile bietet.

Untersuchungen des visuellen Systems haben so nicht nur Einblicke in den Lichtsinn ermöglicht, sondern auch wichtige Modelle für die funktionelle Organisation von Nervensystemen überhaupt hervorgebracht. Zu diesen allgemeinen Organisationsprinzipien gehört die Eigenschaft, Neurone nicht diffus, sondern eher zu fest umrissenen Gruppen von anatomischen und funktionellen Modulen zusammenzufassen. So liegen in der primären Sehrinde Neurone gruppiert vor, die auf visuelle Stimulation des einen Auges stärker als auf Stimulation des anderen Auges reagieren. Diese Eigenschaft von Sehrindenneuronen wird als Augen- oder Okulardominanz (OD) bezeichnet (Hubel und Wiesel, 1962). Die entsprechenden Neurone in Regionen alternierender Augendominanz bilden orthogonal zur Kortexoberfläche sogenannte Augendominanz- oder Okulardominanzkolumnen.

Daß Module nicht unbedingt statische, festverdrahtete Gebilde sind, sondern daß auch in ihnen Zellpopulationen, individuelle Neurone und Synapsen um die Durchsetzung ihrer Funktion und z.B. während der Entwicklung ums Überdauern konkurrieren, konnten David Hubel und Torsten Wiesel in ihren wegweisenden

elektrophysiologischen Untersuchungen vor bald vierzig Jahren am Sehsystem der Katze anhand dieser Okulardominanzkolumnen zeigen. Verschließt man einer Katze während der ersten 3-6 Lebenswochen ein Auge, führt dies zu einer Reihe von anatomischen und funktionellen Änderungen innerhalb der Sehbahn des Gehirns. Das geschlossene und damit nicht genutzte Auge entwickelt eine deutlich verminderte Leistungsfähigkeit im Verhältnis zum offenen Auge (Wiesel und Hubel, 1963). Diese Veränderungen sind eher ein Ergebnis eines Wettstreites zwischen den beiden Augen, als nur eine Folge der fehlenden Nutzung. Denn werden beide Augen verschlossen, ist der Grad der kortikalen Umstrukturierung geringer als beim Verschluß nur eines Auges (Wiesel und Hubel, 1965; Übersicht bei Wiesel, 1982). Bis heute ist immer noch unklar wie und auf welcher Ebene sich dieser Wettbewerb zwischen den Augen genau abspielt. Darüber hinaus ist Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion, ob und inwieweit die Ausbildung von OD-Kolumnen visueller Erfahrung oder überhaupt neuronaler Aktivität im visuellen System bedarf.

Diese Arbeit leistet einen Beitrag zum Verständnis der Entwicklung der primären Sehrinde von Katzen nach der Geburt sowie zur Aufklärung des Einflusses modifizierter visueller Erfahrung in dieser Phase der Kortexentwicklung. Hierzu wurde neben der Entstehung von funktionellen OD-Kolumnen die Ausreifung intrinsischer horizontaler Verbindungen, die in der Lage sind derartige Module über große Distanzen zu verknüpfen, untersucht. Besondere Berücksichtigung fand dabei das postnatale Wachstum des Gehirns, ein häufig vernachlässigter, jedoch extrem wichtiger Aspekt in der Entwicklung geordneter Repräsentationen der Umwelt innerhalb der primären Sehrinde.

Im Folgenden werden die für das Verständnis der vorliegenden Untersuchungen notwendigen Grundlagen der Verarbeitung optischer Signale im Gehirn von Säugetieren und insbesondere von Katzen erläutert. Der Schwerpunkt liegt hierbei auf der Beschreibung der Struktur und Funktion der primären Sehrinde.

1.1 Funktionelle Anatomie des visuellen Systems

Im Linsenauge der landlebenden Wirbeltiere passieren die von der Außenwelt reflektierten Lichtstrahlen den dioptrischen Apparat und werden hauptsächlich durch die an das Medium Luft angrenzende Hornhaut (Cornea) gebrochen. Mit Hilfe der Linse wird dann ein invertiertes und stark verkleinertes Abbild auf die im Augenhintergrund befindliche Netzhaut (Retina) fokussiert. In dieser sind außer den Photorezeptoren auch die an den ersten beiden synaptischen Verarbeitungsstufen beteiligten Interneurone schichtweise angeordnet. Die elektromagnetischen Wellen aus dem sichtbaren Anteil des Spektrums werden von den Photorezeptoren der Netzhaut (Stäbchen und Zapfen) über eine biochemische Kaskade, die Phototransduktion, in elektrische Signale umgewandelt (Übersicht bei Müller und Kaupp, 1998). Daraufhin werden die Signale in Form von exzitatorischen und/oder inhibitorischen postsynaptischen Potentialen von

drei Klassen von Interneuronen, den Horizontal-, Bipolar- und Amakrinzellen, verarbeitet und über die Bipolarzellen an die Ganglienzellen weitergeleitet (Übersichten bei Wässle und Boycott, 1991; Masland, 1996). Nur die Amakrinzellen und die Ganglienzellen als Ausgangsneurone der Retina bilden große Aktionspotentiale. Jede Ganglienzelle wird durch Lichtstimulation der Photorezeptoren in einem bestimmten konzentrischen Areal der Netzhaut, das als rezeptives Feld des betreffenden Neurons bezeichnet wird, entweder erregt (Aktivitätssteigerung) oder gehemmt (Aktivitätserniedrigung). Schon die Ganglienzellen ignorieren im Gegensatz zu den Photorezeptoren die absolute Lichtstärke und bevorzugen kleine Licht- oder Dunkelpunkte innerhalb des Zentrums ihres rezeptiven Feldes. Sie sind in der Lage, Kontraste innerhalb ihres rezeptiven Feldes zu messen, indem sie die Beleuchtung in Zentrum und Peripherie miteinander vergleichen (Zentrum-Peripherie-Antagonismus).

Das Ausmaß der bereits in der Retina stattfindenden Verarbeitung variiert je nach Tierart. Komplex gebaute Netzhäute kommen gleichermaßen bei Säugern (z.B. Kaninchen) wie bei niederen Vertebraten (z.B. Frösche) vor. Daß höhere Säugetiere wie Katzen und Primaten dagegen relativ einfache Netzhäute besitzen, wird als Ausdruck einer Tendenz betrachtet, die weitere komplexe Auswertung aus der Peripherie in zentralere Orte (insbesondere die Hirnrinde) zu verlagern, an denen auch mehr Wechselwirkungen mit anderen Schaltkreisen möglich sind (siehe Masland, 1996).

Der auf die Netzhäute abgebildete Ausschnitt der Umwelt, der ohne Bewegung des Kopfes mit fixierenden Augen wahrgenommen wird, wird als visuelles Feld (Gesichtsfeld) bezeichnet, dessen Mittellinie durch die Nase markiert wird. Das linke Halbfeld bildet sich auf der nasalen Retina des linken Auges und der temporalen Retina des rechten Auges ab. Das rechte Halbfeld ist auf der nasalen Retina des rechten und der temporalen Retina des linken Auges repräsentiert. Die Grenze der beiden Halbfelder wird als vertikaler Meridian bezeichnet. Bei frontal stehenden Augen kommt es zu einer Überlappung der beiden visuellen Felder der Retinae, wodurch eine binokulare Zone entsteht. Die monokularen Zonen sind jeweils in den nasalen Bereichen der Retinae abgebildet. Abbildung 1.1 zeigt die Situation beim Menschen. Die Axone der Ganglienzellen laufen am sogenannten blinden Fleck zusammen und bilden dort den optischen Nerv. Die Nerven der beiden Augen treffen am Chiasma opticum aufeinander, wo es bei den meisten Säugetieren zu einer teilweisen Überkreuzung der Sehnervenfasern in der Form kommt, daß die Fasern von Ganglienzellen, deren rezeptive Felder in der linken Gesichtsfeldhälfte liegen, zur rechten Hirnhemisphäre ziehen und umgekehrt. Dies bedeutet, daß die Fasern aus der temporalen Retina das Chiasma ungekreuzt passieren, während die nasalen Anteile der Retina im Chiasma kreuzen. Auf diese Weise leiten die so entstandenen optischen Trakte (bei der Katze 10^5 , beim Menschen 10^6 Fasern) die Repräsentation der jeweils kontralateralen Gesichtsfeldhälfte weiter. Für Primaten liegt das Verhältnis von kreuzenden zu nicht-kreuzenden Fasern bei ungefähr 1:1, bei Katzen bei ungefähr 3:1. Der Anteil der nicht-kreuzenden (ipsilateralen) Fasern nimmt mit zunehmend lateraler Position der Augen ab. So liegt dieser Anteil bei Nagetieren bei nur noch 1-3% (Übersicht bei Garey et al.,

1991). Bei den niederen Wirbeltieren mit ihren häufig seitlich am Kopf sitzenden Augen überkreuzen sich die beiden Sehnerven am Chiasma opticum vollständig und ziehen jeweils zur kontralateralen Seite.

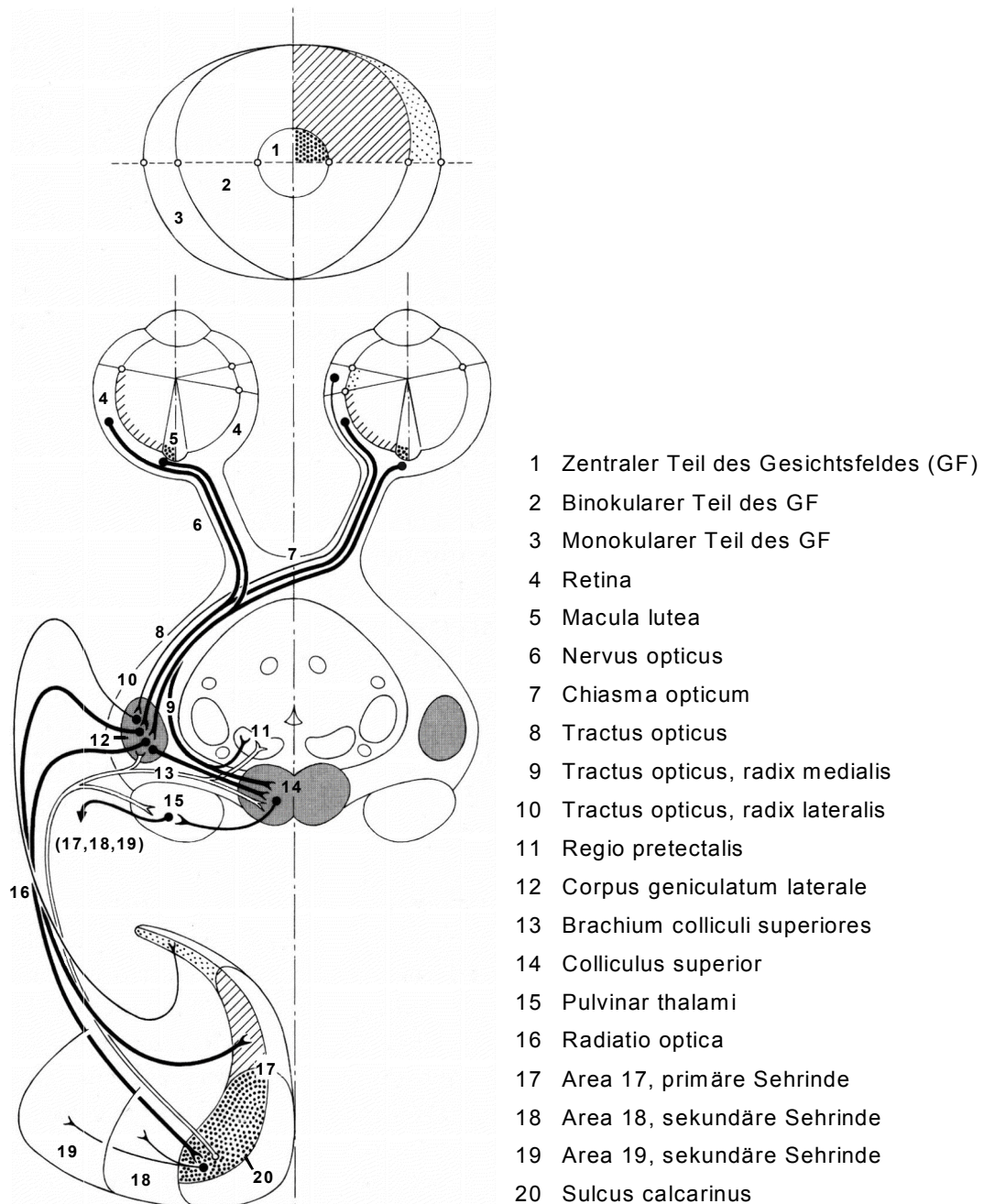


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Sehbahn des Menschen, die in ihren Stationen der Situation bei der Katze entspricht. Eingezeichnet ist der Verlauf der Fasern von der Retina, die die Information aus dem rechten oberen Quadranten des Gesichtsfeldes weiterleiten. Maßgebend für die Sinneswahrnehmung ist die retinogenikulokortikale Projektion. Ausgefüllte Verbindungen stellen afferente, offene efferente Fasern dar (nach Nieuwenhuys et al., 1991).

Im wesentlichen erhalten drei subkortikale Areale direkte Eingänge aus der Retina: Das Corpus geniculatum laterale (CGL), der Colliculus superior und die prätektale Region des Hirnstammes (Abb. 1.1). Bei Säugetieren endet die Mehrheit der retinalen Axone im CGL, einem Kern des Thalamus, der vorrangig visuelle Information verarbeitet, die letztlich den Sinneseindruck hervorruft. Der Colliculus superior und die prätektale Region hingegen steuern reflektorische Begleitprozesse der visuellen Wahrnehmung, wie z.B. Pupillenreflexe oder Augenbewegungen.

Im CGL terminieren die Fasern des optischen Traktes in verschiedenen Schichten (Übersicht bei Garey et al., 1991). Bei der Katze gibt es im CGL fünf Schichten, die retinale Eingänge erhalten (Abb. 1.2). Die kreuzenden Fasern der kontralateralen nasalen Retina enden in den Schichten A, C und C2, die aus der ipsilateralen temporalen Retina in den Schichten A und A1 (Guillery, 1970; Hickey und Guillery, 1974). Die Trennung der beiden Augen bleibt somit trotz der unvollständigen Kreuzung im Chiasma erhalten. Schaut man bei der Katze auf die Verteilung der synaptischen Terminalien im CGL, so zeigt sich, daß die retinalen Afferenzen nur ca. 12% der Terminalien stellen. Die übrigen Synapsen stammen von lokalen Interneuronen sowie von Projektionen aus dem Kortex oder verschiedenen Hirnstammkernen. Bei den Relaisneuronen, die weiter zur primären Sehrinde projizieren, liegt der Anteil der retinalen Terminalien sogar nur bei ca. 7% (Erisir et al., 1998; Van Horn et al., 2000). Im CGL wird somit das retinale Signal nicht einfach nur zum Kortex umgeschaltet sondern variabel und dynamisch kontrolliert und moduliert (siehe z.B. Sherman und Guillery, 1996).

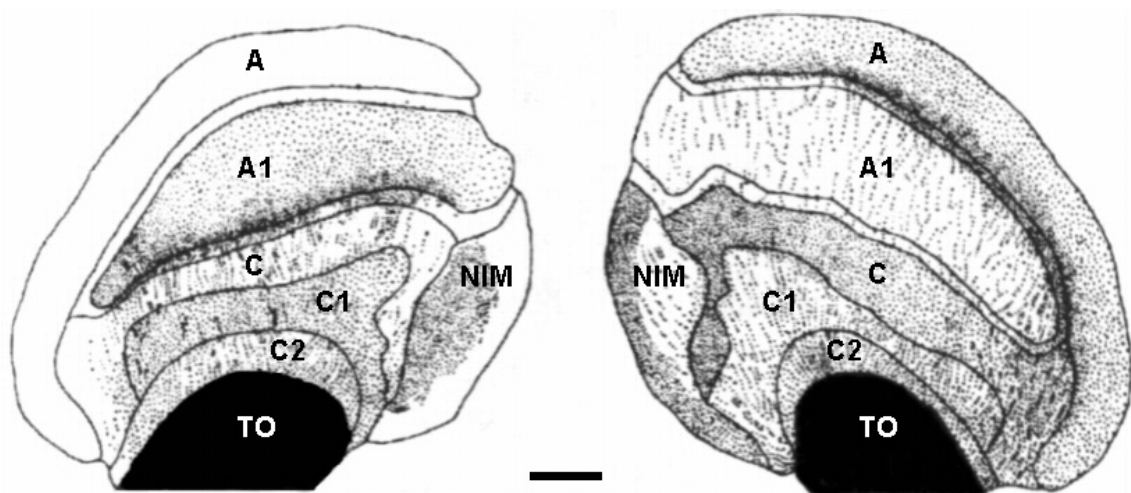


Abbildung 1.2: Zeichnungen von koronaren Schnitten durch das CGL einer Katze nach der Entfernung eines Auges. Dargestellt sind die degenerierten Axone (schwarze Punkte). Der linke Schnitt liegt ipsilateral, der rechte Schnitt kontralateral zum enukleierten Auge. Die Trennung der Afferenzen beider Augen im CGL wird durch die Schichtung aufrechterhalten. Die Laminae A, A1, C, C1 und C2 sind bezeichnet. TO, Tractus opticus; NIM, Nucleus interlaminaris medialis. Maßstab = 500 µm (nach Guillery, 1970).

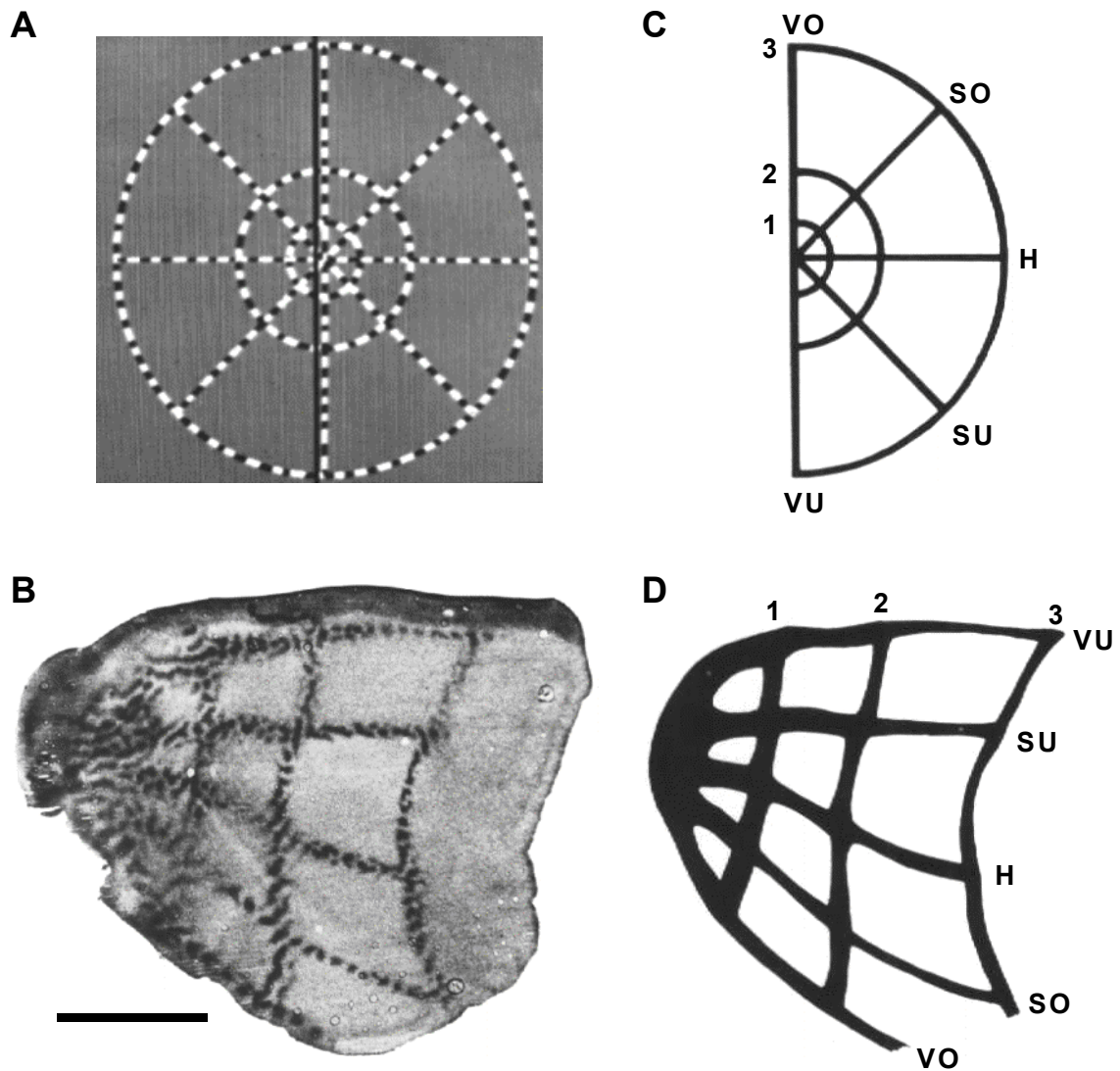


Abbildung 1.3: Retinotopie Abbildung des Gesichtsfeldes in der primären Sehrinde eines Makaken mit Hilfe der Deoxyglukose-Technik. **A:** Darstellung des auf die Fovea eines Auges zentrierten flimmernden Reizes. **B:** Autoradiographische Darstellung des durch den Reiz erzeugten Aktivitätsmusters in einem oberflächenparallelen Schnitt der linken primären Sehrinde. Die Fovea ist links, die Peripherie rechts repräsentiert. **C:** Schematische Darstellung der Verteilung des Reizes in der rechten Gesichtsfeldhälfte. **D:** Schematische Darstellung des Aktivitätsmusters in der linken Sehrinde, um die Verzerrung der Abbildung der Retina auf den Kortex zu illustrieren. Die zentralen Gesichtsfeldanteile sind deutlich vergrößert repräsentiert. Aufgrund der monokularen Reizung sind zusätzlich Okulardominanzkolumnen zu erkennen (siehe 1.3). 1, 2 und 3 sind die Ringe des Reizes bei 1° , $2,3^\circ$ und $5,4^\circ$ im Gesichtsfeld. VO, vertikal oben; SO, schräg oben; H, horizontaler Median; SU, schräg unten; VU vertikal unten. Maßstab = 1 cm (nach Tootell et al., 1988).

Bei der Termination bleibt die visuotop Repräsentation des Gesichtsfeldes im CGL erhalten (Sanderson, 1971): Benachbarte Punkte in der Retina entsprechen benachbarten Orten im CGL. Diese als Retinotopie bezeichnete Anordnung bleibt auch im Projektionsgebiet des CGL, der primären Sehrinde, bestehen (siehe Abb. 1.3). Innerhalb des CGL liegen die Zellen, die den gleichen Ausschnitt des Gesichtsfeldes verarbeiten und rezeptive Felder in korrespondierenden Netzhautarealen haben, in den verschiedenen Schichten übereinander (Hubel und Wiesel, 1962, 1972). Aufgrund der höheren Ganglienzelldichte im Bereich der Fovea, dem Ort der größten Sehschärfe in der Retina und der damit verbundenen kleineren rezeptiven Felder sind im CGL und den anderen retinotop organisierten visuellen Hirnrindenarealen die zentralen Gesichtsfeldanteile überproportional repräsentiert (Abb. 1.3).

Die Axone der Relaisneurone verlassen das CGL dorsal und ziehen in der Sehstrahlung (Radiatio optica) zur jeweils ipsilateralen primären Sehrinde (primärer visueller Kortex, Abb. 1.1), der Area 17 (nach Brodmann, 1909). Die primäre Sehrinde wird auch als Area striata bezeichnet, weil sie bei Primaten den Gennari-Streifen enthält, eine makroskopisch sichtbare Lage myelinisierter Fasern, die die innere granuläre Schicht (IV) unterteilt. Weitere Projektionsorte bei der Katze sind die extrastriären visuellen Areale 18, 19 und der laterale suprasylvische Kortex. Die Area 17 liegt bei Katzen an der dorsomedialen Seite des Okzipitalpols des Gehirns, wobei der größere Teil der Area 17 im Interhemisphärenspalt verborgen liegt (Abb. 1.4).

Unter Beibehaltung der Retinotopie und der Anisotropie der Gesichtsfeldrepräsentation wird der untere Teil des Gesichtsfeldes anterior und der obere posterior abgebildet. Der zentrale Teil der Area 17 befindet sich bei der Katze dorsal in der Nähe der Verbindung der Gyri lateralis und posterolateralis. Der horizontale Meridian verläuft quer zum Interhemisphärenspalt über den Gyrus lateralis bis zum mittleren Abschnitt des Sulcus splenialis. Der vertikale Meridian ist hingegen in anteroposteriorer Richtung entlang der Area 18 lokalisiert (Abb. 1.4; Tusa et al., 1978, 1979).

Die Projektion aus dem CGL und andere Afferenzen zum Kortex bilden die Eingänge zu komplexen Schaltkreisen, die aus den kortikalen Neuronen und ihren Projektionen zu Zielen innerhalb und außerhalb des Kortex bestehen. Aufgrund ihrer Morphologie lassen sich in der Sehrinde drei grundsätzliche Typen von Neuronen identifizieren: 1. Große Pyramidenzellen mit langen, bedornten Dendriten. Sie sind exzitatorisch (Neurotransmitter Glutamat) und projizieren zu anderen Kortexarealen aber auch zu Neuronen innerhalb des Areals und subkortikalen Zielgebieten. 2. Kleinere Sternzellen mit bedornten Dendriten. Sie sind ebenfalls exzitatorisch (Glutamat). 3. Kleinere Sternzellen mit glatten (dornenfreien) Dendriten. Sie sind inhibitorisch und verwenden GABA als Transmitter. Beide Sternzelltypen sind lokale Interneurone, deren Axone auf die primäre Sehrinde beschränkt bleiben. Diese drei Grundtypen können ihrerseits wieder in verschiedene Subklassen und Erscheinungsformen unterteilt werden.

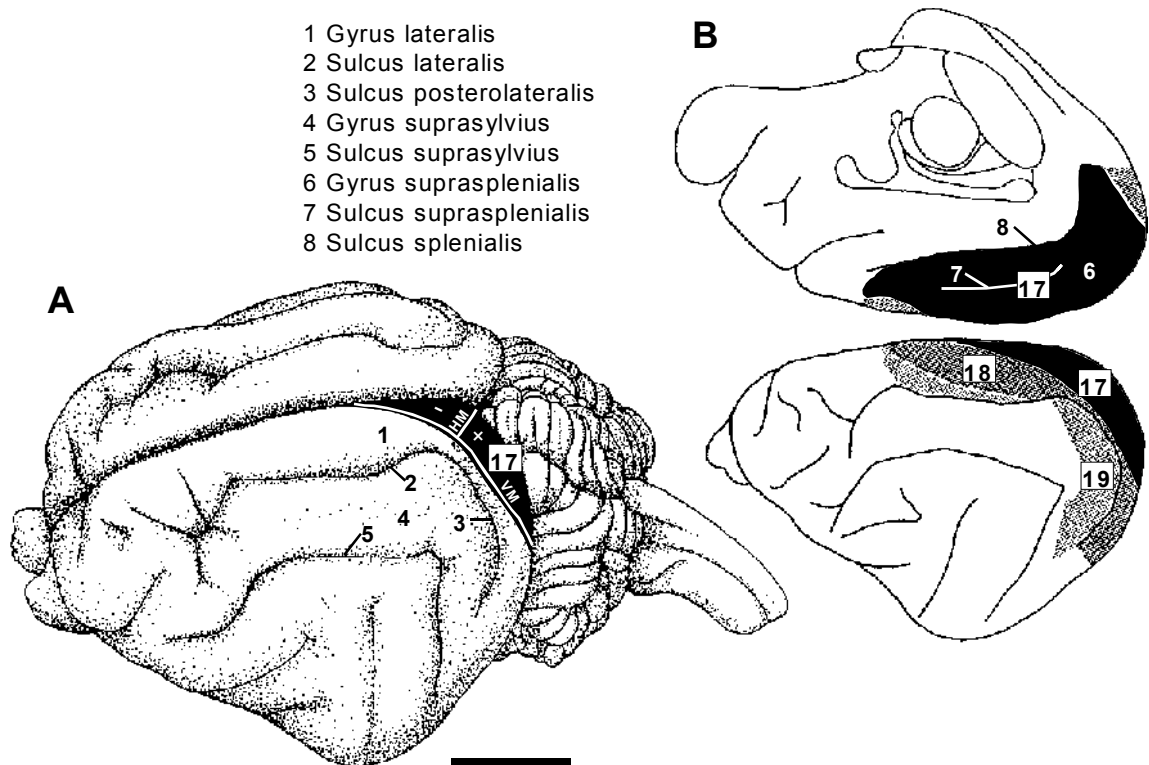


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung des Katzenhirns mit Bezeichnung der Lage der Sehrinde (Areae 17-19). **A:** Repräsentation des rechten Gesichtsfeldes in der linken Area 17 (schwarz) in dorsolateraler Ansicht. Die untere Gesichtsfeldhälfte (-) ist anterior, die obere (+) posterior abgebildet. Der vertikale Meridian (VM) verläuft entlang der Grenze zu Area 18. Der horizontale Meridian (HM) verläuft quer zum Interhemisphärenspalt bis zum Sulcus splenialis. **B:** Die Lage der Sehrinde in medialer (oben) und lateraler (unten) Ansicht des Gehirns. Der größte Teil der Area 17 liegt im Interhemisphärenspalt verborgen. Anzumerken ist, daß die Lage der Sulci vom Kortextyp abhängt (siehe Otsuka und Hassler, 1962) und darüber hinaus individuell variiert. Maßstab = 1 cm (A nach Tusa et al., 1978; B nach Tusa et al., 1979).

Die Neurone sind im visuellen Kortex, wie in allen Arealen des Neokortex, in sechs Schichten organisiert. Die auch als granulär bezeichnete Schicht IV tritt dabei in Area 17, einem primär sensorischen Areal, als die Haupteingangsschicht für die thalamokortikalen Afferenzen hervor. Ähnlich der Situation der retinalen Afferenzen im CGL stellen die thalamischen Axone jedoch nur einen kleinen Teil der synaptischen Terminalien in Schicht IV. Sie bilden nur ca. 6% der exzitatorischen Synapsen an den bedornten Sternzellen in der Eingangsschicht (Ahmed et al., 1994). Die übrigen exzitatorischen Eingänge stammen überwiegend von bedornten Sternzellen in Schicht IV selbst oder Pyramidenzellen aus Schicht VI. Synaptischen Eingang aus dem CGL erhalten auch Neurone in Schicht VI. Den weiteren Verlauf der Erregungsleitung im visuellen Kortex der Katze faßt Abbildung 1.5 zusammen (Übersichten bei Gilbert, 1983; Lund, 1988).

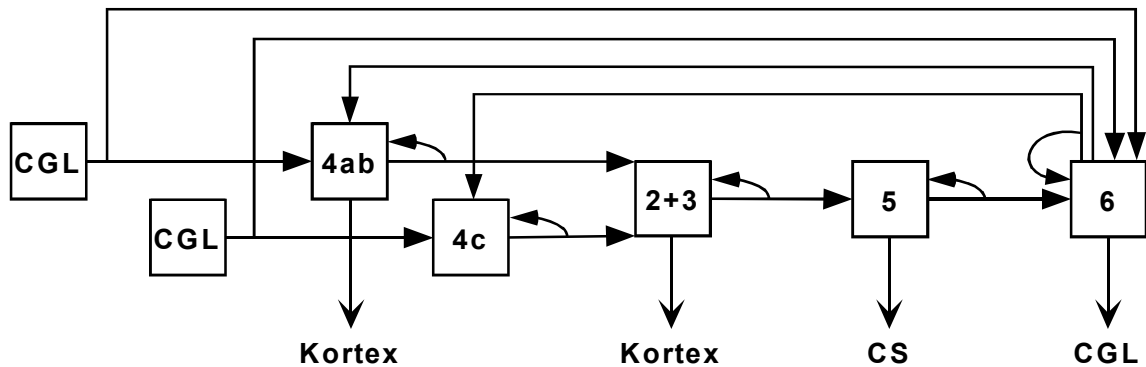


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung des grundlegenden exzitatorischen Verschaltungsmusters in der primären Sehrinde der Katze. Die thalamischen Afferenzen terminieren in Schicht IV. Von dort aus verteilt sich die Information auf verschiedenen Wegen vertikal und horizontal innerhalb der Area 17 und weiter zu höheren kortikalen Arealen. Rückprojektionen zum Colliculus superior (CS) und zum CGL stammen aus den Schichten V und VI (nach Gilbert, 1983).

Die oberflächennahen, supragranulären Schichten erhalten Eingänge aus dem Pulvinar (siehe Abb. 1.1). Eine Reihe von Neuronen der Schichten II/III und V bezieht zudem Projektionen aus anderen kortikalen Arealen. Die wesentlichen Ausgänge aus der primären Sehrinde sind ebenfalls in Abb. 1.5 dargestellt. Während die Axone der Sternzellen in Schicht IV auf Area 17 beschränkt bleiben, projizieren die Pyramidenzellen in den Schichten II/III auch in die weiteren Kortexareale. Axone aus den Schichten V und VI sind für die Rückprojektionen zum Colliculus superior und zum CGL verantwortlich (Übersichten bei Gilbert, 1983; Lund, 1988).

1.2 Pränatale Entwicklung des visuellen Kortex

Bevor in den weiteren Abschnitten die Organisation des visuellen Kortex und seine postnatale Entwicklung eingehender beschrieben wird, soll an dieser Stelle als Basis die pränatale Entwicklung der primären Sehrinde und das Einwachsen der thalamokortikalen Afferenzen kurz umrissen werden.

Die Genese der für den visuellen Kortex vorgesehenen Neurone beginnt wie in allen Teilen des Nervensystems bereits früh in der pränatalen Entwicklung. Die kortikalen Neurone werden in der Ventrikelwand generiert und wandern dann entlang der Fortsätze von Radiärgliazellen an ihren eigentlichen Bestimmungsort. Dieser Prozeß ist schichtspezifisch und läuft nach einer festen Reihenfolge ab (Übersicht bei Sanderson, 1991). Tabelle 1.1 zeigt die Situation bei der Katze. Zuerst werden die Neurone der Schicht I und die der subkortikalen Platte generiert (Luskin und Shatz, 1985a). Erst nach ihrer Ankunft im zukünftigen Kortex folgen die Neurone der übrigen Schichten, zunächst die Neurone der unteren Kortexschichten und anschließend die Zellen der oberen Schichten (Luskin und Shatz, 1985b). Die einwandernden Neurone der

Schichten II-VI, die die sogenannte kortikale Platte bilden, positionieren sich dabei zwischen den beiden schon sehr früh entstandenen Kompartimenten und werden dann von der jeweils nachfolgenden Zellgeneration heruntergedrückt. Eine Vielzahl der Neurone aus Schicht I und subkortikaler Platte sind dabei nur transient während der Entwicklung vorhanden und sterben noch vor der vollständigen Ausreifung des Kortex wieder ab.

Tabelle 1.1: Zeitpunkte der Neurogenese und Ankunft der Neurone im Kortex in den verschiedenen Schichten der primären Sehrinde der Katze. Die Tragzeit beläuft sich auf 65 Tage. E, Embryonaltag; P, Postnataltag (nach Luskin und Shatz, 1985a,b; Shatz und Luskin, 1986).

Schicht	Geburt der Neurone	Ankunft der Neurone im Kortex
I	E24 - E28	ca. E40
II/III	E46 - E56	ca. P1 - P25
IV	E39 - E42	ca. E57
V	E35 - E39	ca. E50
VI	E31 - E35	ca. E45
subkortikale Platte	E24 - E30	ca. E40

Die Etablierung der kortikalen Schichten erstreckt sich bei der Katze über einen sehr großen Zeitraum. Während die ersten beiden Kompartimente (Schicht I, subkortikale Platte) schon früh pränatal ausreifen, sind die Zellen der kortikalen Platte erst in der 3. oder 4. postnatalen Woche in einem dem erwachsenen Zustand vergleichbaren Arrangement angeordnet.

Bei der Katze erreichen die thalamischen Afferenzen das Telencephalon im Bereich des visuellen Kortex etwa ab Embryonaltag 35 (E35), wachsen jedoch nicht vor E60, also etwa fünf Tage vor der Geburt in die kortikale Platte ein, da vorher ihre Zielneurone in Schicht IV den Kortex noch gar nicht erreicht haben (Shatz und Luskin, 1986; Tab. 1.1). Dieses Einwachsen der thalamokortikalen Axone erstreckt sich über einen Zeitraum bis nach der Geburt. Erst mit der dritten postnatalen Woche entspricht das laminare Muster der Afferenzen dem von adulten Tieren (LeVay et al., 1978).

1.3 Kolumnäre Organisation des visuellen Kortex

Wie bereits zu Beginn der Einleitung erwähnt ist die Gruppierung von Neuronen zu anatomischen oder funktionellen Modulen ein Grundprinzip der Organisation von Nervensystemen. Schon Ende des 19. Jahrhunderts fiel in Untersuchungen an Kresylviolett-gefärbten und versilberten Schnitten durch den Neokortex neben der horizontalen Schichtung die Anordnung der Zellen in Säulen senkrecht zur Oberfläche auf. Durch die Verfeinerung neurophysiologischer Ableittechniken konnten in den 1950er Jahren kleinere Verbände von Neuronen untersucht werden. Dies schaffte die Grundlage für die Arbeiten von Mountcastle (1957), der den Begriff der "Kolumne" zunächst für den somatosensorischen Kortex einführte, und die Untersuchungen von Hubel und Wiesel (1962) am visuellen Kortex. Deren Untersuchungen waren Anstoß zur eingehenden Erforschung der funktionellen Anatomie einzelner Kortexareale, die zusammen mit den viel älteren morphologischen Daten zum Konzept der modulären Organisation der Großhirnrinde führten (Übersicht z.B. bei Mountcastle, 1997).

Kennzeichnend für Neurone innerhalb eines solchen vertikalen Modules, das sich durch alle Schichten des Kortex erstreckt, ist die Ähnlichkeit ihrer physiologischen Eigenschaften. Die Gruppierung der Neurone erfolgt hierbei mehrheitlich durch dominierende externe Eingänge, was besonders in den sensorischen Arealen deutlich wird. Im primären visuellen Kortex zeigen in einer Kolumne liegende Neurone übereinstimmende Antwortigenschaften. Hubel und Wiesel (1962, 1963a) konnten zeigen, daß die Neurone in einer solchen Kolumne sich bevorzugt durch die Stimulation eines Auges aktivieren lassen. Neben dieser Augendominanz besitzen die Neurone eine Orientierungsselektivität, d.h. sie lassen sich bevorzugt von kanten- oder balkenförmigen Reizen einer bestimmten Orientierung aktivieren. Auf Reize anderer Orientierungen reagieren sie dagegen schwächer oder gar nicht. Parallel zu den kortikalen Schichten verändern sich die Augendominanz und die Orientierungsselektivität systematisch. Benachbarte Kolumnen weisen ähnliche Selektivitäten auf und beide Eigenschaften ändern sich fortschreitend mit dem Ort der Neurone im Kortex. In gleichmäßigem Abstand findet man so Neurone, die gleiche Orientierungspräferenzen aufweisen oder die vom gleichen Auge dominiert werden (Modell siehe Hubel und Wiesel, 1977). In einer Ebene parallel zu den kortikalen Schichten bilden Okulardominanz- oder Orientierungskolumnen daher ein grob periodisches Muster, sogenannte kortikale Karten (Übersicht bei LeVay und Nelson, 1991).

In den letzten Jahren gab es zahlreiche Hinweise, daß neben der Selektivität für eines der beiden Augen und eine bestimmte Reizorientierung die Neurone des visuellen Kortex der Katze auch in bezug auf weitere Reizparameter in Kolumnen organisiert sind. Hierzu zählen die Farbe (Dyck und Cynader, 1993; Murphy et al., 1995), die Bewegungsrichtung (z.B. Tolhurst et al., 1981; Swindale et al., 1987; Shmuel und Grinvald, 1996) oder die Ortsfrequenz (z.B. Tootell et al., 1981; Shoham et al., 1997). Die funktionellen Karten scheinen dabei häufig nicht unabhängig voneinander arrangiert

zu sein. Insbesondere durch die Fortschritte beim optischen Ableiten intrinsischer Signale (siehe Bonhoeffer und Grinvald, 1996) konnten eine Reihe von räumlichen Beziehungen zwischen den verschiedenen funktionellen Karten auch im visuellen Kortex der Katze gefunden werden (z.B. Crair et al., 1997a,b; Hübener et al., 1997; Löwel et al., 1998; Kim et al., 1999).

1.3.1 Okulardominanzkolumnen

Neben der retinotopen Organisation bleibt in der Eingangsschicht der primären Sehrinde auch die Trennung der thalamischen Afferenzen der beiden Augen erhalten. Die ausgehenden Axone der Relaisneurone der augenspezifischen CGL-Schichten bündeln sich und projizieren jeweils zu räumlich getrennten Aggregaten von Sternzellen in Schicht IV. Diese Neurone sind daher mehrheitlich durch Stimulation eines Auges (monokular) aktivierbar. Diese deutliche Trennung wird in den supra- und infragranulären Schichten aufgehoben, so daß hier die meisten Neurone über beide Augen (binokular) erregt werden können. Trotzdem dominiert gewöhnlich das Auge, welches die Zellen in Schicht IV erregt, auch in den angrenzenden Schichten, so daß senkrecht zur Kortexoberfläche eine Okulardominanzkolumne entsteht (Hubel und Wiesel, 1962). Die Eingangsspezifität der Afferenzen ist somit das strukturelle Korrelat für die Augendominanz der Neurone im visuellen Kortex. Die Topographie des durch die alternierenden OD-Kolumnen entstehenden Musters wurde zunächst bei Makaken mit Hilfe kleiner Läsionen in einer CGL-Schicht demonstriert (z.B. Hubel und Wiesel, 1969, 1972). Die von der betroffenen Schicht ausgehenden Terminalien in Schicht IV degenerierten und wechselten mit unversehrten Terminalbereichen in einer Streifencharakteristik ab. Später konnten die thalamokortikalen Afferenzen in Schicht IV direkt durch den transneuronalen Transport einer mit Tritium markierten Aminosäure (vorzugsweise Prolin), die in den Vitreus eines Auges injiziert wird, markiert und autoradiographisch nachgewiesen werden (Methode siehe Grafstein, 1971; Makaken: z.B. Wiesel et al., 1974; Katze: z.B. Shatz et al., 1977; LeVay et al., 1978; Shatz und Stryker, 1978). Bei normalsichtigen erwachsenen Katzen zeigen die so visualisierten Okulardominanzkolumnen im Hirnschnitt parallel zur Kortexoberfläche eine fleckige und z.T. bändrige Struktur (Löwel und Singer, 1987; siehe auch Anderson et al., 1988). Die 2-Deoxyglukose-Technik (Sokoloff et al., 1977; Details zur Methode siehe 2.3) ermöglichte es dann, die OD-Kolumnen durch alle Schichten hindurch funktionell darzustellen (Makaken: z.B. Kennedy et al., 1976; Katze: z.B. Tieman und Tumosa, 1983). Diese durchgehenden funktionellen OD-Kolumnen korrespondieren mit den anatomisch zu markierenden OD-Kolumnen in Schicht IV (Abb. 1.6; Löwel und Singer, 1993b). So ergibt sich auch mit der 2-Deoxyglukose-Technik im Hirnschnitt parallel zur Kortexoberfläche ein grob periodisches Muster alternierender OD-Kolumnen. Abbildung 1.7 zeigt dies exemplarisch für die primäre Sehrinde bei der Katze.

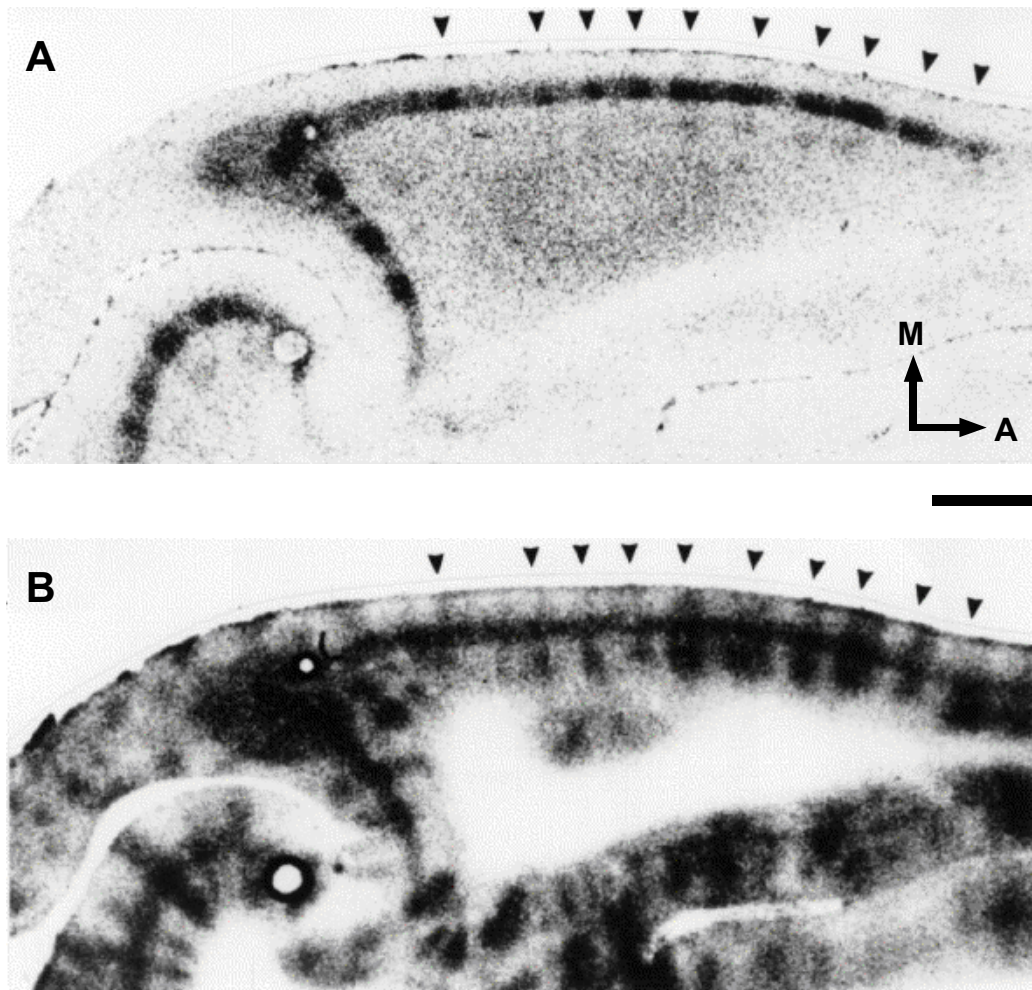


Abbildung 1.6: OD-Kolumnen in der primären Sehrinde einer wachen (schielenden) Katze dargestellt mit $[^3\text{H}]$ -Prolin- und $[^{14}\text{C}]$ -2-Deoxyglukose-Autoradiographie. Vergleich der OD-Kolumnen in einem Horizontalschnitt durch die rechte Sehrinde. **A:** Autoradiogramm nach transneuronaalem Transport von $[^3\text{H}]$ -Prolin injiziert ins rechte (ipsilaterale) Auge. **B:** Autoradiogramm der $[^{14}\text{C}]$ -2-Deoxyglukose-Markierung nach monokularer Stimulation durch das rechte Auge. Die funktionell markierten Kolumnen stimmen mit den anatomisch markierten Territorien des rechten Auges in Schicht IV überein (Pfeilspitzen). A, anterior; M, medial. Maßstab = 2 mm (nach Löwel und Singer, 1993b).

Die typische Wellenlänge des Kolumnenmusters, d.h. der Abstand zwischen den Kolumnen gleicher Augendominanz in Area 17, beträgt ca. 0,8-1,1 mm (Shatz et al., 1977; Swindale, 1988; Diao et al., 1990; Löwel, 1994). Voraussetzung für die 2-Deoxyglukose-Markierung eines OD-Kolumnenmusters bei normalsichtigen Tieren scheint jedoch der Wachzustand zu sein. Unter Anästhesie bleibt bei monokularer Stimulation eine selektive Markierung aus. Dies deutet auf einen Mechanismus bei normalsichtigen Tieren hin, der nur im wachen Tier die kortikale Aktivierung auf die Territorien beschränkt, die Afferenzen vom offenen Auge erhalten (Löwel und Singer, 1993a,b).

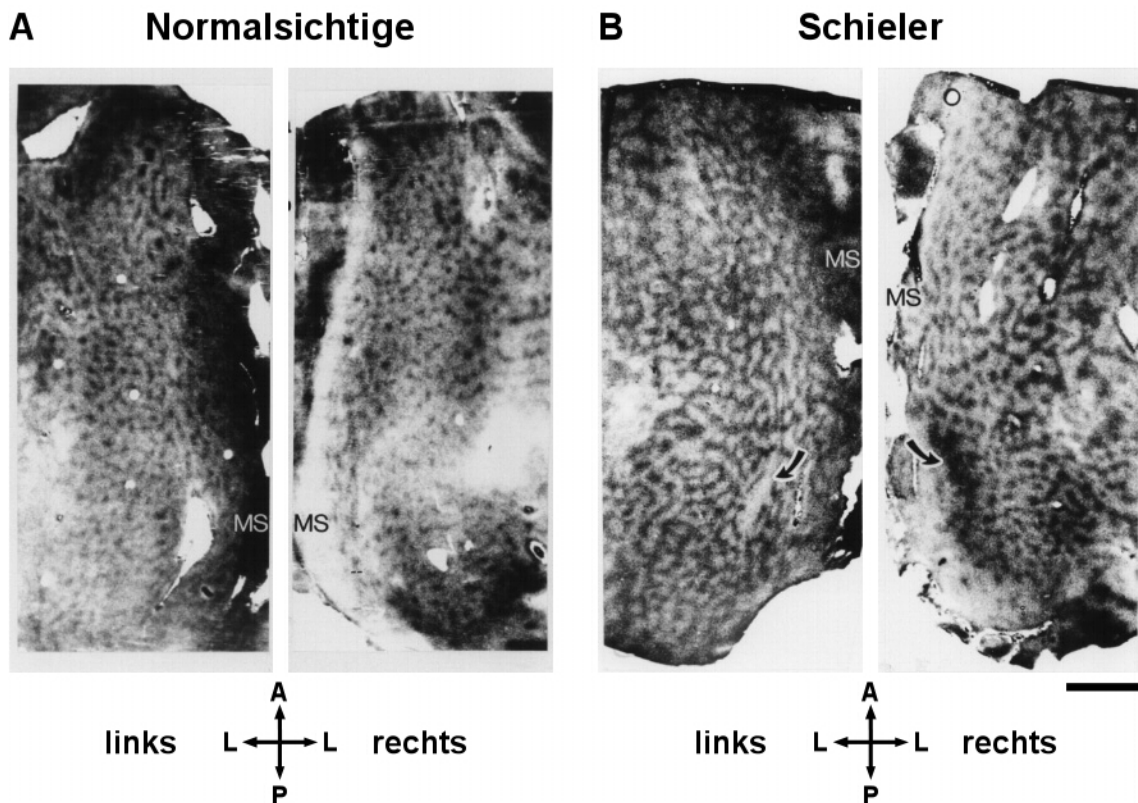


Abbildung 1.7: OD-Kolumnen in der primären Sehrinde einer normalsichtigen (**A**) und divergent schielenden Katze (**B**) markiert mit $[^{14}\text{C}]$ -2-Deoxyglukose. Autoradiogramme von supragranulären Horizontalschnitten aufgefalteter Hemisphären. Die wachen Tiere wurden durch das rechte Auge stimuliert. Die aktiven (dunkles grau) und inaktiven (helles grau) Territorien sind klar abzugrenzen. Die Trennung ist bei Schielern jedoch ausgeprägter. Die monokularen Segmente (MS) fallen durch ihre einheitliche Markierung am medialen Rand der Area 17 auf (ipsilateral hell, kontralateral dunkel). In den Sehrinden des schielenden Tieres sind zusätzlich die Repräsentationen des blinden Fleckes zu erkennen (Pfeile). A, anterior; L, lateral; P, posterior. Maßstab = 5 mm (nach Löwel und Singer, 1993b).

1.3.2 Entwicklung und Plastizität von Okulardominanzkolumnen

Die noch bis nach der Geburt (siehe 1.2) bei der Katze in Area 17 einwachsenden thalamokortikalen Afferenzen der beiden Augen zeigen in Schicht IV in den ersten Lebenswochen eine ausgedehnte Überlappung (LeVay et al., 1978). Die beim erwachsenen Tier vorliegende Segregation der Terminalien der Afferenzen in alternierende OD-Kolumnen (LeVay und Gilbert, 1976; Shatz et al., 1977; Shatz und Stryker, 1978) bildet sich erst langsam heraus (LeVay et al., 1978). Abbildung 1.8 zeigt diesen Entwicklungsprozess. Er beginnt in der dritten postnatalen Woche, also nach dem Öffnen der Augen gegen Ende der zweiten Woche, und ist ungefähr erst zum Ende der achten postnatalen Woche abgeschlossen (LeVay et al., 1978).

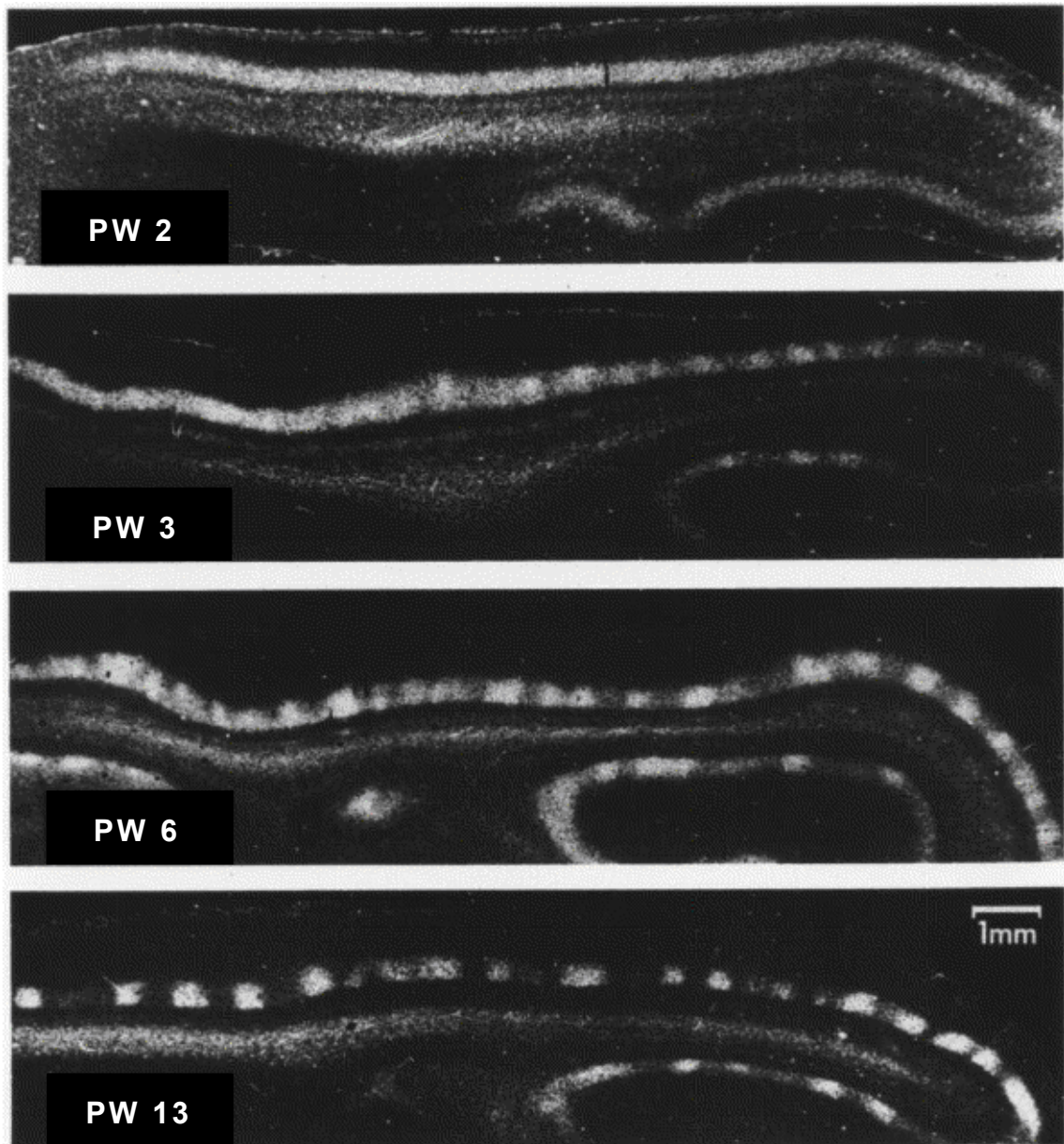


Abbildung 1.8: Postnatale Entwicklung der Okulardominanzkolumnen bei der Katze. Dunkelfeld-Autoradiogramme von Horizontalschnitten der primären Sehrinde ipsilateral zu einem [^3H]-Prolin-injizierten Auge zu vier verschiedenen Zeitpunkten nach der Geburt. Die thalamokortikalen Afferenzen des injizierten Auges sind durch transneuronalen Transport markiert (oben ist medial, links ist anterior). **PW 2:** Im Alter von 2 Wochen ist die Markierung in Schicht IV einheitlich. Die Afferenzen des markierten Auges überlappen vollständig mit den unmarkierten Afferenzen des kontralateralen Auges. **PW 3:** Im Alter von 3 Wochen werden leichte Fluktuationen in der Markierungsdichte deutlich. **PW 6:** Im Alter von knapp 6 Wochen sind die OD-Kolumnen bereits deutlich sichtbar. **PW 13:** Im Alter von 13 Wochen sind die Grenzen der markierten Banden klar abzugrenzen. Die thalamokortikalen Afferenzen sind in alternierende OD-Kolumnen segregiert (nach LeVay et al., 1978; modifiziert aus Kandel und Jessel, 1991).

In der Segregation der Afferenzen manifestiert sich somit die Selektivität der Neurone für eines der beiden Augen. Da sich dieser Prozeß erst nach der Geburt vollzieht, wurde schon früh die Frage nach einer möglichen aktivitätsabhängigen Komponente in dieser Entwicklung gestellt. Bilden sich die Strukturen durch aktivitätsabhängige Veränderungen heraus, dann sollte eine künstliche Veränderung der Aktivitätsmuster zu einer veränderten Ausbildung der Strukturen führen. Die Entstehung und Plastizität von Okulardominanzkolumnen wurde zu einem der bestuntersuchtesten Modelle für die aktivitätsabhängige Organisation von funktionellen Modulen und neuronalen Verbindungen überhaupt.

Wie zu Beginn der Einleitung skizziert, antworten die meisten Neurone in der primären Sehrinde von adulten Katzen zwar unterschiedlich stark, aber gewöhnlich auf Stimulation jedes der beiden Augen (Hubel und Wiesel, 1962). Diese Binokularität wird bei adulten Tieren auch durch eine langfristige visuelle Deprivation eines Auges nicht beeinflusst. Bei juvenilen Tieren hingegen bewirken schon wenige Tage bis Wochen monokularer Erfahrung während der kritischen Periode, die etwa bis zur sechsten postnatalen Woche anhält, daß die meisten Neurone nicht mehr auf Stimulation des zuvor geschlossenen Auges antworten (z.B. Hubel und Wiesel, 1963b, 1970; Wiesel und Hubel, 1963; Mioche und Singer, 1989). Hierfür reicht schon die Konturdeprivation eines Auges durch eine Milchglaslinse aus (Hubel und Wiesel, 1963b). Demnach treten die physiologischen Veränderungen schon bei einer Modifikation der Aktivität und nicht erst bei fehlender Aktivität eines Auges auf. Auf morphologischer Ebene manifestiert sich dieser Effekt in einer veränderten Segregation der thalamokortikalen Afferenzen. Die Projektionen des verschlossenen Auges beanspruchen weit weniger Raum in der kortikalen Eingangsschicht als bei normalen Tieren, während die Afferenzen des offenen Auges auf Kosten des geschlossenen Auges ihr Terminationsgebiet erweitern (z.B. Shatz und Stryker, 1978; Antonini und Stryker, 1993a, 1996; oder bei Makaken: LeVay et al., 1980).

Eine Reduktion der Aktivität in beiden Augen entweder durch den Verschuß beider Augen oder Dunkelaufzucht im gleichen Zeitraum führt zu einer verringerten Segregation der thalamokortikalen Afferenzen (z.B. Wiesel und Hubel, 1965; Swindale, 1981; Mower et al., 1985). Eine vollständige Blockade neuronaler Aktivität in der Retina während der postnatalen Entwicklung verhindert schließlich die Segregation und damit die Bildung von OD-Kolumnen (Stryker und Harris, 1986). Zusammengenommen zeigen die Befunde, daß die bei monokularer Deprivation auftretenden physiologischen und anatomischen Veränderungen eher das Ergebnis eines Wettstreites der Afferenzen beider Augen um kortikales Territorium sind und nicht einfach durch Verkümmern der Afferenzen des deprivierten Auges aufgrund der fehlenden Nutzung erklärt werden können.

Eine Verstärkung der Segregation der Afferenzen (Shatz et al., 1977; Van Sluyters und Levitt, 1980; Tumosa et al., 1989; Löwel und Singer, 1993b) und ein Verlust der Binokularität nahezu aller Neurone (Hubel und Wiesel, 1965; Kalil et al., 1984) wird

erreicht, wenn die neuronale Aktivität der beiden Augen asynchron zum Kortex gelangt. Diese Konstellation kann zum einen durch den abwechselnden Verschluss je eines Auges (alternierende monokulare Exposition, AME; Presson und Gordon, 1979) oder durch die Verschiebung einer der konjugiert bewegten optischen Achsen der beiden Augen erreicht werden. Diese als Strabismus bezeichnete Fehlstellung der Augen kann künstlich durch die Induktion eines Schielwinkels erzeugt werden (Hubel und Wiesel, 1965). Die auf den beiden Netzhäuten entstehenden Abbilder stimmen dann nicht mehr überein, so daß die von korrespondierenden Netzhautarealen generierten Impulse nicht länger korrelieren. Um Doppelbilder zu vermeiden, nutzen Schieler immer nur ein Auge zur gleichen Zeit und unterdrücken die Signale des anderen Auges (von Nordeen, 1990). Dies führt dann zu der in den Experimenten festgestellten akzentuierten Segregation der Afferenzen beider Augen (siehe Abb. 1.7).

Auf der Basis dieser Befunde ließ sich schließen, daß die thalamokortikalen Afferenzen beider Augen während der Entwicklung bei Katzen in einem aktivitätsabhängigen Wettbewerb um die Zielneurone stehen, bei dem neben der Menge der Aktivität vor allem auch die zeitliche Struktur dieser Aktivität entscheidend für die Segregation der Axone ist. Die Bildung der Okulardominanzkolumnen wurde daher von vielen Autoren als das Ergebnis eines kompetitiven Selbstorganisationsprozesses interpretiert (Übersichten z.B. bei Constantine-Paton, 1983; Constantine-Paton et al., 1990; Stryker, 1991; Goodman und Shatz, 1993; Katz und Shatz, 1996).

Der gemeinsame Ausgangspunkt dieser Überlegungen und aller mathematischen Modelle für die Entwicklung der Augendominanz kortikaler Neurone und ihrer kolumnären Organisation ist das Konzept der Hebb'schen synaptischen Plastizität (Übersicht bei Swindale, 1996). Ursprünglich für die neurophysiologische Deutung von Experimenten zum assoziativen Lernen konzipiert, postulierte Donald Hebb (1949) die folgende Regel für die Modifikation von Synapsen im Nervensystem: *"When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased."* Um die Entwicklung der Augendominanz als Resultat synaptischer Plastizität zu erklären, war es notwendig, das Hebb'sche Postulat durch einen Mechanismus zu ergänzen, der zur Konkurrenz der thalamokortikalen Afferenzen untereinander führt. So beschrieb Gunther Stent (1973) das zur Hebb'schen Lernregel komplementäre Postulat: *"When the presynaptic axon of cell A repeatedly or persistently fails to excite the postsynaptic cell B while B is firing under the influence of other presynaptic axons, metabolic changes take place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is decreased."* Zusammengefaßt hat dies zur Folge, daß untereinander korrelierte synaptische Eingänge ein postsynaptisches Neuron leicht erregen können und ihre Verschaltungen konsolidiert werden. Zu ihnen nicht korrelierte Eingänge werden hingegen destabilisiert, da die Erregung des postsynaptischen Neurons durch eine Gruppe korrelierter Eingänge zur Abschwächung der anderen Eingänge führt (siehe auch Changeux und Danchin, 1976). Die Konsequenz daraus wäre, daß sich ein postsynaptisches Neuron darauf spezialisiert,

auf eine gleichzeitig aktive Gruppe von Afferenzen zu reagieren, und andere Eingänge abzukoppeln.

Dieser Theorie folgend, beruht die Bildung von Okulardominanzkolumnen darauf, daß die Afferenzen aus einem Auge untereinander stärker korreliert sind als die Afferenzen aus beiden Augen (diese Bedingung wird zumindest auf retinaler Ebene erfüllt; Übersicht bei Wong, 1999) und sich die postsynaptische Zielzelle im Kortex auf Eingänge aus einem Auge spezialisiert. Hierbei ist es statistisch zunächst gleich wahrscheinlich, daß die Afferenzen des linken oder rechten Auges die Konkurrenz gewinnen. Da bei Schielern die Aktivitäten der beiden Augen zwar gleich stark aber nicht korreliert sind, wird demnach keine Überlappung der Axone in der Eingangsschicht IV zugelassen. Je nach lokalem Eingang setzt sich das linke oder rechte Auge am Zielneuron durch. Bei herabgesetzter Aktivität in einem Auge wie bei der monokularen Deprivation sind die vom geschlossenen Auge getriebenen Synapsen systematisch im Nachteil und werden zugunsten des korreliert aktiven, offenen Auges selektiv abgekoppelt.

Der Effekt durch Strabismus dekorrelierter Aktivität auf das kolumnäre Muster (Löwel, 1994) legt nahe, daß nicht nur die Ausprägung sondern auch die Entstehung der Okulardominanzkolumnen ein aktivitätsabhängiger Prozeß ist. Die Studie von Löwel (1994) zeigte, daß die charakteristische Wellenlänge des Musters der OD-Kolumnen bei schielenden Tieren größer ist als bei Tieren mit normaler visueller Erfahrung. Dies ist mit der Annahme einer vorausbestimmten Anordnung der OD-Kolumnen nicht vereinbar. In Übereinstimmung mit dem Einfluß korrelierter Aktivität auf die Determination des Abstandes der OD-Kolumnen wurden ähnliche Ergebnisse auch bei Katzen mit alternierender monokularer Exposition berichtet (Tieman und Tumosa, 1997). Theoretische Überlegungen von Goodhill hatten dieses Ergebnis vorausgesagt (Goodhill, 1993; Goodhill und Löwel, 1995), während andere Modelle vorgeschlagen hatten, daß das endgültige Muster von OD-Kolumnen (so auch der Abstand) eher von intrinsischen und damit eingangsunabhängigen Faktoren bestimmt wird (z.B. Miller et al., 1989; Miller und Stryker, 1990; Jones et al., 1991).

Aufgabe dieser Arbeit ist es daher, die Kinetik der Entstehung von Okulardominanzkolumnen sowohl bei normalsichtigen als auch bei schielenden Tieren zu bestimmen und die Entwicklung der Kolumnenabstände zu verfolgen.

1.4 Langreichweitige intraareale Axonsysteme im visuellen Kortex

Wurde zunächst die vertikal orientierte Organisation in Kolumnen als eine der prominentesten Eigenschaften des visuellen Kortex beschrieben, so fand man bald, daß auf der Ebene der primären Sehrinde neben der Segregation in funktionelle und anatomische Einheiten auch eine Integration stattfindet. Diese wird von horizontal verlaufenden Axonsystemen vermittelt, die in der Lage sind, die vertikalen Kolumnen über weite Strecken zu verbinden (Übersichten bei Gilbert, 1992; Salin und Bullier, 1995; Löwel und Singer, 2000; Schmidt und Löwel, 2000). Erste Hinweise auf solch ein horizontales Fasernetzwerk gaben Degenerationsstudien, die in den 1970er Jahren durchgeführt wurden (Übersichten bei Szentágothai, 1973; Fiske et al., 1975; Creutzfeldt et al., 1977). Modernere Markierungstechniken (wie intra- bzw. extrazelluläre Injektionen von Meerrettich-Peroxidase, Biozotin oder Fluoreszenzmarkern) bestätigten in den folgenden Jahren die Existenz von bis zu 8 mm langen Faserverbindungen in individuellen Schichten des visuellen Kortex (z.B. Rockland und Lund, 1982; Gilbert und Wiesel, 1983; Martin und Whitteridge, 1984; Kisvárdy et al., 1986). Diese intrinsischen oder intraarealen Verbindungen werden aufgrund ihrer Lage parallel zur Kortexoberfläche als langreichweitig horizontal, tangential oder intralaminar bezeichnet und sind besonders prominent in den Schichten II/III und V vertreten. Ausgangspunkt der weitreichenden Axone und Axonkollaterale sind Pyramidenzellen in den Schichten II/III und V und die bedornten Sternzellen aus Schicht IV. Die ihrer Morphologie nach exzitatorischen Synapsen bilden Kontakte mit bedornten und glatten Zellen in einem Verhältnis, mit dem diese Zelltypen im Zielgebiet auftreten (Kisvárdy et al., 1986; LeVay, 1988; McGuire et al., 1991). Von den inhibitorischen Neuronen sind nur große Korbzellen in der Lage, laterale inhibitorische Verbindungen bis zu 1,5 mm Länge auszubilden. Die übrigen Zelltypen zeigen hauptsächlich lokale Axonkollaterale (Übersicht bei Kisvárdy, 1992).

Intrazelluläre Injektionen von Meerrettich-Peroxidase zeigten, daß die Terminalien der Axonverzweigungen nicht gleichmäßig verteilt vorliegen, sondern in regelmäßigen Abständen separate Terminalbündel bilden, die etwa 300-600 µm im Durchmesser groß sind (Abb. 1.9; Gilbert und Wiesel, 1983). Extrazelluläre Injektionen wiederum wiesen nach, daß die retrograd markierten Zellkörper der Neurone, die zu einer bestimmten Stelle im Kortex projizieren, ebenfalls in Gruppen angeordnet sind (Abb. 1.9; Rockland und Lund, 1982). Diese Gruppen von Neuronen liegen jeweils etwa 1 mm voneinander entfernt und sind reziprok miteinander verknüpft (Kisvárdy und Eysel, 1992). Eine derartige Anordnung, in der langreichweitige Horizontalverbindungen selektiv verteilte Gruppen von Neuronen verbinden, wurde mittlerweile für zahlreiche Säugetierspezies und nicht nur im visuellen Kortex beschrieben (Katze: Gilbert und Wiesel, 1983; Kisvárdy und Eysel, 1992; Frettchen: Rockland, 1985; Spitzhörnchen: Rockland und Lund, 1982; Makaken und Totenkopffaffen: Rockland und Lund, 1983; Livingstone und Hubel, 1984; Lund et al., 1993; Mensch: Burkhalter et al., 1993).

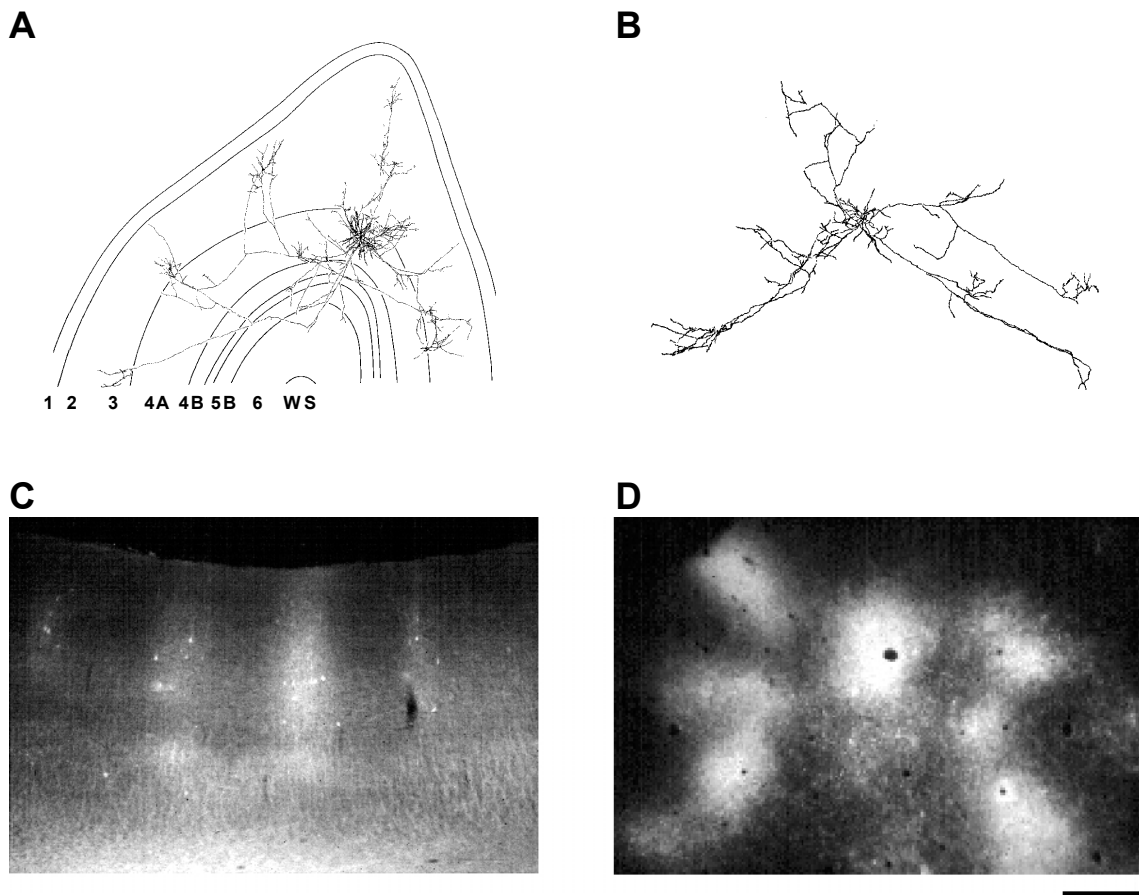


Abbildung 1.9: Gruppierung langreichweitiger intraarealer Axonverbindungen im visuellen Kortex der Katze. **A:** Zeichenapparatur-Rekonstruktion einer bedornen Sternzelle in Schicht IV in einem Frontalschnitt. Die ausgedehnten axonalen Verzweigungen liegen gehäuft vor. Das Soma des Neurons liegt in Schicht IVA, während die Mehrzahl der Axonäste in den Schichten II/III lokalisiert ist (nach Martin und Whitteridge, 1984). **B:** Rekonstruktion der Axonverzweigungen einer Pyramidenzelle in Schicht II in einer Ebene parallel zur Kortexoberfläche. Die Gruppierung der axonalen Ausläufer (Soma im Zentrum) ist auch hier deutlich zu erkennen (nach Gilbert und Wiesel, 1983). Die Markierung der Zellen in A und B erfolgte durch intrazelluläre Injektion von Meerrettich-Peroxidase. **C, D:** Die Gruppierung der intraarealen Verbindungen markiert nach extrazellulärer Injektion des fluoreszierenden Carbocyanin-Farbstoffes Dil. Fluoreszenzfotos von Schnitten senkrecht (C) oder parallel (D) zur Kortexoberfläche. Sowohl die markierten Axonterminalien (eher diffuse weiße Markierung) als auch die markierten neuronalen Zellkörper (Punktmarkierungen vornehmlich in C) liegen in Gruppen regelmäßig verteilt vor (nach Löwel und Singer, 2000). Maßstab = 2 mm (A), 1 mm (B), 500 μ m (C, D).

Die große Ähnlichkeit zwischen der Organisation des visuellen Kortex in grob periodische Kolumnen und der charakteristischen räumlichen Struktur des horizontalen Fasernetzwerkes gaben Anlaß zu der Vermutung, daß zwischen beiden Systemen eine Beziehung besteht (z.B. Mitchison und Crick, 1982). Über Horizontalverbindungen

verbundene Zellen sollten demnach ähnliche funktionelle Eigenschaften aufweisen. Tatsächlich konnten Experimente mittels elektrophysiologischer Korrelationsanalysen und kombinierte anatomische Ansätze in den letzten Jahren diesen Zusammenhang für einige Antworteigenschaften von Neuronen in den verschiedenen Spezies zeigen. So sind im visuellen Kortex von Primaten bevorzugt Kolumnen von Neuronen der gleichen Farbselektivität verbunden (Livingstone und Hubel, 1984; Ts'o und Gilbert, 1988; Malach et al., 1994; Yoshioka et al., 1996).

Im visuellen Kortex der Katze konnte zunächst gezeigt werden, daß räumlich getrennte Neurone verstärkt gleichzeitig aktiv sind, wenn sie eine ähnliche Orientierungspräferenz aufweisen (Ts'o et al., 1986; Gray et al., 1989; Hata et al., 1991). Mit einer Kombination von 2-Deoxyglukose-Autoradiographie und der Injektion von fluoreszierenden Latexmikrosphären in Area 17 (siehe Material und Methoden) konnte anatomisch eine Beziehung von Horizontalverbindungen zum System der Orientierungskolumnen nahegelegt werden. Die Injektion in eine Orientierungskolumne führte überwiegend zu retrograd markierten Neuronen in Kolumnen der gleichen Orientierungspräferenz und bestätigte so die Horizontalverbindungen als ein mögliches Substrat für die elektrophysiologisch gefundenen Interaktionen (Gilbert und Wiesel, 1989). Kombinationen neuerer Techniken wie Biozytininjektionen und optisches Ableiten intrinsischer Signale lieferten ähnliche Ergebnisse bei verschiedenen Spezies (Katze: Kisvárdy et al., 1997; Spitzhörnchen: Bosking et al., 1997; Totenkopffaffen: Malach et al., 1994; Makaken: Malach et al., 1993). Für das Merkmal der Augendominanz konnte bei Katzen keine Relation gefunden werden (Löwel, 1992; s.u.). Hier sind Neurone mit einer Präferenz für das linke oder rechte Auge gleichermaßen untereinander verbunden. Bei Rhesusaffen hingegen weisen Studien auf eine Tendenz zur Verbindung von Neuronen der gleichen Augendominanz hin (Malach et al., 1993; Yoshioka et al., 1996).

Eine weitere Auffälligkeit der langreichweitigen Verbindungen ist die Ungleichförmigkeit (Anisotropie) ihrer Verteilung im visuellen Kortex. Entlang der Achse im visuellen Feld, die mit der bevorzugten Orientierung der Neurone an der Injektionsstelle korrespondiert, zeigen die horizontalen Verbindungen eine größere Reichweite und mehr synaptische Terminalien (Fitzpatrick, 1996; Bosking et al., 1997; siehe auch Schmidt et al., 1997a). Neben der Selektivität für Kolumnen scheint demnach auch eine axiale Selektivität vorhanden zu sein.

Die genaue Funktion der langreichweitigen intrinsischen Verbindungen ist noch nicht abschließend geklärt. Ihnen wird jedoch eine Schlüsselrolle bei Mechanismen zugeschrieben, die von der bloßen Erweiterung rezeptiver Felder bis hin zu höheren kognitiven Funktionen reichen (Übersicht bei Salin und Bullier, 1995; Löwel und Singer, 2000; Schmidt und Löwel, 2000). So konnte für die Bildung größerer zusammengesetzter rezeptiver Felder die Beteiligung orientierungsselektiver Fasern gezeigt werden (z.B. Bolz und Gilbert, 1989; Schwarz und Bolz, 1991). Schon früh wurde auch vermutet, daß horizontale Verbindungen inhibitorische und unterschwellige exzitatorische Effekte vermitteln, die Neurone auf Stimuli reagieren lassen, die

außerhalb ihres klassischen rezeptiven Feldes liegen (z.B. Allman et al., 1985; Das und Gilbert, 1995). Andere Experimente ließen darauf schließen, daß laterale Verbindungen die Orientierungs- und Richtungsselektivität von Neuronen beeinflussen (z.B. Crook et al., 1997, 1998). Durch Horizontalverbindungen ergibt sich außerdem eine Dynamik in der Struktur der rezeptiven Felder kortikaler Neurone, die Bedeutung bei der Reorganisation kortikaler Karten nach sensorischer Deafferentierung hat (z.B. Kaas et al., 1990; Darian-Smith und Gilbert, 1994; Übersicht bei Gilbert, 1998). Weiterhin scheinen langreichweitige Verbindungen die Antworten von räumlich getrennten Neuronen zu synchronisieren, um verschiedene Merkmale eines Objektes als zusammengehörig zu klassifizieren (Übersicht bei Singer und Gray, 1995). Darüber hinaus sind die Horizontalverbindungen aufgrund ihrer Topographie der geeignete Kandidat für die Vermittlung einer einheitlichen Perzeptbildung nach dem Grundsatz der Kolinearität (Schmidt et al., 1997a; Übersicht bei Löwel und Singer, 2000).

1.4.1 Entwicklung und Plastizität langreichweitiger intraarealer Horizontalverbindungen

Das Netzwerk der langreichweitigen Horizontalverbindungen differenziert sich im visuellen Kortex der Katze erst weitgehend nach der Geburt (Luhmann et al., 1986, 1990; Price, 1986; Callaway und Katz, 1990; Galuske und Singer, 1996). In der ersten postnatalen Woche sind die Terminalien der Axonkollateralen im Kortex noch homogen verteilt. Kurz vor dem Öffnen der Augen findet man in der zweiten postnatalen Woche erste unscharf begrenzte Gruppierungen von Axonendigungen. Die Selektivität der Verknüpfung, wie sie in Form von diskreten Gruppen von Axonendigungen im erwachsenen Tier sichtbar wird, entsteht kontinuierlich und wird erst im Alter von 6-8 Wochen erreicht (Luhmann et al., 1986, 1990; Price, 1986; Callaway und Katz, 1990; Galuske und Singer, 1996; aber Lübke und Albus, 1992). Bis zum Alter von vier Wochen ist dabei noch eine Zunahme der Axonlänge zu beobachten (Galuske et al., 1996). Erreicht wird die Verschaltungsselektivität sowohl über regressive als auch progressive Vorgänge. Zum einen werden zwischen den diskreten Neuronengruppen liegende überzählige und falsche Axonendigungen abgebaut (Luhmann et al., 1986, 1990; Callaway und Katz, 1990; Galuske und Singer, 1996) und gleichzeitig neue Axonverzweigungen innerhalb der Gruppen aufgebaut (Callaway und Katz, 1990; Katz und Callaway, 1992; Galuske und Singer, 1996). Ein ähnlicher Entwicklungsverlauf der Horizontalverbindungen konnte auch für den visuellen Kortex von Frettchen (Durack und Katz, 1996; Ruthazer und Stryker, 1996) und Menschen (Burkhalter et al., 1993) gezeigt werden.

Die beobachtete postnatale Entwicklung der intraarealen Horizontalverbindungen ist ähnlich dem der thalamokortikalen Afferenzen ein aktivitätsabhängiger und durch visuelle Erfahrung beeinflussbarer Prozeß. Bei Katzen, die durch Lidverschluß oder Dunkelaufzucht binokular depriviert wurden, ist die Selektivität der langreichweitigen Horizontalverbindungen stark verringert. Es bilden sich zwar unscharf begrenzte

Gruppen von Axonendigungen aus, wie sie bei normalsichtigen Katzen im Alter von zwei Wochen zu finden sind, die nachfolgende Phase der weiteren Selektion der Verbindungen bleibt jedoch aus (Luhmann et al., 1986, 1990; Callaway und Katz, 1991; aber Zufferey et al., 1999). In neueren Experimenten am visuellen Kortex von Frettchen konnte gezeigt werden, daß bei einer Blockierung kortikaler Aktivität durch chronische Infusion von Tetrodotoxin die frühe postnatale randomisierte Verteilung der Horizontalverbindungen beibehalten wird und jegliche Strukturierung ausbleibt. Bei Entfernung beider Augen wird die Bildung der groben Terminalgruppen hingegen nicht behindert (Ruthazer und Stryker, 1996). Kortikale (und/oder thalamische) Spontanaktivität scheint für diesen Schritt hinreichend zu sein. Die Entwicklung der langreichweitigen Horizontalverbindungen ist demnach als ein zweiphasiger Prozeß gekennzeichnet, bei dem einer ersten von visueller Aktivität unabhängigen Phase der initialen Gruppenbildung eine zweite erfahrungsabhängige Phase der Feinstrukturierung folgt.

Auf der Suche nach der entscheidenden Information, die ab der zweiten postnatalen Woche bestimmte Axonendigungen auswählt und stabilisiert und andere degenerieren läßt, lieferte ähnlich der Situation bei der Entwicklung von OD-Kolumnen, der Hebb'sche Mechanismus einer selektiven Synapsenstabilisierung einen plausiblen Ansatz. Demnach sollten die weitreichenden horizontalen Faserverbindungen zwischen denjenigen Neuronen selektiv stabilisiert werden, die in ihrer Entwicklung gleichzeitig aktiv sind, während Verbindungen zwischen unkorreliert aktiven Neuronen selektiv eliminiert würden. Um die Hypothese der korrelierten Aktivität als das entscheidende Auswahlkriterium zu testen, wurden divergent schielenden Katzen untersucht. Wie bereits oben erwähnt (siehe 1.3.2) treffen bei diesen Tieren durch die Verschiebung der optischen Achsen die von beiden Augen im Kortex ankommenden Signale auf unterschiedliche Neuronenpopulationen, die nicht miteinander korrespondieren. Die Korrelation zwischen den Augen geht daher im visuellen Kortex verloren. In ihrer Studie kombinierten Löwel und Singer (1992) 2-Deoxyglukose-Autoradiographie mit der Injektion von fluoreszierenden Latexmikrosphären in die primäre Sehrinde, so daß die diskrete Verteilung retrograd markierter Zellen mit dem OD-Kolumnenmuster des korrespondierenden Autoradiogramms verglichen werden konnte (siehe Material und Methoden). Es zeigte sich, daß bei schielenden Katzen die retrograd markierten Zellen überwiegend in den Kolumnen der gleichen Augendominanz lagen wie die Injektionsstelle. Verbindungen zwischen Neuronen, die von verschiedenen Augen dominiert wurden und daher unkorreliert aktiv waren, waren kaum mehr vorhanden. Injektionen in die primäre Sehrinde bei normalsichtigen Tieren führten hingegen zu retrograd markierten Zellen, die zu annähernd gleichen Teilen in Kolumnen des rechten und des linken Auges lagen. Die langreichweitigen Horizontalverbindungen von divergent schielenden Katzen sind demnach im Gegensatz zu normalsichtigen Tieren augendominanzselektiv (Löwel und Singer, 1992). Abbildung 1.10 zeigt die in dieser Studie erzielten topographischen Beziehungen der Horizontalverbindungen zum System der Okulardominanzkolumnen in Area 17.

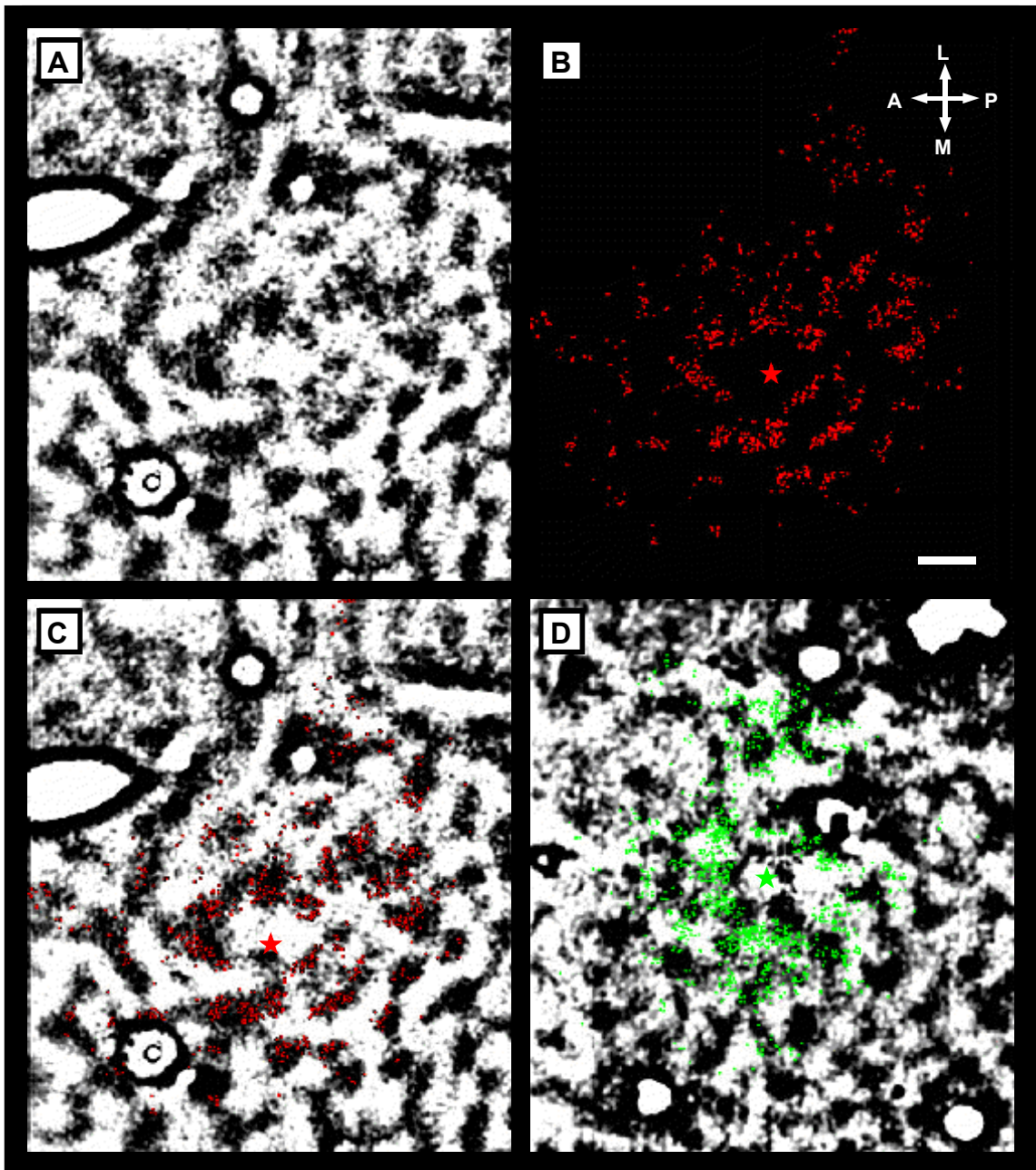


Abbildung 1.10: Topographische Beziehung zwischen intraarealen Horizontalverbindungen und Okulardominanzkolumnen in Area 17 einer schielenden (**A-C**) und einer normalsichtigen (**D**) Katze. **A:** Funktionelles Muster der OD-Kolumnen in einem Schnitt horizontal zur Kortexoberfläche erzielt durch 2-Deoxyglukose-Autoradiographie nach monokularer Stimulation einer schielenden Katze (siehe 2.3). **B:** Verteilung retrograd markierter Zellen im selben Horizontalschnitt nach einer Injektion rot fluoreszierender Latexmikrosphären (siehe 2.5). Die markierten Zellen sind durch rote Punkte, die Injektionsstelle durch einen roten Stern gekennzeichnet. **C:** Überlagerung von Bild A und B. Die Mehrheit der retrograd markierten Zellen liegt in den schwarzen Kolumnen des stimulierten (rechten) Auges. Die Tracerinjektion, die in eine kortikale Domäne erfolgte, hat eine kleine Nekrose verursacht, so daß die 2-DG-Markierung an der Injektionsstelle vermindert ist. **D:** Verteilung der retrograd markierten Zellen in Area 17 einer normalsichtigen Katze nach

Injektion grün fluoreszierender Latexmikrosphären in eine Kolumne (weiß) des geschlossenen (linken) Auges. Die markierten Zellen liegen gleichermaßen in Kolumnen des rechten und des linken Auges. A, anterior; L, lateral; M, medial; P, posterior. Maßstab = 1 mm (nach Löwel und Singer, 1992).

Das Ergebnis der Studie (Löwel und Singer, 1992) zeigt, daß bei schielenden Tieren mehrheitlich Verbindungen zwischen korreliert aktiven Neuronen einer Augendominanz etabliert wurden, was die Hypothese einer aktivitätsabhängigen Stabilisierung von Horizontalverbindungen in der postnatalen Entwicklung unterstützt. Dies wird bestätigt durch andere Befunde, die zeigen, daß in normalsichtigen Tieren weitreichende Verbindungen zwischen Kolumnen gleicher Orientierung aber nicht gleicher Augendominanz bestehen (Gilbert und Wiesel, 1989; Schmidt et al., 1997b).

Eine Aufgabe dieser Arbeit besteht darin, die Entwicklung der langreichweitigen Horizontalverbindungen in Area 17 von normalsichtigen und schielenden Katzen zu untersuchen, um so die Ausbildung der Augendominanzselektivität bei schielenden Tieren genauer charakterisieren zu können.

1.5 Ziele dieser Arbeit

Diese Arbeit untersucht die Entwicklung und Organisation der primären Sehrinde von Katzen nach der Geburt anhand der Ausbildung funktioneller Okulardominanzkolumnen und der Ausreifung langreichweitiger intraarealer Faserverbindungen. Schwerpunkte bilden dabei die Aufklärung des Einflusses modifizierter visueller Erfahrung und des Wachstums des Gehirns auf die Sehrindenentwicklung in dieser frühen postnatalen Entwicklungsphase.

Folgende Fragestellungen sollen beantwortet werden:

- Ab welchem Zeitpunkt in der postnatalen Entwicklung sind Okulardominanzkolumnen bei normalsichtigen Tieren detektierbar?
- Ab welchem Zeitpunkt in der postnatalen Entwicklung sind Okulardominanzkolumnen bei divergent schielenden Tieren detektierbar?
- Sind diese Zeitpunkte bei normalsichtigen und schielenden Tieren verschieden?
- Wie groß sind die Abstände zwischen den Okulardominanzkolumnen bei normalsichtigen und schielenden Tieren?
- Wie stark ist das postnatale Wachstum der primären Sehrinde und welchen Einfluß hat es auf die Kolumnenabstände?
- Wie stark ist das postnatale Wachstum des gesamten Katzengehirns?
- Hat das Körpergewicht einen Einfluß auf die Größe des Gehirns und der Area 17?
- Wie groß ist der Anteil der Area 17 am Neokortex und gibt es einen Unterschied in den Wachstumsraten dieser Areale?
- Wieviel langreichweitige Horizontalverbindungen gibt es in Area 17 zu verschiedenen Zeitpunkten der postnatalen Entwicklung?
- Ist diese Anzahl bei normalsichtigen und schielenden Tieren verschieden?
- Wie groß ist die Reichweite der langreichweitigen Horizontalverbindungen in Area 17 zu verschiedenen Zeitpunkten der postnatalen Entwicklung?
- Ist die Reichweite bei normalsichtigen und schielenden Tieren verschieden?
- Wann bildet sich die Augendominanzselektivität der Horizontalverbindungen bei schielenden Tieren heraus?

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Für die vorliegende Arbeit wurden insgesamt 29 Katzen (*Felis catus forma domestica*) aus den Zuchten des Max-Planck-Institutes für Hirnforschung in Frankfurt am Main und des Leibniz-Institutes für Neurobiologie in Magdeburg verwandt. Hiervon wurden 13 Katzen mit divergentem Strabismus aufgezogen, die übrigen 16 wuchsen normalsichtig auf. Für einen Teil der Auswertung wurde zusätzlich auf vorhandenes Material von fünf Katzen aus älteren, publizierten Versuchen zurückgegriffen. Eine Übersicht aller Tiere zeigen die Tabellen 2.4-2.6 am Ende dieses Kapitels.

2.2 Induktion eines Schielwinkels

Zur Induktion eines divergenten Schielwinkels wurde 13 Versuchstieren im Alter von 14-15 Tagen jeweils am linken Auge die Sehne des Musculus rectus medialis durchtrennt. Hierzu wurden die Tiere durch eine intramuskuläre Injektion von Ketaminhydrochlorid (20 mg/kg, Ketanest, Parke-Davis) und Xylazinhydrochlorid (1,5 mg/kg, Rompun, Bayer) anästhesiert. Nach Entfernung der Nickhaut und Inzision der Konjunktiva wurde die Sehne des Muskels mit einem stumpfen Haken lokalisiert und durchtrennt. Zur Vorbeugung von Infektionen wurde Gentamicinsulfat-Augensalbe (Refobacin, Merck) in Bindsack und Orbita des operierten Auges gegeben.

Zur Kontrolle der Effektivität der künstlichen Schielinduktion während der kritischen Periode der postnatalen Entwicklung wurde die Kornea-Reflex-Methode (Sherman, 1972; Olson und Freeman, 1978; von Grünau, 1979) angewandt. Auf Frontalaufnahmen von Katzens Gesichtern kann das Verhältnis von Reflex- zu Pupillenabständen als verlässliches Maß für die Ausrichtung der Augen genommen werden (von Grünau, 1979). Hierzu wurde zunächst der Kopf der Katzen manuell fixiert und das Gesicht des Tieres in gleicher Distanz zum Objektiv der Kamera (Sofortbildkamera bzw. Digitalkamera) mit Blitzlicht mehrfach fotografiert. Auf den Fotos konnten dann jeweils die Abstände zwischen den beiden Kornealreflexen und den beiden Pupillenzentren gemessen und das Verhältnis dieser Abstände bestimmt werden. Bei den Tieren mit induziertem Schielwinkel bewegte sich dieser Wert über den gesamten Beobachtungszeitraum (1-4 Wochen) während der kritischen Entwicklungsperiode zwischen 0,81 und 0,92 und damit in dem bei exotropem Strabismus üblichen Bereich bis 0,92 (siehe Sireteanu et al., 1993). Der Mittelwert aller Messungen lag bei $0,89 \pm 0,03$ (Standardabweichung). Folglich hatten alle operierten Katzen eine ausgeprägte Exotropie entwickelt.

2.3 Autoradiographie mit 2-Deoxyglukose

Die funktionelle Markierung der Okulardominanzkolumnen erfolgte mit Hilfe der 2-Deoxyglukose-Methode. Die 2-Deoxyglukose (2-DG) ist ein Struktur analogon der Glukose, mit dem sich die funktionelle Architektur ganzer Hirnregionen (wie etwa dem visuellen Kortex) hinsichtlich einer bestimmten Antworteigenschaft darstellen läßt. Die 2-DG-Technik (Sokoloff et al., 1977) nutzt dabei die Eigenschaft des Gehirns aus, als Energiequelle für die energetisch aufwendige neuronale Aktivität fast ausschließlich den Glukosestoffwechsel zu nutzen (Übersicht bei Sokoloff, 1992). Lokale Veränderungen im Glukoseverbrauch können somit als Maß für die funktionelle Aktivität des Gehirns dienen. 2-Deoxyglukose unterscheidet sich von Glukose durch die fehlende Hydroxyl-Gruppe am zweiten Kohlenstoffatom. Sie wird wie Glukose von den Zellen aufgenommen, phosphoryliert, jedoch nicht weiter verstoffwechselt. So reichert sich der erste Metabolit 2-DG-6-Phosphat aufgrund schlechter Zellmembrangängigkeit intrazellulär an und kann, z.B. markiert mit dem radioaktiven Isotop ^{14}C , später autoradiographisch nachgewiesen werden. Eine erhöhte optische Dichte der Autoradiogramme spiegelt folglich den mit der Aktivität erhöhten Energiebedarf der stimulierten Kortexregion wieder (Sokoloff et al., 1977; Duncan und Stumpf, 1991).

Eine derzeit umstrittene Frage ist jedoch, ob die Neurone selbst den Glukoseabbau betreiben (vergleiche Sokoloff, 1999; Magistretti et al., 1999). Neuere Befunde legen nahe, daß hier Astrozyten zwischengeschaltet sind: Stimuliert durch die synaptische Ausschüttung von Glutamat nehmen Astrozyten Glukose an den Kapillaren auf und metabolisieren sie über glykolytische Prozesse zu Laktat, welches sie dann an die Neurone abgeben. Diese wiederum oxidieren das Laktat zu Kohlendioxid und Wasser und gewinnen so ihre Energie (Übersicht bei Magistretti und Pellerin, 1999). Diesem Modell zufolge würde bei der 2-DG-Technik der radioaktive Marker in den Astrozyten akkumuliert und damit die den aktiven Neuronen assoziierte Glia nachgewiesen. Die Validität der Methode, funktionell aktive Hirnregionen darzustellen, bliebe von dieser Schlußfolgerung jedoch unberührt.

Um den Zeitverlauf der postnatalen Entwicklung von Okulardominanzkolumnen in der primären Sehrinde bestimmen zu können, wurde bei Katzen im Alter von zwei bis sechs Wochen (insgesamt 24 Versuchstiere, siehe Tab. 2.4) ein Autoradiographie-Experiment durchgeführt.

2.3.1 Applikation der 2-Deoxyglukose und Reizgebung

Zur Injektion der radiaktiven 2-Deoxyglukose wurde den Katzen ein Katheter über eine Venae sectio gelegt. Die Narkose für diesen kurzen Eingriff wurde entweder durch Halothan über eine Inhalationsmaske (2-4% Halothan, Hoechst, in einem Gasgemisch aus 70% Distickstoffmonoxid und 30% Sauerstoff) oder durch Saffan, ein intramuskulär injizierbares Steroid-Anästhetikum (15 mg/kg, Pitman-Moore), eingeleitet. Nach Inzision der Haut wurde die Femoralvene freipräpariert und dann mit den vorderen 5 cm

eines ca. 20 cm langen PE-Mikroschlauches vorsichtig kanüliert und mit Nahtmaterial fixiert. Der Verschluss des Hautschnittes erfolgte mit Enbucrilat-Gewebekleber (Histoacryl, B.Braun). Das mit einer Injektionskanüle versehene Ende des Katheters wurde anschließend mit Klebeband am Vorderlauf der Katze fixiert.

Nach vollständiger Erholung der Tiere von der Kurzanästhesie (Halothan: zwei Stunden, Saffan: vier Stunden) wurde 2-Deoxy-D-[U-¹⁴C]-glukose (spezifische Aktivität: 10,9-11,7 GBq/mmol, Amersham) mit einer Dosis von 3,7-4,2 MBq/kg langsam intravenös injiziert. Vorher wurde bei allen Tieren das linke Auge mit einer schwarzen Kontaktlinse sowie zusätzlich einer schwarzen Augenklappe verschlossen. Die Katzen konnten sich daraufhin im Isotopenlabor frei bewegen, um eine effektive monokulare Stimulation zu gewährleisten (Löwel und Singer, 1993b). Nach 45 Minuten wurde eine letale Dosis Pentobarbital-Natrium (180 mg/kg, Nembutal, WDT) intravenös injiziert.

2.3.2 Histologische Aufarbeitung

Nach dem Herzstillstand wurde die Kalotte vorsichtig eröffnet. Vom unfixierten Gehirn wurden dann die posterioren Anteile beider Hemisphären bis etwa zum Sulcus centralis und der Thalamus entnommen, der nachfolgend beidseitig auf die Regionen um das Corpus geniculatum laterale (CGL) verkleinert wurde. Letzterer wurde sofort auf Trockeneis tiefgefroren und danach mit Einbettmedium (Jung) auf einem Kryostatstempel aufgeblickt. Die beiden Hemisphären wurden getrennt und aufgefaltet (Freeman et al., 1987). Hierzu wurde das Gewebe auf eine mit Parafilm bedeckte Glasscheibe gelegt und zunächst die Arachnoideareste und die Pia mit einer Piaschere abpräpariert. Danach wurden die Sulci lateralis, posterolateralis, splenialis, suprasplenialis und suprasylvius (siehe Abb. 1.4) mit stumpfen Spateln vorsichtig voneinander getrennt. Dann wurde das Präparat gewendet, und die Gyri von der weißen Substanz ausgehend aufgefaltet. Die so entstandenen "Flatmounts" waren ca. 5x4 cm groß und schlossen die Areae 17, 18, 19 sowie teilweise Area 21 und suprasylvische Areale mit ein. Sie wurden zwischen zwei Glasplatten luftblasenfrei auf Trockeneis tiefgefroren, wobei auf eine gleichmäßige Dicke von ca. 1,5-2,0 mm an allen Seiten geachtet wurde (Freeman et al., 1987). Die Flatmounts wurden dann ebenfalls mit Einbettmedium auf Kryostatstempel aufgeblickt und mit Eiweiß bestrichen (Anschnitthilfe). Die benötigte Zeit für die Präparation vom Einschlafen des Tieres bis zum gefrorenen Flatmount lag bei ca. 45-60 Minuten. Die Lagerung der Flatmounts erfolgte über Nacht in Alufolie und Gefriertüten verpackt bei -25°C. Die Blöcke mit den CGL wurden bei -70°C gelagert.

Unmittelbar vor dem Schneiden wurden auf allen Flatmounts mit einer Kanüle (Ø 0,4 mm) jeweils drei Referenzlöcher als Landmarken für eine spätere Überlagerung mit markierten Zellen (siehe 2.5) gesetzt. Anschließend wurden Serienschritte im Kryostaten mit einer Dicke von 25 µm bei ca. -17°C angefertigt. Die aufgefalteten

Sehrinden wurden dabei parallel zur Hirnoberfläche geschnitten, die Blöcke mit den CGL in frontaler Ebene von posterior nach anterior (beim CGL wurde jeder zweite Schnitt aufbewahrt). Alle Schnitte wurden auf beschichtete Objektträger (0,5% Gelatine, 0,05% Kaliumchrom(III)sulfat) aufgezogen und auf einer Heizplatte (ca. 60°C) getrocknet.

Die Exposition der Schnitte erfolgte in der Regel für 3-4 Wochen auf Röntgenfilm (Structurix D7W, Agfa) in entsprechenden Kassetten bei 4°C. Die Entwicklung der Filme erfolgte wie in Tabelle 2.1 beschrieben.

Tabelle 2.1: Entwicklung der Autoradiographiefilme.

Schritt	Zeit	Lösung	Vorgang
1	5-7 min	Kodak D-19	entwickeln
2	30 sec	Aqua dest.	abstoppen
3	5-7 min 5-7 min	Kodak Unifix Kodak Unifix	fixieren
4	10 min	Wasser	wässern
5	10 sec	Aqua dest.	abspülen und im Anschluß trocknen

2.3.3 Bildverarbeitung und Analyse der Autoradiogramme

Alle Kortexautoradiogramme wurden sowohl qualitativ als auch quantitativ analysiert. Zur Beschreibung der Entwicklung eines kolumnären Okulardominanzmusters in der primären Sehrinde wurden folgende Parameter gemessen: Kontrast der Autoradiogramme, Abstände der Okulardominanzkolumnen und Fläche der Area 17. Im Folgenden werden die durchgeführten Schritte der Bildverarbeitung und Teilanalysen im Detail beschrieben.

Kontrastmessung

Die Musterbildung in der Sehrinde durch die Entstehung von Okulardominanzkolumnen wurde anhand der Messung der Grauwertverteilungen verfolgt (Rathjen und Löwel, 2000). Hierzu wurden repräsentative Autoradiogramme der einzelnen Hemisphären zunächst fotografiert und Papierabzüge (Vergrößerung: 6x) hergestellt. Diese wurden dann bei einer Auflösung von 300 dpi mittels eines Flachbettscanners (Umax Astra 610S) an einem Macintosh G3 Power-PC digitalisiert. Mit Hilfe der Bildverarbeitungssoftware NIH Image 1.61 wurden dann die folgenden zwei Messungen durchgeführt: 1. Grauwertprofile entlang der anteroposterioren Achse der Area 17 (Länge: 200 Pixel, entsprechen ca. 8,5 mm; Breite: 1 Pixel), 2. Verteilung der Grauwerte innerhalb einer Rechteckauswahl (200x100 Pixel, entsprechen ca. 36 mm²).

Der Kontrast der einzelnen 2-DG-Muster wurde anhand der Standardabweichungen der Grauwertverteilungen bestimmt (Rathjen und Löwel, 2000). Kontrastarme Bilder zeigen eine eingeschränkte Anzahl von Grauwerten, so daß ihre Häufigkeitsverteilung eine niedrige Standardabweichung aufweist. Kontrastreiche Bilder hingegen enthalten eine Vielzahl von Grauwerten und die Häufigkeitsverteilungen zeigen deshalb eine größere Standardabweichung (siehe Abb. 3.4). Die berechneten Standardabweichungen wurden für die verschiedenen Altersstufen gemittelt und aufgetragen.

Der Einfluß unterschiedlicher Belichtungszeiten auf die Grauwertverteilung auf den Fotografien wurde anhand einer Bilderserie mit variierten Belichtungszeiten überprüft. Die Streuung der Grauwerte innerhalb eines Tieres war wesentlich geringer als die Streuung zwischen den Tieren einer Altersklasse. Der Einfluß der Belichtungszeit konnte daher als vernachlässigbar angesehen werden.

Abstandsmessung

Die Abstände der Augendominanzkolumnen in Area 17 konnten auf den Autoradiogrammen ab einem Alter von drei Wochen gemessen werden. Hierzu wurden die Kortexautoradiogramme zunächst über eine Videokamera (Hamamatsu) in 256 Graustufen mit einer Auflösung von 20,48 Pixel/mm im Durchlicht digitalisiert (Matrix: 512x512 Pixel). Das angeschlossene Bildverarbeitungssystem und Programm BILD (Michael Stephan, MPI für Hirnforschung, Frankfurt am Main) bestand zudem im wesentlichen aus einem Bildspeicher von Compulog, einem Farb-Monitor, auf dem das Ausgangssignal des Bildspeichers dargestellt wurde und dem Rechner (PDP 11/73) mit VT100-kompatiblen Terminal.

Als Plattform für die folgenden Schritte diente IDL 5.1 (Research Systems), eine Software zur Analyse und graphischen Darstellung von Daten (auf α -workstation mit VMS oder Win95-PC). Der Abstand der Kolumnen als Größenskala der Okulardominanzstruktur wurde anhand einer Periodenstatistik (Scherf, 1994) bestimmt. Hierfür wurde zunächst der interessierende Bildausschnitt (Area 17) auf den repräsentativen Autoradiogrammen gewählt und dann die darin lokal auftretenden Periodenlängen ausgewertet. Als Periodenlänge galt bei dem uns vorliegenden nichtperiodischen Signal nach Hochpaßfilterung des Bildes der Durchgang durch den lokalen Mittelwert ("Nulldurchgang"):

$$f(x) - \langle f(x) \rangle_{\text{lokal}} = 0 \quad \text{mit} \quad f'(x) < 0 \quad \text{oder} \quad f'(x) > 0$$

Die Häufigkeit der Abstände zwischen den durch eine der obigen Eigenschaften ausgezeichneten Punkten wurde nun in Zeilen- und Spaltenrichtung bestimmt. Um eine Vorzugsrichtung auszuschließen wurden diese Abstandsstatistiken für das um jeweils 10° gedrehte Datenfeld (bis 170°) wiederholt und aufsummiert (siehe Abb. 2.1). Aufgrund der verrauschten Datensätze erfolgte die Berechnung der Periodenlänge in Abhängigkeit einer Reihe von gaußförmigen Tiefpaßfiltern (Abschneidewellenlängen von 0,1-1,5 mm). Als Abstand der Augendominanzkolumnen wurde nun das geglättete

Maximum der Periodenlängenverteilung in dem Filterbereich bestimmt, in dem es sich nicht ändert, d.h. die Kurve der Maxima in Abhängigkeit der Abschneidewellenlänge ein Plateau aufweist (siehe Abb. 2.1). Nach Berechnung der Periodenstatistik für alle Autoradiogramme wurde hierbei für alle einheitlich die Abschneidewellenlänge des Tiefpaßfilters mit 0,6 mm festgelegt. Die Kolumnenabstände der ausgewerteten Hemisphären wurden anschließend innerhalb einer Altersstufe gemittelt und aufgetragen.

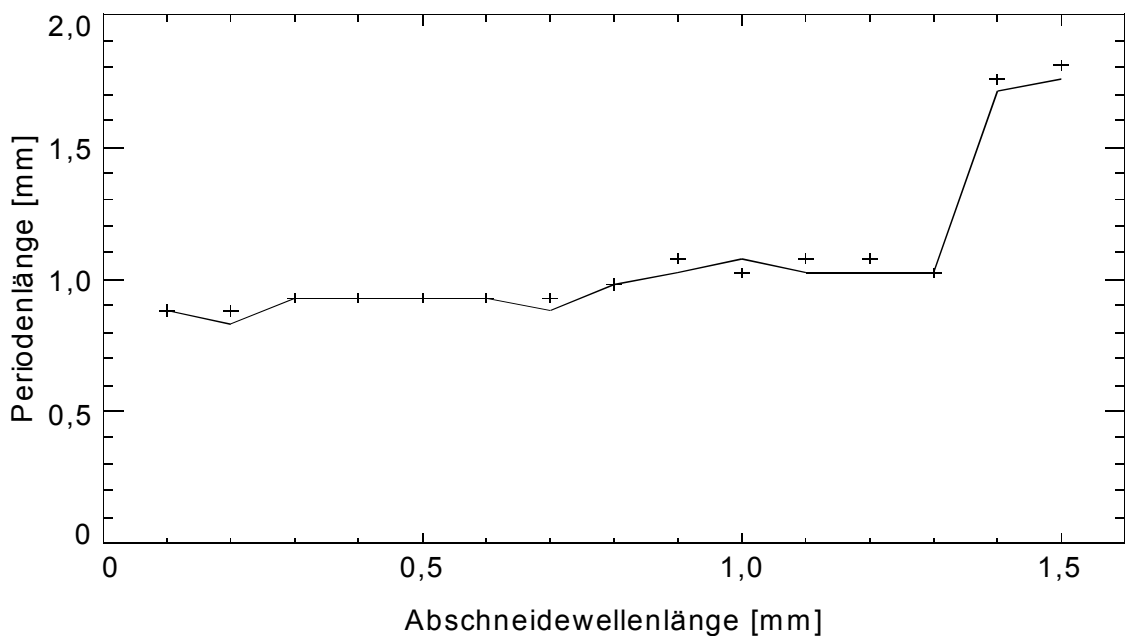
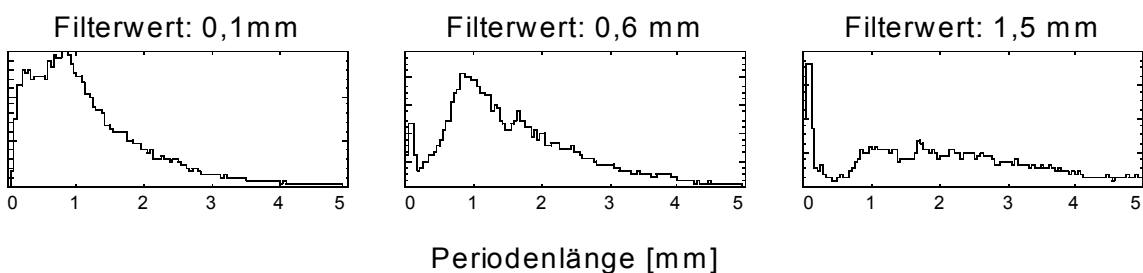
A**B**

Abbildung 2.1: Einfluß der Tiefpaßfilterung auf die Periodenstatistik. **A:** Lage der Maxima (durchgezogene Linie) und der geglätteten Maxima (Kreuze) der Periodenstatistik eines 2-DG-Autoradiogrammes in Abhängigkeit der Abschneidewellenlänge des Tiefpaßfilters. Es wurde der Filterwert 0,6 mm festgelegt, da für alle Autoradiogramme in diesem Bereich ein Plateau vorlag. **B:** Periodenlängenverteilungen für die Filterwerte 0,1 mm, 0,6 mm und 1,5 mm. Bei 0,1 mm ist die Verteilung der Periodenlängen noch durch hochfrequente Störungen beeinflusst, bei 0,6 mm zeigt die Verteilung eine deutliche Spitze, während bei 1,5 mm das zu detektierende Signal (Maximum bei ca. 1 mm) bereits abgeschnitten ist.

Flächenmessung

Die Fläche von Area 17 wurde anhand des 2-DG-Aktivitätsmusters auf den digitalisierten Autoradiogrammen bestimmt. Die Digitalisierung erfolgte hierbei wie im vorherigen Abschnitt zur Abstandsmessung beschrieben. Das Areal der primären Sehrinde ist auf Autoradiogrammen ab der dritten postnatalen Woche aufgrund des kolumnären Musters der Aktivierung klar von den benachbarten Arealen abzugrenzen (siehe Abb. 2.2). In IDL 5.1 wurde die Area 17 mittels einer Polygon-Auswahl bestimmt und die eingeschlossene Fläche in Pixel in Quadratmillimeter umgerechnet. Der Mittelwert einer Hemisphäre wurde hierbei aus den Autoradiogrammen von jeweils drei Kortexschnitten berechnet.

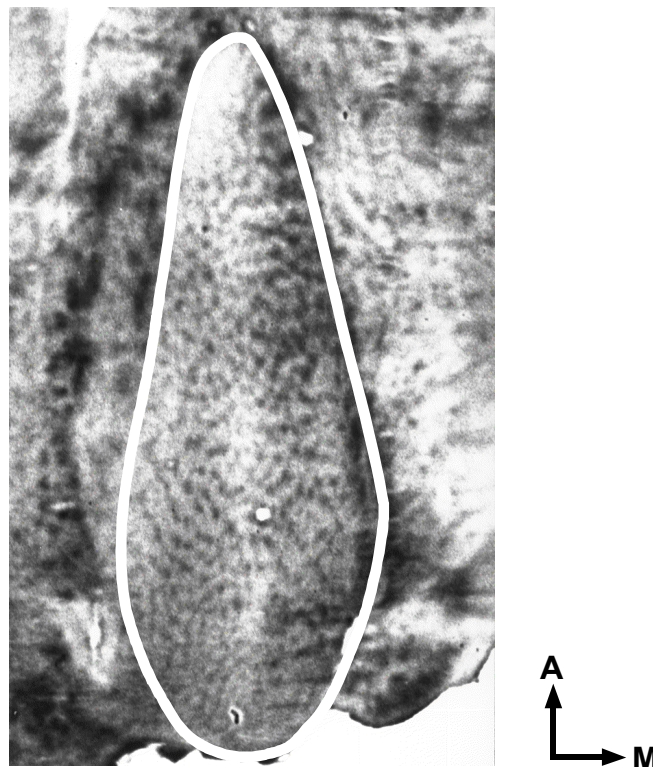


Abbildung 2.2: Messung der Fläche von Area 17. Bestimmung durch Berechnung der Fläche auf den digitalisierten Autoradiogrammen. Das selektive Aktivitätsmuster erlaubt eine klare Abgrenzung. A, anterior; M, medial.

Für eine schlußfolgernde Statistik zu den erhobenen Daten wurden nicht-parametrische Tests durchgeführt. Eine Altersabhängigkeit der Parameter wurde mit dem Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten getestet. Vergleiche zwischen zwei Stichproben wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die Berechnung der Tests erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms StatView 5 (SAS Institute) am PC.

2.4 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die postnatale Entwicklung des gesamten Gehirns wurde mit Hilfe der Magnetresonanztomographie (MRT) untersucht, einem nicht-invasiven, bildgebenden Verfahren (Übersichten bei Cohen, 1996; Kreisler und Trümmeler, 1998). Der Effekt der kernmagnetischen Resonanz beruht darauf, daß Teilchen mit nicht-verschwindendem Eigendrehimpuls (Spin) in einem äußeren Magnetfeld nur diskrete Energieszustände einnehmen können. Radiowellen geeigneter Frequenz induzieren Übergänge zwischen diesen Zuständen, welche sich makroskopisch als oszillierende Magnetisierung vermessen lassen. Da die Oszillationsfrequenz feldabhängig ist, kann durch definierte örtliche Variation des Magnetfeldes eine Ortskodierung des gemessenen Signals erreicht und hieraus ein Bild berechnet werden. In biologischen Systemen werden hauptsächlich Protonen des Gewebswassers vermessen und die gewonnenen Bilder sind entsprechend primär eine Darstellung des Wassergehalts (Spindichte). Spezielle Meßverfahren ermöglichen die Wichtung mit unterschiedlichen Kontrastparametern und damit eine differenzierte Gewebedarstellung (für Details siehe Callaghan, 1993).

Das Wachstum des Katzensgehirns im Laufe der postnatalen Entwicklung wurde in Form einer Longitudinalstudie an fünf Katzen im Alter von zwölf Tagen bis zu einem Jahr analysiert (siehe Tabelle 2.6).

Diese Studie wurde in Kooperation mit Dr. Ralf Engelmann, PD Dr. Siegrid Löwel und Stefan Struif durchgeführt. Die Bilddaten wurden von Dr. Thomas Kaulisch und Dr. Detlef Stiller vom Speziallabor Nicht-Invasive Bildgebung am Leibniz-Institut für Neurobiologie, Magdeburg, erhoben.

2.4.1 MRT-Datenaufnahme

Die Messungen am Magnetresonanztomographen fanden unter einer Inhalationsnarkose mit Isofluran statt (1,2-2,2% Isofluran, Hoechst, in einem Gasgemisch aus 70% Carbogen und 30% Distickstoffmonoxid). Den erwachsenen Tieren wurde außerdem eine initiale intramuskuläre Injektion aus Ketaminhydrochlorid (5 mg/kg) und Xylazinhydrochlorid (0,3 mg/kg) verabreicht.

Für die Datenaufnahme standen zwei verschiedene Anlagen zur Verfügung. Die Bildgebung bei den Katzen bis zu einem Alter von sieben Wochen wurde an einem 4,7 Tesla Magneten mit einer horizontalen Bohrung von 20 cm Durchmesser (effektiv ca. 9 cm) durchgeführt. Die adulten Tiere, die für diesen Magneten zu groß waren, wurden an einem 3 Tesla Kopfscanner gemessen (beide Bruker Medizintechnik). Für alle Tiere wurde jeweils ein frontaler und ein sagittaler Bilddatensatz aufgenommen. Eine Übersicht der Geräteeinstellungen und Meßbedingungen, auf die hier im einzelnen nicht eingegangen werden soll, ist der nachstehenden Tabelle 2.2 zu entnehmen.

Tabelle 2.2: Übersicht zu den Geräteeinstellungen und Meßbedingungen der beiden Magnetresonanztomographen. Abkürzungen siehe Verzeichnis.

Magnet	Gradientenspezifikationen	Matrix [Pixel]
4,7 Tesla	BGA-12, 200 mT/m, Anstiegszeit: 200 μ s	256x256
3 Tesla	SK-330, 30 mT/m, Anstiegszeit: 250 μ s	256x256

Magnet	Meßfeld [mm]	TR/TE [ms]	Sequenz
4,7 Tesla	48-68	5000/80	RARE
3 Tesla	96-128	16/6	MDEFT

2.4.2 Analyse der MRT-Bilder

Zur Analyse des postnatalen Wachstums des Katzenshirns wurden die erhobenen MRT-Bildstapel in die Bildverarbeitungssoftware NIH Image 1.61 (Macintosh G3 Power-PC) importiert. Folgende Parameter wurden bestimmt: 1. die maximale anteroposteriore Ausdehnung des Telencephalons (AP-Länge), 2. das Hirnvolumen ausschließlich des Kleinhirns und 3. die Oberfläche des Neokortex. Nachfolgend sollen die drei analysierten Parameter im einzelnen dargestellt werden. Einen Teil der Auswertung führte Stefan Struif durch.

AP-Längenmessung

Auf den sagittalen Bilddatensätzen wurde die maximale anteroposteriore Ausdehnung zwischen frontalem und okzipitalem Pol des Telencephalons als AP-Länge gemessen. (Linien-Auswahl, Abb. 2.3).

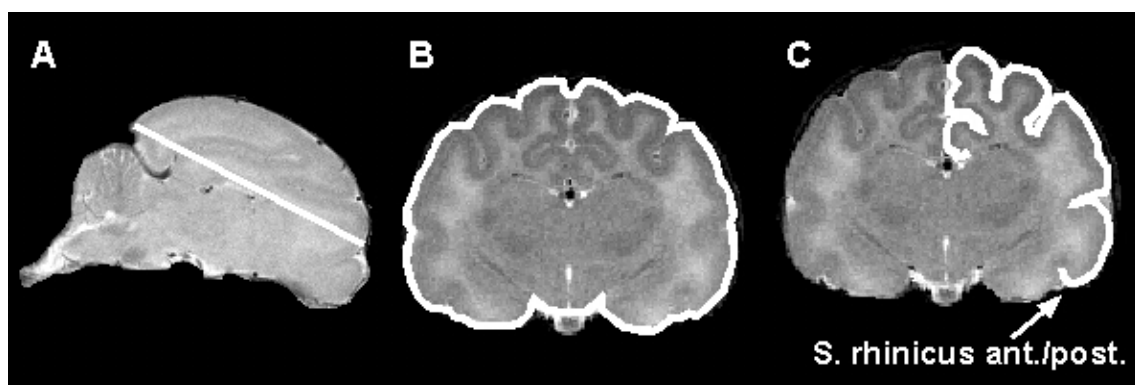


Abbildung 2.3: Darstellung der drei Parameter zur Bestimmung des postnatalen Wachstums des Katzenhirns. **A:** AP-Länge. Maximale Ausdehnung des Telencephalons zwischen Frontalpol und Okzipitalpol. **B:** Hirnvolumen ausschließlich des Kleinhirns. **C:** Oberfläche des Neokortex. Startpunkt der Messung ist der Sulcus rhinicus anterior/posterior.

Volumenmessung

Als Volumen wurde auf den frontalen Bilddatensätzen das Gesamtvolumen des Gehirns ausschließlich des Kleinhirns gemessen. Hierfür wurde auf den einzelnen Bildern mittels einer Polygon-Auswahl die Fläche des Hirnschnittes bestimmt (Abb. 2.3) und mit der Schichtdicke (0,75-1,5 mm) multipliziert. Die Addition der Volumina der einzelnen Schichten ergab dann das Gesamtvolumen. Der Hirnstamm wurde bis zum Auftreten des Kleinhirns auf den Schichtbildern in die Messung mit einbezogen. Dies entspricht einem virtuellen Schnitt durch den Hirnstamm ungefähr nach der Pons.

Oberflächenmessung

Die Oberfläche des Neokortex wurde auf den frontalen Bilddatensätzen bestimmt. Hierzu wurde auf den einzelnen Bildern mit einer segmentierten Linien-Auswahl beginnend am Sulcus rhinicus anterior/posterior die Strecke entlang der Gyri und Sulci gemessen (Abb. 2.3) und mit der Schichtdicke (0,75-1,5 mm) multipliziert. Die Addition dieser Teilflächen plus der neokortikalen Fläche auf dem ersten und letzten Bild ergab die Gesamtoberfläche des Neokortex.

2.5 Retrogrades Tracing mit Latexmikrosphären

Die Markierung der durch Horizontalverbindungen verschalteten Sehrindenneurone erfolgte mit Hilfe der Injektion von fluoreszierenden Latexmikrosphären. Bei diesem neuronalen Tracer handelt es sich um Latexkügelchen, die entweder mit Rhodamin gekoppelt rot oder mit Fluorescein gekoppelt grün fluoreszieren (rote und grüne "Beads", Lumafluor, USA). Mit Druckinjektionen der in wäßriger Lösung vorliegenden Beads können kleine Volumina appliziert und so lokal begrenzte Injektionsstellen erzeugt werden. Zudem diffundieren Mikrosphären nicht vom Injektionsort weg. Die Beads werden an der Injektionsstelle von den Nervenzellfortsätzen aufgenommen und durch aktiven Transport retrograd zum Zellkörper transferiert, so daß es zu einer körnigen Zytoplasmaanfärbung kommt (Katz et al., 1984; Katz und Iarovici, 1990). Somit werden diejenigen Neurone markiert, die Axone zu den Neuronen im Bereich der Injektionsstelle senden.

Durch die Kopplung mit den Farbstoffen Rhodamin und Fluorescein können die markierten Neurone im Fluoreszenzmikroskop detektiert werden. Hierbei sind auch lange Beobachtungszeiten kein Problem, da die Beads kaum ausbleichen.

Die Entwicklung langreichweitiger Horizontalverbindungen wurde sowohl bei normalsichtigen als auch divergent schielenden Katzen analysiert. Die Untersuchung umfaßte hierbei die vier und sechs Wochen alten Tiere (siehe Tab. 2.4). Im Folgenden werden die einzelnen Schritte von der Injektion bis zur Auswertung der markierten Neurone im Detail beschrieben.

2.5.1 Applikation der fluoreszierenden Latexmikrosphären

Aufgrund des aktiven Transportes der Latexmikrosphären, der mindestens 48 Stunden in Anspruch nimmt, wurden die Injektionen in die Sehrinde drei bis sieben Tage vor dem Autoradiographie-Experiment unter Vollnarkose durchgeführt.

Operationsvorbereitung und Narkose

Zu Beginn des Versuches wurde die Narkose wie bereits für die Induktion des Schielwinkels beschrieben durch eine intramuskulär applizierte Mischung aus Ketaminhydrochlorid (20 mg/kg) und Xylazinhydrochlorid (1,5 mg/kg) eingeleitet. Zur Stabilisierung des Kreislaufes und der Verminderung der Vaguswirkung wurde zusätzlich intramuskulär Atropin (Atropinsulfat, 0,1 mg/kg, B.Braun) verabreicht. Nach einer lokalen Anästhesie des Oropharynx mit Lidocain in Sprayform (10 mg, Xylocain Pumpspray, Astra) wurden die Katzen intubiert. Hierfür wurden mit Lidocainhydrochlorid (Xylocain Gel 2%, Astra) bestrichene Trachealtuben aus Weichgummi (Innendurchmesser: 2,5-2,8 mm, Rüschi) benutzt. Anschließend wurde das anästhesierte Tier in einem stereotaktischen Rahmen mit Hilfe von Ohrstiften und Jochbeinhaltern fixiert. Die Narkose wurde durch künstliche Beatmung mit einem Sauerstoff-Lachgas-Gemisch (30% O₂, 70% N₂O), das mit 0,4-0,6% Halothan ergänzt wurde, aufrechterhalten. EKG (subkutane Brustableitung mit zwei Elektroden), Atemdruck und Rektaltemperatur wurden über die gesamte Versuchsdauer kontinuierlich gemessen. Die Körpertemperatur wurde mit einem unter dem Tier liegenden Heizkissen auf 38°C gehalten. Atemvolumen und -frequenz wurden an der Atempumpe (Harvard Rodent Ventilator 683, Zak Medizintechnik) so reguliert, daß der Kohlendioxid-Gehalt der Expirationsluft im Bereich von 2,5-3,5% lag (CO₂-Monitor: 4700 Oxicap, Ohmeda; bzw. Capnosat, Dräger). Kontaktlinsen verhinderten das Austrocknen der Hornhäute.

Operativer Eingriff und Tracerinjektion

Zunächst wurde der Schädel über dem Okzipitalpol und dem Schläfenlappen großzügig freipräpariert. Nach Bestimmung des stereotaktischen Nullpunktes wurde eine Trepanation mit den Horsley-Clarke-Koordinaten P5-10 und L0-4 über der Area 17 der linken Hemisphäre angefertigt. Über dem Gyrus lateralis wurde die Dura dann vorsichtig inzidiert und zur Seite geklappt. Zur Injektion wurden auf ca. 25 µm Spitzendurchmesser ausgezogene Borosilicatglaskapillaren mit Filament (Außendurchmesser 1 mm, Hilgenberg) benutzt. Die mit Latexmikrosphären gefüllte Kapillare, die an einem elektronisch gesteuerten Mikromanipulator angebracht war, wurde unter dem Binokularmikroskop ausgerichtet und senkrecht zu den kortikalen Schichten etwa 800-1000 µm in das Hirngewebe abgesenkt. Die Positionierung der Kapillare erfolgte hierbei ohne vorherige funktionelle Charakterisierung der Einstichstelle. Durch manuell auslösbare 5V-Signale wurde dann über eine Druckeinheit

(Neurophore, Medical System, USA; bzw. Ionophor-3, Science Products) Stickstoffgas durch einen Kunststoffschlauch in die farbstoffgefüllte Glaskapillare geleitet. Unter langsamen Zurückziehen der Kapillare aus dem Einstichkanal und gleichzeitigen Druckpulsen wurden ca. 250-400 nl Beads-Lösung pro Injektionsstelle appliziert. Die Latexmikrosphären flossen dabei meist von der Kapillarenspitze über den Schaft außen bis zur Kortexoberfläche, so daß eine feine mit Beads gefüllte Kolumne entstand. Auf diese Weise wurde jeweils eine Injektion mit roten und grünen Beads im Abstand von bis zu 2 mm in Area 17 gesetzt.

Nach erfolgter Injektion wurde die Dura wieder so weit wie möglich über die freie Kortexoberfläche gezogen, das trepanierte Knochenstück wieder eingesetzt und mit Silikonpaste versiegelt. Abschließend wurde die Kopfhaut mit Nahtmaterial wieder verschlossen.

Postoperative Versorgung

Nach Abschluß der Operation ließen wir die Tiere nach maximal vierstündiger Narkose erwachen und extubierten sie nach Einsetzen der Spontanatmung. Um Flüssigkeitsverluste während der Operation auszugleichen, wurde subkutan ein Gemisch (1:1) aus Aminosäuren mit Elektrolyten und Vitaminen des B-Komplexes (Aminin, Rhone-Merieux) und isotonischer Kochsalzlösung appliziert (ca. 5 ml). Um Infektionen im Wundbereich vorzubeugen, wurde während der Präparation unter möglichst keimarmen Bedingungen gearbeitet. Zusätzlich erhielten die Tiere subkutan alle zwei Tage ein Breitspektrum-Antibiotikum mit Depotwirkung (Zweifachkombination: Penicillin, Streptomycin; Tardomyocel comp., Bayer). In manchen Fällen wurde zusätzlich täglich ein weiteres Breitspektrum-Antibiotikum (Chloramphenicol) verabreicht (Paraxin, Boehringer Mannheim).

2.5.2 Histologische Aufarbeitung

Drei bis sieben Tage nach erfolgter Beads-Injektion wurde bei den Tieren im Alter von vier bzw. sechs Wochen das 2-DG-Experiment durchgeführt (siehe 2.3.1). Die Aufarbeitung des Hirngewebes erfolgte wie bei den Tieren ohne Beads-Injektion (siehe 2.3.2). Die einzige Änderung im Protokoll betraf die Trocknung der aufgezogenen Schnitte. Die Heizplattentemperatur wurde auf 45°C abgesenkt, um eine Zerstörung der Latexmikrosphären in den Zellen durch eine zu hohe Temperatur auszuschließen.

Die CGL-Schnitte wurden nach der mikroskopischen Auswertung der Beads-markierten Neurone (siehe 2.5.3) zusätzlich Nissl-gegengefärbt, um die Schichten A, A1 und C klar voneinander abgrenzen zu können. Die Details der Zellkörperfärbung mit Kresylviolett sind Tabelle 2.3 zu entnehmen.

Tabelle 2.3: Nissl-Färbung.

Schritt	Zeit	Lösung	Bemerkung
1	4 min	0,1M Azetatpuffer pH 4,6	ansäuern; im Isotopenlabor, da die radioaktive 2-DG ausgewaschen wird
2	4-6 min	Kresylviolett 1,5% in 0,1M Azetatpuffer pH 4,6	überfärben
3	4 min	0,1M Azetatpuffer pH 4,6	differenzieren
4	3 min	Ethanol 50%	
5	2 min	Ethanol 70%	
6	10 sec 10 sec	Ethanol 96 % "	Sichtkontrolle
7	10 sec 10 sec	Iso-Propanol "	Sichtkontrolle
8	10 sec	Histoclear (Shandon)	
9	unkritisch	Histoclear (Shandon)	aus Histoclear mit Histomount (Shandon) eindecken

2.5.3 Bildverarbeitung und Analyse der markierten Zellen

Für eine Auswertung der Horizontalverbindungen wurde zunächst die Verteilung der retrograd markierten Neurone in der primären Sehrinde und im CGL sowie die Position der Injektionsstellen erfaßt. Dann erfolgte eine Überlagerung der Zellverteilungen mit den digitalisierten 2-DG-Autoradiogrammen der gleichen Schnitte. Dies zusammen ermöglichte die Analyse folgender Parameter: 1. Augendominanzselektivität der Injektionen, 2. Größe der Injektionsstellen, 3. Anzahl der markierten Zellen, 4. Reichweite der Horizontalverbindungen und 5. Augendominanzselektivität der Horizontalverbindungen. Nachfolgend werden die durchgeführten Auswertungsschritte im Detail beschrieben.

Aufnahme der Zellverteilungen

Die Verteilungen der mit fluoreszierenden Latexmikrosphären markierten Neurone wurden an einem Zeiss Photomikroskop III (Tubusfaktor 1,25; Okulare 10x) unter der Verwendung verschiedener Filtersätze (grüne Beads: A 450-490 nm / E 520 nm, rote Beads: A 510-560 nm / E 590 nm) im Fluoreszenzauflicht untersucht. Die Detektion der markierten Neurone erfolgte mit einem Objektiv 10:1 (Zeiss Neofluar 10/0,30), für schwach fluoreszierende Zellen wurde gegebenenfalls auf die nächst höhere Vergrößerung (Objektiv 16:1; Zeiss Plan-Neofluar 16/0,50) zurückgegriffen. Das

Mikroskop war mit einem motorisierten Objektisch (MCC, Märzhäuser) versehen, der über einen PC durch das Programm Magellan (Halasz und Martin, 1984) gesteuert wurde. Die graphische Oberfläche des Programms wurde hierbei mit einem Flachbildschirm (ELM 640.350, Finlux) über einen Zeichenapparat in den Strahlengang eingespiegelt, so daß Objekt und Vektorgraphik überlagert erschienen. Dies ermöglichte das exakte Abzeichnen der markierten Neurone, Injektionsstellen und Referenzpunkte.

Pro Sehrinde wurden fünf Schnitte in regelmäßigen Abständen aus den Schichten II-IV analysiert. Hierbei wurden Zellen in der Regel erst bei einem Abstand von 600-800 μm vom Zentrum der Injektionsstelle deutlich erkennbar und gezählt, da die intensive Fluoreszenz in deren unmittelbarer Nachbarschaft keine Identifizierung einzelner Neurone zuließ.

In Schicht IV erreichten die Injektionen auch Axonendigungen zum Kortex projizierender Neurone aus dem CGL. Die dort retrograd markierten Neurone wurden auf allen Schnitten durch das CGL festgehalten. Als Referenzpunkte dienten hier Luftblasen im Gewebeschnitt.

Überlagerung von Zellverteilung und Autoradiogramm

Die Zellverteilungen in Sehrinde und CGL wurden mit den 2-DG-Autoradiogrammen der gleichen Schnitte überlagert. Hierzu wurden die Autoradiogramme zunächst mit dem Bildverarbeitungssystem und Programm BILD (siehe 2.3.3) mit 256 Graustufen und einer Auflösung von 20,48 Pixel/mm digitalisiert. Anschließend wurden die Bilder durch Expandieren der Grauwerte (Grauwertspreizung) kontrastiert und zum Ausgleich großflächiger Unebenheiten in der optischen Dichte (z.B. durch Unregelmäßigkeiten im Schnitt) hochpaßgefiltert (Grenzwellenlänge 30 mm). Für die weiteren Auswerteschritte diente wiederum IDL 5.1 als Plattform. Mit Hilfe des Programms Beads (Michael Stephan, MPI für Hirnforschung, Frankfurt am Main) wurde die mit der Magellan-Software erstellte Vektorgraphik der markierten Neurone anhand der drei Referenzpunkte mit den betreffenden digitalisierten Autoradiogrammen überlagert.

Durch diese Überlagerungen konnten die retrograd markierten Neurone und die Neurone an der Injektionsstelle anatomischen Strukturen (Areal in der Sehrinde, Schichtung im CGL) zugeordnet und funktionell (Augendominanz) charakterisiert werden.

Augendominanzselektivität der Injektionen

Die retrograd markierten Neurone im linken CGL konnten aufgrund der selektiven 2-DG-Markierung (siehe 3.1.1 und 3.4.1) den verschiedenen Laminae (A, A1 und C) zugeordnet werden. Für eine exakte Abgrenzung der Schichten wurden die aufgenommenen Zellverteilungen jedoch zusätzlich mit den mit Kresylviolett gefärbten Schnitten überlagert und direkt am Mikroskop ausgezählt. Eine weitere Unterteilung der C-Schichten (C und C1-2) ist auch auf Nissl-Schnitten nicht eindeutig

möglich (siehe auch Kawano, 1998). Für die Bewertung der Augendominanz der Neurone an der Injektionsstelle wurden daher nur die Schichten A und A1 herangezogen, die jeweils exklusiv Afferenzen vom rechten bzw. linken Auge erhalten. Als Maß für die Augendominanzselektivität einer Injektion wurde daher der Anteil der markierten Neurone in der jeweiligen CGL-Schicht A bzw. A1 an deren Summe (A+A1) festgelegt und der größere der beiden Quotienten als CGL-Index definiert:

$$\text{für } A \geq A1 \text{ gilt: } \text{CGL-Index} = \frac{\text{Neurone in A}}{\text{Neurone in A+A1}}$$

$$\text{für } A1 > A \text{ gilt: } \text{CGL-Index} = \frac{\text{Neurone in A1}}{\text{Neurone in A+A1}}$$

Der CGL-Index kann somit Werte zwischen 0,5 und 1 einnehmen. Ist die Anzahl der Zellen in Schicht A höher als in A1, traf die Injektion in der Sehrinde mehrheitlich eine Kolumne des rechten Auges. Zeigt Schicht A1 mehr markierte Zellen, wurde in der Sehrinde überwiegend in eine Kolumne des linken Auges injiziert. Für den Fall einer unselektiven Injektion, die in der Sehrinde genau auf der Grenze zweier Augendominanzkolumnen lag und so im CGL eine ausgeglichene Verteilung der markierten Neurone (A=A1) erzielte, nimmt der CGL-Index den Wert 0,5 ein. Je besser die Kolumne eines Auges getroffen wurde, um so größer wird der Index. Der Maximalwert 1 würde bedeuten, daß fluoreszierende Beads ausschließlich in eine Augendominanzkolumne gelangten.

Die im CGL ermittelten Augendominanzselektivitäten der Injektionen wurden im Kortex anhand der Position der Injektionsstellen zum 2-DG-Muster verifiziert.

Größe der Injektionsstellen

Die Größe der Injektionsstellen wurde auf allen fünf ausgewerteten Sehrindenschnitten bestimmt. Da die Injektionsstellen selten einen kreisförmigen Querschnitt hatten, wurden ihre Längs- und Querachsen vermessen. Für eine weitergehende quantitative Analyse wurde für jeden Schnitt der Mittelwert aus Längs- und Querachse berechnet und als Injektionsdurchmesser bezeichnet.

Anzahl und Reichweite langreichweitiger Horizontalverbindungen

Auf den 2-DG-Autoradiogrammen konnten anhand des selektiven Aktivitätsmusters die Grenzen von Area 17 klar definiert werden (siehe 2.3.3). So wurden auf den überlagerten Schnitten nur die retrograd markierten Neurone quantifiziert, die innerhalb von Area 17 lagen. Neben der Bestimmung ihrer absoluten Anzahl wurde auch die maximale Distanz gemessen, mit der ein markiertes Neuron vom Zentrum der Injektionsstelle entfernt detektiert werden konnte.

Augendominanzselektivität der Horizontalverbindungen

Da die Autoradiogramme der einzelnen Experimente unterschiedliche Grauwertverteilungen aufwiesen, mußte zur quantitativen Analyse der Daten eine objektive Schwelle festgelegt werden, die die Grenze zwischen den durch das offene Auge aktivierten und nicht aktivierten Kortexregionen definierte. Da die thalamokortikalen Afferenzen der beiden Augen annähernd gleich große Bereiche in Schicht IV belegen (Shatz et al., 1977) und funktionell markierte Kolumnen mit diesen Bereichen korrelieren (Löwel und Singer, 1993b) wurde jedem Auge 50% der Fläche zugewiesen. Dazu wurde zunächst der interessierende Bildausschnitt (Area 17) auf den Autoradiogrammen gewählt und als optischer Schwellenwert der Grauwert bestimmt, unterhalb bzw. oberhalb dessen sich annähernd 50% aller Bildpunkte befanden. Alle Bildpunkte oberhalb dieser Schwelle (dunkle Grauwerte der Domänen des offenen, rechten Auges) wurden dann auf den Grauwert 255 (schwarz) gesetzt, während den Bildpunkten unterhalb der Schwelle (helle Grauwerte der Domänen des geschlossenen, linken Auges) der Grauwert 0 (weiß) zugewiesen wurde. Area 17 wurde somit in schwarze und weiße Domänen unterteilt, die zusammen jeweils ca. 50% der Fläche einnahmen.

Die mit roten oder grünen Beads markierten Neurone konnten nun in Abhängigkeit ihrer Lokalisation zu den schwarzen oder weißen Domänen klassifiziert und ausgezählt werden. Zum Ausgleich der leichten Flächenunterschiede (bedingt durch eine große Anzahl Pixel pro Grauwert) wurden die absoluten Zellzahlen für die beiden Kompartimente auf exakt 50% der Fläche linear extrapoliert. Anschließend wurden die Zellzahlen der fünf Sehrindenschnitte addiert und ins Verhältnis zur Gesamtzahl der markierten Neurone gesetzt. Als Maß für die Augendominanzselektivität der Beads-markierten Neurone in der Sehrinde wurde der Anteil der markierten Neurone, die in den Domänen der gleichen Augendominanz liegen wie die Injektion, als Kortex-Index definiert:

$$\text{für } A > A1 \text{ gilt: } \text{Kortex-Index} = \frac{\text{Neurone auf schwarz}}{\text{Neurone auf weiß} + \text{schwarz}}$$

$$\text{für } A1 > A \text{ gilt: } \text{Kortex-Index} = \frac{\text{Neurone auf weiß}}{\text{Neurone auf weiß} + \text{schwarz}}$$

Hierbei bezeichnen A und A1 die Anzahl der Neurone in den Schichten A und A1 des CGL, aus denen die Selektivität der Injektion abgeleitet wurde (siehe oben). Der Kortex-Index nimmt somit Werte zwischen 0 und 1 ein. Er hat den Wert 0, wenn markierte Neurone nur in Kolumnen mit der dem Ort der Injektion entgegengesetzten Augendominanz gefunden werden. Der Kortex-Index hat den Wert 1, wenn alle markierten Neurone in den Kolumnen der gleichen Augendominanz liegen wie die Injektion. Für den Fall einer unselektiven Injektion (A=A1) ist der Kortex-Index nicht definiert. Theoretisch sollte dann eine Gleichverteilung der markierten Neurone in der Sehrinde vorliegen.

Wenn Horizontalverbindungen augendominanzselektiv sind, was für divergent schielende Katzen gezeigt wurde (Löwel und Singer, 1992), ist eine Abhängigkeit der Verteilung Beads-markierter Neurone von der Selektivität der Injektionen zu erwarten: Weniger selektive Injektionen sollten auch zu weniger selektiven Zellverteilungen in der Sehrinde führen (siehe 3.4.4). Die Selektivität der in der vorliegenden Arbeit ausgewerteten Injektionen schwankte jedoch stark (CGL-Indices zwischen 0,5 und 0,882; siehe 3.4.1). Da der Kortex-Index diese Unterschiede unberücksichtigt läßt, ist er als Kriterium für die Beurteilung der Selektivität langreichweitiger Horizontalverbindungen nicht ausreichend.

Als ein Maß hierfür wurde daher ein Selektivitätsindex definiert:

$$\text{Selektivitätsindex} = 1 - \frac{| \text{CGL-Index} - \text{Kortex-Index} |}{(\text{CGL-Index} + \text{Kortex-Index})}$$

Diese Definition ergibt eine beschränkte und mit der zu beschreibenden Eigenschaft monotone Größe und ist daher für die zu treffenden Aussagen geeignet. Er setzt die ermittelten Verteilungen der retrograd markierten Neurone aus Kortex und CGL ins Verhältnis und normiert sie auf Werte zwischen 0 und 1.

Der Selektivitätsindex ist für selektive Injektionen, die zu ebenso selektiven Verbindungen in der Sehrinde führen (CGL-Index = Kortex-Index), maximal und nimmt den Wert 1 ein. Je mehr Kortex-Index und CGL-Index voneinander abweichen, desto kleiner wird der Selektivitätsindex. Für den Fall einer rein zufälligen Verschaltung von Sehrindenneuronen (Kortex-Index = 0,5) ist der untere Grenzwert $\frac{2}{3}$. Der Minimalwert 0 wird erreicht, wenn eine Injektion, die vollständig in die Kolumne eines Auges traf (CGL-Index = 1), in der Sehrinde nur Verbindungen zu Neuronen des anderen Auges (Kortex-Index = 0) erzielt.

Mit Hilfe des Selektivitätsindex wurde so ein Vergleich zwischen den Tieren unterschiedlichen Alters und unterschiedlicher visueller Erfahrung möglich.

Für eine schlußfolgernde Statistik zu den erhobenen Daten der Horizontalverbindungen wurden nicht-parametrische Tests durchgeführt. Eine Korrelation zweier stetiger Variablen wurde mit dem Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten getestet. Vergleiche zwischen zwei Stichproben wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die Position der berechneten Selektivitätsindices zu einem Erwartungswert wurde mit einem Vorzeichentest überprüft. Die Berechnung der Tests erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms StatView 5 (SAS Institute) am PC.

Tabelle 2.4: Übersicht der in dieser Arbeit für Autoradiographieversuche verwendeten Katzen.

Angegeben sind das Alter (in Wochen nach der Geburt, PW), das Körpergewicht, die Aufzuchtbedingung (normalsichtig oder divergenter Schieler) und die durchgeführten Auswertungen (Kontrast, Abstand, Fläche siehe 2.3.3; Beads siehe 2.5.3). Die Katzen stammten häufig paarweise aus einem Wurf. Bei folgenden Katzen handelte es sich um Geschwistertiere: 1+2, 3+4, 5+6, 7+10+11, 15+16, 20+21, 22+23, 26+27, 28+29.

Tier	Alter	Gewicht	Augen	Auswertung
SR 1	PW 3	375 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche
SR 2	PW 5	490 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche
SR 3	PW 4	350 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 4	PW 4	340 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 5	PW 6	720 g	Schieler	Abstand, Fläche
SR 6	PW 6	550 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 7	PW 2	240 g	normal	Kontrast
SR 8	PW 3	420 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche
SR 9	PW 5	320 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche
SR 10	PW 6	490 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 11	PW 6	460 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 14	PW 4	330 g	Schieler	Abstand, Fläche, Beads
SR 15	PW 6	348 g	normal	Fläche
SR 16	PW 6	350 g	Schieler	Fläche
SR 17	PW 5	460 g	normal	Abstand, Fläche
SR 19	PW 4	435 g	normal	Kontrast, Abstand, Beads
SR 20	PW 3	276 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche
SR 21	PW 3	271 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche
SR 22	PW 4	405 g	Schieler	Fläche
SR 23	PW 4	430 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 26	PW 6	725 g	Schieler	Fläche
SR 27	PW 6	750 g	Schieler	Fläche, Beads
SR 28	PW 6	540 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche, Beads
SR 29	PW 6	620 g	Schieler	Kontrast, Abstand, Fläche

Tabelle 2.5: Übersicht der Tiere aus älteren, publizierten Autoradiographie-versuchen, die in dieser Arbeit für neue Auswertungen herangezogen wurden (Löwel und Singer, 1992; 1993b). Angegeben sind das Alter (in Wochen nach der Geburt, PW), das Körpergewicht, die Aufzuchtbedingung (normalsichtig oder divergenter Schieler) und die durchgeführten Auswertungen (Kontrast, Abstand, Fläche siehe 2.3.3). Die Katzen beads 7+8 sowie beads 9+10 waren Geschwistertiere.

Tier	Alter	Gewicht	Augen	Auswertung
beads 6	PW 13	1510 g	Schieler	Kontrast
beads 7	PW 10	850 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche
beads 8	PW 10	1080 g	normal	Kontrast, Abstand, Fläche
beads 9	PW 9	976 g	Schieler	Kontrast
beads 10	PW 9	1000 g	Schieler	Kontrast

Tabelle 2.6: Übersicht der in dieser Arbeit magnetresonanztomographisch untersuchten Katzen. Angegeben sind der Beobachtungszeitraum (Alter in Wochen nach der Geburt, PW), die Aufzuchtbedingung (normalsichtig) und die durchgeführten Auswertungen (AP-Länge, Volumen, Oberfläche siehe 2.4.2). Die Körpergewichte an den einzelnen Meßtagen sind Tabelle 3.1 zu entnehmen. Die Katzen B und C waren Geschwistertiere.

Tier	Alter	Augen	Auswertung
A	PW 2 - PW 6	normal	AP-Länge, Volumen, Oberfläche
B	PW 2 - PW 7	normal	AP-Länge, Volumen, Oberfläche
C	PW 2 - PW 54	normal	AP-Länge, Volumen, Oberfläche
D	PW 3 - PW 30	normal	AP-Länge, Volumen, Oberfläche
E	PW 41	normal	Volumen, Oberfläche

3. Ergebnisse

3.1 Entwicklung funktioneller Okulardominanzkolumnen bei normalsichtigen und schielenden Katzen

Der Zeitverlauf der Segregation von Okulardominanzkolumnen wurde sowohl bei normalsichtigen als auch bei divergent schielenden Katzen analysiert. Mit der autoradiographischen Untersuchung der funktionellen Aktivität in der primären Sehrinde bei monokulärer Stimulation wurde bereits kurz nach Öffnung der Augen in einem Alter von zwei Wochen begonnen. Der Gesamtbeobachtungszeitraum umfaßte die Altersstufen von zwei bis sechs Wochen.

3.1.1 Kinetik der Entstehung von Okulardominanzkolumnen

Bei normalsichtigen Katzen zeigte sich im Alter von zwei Wochen eine homogene 2-DG-Markierung in Area 17 (Abb. 3.1A,E). Bereits eine Woche später, im Alter von drei Wochen, war auf den Autoradiogrammen ein klar erkennbares Muster von Okulardominanzkolumnen detektierbar, das sich über alle kortikalen Schichten erstreckte (Abb. 3.2) und die gesamte primäre Sehrinde einnahm (Abb. 3.1B). Der Kontrast des Musters und damit das Ausmaß der Segregation der Okulardominanzkolumnen, war jedoch schwächer als bei älteren Tieren (vergleiche mit Abb. 3.1C,D). Schon im Alter von vier Wochen zeigte die funktionelle Markierung ein Muster, wie es bei erwachsenen Tieren darstellbar ist (Abb. 3.1C) und damit zu einem Zeitpunkt, an dem die anatomische Segregation der thalamokortikalen Afferenzen beider Augen in der Schicht IV der primären Sehrinde noch nicht abgeschlossen ist (LeVay et al., 1978). Im weiteren Verlauf der postnatalen Entwicklung (Wochen 5-6) zeigten sich keine auffallenden Unterschiede mehr (Abb. 3.1D). Die beobachteten Muster auf den Autoradiogrammen sind vergleichbar mit denen früher untersuchter älterer Tiere (siehe Löwel und Singer, 1993b).

Die Untersuchung der Tiere, bei denen durch die operative Induktion eines Schielwinkels die visuelle Erfahrung während des Heranwachsens modifiziert wurde, zeigte einen ähnlichen Entwicklungsverlauf. Im Alter von drei Wochen, also eine Woche nach der Schielwinkelinduktion, wies die primäre Sehrinde deutlich sichtbare Okulardominanzkolumnen auf (Abb. 3.1F). Wie bei den normalsichtigen Katzen war das kolumnäre Muster konsistent über die kortikalen Schichten hinweg vorhanden und füllte die gesamte Fläche von Area 17 aus. Auch der Kontrast zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Gebieten war geringer als bei den älteren Tieren (vergleiche mit Abb. 3.1G,H). Im Alter von vier Wochen (Abb. 3.1G) war das 2-DG-Muster nicht länger von dem ein oder zwei Wochen älterer Tiere (Abb. 3.1H) oder erwachsenen Tieren unterscheidbar (siehe Löwel und Singer, 1993b).

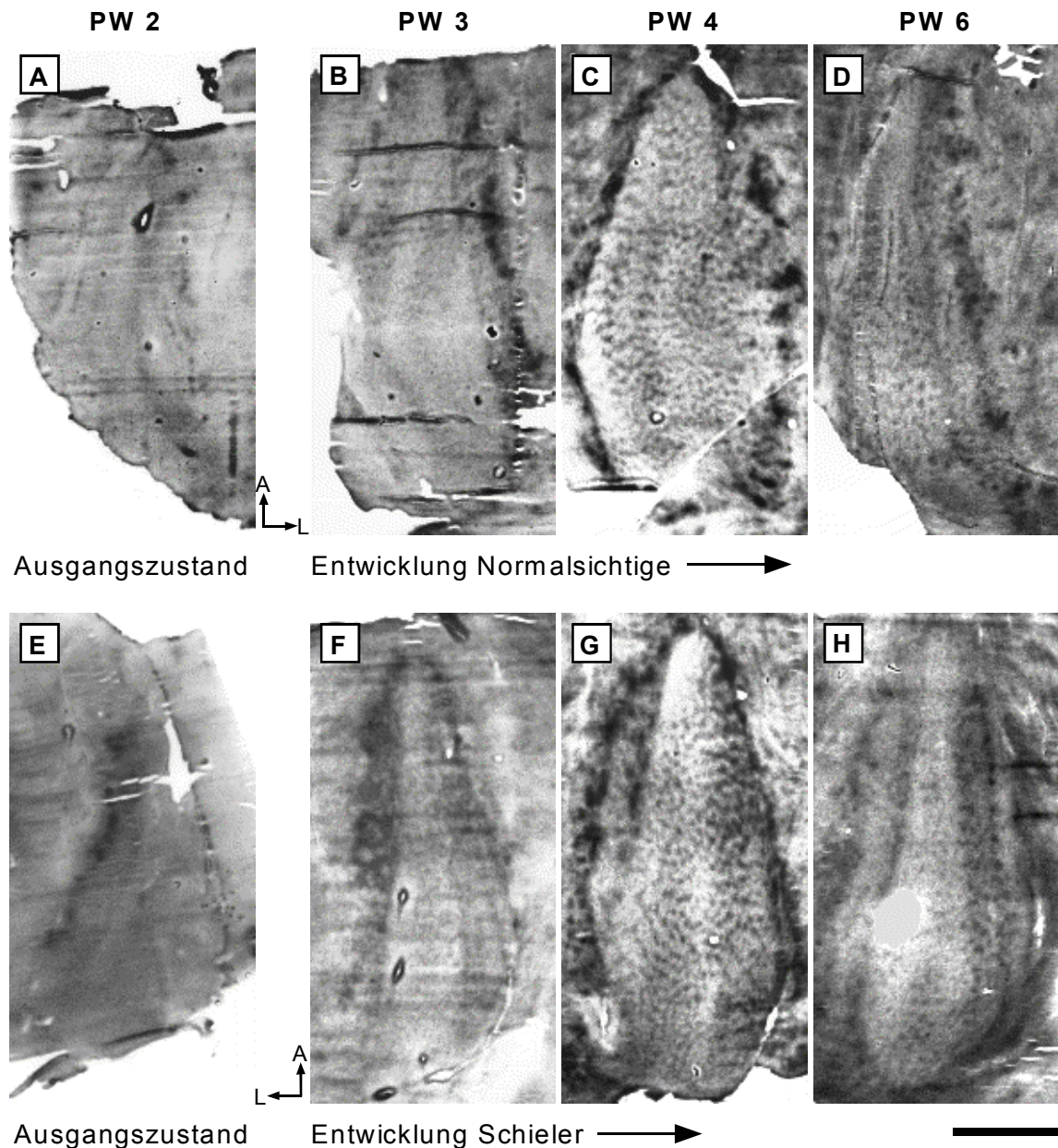


Abbildung 3.1: Entwicklung von Okulardominanzkolumnen in der primären Sehrinde normalsichtiger (**B-D**) und divergent schielender Katzen (**F-H**) vom gleichen Ausgangszustand im Alter von zwei Wochen (**A,E**). 2-DG-Autoradiogramme supragranulärer Schnitte von aufgefalteten rechten (obere Reihe) und linken (untere Reihe) Hemisphären. Die wachen Tiere wurden alle durch das rechte Auge stimuliert. **A,E:** 2-DG-Markierung in Area 17 einer 2 Wochen alten Katze. Die 2-DG-Verteilung in Area 17 ist weitgehend homogen. **B:** 3 Wochen alte Katze. Ein Muster von OD-Kolumnen ist bereits sichtbar (kleine dunkelgraue Flecken auf hellgrauem Untergrund in der tropfenförmigen Area 17 (siehe auch Abb. 2.2)). **C:** 4 Wochen alte Katze. Das OD-Muster hat einen höheren Kontrast und gleicht dem erwachsener Tiere. **D:** 6 Wochen alte Katze. Aktivierte und nicht-aktivierte Bereiche heben sich so klar voneinander ab wie in den 4 Wochen alten Tieren. **F-H:** Der Zeitverlauf der OD-Entwicklung bei Schielern entspricht

dem von normalsichtigen Tieren. **F**: 3 Wochen alte Schielkatze. OD-Kolumnen sind unterscheidbar. **G**: 4 Wochen alte Schielkatze. Das OD-Muster gleicht dem erwachsener Tiere (verstärkter Kontrast im Vergleich zum Muster in F). **H**: 6 Wochen alte Schielkatze. Es gibt keine gravierenden Änderungen im Kontrast mehr. Im Bereich eines Artefaktes (hellgrau gekennzeichnet) fehlt die 2-DG-Markierung. Die in einigen Autoradiogrammen vorhandenen Querrippen sind Schneiddefekte (dunkle bzw. weiße Stellen). A, anterior; L, lateral; PW, Postnatalwoche. Maßstab = 1 cm.

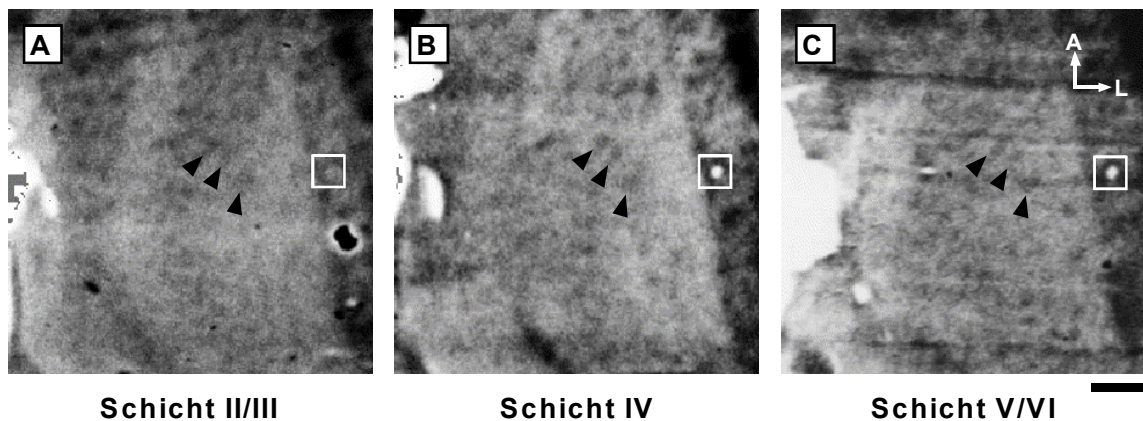


Abbildung 3.2: 2-DG-markierte Okulardominanzkolumnen im Bereich der Repräsentation des zentralen Gesichtsfeldes in verschiedenen Hirnrindenschichten von Area 17. Dargestellt sind die Autoradiogramme der rechten Hemisphäre (ipsilateral zum offenen Auge) einer normalsichtigen Katze (SR 8) im Alter von 3 Wochen. Die beginnende kolumnäre Gliederung von Area 17 ist erkennbar, egal ob der Horizontalschnitt aus Schicht II/III (**A**), Schicht IV (**B**) oder Schicht V/VI (**C**) stammt. Die OD-Kolumnen verlaufen durch alle Schichten (siehe exemplarisch die durch schwarze Pfeilspitzen gekennzeichneten Kolumnen). Der markierte weiße Punkt (rechts im Bild) knapp außerhalb von Area 17, in Area 18, ist eines der drei gesetzten Referenzlöcher. A, anterior; L, lateral. Maßstab = 2 mm.

Im Corpus geniculatum laterale aller Versuchstiere waren die monokulär induzierten 2-DG-Muster relativ ähnlich. Unabhängig von den Aufwuchsbedingungen war die 2-DG-Aufnahme im CGL ipsilateral zum offenen Auge am höchsten in den Schichten A1 und C1. Im CGL kontralateral zum offenen Auge war die 2-DG-Aufnahme am höchsten in den Schichten A und C (siehe Abb. 3.22). Dieses Verteilungsmuster bestätigte somit die Effektivität der monokulären Reizung der Versuchstiere durch die Aktivierung derjenigen Schichten, die direkte Afferenzen von dem entsprechenden Auge bekommen (Löwel und Singer, 1993b).

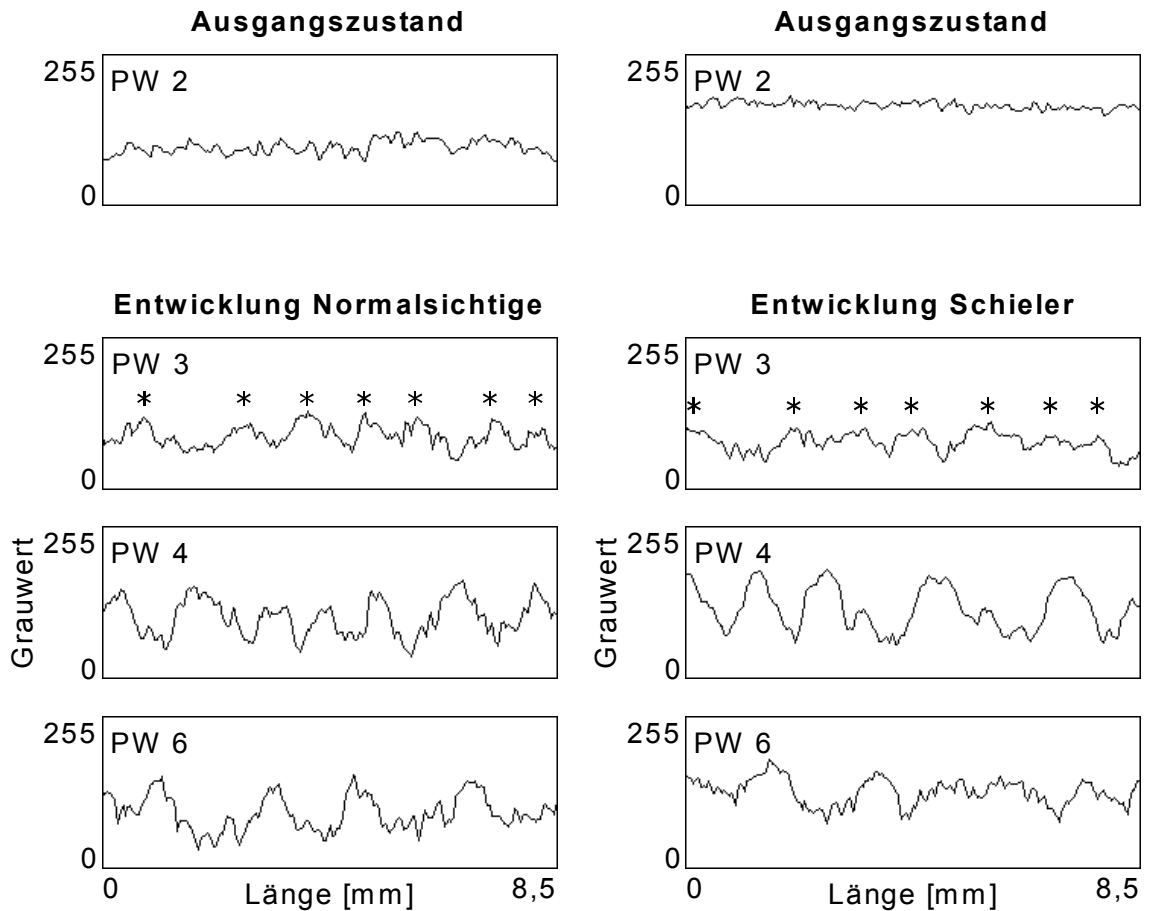


Abbildung 3.3: Grauwert-Profile entlang der anteroposterioren Achse der Areae 17 der in Abbildung 3.1 gezeigten Autoradiogramme von Tieren im Alter von 2-6 Wochen. Grauwert 0 entspricht weiß, Grauwert 255 schwarz. Die oberen beiden Profile zeigen den Ausgangszustand mit vorhandenem Hintergrundrauschen im Alter von 2 Wochen. Sowohl bei normalsichtigen als auch bei schielenden Tieren erhöht sich der Grauwertunterschied (Kontrast) zwischen mehr und weniger stark markierten Kortexregionen (Berge bzw. Täler) bis zu einem Alter von 4 Wochen. Unterscheidbare OD-Kolumnen (durch Sternchen gekennzeichnet) treten erstmals im Alter von 3 Wochen auf. PW, Postnatalwoche.

Um die bisher zur Entwicklung von Okulardominanzkolumnen gemachten qualitativen Aussagen zu untermauern, wurden die 2-DG-Autoradiogramme eingehender analysiert. Zunächst wurden Grauwert-Profile entlang der anteroposterioren Achse der Areae 17 gemessen (Abb. 3.3). Zeigten die Profile im Alter von zwei Wochen lediglich einen verrauschten Grundzustand mit wenigen Grauwerten, so waren mit drei Wochen sowohl bei den normalsichtigen als auch den schielenden Tieren bereits Grauwertfluktuationen vorhanden, die als Kolumnen sichtbar wurden (Abb. 3.3). Der Grauwertunterschied (Kontrast) zwischen stark und weniger stark markierten Regionen erhöhte sich weiter in beiden Experimentalgruppen bis zu einem Alter von vier Wochen, um dann annähernd konstant zu bleiben (Abb. 3.3). Die Messung der Grauwert-Profile verdeutlichte

demnach drei Aspekte der OD-Kolumnenentstehung: 1. Das erste Auftreten von unterscheidbaren Kolumnen im Alter von drei Wochen. 2. Die Erhöhung des Kontrastes in den Autoradiogrammen bis zum Alter von vier Wochen. 3. Der nicht unterscheidbare Zeitverlauf in der Entwicklung normalsichtiger und divergent schielender Tiere.

Die Verstärkung des Kontrastes in den Autoradiogrammen der Tiere zwischen der zweiten und vierten postnatalen Woche ließ sich außerdem an der Vergrößerung der Spanne der in ihnen vorkommenden Grauwerte quantitativ bestimmen (Rathjen und Löwel, 2000). Enthielten im Alter von zwei Wochen die Autoradiogramme nur eine begrenzte Zahl von mittleren Grauwerten, kamen in den folgenden zwei Wochen niedrigere und höhere Grauwerte hinzu. Die Histogramme der in jeweils gleich großen Ausschnitten gemessenen Grauwertverteilungen in diesen Autoradiogrammen wurden somit zunehmend breiter und gleichzeitig flacher (Abb. 3.4).

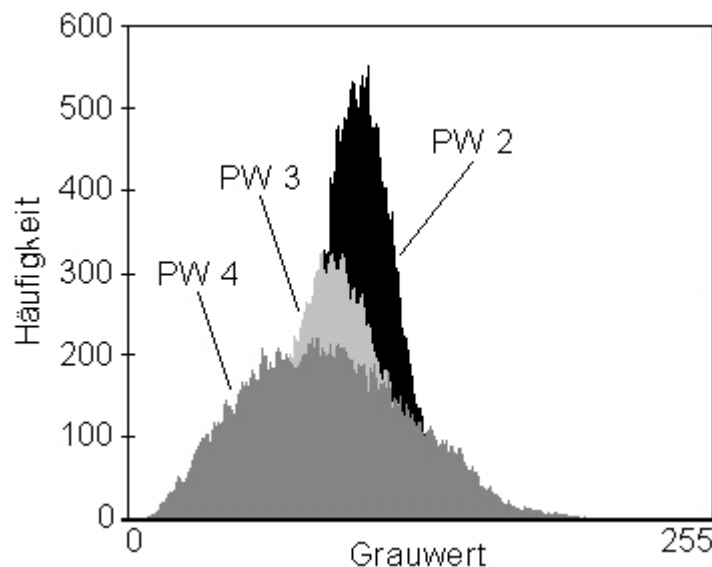


Abbildung 3.4: Histogramme der Grauwertverteilungen in den Areae 17 der in Abbildung 3.1A-C gezeigten 2-DG-Autoradiogramme normalsichtiger Katzen im Alter von 2, 3 und 4 Wochen. Der erhöhte Kontrast in den Autoradiogrammen zwischen der zweiten und vierten Postnatalwoche (PW) spiegelt sich in einer Verbreiterung und Abflachung der Häufigkeitsverteilung der Grauwerte wider: Bei PW 2 ist nur eine begrenzte Anzahl von mittleren Grauwerten im Autoradiogramm enthalten (schmales schwarzes Histogramm). Bei PW 3 (hellgrau) und PW 4 (dunkelgrau) kommen jeweils niedrigere und höhere Grauwerte hinzu .

Mit der vergrößerten Bandbreite der vorhandenen Grauwerte in den Autoradiogrammen war eine Erhöhung der Standardabweichung der Grauwertverteilungen in den ersten postnatalen Wochen verbunden. Die Standardabweichung (S.D.) lieferte somit ein Maß für den Kontrast der Autoradiogramme.

Ausgewertet wurden 28 Hemisphären aus 16 Tieren (9 Normalsichtige, 7 Schieler) im Alter von 2-6 Wochen. Die älteren Tiere (9-13 Wochen alt), die im folgenden als funktionell erwachsen bezeichnet werden, stammten aus früheren Versuchen (siehe Tab. 2.5). In dieser Altersgruppe wurden nochmals 8 Hemisphären von 5 Tieren ausgewertet. Die mittlere Standardabweichung der Grauwertverteilungen (und damit der Kontrast) erhöhte sich in den Autoradiogrammen zwischen der zweiten und vierten postnatalen Woche und blieb anschließend annähernd konstant. Dies galt sowohl für die normalsichtigen als auch für die schielenden Tiere (Abb. 3.5).

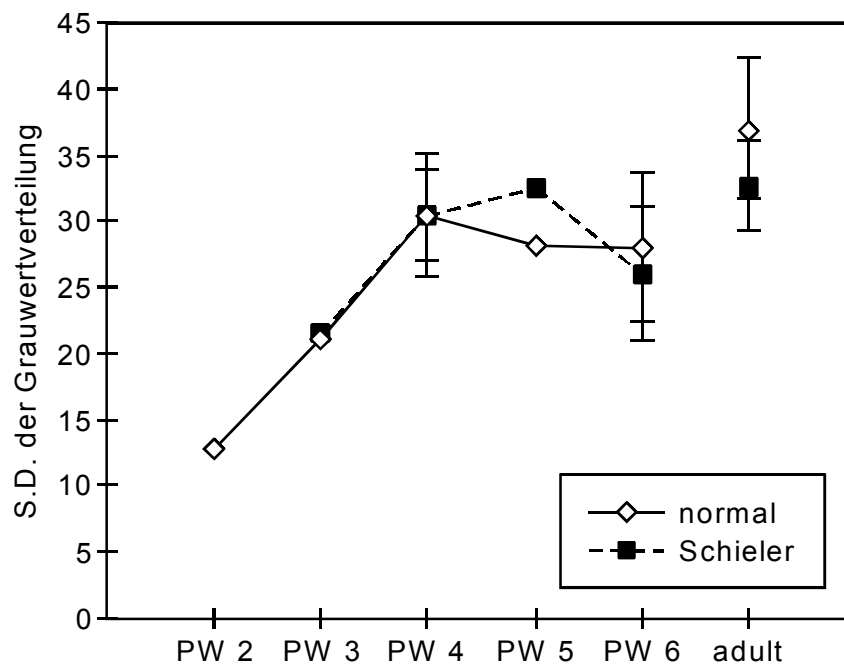


Abbildung 3.5: Mittlere Standardabweichungen (S.D.) der Grauwertverteilungen als ein Maß für den Kontrast der Autoradiogramme von primären Sehrinden normalsichtiger und divergent schielender Katzen im Alter von 2 Wochen bis zum erwachsenen Tier. Der Kontrast erhöht sich von der zweiten bis zur vierten Postnatalwoche (PW) signifikant und bleibt dann weitgehend unverändert (kein signifikanter Anstieg von PW 4 zum adulten Tier). Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren. Fehlerbalken repräsentieren S.D. (für $n \geq 4$).

Die unterschiedliche Seherfahrung der Tiere führte nicht zu Kontrastunterschieden. Die Berechnung von Mann-Whitney-U-Tests für die Altersstufen mit ausreichenden Einträgen (4 und 6 Wochen, Erwachsene) wies keine signifikanten Unterschiede auf ($p > 0,1$). Eine Zusammenfassung der Werte für die Berechnung von Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten wies den Anstieg des Kontrastes zwischen der zweiten und vierten Woche als signifikant aus ($r_s = 0,906$, $p < 0,001$). Ab dem Alter von vier Wochen gab es keine signifikanten Änderungen mehr ($r_s = 0,273$, $p > 0,1$).

Um zu prüfen, ob sich die Dominanz des kontralateralen Auges in der frühen Entwicklung des visuellen Kortex (z.B. Frégnac und Imbert, 1978; Crair et al., 1998) auch im Kontrast der Autoradiogramme widerspiegelt, wurde der vorhandene Datensatz ein zweites Mal, aber diesmal in Abhängigkeit der Hemisphären hinsichtlich ihrer Lage ipsi- oder kontralateral zum geöffneten (stimulierten, rechten) Auge, analysiert. Abbildung 3.6 zeigt exemplarisch die 2-DG-Autoradiogramme der beiden Hemisphären von Katzen im Alter von vier Wochen.

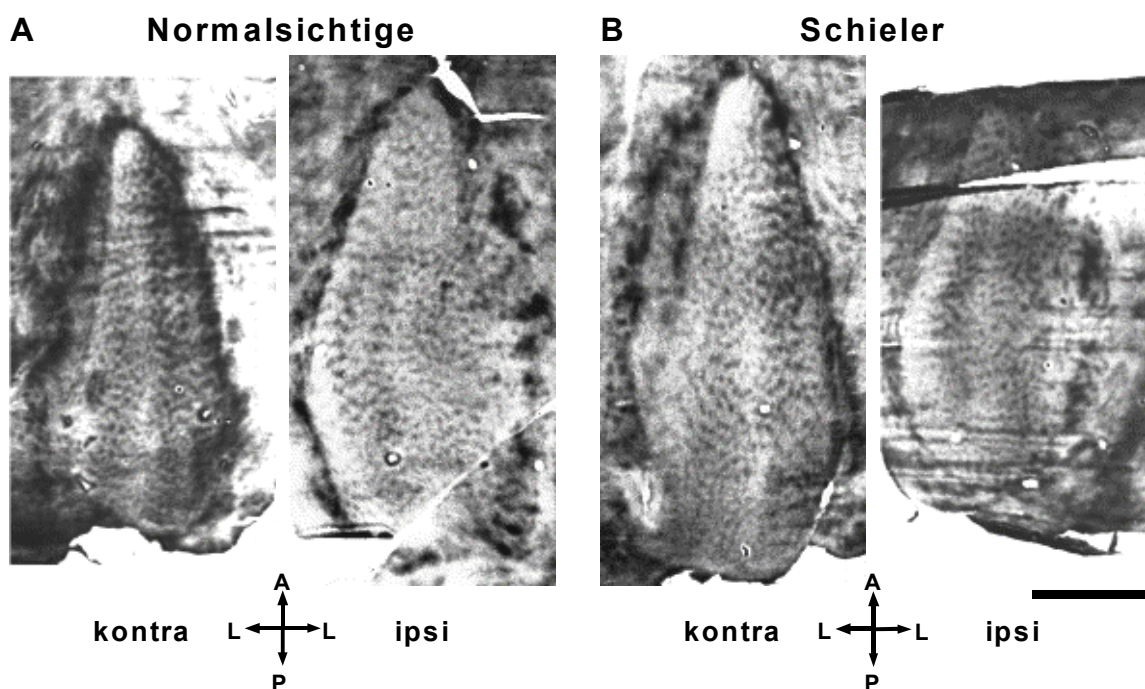


Abbildung 3.6: 2-DG-Autoradiogramme der beiden Hemisphären je eines normalsichtigen (A, SR 3) und divergent schielenden Tieres (B, SR 4) im Alter von 4 Wochen. Bei beiden Geschwistertieren war während des 2-DG-Versuchs das rechte Auge geöffnet. Die rechten Hemisphären lagen somit ipsi-, die linken kontralateral zum stimulierten Auge. Die Hemisphären zeigen keine auffälligen Unterschiede im Kontrast des OD-Musters. A, anterior; L, lateral; P, posterior. Maßstab = 1 cm.

Nachdem qualitativ kein Unterschied im Okulardominanzmuster der Hemisphären festzustellen war, wies auch die quantitative Analyse des Kontrastes keinen Unterschied zwischen ipsi- und kontralateraler Hemisphäre nach (Abb. 3.7). Die Berechnung von Mann-Whitney-U-Tests für die Altersstufen mit ausreichenden Einträgen (4 und 6 Wochen, Erwachsene) ergab keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,1$).

Insgesamt bestätigen die quantitativen Analysen der Grauwertverteilungen die Entwicklungsschritte bei der Bildung von Okulardominanzkolumnen, wie sie aus der qualitativen Beschreibung der 2-DG-Autoradiogramme abgeleitet wurden.

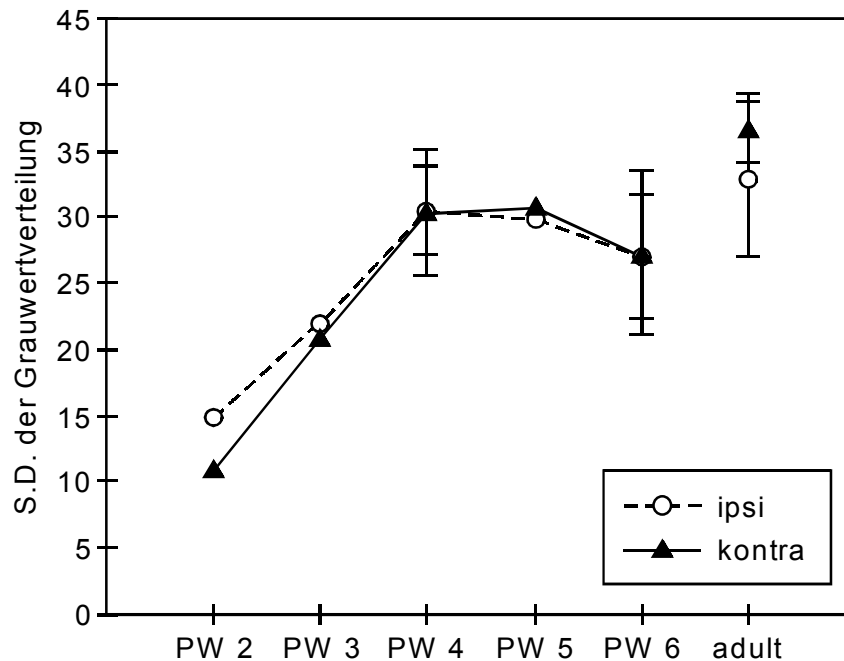


Abbildung 3.7: Darstellung der Werte aus Abbildung 3.5 aber nun in Abhängigkeit der Lage der Hemisphären ipsi- oder kontralateral zum geöffneten (rechten) Auge. Es gibt keinen signifikanten Unterschied im Kontrast zwischen ipsi- und kontralateralen Hemisphären. Fehlerbalken repräsentieren S.D. (für $n \geq 4$).

3.1.2 Periodizität der Okulardominanzkolumnen

Mit Auftreten unterscheidbarer Okulardominanzkolumnen im Alter von drei Wochen wurden ihre Abstände auf den 2-DG-Autoradiogrammen mit Hilfe der Periodenstatistik analysiert. Ausgewertet wurden 30 Hemisphären aus 18 Tieren (9 Normalsichtige, 9 Schieler) im Alter von 3-6 Wochen.

Im Laufe der postnatalen Entwicklung der Sehrinde konnten sowohl bei normalsichtigen als auch bei schielenden Tieren zwar eine hohe Variabilität aber keine signifikanten Unterschiede in der Periodizität der Kolumnenabstände detektiert werden. Die Abstände der OD-Kolumnen lagen bei 28 der 30 gemessenen Hemisphären zwischen $825 \mu\text{m}$ und $1175 \mu\text{m}$ (Abb. 3.8). Für je eine Hemisphäre wurde ein größerer ($1316 \mu\text{m}$) bzw. kleinerer ($783 \mu\text{m}$) Kolumnenabstand gemessen. Der Mittelwert (immer \pm S.D.) aller ermittelten Abstände lag bei $1013 \pm 123 \mu\text{m}$. Für die normalsichtigen Tiere lag der mittlere Abstand der Okulardominanzkolumnen bei $1042 \pm 136 \mu\text{m}$. Der Mittelwert für die divergenten Schieler lag mit $987 \pm 109 \mu\text{m}$ nur geringfügig niedriger.

Die Berechnung von Mann-Whitney-U-Tests für die Altersstufen mit ausreichenden Einträgen (4 und 6 Wochen) ergab keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der unterschiedlichen Seherfahrung der Tiere ($p > 0,1$). Gleiches galt für eine Vergrößerung des Stichprobenumfangs durch Zusammenfassen zweier Altersstufen (3+4 Wochen,

5+6 Wochen) oder gar für die Bildung je einer alle Altersstufen umfassenden Gesamtgruppe ($p > 0,1$). Eine Zusammenfassung von Altersstufen wurde dadurch ermöglicht, daß bei Normalsichtigen und Schielern keine Veränderungen des Kolumnenabstandes mit dem Alter auftraten. Dies wies die Berechnung von Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten nach (Normalsichtige: $r_s = 0,336$, $p > 0,1$; Schieler: $r_s = 0,006$, $p > 0,1$). Paarweise Vergleiche mit Mann-Whitney-U-Tests für beide Tiergruppen in den Altersstufen mit ausreichenden Einträgen (4 und 6 Wochen) wiesen ebenfalls auf das Fehlen eines altersabhängigen Effektes hin ($p > 0,1$). Eine Zusammenfassung der Daten von Normalsichtigen und Schielern innerhalb einer Altersstufe und anschließende U-Tests für alle möglichen Kombinationen zwischen den vier Altersgruppen blieben auch ohne signifikantes Ergebnis ($p > 0,1$).

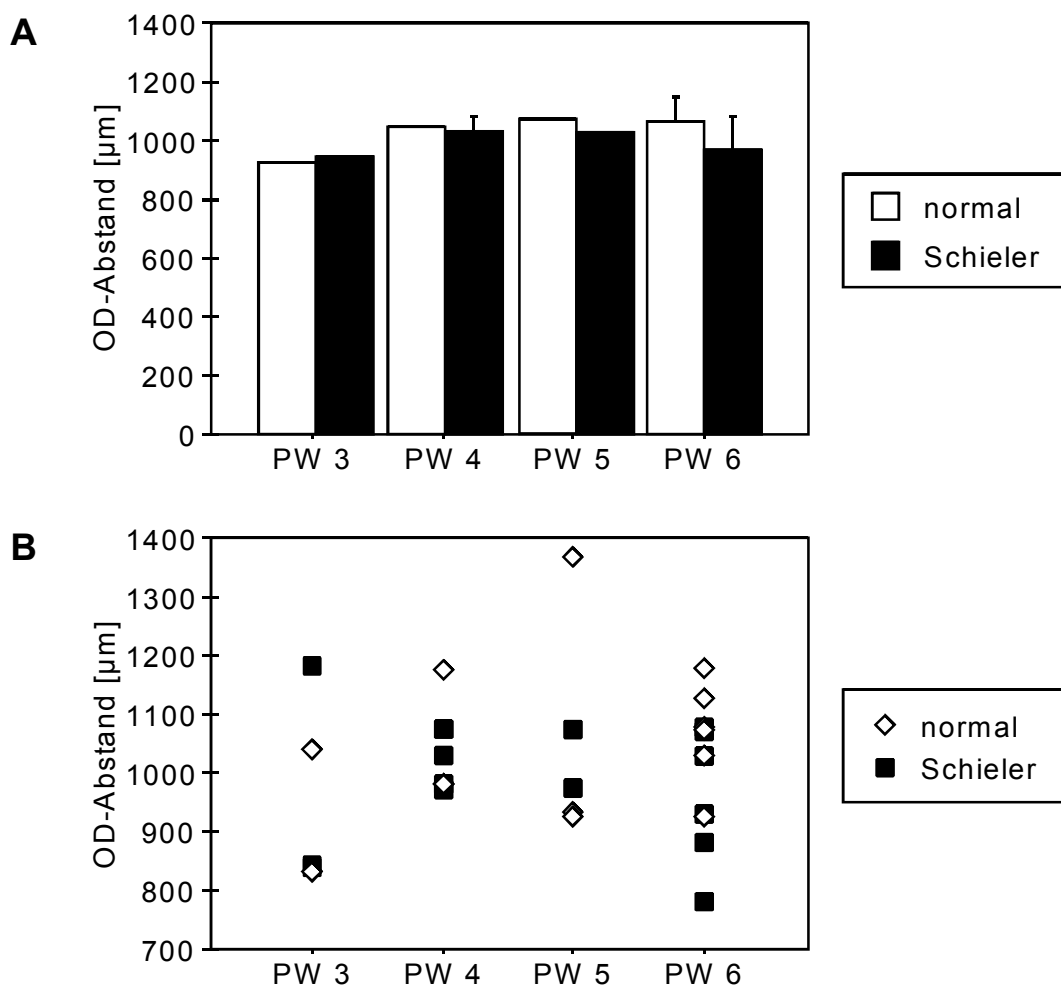


Abbildung 3.8: Analyse der Abstände von Okulardominanzkolumnen mit Hilfe der Periodenstatistik bei normalsichtigen und divergent schielenden Katzen im Alter von 3-6 Wochen. **A:** Mittlere Abstände der OD-Kolumnen für die vier untersuchten Altersstufen (PW 3-6). Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren. Fehlerbalken repräsentieren S.D. (für $n \geq 4$). **B:** Streudiagramm des gleichen Datensatzes zur Illustration der Variabilität.

In der vorliegenden Arbeit wurde soweit möglich eine vergleichende Analyse von Geschwisterpaaren aus einem Wurf durchgeführt. Hierfür wurde je ein Tier schieloperiert und ein Geschwistertier zur Kontrolle normalsichtig belassen. Abbildung 3.9 zeigt exklusiv die OD-Kolumnenabstände für die untersuchten Geschwisterpaare aus einem Wurf. Die Einzelbetrachtung der Geschwistertiere zeigt, daß bei gleichem genetischen Hintergrund die Tiere mit induziertem Schielwinkel keine vergrößerten Abstände in den OD-Kolumnen aufwiesen. Dies war auch unabhängig davon, ob ein (SR20/21), zwei (SR3/4) oder vier Wochen (SR 5/6, SR 10/11, SR28/29) von der Induktion des Schielwinkels bis zur Bestimmung der Abstände vergingen.

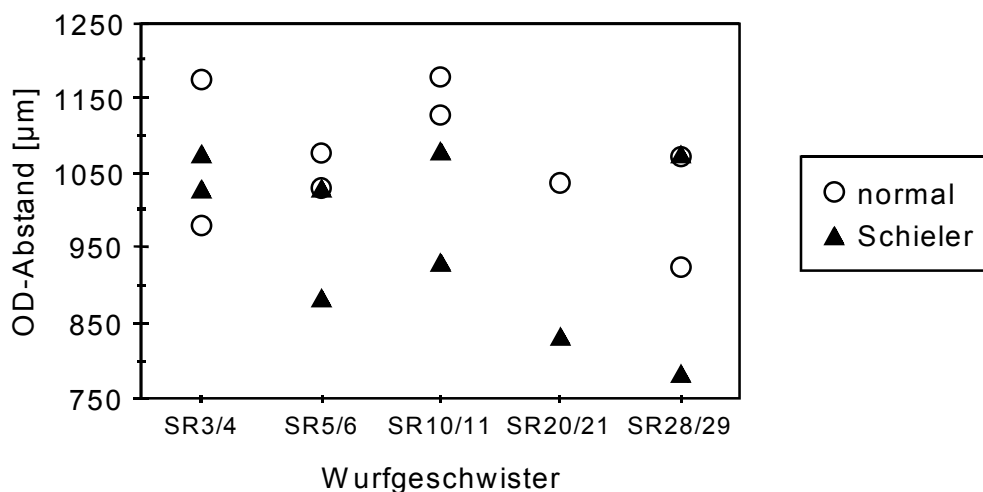


Abbildung 3.9: Abstände der OD-Kolumnen für die im gleichen Alter untersuchten Wurfgeschwister. Die Tiere mit induziertem Schielwinkel zeigen keine vergrößerten Abstände. Beim Paar SR20/21 konnte nur je eine Hemisphäre gemessen werden. Tiere siehe Tab. 2.4.

Für die anschließende Betrachtung des Verhältnisses von Kolumnenabstand zur Fläche von Area 17 werden die Daten noch einmal in zusammengefaßter Form präsentiert (Abb. 3.11).

3.2 Postnatales Wachstum der primären Sehrinde (Area 17)

Mit dem Auftreten von Okulardominanzkolumnen ab dem Alter von drei Wochen und allgemein selektiveren Aktivierungsmustern im gesamten visuellen Kortex konnte die primäre Sehrinde auf den 2-DG-Autoradiogrammen sicher abgegrenzt und ihre Fläche gemessen werden. Ausgewertet wurden 35 Hemisphären aus 22 Tieren (13 Normalsichtige, 9 Schieler) im Alter von 3-6 Wochen. Zudem wurden die Flächen der primären Sehrinde von zwei 10 Wochen alten Katzen bestimmt, deren Autoradiogramme aus früheren Versuchen stammen (siehe Tab. 2.5).

Da der Vergleich zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren auch beim Parameter Fläche keinen signifikanten Unterschied zeigte (Mann-Whitney-U-Tests in den Altersstufen mit ausreichenden Einträgen, $p > 0,1$), wurden die beiden Experimentalgruppen für die weitere Auswertung zusammengefaßt (Abb. 3.10).

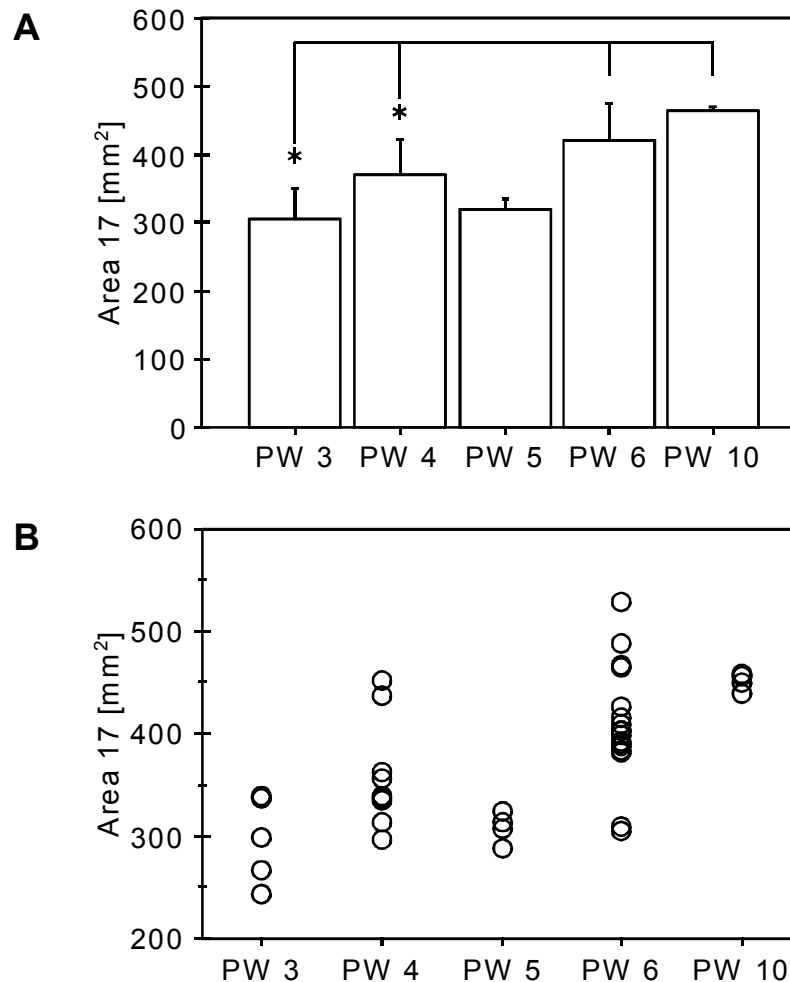


Abbildung 3.10: Quantitative Analyse der Fläche der primären Sehrinde bei Katzen im Alter von 3 bis 10 Wochen. **A:** Mittlere Flächen der Areae 17 für die fünf untersuchten Altersstufen (PW 3-10). Bei 3 und 4 Wochen alten Tieren ist die primäre Sehrinde signifikant kleiner als bei Katzen im Alter von 6 und 10 Wochen (ausgewählte Mann-Whitney-U-Tests, mindestens $*p < 0,05$). Fehlerbalken repräsentieren S.D. **B:** Streudiagramm des gleichen Datensatzes zur Illustration der Variabilität.

In den ersten zehn Lebenswochen nach der Geburt war eine starke Größenzunahme der Fläche der primären Sehrinde zu beobachten. Die als Area 17 identifizierte Hirnrindenregion wuchs zwischen Vollendung der dritten (immer Mittelwert \pm S.D.: $300 \pm 48 \text{ mm}^2$) und Vollendung der zehnten postnatalen Woche ($453 \pm 8 \text{ mm}^2$) um durchschnittlich 51%. Mit knapp 75% fand ein Großteil dieser Größenzunahme bereits

in den drei Wochen bis zum Ende der sechsten Lebenswoche (Anstieg um 37% auf $412 \pm 56 \text{ mm}^2$) statt (Abb. 3.10). Die Größenunterschiede zwischen den jüngeren und den älteren Alterstufen konnten im Mann-Whitney-U-Test als signifikant (PW3/PW10, PW4/PW6, PW4/PW10, $p < 0,05$) oder gar stark signifikant (PW3/PW6, $p < 0,005$) ausgewiesen werden. Die Zunahme der Fläche von Area 17 mit steigendem Alter belegte auch der Rangkorrelationskoeffizient von Spearman mit $r_s = 0,667$ ($p < 0,0001$).

Die altersabhängige Zunahme der Fläche der primären Sehrinde ist dabei trotz einer erheblichen Streubreite signifikant. Das Streudiagramm in Abbildung 3.10B zeigt das Ausmaß der Variabilität der gemessenen Flächen für die verschiedenen Alterstufen. Der signifikante Einbruch im Alter von fünf Wochen ist sicherlich auf die geringe Anzahl von Versuchstieren (nur zwei) in dieser Altersklasse zurückzuführen und Ausdruck des Umstandes, daß mit der 2-DG-Autoradiographie nur Momentaufnahmen gemacht werden können. Die zu erwartenden gleichmäßigeren Wachstumsraten einzelner Tiere sind mit dieser Methode nicht beobachtbar (siehe aber 3.3 zu den MRT-Messungen).

3.2.1 Vergleich der Entwicklung von Area 17 und Okulardominanzkolumnenabstand

Für einen Vergleich zwischen Kortexfläche und Abstand der Okulardominanzkolumnen in Area 17 wurde der Datensatz um die zehnwöchigen Tiere ergänzt. Abbildung 3.11 zeigt eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse. Die Berechnung der Rangkorrelation von Spearman zeigte das Fehlen eines altersabhängigen Effektes ($r_s = 0,153$, $p > 0,1$).

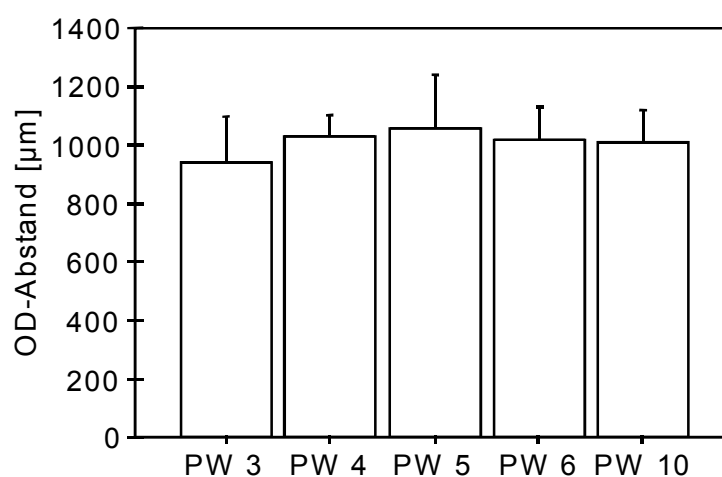


Abbildung 3.11: Mittlere Abstände der Okulardominanzkolumnen für die fünf untersuchten Postnatalwochen (PW). Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersstufen. Fehlerbalken repräsentieren S.D.

Während also die kortikale Fläche der primären Sehrinde zwischen Ende der dritten und zehnten Lebenswoche um über 50% zunahm, blieben die Abstände der Okulardominanzkolumnen in der gleichen postnatalen Phase im wesentlichen unverändert. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß im Laufe der postnatalen Entwicklung neue Okulardominanzkolumnen zu den bestehenden hinzugefügt werden, um die sich vergrößernde Sehrinde auszufüllen.

Ein weiteres Indiz dafür, daß es keinen Anstieg der OD-Kolumnenabstände mit zunehmender Fläche im Alter gibt, zeigt ein Blick auf die Einzelgruppen in Abbildung 3.12. Auch innerhalb einer Altersstufe gab es keine signifikante Korrelation zwischen Kolumnenabstand und Fläche (Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten: PW 4, $r_s=0,600$, $p>0,1$; PW 6, $r_s=-0,201$, $p>0,1$).

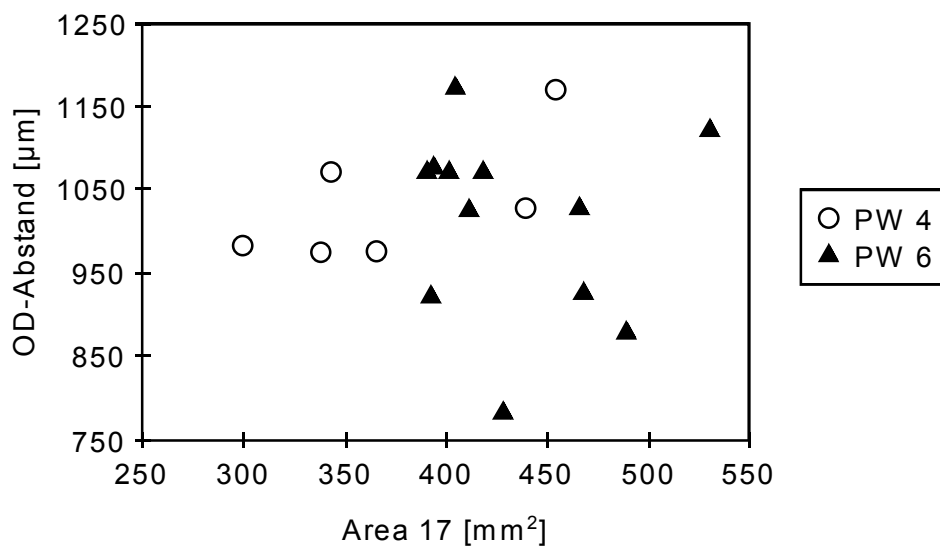


Abbildung 3.12: Darstellung des OD-Abstandes in Abhängigkeit von der Fläche der Area 17 für zwei Altersstufen. Weder im Alter von 4 Wochen (PW 4) noch im Alter von 6 Wochen (PW 6) steigt der Kolumnenabstand signifikant mit Zunahme der Fläche von Area 17 an.

3.2.2 Wachstum von Area 17 in Relation zum Körpergewicht

Mit zunehmendem Alter nimmt auch das Körpergewicht der Katzen zu. Da die Oberfläche der Area 17 im Laufe der postnatalen Entwicklung zunimmt, gibt es somit auch eine indirekte positive Korrelation mit dem Körpergewicht. Um zu untersuchen, ob es auch eine direkte Abhängigkeit der Area 17 vom Körpergewicht gibt, wurden die gemessenen Flächen gegen die Körpergewichte der Katzen für die beiden Altersstufen mit den meisten Einträgen (PW 4 und PW 6) aufgetragen (Abb. 3.13). Es zeigte sich keine Gewichtsabhängigkeit der Fläche von Area 17. Dies wurde durch die Berechnung von Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten bestätigt. Für die vier Wochen alten Tiere

ergab sich ein Koeffizient von $r_s = -0,183$ ($p > 0,1$). Auch für die sechs Wochen alten Tiere wurde ein niedriger Koeffizient ermittelt $r_s = 0,128$ ($p > 0,1$).

Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß es in den ersten postnatalen Wochen keine direkte Korrelation zwischen dem Körpergewicht und der Größe von Area 17 gibt.

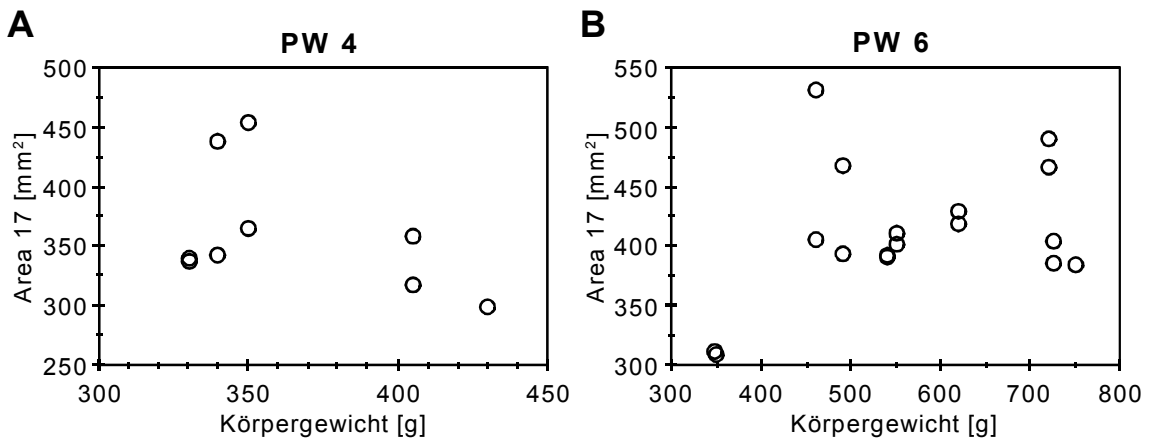


Abbildung 3.13: Darstellung der Fläche von Area 17 in Abhängigkeit vom Körpergewicht für zwei Altersstufen. Weder im Alter von 4 Wochen (PW 4, **A**) noch im Alter von 6 Wochen (PW 6, **B**) gibt es eine signifikante Korrelation zwischen Körpergewicht und Fläche der Area 17.

3.3 Postnatales Wachstum des Katzensgehirns

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ermöglicht die Aufnahme von anatomischen Bilddatensätzen mit einem ausreichenden Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz. So konnte die postnatale Entwicklung des gesamten Gehirns an vier Katzen (A-D, siehe Tab. 2.6) im Alter von zwölf Tagen bis zu einem Jahr verfolgt werden, wobei der Schwerpunkt auch hier in der Beobachtung der frühen postnatalen Phase bis zur sechsten Lebenswoche lag. Das Gehirn von Katze E wurde nur im Erwachsenenalter analysiert.

Alle Tiere zeigten hinsichtlich der untersuchten Parameter AP-Länge, Hirnvolumen und Oberfläche des Neokortex ein substantielles Wachstum im Laufe ihrer postnatalen Entwicklung. Dieses Wachstum wurde bereits anhand der MRT-Bilder einer einzelnen Katze, aufgenommen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Geburt, deutlich (Abb. 3.14). Als Beispiel für die Qualität der erhobenen Bilddaten werden die MRT-Bilder des Gehirns von Katze C im Alter von 20 Tagen illustriert. Abbildung 3.15 zeigt jede zweite Aufnahme einer frontalen Schnittserie. In Abbildung 3.16 ist jedes zweite Bild einer sagittal aufgenommenen Schnittserie dargestellt.

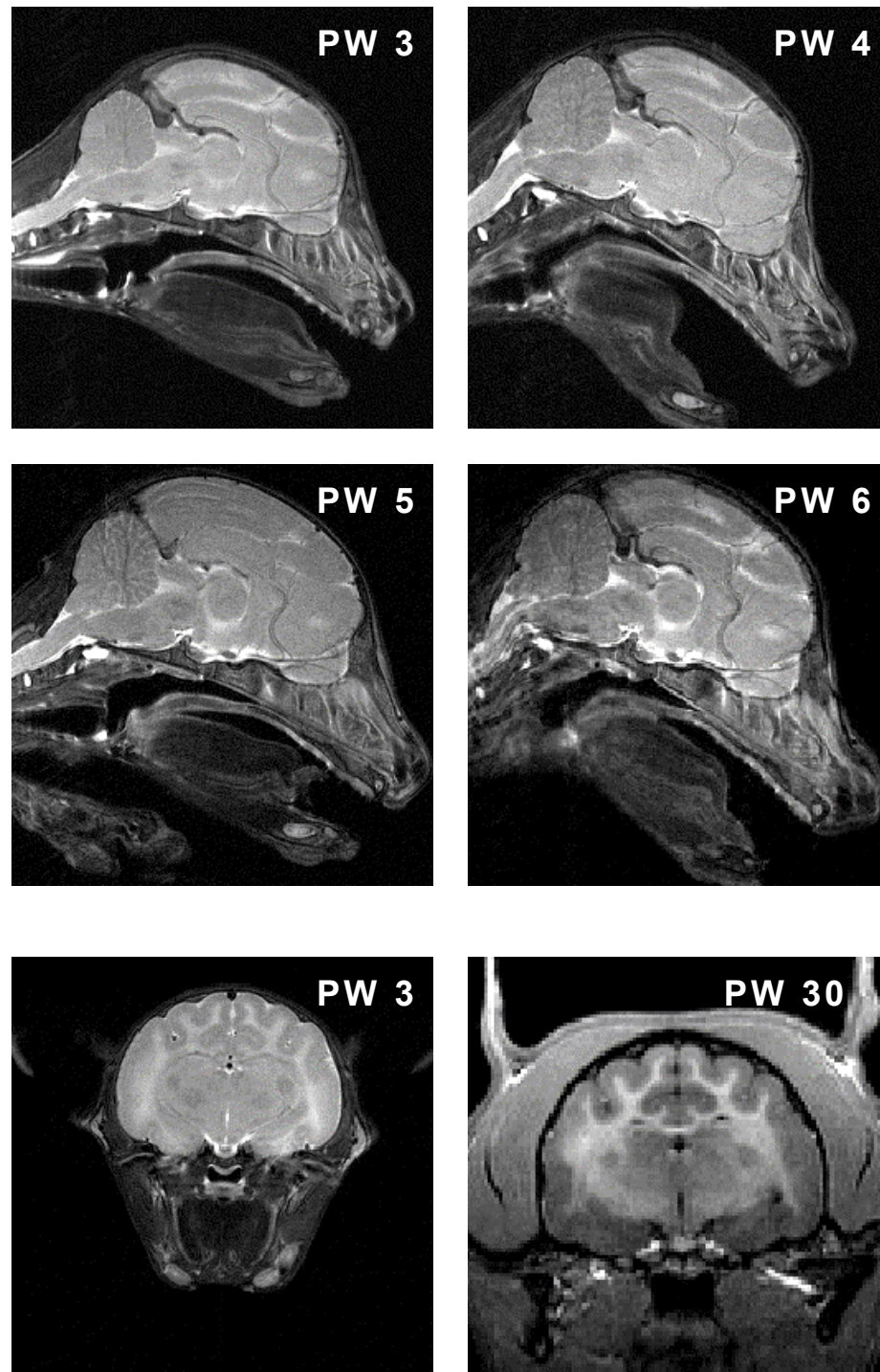


Abbildung 3.14: Magnetresonanztomographie des sich entwickelnden Gehirns einer Katze zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Geburt. **Oben:** Sagittale Schnittbilder (nahe der Mittellinie) des Gehirns von Katze C im Alter von 3, 4, 5 und 6 Wochen (PW 3-6). **Unten:** Frontale Schnittbilder (etwa auf Höhe der Commissura medialis) durch das Gehirn der Katze D im Alter von 3 und 30 Wochen (PW 3, PW 30). Das Gehirn wächst merklich nach der Geburt. Maßstab 1:1.

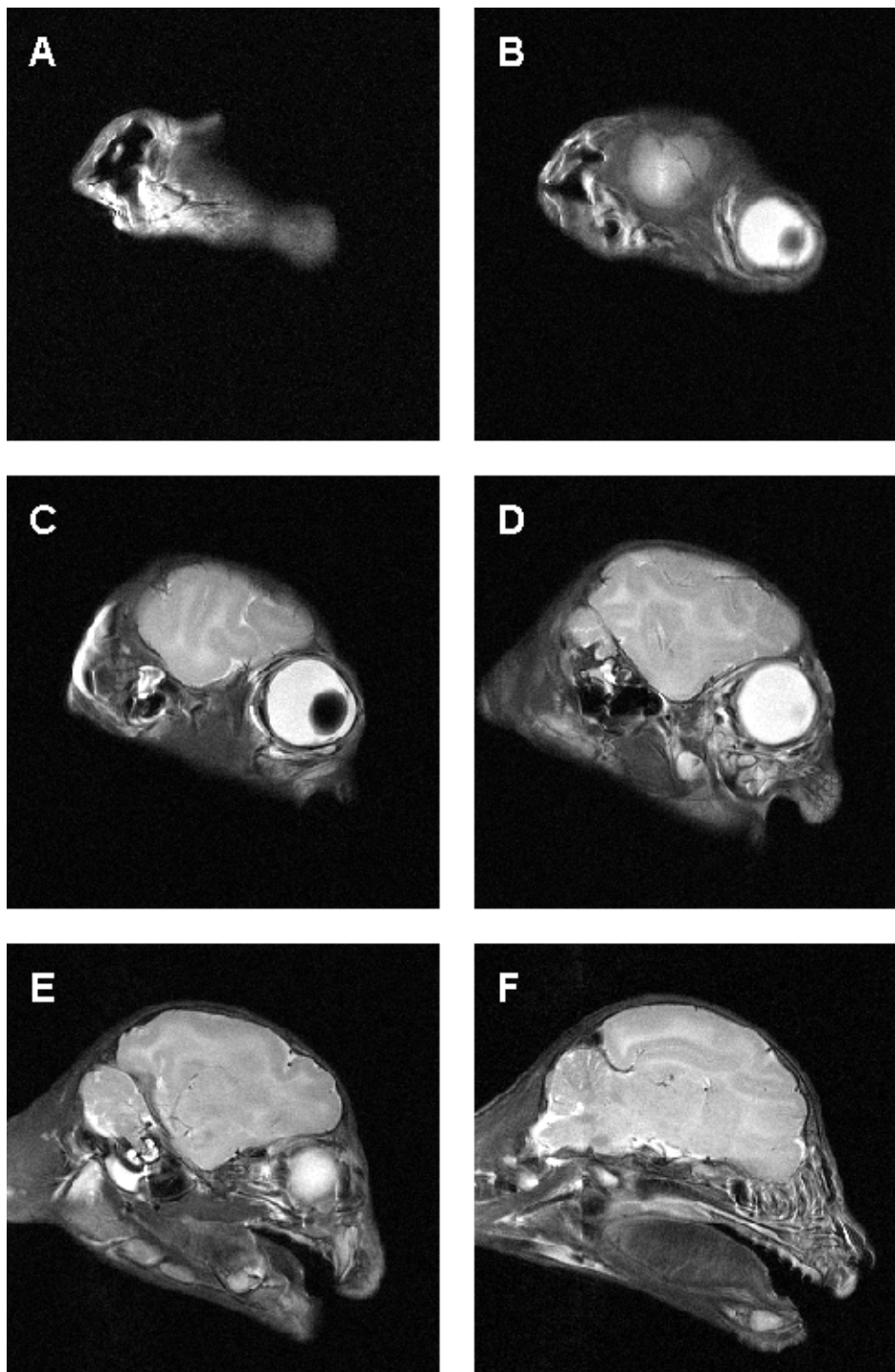


Abbildung 3.15: Magnetresonanztomographie des Gehirns von Katze C im Alter von 20 Tagen. Dargestellt ist jedes zweite Bild einer sagittalen Schnittserie. Die Schichtdicke beträgt 1,5 mm, der Abstand der Schichtaufnahmen entsprechend 3 mm. Maßstab 1:1.

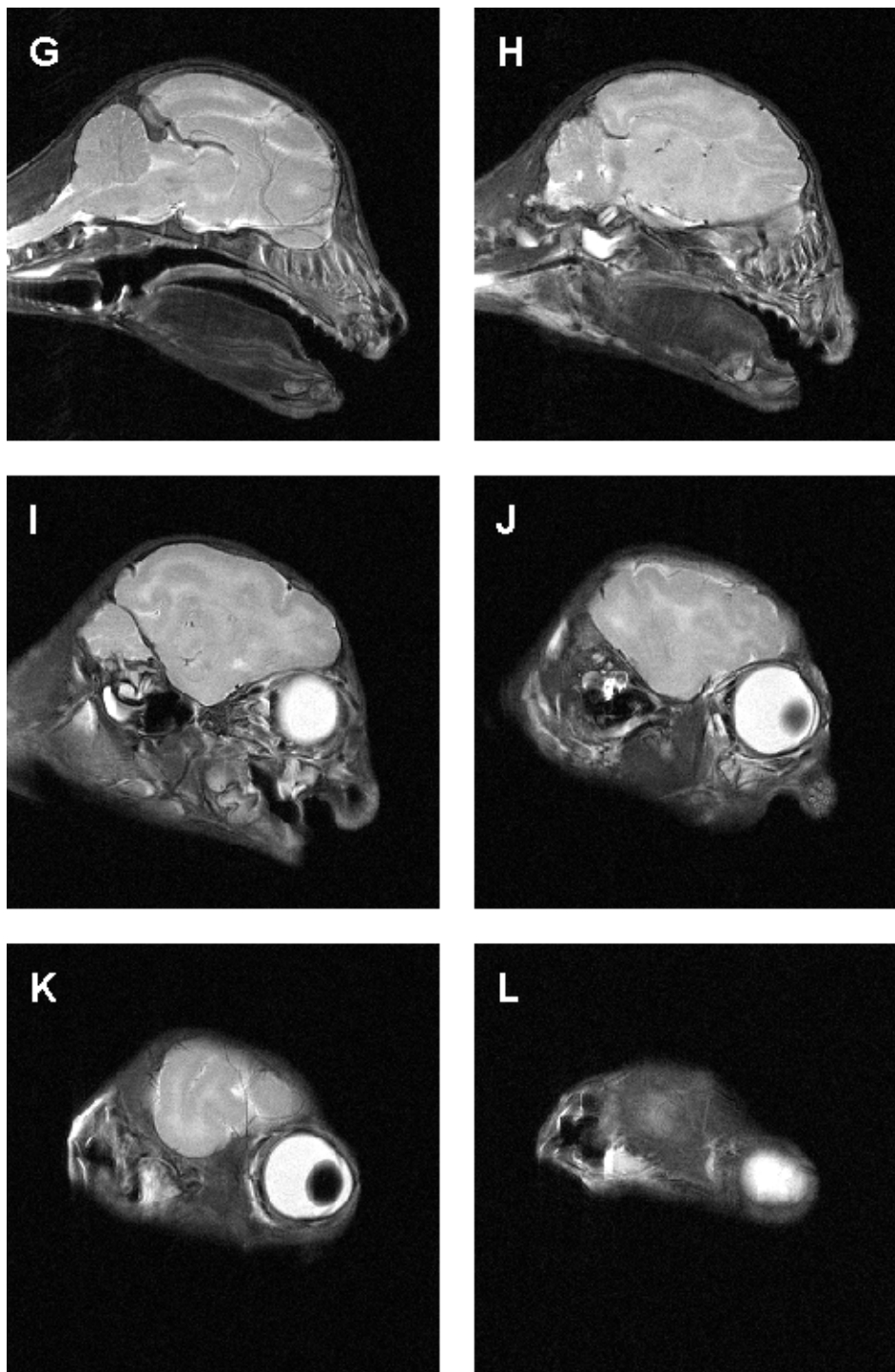


Abbildung 3.15: Fortsetzung der sagittalen Schnittserie von Katze C im Maßstab 1:1.

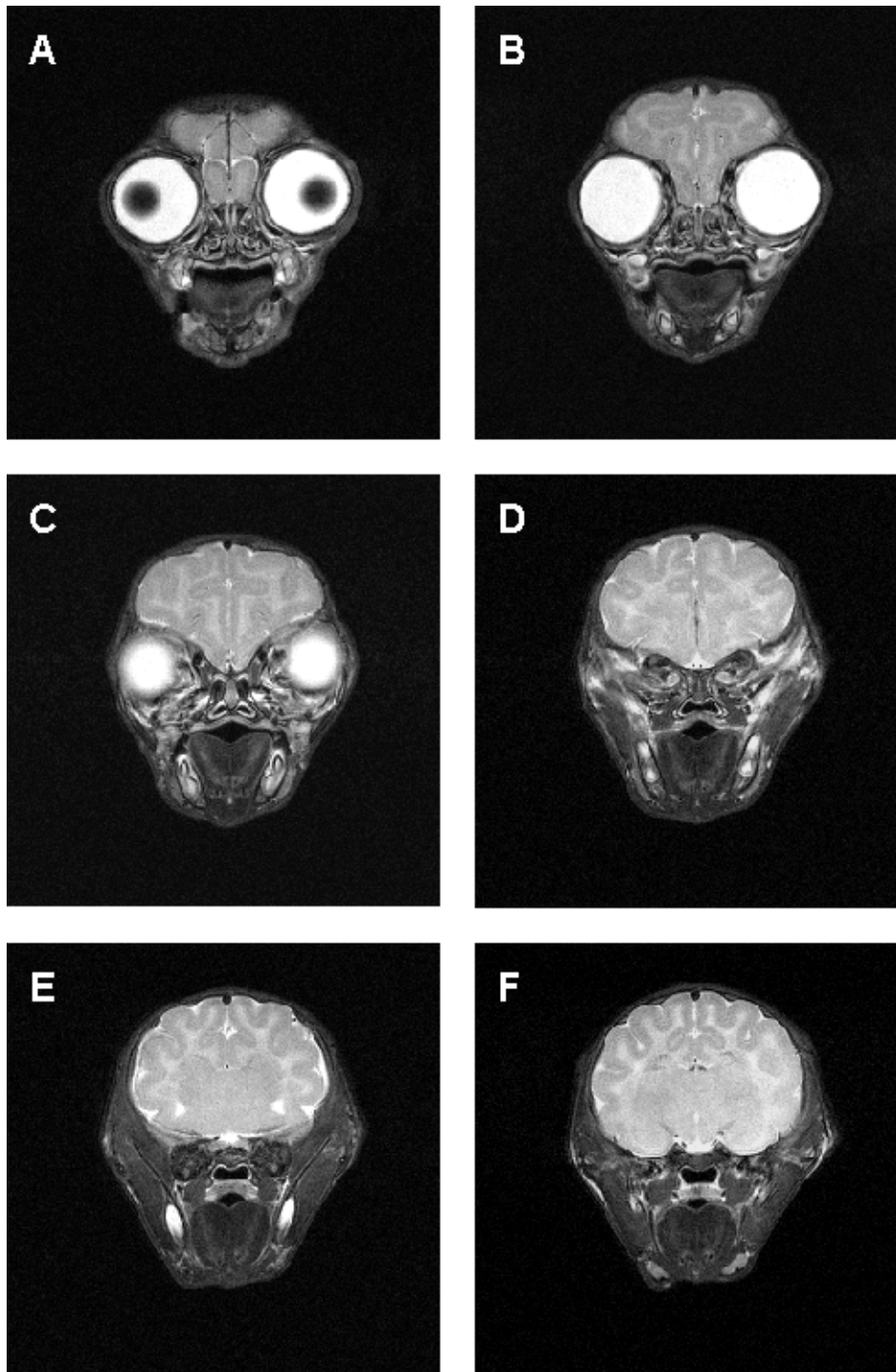


Abbildung 3.16: Magnetresonanztomographie des Gehirns von Katze C im Alter von 20 Tagen. Dargestellt ist jedes zweite Bild einer frontalen Schnittserie von anterior nach posterior. Die Schichtdicke beträgt 1,5 mm, der Abstand der Schichtaufnahmen entsprechend 3 mm. Maßstab 1:1.

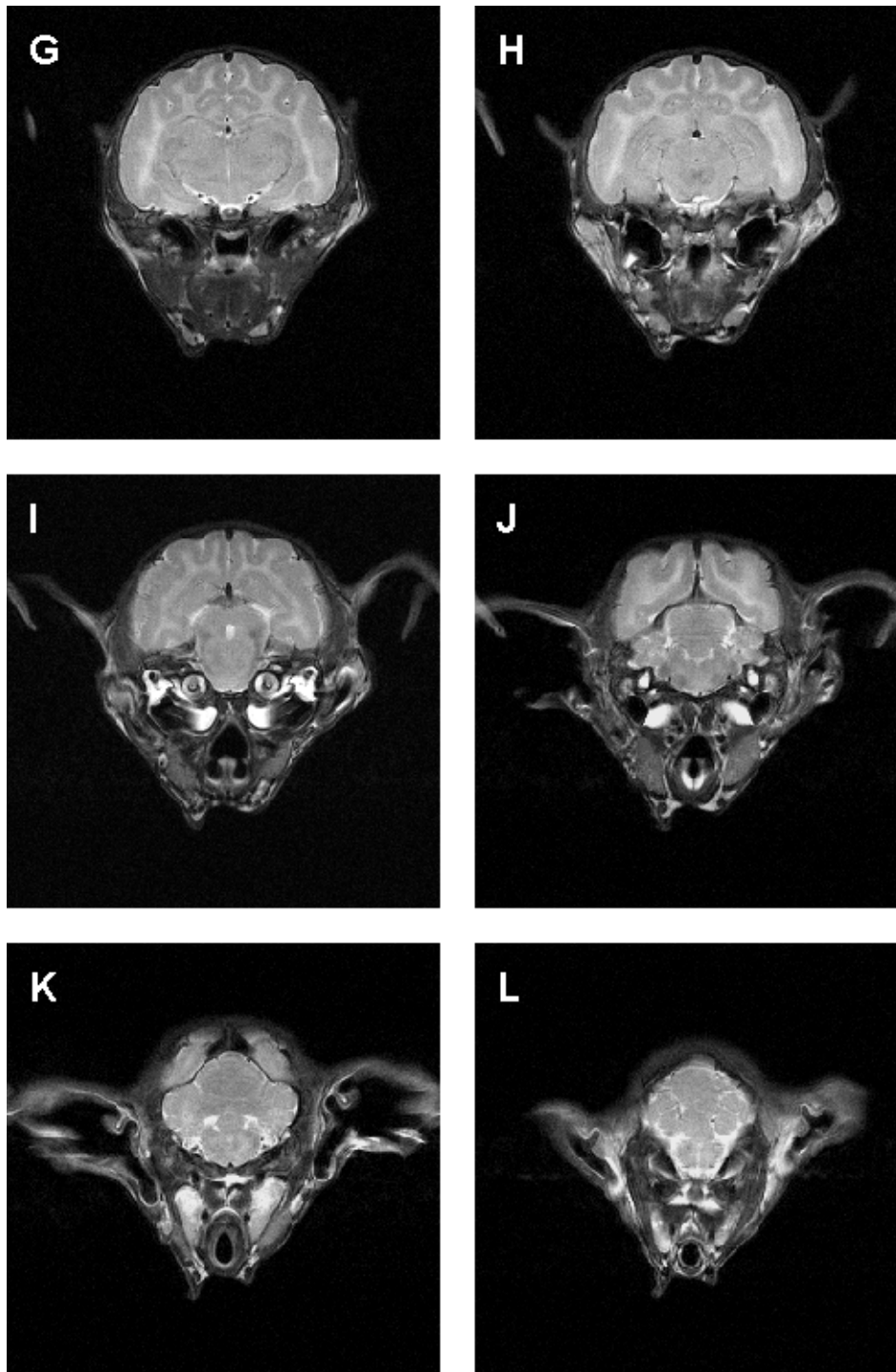


Abbildung 3.16: Fortsetzung der frontalen Schnittserie von Katze C im Maßstab 1:1.

3.3.1 Maximale anteroposteriore Ausdehnung des Telencephalons

Die Entwicklung der maximalen Ausdehnung des Telencephalons in anteroposteriorer Richtung (AP-Länge) verlief für alle Katzen sehr ähnlich (Abb. 3.17). Die AP-Länge lag zu Beginn der Untersuchung um Postnataltag 14 bei ca. 30-31 mm. Zwischen der dritten und sechsten Postnatalwoche wuchs die AP-Länge ungefähr von 33,0 mm auf 37,5 mm, was einer Erhöhung von 14% entspricht. Im erwachsenen Alter belief sich die AP-Länge für die zwei untersuchten Tiere auf 40,6 mm und 40,8 mm. Abbildung 3.17 zeigt die individuellen AP-Längen der untersuchten Katzen an den verschiedenen Meßtagen.

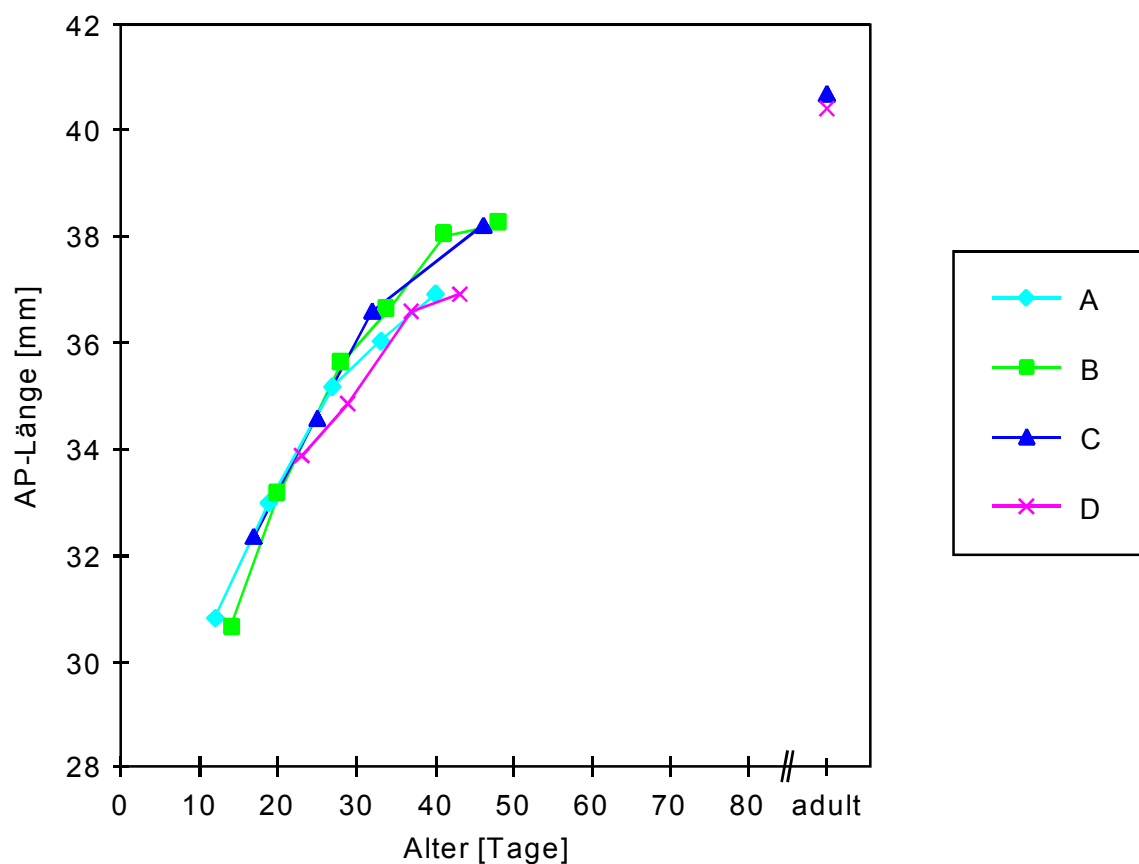


Abbildung 3.17: Postnatale Erhöhung der maximalen anteroposterioren Länge des Telencephalons. Dargestellt sind die AP-Längen der Katzen A-D für alle untersuchten Postnataltage. Die Daten zu den Katzen im Alter von über sechs Monaten sind als "adult" zusammengefaßt.

3.3.2 Hirnvolumen

Im Gegensatz zur AP-Länge zeigten die untersuchten Katzen bei der Entwicklung des Hirnvolumnes (ohne Cerebellum) eine höhere Variabilität (Abb. 3.18). Vor allem zeigte sich dies an den ersten Meßtagen für die Katzen A und B. Wies Katze A an P12 bereits ein Hirnvolumen von $9,99 \text{ cm}^3$ auf, konnte bei Katze B an P14 nur ein Volumen von $6,90 \text{ cm}^3$ gemessen werden. Diese Unterschiede relativierten sich jedoch innerhalb der folgenden Wochen. Im Mittel aller Tiere vergrößerte sich das Hirnvolumen zwischen der dritten und sechsten Postnatalwoche ungefähr von $11,5 \text{ cm}^3$ auf $16,5 \text{ cm}^3$. Dies entspricht einem Zuwachs von 43%. Die adulten Werte lagen im Mittel bei $19,0 \text{ cm}^3$. Abbildung 3.18 zeigt die individuellen Hirnvolumina der untersuchten Katzen an den verschiedenen Meßtagen.

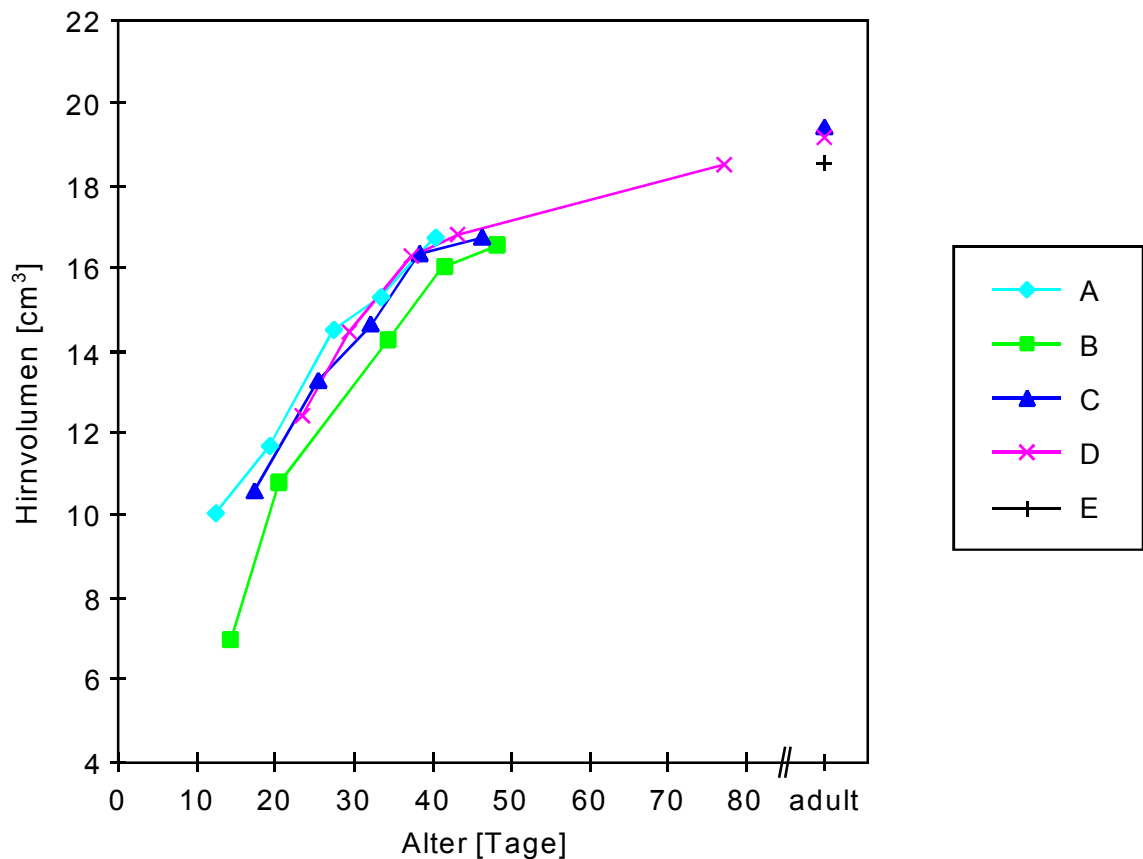


Abbildung 3.18: Postnatale Vergrößerung des Hirnvolumens (ohne Cerebellum). Dargestellt sind die Hirnvolumina der Katzen A-E für alle untersuchten Postnatalaltage. Die Daten zu den Katzen im Alter von über sechs Monaten sind als "adult" zusammengefaßt.

3.3.3 Oberfläche des Neokortex

Ähnlich dem Hirnvolumen zeigten die Katzen auch bei der neokortikalen Oberfläche eine beachtliche Variabilität (Abb. 3.19). Die Neokortexoberfläche der Hemisphären von Katze A vergrößerte sich zwischen P12 und P40 im Mittel von 16,18 cm² auf 24,69 cm², was einem Zuwachs von 52,6% in 28 Tagen entspricht. Bei Katze B hingegen war zwischen P14 und P41 im Mittel eine Zunahme von 12,62 cm² auf 25,80 cm² zu verzeichnen. Die Vergrößerung der Neokortexoberfläche betrug in diesen 27 Tagen 104,4%. Katze B zeigte demnach im vergleichbaren Zeitraum eine doppelt so hohe Zuwachsrate wie Katze A. Im Mittel aller Katzen vergrößerte sich die neokortikale Oberfläche zwischen der dritten und sechsten postnatalen Woche um ungefähr 34,5% (Spanne von 30-37%). Für die erwachsenen Tiere lagen die Werte zwischen 26,89 cm² und 30,13 cm². Abbildung 3.19 zeigt die individuellen Wachstumskurven der untersuchten Katzen an den verschiedenen Meßtagen.

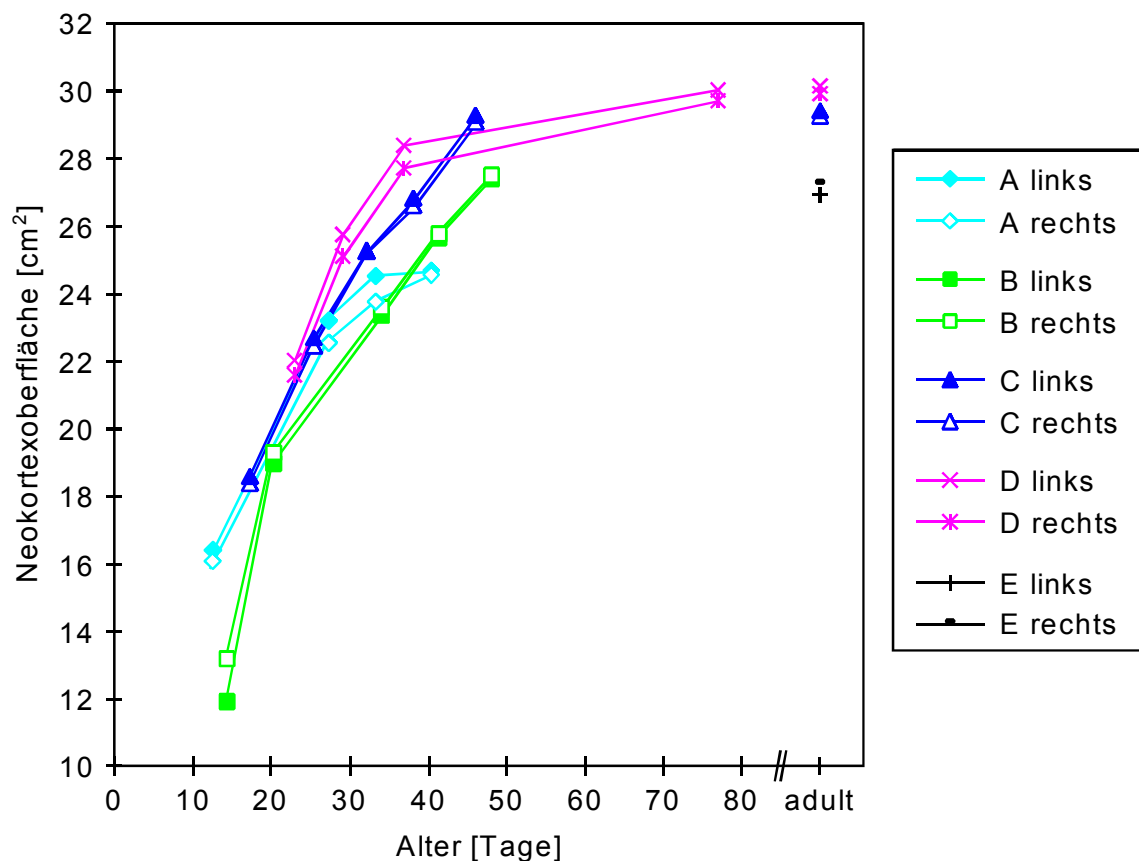


Abbildung 3.19: Postnatale Vergrößerung der neokortikalen Oberfläche. Dargestellt sind die Flächen der Neokortices der Katzen A-E getrennt nach Hemisphären für alle untersuchten Postnatalaltage. Die Daten zu den Katzen im Alter von über sechs Monaten sind als "adult" zusammengefaßt.

Die linke und die rechte Hemisphäre waren hierbei weitestgehend gleich (Abb. 3.19). Die Katzen A, C und D zeigten an allen Meßtagen eine leicht größere neokortikale Oberfläche für die linke Hemisphäre. Bei den Katzen B und E war konsistent die rechte Hemisphäre etwas größer. Die Asymmetrien lagen jedoch für jedes Tier im Mittel unter 2%.

3.3.4 Vergleich des Wachstums der Flächen von Area 17 und Neokortex

Vergleicht man die anhand der 2-DG-Autoradiogramme ermittelten Werte für die Flächen der primären Sehrinde (siehe 3.2) mit den Zahlen der neokortikalen Oberflächen aus den MRT-Versuchen, so zeigen sich für beide Flächen die gleichen Wachstumsraten (Abb. 3.20). Die Proportionen zwischen dem Neokortex und dem primären visuellen Areal, der Area 17, bleiben demnach über die gesamte beobachtete Phase der postnatalen Entwicklung hinweg erhalten. Der Anteil der Area 17 an der gesamten neokortikalen Oberfläche liegt durchgehend bei ungefähr 15%.

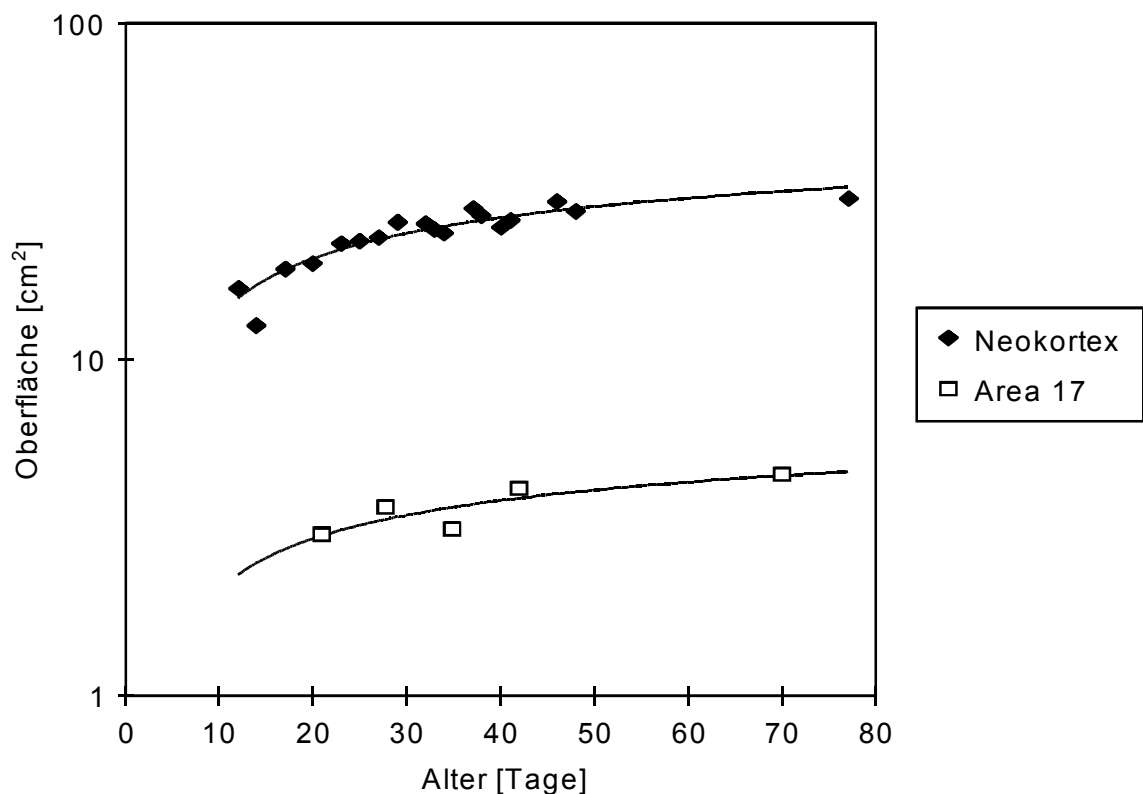


Abbildung 3.20: Vergleich des postnatalen Wachstums der Oberflächen des Neokortex und der primären Sehrinde, der Area 17. Die Hemisphären gleicher Altersstufen wurden gemittelt und mit logarithmischen Annäherungskurven versehen. Neokortex und Area 17 zeigen die gleichen Wachstumsraten. Area 17 nimmt bei allen Altersstufen etwa 15% der neokortikalen Oberfläche ein.

3.3.5 Einfluß des Körpergewichts auf das Hirnwachstum

Bei der Beurteilung der untersuchten Parameter zur postnatalen Hirnentwicklung muß wie beim Wachstum der primären Sehrinde der Einfluß der körperlichen Gesamtentwicklung betrachtet werden. Als ein Maß der generellen Physis der Tiere wurde ihr Körpergewicht an jedem Meßtag bestimmt (Tab. 3.1).

Tabelle 3.1: Körpergewicht der MRT-Katzen zum Zeitpunkt der Messungen.

Katze	A		B		C		D		E	
Alter [d]	12	221	14	222	17	228	23	370	290	3400
-	19	259	20	240	25	257	29	460		
-	27	285	28	256	32	270	37	530		
Gewicht	33	310	34	290	38	350	43	660		
[g]	40	400	41	400	46	500	77	1510		
			48	490	375	4020	211	3870		

Abbildung 3.21 zeigt das Körpergewicht der untersuchten Katzen im Alter von 12-48 Tagen, d.h. während der kritischen Periode der frühen postnatalen Entwicklung.

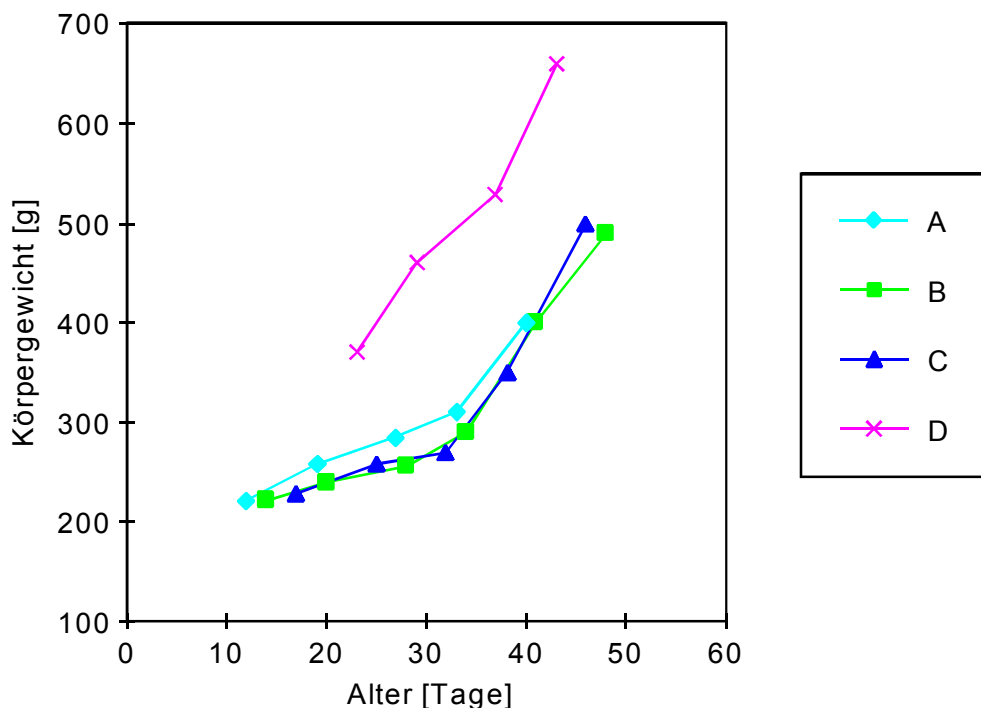


Abbildung 3.21: Postnatale Entwicklung des Körpergewichts der MRT-Katzen. Dargestellt sind die Körpergewichte der Katzen A-D für die untersuchten Postnatalaltage der kritischen Periode.

Die Katzen A-C (B und C waren Geschwistertiere) lagen im Körpergewicht sehr nah beieinander, wohingegen sie sich in den Parametern Hirnvolumen und Neokortexoberfläche (Abb. 3.18 und 3.19) besonders in den ersten Tagen durchaus unterschieden. Während die Katzen A und B zum Beispiel am ersten Meßtag (P12 bzw. P14) das gleiche Körpergewicht hatten, zeigte Katze A gegenüber Katze B ein um 45% größeres Hirnvolumen (siehe 3.3.2) und eine um 28% größere Neokortexoberfläche (siehe 3.3.3). Legten die Katzen A-C zwischen der dritten und sechsten Lebenswoche ungefähr um 150 g (von 250 g auf 400 g) an Körpergewicht zu, konnte Katze D im gleichen Zeitraum ihr Körpergewicht von einem weitaus höheren Anfangsgewicht noch einmal um ungefähr 300 g (von 350 g auf 650 g) steigern (Abb. 3.21). Dieser große Vorsprung im Körpergewicht schlägt sich jedoch in der Hirnentwicklung nicht unmittelbar nieder. Sowohl beim Hirnvolumen als auch der AP-Länge lagen die Wachstumskurven von Katze D inmitten der anderen Tiere (Abb. 3.17 und 3.18). Nur bei der Neokortexoberfläche war Katze D das führende Tier mit bis zu 3,5 cm² Vorsprung, den aber die Katzen B und C bis zum Ende der siebten Woche aufholten (Abb. 3.19).

In den späteren Lebenswochen findet (unter physiologischen Bedingungen) zwischen der Entwicklung des Körpergewichts und der Größenentwicklung des Gehirns eine vollständige Entkopplung statt. Während die gemessenen Parameter des Gehirns mit der sechsten Woche ihre adulten Werte annähernd erreicht haben setzt eine starke Körpergewichtszunahme ein. So wog Katze D nach 11 Wochen schon 1,5 kg und mit 30 Wochen über 3,8 kg (Tab. 3.1).

In den ersten postnatalen Wochen kann demnach aus der physischen Entwicklung eines Tieres anhand des Körpergewichts nicht einfach auf die äußeren Maße des Gehirns wie AP-Länge, Volumen oder Oberfläche rückgeschlossen werden. Diese Befunde bestätigen die in Abschnitt 3.2.2 getroffene Aussage, daß es keine direkte Korrelation zwischen Körpergewicht und Größe der Kortexfläche gibt.

3.4 Entwicklung langreichweitiger Horizontalverbindungen in Area 17 bei normalsichtigen und schielenden Katzen

Zur Untersuchung von Horizontalverbindungen und ihrer topographischen Beziehung zum Okulardominanzmuster bei normalsichtigen und divergent schielenden Katzen wurden rot und grün fluoreszierende Latexmikrosphären in die primären Sehrinden injiziert. Es wurden 17 Injektionen aus 10 Tieren (5 Normalsichtige, 5 Schieler) im Alter von vier und sechs Wochen ausgewertet.

3.4.1 Verteilung retrograd markierter Neurone im Corpus geniculatum laterale

Die in die Sehrinde injizierten Latexmikrosphären werden nicht nur von intrakortikalen Axonen aufgenommen, sondern auch von thalamokortikalen Axonen, die in Schicht IV terminieren. Die Injektionen führten daher auch zu retrograd markierten Neuronen im Corpus geniculatum laterale (CGL). Die Unterteilung der Schichten im CGL wurde sowohl durch deren selektive 2-DG-Markierung auf den Autoradiogrammen (siehe 3.1.1) als auch durch die Gegenfärbung der Schnitte mit Kresylviolett ermittelt (Abb. 3.22).

Es erfolgte eine genaue Auszählung der markierten Neurone in den Schichten A, A1 und den C-Schichten, die nicht weiter differenziert werden konnten (Tab. 3.2).

Die markierten Neurone lagen hauptsächlich auf den mittleren Schnitten der Frontalserie durch das CGL, was darauf hindeutet, daß sich die Injektionen im Bereich weniger Gesichtsfeldgrade ober- und unterhalb des horizontalen Meridians befanden (Kaas et al., 1972). In den mehr anterioren Schnitten lagen die Neurone eher dorsal im Bereich der Lamina A, in den mehr posterioren Schnitten immer weiter ventral bis hin zu den C-Laminae. Die retrograd markierten Neurone häuften sich in jedem Schnitt wiederum am medialen Rand des CGL (Abb. 3.22). Dieser Befund zeigt, daß die Sehrindeninjektionen innerhalb der Repräsentation des zentralen Gesichtsfeldes nahe dem vertikalen Meridian lokalisiert waren (Sanderson, 1971). Bei den ausgewerteten Injektionen fand sich zudem ein z. T. beträchtlicher Anteil der markierten Zellen in den C-Laminae (maximal 57%). Da die Beteiligung der Lamina C an den Afferenzen zur Grenze zwischen Area 17 und 18 zunimmt, ist dies ein weiteres Indiz für die Nähe der Injektionen zum vertikalen Meridian (Holländer, 1977). Eine Positionierung der Injektionen in Area 18, die ebenfalls zu retrograd markierten Neuronen in den C-Laminae geführt hätte, konnte anhand der Überlagerung der im Kortex erzielten Markierungen mit den 2-DG-Autoradiogrammen ausgeschlossen werden (siehe 3.4.4).

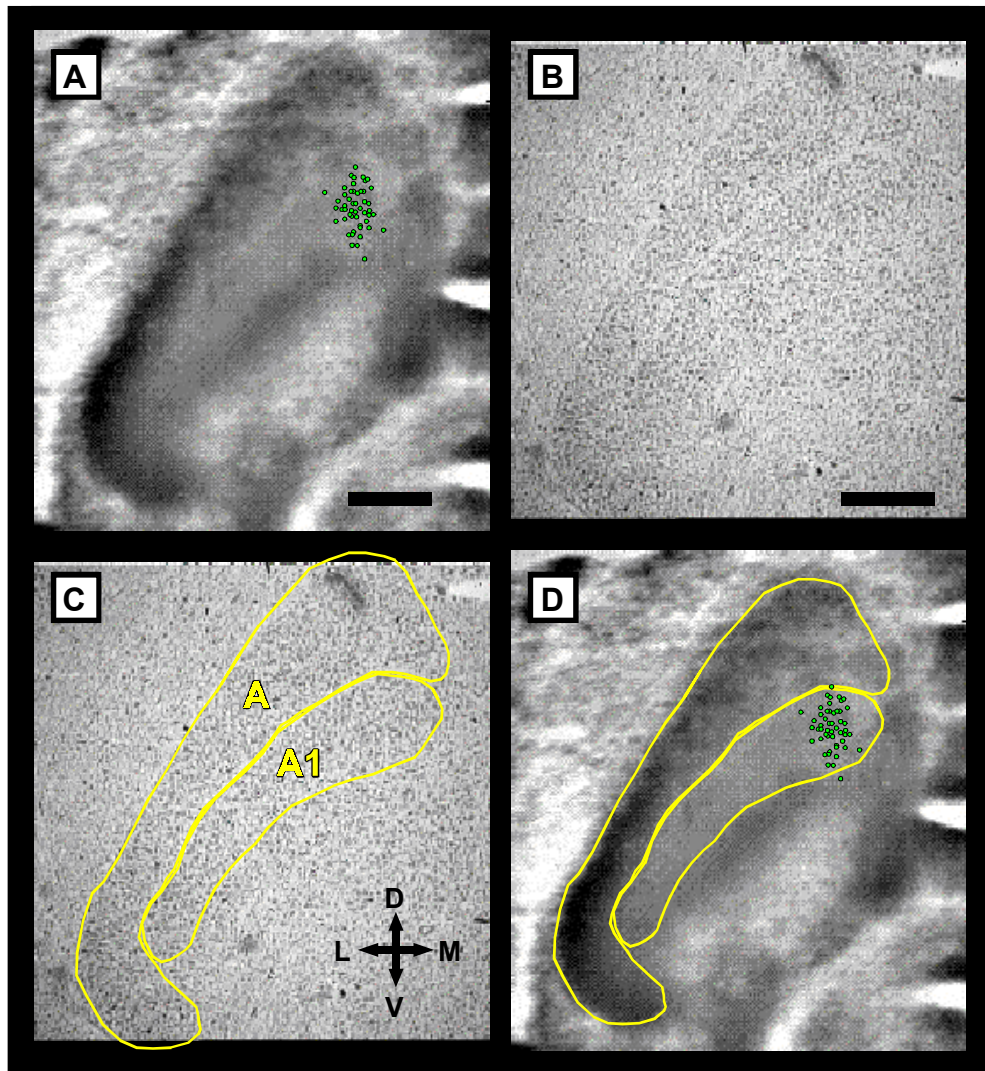


Abbildung 3.22: Retrograd markierte Neurone im Corpus geniculatum laterale (CGL) nach einer Injektion von grünen Beads in eine Okulardominanzkolumne des rechten Auges in Area 17 einer vier Wochen alten Katze (SR 4). **A:** 2-DG-Autoradiogramm eines Frontalschnittes durch das linke CGL mit der überlagerten Verteilung retrograd markierter Neurone ($n=50$). Die Schichten A und C wurden durch das geöffnete rechte Auge stärker aktiviert und nahmen daher mehr 2-DG auf (dunkleres grau) als Schicht A1. **B:** Nissl-Färbung des dem Autoradiogramm zugrundeliegenden Schnittes. **C:** Unter dem Mikroskop können Lamina A und A1 deutlich voneinander abgegrenzt werden. **D:** Bild A mit den eingezeichneten Umrissen der Schichten A und A1. Die markierten Neurone befinden sich mehrheitlich in Schicht A1, welche nur Eingänge vom rechten Auge erhält. D, dorsal; L, lateral; M, medial; V, ventral. Maßstab = 1 mm (A = D, B = C).

Tabelle 3.2: Verteilung der retrograd markierten Neurone im Corpus geniculatum laterale (CGL) für die untersuchten Tiergruppen. Erläuterungen siehe Text.

Injektion (Tier und Farbe)	Anzahl der markierten Neurone	Lamina A	Lamina A1	C-Laminae	OD der Injektions- stelle	CGL- Index
4 WOCHEN, Normalsichtige						
SR3 grün	546	54,4%	23,1%	22,5%	rechts	0,702
SR3 rot	546	65,2%	28,8%	6,0%	rechts	0,694
SR19 grün	260	66,2%	8,8%	25,0%	rechts	0,882
SR19 rot	648	55,4%	27,2%	17,4%	rechts	0,671
4 WOCHEN, Schieler						
SR4 grün	840	22,7%	60,5%	16,8%	links	0,727
SR4 rot	255	44,3%	52,2%	3,5%	links	0,541
SR14 grün	211	53,6%	43,1%	3,3%	rechts	0,554
SR23 grün	248	33,9%	23,8%	42,3%	rechts	0,587
SR23 rot	107	21,5%	21,5%	57,0%	—	0,500
6 WOCHEN, Normalsichtige						
SR6 rot	558	37,6%	19,0%	43,4%	rechts	0,665
SR11 grün	1085	26,0%	59,1%	14,9%	links	0,694
SR11 rot	589	41,9%	24,4%	33,6%	rechts	0,632
SR28 grün	138	21,0%	66,7%	12,3%	links	0,760
6 WOCHEN, Schieler						
SR10 grün	471	25,1%	58,0%	17,0%	links	0,698
SR10 rot	191	47,1%	31,4%	21,5%	rechts	0,600
SR27 grün	143	19,6%	75,5%	4,9%	links	0,794
SR27 rot	12	25,0%	75,0%	0,0%	links	0,750

Durch die Bestimmung des Verhältnisses der Verteilung markierter Neurone in den Schichten A und A1 (CGL-Index, siehe 2.5.3) wurde die Augendominanz der Neurone an der Injektionsstelle und damit die Selektivität der Injektion bestimmt (Tab. 3.2). Die Auszählung im Corpus geniculatum laterale ergab, daß dieser Prozentsatz zwischen 50% und 88,2% lag und die Injektionen in ihrer Selektivität für eine Augendominanzkolumne daher stark schwankten. Neunmal waren die Beads dabei überwiegend ($\geq 55,4\%$) in eine vom rechten (offenen) Auge dominierte Kolumne injiziert worden. In sieben Fällen traf die Injektion mehrheitlich ($\geq 54,1\%$) die Kolumne des linken Auges. Eine Injektion (SR23 rot) war genau auf den Rand zweier Kolumnen plaziert (Tab. 3.2).

3.4.2 Verteilung retrograd markierter Neurone in der primären Sehrinde

Die Injektion grüner und roter Latexmikrosphären in die primäre Sehrinde normalsichtiger und divergent schielender Katzen führte vor allem bei den sechs Wochen alten Tieren zu einem überwiegend fleckigen Verteilungsmuster retrograd markierter Neurone. Die markierten Zellen verteilten sich diskontinuierlich und waren hauptsächlich in Gruppen angeordnet. Zwischen diesen Gruppen war die Dichte der markierten Neurone geringer (Abb. 3.23).

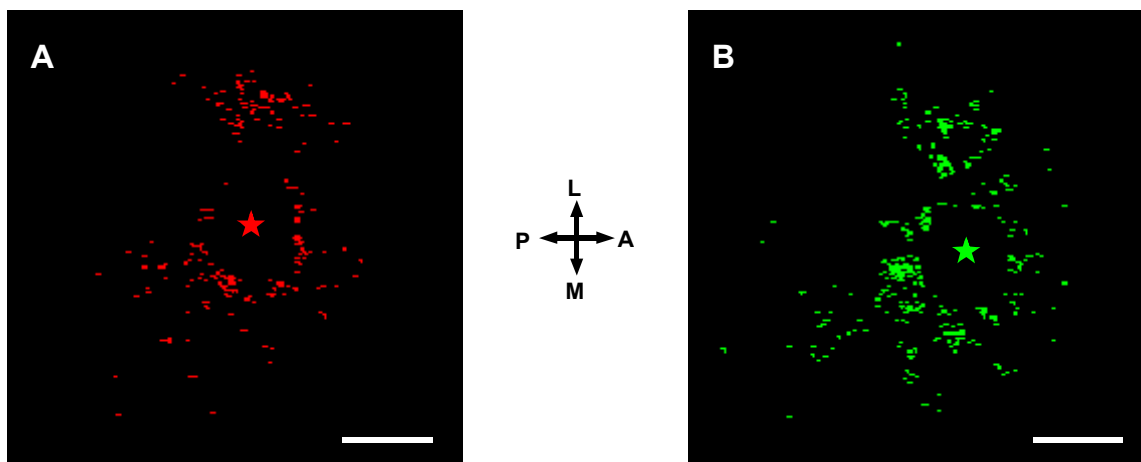


Abbildung 3.23: Verteilungsmuster der retrograd markierten Neurone nach Injektion von Latexmikrosphären in die primäre Sehrinde einer 6 Wochen alten, normalsichtigen Katze (SR11). Die Zellen liegen gehäuft vor. **A:** Verteilungsmuster Rhodamin-markierter Zellen. Die Injektion traf mehrheitlich in eine Kolumne des linken Auges. **B:** Verteilungsmuster Fluorescein-markierter Zellen. Die Injektion traf mehrheitlich in eine Kolumne des rechten Auges. Die Neurone sind durch rote bzw. grüne Punkte, die Injektionsstelle durch einen roten bzw. grünen Stern dargestellt. A, anterior; L, lateral; M, medial; P, posterior. Maßstab = 2 mm.

Die Größe der Injektionsstellen schwankte zwischen den Injektionen und mit ihrer Tiefe entlang des Einstichkanals. In den ausgewerteten Flatmountschnitten (5 je Injektion) wurden daher die Längs- und Querachsen der Injektionsstellen vermessen und so die Größe der Injektion innerhalb des jeweiligen Schnittes bestimmt. Die gemessenen Werte lagen zwischen $150\ \mu\text{m} \times 75\ \mu\text{m}$ (SR4 rot) und $700\ \mu\text{m} \times 300\ \mu\text{m}$ (SR10 grün) und schwankten somit ungefähr um den Faktor 4. Tabelle 3.3 gibt die Größe der Injektionen gemittelt über die fünf ausgewerteten Schnitte an. Für eine weitergehende quantitative Analyse wurde der Mittelwert aus Längs- und Querachse der Injektionsstelle für jeden Schnitt berechnet und als Injektionsdurchmesser bezeichnet.

Die Anzahl der mit Beads markierten Neurone pro Schnitt schwankte ebenfalls deutlich (Abb. 3.24), wobei in der Regel die Streubreite innerhalb einer Injektion geringer war als zwischen verschiedenen Injektionen.

In 79 von 85 Schnitten wurden zwischen 50 und 900 Zellen ermittelt (Median: 163). Die meisten Zellen (1479) waren in einem supragranulären Schnitt (SR4 grün) markiert, die wenigsten in den Schnitten der Injektion "SR27 rot", in denen durchschnittlich nur 12 (9-14) Beads-markierte Zellen detektiert werden konnten. Erkennbare Mängel im Versuchsablauf als Grund für diese niedrige Anzahl von retrograd markierten Neuronen lagen nicht vor. Der Tabelle 3.3 sind die Summen der markierten Neurone für die verschiedenen Injektionen zu entnehmen.

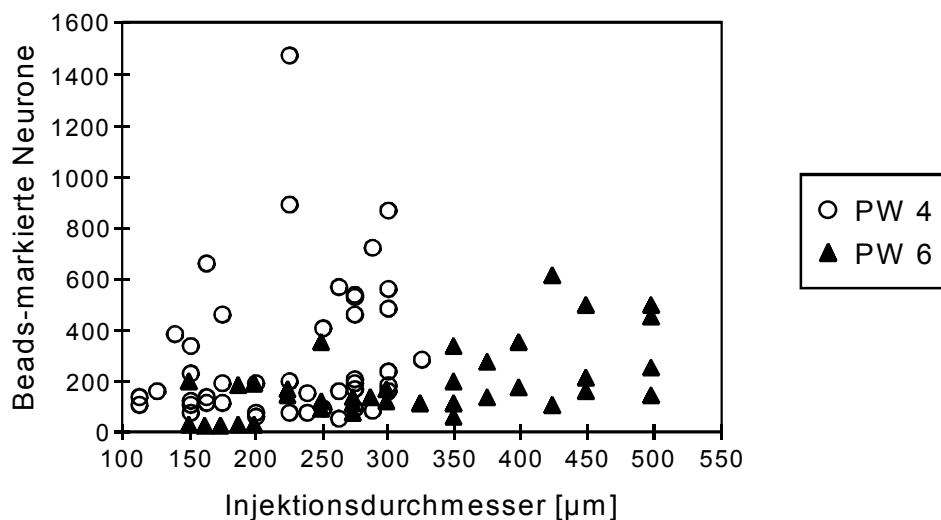


Abbildung 3.24: Anzahl der Beads-markierten Neurone der einzelnen Schnitte in Abhängigkeit vom mittleren Durchmesser der Injektion. Es gibt einen signifikanten Anstieg der Zellzahl mit zunehmender Größe der Injektionsstelle bei beiden Altersstufen (4 und 6 Wochen).

Ein Vergleich der Anzahl der Beads-markierten Zellen mit der Größe der Injektionsstelle zeigte eine Korrelation zwischen den Parametern (Abb. 3.24). Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten von Spearman wies den leichten Anstieg in der Gesamtpopulation der Schnitte als signifikant aus ($r_s=0,225$, $p<0,05$). Betrachtete man die beiden Altersstufen einzeln, war der Anstieg bei den Tieren im Alter von vier Wochen ($r_s=0,297$, $p<0,05$) etwas geringer als bei den sechs Wochen alten Tieren ($r_s=0,543$, $p<0,001$). Bei diesen Tieren (PW 6) blieb die Korrelation auch für den Fall erhalten, daß man die Injektion mit den außergewöhnlich niedrigen Zellzahlen (SR27 rot) unberücksichtigt ließ ($r_s=0,364$, $p<0,05$).

Gleichzeitig fiel auf, daß die größeren Injektionsstellen alle von den Injektionen bei den sechs Wochen alten Katzen stammten (Abb. 3.24). Ein statistischer Vergleich der Altersstufen (Mann-Whitney-U-Test) wies den Unterschied mit $p<0,0001$ als hoch signifikant aus. Eine weitere Unterteilung zeigte, daß es hier keinen Unterschied zwischen normalsichtigen und divergent schielenden Katzen gab (Abb. 3.25). Bei beiden Tiergruppen sind die Durchmesser der Injektionsstellen für die vierwöchigen Tiere signifikant kleiner ($p<0,01$).

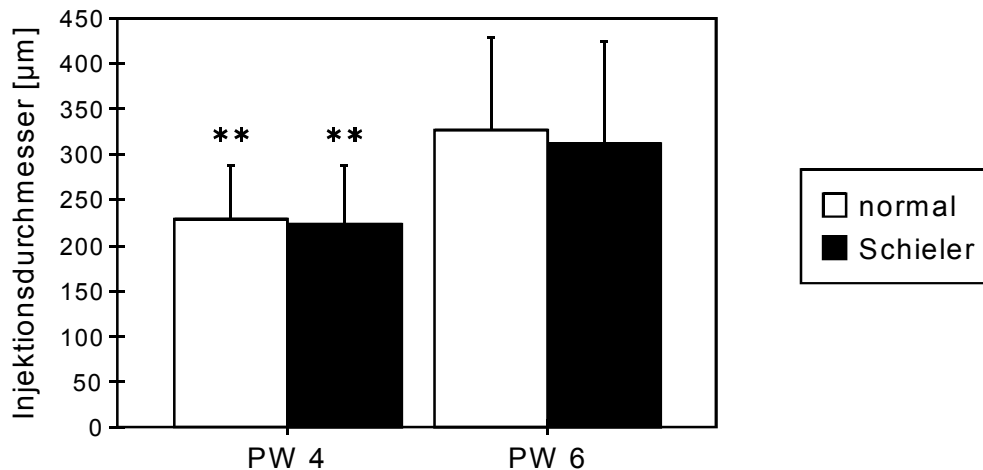


Abbildung 3.25: Mittlere Durchmesser der Injektionsstellen in den Schnitten getrennt nach dem Alter der Versuchstiere. Die Injektionsdurchmesser sind signifikant kleiner bei den Katzen im Alter von 4 Wochen (Mann-Whitney-U-Test, ** $p < 0,01$). Zwischen Normalsichtigen und Schielern gibt es keine Unterschiede. Fehlerbalken repräsentieren S.D.

Warum die Durchmesser der Injektionen in den sechs Wochen alten Tieren größer waren, ist nicht klar. Man hätte eher vermuten können, daß die Durchdringung des Hirngewebes mit durch Druckluft applizierten Beads bei jüngeren Tieren einfacher ist, da das Gewebe im Alter von vier Wochen u.a. durch eine noch nicht vollständige Myelinisierung (Haug et al., 1976) nicht so gefestigt ist.

Trotz der größeren Injektionsdurchmesser und der damit zu erwartenden größeren Anzahl Beads-markierter Neurone fand sich jedoch eine generelle Tendenz zur Abnahme der markierten Zellen von der vierten zur sechsten Postnatalwoche (Abb. 3.26). Normalsichtige und schielende Katzen unterschieden sich hier jedoch massiv. Während der Unterschied zwischen den Altersstufen bei den normalsichtigen Tieren (immer Mittelwert \pm S.D., PW4: 331 ± 226 , PW6: 250 ± 160) unsignifikant war, nahm die Anzahl der Beads-markierten Neurone bei den schielenden Katzen vom Ende der vierten (280 ± 328) bis zum Ende der sechsten Lebenswoche (103 ± 68) signifikant ab (Abb. 3.26; Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,01$). Der Unterschied zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren, der sich im Alter von 4 Wochen abzeichnete, war daher mit sechs Wochen hoch signifikant (Abb. 3.26; Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,001$).

Dieser allgemeine Trend zur Abnahme der Anzahl Beads-markierter Neurone blieb auch erhalten, wenn man die Injektion mit den außergewöhnlich niedrigen Zellzahlen (SR27 rot) unberücksichtigt ließ. Auch dann zeigten die Schieler im Alter von sechs Wochen die wesentlich geringere Anzahl Beads-markierter Neurone (133 ± 48) im Vergleich zu den normalsichtigen Tieren (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$).

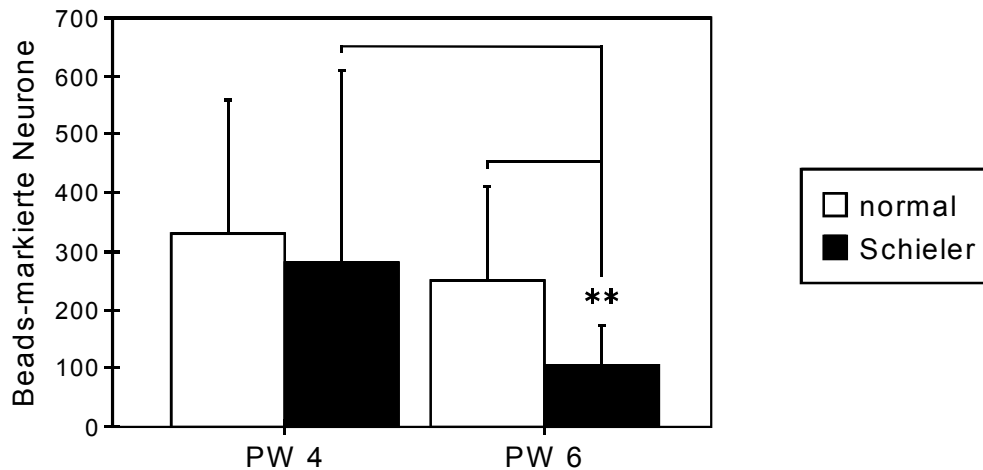


Abbildung 3.26: Mittlere Anzahl der Beads-markierten Neurone getrennt nach Altersstufe und Aufwuchsbedingung. Es zeigt sich eine generelle Tendenz zur Abnahme der Zahl markierter Zellen mit zunehmendem Alter. Diese Abnahme ist bei schielenden Tieren signifikant. Der Unterschied, der sich zwischen Normalsichtigen und Schielern im Alter von 4 Wochen abzeichnet, ist mit 6 Wochen hoch signifikant (Mann-Whitney-U-Tests, mindestens ** $p < 0,01$). Fehlerbalken repräsentieren S.D.

Die Parameter Injektionsdurchmesser und Anzahl der Beads-markierten Neurone wurden zusätzlich in Relation zur Schichtung des Kortex analysiert. Die Lage der Flatmountschnitte wurde dabei anhand der Schnittdicke und der absoluten Schnitzzahlen grob abgeschätzt. Die Mehrzahl der quantifizierten Schnitte (ca. 75%) war in den supragranulären Schichten II/III lokalisiert. Die übrigen Schnitte (ca. 25%) wurden der granulären Schicht IV zugeordnet.

Zusammengefaßt unterschieden sich die Injektionsdurchmesser für Schicht II/III (immer Mittelwert \pm S.D.: $261 \pm 96 \mu\text{m}$) nicht signifikant von denen in Schicht IV ($298 \pm 98 \mu\text{m}$). Auch eine Trennung in die beiden Alterstufen von vier und sechs Wochen zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Schichten (alle Mann-Whitney-U-Tests, $p > 0,1$). In den supragranulären Schichten II/III (263 ± 258) wurden höhere Anzahlen Beads-markierter Neurone als in der granulären Schicht IV (179 ± 132) gefunden. Der Unterschied zwischen den Schichten war jedoch auch für diesen Parameter nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p > 0,1$).

Außerdem wurden die Ergebnisse für Rhodamin- und Fluorescein-gekoppelte Beads verglichen. Weder bei den Injektionsdurchmessern (grüne Beads: $281 \pm 89 \mu\text{m}$, rote Beads: $256 \pm 105 \mu\text{m}$) noch bei der Anzahl markierter Neurone (grüne Beads: 244 ± 237 , rote Beads: 219 ± 202) gab es signifikante Unterschiede (alle Mann-Whitney-U-Tests, $p > 0,1$) zwischen den beiden Markierungssubstanzen.

Lagen die Injektionen in eng beieinander liegenden Domänen mit gleicher Augendominanz, kam es zum Teil zur Überlappung von Gruppen rot und grün markierter Neurone. Die Anzahl doppelt markierter Neurone war jedoch sehr gering, es handelte sich hierbei immer nur um Einzelbeobachtungen.

Beads-markierte Neurone wurden in der Regel auch außerhalb von Area 17 detektiert. Insbesondere Verbindungen von Area 18 zu Area 17 konnten nachgewiesen werden. Je näher die Injektionsstelle an der Area-17/18-Grenze lag, um so mehr markierte Zellen waren in Area 18 festzustellen. Aber auch in Neuronen wesentlich weiter lateral gelegener Areale konnten fluoreszierende Beads beobachtet werden. Eine Quantifizierung der Beads-markierten Neurone außerhalb von Area 17 lag jedoch außerhalb der Fragestellung der vorliegenden Arbeit und wurde deshalb nicht durchgeführt.

3.4.3 Reichweite langreichweitiger Horizontalverbindungen

Zur Analyse der Reichweite der Horizontalverbindungen wurde auf allen Schnitten die maximale Distanz festgehalten, mit der ein Beads-markiertes Neuron in Area 17 detektiert werden konnte. Diese Distanz schwankte deutlich zwischen den Schnitten. Es wurden maximale Distanzen zum Zentrum der Injektionsstelle von 0,8 mm bis zu 8,5 mm gemessen. Mehr als 89% der gemessenen Entfernungen lagen zwischen 1,5 mm und 6,5 mm. Abbildung 3.27 zeigt die maximalen Distanzen, mit der Beads-markierte Neurone detektiert wurden, in Abhängigkeit von der Größe der Injektionsstelle.

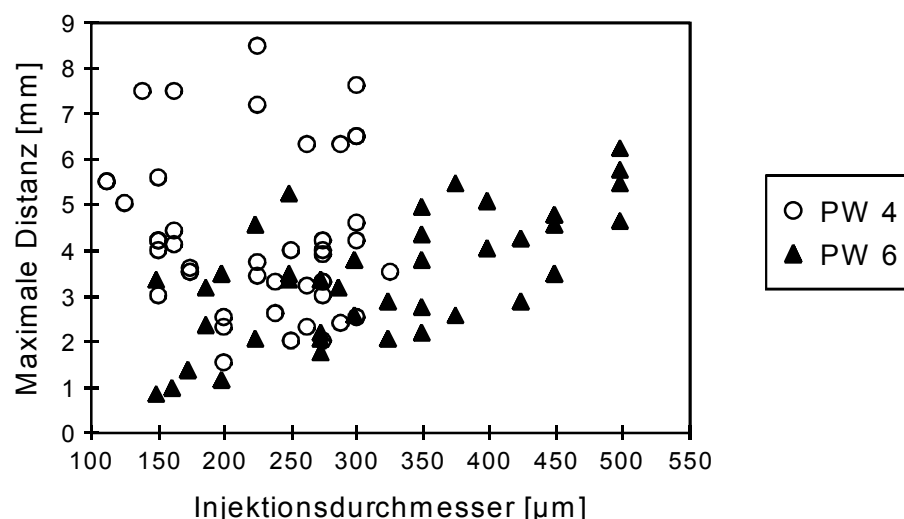


Abbildung 3.27: Maximale Distanz, mit der ein Beads-markiertes Neuron vom Zentrum der Injektionsstelle entfernt in Area 17 detektiert wurde, in Abhängigkeit vom mittleren Durchmesser der Injektionsstelle in den einzelnen Schnitten. Einen signifikanten Anstieg der Distanz mit zunehmender Größe der Injektion gibt es nur bei den 6 Wochen alten Tieren.

Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten von Spearman zeigte für die Gesamtpopulation der Schnitte keine Korrelation ($r_s=0,098$, $p>0,1$). Betrachtete man jedoch die beiden Altersstufen einzeln, gab es mit zunehmender Größe des Injektionsdurchmessers einen hoch signifikanten Anstieg der maximalen Distanz bei den Tieren im Alter von sechs Wochen ($r_s=0,633$, $p<0,0001$). Bei den Tieren im Alter von vier Wochen gab es keine Korrelation ($r_s=-0,128$, $p>0,1$).

Im Vergleich der beiden Aufwuchsbedingungen zeigte sich, daß bei den schielenden Katzen im Alter von sechs Wochen die maximale Distanz, mit der retrograd markierte Neurone von der Injektionsstelle entfernt gefunden wurden, wesentlich geringer war als noch im Alter von vier Wochen (Abb. 3.28). Der Mann-Whitney-U-Test wies diese Abnahme (immer Mittelwert \pm S.D., PW4: $4,5 \pm 1,7$ mm; PW6: $2,6 \pm 1,3$ mm) als hoch signifikant aus ($p<0,001$). Gleiches galt für den Unterschied zwischen Normalsichtigen und Schielern im Alter von sechs Wochen ($p<0,001$). Diese Verringerung blieb eindeutig, wenn man - wie schon bei der Anzahl der markierten Neurone - die Injektion "SR27 rot" unberücksichtigt ließ, die mit vier ihrer fünf untersuchten Schnitte die niedrigsten maximalen Distanzen aufwies. Auch dann waren die Unterschiede der sechswöchigen Schieler ($3,1 \pm 1,2$ mm) signifikant. Lediglich das Signifikanzniveau lag etwas niedriger (Mann-Whitney-U-Tests, $p<0,01$). Die maximale Distanz, mit der retrograd markierte Neurone von der Injektionsstelle entfernt gefunden wurden, nahm also im Laufe der postnatalen Entwicklung bei den divergenten Schielern signifikant ab, während sie bei den normalsichtigen Tieren nahezu unverändert blieb (PW4: $4,0 \pm 1,8$ mm; PW6: $4,1 \pm 1,0$ mm).

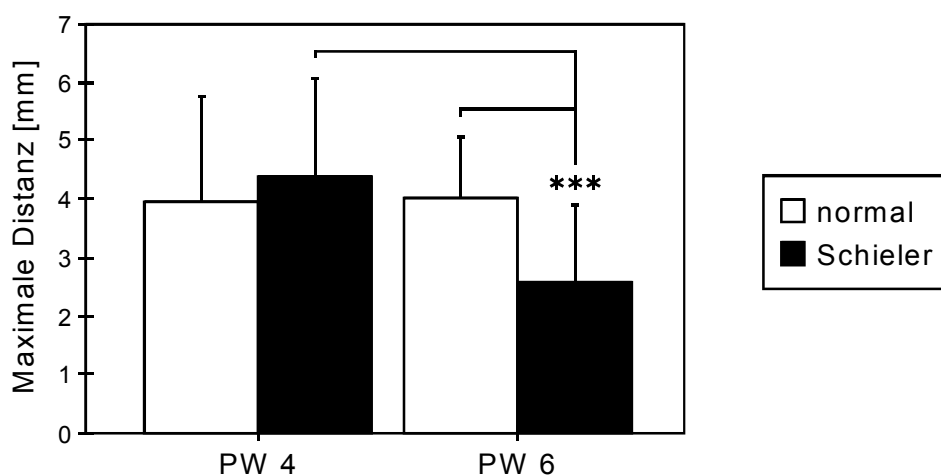


Abbildung 3.28: Mittelwerte der maximalen Distanzen, mit der Beads-markierte Neurone vom Zentrum der Injektionsstelle entfernt detektiert wurden, getrennt nach Alter und Aufwuchsbedingung. Bei den schielenden Tieren nimmt die Entfernung mit zunehmendem Alter hoch signifikant ab. Der Unterschied zwischen Normalsichtigen und Schielern ist daher im Alter von 6 Wochen auch hoch signifikant (Mann-Whitney-U-Tests, *** $p<0,001$). Fehlerbalken repräsentieren S.D.

Auch der Parameter der maximalen Distanz Beads-markierter Neurone wurde zusätzlich in Relation zur Schichtung des Kortex analysiert. Zusammengefaßt waren die Distanzen zwar in den supragranulären Schichten II/III ($4,0 \pm 1,8$ mm) im Mittel größer als in der granulären Schicht IV ($3,4 \pm 1,1$ mm), der Unterschied war jedoch nicht signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p > 0,1$). Zwischen Rhodamin- und Fluorescein-gekoppelten Beads gab es auch keinen signifikanten Unterschied. Der Fluoreszenzmarker (grüne Beads: $4,0 \pm 1,6$ mm; rote Beads: $3,7 \pm 1,7$ mm) hatte keinen Einfluß auf die maximale Distanz, mit der ein markiertes Neuron detektiert wurde (Mann-Whitney-U-Test, $p > 0,1$).

3.4.4 Selektivität langreichweitiger Horizontalverbindungen

Um die topographische Beziehung zwischen den mit Beads markierten Neuronen und dem funktionellen 2-DG-Muster in Area 17 erfassen zu können, wurden die Zellverteilungen anhand der Referenzpunkte mit den Autoradiogrammen desselben Schnittes überlagert (siehe 2.5.3). In Abbildung 3.29 ist dieses Vorgehen exemplarisch für die Injektionen in die Sehrinde von Katze SR27 illustriert.

Abbildung 3.29A zeigt das Autoradiogramm des zentralen Ausschnittes der Area 17 von Katze SR27, in den die Injektion der beiden Markierungssubstanzen erfolgte. Die erzielten Verteilungen retrograd markierter Neurone zeigt Abbildung 3.29B. Nach Überlagerung der beiden Bilder in Abbildung 3.29C kann zunächst die Lage der Injektionsstellen kontrolliert werden. Im dargestellten Fall liegen beide Injektionsstellen mehrheitlich in einer hellen Kolumne des geschlossenen (linken) Auges.

Die Überprüfung der Lage der Injektionsstellen zum Muster der OD-Kolumnen wurde bei allen Tieren für die fünf untersuchten Schnitte durchgeführt. Die Lokalisation der Injektionsstellen zu den Kolumnen war konsistent und bestätigte die im CGL ermittelten Selektivitäten der Injektionen. In zwei Fällen (SR 10 grün/rot) war an der Einstichstelle in den Kortex das 2-DG-Muster so beeinträchtigt, daß die Lage der Injektionsstellen nicht beurteilt werden konnte. Zur Quantifizierung der Zellverteilungen wurden die Grenzen zwischen stimulierten und nicht-stimulierten Regionen innerhalb einer Area 17 durch eine optische Schwelle festgelegt (siehe 2.5.3). Durch sie wurden auf den digitalisierten Autoradiogrammen die dunklen Grauwerte der Domänen des offenen (rechten) Auges auf schwarz und die hellen Grauwerte der Domänen des geschlossenen (linken) Auges auf weiß gesetzt, so daß die schwarzen und weißen Flächen jeweils 50% der Area 17 einnahmen (Abb. 3.29D). Daraufhin wurden die retrograd markierten Neurone auf der weißen bzw. schwarzen Fläche und damit in den Augendominanzbereichen des linken bzw. rechten Auges ausgezählt.

Bei dem in Abbildung 3.29 dargestellten Fall der schielenden Katze SR27 lagen 77,7% der grün markierten Neurone und 74,8% der rot markierten Neurone in Domänen des geschlossenen (linken) Auges und damit in Kolumnen der gleichen Augendominanz wie die Injektionsstellen.

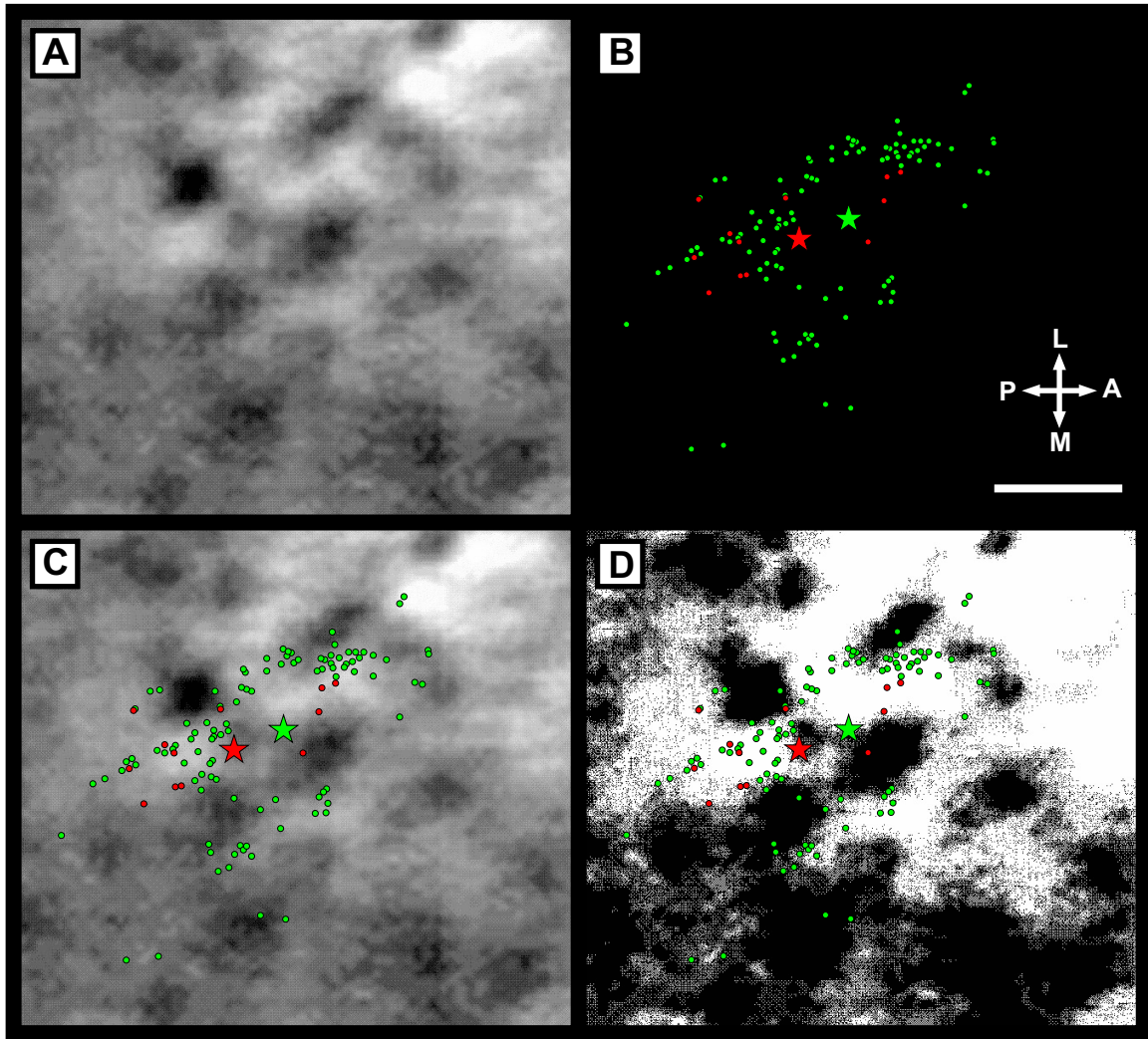


Abbildung 3.29: Topographische Beziehung zwischen intraarealen Horizontalverbindungen und 2-DG-markierten Okulardominanzkolumnen in Area 17 einer sechs Wochen alten schielenden Katze (SR 27). **A:** Ausschnitt aus dem Autoradiogramm eines Flatmountschnittes im Bereich des zentralen Gesichtsfeldes. **B:** Verteilungsmuster der retrograd markierten Neurone nach Injektionen mit grünen und roten Beads in derselben Region. Die Zellen sind durch grüne ($n=105$) und rote ($n=12$) Punkte, die Injektionsstellen durch einen grünen bzw. roten Stern gekennzeichnet. **C:** Überlagerung von Bild A und B. Die Injektionen liegen mehrheitlich in einer hellen Kolumne des geschlossenen (linken) Auges. **D:** Bestimmung der stimulierten und nicht-stimulierten Regionen durch eine optische Schwelle, so daß die Domänen der beiden Augen (schwarz bzw. weiß) je 50% der Fläche einnehmen. Die markierten Neurone liegen in beiden Fällen fast ausschließlich in den weißen, nicht-stimulierten Domänen und damit in Regionen mit der gleichen Augendominanz wie die Injektionsstellen. A, anterior; L, lateral; M, medial; P, posterior. Maßstab = 1 mm.

Tabelle 3.3: Größe der Injektionen und Verteilung der retrograd markierten Neurone in Area 17.

"OD der Injektionsstelle" bezeichnet die Augendominanz der Neurone an der Injektionsstelle, bestimmt durch die Verteilung der Zellen im CGL (siehe Tab. 3.2). Mit Hilfe der optischen Schwelle wurden die Anteile der Neurone an den Kolumnen einer Augendominanz bestimmt (linkes Auge = weiße Fläche (w), rechtes Auge = schwarze Fläche (s)). Der Kortex-Index resultiert aus dem Anteil der Neurone, die in den Kolumnen der gleichen Augendominanz liegen wie die Injektionsstelle. Es wurden je 5 Schnitte pro Injektion ausgewertet. Aufgrund eines Artefaktes an den Injektionsstellen sind bei den mit einem Sternchen * gekennzeichneten Versuchen nur die Neurone (kleinere Zahl in Klammern) ausgewertet worden, die außerhalb des Artefaktes lagen.

Injektion (Tier und Farbe)	Mittlere Injektions- größe [µm]	OD der Injektions- stelle	Summe der markierten Neurone	Anteil der Neurone an den Kolumnen einer OD		Kortex- Index
				links (w)	rechts (s)	
4 WOCHEN, Normalsichtige						
SR3 grün	280x270	rechts	2423	36,4%	63,6%	0,636
SR3 rot	170x170	rechts	2738	51,7%	48,3%	0,483
SR19 grün	130x315	rechts	433	40,7%	59,3%	0,593
SR19 rot	200x290	rechts	1033	47,8%	52,2%	0,522
4 WOCHEN, Schieler						
SR4 grün	380x170	links	4201	57,8%	42,2%	0,578
SR4 rot	180x85	links	635	64,6%	35,4%	0,646
SR14 grün	140x205	rechts	719	28,7%	61,3%	0,613
SR23 grün	190x365	rechts	915	44,5%	55,5%	0,555
SR23 rot	175x340	—	538	52,2%	47,8%	—
6 WOCHEN, Normalsichtige						
SR6 rot	420x490	rechts	2395	46,1%	53,9%	0,539
SR11 grün	395x315	links	1079	52,4%	47,6%	0,524
SR11 rot	285x260	rechts	757	56,9%	43,1%	0,431
SR28 grün	180x265	links	774	46,7%	53,3%	0,467
6 WOCHEN, Schieler						
SR10 grün	600x330	links	851 (109)*	69,5%	30,5%	0,695
SR10 rot	305x375	rechts	619 (179)*	53,7%	46,3%	0,463
SR27 grün	180x350	links	535	77,7%	22,3%	0,777
SR27 rot	115x235	links	60	74,8%	25,2%	0,748

Bei normalsichtigen Tieren lagen zwischen 43,1% und 64,6% aller markierten Neurone in Domänen der gleichen Augendominanz wie die Injektionsstellen (Kortex-Index, siehe 2.5.3). Bei den divergenten Schielern belief sich der Anteil der markierten Neurone, die in Domänen der gleichen Augendominanz wie die Injektionsstellen lagen, auf 46,3% bis 77,7%. Tabelle 3.3 zeigt eine Auflistung dieser Verteilungen für die einzelnen Injektionen. Für die Injektion "SR23 rot" konnte der Kortex-Index nicht festgelegt

werden, da sie zu gleichen Teilen zwei Kolonnen traf und so keiner Augendominanz zugeordnet werden konnte. Diese Injektion ist jedoch eine gute Kontrolle. Eine unselektive Injektion sollte auch eine unselektive Verteilung der markierten Zellen im Kortex zur Folge haben. Dies ist mit einem Anteil von 52,2% zu 47,8% auch der Fall.

Aus früheren Experimenten ist bekannt, daß in der Sehrinde von adulten normalsichtigen Katzen Neurone unterschiedlicher Augendominanz gleich häufig miteinander verbunden sind, während es bei adulten schielenden Katzen eine bevorzugte Verbindung von Neuronen der gleichen Augendominanz gibt (Löwel und Singer, 1992). Setzt man voraus, daß bei Katzen die Augendominanz-unselektive Verschaltung der Grundzustand ist, sollte sich bei den Tieren mit induziertem Schielwinkel die Selektivität der Verbindungen erst im Laufe der postnatalen Entwicklung herausbilden.

Betrachtet man die nach der Injektion von fluoreszierenden Beads erzielten Verteilungen retrograd markierter Neurone in der Sehrinde, scheint sich diese Annahme tatsächlich zu bestätigen. Abbildung 3.30 zeigt die mittleren Kortex-Indices getrennt nach Alter und Aufwuchsbedingung.

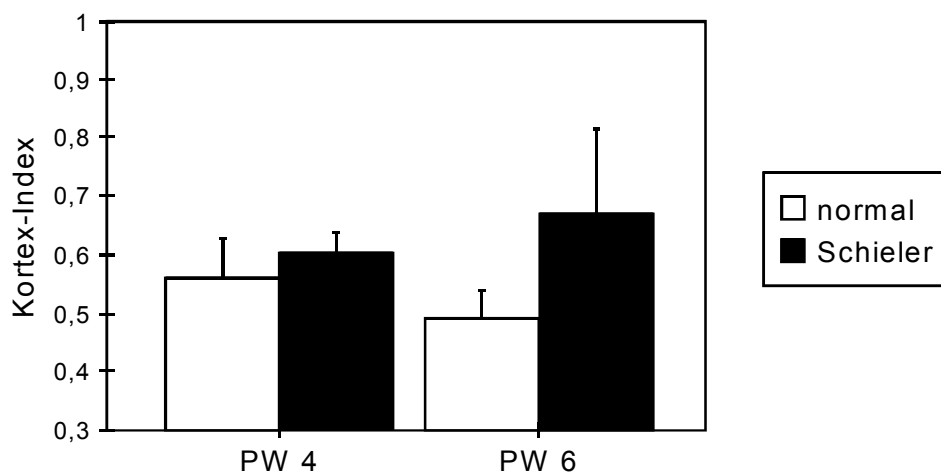


Abbildung 3.30: Mittelwerte der Kortex-Indices getrennt nach Altersstufe und Aufwuchsbedingung. Der Kortex-Index gibt an, wie groß der Anteil der markierten Neurone in der Sehrinde ist, die in Kolonnen der gleichen Augendominanz liegen wie die Injektionsstelle. Die divergenten Schieler zeigen einen Trend zu selektiveren Verbindungen mit zunehmendem Alter (Mann-Whitney-U-Tests, $p > 0,1$).

Faßt man die Altersstufen zusammen, ist der Unterschied im Kortex-Index zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$). Für eine genauere Beurteilung der Selektivität der langreichweitigen Horizontalverbindungen ist der Kortex-Index als Kriterium jedoch nicht hinreichend, da er die Selektivität der Injektionen unberücksichtigt läßt. Die in der Sehrinde zu beobachtenden Verteilungen retrograd markierter Neurone sind jedoch - wenn es

selektive Verbindungen gibt - direkt abhängig von der Selektivität der Injektionen. Diese Abhängigkeit zeigt Abbildung 3.31, in der der Kortex-Index gegen den CGL-Index aufgetragen ist, anhand der Extrema zweier Verschaltungsmodelle des Kortex. Für den Fall, daß nur Neurone der gleichen Augendominanz miteinander verbunden sind (Selektivität: 100%), ergibt sich ein linearer Zusammenhang, bei dem die Gerade die Steigung 1 hat (Diagonale in Abb. 3.31). Der Kortex-Index ist also immer nur so groß wie der CGL-Index. Nur für den Extremfall, daß Neurone in bezug auf die Augendominanz rein zufällig verbunden sind (Selektivität: 50%), führt der lineare Zusammenhang zu einer Geraden mit der Steigung 0 (Horizontale in Abb. 3.31). Der Kortex-Index nimmt dann immer den Wert 0,5 ein und ist unabhängig vom CGL-Index und damit von der Selektivität der Injektion.

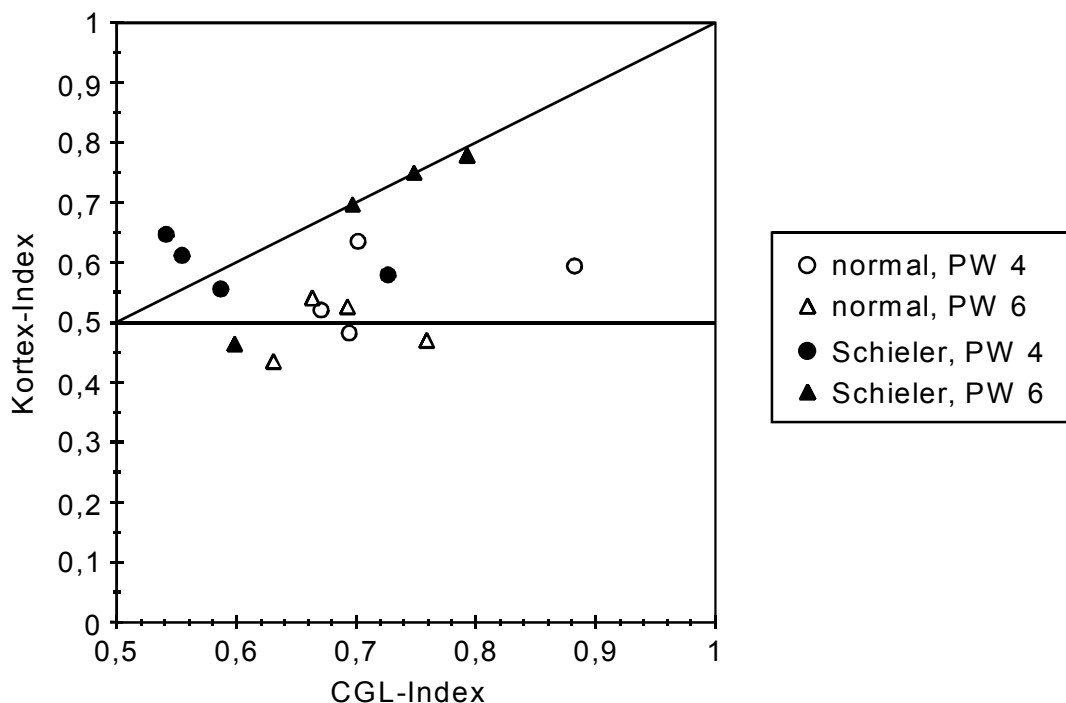


Abbildung 3.31: Der Anteil der markierten Neurone in Area 17, die in den Kolumnen der gleichen Augendominanz liegen wie die Injektionsstelle (Kortex-Index), in Abhängigkeit der Selektivität der Injektion (CGL-Index). Die beiden Geraden repräsentieren die Extremfälle zweier Verschaltungsmodelle des Kortex: 1. Sind nur Neurone der gleichen Augendominanz miteinander verschaltet hat der Kortex-Index den gleichen Wert wie der CGL-Index (Diagonale), 2. Sind die Neurone in bezug auf ihre Augendominanz zufällig verschaltet, ist der Wert des Kortex-Index unabhängig vom CGL-Index immer 0,5 (Horizontale). Die ermittelten Werte liegen in oder um dem durch die Geraden definierten Sektor.

Die Ergebnisse der Experimente sollten in dem durch diese Grenzfälle definierten Bereich liegen. Das ist der Fall (Abb. 3.31). Da die Selektivität der Injektionen sehr

stark schwankte (CGL-Indices zwischen 0,541 und 0,882, siehe 3.4.1), muß für einen Vergleich der Versuchsgruppen der CGL-Index mit einbezogen werden.

Ein Maß hierfür ist der berechnete Selektivitätsindex (siehe 2.5.3):

$$\text{Selektivitätsindex} = 1 - \frac{| \text{CGL-Index} - \text{Kortex-Index} |}{(\text{CGL-Index} + \text{Kortex-Index})}$$

Er setzt die ermittelten Verteilungen der retrograd markierten Neurone aus Kortex und CGL ins Verhältnis und normiert sie auf Werte zwischen 0 und 1.

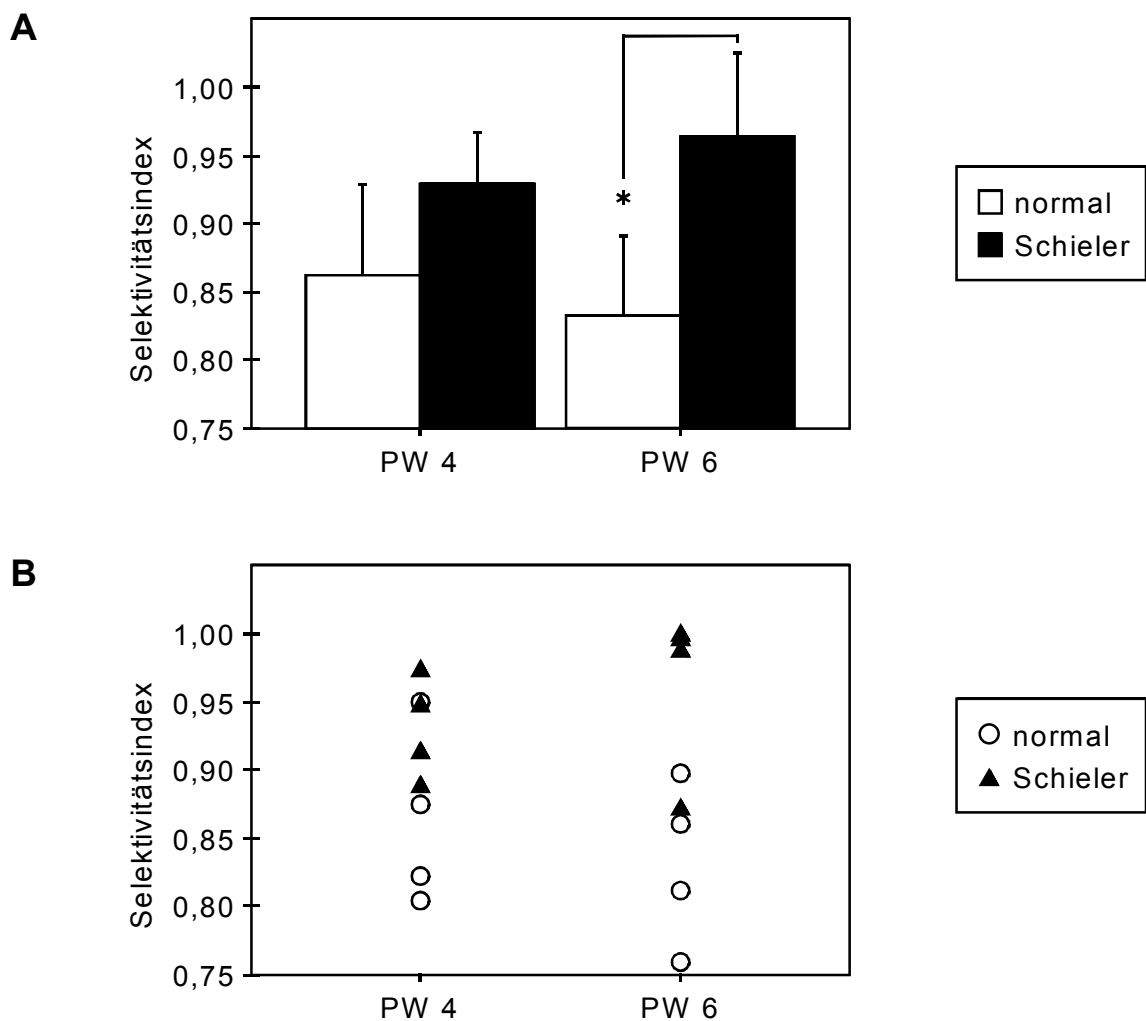


Abbildung 3.32: Entwicklung der Augendominanzselektivität langreichweitiger Horizontalverbindungen in Area 17 bei normalsichtigen und divergent schieelenden Katzen. **A:** Mittlere Werte der Selektivitätsindices für die Postnatalwochen (PW) 4 und 6. Der Unterschied zwischen Normalsichtigen und Schielern wird im Alter von 6 Wochen signifikant (Mann-Whitney-U-Test, * $p < 0,05$). Fehlerbalken repräsentieren S.D. **B:** Streudiagramm des gleichen Datensatzes. Die Wertepopulationen überschneiden sich kaum.

Der Selektivitätsindex nimmt für die Fälle den Wert 1 ein, in denen der Kortex-Index den gleichen Wert wie der CGL-Index hat. Dies entspräche dann dem Modellfall einer absolut selektiven Verschaltung (Diagonale in Abb. 3.31). Je mehr Kortex-Index und CGL-Index voneinander abweichen, desto kleiner wird der Selektivitätsindex. Für den Modellfall der rein zufälligen Verschaltung liegt der untere Grenzwert bei $\frac{2}{3}$ (siehe 2.5.3).

In Abbildung 3.32 sind die berechneten Selektivitätsindices für die verschiedenen Versuchsgruppen dargestellt. Die divergenten Schieler zeigten im Mittel deutlich höhere Werte als die normalsichtigen Katzen. Unterschieden sich die beiden Gruppen im Alter von vier Wochen schon erkennbar, so war der Unterschied im Alter von sechs Wochen signifikant (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,05$). Dies lag vor allem daran, daß die Schieler in diesem Alter höhere Werte (immer Mittelwert \pm S.D., PW6: $0,964 \pm 0,062$, PW4: $0,930 \pm 0,038$) beim Selektivitätsindex aufwiesen, während die Normalsichtigen tendenziell niedrigere Werte (PW6: $0,832 \pm 0,059$, PW4: $0,863 \pm 0,066$) zeigten (Abb. 3.32).

Faßt man die beiden Altersstufen für Normalsichtige und Schieler zusammen, belegt der statistische Vergleich den generellen Unterschied in der Selektivität ihrer Horizontalverbindungen (Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,01$). Eine Einstichproben-Analyse (Vorzeichentest) zeigt darüber hinaus, daß sich die Verteilung der Werte des Selektivitätsindex für die normalsichtigen Tiere nicht von einer erwarteten Verteilung unterscheidet, die auf einer zufälligen Verschaltung durch Horizontalverbindungen beruht (Kortex-Index = 0,5). Je vier beobachtete Werte lagen unterhalb und oberhalb des Erwartungswertes (Mittelwert der hypothetischen Verteilung: 0,827, $p > 0,999$). Für die divergenten Schieler hingegen lagen alle acht beobachteten Selektivitätsindices über dem Erwartungswert (Mittelwert der hypothetischen Verteilung: 0,870, $p < 0,01$).

Zusammenfassend weisen die Befunde darauf hin, daß langreichweitige Verschaltungen in der primären Sehrinde von normalsichtigen Katzen Neurone unterschiedlicher Augendominanz verbinden. In der Entwicklung der divergenten Schieler scheint sich hingegen durch den Abbau von Horizontalverbindungen eine zunehmende Präferenz für die Verschaltung von Neuronen der gleichen Augendominanz herauszubilden. Signifikante Unterschiede zwischen normalsichtigen und divergent schielenden Tieren ließen sich sowohl in der Anzahl, der Reichweite als auch der Selektivität der Horizontalverbindungen erst im Alter von sechs Wochen und damit vier Wochen nach Induktion des Schielwinkels detektieren.

4. Diskussion

Die primäre Sehrinde enthält, wie auch andere primäre sensorische Areale, eine geordnete Repräsentation der Umwelt, deren Entstehung bisher nur unzureichend geklärt ist. So existiert in der primären Sehrinde von Katzen zum einen eine topographische Karte durch die retinotopie Abbildung des Gesichtsfeldes, zum anderen sind Neurone mit ähnlichen funktionellen Eigenschaften senkrecht zur Kortexoberfläche in Kolumnen angeordnet. Die in dieser Arbeit untersuchten Okulardominanzkolumnen bilden eines dieser kolumnären Systeme. Eine weitere auffällige Eigenschaft der primären Sehrinde ist die Verknüpfung dieser funktionellen Kolumnen durch ein Netzwerk langreichweitiger Faserverbindungen. Beide Systeme reifen erst postnatal aus und sind, wie in früheren Studien gezeigt werden konnte (Übersichten bei Wiesel, 1982; Löwel und Singer, 2000), durch eine modifizierte Seherfahrung in ihrer Ausprägung veränderbar. Ziel dieser Arbeit war es, die Dynamik der Entwicklung funktioneller OD-Kolumnen und der sie verknüpfenden langreichweitigen Horizontalverbindungen zu analysieren und den Einfluß eines früh induzierten Schielwinkels auf diese Entwicklung zu untersuchen. Zusätzlich wurde erstmals das genaue Wachstum der Hirnrinde bestimmt und damit desjenigen Substrates, in dem sich die kolumnäre Musterbildung vollzieht.

4.1 Entwicklung funktioneller Okulardominanzkolumnen und der Einfluß visueller Erfahrung

4.1.1 Kinetik der Entstehung von Okulardominanzkolumnen

Bei neugeborenen Katzen zeigen die thalamokortikalen Afferenzen der beiden Augen in der Eingangsschicht IV der primären Sehrinde eine ausgedehnte Überlappung. Mit der anatomischen Markierung der thalamokortikalen Afferenzen durch transneuronalen Transport von [^3H]-Prolin konnte gezeigt werden, daß die Segregation in alternierende OD-Kolumnen ein postnataler Prozeß ist, der in der dritten Lebenswoche beginnt und erst im Alter von 6 Wochen dem erwachsenen Zustand annähernd entspricht (LeVay et al., 1978). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen nun, daß OD-Kolumnen funktionell bereits im Alter von 3 Wochen darstellbar sind. Die mit 2-Deoxyglukose visualisierten OD-Kolumnen erstreckten sich dabei durch alle kortikalen Schichten und füllten die gesamte Area 17 aus. Die Messung des Kontrastes in den Autoradiogrammen wies zudem nach, daß bereits eine Woche später, im Alter von 4 Wochen, das kolumnäre Muster dem von erwachsenen Tieren vergleichbar ist, zu einem Zeitpunkt also, an dem die Segregation der thalamokortikalen Afferenzen noch nicht abgeschlossen ist. Eine

genaue Analyse der Entwicklung einzelner thalamokortikaler Axonendigungen (Antonini und Stryker, 1993b) hatte gezeigt, daß sich in dieser postnatalen Phase die auffälligsten morphologischen Veränderungen vollziehen: Zwischen P23 und P30/31 werden die für die juvenilen Projektionen typischen dünnen aber weit ausgedehnten Axonäste eliminiert, während andere ausgesuchte Zweige deutlich in Länge und Komplexität zunehmen. Gleichzeitig bilden sich, übereinstimmend mit der Segregation der Afferenzen des linken und rechten Auges, diskrete Gruppen von terminalen Verzweigungen heraus. Zudem findet zwischen der 4. und 5. postnatalen Woche eine drastische Erhöhung der kortikalen Synaptogenese statt, die mit der 5. Woche ihren Höhepunkt erreicht (Cragg, 1975). Mein Befund einer frühen postnatalen Entwicklung von OD-Kolumnen erweitert die Ergebnisse einer kürzlich mit optischem Ableiten intrinsischer Signale durchgeführten Studie (Crair et al., 1998). In ihr konnten für einen 2x3 mm großen Ausschnitt im Bereich der fovealen Repräsentation in Area 17 funktionelle Karten dargestellt werden, die zeigen, daß bei Katzen im Alter von 2 Wochen Muster alternierender Augenpräferenz auftreten, die die Existenz von OD-Kolumnen andeuten (Crair et al., 1998). Darüber hinaus zeigt die vorliegende Arbeit erstmals, daß funktionelle OD-Kolumnen in der gesamten Area 17 und in allen Kortexschichten darstellbar sind (Rathjen und Löwel, 2000). Des Weiteren wurden die OD-Kolumnen in der vorliegenden Arbeit bei wachen Tieren visualisiert. Ein Unterschied zwischen den ipsi- oder kontralateral zum offenen Auge gelegenen Sehrinden konnte dabei nicht festgestellt werden. Die Dominanz des kontralateralen Auges in der frühen Entwicklung des visuellen Kortex (z.B. Crair et al., 1998) scheint sich demnach nicht in einem veränderten Kontrast der Autoradiogramme zu äußern.

Zusammengenommen lassen die Ergebnisse den Schluß zu, daß die Ausbildung räumlich strukturierter Aktivitätsmuster in Form funktioneller OD-Kolumnen, oder möglicherweise die Organisation der oberen kortikalen Schichten generell (Crair et al., 1998), der anatomischen Segregation und Elaboration der thalamokortikalen Afferenzen vorausgeht. Dies unterstützt die Hypothese, daß die Segregation der Afferenzen durch aktivitätsabhängige Selbstorganisationsprozesse getrieben wird. Diese Hypothese umfaßt dabei die Annahme, daß bereits ein geringes, anatomisch nicht beobachtbares Ungleichgewicht der Eingänge aus beiden Augen durch intrakortikale Wechselwirkungen so verstärkt wird, daß sich ihre Aktivitätsmuster stark unterscheiden und damit die anatomische Segregation der Afferenzen leiten können (Rathjen und Löwel, 2000).

Eine indirekte Unterstützung dieser Hypothese kommt von einer aktuellen Untersuchung zur Plastizität der primären Sehrinde während der Phase der kolumnären Entwicklung (Trachtenberg et al., 2000). Monokulare Deprivation führt in dieser Phase zu einer Reorganisation der kortikalen Verschaltungen in der Art, daß Neurone kaum noch auf Stimulation des deprivierten Auges antworten (z.B. Wiesel und Hubel, 1963). Diese physiologischen Änderungen sind verbunden mit dem anatomischen Verlust der Eingänge des deprivierten Auges (Shatz und Stryker, 1978). Trachtenberg et al. (2000) untersuchten nun bei 4 Wochen alten Katzen die Augendominanz von Neuronen in Area

17 nach lediglich einem Tag monokularer Deprivation mit einer Kombination aus optischem Ableiten intrinsischer Signale und Mikroelektroden-Ableitungen. Es zeigte sich, daß die Neurone in den extragranulären Schichten (II/III und V/VI) die Fähigkeit verloren hatten, auf Stimulation des deprivierten Auges zu antworten, während es in Schicht IV noch binokulare Zellen gab. Wie in der normalen Entwicklung scheinen also auch bei einer durch die Deprivation eines Auges hervorgerufenen kortikalen Reorganisation, den Veränderungen in der Anordnung der thalamokortikalen Afferenzen Aktivitätsänderungen in den übergeordneten kortikalen Schichten vorauszugehen (Trachtenberg et al., 2000; siehe auch Lein und Shatz, 2000).

Interessant in diesem Zusammenhang ist die Entwicklung von mit 2-Deoxyglukose visualisierten Orientierungskolumnen. Thompson et al. (1983) konnten in der primären Sehrinde von Katzen ebenfalls erst im Alter von 3 Wochen ein periodisches Muster beobachten, welches jedoch zunächst auf Schicht IV begrenzt war. Durchgehende Orientierungskolumnen waren im Alter von 5 Wochen zu detektieren (Thompson et al., 1983). Die optischen Ableitexperimente von Crair et al. (1998) hatten Orientierungskolumnen bereits im Alter von 2 Wochen zeigen können. Ein möglicher Grund hierfür liegt in der Tendenz der Sehrindenneurone junger Katzen zu habituieren (z.B. Hubel und Wiesel, 1963b). Während beim optischen Ableiten eine bestimmte Reizorientierung nur wenige Sekunden (4,8 s bei Crair et al., 1998) präsentiert wird und sich dann in einer zufälligen Folge mit den anderen Orientierungen abwechselt, dauert die Präsentation einer Orientierung bei einem 2-DG-Standardprotokoll über 45 Minuten an. Eine frühe Habituation der Neurone würde somit eine ausreichende 2-DG-Akkumulation verhindern. Die dann zunächst auf Schicht IV begrenzte Markierung könnte auf eine geringere Habituation der Zellen in dieser Schicht oder (und) eine höhere Anzahl orientierungsselektiver Neurone zurückzuführen sein (Übersicht bei Löwel, 2000). Da Anästhesie immer Kortexaktivität dämpft oder verändert (siehe z.B. Löwel und Singer, 1993a), ist es ein großer Vorteil mit wachen, sich frei bewegenden Tieren arbeiten zu können, wie es bei der 2-DG-Visualisierung von Okulardominanzkolumnen möglich ist.

Bei schielenden Tieren ist die Korrelation der Aktivität zwischen den beiden Augen stark vermindert, da aufgrund der verschobenen optischen Achsen die Abbilder auf den korrespondierenden Netzhautstellen nicht mehr in Einklang gebracht werden können (siehe 1.3.2). Die Folgen dieser Dekorrelation sind ein fast vollständiger Verlust der Binokularität der Neurone zugunsten einer fast ausschließlichen Reaktion auf das rechte oder linke Auge (Hubel und Wiesel, 1965; Kalil et al., 1984) und eine als verstärkt beschriebene Segregation der thalamokortikalen Afferenzen in alternierende OD-Kolumnen (Shatz et al., 1977; Löwel und Singer, 1993b; Löwel 1994). Theoretischen Modellen zur Entwicklung der OD-Kolumnen zufolge sollte der Verlust korrelierter Aktivität zu einer beschleunigten Segregation der Afferenzen in Area 17 und damit zu einer früheren Ausbildung von OD-Kolumnen bei schielenden Katzen führen (Miller et al., 1989; Miller und Stryker, 1990; Löwel und Wolf, 1999; Scherf et al., 1999).

Die Ergebnisse dieser Arbeit geben jedoch keinen Hinweis auf eine erfahrungsabhängige Veränderung in der Dynamik der OD-Kolumnenentstehung. Wie bei den normalsichtigen Tieren waren auch bei den divergent schielenden Katzen im Alter von 3 Wochen Kolumnen unterschiedlicher Augendominanz sichtbar, die sich ebenfalls durch alle kortikalen Schichten erstreckten und die gesamte Area 17 ausfüllten. Weiterhin unterschieden sich bei den schielenden Katzen die OD-Kolumnenmuster der Tiere im Alter von 4 Wochen nicht mehr von denen älterer Tiere. Der Zeitverlauf der Entwicklung von OD-Kolumnen war daher in beiden Experimentalgruppen gleich (Rathjen und Löwel, 2000). Die Tatsache, daß der Zeitraum, über den sich ein funktionelles Muster entwickelt, wesentlich kürzer ist als bisher angenommen (z.B. LeVay et al., 1978) und im Bereich von Tagen oder sogar Stunden liegt, könnte jedoch einen möglichen Unterschied verdeckt haben. Da zeitliche Differenzen unter einer Woche nicht untersucht wurden, kann nicht völlig ausgeschlossen werden, daß schielende Tiere einen Vorsprung in der Entwicklung funktioneller OD-Kolumnen haben, der in der Phase zwischen der Induktion des Schielwinkels im Alter von 14 Tagen und dem Beginn der Experimente mit 21 Tagen liegt (Rathjen und Löwel, 2000). Aufgrund der beobachteten hohen Variabilität bei der Ausprägung der Kolumnenmuster (bei einem 6 Wochen alten Schieler lag der gemessene Kontrast in den Autoradiogrammen so niedrig wie bei einem 3 Wochen alten normalsichtigen Tier) wären feine Kontrastunterschiede in den OD-Mustern, wie sie bei einer Differenz von wenigen Tagen zu erwarten wären, mit einer vertretbaren Anzahl von 2-DG-Experimenten vermutlich nicht zu detektieren. Ein im Alter von zwei Wochen induzierter Strabismus scheint demnach keinen entscheidenden Einfluß auf die Kinetik der Entstehung von OD-Kolumnen zu haben.

Insgesamt deuteten zahlreiche Ergebnisse in den letzten Jahren daraufhin, daß strukturierte visuelle Erfahrung essentiell notwendig für eine Feinstrukturierung und Aufrechterhaltung spezifischer kortikaler Karten und Schaltkreise ist, sie jedoch keine entscheidende Rolle bei der initialen Musterbildung spielt. Bei binokular deprivierten Katzen konnte gezeigt werden, daß sich z.B. Orientierungskarten (Gödecke et al., 1997; Crair et al., 1998) und OD-Kolumnen (Crair et al., 1998) ohne visuelle Information nahezu normal entwickeln. Bei Makaken konnten ausgereifte OD-Kolumnen sogar schon vor der Geburt detektiert werden (Horton und Hocking, 1996a). Als notwendige Voraussetzung für die Etablierung eines initialen kolumnären Musters wurde jedoch spontane neuronale Aktivität angesehen, da z.B. Stryker und Harris (1986) zeigen konnten, daß eine vollständige Blockade neuronaler Aktivität in der Retina die OD-Kolumnenbildung verhindert (Übersichten bei Crair, 1999; Sur et al., 1999; Weliky, 1999; Wong, 1999). Von Bedeutung in diesem Zusammenhang ist eine neuere anatomische Studie, in der gezeigt wurde, daß bei binokular enukleierten Frettchen thalamokortikale Afferenzen ein grobes Muster alternierender Terminationsgebiete in Area 17 erzeugen (Crowley und Katz, 1999). Die Autoren schlossen aus ihren Daten, daß Aktivität für eine Segregation der OD-Kolumnen weit weniger wichtig ist als bisher angenommen und schlugen molekulare Marker auf den thalamischen Axonen und/oder

den kortikalen Zellen als ausschlaggebend für diesen Prozeß vor. Die Entfernung beider Augen muß jedoch nicht notwendigerweise zu einem Verlust jeglicher Aktivität in den thalamokortikalen und kortikalen Schaltkreisen führen (Kim et al., 1995; McCormick et al., 1995). So hat binokulare Enukleation bei 21 Tage alten Frettchen (entspricht Embryonaltag 63 bei der Katze) nur geringen Einfluß auf die Entwicklung gruppiertter Horizontalverbindungen, während die Ausschaltung neuronaler Aktivität durch Tetrodotoxin in Area 17 die Ausbildung diskreter Gruppen verhindert (Ruthazer und Stryker, 1996). Auch in Abwesenheit retinaler Aktivität könnte demnach in den thalamokortikalen Schaltkreisen vorhandene Aktivität ausreichen, um die initiale Ausbildung selektiver Faserverbindungen zu gewährleisten (siehe auch Weliky und Katz, 1999). Angesichts der Fülle von Arbeiten, die eine aktivitätsabhängige Entwicklung des visuellen Kortex nahelegen (Übersicht bei Crair, 1999), wird die Frage, wie wichtig molekulare Marker oder neuronale Aktivität für die Ausbildung von OD-Kolumnen oder generell kortikaler Karten sind, in zunehmendem Maße Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen sein (siehe auch Hübener und Bonhoeffer, 1999).

4.1.2 Periodizität von Okulardominanzkolumnen

Man nimmt an, daß die Bildung von Okulardominanzkolumnen darauf beruht, daß die Aktivität der Zellen innerhalb eines Auges stärker korreliert ist, als die Aktivität der Zellen aus beiden Augen. Kortikale Neurone zeigen daher zwei konkurrierende Tendenzen, Verbindungen einzugehen. Einerseits versuchen die Neurone Verbindungen mit den Afferenzen von benachbarten Zellen der selben Retina zu knüpfen und andererseits von Afferenzen der Zellen des korrespondierenden Gesichtsfeldortes der anderen Retina innerviert zu werden. Die Bildung von Okulardominanzkolumnen ist ein Kompromiß zwischen diesen beiden Tendenzen (z.B. Constantine-Paton, 1983; siehe 1.3.2). Die relative Größe der Domänen wird bestimmt von der Balance zwischen der Aktivität der beiden Augen. Daher werden als Folge monokularer Deprivation die Domänen des offenen Auges größer als normal, während die Domänen des geschlossenen Auges schrumpfen (z.B. Shatz und Stryker, 1978). Es wurde allerdings angenommen, daß die Periodizität der OD-Kolumnen durch intrinsische Faktoren des Kortex oder der Afferenzen bestimmt wird, wie z.B. kortikalen Interaktionen oder der Ausdehnung der afferenten Verzweigungen (z.B. Miller et al., 1989; Miller und Stryker, 1990; Jones et al., 1991). Im Gegensatz dazu vermutete Goodhill (1993), daß die Periodizität der OD-Kolumnen bestimmt wird durch den Grad der Korrelation der Eingänge der beiden Augen: Je stärker die Korrelation zwischen ihnen, um so häufiger wird die Tendenz, Verbindungen mit Afferenzen von Zellen einzugehen, die korrespondierende Punkte in den beiden Augen repräsentieren, gegenüber der Tendenz gewinnen, Verbindungen mit Afferenzen benachbarter Zellen einer Retina einzugehen und um so häufiger wechseln sich die Domänen ab. Im Falle von Strabismus, der zu einer Dekorrelation der Aktivität der beiden Augen führt, sollten demnach die Kolumnenabstände größer werden.

Unterstützung für diese Vermutung kam zuerst durch die Studie von Löwel (1994). In ihr konnte beobachtet werden, daß die mittleren Abstände der OD-Kolumnen bei divergent schielenden Katzen mehr als 30% größer als bei normalsichtigen Tieren waren. Die Spanne der ermittelten Werte lag bei den normalsichtigen Tieren zwischen 770 μm und 1020 μm (Mittelwert, S.D.: $900 \pm 85 \mu\text{m}$), bei den schielenden Katzen zwischen 1110 μm und 1270 μm (Mittelwert, S.D.: $1199 \pm 48 \mu\text{m}$), so daß die beiden Verteilungen nicht überlappend waren.

In der Studie von Löwel (1994) wurde die Bestimmung der häufigsten Ortsfrequenz mit einer eindimensionalen Fouriertransformation durchgeführt. Diese Methode hat jedoch mehrere Nachteile. Diese liegen in der Subjektivität des Beobachters, der Vektoren in das Muster zu legen hat, entlang derer die Messung der Fourierspektren erfolgt, und in der Beeinflußbarkeit durch die Form und globale Struktur des Signals (z.B. lokale Phasendefekte) und damit Eigenschaften, die im Hinblick auf die zu untersuchende Periodizität unwichtig sind. Daher wurde ein automatisiertes zweidimensionales Verfahren entwickelt, das eine Statistik der lokal auftretenden Periodenlängen (ohne Vorzugsrichtung) erstellt und deren Maximum detektiert (Scherf, 1994). Eine Anwendung dieses Verfahrens auf den Bilddatensatz von Löwel (1994) bestätigte, daß ein signifikanter Unterschied in der Größe der Kolumnenabstände zwischen den normalsichtigen und schielenden Tieren bestand (Scherf, 1994).

Mit den Daten der vorliegenden Arbeit, die mit dem gleichen Verfahren der Periodenstatistik analysiert wurden, konnten diese Unterschiede jedoch nicht bestätigt werden. Für die im Alter von 3 bis 6 Wochen untersuchten Katzen wurden bei den normalsichtigen Tieren OD-Kolumnenabstände von 826 μm bis 1362 μm (Mittelwert \pm S.D.: $1042 \pm 136 \mu\text{m}$) und bei den divergenten Schielern von 783 μm bis 1174 μm ($987 \pm 109 \mu\text{m}$) gemessen. Die Populationen waren nahezu vollständig überlappend und es gab in keiner Altersstufe einen signifikanten Unterschied bei den Abständen der OD-Kolumnen zwischen normalsichtigen und schielenden Katzen.

Zur Kontrolle wurden für den vorhandenen Datensatz (24 der 30 Hemisphären) die Kolumnenabstände zusätzlich mit einem weiteren Verfahren bestimmt. Es handelte sich dabei um eine Wavelet-Transformation, deren Verwendung kürzlich zur Bestimmung lokaler Wellenlängen in Orientierungskarten eingeführt wurde (Kaschube et al., 2000). Die Auswertung der kodierten 2-DG-Autoradiogramme wurde von Markus Dahlem (Institut für Biophysik, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg) ohne Kenntnis der Seherfahrung der zugehörigen Versuchstiere durchgeführt. Für die normalsichtigen Tiere wurden OD-Kolumnenabstände von 1229 μm bis 1320 μm (Mittelwert \pm S.D.: $1280 \pm 27 \mu\text{m}$) und für die divergenten Schieler 1171 μm bis 1367 μm ($1283 \pm 52 \mu\text{m}$) berechnet. Die mit der Wavelet-Analyse erzielten Werte lagen demnach im Schnitt etwas höher und wiesen eine kleinere Varianz auf. Die für die normalsichtigen Tiere berechneten Kolumnenabstände lagen jedoch innerhalb der Streubreite der für die schielenden Katzen ermittelten Abstände. Somit gab es auch mit diesem Verfahren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Experimentalgruppen.

Wie läßt sich dieser Befund mit den Ergebnissen der Studie von Löwel (1994) vereinbaren, die eine Vergrößerung des Kolumnenabstandes durch Verringerung der Korrelation der Aktivität zwischen den Augen nahelegte? Die Diskrepanz der Ergebnisse läßt zwei Interpretationen möglich erscheinen, die auf Unterschiede in der Versuchsdurchführung zurückzuführen sind:

1. Es ist möglich, daß die Abwesenheit vergrößerter Kolumnenabstände bei den in dieser Arbeit untersuchten Tieren auf den Unterschied im Zeitpunkt der Schielwinkelinduktion zurückzuführen ist: Bei den hier dargestellten Experimenten wurde der Schielwinkel im Alter von 14-15 Tagen induziert, während die Tiere bei den ursprünglichen Experimenten (Löwel, 1994) 17-18 Tage alt waren. Der frühere Termin wurde aufgrund theoretischer Überlegungen gewählt. Danach ist die räumliche Längenskala der entstehenden OD-Kolumnen davon abhängig, wann eine homogene Verteilung thalamokortikaler Afferenzen instabil wird. Aufgrund der Annahme, daß bei Schielern diese Instabilitätsschwelle schneller erreicht wird, sollten sie größere OD-Kolumnenabstände entwickeln als normalsichtige Tiere mit einer niedrigeren Instabilitätsschwelle (Löwel und Wolf, 1999). Je früher der Schielwinkel induziert wird, desto größer sollte demnach der Effekt sein. Eine ähnliche Relation wurde bei Rhesusaffen für die Auswirkungen monokularer Deprivation berichtet. Hier kam es zu einer stärkeren Schrumpfung der Domänen des deprivierten Auges im Kortex, je früher (Alter 1-12 Wochen) der monokulare Lidverschluß durchgeführt wurde (Horton und Hocking, 1997). Da sich aber die OD-Kolumnen bei normalsichtigen und schielenden Tieren offenbar gleich schnell entwickeln, wie die Ergebnisse dieser Arbeit nahelegen, sollten die beiden Experimentalgruppen dem Modell zufolge auch die gleichen Kolumnenabstände aufweisen. Eine mögliche Erklärung wäre, daß es eine sensible Phase für die Beeinflussbarkeit der Periodizität des Kolumnenmusters in der Entwicklung des visuellen Kortex gibt, die erst nach 2 Wochen einsetzt und vielleicht auch nur kurz anhält, da sich die maßgebenden Prozesse offenbar auf einer Zeitskala von wenigen Tagen abspielen. Da im Alter von 4 Wochen die funktionellen Kolumnen bereits ausgereift erscheinen, könnte hier das sensible Fenster bereits wieder geschlossen sein. Diese Überlegungen muten jedoch nicht sehr wahrscheinlich an, wenn man bedenkt, daß sich kolumnenähnliche Aktivitätsmuster mit optischen Verfahren bereits mit zwei Wochen detektieren ließen (Crair et al., 1998). Denn ein bereits etabliertes Muster sollte sich theoretisch in seiner geometrischen Organisation, zu der die Periodizität gehört, nur noch schwer verändern lassen.

2. Die zweite und womöglich wahrscheinlichere Erklärung für die widersprüchlichen Ergebnisse beruht auf der Beobachtung, daß die interindividuelle Variabilität der Kolumnenabstände weitaus größer ist als bisher allgemein angenommen. Hierbei könnten genetische Unterschiede einen Einfluß sowohl auf das kolumnäre Muster als auch auf die Empfindlichkeit haben, mit der das visuelle System auf aktivitätsbezogene Faktoren reagiert.

Die in dieser Arbeit vorliegenden Daten zeigen eindeutig die große Spannbreite, mit der OD-Kolumnenabstände bei Katzen vorkommen können. Eine beträchtliche Variabilität wurde auch schon für die OD-Muster optisch abgeleiteter Karten berichtet (Kolumnenbreite von etwa 400-1000 μm bei 13 Tieren; Hübener et al., 1997) und auch bei Makaken ist bereits eine hohe interindividuelle Variabilität in der Periodizität der OD-Kolumnen beschrieben worden (Kolumnenbreite von 395-670 μm bei 6 Tieren; Horton und Hocking, 1996c). Die in der Studie von Löwel (1994) beobachtete Spanne von 500 μm zwischen dem niedrigsten Abstand bei den normalsichtigen Tieren und dem höchsten gemessenen Abstand bei den divergenten Schielern wird in dieser Arbeit allein bei den normalsichtigen Katzen erreicht. Dies deutet darauf hin, daß die einzelnen Experimentalgruppen in der früheren Studie keinen repräsentativen Querschnitt darstellten. Neuere Befunde legen nahe, daß beim Muster der Orientierungskolumnen erbliche Faktoren eine Rolle spielen, da verwandte Tiere ähnlichere Kolumnenabstände zeigen als nicht verwandte Tiere (Löwel et al., 2000a,b). Schaut man nun nach der Zusammensetzung der Experimentalgruppen der früheren Studie, so zeigt sich, daß hier häufig Geschwister aus einem Wurf untersucht wurden. Diese wurden jedoch entweder paarweise schieloperiert oder wuchsen zusammen normalsichtig auf. In der vorliegenden Arbeit wurde daher soweit möglich eine vergleichende Analyse von Geschwisterpaaren aus einem Wurf durchgeführt. Hierfür wurde je ein Tier schieloperiert und ein Geschwistertier zur Kontrolle normalsichtig belassen. Die Einzelbetrachtung der Geschwistertiere (Abb. 3.9) zeigt, daß bei gleichem genetischen Hintergrund die Tiere mit induziertem Schielwinkel keine vergrößerten Abstände in den OD-Kolumnen aufwiesen. Dies war auch unabhängig davon, ob ein, zwei oder vier Wochen zwischen der Induktion des Schielwinkels und der Bestimmung der Abstände vergingen. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind daher ein Indiz dafür, daß Strabismus induziert an P14/15 keinen Einfluß auf den Abstand von Okulardominanzkolumnen hat.

Welche weitere in der Literatur beschriebenen Ergebnisse sprechen für oder gegen diese Schlußfolgerung?

Sengpiel et al. (1998) untersuchten mittels optischen Ableitens intrinsischer Signale an fünf Katzen, inwieweit sich Okulardominanzkarten nach der Induktion eines divergenten Schielwinkels verändern. Bieten invasive Methoden wie die 2-DG-Technik nur die Möglichkeit zu interindividuellen Vergleichen, liegt der Vorteil des optischen Verfahrens darin, daß kortikale Karten zu verschiedenen Zeitpunkten in der Entwicklung bei ein und demselben Tier visualisiert werden können. Dieser Vorteil geht jedoch mit dem Nachteil einher, nur eine sehr kleine kortikale Fläche (max. 20 mm^2) untersuchen zu können. Die fünf Tiere der Studie von Sengpiel et al. (1998) wurden nach dem erstmaligen Ableiten der optischen Karten im Alter zwischen 21 und 29 Tagen schieloperiert und dann im Abstand von 6-19 Tagen weitere 2-4 mal untersucht. Das Muster der OD-Kolumnen veränderte sich dabei über einen Zeitraum von bis zu 6 Wochen kaum. Die Signalstärke nahm zu, Position und Größe der OD-Kolumnen blieben jedoch weitgehend erhalten. Der Vergleich der zu den folgenden Zeitpunkten erzielten optischen Karten mit der jeweils ersten wurde mit Hilfe der Berechnung von

zweidimensionalen Kreuz-Korrelationen durchgeführt. Diese Vergleiche führten über den gesamten Beobachtungszeitraum zu hohen Korrelationskoeffizienten ($> 0,6$) und zeigten dadurch die große Ähnlichkeit der OD-Muster bzw. die Stabilität der OD-Muster über die Zeit.

In Anbetracht der von Löwel (1994) berichteten größeren Kolumnenabstände bei Schielern, vergrößerten Sengpiel et al. (1998) die initialen OD-Karten isotrop zwischen 15% und 30% und berechneten erneut die Korrelationen mit den in den folgenden Wochen erzielten optischen Karten. Für einen Vergrößerungsfaktor von 20% wurden Kreuz-Korrelationskoeffizienten ermittelt, die für vier von fünf Katzen von Versuch zu Versuch zunahmen, so daß die zuletzt aufgenommene Karte in diesen vier Fällen eine stärkere Korrelation mit der expandierten als mit der initialen Karte aufwies, die vor der Induktion des Schielwinkels aufgenommen worden war. Die Autoren deuteten dies als ein Indiz für eine moderate Ausdehnung der OD-Kolumnen, die sie jedoch nicht auf den Strabismus sondern auf ein Wachstum von Area 17 zurückführten (für eine weitergehende Diskussion des Punktes einer möglichen Expansion aufgrund kortikalen Wachstums siehe nächstes Kapitel). Ein Argument, daß Sengpiel et al. (1998) anführen, warum Strabismus die beobachteten Veränderungen des OD-Musters nicht hervorgerufen haben sollte, ist, daß in den Experimenten die Schielwinkelinduktion in der Regel erst zum Ende der vierten Lebenswoche und damit sehr spät in der postnatalen Entwicklung durchgeführt wurde. Zu diesem Zeitpunkt ist das funktionelle Okulardominanzmuster schon so weit entwickelt (Crair et al., 1998; Rathjen und Löwel, 2000), daß es fraglich erscheint, ob dann noch Änderungen an der räumlichen Organisation des bestehenden Musters stattfinden (siehe oben). Insgesamt folgern die Autoren, daß Strabismus ein vorhandenes Okulardominanzmuster nicht verändert (Sengpiel et al., 1998). Einen Effekt durch einen früher induzierten Schielwinkel schließen sie jedoch nicht völlig aus.

In einem Tagungsbeitrag berichten Jones et al. (1996) von Experimenten an normalsichtigen, monokular deprivierten und schielenden Katzen. Sie untersuchten den Abstand von OD-Kolumnen in aufgefalteten Sehrinden nach anatomischer Markierung der thalamokortikalen Afferenzen und fanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Experimentalgruppen. Die detektierten Abstände bezifferten sie insgesamt mit einer Spanne von 927 μm bis 1050 μm .

Unterstützung für die Hypothese einer Beeinflussung des Kolumnenabstandes bei Katzen durch Dekorrelation der Aktivität der Augen kam von einer Untersuchung von Tieman und Tumosa (1997). Hier wurde der Zusammenbruch der Binokularität dadurch erreicht, daß die an sich im Dunkeln aufgezogenen Katzen abwechselnd mit dem linken oder rechten Auge dem Licht ausgesetzt wurden (alternierende monokulare Exposition, AME). Die gemessenen mittleren Kolumnenabstände wurden für normalsichtige Tiere mit 877 μm (Spanne bei 9 Tieren: 830-1030 μm) und für die AME-Katzen mit 979 μm (Spanne bei 21 Tieren: 880-1060 μm) angegeben. Dies entspricht einem Größenunterschied von 11%.

Bei Primaten deuten die bisher publizierten Ergebnisse mehrheitlich daraufhin, daß sich hier die OD-Kolumnenabstände nicht durch dekorrelierte Aktivität der Augen verändern lassen. Experimente an Makaken mit veränderter visueller Erfahrung durch monokulare Deprivation, natürlichen und induzierten konvergenten Strabismus, prismeninduzierten Strabismus oder alternierende monokulare Okklusion wiesen keine veränderten Abstände der OD-Kolumnen gegenüber normalsichtigen Tieren nach (Tychsen und Burkhalter, 1997; Crawford, 1998). Eine Untersuchung an Makaken zeigte außerdem, daß induzierter konvergenter Strabismus keinen Einfluß auf die Abstände von Cytochrom-Oxidase-Blobs in der primären Sehrinde hat (Murphy et al., 1998). In einem Tagungsbeitrag von Roe et al. (1995) wurde jedoch ein vergrößerter OD-Kolumnenabstand (detektiert mit optischem Ableiten) bei Makaken mit anisometrischer Amblyopie (Schwachsichtigkeit eines Auges durch eine -10 Dioptrien-Linse) berichtet. Die Situation bei Totenkopffaffen ist noch nicht eindeutig geklärt. Hier gibt es eine Tendenz zu größeren OD-Kolumnenabständen bei Tieren mit induziertem divergenten Strabismus, die jedoch noch im Rahmen einer auch bei dieser Tierart extremen Variabilität der Abstände liegen könnte. Unterschiede bei Tieren aus verschiedenen Kolonien könnten auch hier auf eine genetische Komponente bei der Variabilität der Abstände hinweisen (Horton et al., 1999; siehe auch Livingstone, 1996; Horton und Hocking, 1996b).

Insgesamt stellt sich die Situation bei Primaten demnach so dar, daß dekorrelierte Binokularität eher keinen Einfluß auf die Abstände von OD-Kolumnen hat. Dies wird mehrheitlich damit begründet, daß die räumliche Organisation des kolumnären Musters bereits pränatal soweit angelegt und fixiert wird, daß visuelle Erfahrung nur noch für die Feinstrukturierung und Aufrechterhaltung neuraler Verbindungen sorgt. Bei Katzen mehren sich die Anzeichen, daß auch hier, trotz der bis in die Zeit nach der Geburt reichenden Ausreifung der OD-Kolumnen, die mittleren Kolumnenabstände vorgegeben sein könnten. Die in dieser Arbeit vorliegende Analyse von Geschwisterpaaren ist eine starke Evidenz dafür, daß Strabismus induziert an P14/15 die Kolumnenabstände unbeeinflusst läßt. Ein unveränderter OD-Kolumnenabstand wäre auch die einfachste Erklärung für den Befund, daß bei schielenden Katzen (schieloperiert an P17/18) die topographischen Beziehungen zwischen Orientierungskarten und OD-Kolumnen unverändert erhalten bleiben (Löwel et al., 1998). Weiterführende Vergleiche zwischen genetisch verwandten Tieren werden zeigen müssen, inwieweit erbliche Komponenten für die beobachtete hohe Variabilität der Muster verantwortlich sind, oder ob nicht doch visuelle Erfahrung in der Lage ist, die Raumkonstanten der Kolumnensysteme zu verändern. Aufgrund der Diskrepanz in den bisher in der Literatur beschriebenen Befunden besteht hier vor allem die Möglichkeit, daß der genaue Zeitpunkt des Einsetzens der modifizierten Seherfahrung entscheidend dafür sein kann, ob aktivitätsabhängige Veränderungen beobachtet werden können.

4.2 Postnatales Wachstum der primären Sehrinde

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß bei Katzen ein deutliches postnatales Wachstum der primären Sehrinde stattfindet. Die Fläche der Area 17 wuchs im Beobachtungszeitraum zwischen Ende der 3. und Ende der 10. Woche von im Mittel 300 mm^2 auf 453 mm^2 und damit um 51%. Mit knapp 75% fand ein Großteil dieses Zuwachses bereits bis zum Ende der 6. Lebenswoche statt, da die Area 17 bei den 6 Wochen alten Tieren im Mittel 412 mm^2 umfaßte (Anstieg um 37%).

Diese Zahlen stehen im Einklang mit kürzlich publizierten Ergebnissen einer anderen Arbeitsgruppe (Duffy et al., 1998). Diese hatte das postnatale Wachstum der Area 17 ebenfalls anhand aufgefalteter visueller Kortices verfolgt. Eine selektive Markierung des Gewebes zur Detektion der Grenzen von Area 17 wurde hier jedoch immunhistochemisch durch Nachweis bestimmter Neurofilamente oder Proteoglykane erreicht. Die Tiere wurden hierfür mit Paraformaldehyd (2%) perfundiert und die Flatmounts zusätzlich nachfixiert. So ermittelten Duffy et al. einen mittleren Zuwachs der primären Sehrindenfläche, der von einwöchigen Tieren (169 mm^2) zu adulten Katzen (392 mm^2) mehr als 100% betrug. Auch sie zeigten, daß ein Großteil dieses Zuwachses bereits bis zum Alter von 6 Wochen stattfindet (Duffy et al., 1998). Die in der vorliegenden Arbeit anhand der 2-DG-Autoradiogramme gemessenen Flächen zeigten insgesamt etwa 15% höhere Werte. Ein genauerer Vergleich wurde jedoch dadurch erschwert, daß bei Duffy et al. (1998) für den von mir untersuchten Zeitraum (3-10 Wochen) nur sechs Werte zum Vergleich zur Verfügung stehen. Die beobachtete Differenz von 15% könnte auf eine Schrumpfung des Hirngewebes durch Perfusion, Nachfixierung und Einbettung in den Versuchen von Duffy et al. (1998) zurückzuführen sein. Zudem setzten Duffy et al. während der Präparation Entlastungsschnitte, um das Gewebe auffalten zu können. Eine genauere Einschätzung dieser Faktoren wird von den Autoren nicht vorgenommen. Da für die 2-DG-Autoradiographie ausschließlich natives Gewebe benutzt wird, sollten die in dieser Arbeit präsentierten Werte der Situation in vivo sehr nahe kommen. Aufgrund von in Einzelfällen nicht immer vollständig aufgefalteten Hemisphären (später auf dem Autoradiogramm zu erkennen) könnten die Werte eher noch leicht unterschätzt sein.

Für die 6 Wochen alten Tiere ergibt sich die Vergleichsmöglichkeit zu einer weiteren Studie. Takács et al. (1992) hatten die Fläche von Area 17 anhand von mit Toluidinblau gefärbten Frontalschnitten rekonstruiert (schrumpfungskorrigiert, jedoch ohne Angabe des Faktors). Die Areae 17 der von ihnen untersuchten 6 Wochen alten Katzen maßen im Mittel (\pm S.D.) $387 \pm 71 \text{ mm}^2$ und waren damit nur etwas kleiner als die in der vorliegenden Arbeit mit $412 \pm 56 \text{ mm}^2$ gemessene Area 17-Flächen.

Duffy et al. (1998) machen zudem darauf aufmerksam, daß sich die Form von Area 17 im Laufe der postnatalen Entwicklung nicht verändert, eine Beobachtung, die sich auch anhand der 2-DG-Autoradiogramme der 3-6 Wochen alten Tiere nachvollziehen läßt. Dies deutet auf eine gleichförmige Ausdehnung der kortikalen Fläche hin. Ein isotropes Wachstum der primären Sehrinden scheint auch bei Ratten und Makaken vorzuliegen.

Bei Ratten liegt die postnatale Zuwachsrate bei etwa 82% (Duffy et al., 1998), während die primäre Sehrinde bei Affen nur um etwa 16-18% nach der Geburt zunimmt (Purves und LaMantia, 1993; Duffy et al., 1998).

Die Wachstumsverhältnisse eines individuellen Tieres können aus Gruppendaten heraus jedoch nicht interpretiert werden. Wie unterschiedlich individuelle Wachstumskurven sein können, verdeutlichen die Ergebnisse der Magnetresonanztomographie, die in Abschnitt 4.3 diskutiert werden.

4.2.1 Einfluß des Wachstums auf die Entwicklung der Okulardominanzkolumnen

Ein derartiges Wachstum in der kritischen Phase des visuellen Kortex, in der die kortikalen Kolumnen und Fasernetzwerke ihre Feinstrukturierung erfahren, wirft die Frage nach dem Einfluß des kortikalen Wachstums auf diesen Prozeß auf. Ein 51%iger Anstieg in der Fläche von Area 17 zwischen der 3. und 10. Lebenswoche entspräche bei einem isotropen Wachstum einem 23%igen Anstieg in linearen Messungen. In der vorliegenden Arbeit war bei den OD-Kolumnenabständen jedoch kein signifikanter Anstieg mit dem Alter zu verzeichnen. Zudem gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Altersstufen. Insgesamt pendelten die mit der Periodenstatistik gemessenen Abstände der OD-Kolumnen um 1 mm. Aufgrund der relativ kleinen Stichprobenumfänge in einem Teil der Altersstufen und der bekannt hohen Variabilität, könnte man argumentieren, daß sich die durch das Flächenwachstum erwartete Vergrößerung der Kolumnenabstände mit mehr Experimenten hätte nachweisen lassen. Dieses kann nicht völlig ausgeschlossen werden. Ein Indiz dafür wäre, wenn innerhalb einer Altersstufe die größeren Sehrinden auch die größeren Kolumnenabstände zeigten. Dies war jedoch nicht der Fall (siehe Abb. 3.12). Zudem ergab ein Vergleich der Schnittanzahl keine gravierenden Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen. Von daher ist es unwahrscheinlich, daß bei der Präparation der Flatmounts das jüngere Hirngewebe stärker komprimiert wurde, was möglicherweise größere Kolumnenabstände hätte erzeugen können.

Die Auswertung mit Hilfe der Wavelet-Transformation als zweitem Analyseverfahren (28 von 34 Hemisphären, siehe 4.1.2) wies ebenfalls keine signifikanten Unterschiede bei den Kolumnenabständen zwischen einzelnen Altersstufen oder mit zunehmendem Alter nach (Rangkorrelationskoeffizient von Spearman: $r_s=0,122$, $p>0,5$).

Die vorliegenden Daten geben daher keinen Hinweis darauf, daß mit dem beachtlichen postnatalen Wachstum von Area 17 auch eine entsprechende Vergrößerung der Abstände der OD-Kolumnen einhergeht. Demnach wäre der mittlere Abstand zwischen den Kolumnen unterschiedlicher Augendominanz ein konstantes räumliches Maß. Unterstützung für die Hypothese eines im Laufe der Entwicklung im wesentlichen stabil bleibenden Kolumnenabstandes kommt aus Untersuchungen zur Entwicklung langreichweitiger intraarealer Verbindungen (Galuske und Singer, 1996). In dieser

Studie konnte gezeigt werden, daß sich der Abstand der diskreten, miteinander reziprok verschalteten Neuronengruppen zwischen dem Ende der zweiten postnatalen Woche und dem Erwachsenenalter nicht signifikant ändert (mittlere Abstände: P12: 937 μm , P21: 894 μm , P26: 928 μm , P50: 933 μm , adult: 824 μm).

Die Konsequenz, die sich aus den stabilen Kolumnenabständen ergibt, ist, daß im Laufe der postnatalen Entwicklung neue Okulardominanzkolumnen zu den bestehenden hinzugefügt werden müssen, um die sich vergrößernde Sehrinde auszufüllen. Das Auftreten neuer Kolumnen kann prinzipiell über zwei Wege erreicht werden: 1. durch die Bildung neuer Kolumnen, oder 2. durch die Segregation bereits vorhandener Kolumnen. Die Bildung gänzlich neuer Kolumnen erscheint jedoch nahezu ausgeschlossen vor dem Hintergrund, daß mit Ende der dritten postnatalen Woche die Neurone im visuellen Kortex ihre Position eingenommen haben, die thalamokortikalen Afferenzen eingewachsen sind und keine Neurogenese mehr stattfindet (LeVay et al., 1978; Luskin und Shatz, 1985b; siehe 1.2). Man geht daher davon aus, daß das kortikale Wachstum mehrheitlich auf einer Elaboration der dendritischen und axonalen Verzweigungen der Neurone und einer verstärkten Myelinisierung beruht (z.B. Haug et al., 1976).

Wie könnte aber eine wachstumsbedingte Expansion und Segregation vorhandener Kolumnen aussehen? Ein solches Szenario würde implizieren, daß große Kolumnen, die kurz vor der Teilung stehen, zusammen mit kleinen Kolumnen auftreten, die sich gerade getrennt haben. Ein Indiz hierfür könnte sein, daß die Variabilität der Größe der diskreten Gruppen im horizontalen Fasernetzwerk zu Beginn sehr hoch ist und im Laufe der Entwicklung abnimmt (Galuske und Singer, 1996). Die aus einer großen Domäne hervorgehenden neuen Kolumnen sollten bei einer Auftrennung die Verbindungen der Ursprungskolumne bewahren. So blieben die bereits etablierten Verschaltungen der thalamokortikalen Afferenzen und des horizontalen Netzwerkes während des Reorganisationsprozesses erhalten.

Läßt sich eine derartige Expansion und Segregation von Kolumnen beobachten? Ein geeignetes Mittel dies zu untersuchen liegt in der wiederholten optischen Ableitung intrinsischer Signale der Sehrinde einer Katze (die Schwierigkeit dabei sollte das Auffinden der exakt gleichen Kortexstelle sein). Die bereits oben diskutierte Studie von Sengpiel et al. (1998) hat dies an schielenden Katzen durchgeführt. Das Muster der OD-Kolumnen änderte sich dabei zwischen Ende der 3. und Ende der 9. Woche nur unwesentlich, was die berechneten Kreuz-Korrelationen belegten (siehe 4.1.2). Es wurden keine neuen OD-Kolumnen beobachtet.

Sengpiel et al. (1998) hatten die initialen OD-Karten isotrop zwischen 15% und 30% vergrößert und die Korrelationen mit den in den folgenden Wochen erzielten optischen Karten erneut berechnet. Für einen Vergrößerungsfaktor von 20% wurden Kreuz-Korrelationskoeffizienten ermittelt, die für vier von fünf Katzen von Versuch zu Versuch zunahmten. Die Autoren deuteten dies als ein Indiz für eine moderate Ausdehnung der OD-Kolumnen, die sie auf das Wachstum von Area 17 zurückführten.

Der Anstieg der Korrelation mit der expandierten Karte war jedoch nicht gleichzeitig mit einer Abnahme der Korrelation mit der unveränderten Karte verbunden. So wurde für zwei von vier Katzen erst im Alter von 7-8 Wochen der jeweils höchste Kreuz-Korrelationskoeffizient mit der unveränderten Karte gemessen (Sengpiel et al., 1998). Da in die Kreuz-Korrelationen die gesamte Charakteristik eines Musters eingeht, erlauben die Ergebnisse keine direkten Rückschlüsse auf die Entwicklung der Abstände der OD-Kolumnen. Ein Argument, daß Sengpiel et al. anführen, warum Strabismus die Veränderungen des OD-Musters nicht hervorgerufen haben sollte, ist, daß eine durch Strabismus hervorgerufene isotrope Expansion außerhalb ihres Zentrums zu weitaus größeren Umstrukturierungen hätte führen müssen, und daß es unwahrscheinlich sei, daß dieses Zentrum genau in dem kleinen, von ihnen abgeleiteten Bereich der Area 17 lag. Gleiches gilt aber auch für eine durch kortikales Wachstum hervorgerufene isotrope Expansion. Die Untersuchung von normalsichtigen Katzen hätte hier weiteren Aufschluß bringen können. Folgendes bleibt daher festzuhalten: 1. In einer postnatalen Phase, in der sich die Area 17 um fast 50% vergrößern sollte, zeigen funktionelle OD-Karten nur geringfügige Veränderungen. 2. Expandierende und sich teilende Kolumnen wurden bisher nicht beobachtet. 3. Die bei einem isotropen Wachstum erwarteten Verschiebungen in den Kolumnen traten nicht auf.

Träfen alle drei Aussagen zu, wäre eine Schlußfolgerung, daß es im Laufe der postnatalen Entwicklung der Area 17 zu räumlichen und/oder zeitlichen Diskontinuitäten im Wachstum kommt, die zusammengenommen die äußere Form der Area 17 nicht entscheidend ändern. Was könnte der zugrundeliegende Mechanismus sein?

Da dem optischen Ableiten nur die hirnoberflächennahen Bereiche der Area 17 zugänglich sind, in denen die zentralen Gesichtsfeldanteile repräsentiert sind, könnte möglicherweise ein Unterschied zwischen den zentralen und parazentralen bzw. peripheren Gesichtsfeldrepräsentationen bestehen. Interessanterweise vergrößert sich das Gesichtsfeld bei Katzen im selben Zeitraum, in dem der Großteil des postnatalen Wachstums der Area 17 stattfindet (Sireteanu und Maurer, 1982). Im Alter von 2 Wochen sind Katzen monokular in der Lage mit Blickwendung auf Stimuli zu reagieren, die bis zu 45° im temporalen und bis zu 15° im nasalen Sehfeld liegen. In den folgenden Wochen verbessert sich die Leistung der Katzen im zentralen Sehfeld und die Peripherie kommt hinzu. Erst im Alter von 6 Wochen erreichen die Katzen die Leistung adulter Tiere und reagieren auf dargebotene Stimuli in einem Bereich von 90° temporal und 45° nasal. Bis zur 8. Woche verbessert sich dann noch etwas die Leistung im nasalen Sehfeld. Der zeitliche Verzug, mit dem sich Katzen visuellen Stimuli in der Peripherie zuwenden, ist keine Folge eines motorischen Defizits, da schon die jüngsten Tiere sich spontan um 90° und mehr wenden können, sondern hervorgerufen durch die postnatale Reifung des visuellen Systems (Sireteanu und Maurer, 1982). Diese Reifung bezieht die Retina, den Colliculus superior (CS) und Projektionen des Kortex mit ein: Die Retina der Katzen ist bei der Geburt unreif und ihre zentralen Regionen reifen vor den peripheren Regionen aus (z.B. Johns et al., 1979). Die zentrale Region ist im Alter

von 4-5 Wochen vollständig entwickelt, aber periphere Rezeptoren erreichen ihre adulte Länge erst in der 9. Woche. Große Sakkaden, die notwendig sind für Blickwendungen in die Peripherie, sind im CS zunächst schwer auszulösen und die adulte motorische Karte ist erst im Alter von 6-8 Wochen entwickelt. Die Projektionen des Kortex aus Schicht V zum CS werden vermutlich erst mehrere Wochen nach der Geburt funktionell aktiv (siehe Sireteanu und Maurer, 1982).

Da sich die peripheren Bereiche des visuellen Systems demzufolge später entwickeln und sich daraus ein zunächst eingeschränktes Gesichtsfeld ergibt, könnte es auch eine zeitlich differenzierte (verzögerte) Entwicklung zwischen zentraler und peripherer Area 17 geben. Dieser Hypothese folgend könnten sich etwa in den ersten 3-4 postnatalen Wochen zunächst die zentralen Bereiche der Area 17 entwickeln und einem stärkeren Wachstum unterliegen als die peripheren Bereiche. Diese würden sich dann entsprechend ihrer Einbindung in das visuelle Geschehen verstärkt in den darauffolgenden Wochen entwickeln und stärker expandieren. Der aktiven Hirnregion würde mehr Raum für die Reorganisation ihrer Verbindungen zur Verfügung gestellt, was der Idee eines aktiven Wachstums entspricht, im Gegensatz zu einem passiven Wachstum, bei dem Anpassungen von Verbindungen nur eine Folge des Hirnwachstums sind (siehe Aboitiz, 1996). In solch einem Szenario könnte räumlich und zeitlich (ohne feste Grenzen) voneinander getrennt die Expansion und Segregation von Kolumnen stattfinden. Aufgrund der früheren Ausreifung der zentralen Bereiche der Area 17, die dem optischen Ableiten zugänglich sind, wäre dieser Ablauf in den bisher untersuchten Zeiträumen nicht zu verfolgen gewesen.

Daß ein derartiges anisotropes Wachstum möglich ist, zeigen Untersuchungen am somatosensorischen Kortex von Ratten, in dem die "Barrels" und "Barrel"-ähnlichen Module stärker wachsen als die sie umgebenden Strukturen oder der somatosensorische Kortex als Ganzes (Riddle et al., 1992). Auch die Addition von Modulen als eine Folge postnatalen Wachstums konnte schon beobachtet werden. Im Bulbus olfactorius von Mäusen werden fortschreitend über die gesamte postnatale Entwicklung hinweg neue Glomeruli (Neuropil-Aggregationen bestehend aus den Axonterminalien der Riechsinneszellen und den apikalen Dendriten der Mitralzellen) gebildet. Diese Situation ist jedoch in soweit verschieden vom Kortex, da hier auf Rezeptorseite Neurogenese eine Rolle spielt (Pomeroy et al., 1990; LaMantia et al., 1992).

Im visuellen Kortex von Makaken hingegen scheint ein anderes Konzept verwirklicht zu sein. Hier nimmt die Dichte der "Blobs" in den Schichten II/III im Laufe der postnatalen Entwicklung um 18% ab, während die Fläche der primären Sehrinde um 16% zunimmt (Purves und LaMantia, 1993). Die Anzahl der Blobs bleibt daher im Laufe der postnatalen Entwicklung weitestgehend konstant, was eine Zunahme des Abstandes der Blobs bedeutet (nicht bestimmt). Bei einem postnatalen Wachstum von 16-18% (Purves und LaMantia, 1993; Duffy et al., 1998) entspricht dies einer linearen Zunahme des Abstandes von nur etwa 8%, vielleicht zu wenig für ein Segregationsszenario. Eine Anisotropie im kortikalen Wachstum war bei den Makaken jedoch zu beobachten: Die

Querschnittsfläche der Blobs nahm um etwa 39% zu und wuchs damit doppelt so stark wie die gesamte primäre Sehrinde (Purves und LaMantia, 1993).

Ob die hier vorgeschlagene zeitliche Differenz in der Entwicklung von Zentrum und Peripherie der primären Sehrinde bei Katzen realisiert ist, müssen weitergehende Untersuchungen zeigen. Hilfreich könnte hierbei die Weiterentwicklung der Verfahren zur Detektion lokaler Unterschiede in den Mustern von Orientierungs- und OD-Kolumnen sein (siehe Kaschube, 2000). Des weiteren sollte die funktionelle Magnetresonanztomographie, mit deren Hilfe es kürzlich erstmals gelungen ist, Orientierungskarten in Area 18 der Katze (jedoch nur in der oberflächennahen und damit zentralen Gesichtsfeldrepräsentation) zu visualisieren (Kim et al., 2000), in absehbarer Zeit die Möglichkeit bieten, Kolumnen innerhalb des gesamten visuellen Kortex darzustellen und ihre Entwicklung in einem Tier über die Zeit zu verfolgen.

4.3 Postnatales Wachstum des Katzenshirns

Die nicht-invasive Magnetresonanztomographie bietet die Möglichkeit, die Gehirnentwicklung eines Individuums über die Zeit in Form einer Longitudinalstudie zu analysieren. In der vorliegenden Arbeit lag der Schwerpunkt auf den ersten 6 Wochen der postnatalen Entwicklung. Während die untersuchten Katzen für die drei Parameter AP-Länge, Hirnvolumen und Oberfläche des Neokortex alle ein substantielles Wachstum zeigten, war bei den individuellen Wachstumsraten eine zum Teil beachtliche Variabilität festzustellen. Die geringsten Unterschiede zeigten sich in der AP-Länge, die für alle vier Tiere relativ gleichmäßig und zwischen der dritten und sechsten Woche im Mittel um 14% anwuchs. Beim Hirnvolumen zeigten sich stärkere Unterschiede vor allem zu Beginn der Messungen in der zweiten postnatalen Woche, die Hirnvolumina der Katzen glichen sich jedoch in den folgenden Wochen immer mehr an. Die Volumina stiegen zwischen der dritten und sechsten Woche etwa um 43%. Beim Parameter Neokortexoberfläche war insgesamt die größte Variabilität zu verzeichnen. Interindividuelle Unterschiede traten hier am stärksten hervor. Im Mittel ergab sich für die Oberfläche des Neokortex der Katzen zwischen der dritten und sechsten postnatalen Woche ein Wachstum von gut 34% (Spanne 30-37%). Die durchschnittliche Zunahme des Hirnvolumens von 43% ließ jedoch auf eine zweidimensionale Steigerung von nur etwa 27% schließen. Dies könnte darauf hindeuten, daß für den Neokortex insgesamt oder zumindest für seine Fläche eine überproportionale Ausdehnung vorliegt. Bei den auch als erwachsene Tiere untersuchten Katzen (C, D) erreichten die neokortikalen Oberflächen im Alter von 6 Wochen bereits ein Niveau, das im Bereich der adulten Werte lag (97,3%, 95,0%). Bei den Parametern AP-Länge (93,1%, 90,2%) und insbesondere Hirnvolumen (85,8%, 87,2%) lagen die Werte jedoch noch unter denen adulter Tiere.

Der Vergleich der Wachstumsentwicklung der neokortikalen Oberfläche mit den für die Flächen der primären Sehrinde ermittelten Werten zeigt, daß hier ein annähernd

paralleler Entwicklungsverlauf vorliegt: Der Anteil der Area 17 an der gesamten neokortikalen Oberfläche liegt durchweg bei etwa 15%. Dies deutet auf eine gleichförmige Ausdehnung von primärer Sehrinde und Hirnrinde hin. Aufgrund der in den MRT-Daten sichtbar gewordenen Variabilität, ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß es bei individuellen Tieren zu Anisotropien in der Entwicklung kommen kann.

Eine Vergleichsmöglichkeit der hier präsentierten Daten ergibt sich durch eine aktuelle Publikation von Villablanca et al. (2000a,b). In dieser Studie wurde das Volumen des Neokortex von Katzen mit Hilfe von Cytochrom-Oxidase-gefärbten Frontalschnitten (natives Gewebe) zu elf verschiedenen Zeitpunkten in der Entwicklung (E59 - adult) untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, daß das Neokortextvolumen relativ schnell zunimmt und zwischen P30 und P45 in den Bereich adulter Werte gelangt. Dies deckt sich mit den Ergebnissen zur neokortikalen Oberfläche in der vorliegenden Arbeit.

Villablanca et al. (2000a) zeigen zusätzlich, daß das neokortikale Volumen ab P45 abnimmt und bei adulten Katzen signifikant niedriger ist als bei Tieren im Alter von 60 und 180 Tagen. Eine derartige Abnahme des Volumens ist bei Primaten einschließlich des Menschen auch schon beschrieben worden (z.B. Jernigan et al., 1991; Pfefferbaum et al., 1994). Da unsere MRT-Messungen an individuellen Tieren andeuten, daß bei der neokortikalen Oberfläche eher ein Plateau erreicht wird, sollte ein Rückgang im Volumen des Neokortex daher vornehmlich auf eine Reduktion in der Schichtdicke der grauen Substanz zurückzuführen sein, wie dies auch bei Primaten angenommen wird (siehe Jernigan et al., 1991; für den visuellen Kortex siehe Takács et al., 1992).

Unsere MRT-Datensätze zeigen, daß es eine leichte Asymmetrie in den Hemisphären gibt. Bei drei Katzen war über den Beobachtungszeitraum konsistent die linke neokortikale Oberfläche größer, bei zwei Katzen war dies konsistent für die Oberfläche der rechten Hemisphäre der Fall. Alle beobachteten neokortikalen Flächenunterschiede lagen jedoch im Mittel unter 2%. Die von Villablanca et al. (2000a) berichtete nicht signifikante Tendenz für eine generell größere rechte Hemisphäre (0,4% bis 3,6% in sieben der elf von ihnen untersuchten Altersstufen) konnte daher in der vorliegenden Arbeit für individuelle Tiere nicht bestätigt werden.

Die Vermessung der Fläche der primären Sehrinde auf den 2-DG-Autoradiogrammen und die Auswertung der MRT-Daten haben gezeigt, daß das Körpergewicht die Größe der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Hirnstrukturen nicht beeinflußt. Diese Schlußfolgerung wird von Villablanca et al. (2000a,b) bestätigt, die ebenfalls keine Korrelation zwischen der Größe des Neokortextvolumens und dem Körpergewicht detektieren konnten.

4.4 Entwicklung langreichweitiger Horizontalverbindungen und der Einfluß visueller Erfahrung

4.4.1 Anzahl und Reichweite von Horizontalverbindungen

Zur Analyse des Layouts und der Selektivität langreichweitiger Horizontalverbindungen wurden Rhodamin- und Fluorescein-gekoppelte Latexmikrosphären in Area 17 injiziert. Die Druckluftapplikation der Tracer führte zu Injektionsstellen, deren Größe mit der Tiefe entlang des Einstichkanals variierte. So lagen die auf den einzelnen Schnitten bestimmten Abmessungen der Injektionsstellen zwischen $150 \mu\text{m} \times 75 \mu\text{m}$ und $700 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m}$. Die Anzahl markierter Zellen pro Schnitt schwankte ebenfalls deutlich. Die Analyse ergab zwischen 9 und 1479 (Median 163) retrograd markierte Neurone. Es zeigte sich, daß die Anzahl der retrograd markierten Zellen mit dem Durchmesser der Injektionsstelle in den ausgewerteten Flatmountschnitten leicht signifikant korrelierte: Eine größere Injektionsstelle führte zu einer größeren Anzahl markierter Neurone. Überraschenderweise zeigte sich, daß die Injektionsdurchmesser bei den 6 Wochen alten Tieren (Mittelwert \pm S.D.: $319 \pm 106 \mu\text{m}$) signifikant größer waren als bei den 4 Wochen alten Tieren ($225 \pm 62 \mu\text{m}$). Wie im Ergebnisteil bereits angesprochen, sind die Gründe hierfür unklar. Eine noch unvollständige Myelinisierung (Haug et al., 1976) und eine geringere Synapsendichte (Cragg, 1975) in jüngerem Hirngewebe sollten eher eine stärkere Durchdringung mit durch Druckluft applizierten Beads ermöglichen. Neben der Senkung des Meniskus in der Injektionskapillare ist eine erfolgreiche Beads-Injektion, die unter optischer Kontrolle durchgeführt wird, am sichtbaren Halo zu erkennen, den der farbige Tracer um die Kapillare herum im Hirngewebe erzeugt. Jüngerer, weniger gefestigtes Hirngewebe ist möglicherweise transparenter und könnte erlauben, diesen Halo früher wahrzunehmen. Daher kann nicht völlig ausgeschlossen werden, daß bei den jüngeren Tieren weniger Druckpulse und damit kleinere Injektionen gesetzt worden sind.

Die Analyse der Experimentalgruppen für die beiden Alterstufen zeigte, daß es (trotz größerer Injektionsstellen) eine generelle Tendenz zur Abnahme der Anzahl markierter Neurone von der vierten zur sechsten Postnatalwoche gab. Bei den normalsichtigen Tieren verringerte sich die Anzahl Beads-markierter Neurone (immer Mittelwert \pm S.D.) unsignifikant von 331 ± 226 im Alter von vier Wochen auf 250 ± 160 im Alter von sechs Wochen. Dies könnte auf die postnatale Ausreifung des diskreten Netzwerkes der Horizontalverbindungen zurückzuführen sein (Luhmann et al., 1986, 1990; Callaway und Katz, 1990; Galuske und Singer, 1996): Der zum Gruppierungsprozess der Horizontalverbindungen beitragende Abbau von Verbindungen zu Zellen außerhalb der späteren diskreten Gruppen führt zu einer Abnahme der retrograd markierbaren Neurone. Der gleichzeitige progressive Vorgang des Aufbaus weiterer Axonverzweigungen innerhalb einer Gruppe erhöht dagegen nicht zwangsläufig die Anzahl markierter Neurone, da nicht detektiert werden kann, ob eine Zelle über ein oder mehrere Axonkollaterale markiert wurde (siehe Callaway und Katz, 1990). Daß der

Abbau von Axonkollateralen bis zum Ende der vierten postnatalen Woche mehrheitlich abgeschlossen ist (Callaway und Katz, 1990; Galuske und Singer, 1996), ist eine plausible Erklärung dafür, daß die Abnahme der markierten Neurone von der vierten zur sechsten Postnatalwoche bei den normalsichtigen Tieren nicht signifikant war. Bei den schielenden Tieren zeigte sich hingegen eine signifikante Abnahme der markierten Neurone von 280 ± 328 (PW 4) auf 103 ± 68 (PW 6). In primären Sehrinden schielender Katzen existieren demnach im Alter von sechs Wochen nur etwa halb so viele Horizontalverbindungen wie bei normalsichtigen Tieren. Der Unterschied ist hoch signifikant. Dieser Befund ist ein Indiz dafür, daß bei divergenten Schielern im Laufe der postnatalen Entwicklung und insbesondere nach der vierten Woche langreichweitige Horizontalverbindungen abgebaut werden.

Eine Korrelation zwischen der maximalen Distanz, mit der ein Beads-markiertes Neuron in Area 17 detektiert werden konnte und der Größe des Injektionsdurchmessers zeigte sich nur für die 6 Wochen alten Tiere (Rangkorrelationskoeffizient von Spearman: $r_s=0,633$, $p<0,0001$). Eine mögliche Erklärung hierfür könnte in den signifikant größeren Injektionsstellen der sechswöchigen Tiere zu suchen sein. Mit der Größenzunahme des Injektionsdurchmessers könnte die Wahrscheinlichkeit überproportional steigen, mit der im Bereich der Injektionsstelle auch eine Axonendigung eines der wenigen, sehr weit projizierenden Neurone liegt. Diese würden dann häufiger retrograd markiert. In der vorliegenden Arbeit konnten insgesamt maximale Distanzen bis 8,5 mm detektiert werden. Dies deckt sich mit Ergebnissen der Studie von Galuske und Singer (1996), in der gezeigt werden konnte, daß die maximale Projektionslänge der Pyramidenzellen in Area 17 bis zum Ende der vierten Woche zunimmt, um dann bis zum Erwachsenenalter bei konstant 8 mm zu liegen. Diese Reichweite wird auch durch intrazelluläre Füllungen einzelner Neurone in vivo bestätigt (z.B. Gilbert und Wiesel, 1983; Martin und Whitteridge, 1984). Die Häufigkeit dieser 8 mm weit reichenden Fasern könnte allerdings mit zunehmendem Alter herabgesetzt sein (Galuske und Singer, 1996). Diese Annahme könnte erklären, warum in dieser Arbeit bei den 6 Wochen alten Tieren nur noch maximale Distanzen bis 6 mm detektiert werden konnten. Neben der geringen Wahrscheinlichkeit, eines der sehr weit projizierenden Neurone zu markieren, ist wiederum die Variabilität zwischen den Tieren zu berücksichtigen. Dies könnte unter anderem erklären, warum andere Studien abweichende maximale Projektionslängen beobachtet haben (4,5 mm: Callaway und Katz, 1990; Lübke und Albus, 1992; 10,5 mm: Luhmann et al., 1990; für eine Diskussion methodischer Differenzen in den Studien siehe Galuske und Singer, 1996).

Die Analyse der Experimentalgruppen für die beiden Alterstufen zeigte, daß sich die maximale Distanz markierter Neurone (immer Mittelwert \pm S.D.) bei den normalsichtigen Tieren von $4,0 \pm 1,8$ mm (PW4) auf $4,1 \pm 1,0$ mm (PW6) nicht signifikant änderte. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit früheren Studien, in denen ebenfalls beobachtet wurde, daß sich die Reichweite der Horizontalverbindungen spätestens ab der vierten Woche nicht mehr ändert (Callaway und Katz, 1990; Lübke und Albus, 1992; Galuske und Singer, 1996).

Bei den schielenden Tieren wiederum zeigte sich eine hoch signifikante Abnahme der maximalen Distanz von $4,5 \pm 1,7$ mm (PW4) auf $2,6 \pm 1,3$ mm (PW6). Die schielenden Katzen zeigten demnach im Alter von sechs Wochen eine im Mittel um etwa 37% geringere maximale Reichweite der Horizontalverbindungen gegenüber den normalsichtigen Tieren. Der Unterschied ist hoch signifikant. Dieser Befund weist darauf hin, daß bei divergenten Schielern im Laufe der postnatalen Entwicklung und insbesondere nach der vierten Woche die maximale Projektionslänge der langreichweitigen Horizontalverbindungen verringert wird.

Die Studie von Galuske und Singer (1996) legt nahe, daß es Unterschiede in der Ausprägung der langreichweitigen Horizontalverbindungen zwischen den supragranulären Schichten II/III und der Schicht IV gibt (siehe auch Luhmann et al., 1990). Dies betrifft zum einen die Häufigkeit von Horizontalverbindungen, die niedriger in Schicht IV ist, als auch die Projektionslänge der Neurone. Im Gegensatz zu den Pyramidenzellen konnten Galuske und Singer (1996) für die bedornten Sternzellen in Schicht IV nur axonale Reichweiten von maximal 4,5 mm detektieren. In der vorliegenden Arbeit fanden sich vergleichbare Tendenzen. Mit 5 mm lag die maximale Projektionslänge eines Neurons in Schicht IV ebenfalls deutlich unter den in den supragranulären Schichten beobachteten Reichweiten von bis zu 8,5 mm. Die Unterschiede zwischen den Schichten waren jedoch sowohl für die Anzahl als auch die Reichweite der Horizontalverbindungen nicht signifikant. Da der Schwerpunkt der Analyse auf den supragranulären Schichten lag, stammte allerdings mit etwa 25% der wesentlich geringere Teil der untersuchten Flatmountschnitte aus Schicht IV.

Die Art der fluoreszierenden Latexmikrosphären hatte keinen Einfluß auf die Anzahl und die maximale Distanz der markierten Neurone. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den roten mit Rhodamin und den grünen mit Fluorescein gekoppelten Beads. Dies sollte früheren Tests mit Doppelmarkierungen zufolge auch ausgeschlossen sein (Katz und Iarovici, 1990).

Geben die Daten zu den Horizontalverbindungen Aufschluß über die Dynamik des postnatalen Wachstums der Area 17? Da die Horizontalverbindungen postnatal eine kolumnenähnliche Organisationsstruktur entwickeln, sind die Projektionslängen und die Abstände der diskreten Gruppen wie bei den OD-Kolumnen als Indikatoren für Wachstumsvorgänge anzusehen. Die in dieser und in anderen Studien beobachtete unveränderte maximale Projektionslänge spätestens ab der vierten Lebenswoche könnte für die Addition von Kolumnen unter Beibehaltung des Kolumnenabstandes durch Segregation sprechen. Dies ist jedoch nur ein schwaches Indiz, da eine konstante maximale Reichweite nicht unbedingt bedeutet, daß sich die mittlere Reichweite nicht vergrößert haben kann. Dies wäre zu erwarten, wenn sich die Horizontalverbindungen durch Verlängerung der Axone einem expandierenden Kortex anpaßten. Die mittlere Reichweite ist jedoch in dieser und anderen Arbeiten bisher nicht bestimmt worden. Der Abstand der diskreten Gruppen im horizontalen Fasernetzwerk ist jedoch in den meisten Studien untersucht worden. Deren Ergebnisse zeigen überwiegend, daß sich die

Distanzen zwischen den diskreten Gruppen ab der zweiten postnatalen Woche bis zum Erwachsenenalter nicht mehr ändern. Der Abstand wurde einheitlich mit etwa 800 μm bis 1000 μm angegeben (Callaway und Katz, 1990: etwa 1 mm; Lübke und Albus, 1992: 800-1000 μm ; Galuske und Singer, 1996: 824-937 μm). Dieses würde für ein Segregationsszenario sprechen, in dem der Abstand zwischen Kolumnen weitestgehend beibehalten wird. In der Studie von Luhmann et al. (1990) wurden hingegen mit zunehmendem Alter auch zunehmende Gruppenabstände von 500 μm auf 1050 μm beschrieben. Die Autoren erwähnen hierbei ausdrücklich die beobachtete hohe Variabilität bei den untersuchten fünf adulten Katzen. Hier wurden Gruppenabstände von 810-1330 μm ermittelt. Interindividuelle Unterschiede und genetische Komponenten könnten also auch bei der Längenskala der Horizontalverbindungen eine Rolle spielen. Die Entwicklung neuer Auswerterroutinen zur Analyse aller Projektionslängen und Gruppenabstände könnte weiteren Aufschluß über die wachstumsbedingte Reorganisation der Horizontalverbindungen ermöglichen.

4.4.2 Selektivität von Horizontalverbindungen

Die globale Verschaltungselektivität der Horizontalverbindungen wurde anhand der topographischen Beziehung der retrograd markierten Neurone zum Okulardominanzmuster analysiert. Hierzu mußte zunächst die Augendominanzselektivität der Injektionen ermittelt werden. Diese wurde anhand der retrograd markierten Neurone in den augenspezifischen Schichten des CGL quantifiziert. Die Berechnung der CGL-Indices für die 17 analysierten Injektionen ergab sehr unterschiedliche Augendominanzselektivitäten. Die Beads waren zu 50% bis 88,2% in eine vom linken bzw. rechten Auge dominierte Kolumne injiziert worden.

Die Quantifizierung der Lage der retrograd markierten Zellen in Area 17 mit Hilfe des Kortex-Index ergab, daß bei den normalsichtigen Katzen im Mittel 52,4% aller markierten Neurone in Kolumnen der gleichen Augendominanz wie die Injektionsstellen lagen. Bei den Schielern lag dieser Anteil im Mittel bei 63,4%. Der Unterschied im Kortex-Index zwischen normalsichtigen und schielenden Katzen ist bei dieser Zusammenfassung der Altersstufen signifikant. Aufgrund der großen Unterschiede in der Selektivität der Injektionen läßt der Kortex-Index eine genauere Analyse der einzelnen Altersstufen jedoch nicht zu. Daher wurde zur eingehenderen Beurteilung der Augendominanzselektivität der Horizontalverbindungen zusätzlich ein Selektivitätsindex definiert und berechnet.

Die Analyse der Experimentalgruppen für die beiden Alterstufen zeigte, daß der Selektivitätsindex (immer Mittelwert \pm S.D.) bei den normalsichtigen Tieren von $0,863 \pm 0,066$ (PW4) auf $0,832 \pm 0,059$ (PW6) sank. Bei den schielenden Tieren hingegen stieg der Selektivitätsindex von $0,930 \pm 0,038$ (PW4) auf $0,964 \pm 0,062$ (PW6) an, so daß der Unterschied zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren im Alter von sechs Wochen signifikant war. Faßte man auch für den Selektivitätsindex die

Altersstufen zusammen, so zeigte sich, daß die Verteilung der Werte bei den normalsichtigen Tieren sich nicht von der erwarteten Verteilung für eine zufällige Verschaltung unterschied. Horizontalverbindungen von normalsichtigen Katzen zeigen daher keine Augendominanzselektivität. Bei den schielenden Tieren hingegen unterschied sich die Verteilung der Werte für den Selektivitätsindex signifikant von der erwarteten Verteilung für eine zufällige Verschaltung. Horizontalverbindungen von divergent schielenden Katzen sind daher augendominanzselektiv.

Bei der Berechnung der CGL-Indices wurde außer Acht gelassen, daß die anatomische Segregation der thalamokortikalen Afferenzen zumindest im Alter von 4 Wochen noch nicht abgeschlossen ist (LeVay et al., 1978). Dies würde bedeuten, daß selbst bei einer hoch selektiven Injektion in eine funktionelle OD-Kolumne retrograd markierte Zellen in beiden A-Schichten des CGL zu finden wären. Die Konsequenz daraus ist, daß die berechneten CGL-Indices zumindest für die vierwöchigen Tiere eher unterschätzt wurden. Dies könnte auch erklären, warum bei zwei vierwöchigen Schielern der Kortex-Index größer als der CGL-Index war (siehe Abb. 3.31). Eine leichte Erhöhung der CGL-Indices für alle vierwöchigen Tiere würde den Unterschied zwischen normalsichtigen und schielenden Tieren im Selektivitätsindex jedoch nur verstärken, so daß das Ergebnis der augendominanzselektiven Verschaltung bei divergenten Schielern davon unberührt bliebe.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen somit, daß langreichweitige Horizontalverbindungen in der primären Sehrinde von normalsichtigen Katzen Neurone unterschiedlicher Augendominanz verbinden. Bei divergent schielenden Katzen bildet sich hingegen eine zunehmende Präferenz für Verschaltungen korreliert aktiver Neurone der gleichen Augendominanz im Laufe der postnatalen Entwicklung heraus. Dies wird offensichtlich durch den selektiven Abbau bestimmter Horizontalverbindungen erreicht. Dabei scheinen vor allem die längsten Projektionen abgebaut zu werden. Die regressiven Prozesse, die zur Reduktion der Horizontalverbindungen führen, vollziehen sich wahrscheinlich über einen Zeitraum von mehreren Wochen, da sich sowohl in der Anzahl, der Reichweite als auch der Selektivität der Horizontalverbindungen signifikante Unterschiede zu den normalsichtigen Tieren erst vier Wochen nach der Induktion des Schielwinkels und damit im Alter von sechs Wochen detektieren ließen.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen den früheren Befund der erfahrungsabhängigen Selektion der Horizontalverbindungen von Löwel und Singer (1992) und ergänzen ihn hinsichtlich der zeitlichen Dynamik. Die selektive Stabilisierung von Verbindungen zwischen Neuronen der gleichen Augendominanz bei schielenden Tieren legt nahe, daß korrelierte Aktivität ein entscheidendes Selektionskriterium bei der Auswahl der adäquaten Verbindungen aus der Vielfalt des zunächst bestehenden Fasernetzwerkes ist. Damit wird die Hypothese unterstützt, daß die Stärke intrinsischer Verbindungen die Häufigkeit widerspiegelt, mit der die verbundenen Neurone gleichzeitig aktiv waren: Während der postnatalen Entwicklung werden Verbindungen zwischen Neuronen, die korreliert aktiv sind (und bei einer schielenden Katze demnach vom gleichen Auge

dominiert werden) stabilisiert, während Verbindungen zwischen Neuronen, die nie gleichzeitig aktiv sind, abgebaut werden. Fehlt jegliche Aktivität, wie Experimente mit Tetrodotoxin am visuellen Kortex von Frettchen zeigen, bleibt die Selektion der Horizontalverbindungen in Area 17 aus und die Bildung von diskreten Gruppen findet nicht statt (Ruthazer und Stryker, 1996). Ein derartiger erfahrungsabhängiger Selektionsmechanismus für intraareale Verbindungen ähnelt daher demjenigen, der basierend auf den Hebb'schen Postulaten schon für die Entwicklung der thalamokortikalen Afferenzen bei der Formierung der Okulardominanzkolumnen beschrieben worden ist (z.B Goodman und Shatz, 1993; siehe 1.3.2).

Wie ist der bei schielenden Katzen beobachtete Entwicklungsverlauf der Horizontalverbindungen einzuschätzen? Betrachtet man die Entwicklung der Horizontalverbindungen bei normalsichtigen Katzen, so entsteht die Selektivität der Verknüpfung, wie sie in Form von diskreten Gruppen von Axonendigungen im adulten Tier sichtbar wird, mehrheitlich bis zum Ende der vierten Woche (Callaway und Katz, 1990; Galuske und Singer, 1996). In diesem erfahrungsabhängigen Prozeß, der Ende der zweiten Woche beginnt, wird also der größte Teil der inadäquaten Axonkollateralen abgebaut. Dies ist ein Zeitraum von gut zwei Wochen. Die Induktion des Schielwinkels an P14/15, und damit kurz nach Öffnen der Augen, fällt fast mit dem Beginn der Selektionsphase zusammen. Nun hätte man vermuten können, daß in dieser Phase bei den nun schielenden Tieren die nicht mehr adäquaten Verbindungen zwischen verschiedenen OD-Kolumnen gleich mit abgebaut werden. Dies scheint jedoch nur in begrenztem Umfang zu geschehen, da im Alter von vier Wochen noch keine signifikanten Unterschiede zwischen schielenden und normalsichtigen Tieren beobachtet werden konnten. Die Mehrzahl der Horizontalverbindungen zu den "falschen" OD-Kolumnen wird scheinbar erst in den folgenden zwei Wochen abgebaut. Worin könnte diese Verzögerung begründet sein? Schaut man auf das Ausmaß des Verbindungsabbaus bei den schielenden Tieren, so kann die Dekorrelation der Binokularität den Verlust der Hälfte der Verbindungen bedeuten. Aufgrund der engen Beziehung zwischen Horizontalverbindungen und Orientierungskolumnen (Kisvárdy et al., 1997; Schmidt et al., 1997b; Übersicht bei Schmidt und Löwel, 2000) bedeutet dies aber auch, daß Verbindungen zwischen Zellen abgebaut werden müssen, die die gleiche Orientierungsselektivität besitzen. Diese Tatsache könnte verhindern, daß orientierungsselektive Verbindungen sofort abgebaut werden, und die beobachtete Verzögerung hervorrufen. Letztlich sind die bei den divergent schielenden Katzen überdauernden Horizontalverbindungen sowohl orientierungsselektiv als auch augendominanzselektiv (Schmidt et al., 1997b).

Da künstlich induzierter Strabismus an Tag P14/15 oder P17/18 (Löwel und Singer, 1992) in beiden Fällen zu einer selektiven Stabilisierung von Horizontalverbindungen korreliert aktiver Neurone in Area 17 führt, scheint demnach für diesen Aspekt der erfahrungsabhängigen Hirnentwicklung der genaue Zeitpunkt des Beginns der modifizierten Seherfahrung von untergeordneter Bedeutung zu sein.

4.5 Zusammenhänge in der Entwicklung von langreichweitigen Horizontalverbindungen und Okulardominanzkolumnen

Die Repräsentation der beiden Augen und das Netzwerk der langreichweitigen Horizontalverbindungen im primären visuellen Kortex bei Katzen teilen die gleiche auffällige kolumnäre Organisation. Die charakteristischen Abstände der Kolumnen liegen in beiden Fällen bei etwa 1 mm, so daß sich die Frage stellt, inwieweit die beiden Systeme sich in ihrer Entwicklung gegenseitig beeinflussen. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß Okulardominanzkolumnen funktionell erstmals im Alter von 3 Wochen in der gesamten Area 17 darstellbar waren. Bereits mit 4 Wochen war das kolumnäre Muster dem erwachsener Tiere vergleichbar und damit zu einem Zeitpunkt, an dem die Segregation der thalamokortikalen Afferenzen noch nicht beendet ist. Dies führte zu der Schlußfolgerung, daß räumlich strukturierte intrakortikale Aktivitätsmuster die anatomische Segregation leiten können (Rathjen und Löwel, 2000). Betrachtet man den zeitlichen Ablauf der Ausreifung des Systems der intraarealen Projektionen, so stellt man fest, daß eine grobe Gruppierung der Horizontalverbindungen bereits in der zweiten postnatalen Woche stattfindet (Callaway und Katz, 1990; Luhmann et al., 1990; Galuske und Singer, 1996). Das räumlich strukturierte Aktivitätsmuster, welches die OD-Kolumnenbildung zu leiten vermag, könnte daher von Horizontalverbindungen mit geprägt sein. Da die Horizontalverbindungen in der frühen postnatalen Entwicklung jedoch nicht OD-selektiv sind, können sie nicht direkt als Vorlage für die Segregation der thalamokortikalen Afferenzen dienen.

Die frühe Gruppenbildung der Horizontalverbindungen findet möglicherweise aber auch noch vor der Bildung der Orientierungspräferenzkarten statt (Crair et al., 1998), so daß sie deren Entwicklung mitbestimmen könnte (siehe Shouval et al., 2000). Zumindest legt die zeitlich enge Korrelation zwischen Gruppenbildung der Horizontalverbindungen und Erscheinung neuronaler Orientierungsselektivität (z.B. Hubel und Wiesel, 1963b) eine kooperative Entwicklung der beiden Eigenschaften nahe. Beide werden möglicherweise durch Spontanaktivitätsmuster im visuellen Kortex generiert (siehe Chiu und Weliky, 2000), da retinale Aktivitätsmuster hierfür nicht essentiell zu sein scheinen (Ruthazer und Stryker, 1996; Weliky und Katz, 1997). Die strukturierten Aktivitätsmuster des Horizontalverbindungsnetzwerkes und der orientierungsselektiven Neurone könnten so das flexible Gerüst darstellen, in dem sich die thalamokortikalen Afferenzen arrangieren. Unterstützung für eine derartige Hypothese kommt aus Experimenten mit wechselnder monokularer Deprivation: Hierbei werden die kortikalen Neurone von den Afferenzen des zunächst deprivierten Auge getrennt (Antonini und Stryker, 1993a), um dann bei der Umkehrung (Wiederöffnen des zunächst geschlossenen Auges bei gleichzeitigem Verschluss des zunächst offenen Auges) wieder mit diesen verbunden zu werden. Während dieses Übergangs durchlaufen die Zellen eine Phase, in der sie auf Stimulation keines der beiden Augen antworten. Nach erneuter Verbindung mit dem wieder geöffneten Auge zeigen die Neurone die gleiche Orientierungspräferenz wie zuvor (Mioche und Singer, 1989). Dieser Verlauf läßt vermuten, daß die Orientierungspräferenz kortikaler Neurone durch intrakortikale

Interaktionen determiniert ist und daß die selektive Anbindung passender thalamokortikaler Afferenzen, die dann auch zur Bildung der OD-Kolumnen führt, aktivitätsabhängigen Prozessen unterliegt (siehe auch Schmidt et al., 1999).

Sowohl die Orientierungspräferenzkarten als auch die groben Gruppierungen der Horizontalverbindungen scheinen auch über den Zeitpunkt des Augenöffnens hinaus zunächst noch unabhängig von visueller Erfahrung zu sein (Callaway und Katz, 1991; Crair et al., 1998), was dazu dienen könnte, daß sich die Peripherie des visuellen Systems in der Zeit noch ausreichend entwickeln kann, bevor es zu erfahrungsabhängigen Remodellierungen kommt. Setzt dann aber strukturierte visuelle Erfahrung nicht zum Ende der vierten postnatalen Lebenswoche ein, verschlechtern sich die Orientierungspräferenzkarten und intraareale Axone verkümmern (Crair et al., 1998; Zufferey et al., 1999). Visuelle Erfahrung ist demnach essentiell wichtig als Bestätigung des intrakortikal angelegten Musters und zu dessen Anpassung an funktionelle Gegebenheiten. Ein gutes Beispiel hierfür ist die in dieser Arbeit dokumentierte Entwicklung der Horizontalverbindungen nach früher Induktion eines Schielwinkels. Aufgrund der eintretenden Dekorrelation der Aktivitäten der beiden Augen werden die zunächst etablierten Horizontalverbindungen zwischen Neuronen unterschiedlicher Augendominanz abgebaut, so daß die Verschaltungen bei schielenden Tieren zusätzlich zur Orientierungsselektivität Augendominanzselektivität entwickeln.

Wenn visuelle Erfahrung das angelegte Muster der Orientierungskarten und Horizontalverbindungen konsolidiert und die noch proliferierenden Verbindungen nach funktionellen Bedürfnissen spezifiziert, dann könnte solch ein Prozeß auch an der Reorganisation der Schaltkreise nach der Implementierung neuer, durch kortikales Wachstum bedingter Kolumnen beteiligt sein (Schmidt et al., 1999). Falls Erfahrung tatsächlich dazu dient, eine derartige Integration neuer Verbindungen in das bestehende Netzwerk zu organisieren, könnte dies erklären, warum die zunächst etablierten kortikalen Karten unter anhaltender binokularer Deprivation zunehmend schlechter werden: Die durch die Deprivation fehlende visuelle Erfahrung würde die notwendige Reorganisation verhindern und so die Funktionalität des Systems beeinträchtigen.

Aus dem Zusammenspiel verschiedener funktioneller Karten ergibt sich eine weitere mögliche Erklärung, warum sich die OD-Kolumnenabstände von etwa 1 mm trotz einer beachtlichen wachstumsbedingten Größenzunahme der Area 17 im Laufe der postnatalen Entwicklung nicht wesentlich ändern sollten. Zur Augendominanz kommen weitere differenzierte Antworteigenschaften von Sehrindenneuronen z.B. für die Orientierung oder die Ortsfrequenz hinzu, die jede für sich eine kontinuierliche, periodische Karte auf der Oberfläche des visuellen Kortex bilden. Zusammen mit der topographischen Abbildung des Gesichtsfeldes existiert so eine Vielzahl von überlagerten periodischen Karten, in die jedes Neuron eingebettet ist. Um an jedem Punkt des Gesichtsfeldes jedes Merkmal gleich gut wahrnehmen zu können, muß sicher gestellt sein, daß an jeder Stelle des abgebildeten Gesichtsfeldes in Area 17 die gleiche Anzahl von Neuronen mit allen Kombinationen von Antworteigenschaften vertreten ist.

Um dies zu gewährleisten sollte im visuellen Kortex ein optimales Arrangement funktioneller Karten existieren. Neue Berechnungen zeigen nun, daß im visuellen Kortex von Katzen tatsächlich eine optimale Deckung dieser Karten realisiert zu sein scheint (Swindale et al., 2000). Ein Verschieben oder Rotieren einer der durch optisches Ableiten erzielten Karten führt zu einer Verschlechterung des Deckungsgrades. Es wäre interessant zu wissen, ob auch Verschiebungen durch eine isotrope Expansion in allen Karten zu einem verschlechterten Deckungsgrad führten. In diesem Fall könnte die Beibehaltung eines festen Abstandes durch Einfügen neuer Kolumnen während des kortikalen Wachstums erforderlich sein, um die funktionellen Karten in Deckung zu halten und dadurch eine gleichmäßige Wahrnehmung über das gesamte Gesichtsfeld zu gewährleisten.

Diese Arbeit leistet einen Beitrag zum Verständnis der Dynamik der Entstehung kolumnärer Systeme in der primären Sehrinde von Katzen. Im Mittelpunkt stand die Untersuchung des Einflusses des kortikalen Wachstums und der visuellen Erfahrung auf die postnatale Ausreifung der Okulardominanzkolumnen und des horizontalen Fasernetzwerkes. Die vorliegende Arbeit dokumentiert die hohe interindividuelle Variabilität in der Ausprägung der untersuchten Strukturen. Für eine noch differenziertere Betrachtung einer wachstumsbedingten oder erfahrungsabhängigen Reorganisation der kolumnären Systeme wird es daher notwendig sein, nicht-invasive Verfahren weiterzuentwickeln, die es ermöglichen, diese Reorganisation in einem Tier über die Zeit zu verfolgen.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der postnatalen Entwicklung der primären Sehrinde von Katzen anhand der Ausreifung funktioneller Okulardominanzkolumnen und des Netzwerkes langreichweitiger intraarealer Faserverbindungen. Besondere Berücksichtigung fand dabei der Einfluß visueller Erfahrung und das postnatale Wachstum des Gehirns. Mit Hilfe der 2-Deoxyglukose-Autoradiographie konnten in der primären Sehrinde funktionelle Okulardominanzkolumnen im Alter von drei Wochen visualisiert werden. Im Alter von vier Wochen zeigte das kolumnäre Muster bereits seine adulte Ausprägung und damit zu einem Zeitpunkt, an dem die thalamokortikalen Afferenzen in der Eingangsschicht der primären Sehrinde noch überlappen. Aus diesen Befunden wurde geschlossen, daß räumlich strukturierte Aktivitätsmuster in der Sehrinde in der Lage sind, die anatomische Segregation der Afferenzen zu leiten. Ein früh induzierter Schielwinkel hatte keinen Einfluß auf die Kinetik der Kolumnenentwicklung. Entgegen früherer Befunde waren auch die Kolumnenabstände bei schielenden Tieren nicht verändert. Hierfür könnten eine hohe Variabilität bedingt durch genetische Komponenten oder der genaue Zeitpunkt des Einsetzens der modifizierten Seherfahrung verantwortlich sein. Die primäre Sehrinde von Katzen zeigt ein beachtliches Wachstum nach der Geburt. Zwischen der dritten und zehnten postnatalen Woche konnte eine mittlere Zunahme der Fläche der primären Sehrinde von 51% beobachtet werden. Knapp 75% dieses Zuwachses fanden dabei bereits bis zur sechsten Lebenswoche statt. Im gleichen Zeitraum änderte sich jedoch der Abstand der Okulardominanzkolumnen nicht. Es wird ein Modell vorgeschlagen, in dem durch die Segregation vorhandener Kolumnen neue Module entstehen, um die sich vergrößernde kortikale Fläche auszufüllen. Mit Hilfe der Magnetresonanztomographie konnte erstmals das postnatale Wachstum des Katzengehirns in einer Longitudinalstudie untersucht werden. Hierbei zeigte sich vor allem in der neokortikalen Oberfläche eine hohe interindividuelle Variabilität. Ein Vergleich mit den Messungen der primären Sehrinde zeigte, daß diese im Laufe der postnatalen Entwicklung durchgehend einen Anteil von etwa 15% an der Oberfläche des Neokortex hat.

Mit einer Kombination aus 2-Deoxyglukose-Autoradiographie und der Injektion fluoreszierender Latexmikrosphären wurde das Layout und die Selektivität langreichweitiger Horizontalverbindungen in der primären Sehrinde von vier und sechs Wochen alten Tieren analysiert und der Einfluß eines früh induzierten Schielwinkels untersucht. Die Ergebnisse zeigen, daß Horizontalverbindungen in der primären Sehrinde von normalsichtigen Katzen Neurone unterschiedlicher Augendominanz verbinden. Bei schielenden Katzen hingegen entwickelt sich eine Augendominanzselektivität durch den selektiven Abbau von Horizontalverbindungen. Dabei handelt es sich vermutlich um einen mehrwöchigen Prozeß, da sich sowohl in der Anzahl, der Reichweite als auch der Selektivität signifikante Unterschiede zu normalsichtigen Tieren erst im Alter von sechs Wochen detektieren ließen.

6. Abkürzungsverzeichnis

A	anterior
Abb.	Abbildung
AME	alternierende monokulare Exposition
AP-Länge	maximale anteroposteriore Ausdehnung des Telencephalons
Beads	Latexmikrosphären (rot: Rhodamin-gekoppelt, grün: Fluorescein-gekoppelt)
CGL	Corpus geniculatum laterale
CS	Colliculus superior
D	dorsal
2-DG	2-Deoxyglukose
E	Embryonaltag
GABA	γ -Aminobutyrat
L	lateral
M	medial
MDEFT	Modified Driven Equilibrium Fourier Tomography
MRT	Magnetresonanztomographie
OD	Okulardominanz
P	posterior / Postnataltag
PE	Polyethylen
PW	Postnatalwoche
RARE	Rapid Acquisition with Refocussed Echoes
S.D.	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TE	Echozeit
TR	Repetitionzeit
V	ventral

SI-Einheiten wurden mit den üblichen Symbolen benutzt

7. Literaturverzeichnis

- ABOITIZ, F. (1996) Does bigger mean better? Evolutionary determinants of brain size and structure. *Brain Behav. Evol.* **47**: 225-245.
- AHMED, B., ANDERSON, J.C., DOUGLAS, R.J., MARTIN, K.A.C. UND NELSON, J.C. (1994) The polyneuronal innervation of spiny stellate neurons in cat visual cortex. *J. Comp. Neurol.* **341**: 39-49.
- ALLMAN, J., MIEZIN, F. UND MCGUINNESS, E. (1985) Stimulus specific responses from beyond the classical receptive field: neurophysiological mechanisms for local-global comparisons in visual neurons. *Annu. Rev. Neurosci.* **8**: 407-430.
- ANDERSON, P.A., OLAVARRIA, J. UND VAN SLUYTERS, R.C. (1988) The overall pattern of ocular dominance bands in cat visual cortex. *J. Neurosci.* **8**: 2183-2200.
- ANTONINI, A. UND STRYKER, M.P. (1993a) Rapid remodeling of axonal arbors in the visual cortex. *Science* **260**: 1819-1821.
- ANTONINI, A. UND STRYKER, M.P. (1993b) Development of individual geniculocortical arbors in cat striate cortex and effects of binocular impulse blockade. *J. Neurosci.* **13**: 3549-3573.
- ANTONINI, A. UND STRYKER, M.P. (1996) Plasticity of geniculocortical afferents following brief or prolonged monocular occlusion in the cat. *J. Comp. Neurol.* **369**: 64-82.
- BOLZ, J. UND GILBERT, C.D. (1989) The role of horizontal connections in generating long receptive fields in the cat visual cortex. *Eur. J. Neurosci.* **1**: 263-268.
- BONHOEFFER, T. UND GRINVALD, A. (1996) Optical imaging based on intrinsic signals: The methodology. In: Toga, A.W. und Mazziotta, J.C. (Hrsg.) *Brain Mapping: The Methods*: 55-97. Academic Press, San Diego.
- BOSKING, W.H., ZHANG, Y., SCHOFIELD, B. UND FITZPATRICK, D. (1997) Orientation selectivity and the arrangement of horizontal connections in tree shrew striate cortex. *J. Neurosci.* **15**: 2112-2127.
- BRODMANN, K. (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. Barth, Leipzig.
- BURKHALTER, A., BERNARDO, K.L. UND CHARLES, V. (1993) Development of local circuits in human visual cortex. *J. Neurosci.* **13**: 1916-1931.
- CALLAGHAN, P.T. (1993) *Principles of nuclear magnetic resonance microscopy*. Clarendon Press, Oxford.
- CALLAWAY, E.M. UND KATZ, L.C. (1990) Emergence and refinement of clustered horizontal connections in cat striate cortex. *J. Neurosci.* **10**: 1134-1153.
- CALLAWAY, E.M. UND KATZ, L.C. (1991) Effects of binocular deprivation on the development of clustered horizontal connections in cat striate cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 745-749.
- CHANGEUX, J.-P. UND DANCHIN, A. (1976) Selective stabilisation of developing synapses as a mechanism for the specification of neuronal networks. *Nature* **264**: 705-712.
- CHIU, C. UND WELIKY, M. (2000) Spatio-temporally patterned spontaneous activity precedes development of functional organization in visual cortex. *Soc. Neurosci. Abstr.* **26**: 1079.

- COHEN, M.S. (1996) Rapid MRI and functional applications. In: Toga, A.W. und Mazziotta, J.C. (Hrsg.) *Brain Mapping: The Methods*: 223-255. Academic Press, San Diego.
- CONSTANTINE-PATON, M. (1983) Position and proximity in the development of maps and stripes. *Trends Neurosci.* **6**: 32-36.
- CONSTANTINE-PATON, M., CLINE, H.H. UND DEBSKI, E. (1990) Patterned activity, synaptic convergence, and the NMDA receptor in developing visual pathways. *Annu. Rev. Neurosci.* **13**: 129-154.
- CRAGG, B.G. (1975) The development of synapses in the visual system of the cat. *J. Comp. Neurol.* **160**: 147-166.
- CRAIR, M.C. (1999) Neuronal activity during development: permissive or instructive? *Curr. Opin. Neurobiol.* **9**: 88-93.
- CRAIR, M.C., RUTHAZER, E.S., GILLESPIE, D.C. UND STRYKER, M.P. (1997a) Ocular dominance peaks at pinwheel center singularities of the orientation map in cat visual cortex. *J. Neurophysiol.* **77**: 3381-3385.
- CRAIR, M.C., RUTHAZER, E.S., GILLESPIE, D.C. UND STRYKER, M.P. (1997b) Relationship between the ocular dominance and orientation maps in visual cortex of monocularly deprived cats. *Neuron* **19**: 307-318.
- CRAIR, M.C., GILLESPIE, D.C. UND STRYKER, M.P. (1998) The role of visual experience in the development of columns in cat visual cortex. *Science* **279**: 566-570.
- CRAWFORD, M.L.J. (1998) Column spacing in normal and visually deprived monkeys. *Exp. Brain Res.* **123**: 282-288.
- CREUTZFELDT, O.D., GAREY, L.J., KURODA, R. UND WOLFF, J.R. (1977) The distribution of degenerating axons after small lesions in the intact and isolated visual cortex of the cat. *Exp. Brain Res.* **27**: 419-440.
- CROOK, J.M., KISVÁRDAY, Z.F. UND EYSEL, U.T. (1997) GABA-induced inactivation of functionally characterized sites in cat striate cortex: effects on orientation tuning and direction selectivity. *Vis. Neurosci.* **14**: 141-158.
- CROOK, J.M., KISVÁRDAY, Z.F. UND EYSEL, U.T. (1998) Evidence for a contribution of lateral inhibition to orientation tuning and direction selectivity in cat visual cortex: reversible inactivation of functionally characterized sites combined with neuroanatomical tracing techniques. *Eur. J. Neurosci.* **10**: 2056-2075.
- CROWLEY, J.C. UND KATZ, L.C. (1999) Development of ocular dominance columns in the absence of retinal input. *Nat. Neurosci.* **2**: 1125-1130.
- DARIAN-SMITH, C. UND GILBERT, C.D. (1994) Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. *Nature* **368**: 737-740.
- DAS, A. UND GILBERT, C.D. (1995) Long-range horizontal connections and their role in cortical reorganization revealed by optical recording of cat primary visual cortex. *Nature* **375**: 780-784.
- DIAO, Y.-C., JIA, W.-G., SWINDALE, N.V. UND CYNADER, M.S. (1990) Functional organization of the cortical 17/18 border region in the cat. *Exp. Brain Res.* **79**: 271-282.
- DUFFY, K.R., MURPHY, K.M. UND JONES, D.G. (1998) Analysis of postnatal growth of visual cortex. *Vis. Neurosci.* **15**: 831-839.
- DUNCAN, G.E. UND STUMPF, W.E. (1991) Brain activity patterns: assessment by high resolution autoradiographic imaging of radiolabeled 2-deoxyglucose and glucose uptake. *Prog. Neurobiol.* **37**: 365-382.

- DURACK, J.C. UND KATZ, L.C. (1996) Development of horizontal projections in layer 2/3 of ferret visual cortex. *Cereb. Cortex* **6**: 178-183.
- DYCK, R.H. UND CYNADER, M.S. (1993) An interdigitated columnar mosaic of cytochrome oxidase, zinc, and neurotransmitter-regulated molecules in cat and monkey visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 9066-9069.
- ERISIR, A., VAN HORN, S.C. UND SHERMAN, S.M. (1998) Distribution of synapses in the lateral geniculate nucleus of the cat: differences between laminae A and A1 and between relay cells and interneurons. *J. Comp. Neurol.* **390**: 247-255.
- FISKEN, R.A., GAREY, L.J. UND POWELL, T.P.S. (1975) The intrinsic, association and commissural connections of area 17 on the visual cortex. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **272**: 487-536.
- FITZPATRICK, D. (1996) The functional organization of local circuits in visual cortex: insights from the study of tree shrew striate cortex. *Cereb. Cortex* **6**: 329-341.
- FREEMAN, B., LÖWEL, S. UND SINGER, W. (1987) Deoxyglucose mapping in the cat visual cortex following carotid artery injection and cortical flat-mounting. *J. Neurosci. Meth.* **20**: 115-129.
- FRÉGNAC, Y. UND IMBERT, M. (1978) Early development of visual cortical cells in normal and dark-reared kittens: relationship between orientation selectivity and ocular dominance. *J. Physiol.* **278**: 27-44.
- GALUSKE, R.A.W. UND SINGER W. (1996) The origin and topography of long-range intrinsic projections in cat visual cortex: a developmental study. *Cereb. Cortex* **6**: 417-430.
- GAREY, L.J., DREHER, B. UND ROBINSON, S.R. (1991) The organization of the visual thalamus. In: Dreher, B. und Robinson, S.R. (Hrsg.) *Vision and visual dysfunction Vol.3: Neuroanatomy of the visual pathways and their development*: 176-234. Macmillan, Houndmills.
- GILBERT, C.D. (1983) Microcircuitry of the visual cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* **6**: 217-247.
- GILBERT, C.D. (1992) Horizontal integration and cortical dynamics. *Neuron* **9**: 1-13.
- GILBERT, C.D. (1998) Adult cortical dynamics. *Physiol. Rev.* **78**: 467-485.
- GILBERT, C.D. UND WIESEL, T.N. (1983) Clustered intrinsic connections in cat visual cortex. *J. Neurosci.* **3**: 1116-1133.
- GILBERT, C.D. UND WIESEL, T.N. (1989) Columnar specificity of intrinsic horizontal and corticocortical connections in cat visual cortex. *J. Neurosci.* **9**: 2432-2442.
- GÖDECKE, I., KIM, D.-S., BONHOEFFER, T. UND SINGER, W. (1997) Development of orientation preference maps in area 18 of kitten visual cortex. *Eur. J. Neurosci.* **9**: 1754-1762.
- GOODHILL, G.J. (1993) Topography and ocular dominance: a model exploring positive correlations. *Biol. Cybern.* **69**: 109-118.
- GOODHILL, G.J. UND LÖWEL, S. (1995) Theory meets experiment: correlated neural activity helps determine ocular dominance column periodicity. *Trends Neurosci.* **18**: 437-439.
- GOODMAN, C.S. UND SHATZ, C.J. (1993) Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell* **72** (Suppl.): 77-98.
- GRAFSTEIN, B. (1971) Transneuronal transfer of radioactivity in the central nervous system. *Science* **172**: 177-179.
- GRAY, C.M., KÖNIG, P., ENGEL, A.K. UND SINGER, W. (1989) Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* **338**: 334-337.

- GUILLERY, R.W. (1970) The laminar distribution of retinal fibers in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat: a new interpretation. *J. Comp. Neurol.* **138**: 339-368.
- HALASZ, P. UND MARTIN, P.R. (1984) A microcomputer based system for semiautomatic analysis of histological sections. *Proc. R. Microsc. Soc.* **19**: 312.
- HATA, Y., TSUMOTO, T., SATO, H. UND TAMURA, H. (1991) Horizontal interactions between visual cortical neurones studied by cross-correlation analysis in the cat. *J. Physiol.* **441**: 593-614.
- HAUG, H., KÖLLN, M. UND RAST, A. (1976) The postnatal development of myelinated nerve fibres in the visual cortex of the cat: a stereological and electron microscopical investigation. *Cell Tissue Res.* **167**: 265-288.
- HEBB, D.O. (1949) *The organization of behavior*. Wiley, New York.
- HICKEY, T.L. UND GUILLERY, R.W. (1974) An autoradiographic study of retinogeniculate pathways in the cat and the fox. *J. Comp. Neurol.* **156**: 239-253.
- HOLLÄNDER, H. (1977) The projection from the lateral geniculate nucleus onto the visual cortex in the cat. *J. Comp. Neurol.* **173**: 519-536.
- HORTON, J.C. UND HOCKING, D.R. (1996a) An adult-like pattern of ocular dominance columns in striate cortex of newborn monkeys prior to visual experience. *J. Neurosci.* **16**: 1791-1807.
- HORTON, J.C. UND HOCKING, D.R. (1996b) Anatomical demonstration of ocular dominance columns in striate cortex of the squirrel monkey. *J. Neurosci.* **16**: 5510-5522.
- HORTON, J.C. UND HOCKING, D.R. (1996c) Intrinsic variability of ocular dominance column periodicity in normal macaque monkeys. *J. Neurosci.* **16**: 7228-7339.
- HORTON, J.C. UND HOCKING, D.R. (1997) Timing of the critical period for plasticity of ocular dominance columns in macaque striate cortex. *J. Neurosci.* **17**: 3684-3709.
- HORTON, J.C., HOCKING, D.R. UND ADAMS, D.L. (1999) Comparison of ocular dominance columns in normal and strabismic squirrel monkeys. *Soc. Neurosci. Abstr.* **25**: 1808.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1962) Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J. Physiol.* **160**: 106-154.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1963a) Shape and arrangement of columns in cat's striate cortex. *J. Physiol.* **165**: 559-568.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1963b) Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens. *J. Neurophysiol.* **26**: 994-1002.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1965) Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *J. Neurophysiol.* **28**: 1041-1059.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1969) Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex. *Nature* **221**: 747-750.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1970) The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *J. Physiol.* **206**: 419-436.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1972) Laminar and columnar distribution of geniculo-cortical fibers in the macaque monkey. *J. Comp. Neurol.* **146**: 421-450.
- HUBEL, D.H. UND WIESEL, T.N. (1977) Ferrier lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **198**: 1-59.
- HÜBENER, M. UND BONHOEFFER, T. (1999) Eyes wide shut. *Nat. Neurosci.* **2**: 1043-1045.

- HÜBENER, M., SHOHAM, D., GRINVALD, A. UND BONHOEFFER, T. (1997) Spatial relationships among three columnar systems in cat area 17. *J. Neurosci.* **17**: 9270-9284.
- JERNIGAN, T.L., TRAUNER, D.A., HESSELINK, J.R. UND TALLAL, P.A. (1991) Maturation of human cerebrum observed in vivo during adolescence. *Brain* **114**: 2037-2049.
- JONES, D.G., VAN SLUYTERS, R.C. UND MURPHY, K.M. (1991) A computational model for the overall pattern of ocular dominance. *J. Neurosci.* **11**: 3794-3808.
- JONES, D.G., MURPHY, K.M. UND VAN SLUYTERS, R.C. (1996) Spacing of ocular dominance columns is not changed by monocular deprivation or strabismus. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **37** (Suppl.): S425.
- JOHNS, P.R., RUSOFF, A.C. UND DUBIN, M.W. (1979) Postnatal neurogenesis in the kitten retina. *J. Comp. Neurol.* **187**: 545-555.
- KAAS, J.H., GUILLERY, R.W. UND ALLMAN, J.M. (1972) Some principles of organization in the dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Behav. Evol.* **6**: 253-299.
- KAAS, J.H., KRUBITZER, L.A., CHINO, Y.M., LANGSTON, A.L., POLLEY, E.H. UND BLAIR, N. (1990) Reorganization of retinotopic cortical maps in adult mammals after lesions of the retina. *Science* **248**: 229-231.
- KALIL, R.E., SPEAR, P.D. UND LANGSETMO, A. (1984) Response properties of striate cortex neurons in cats raised with divergent or convergent strabismus. *J. Neurophysiol.* **52**: 514-537.
- KANDEL, E.R. UND JESSEL, T.M. (1991) Early experience and the fine tuning of synaptic connections. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H. und Jessel, T.M. (Hrsg.) *Principles of neural science*: 945-958. Appleton & Lange, Norwalk.
- KASCHUBE, M., WOLF, F., GEISEL, T. UND LÖWEL, S. (2000) Quantifying the variability of patterns of orientation domains in the visual cortex of cats. *Neurocomputing* **32-33**: 415-423.
- KATZ, L.C. UND CALLAWAY, E.M. (1992) Development of local circuits in mammalian visual cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* **15**: 31-56.
- KATZ, L.C. UND IAROVICI, D.M. (1990) Green fluorescent latex microspheres: a new retrograde tracer. *Neuroscience* **34**: 511-520.
- KATZ, L.C. UND SHATZ, C.J. (1996) Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* **274**: 1133-1138.
- KATZ, L.C., BURKHALTER, A. UND DREYER W.J. (1984) Fluorescent latex microspheres as a retrograde neuronal marker for in vivo and in vitro studies of visual cortex. *Nature* **310**: 498-500.
- KAWANO, J. (1998) Cortical projections of the parvocellular laminae C of the dorsal lateral geniculate nucleus in the cat: an anterograde wheat germ agglutinin conjugated to horseradish peroxidase study. *J. Comp. Neurol.* **392**: 439-457.
- KENNEDY, C., DES ROSIERS, M.H., SAKURADA, O., SHINOHARA, M., REIVICH, M., JEHL, J.W. UND SOKOLOFF, L. (1976) Metabolic mapping of the primary visual system of the monkey by means of the autoradiographic [¹⁴C]deoxyglucose technique. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **73**: 4230-4234.
- KIM, D.-S., MATSUDA, Y., OHKI, K., AYIMA, A. UND TANAKA, S. (1999) Geometrical and topological relationships between multiple functional maps in cat primary visual cortex. *Neuroreport* **10**: 2515-2522.
- KIM, D.-S., DUONG, T.Q. UND KIM, S.-G. (2000) High-resolution mapping of iso-orientation columns by fMRI. *Nat. Neurosci.* **3**: 164-169.

- KIM, U., BAL, T. UND MCCORMICK, D.A. (1995) Spindle waves are propagating synchronized oscillations in the ferret LGNd in vitro. *J. Neurophysiol.* **74**: 1301-1323.
- KISVÁRDAY, Z.F. (1992) GABAergic networks of basket cells in the visual cortex. *Prog. Brain Res.* **90**: 385-405.
- KISVÁRDAY, Z.F. UND EYSEL, U.T. (1992) Cellular organization of reciprocal patchy networks in layer III of cat visual cortex (area 17). *Neuroscience* **46**: 275-286.
- KISVÁRDAY, Z.F., MARTIN, K.A.C., FREUND, T.F., MAGLOCZKY, Z., WHITTERIDGE, D. UND SOMOGYI, P. (1986) Synaptic targets of HRP-filled layer III pyramidal cells in the cat striate cortex. *Exp. Brain Res.* **64**: 541-552.
- KISVÁRDAY, Z.F., TOTH, E., RAUSCH, M. UND EYSEL, U.T. (1997) Orientation-specific relationship between populations of excitatory and inhibitory lateral connections in the visual cortex of the cat. *Cereb. Cortex* **7**: 605-618.
- KREISLER, P. UND TRÜMMLER, K.-H. (1998) Magnetresonanztomographie. In: Ewen, K. (Hrsg.) *Moderne Bildgebung*: 171-196. Thieme, Stuttgart.
- LAMANTIA, A.-S., POMEROY, S.L. UND PURVES, D. (1992) Vital imaging of glomeruli in the mouse olfactory bulb. *J. Neurosci.* **12**: 976-988.
- LEIN, E.S. UND SHATZ, C.J. (2000) Rapid regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA within eye-specific circuits during ocular dominance column formation. *J. Neurosci.* **20**: 1470-1483.
- LEVAY, S. (1988) Patchy intrinsic projections in visual cortex, area 18, of the cat: morphological and immunocytochemical evidence for an excitatory function. *J. Comp. Neurol.* **269**: 265-274.
- LEVAY, S. UND GILBERT, C.D. (1976) Laminar patterns of geniculocortical projection in the cat. *Brain Res.* **113**: 1-19.
- LEVAY, S. UND NELSON, S.B. (1991) Columnar organization of the visual cortex. In: Leventhal, A.G. (Hrsg.) *Vision and visual dysfunction Vol.4: The neural basis of visual function*: 266-315. Macmillan, Houndmills.
- LEVAY, S., STRYKER, M.P. UND SHATZ, C.J. (1978) Ocular dominance columns and their development in layer IV of the cat's visual cortex: a quantitative study. *J. Comp. Neurol.* **179**: 223-244.
- LEVAY, S., WIESEL, T.N. UND HUBEL, D.H. (1980) The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys. *J. Comp. Neurol.* **191**: 1-51.
- LIVINGSTONE, M.S. (1996) Ocular dominance columns in new world monkeys. *J. Neurosci.* **16**: 2086-2096.
- LIVINGSTONE, M.S. UND HUBEL, D.H. (1984) Specificity of intrinsic connections in primate primary visual cortex. *J. Neurosci.* **4**: 2830-2835.
- LÖWEL, S. (1994) Ocular dominance column development: strabismus changes the spacing of adjacent columns in cat visual cortex. *J. Neurosci.* **14**: 7451-7468.
- LÖWEL, S. (2000) 2-Deoxyglucose architecture of cat primary visual cortex. In: Payne, B.R. und Peters, A. (Hrsg.) *The Cat Primary Visual Cortex*: im Druck. Academic Press, San Diego.
- LÖWEL, S. UND SINGER, W. (1987) The pattern of ocular dominance columns in flat-mounts of the cat visual cortex. *Exp. Brain Res.* **68**: 661-666.
- LÖWEL, S. UND SINGER, W. (1992) Selection of intrinsic horizontal connections in the visual cortex by correlated neuronal activity. *Science* **255**: 209-212.

- LÖWEL, S. UND SINGER, W. (1993a) Monocularly induced 2-deoxyglucose patterns in the visual cortex and lateral geniculate nucleus of the cat: I. Anaesthetized and paralysed animals. *Eur. J. Neurosci.* **5**: 846-856.
- LÖWEL, S. UND SINGER, W. (1993b) Monocularly induced 2-deoxyglucose patterns in the visual cortex and lateral geniculate nucleus of the cat: II. Awake animals and strabismic animals. *Eur. J. Neurosci.* **5**: 857-869.
- LÖWEL, S. UND SINGER, W. (2000) Plasticity of intracortical connections. In: Fahle, M. und Poggio, T. (Hrsg.) *Perceptual Learning*: im Druck. MIT-Press, Cambridge.
- LÖWEL, S. UND WOLF, F. (1999) Pattern formation in the developing visual cortex. In: Müller, S.C., Parisi, J. und Zimmermann, W. (Hrsg.) *Transport and Structure: Their Competitive Roles in Biophysics and Chemistry (Lecture notes in physics Vol. 532)*: 1-29. Springer, Berlin.
- LÖWEL, S., SCHMIDT, K.E., KIM, D.-S., WOLF, F., HOFFSÜMMER, F., SINGER, W. UND BONHOEFFER, T. (1998) The layout of orientation and ocular dominance domains in area 17 of strabismic cats. *Eur. J. Neurosci.* **10**: 2629-2643.
- LÖWEL, S., KASCHUBE, M., GEISEL, T. UND WOLF, F. (2000a) Genetically controlled features of visual cortical orientation maps. *Eur. J. Neurosci.* **12** (Suppl. **11**): 127.
- LÖWEL, S., KASCHUBE, M., GEISEL, T. UND WOLF, F. (2000b) Substantial genetic influence on visual cortical orientation maps. *Soc. Neurosci. Abstr.* **26**: 820.
- LÜBKE, J. UND ALBUS, K. (1992) Rapid rearrangement of intrinsic tangential connections in the striate cortex of normal and dark-reared kittens: lack of exuberance beyond the second postnatal week. *J. Comp. Neurol.* **323**: 42-58.
- LUHMANN, H.J., MARTÍNEZ-MILLÁN, L. UND SINGER, W. (1986) Development of horizontal intrinsic connections in cat striate cortex. *Exp. Brain Res.* **63**: 443-448.
- LUHMANN, H.J., SINGER, W. UND MARTÍNEZ-MILLÁN, L. (1990) Horizontal interactions in cat striate cortex: I. Anatomical substrate and postnatal development. *Eur. J. Neurosci.* **2**: 344-357.
- LUND, J.S. (1988) Anatomical organization of macaque monkey striate visual cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* **11**: 253-288.
- LUND, J.S., YOSHIOKA, T. UND LEVITT, J.B. (1993) Comparison of intrinsic connectivity in different areas of macaque monkey cerebral cortex. *Cereb. Cortex* **3**: 148-162.
- LUSKIN, M.B. UND SHATZ, C.J. (1985a) Studies of the earliest generated cells of the cat's visual cortex: Cogeneration of subplate and marginal zones. *J. Neurosci.* **5**: 1062-1075.
- LUSKIN, M.B. UND SHATZ, C.J. (1985b) Neurogenesis of the cat's primary visual cortex. *J. Comp. Neurol.* **242**: 611-631.
- MAGISTRETTI, P.J. UND PELLERIN, L. (1999) Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **354**: 1155-1163.
- MAGISTRETTI, P.J., PELLERIN, L., ROTHMAN, D.L. UND SHULMAN, R.G. (1999) Energy on demand. *Science* **283**: 496-497.
- MALACH, R., AMIR, Y., HAREL, M. UND GRINVALD, A. (1993) Relationship between intrinsic connections and functional architecture revealed by optical imaging and in vivo targeted biocytin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90**: 10469-10473.
- MALACH, R., TOOTELL, R.B.H. UND MALONEK, D. (1994) Relationship between orientation domains, cytochrome oxidase stripes, and intrinsic horizontal connections in squirrel monkey area V2. *Cereb. Cortex* **4**: 151-165.

- MARTIN, K.A.C. UND WHITTERIDGE, D. (1984) Form, function and intracortical projections of spiny neurones in the striate visual cortex of the cat. *J. Physiol.* **353**: 463-504.
- MASLAND, R.H. (1996) Processing and encoding of visual information in the retina. *Curr. Opin. Neurobiol.* **6**: 467-474.
- MCCORMICK, D.A., TRENT, F. UND RAMOA, A.S. (1995) Postnatal development of synchronized network oscillations in the ferret dorsal lateral geniculate and perigeniculate nuclei. *J. Neurosci.* **15**: 5739-5752.
- MCGUIRE, B.A., GILBERT, C.D., RIVLIN, P.K. UND WIESEL, T.N. (1991) Targets of horizontal connections in macaque primary visual cortex. *J. Comp. Neurol.* **305**: 370-392.
- MILLER, K.D. UND STRYKER, M.P. (1990) The development of ocular dominance columns: mechanisms and models. In: Hanson, S.J. und Olson, C.R. (Hrsg) *Connectionist modeling and brain function: the developing interface*: 255-305. MIT Press, Cambridge.
- MILLER, K.D., KELLER, J.B. UND STRYKER, M.P. (1989) Ocular dominance column development: analysis and simulation. *Science* **245**: 605-615.
- MIOCHE, L. UND SINGER, W. (1989) Chronic recordings from single sites of kitten striate cortex during experience-dependent modifications of receptive-field properties. *J. Neurophysiol.* **62**: 185-197.
- MITCHISON, G. UND CRICK, F. (1982) Long axons within the striate cortex: their distribution, orientation, and patterns of connection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **79**: 3661-3665.
- MOUNTCASTLE, V.B. (1957) Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J. Neurophysiol.* **20**: 408-434.
- MOUNTCASTLE, V.B. (1997) The columnar organization of the neocortex. *Brain* **120**: 701-722.
- MOWER, G.D., CAPLAN, C.J., CHRISTEN, W.G. UND DUFFY, F.H. (1985) Dark rearing prolongs physiological but not anatomical plasticity of the cat visual cortex. *J. Comp. Neurol.* **235**: 448-466.
- MÜLLER, F. UND KAUPP, U.B. (1998) Signaltransduktion in Sehzellen. *Naturwissenschaften* **85**: 49-61.
- MURPHY, K.M., JONES, D.G. UND VAN SLUYTERS, R.C. (1995) Cytochrome-oxidase blobs in cat primary visual cortex. *J. Neurosci.* **15**: 4196-4208.
- MURPHY, K.M., JONES, D.G., FENSTEMAKER, S.B., PEGADO, V.D., KIORPES, L. UND MOVSHON, J.A. (1998) Spacing of cytochrome oxidase blobs in visual cortex of normal and strabismic monkeys. *Cereb. Cortex* **8**: 237-244.
- NIEUWENHUYNS, R., VOOGD, J. UND VAN HUIJZEN, C. (1991) *Das Zentralnervensystem des Menschen*. Springer, Berlin.
- OLSON, C.R. UND FREEMAN, R.D. (1978) Development of eye alignment in cats. *Nature* **271**: 446-447.
- OTSUKA, R. UND HASSLER, R. (1962) Über Aufbau und Gliederung der corticalen Sehspäre bei der Katze. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* **203**: 212-234.
- PFEFFERBAUM, A., MATHALON, D.H., SULLIVAN, E.V., RAWLES, J.M., ZIPURSKY, R.B. UND LIM, K.O. (1994) A quantitative magnetic resonance imaging study of changes in brain morphology from infancy to late adulthood. *Arch. Neurol.* **51**: 874-887.
- POMEROY, S.L., LAMANTIA, A.-S. UND PURVES, D. (1990) Postnatal construction of neural circuitry in the mouse olfactory bulb. *J. Neurosci.* **10**: 1952-1966.

- PRESSON, J. UND GORDON, B. (1979) Critical period and minimum exposure required for the effects of alternating monocular occlusion in cat visual cortex. *Vision Res.* **19**: 807-811.
- PRICE, D.J. (1986) The postnatal development of clustered intrinsic connections in area 18 of the visual cortex in kittens. *Dev. Brain Res.* **24**: 31-38.
- PURVES, D. UND LAMANTIA, A. (1993) Development of blobs in the visual cortex of macaques. *J. Comp. Neurol.* **334**: 169-175.
- RATHJEN, S. UND LÖWEL, S. (2000) Early postnatal development of functional ocular dominance columns in cat primary visual cortex. *Neuroreport* **11**: 2363-2367.
- RIDDLE, D., RICHARDS, A., ZSUPPAN, F. UND PURVES, D. (1992) Growth of the rat somatic sensory cortex and its constituent parts during postnatal development. *J. Neurosci.* **12**: 3509-3524.
- ROCKLAND, K.S. (1985) Anatomical organization of primary visual cortex (area 17) in the ferret. *J. Comp. Neurol.* **241**: 225-236.
- ROCKLAND, K.S. UND LUND, J.S. (1982) Widespread periodic intrinsic connections in the tree shrew visual cortex. *Science* **215**: 1532-1534.
- ROCKLAND, K.S. UND LUND, J.S. (1983) Intrinsic laminar lattice connections in primate visual cortex. *J. Comp. Neurol.* **216**: 303-318.
- ROE, A.W., GHOSE, G.M., SMITH, E.L., CHINO, Y.M. UND TS'O, D.Y. (1995) Alterations in striate cortical ocular dominance columns in anisometric amblyopia. *Soc. Neurosci. Abstr.* **21**: 1752.
- RUTHAZER, E.S. UND STRYKER, M.P. (1996) The role of activity in the development of long-range horizontal connections in area 17 of the ferret. *J. Neurosci.* **16**: 7253-7269.
- SALIN, P.-A. UND BULLIER, J. (1995) Corticocortical connections in the visual system: structure and function. *Physiol. Rev.* **75**: 107-154.
- SANDERSON, K.J. (1971) Visual field projection columns and magnification factors in the lateral geniculate nucleus of the cat. *Exp. Brain Res.* **13**: 159-177.
- SANDERSON, K. (1991) The ontogenesis of the subcortical and cortical visual centres. In: Dreher, B. und Robinson, S.R. (Hrsg.) *Vision and visual dysfunction Vol.3: Neuroanatomy of the visual pathways and their development*: 360-376. Macmillan, Houndmills.
- SCHERF, O. (1994) *Strukturbiologie im Kortex*. Diplomarbeit, Institut für Theoretische Physik, J.W. Goethe-Universität, Frankfurt am Main.
- SCHERF, O., PAWELZIK, K., WOLF, F. UND GEISEL, T. (1999) Theory of ocular dominance pattern formation. *Phys. Rev. E* **59**: 6977-6993.
- SCHMIDT, K.E. UND LÖWEL, S. (2000) Long-range intrinsic connections in cat primary visual cortex. In: Payne, B.R. und Peters, A. (Hrsg.) *The Cat Primary Visual Cortex*: im Druck. Academic Press, San Diego.
- SCHMIDT, K.E., GOEBEL, R., LÖWEL, S. UND SINGER, W. (1997a) The perceptual grouping criterion of colinearity is reflected by anisotropies of connections in the primary visual cortex. *Eur. J. Neurosci.* **9**: 1083-1089.
- SCHMIDT, K.E., KIM, D.-S., SINGER, W., BONHOEFFER, T. UND LÖWEL, S. (1997b) Functional specificity of long-range intrinsic and interhemispheric connections in the visual cortex of strabismic cats. *J. Neurosci.* **17**: 5480-5492.
- SCHMIDT, K.E., GALUSKE, R.A.W. UND SINGER, W. (1999) Matching the modules: cortical maps and long-range intrinsic connections in visual cortex during development. *J. Neurobiol.* **41**: 10-17.

- SCHWARZ, C. UND BOLZ, J. (1991) Functional specificity of a long-range horizontal connection in cat visual cortex: a cross-correlation study. *J. Neurosci.* **11**: 2995-3007.
- SENGPIEL, F., GÖDECKE, I., STAWINSKI, P., HÜBENER, M., LÖWEL, S. UND BONHOEFFER, T. (1998) Intrinsic and environmental factors in the development of functional maps in cat visual cortex. *Neuropharmacology.* **37**: 607-621.
- SHATZ, C.J. UND LUSKIN, M.B. (1986) The relationship between the geniculocortical afferents and their cortical target cells during development of the cat's primary visual cortex. *J. Neurosci.* **6**: 3655-3668.
- SHATZ, C.J. UND STRYKER, M.P. (1978) Ocular dominance in layer IV of the cat's visual cortex and the effects of monocular deprivation. *J. Physiol.* **281**: 267-283.
- SHATZ, C.J., LINDSTRÖM, S. UND WIESEL, T.N. (1977) The distribution of afferents representing the right and left eyes in the cat's visual cortex. *Brain Res.* **131**: 103-116.
- SHERMAN, S.M. (1972) Development of interocular alignment in cats. *Brain Res.* **37**: 187-203.
- SHERMAN, S.M. UND GUILLERY, R.W. (1996) The functional organization of thalamocortical relays. *J. Neurophysiol.* **76**: 1367-1395.
- SHMUEL, A. UND GRINVALD, A. (1996) Functional organization for direction of motion and its relationship to orientation maps in cat area 18. *J. Neurosci.* **16**: 6945-6964.
- SHOHAM, D., HÜBENER, M., SCHULZE, S., GRINVALD, A. UND BONHOEFFER, T. (1997) Spatio-temporal frequency domains and their relation to cytochrome oxidase staining in cat visual cortex. *Nature* **385**: 529-533.
- SHOUVAL, H.Z., GOLDBERG, D.H., JONES, J.P., BECKERMAN, M. UND COOPER, L.N. (2000) Structured long-range connections can provide a scaffold for orientation maps. *J. Neurosci.* **20**: 1119-1128.
- SINGER, W. UND GRAY, C.M. (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu. Rev. Neurosci.* **18**: 555-586.
- SIRETEANU, R. UND MAURER, D. (1982) The development of the kitten's visual field. *Vision Res.* **22**: 1105-1111.
- SIRETEANU, R., SINGER W., FRONIUS, M., GREUEL, J.M., BEST, J., FIORENTINI, A., BISTI, S., SCHIAVI, C. UND CAMPOS, E. (1993) Eye alignment and cortical binocularity in strabismic kittens: a comparison between tenotomy and recession. *Vis. Neurosci.* **10**: 541-549.
- SOKOLOFF, L. (1992) The brain as a chemical machine. *Prog. Brain Res.* **94**: 19-33.
- SOKOLOFF, L. (1999) Energetics of functional activation in neural tissues. *Neurochem. Res.* **24**: 321-329.
- SOKOLOFF, L., REIVICH, M., KENNEDY, C., DESROSIERS, M.H., PATLAK, C.S., PETTIGREW, K.D., SAKURADA, O. UND SHINOHARA, M. (1977) The [¹⁴C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious anesthetized albino rat. *J. Neurochem.* **28**: 897-916.
- STENT, G.S. (1973) A physiological mechanism for Hebb's postulate of learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **70**: 997-1001.
- STRYKER, M.P. (1991) Activity-dependent reorganization of afferents in the developing mammalian visual system. In: Lam, D.M.K. und Shatz, C.J. (Hrsg.) *Development of the visual system*: 267-287. MIT Press, Cambridge.
- STRYKER, M.P. UND HARRIS, W.A. (1986) Binocular impulse blockade prevents the formation of ocular dominance columns in cat visual cortex. *J. Neurosci.* **6**: 2117-2133.

- SUR, M., ANGELUCCI, A. UND SHARMA, J. (1999) Rewiring cortex: the role of patterned activity in development and plasticity of neocortical circuits. *J. Neurobiol.* **41**: 33-43.
- SWINDALE, N.V. (1981) Absence of ocular dominance patches in dark-reared cats. *Nature* **290**: 332-333.
- SWINDALE, N.V. (1988) Role of visual experience in promoting segregation of eye dominance patches in the visual cortex of the cat. *J. Comp. Neurol.* **267**: 472-488.
- SWINDALE, N.V. (1996) The development of topography in the visual cortex: a review of models. *Network* **7**: 161-247.
- SWINDALE, N.V., MATSUBARA, J.A. UND CYNADER, M.S. (1987) Surface organization of orientation and direction selectivity in cat area 18. *J. Neurosci.* **7**: 1414-1427.
- SWINDALE, N.V., SHOHAM, D., GRINVALD, A., BONHOEFFER, T. UND HÜBENER M. (2000) Visual cortex maps are optimized for uniform coverage. *Nat. Neurosci.* **3**: 822-826.
- SZENTÁGOTHAJ, J. (1973) Synaptology of the visual cortex. In: Jung, R. (Hrsg.) *Handbook of sensory physiology Vol.7. Central visual information*: 269-324. Springer, Berlin.
- TAKÁCS, J., SAILLOUR, P., IMBERT, M., BOGNER, M. UND HÁMORI, J. (1992) Effect of dark rearing on the volume of visual cortex (areas 17 and 18) and number of visual cortical cells in young kittens. *J. Neurosci. Res.* **32**: 449-459.
- THOMPSON, I.D., KOSSUT, M. UND BLAKEMORE, C. (1983) Development of orientation columns in cat striate cortex revealed by 2-deoxyglucose autoradiography. *Nature* **301**: 712-715.
- TIEMAN, S.B. UND TUMOSA, N. (1983) [¹⁴C]2-deoxyglucose demonstration of the organization of ocular dominance in areas 17 and 18 of the normal cat. *Brain Res.* **267**: 35-46.
- TIEMAN, S.B. UND TUMOSA, N. (1997) Alternating monocular exposure increases the spacing of ocularity domains in area 17 of cats. *Vis. Neurosci.* **14**: 928-938.
- TOLHURST, D.J., DEAN, A.F. UND THOMPSON, I.D. (1981) Preferred direction of movement as an element in the organization of cat visual cortex. *Exp. Brain Res.* **44**: 340-342.
- TOOTELL, R.B.H., SILVERMAN, M.S. UND DE VALOIS, R.L. (1981) Spatial frequency columns in primary visual cortex. *Science* **214**: 813-815.
- TOOTELL, R.B.H., SWITKES, E., SILVERMAN, M.S. UND HAMILTON, S.L. (1988) Functional anatomy of macaque striate cortex. II. Retinotopic organization. *J. Neurosci.* **8**: 1531-1568.
- TRACHTENBERG, J.T., TREPPEL, C. UND STRYKER, M.P. (2000) Rapid extragranular plasticity in the absence of thalamocortical plasticity in the developing primary visual cortex. *Science* **287**: 2029-2032.
- TS'O, D.Y. UND GILBERT, C.D. (1988) The organization of chromatic and spatial interactions in the primate striate cortex. *J. Neurosci.* **8**: 1712-1727.
- TS'O, D.Y., GILBERT, C.D. UND WIESEL, T.N. (1986) Relationships between horizontal interactions and functional architecture in cat striate cortex as revealed by cross-correlation analysis. *J. Neurosci.* **6**: 1160-1170.
- TUMOSA, N., TIEMAN, S.B. UND TIEMAN, D.G. (1989) Binocular competition affects the pattern and intensity of ocular activation columns in the visual cortex of cats. *Vis. Neurosci.* **2**: 391-407.
- TUSA, R.J., PALMER, L.A. UND ROSENQUIST, A.C. (1978) The retinotopic organization of area 17 (striate cortex) in the cat. *J. Comp. Neurol.* **177**: 213-236.
- TUSA, R.J., ROSENQUIST, A.C. UND PALMER, L.A. (1979) Retinotopic organization of areas 18 and 19 in the cat. *J. Comp. Neurol.* **185**: 657-678.

- TYCHSEN, L. UND BURKHALTER, A. (1997) Nasotemporal asymmetries in V1: ocular dominance columns of infant, adult, and strabismic macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.* **388**: 32-46.
- VAN HORN, S.C., ERISIR, A. UND SHERMAN, S.M. (2000) Relative distribution of synapses in A-laminae of the lateral geniculate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* **416**: 509-520.
- VAN SLUYTERS, R.C. UND LEVITT, F.B. (1980) Experimental strabismus in the kitten. *J. Neurophysiol.* **43**: 686-699.
- VILLABLANCA, J.R., SCHMANKE, T.D., LEKHT, V. UND CRUTCHER, H.A. (2000a) The growth of the feline brain from late fetal into adult life. I. A morphometric study of the neocortex and white matter. *Dev. Brain Res.* **122**: 11-20.
- VILLABLANCA, J.R., SCHMANKE, T.D., CRUTCHER, H.A., SUNG, A.C. UND TAVABI, K. (2000b) The growth of the feline brain from fetal into adult life. II. A morphometric study of subcortical nuclei. *Dev. Brain Res.* **122**: 21-33.
- VON GRÜNAU, M.W. (1979) The role of maturation and visual experience in the development of eye alignment in cats. *Exp. Brain Res.* **37**: 41-47.
- VON NORDEEN, G.K. (1990) *Binocular vision and ocular motility. Theory and management of strabismus*. Mosby, St. Louis.
- WÄSSLE, H. UND BOYCOTT, B.B. (1991) Functional architecture of the mammalian retina. *Physiol. Rev.* **71**: 447-480.
- WELIKY, M. (1999) Recording and manipulating the in vivo correlational structure of neuronal activity during visual cortical development. *J. Neurobiol.* **41**: 25-32.
- WELIKY, M. UND KATZ, L.C. (1997) Disruption of orientation tuning in visual cortex by artificially correlated neuronal activity. *Nature* **386**: 680-685.
- WELIKY, M. UND KATZ, L.C. (1999) Correlational structure of spontaneous neuronal activity in the developing lateral geniculate nucleus in vivo. *Science* **285**: 599-604.
- WIESEL, T.N. (1982) Postnatal development of the visual cortex and the influence of environment. *Nature* **299**: 583-591.
- WIESEL, T.N. UND HUBEL, D.H. (1963) Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J. Neurophysiol.* **26**: 1003-1017.
- WIESEL, T.N. UND HUBEL, D.H. (1965) Comparison of the effects of unilateral and bilateral eye closure on cortical responses in kittens. *J. Neurophysiol.* **28**: 1029-1040.
- WIESEL, T.N., HUBEL, D.H. UND LAM, D.M.K. (1974) Autoradiographic demonstration of ocular-dominance columns in the monkey striate cortex by means of transneuronal transport. *Brain Res.* **79**: 273-279.
- WONG, R.O.L. (1999) Retinal waves and visual system development. *Annu. Rev. Neurosci.* **22**: 29-47.
- YOSHIOKA, T., BLASDEL, G.C., LEVITT, J.B. UND LUND, J.S. (1996) Relation between patterns of intrinsic lateral connectivity, ocular dominance, and cytochrome oxidase-reactive regions in macaque monkey striate cortex. *Cereb. Cortex* **6**: 297-310.
- ZUFFEREY, P.D., JIN, F., NAKAMURA, H., TETTONI, L. UND INNOCENTI, G.M. (1999) The role of pattern vision in the development of cortico-cortical connections. *Eur. J. Neurosci.* **11**: 2669-2688.

Danksagung

Frau PD Dr. Siegrid Löwel vom Leibniz-Institut für Neurobiologie in Magdeburg danke ich für die Überlassung des Themas und die kritische und engagierte Betreuung der Arbeit.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wolf Singer dafür, daß ich die Möglichkeit hatte, in seiner Abteilung am Max-Planck-Institut für Hirnforschung in Frankfurt am Main zu arbeiten, und für seine konstante Unterstützung in dieser Zeit.

Herrn Prof. Dr. Klaus Reymann vom Forschungsinstitut für angewandte Neurowissenschaften gGmbH (FAN) in Magdeburg danke ich für die Chance zur Weiterbildung im ESF/LSA-Projekt.

Herrn Prof. Dr. Hans-Joachim Bischof der Fakultät für Biologie der Universität Bielefeld gebührt mein Dank für seine sofortige Bereitschaft, diese Arbeit als externe Promotion zu betreuen.

Danken möchte ich besonders Kerstin Schmidt für die Unterstützung in einigen Experimenten und eine Menge anregender Diskussionen. Ralf Galuske danke ich für experimentelle Notfallhilfe, hilfreiche Kommentare und die Einführung in Statview.

Vielen Dank an Michael Stephan, ohne den es keine IDL-Auswertungen und damit diese Arbeit so nicht gegeben hätte.

Für die wertvolle technische Unterstützung möchte ich mich herzlich bei Steffi Bachmann, Gerd Bink, Margitt Ehms-Sommer, Ulrike Marschall, Carmen Selignow und besonders Petra Janson bedanken. Sabine Zydorek und Peggy Lissner sei stellvertretend für alle Tierpfleger in beiden Instituten für die ausgezeichnete Betreuung der Katzen gedankt.

Thomas Kaulisch, Detlef Stiller und Stefan Struif sei für die Zusammenarbeit in Sachen Kernspin gedankt. Ein besonderer Dank geht an Ralf Engelmann, ohne den vieles in Magdeburg einfach nicht funktionieren würde. Winrich Freiwald danke ich für die paar Befehlszeilen, die dem tüchtigen Anatomen eine Stütze waren.

Dank an alle weiteren, die mit ihren Anregungen und ihrer Hilfsbereitschaft zu dieser Arbeit beigetragen haben, Markus Dahlem, Jean-Christophe Houzel, Frau Dr. Kiefert, Klaus Pawelzik, Olaf Scherf, Karl-Friedrich Schmidt und Prof. Ruxandra Sireteanu.

Mein Dank gilt all den Mitarbeitern der beiden Institute, die mit ihrer Gesellschaft für eine angenehme Arbeitsatmosphäre vor Ort und die nötige Abwechslung außerhalb des Instituts gesorgt haben.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, auf deren Unterstützung ich stets vertrauen konnte.

Hiermit versichere ich, daß ich die Arbeit selbständig angefertigt und die benutzten Hilfsmittel kenntlich gemacht habe.

Bielefeld, 7. November 2000

(Stefan Rathjen)