

Aus dem Institut für Neurowissenschaften und Medizin (INM-1)
des Forschungszentrums Jülich GmbH

Multimodale Kartierung von zwei Arealen im menschlichen Sulcus temporalis superior

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Daniel Zachlod

Düsseldorf, Oktober 2019

aus dem Institut für Neurowissenschaften und Medizin (INM-1)
des Forschungszentrums Jülich GmbH

Gedruckt mit Genehmigung
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Katrin Amunts
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Christoph Fahlke

Tag der mündlichen Prüfung: 17.08.2020

meinen Eltern gewidmet

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Poster „Delineation of two new distinct areas in the superior temporal sulcus” auf dem 4. Gipfel des Human Brain Projects (HBP) in Florenz vom 12.-15.10.2016

Poster „Receptor gene expression in the human brain is correlated with receptor density, and is area specific“ auf der 25. Konferenz der Organization for Human Brain Mapping (OHBM) in Rom vom 09.-13.06.2019

Artikel „Four new cytoarchitectonic areas surrounding the primary and early auditory cortex in human brains” bei Cortex eingereicht und in der Begutachtung

Artikel „ Receptor gene expression in the human brain is area-specific” in Vorbereitung

Danksagung

Großen Dank möchte ich meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Amunts aussprechen, die es mir ermöglichte, dieses spannende Thema im Rahmen der Doktorarbeit zu bearbeiten. Außerdem danke ich ihr für die vielen netten Gespräche, Anregungen und die Unterstützung während der Bearbeitung des Themas.

Außerdem möchte ich mich bei Prof. Dr. Fahlke bedanken, dass er sich dazu bereit erklärte diese Doktorarbeit als Mentor zu betreuen.

Frau PD Dr. Nicola Palomero-Gallagher und Herrn Prof. Dr. Zilles danke ich für die Einführung in die Methoden der quantitativen Rezeptorautoradiographie und für ihre konstruktive Kritik, außerdem für die Bereitstellung der Rezeptordaten der sensorischen Areale für die genetische Analyse.

Herrn Hartmut Mohlberg möchte ich für die Erstellung der Wahrscheinlichkeitskarten danken. Auf Grundlage dieser Karten berechnete Herr Dr. Robert Langner die funktionelle Metaanalyse, wofür ich ihm sehr dankbar bin.

Bei technischen Fragestellungen waren Dr. Sebastian Bludau und René Hübbers immer kompetente und hilfsbereite Ansprechpartner. Ihnen und dem ganzen Laborteam unter Markus Cremer, vor allem Jessica Teske-Bausch und Sabrina Buller, möchte ich auch an dieser Stelle herzlichen Dank sagen.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung.....	I
Inhaltsverzeichnis.....	II
Verzeichnis der Abbildungen.....	IV
Verzeichnis der Tabellen.....	V
Verzeichnis der Abkürzungen.....	VI
1. Einleitung	1
1.1. Lage und Funktion des Sulcus temporalis superior.....	1
1.2. Klassische Hirnkarten.....	3
1.3. Neuerungen in der Hirnkartierung.....	7
1.4. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	8
2. Methoden.....	9
2.1. Zytoarchitektonik.....	9
2.1.1. Histologische Prozessierung der Gehirne	9
2.1.2. Beobachter-unabhängige Untersuchung der Gehirnschnitte	12
2.1.3. Rekonstruktion und Berechnung der Wahrscheinlichkeitskarten.....	17
2.1.4. Funktionelle Metaanalyse der Gehirnareale	18
2.2. Rezeptorarchitektonik.....	20
2.2.1. Prozessierung der Rezeptorhirne	20
2.2.2. Rezeptorbindung und Erstellen der Autoradiogramme	20
2.2.3. Beobachter-unabhängige Untersuchung der Autoradiogramme.....	24
2.3. Transkriptomik	26
2.3.1. Datenerhebung	27
2.3.2. Datenauswertung.....	29
3. Ergebnisse	31
3.1. Zytoarchitektonik.....	31
3.1.1. Räumliche Lage der Areale STS1 und STS2.....	31
3.1.2. Zytoarchitektonische Beschreibung der Areale	32
3.1.3. Hierarchische Clusteranalyse.....	37
3.1.4. Wahrscheinlichkeitskarten.....	39
3.1.5. Funktionelle Metaanalyse	43
3.2. Rezeptorarchitektonik.....	46

3.2.1. Rezeptordichtevertelung in den STS-Arealen	46
3.2.2 Rezeptor-Fingerprints der Areale STS1 und STS1	52
3.3. Transkriptomik	60
3.3.1. Expression des M ₂ - und Serotonin-Rezeptorgens.....	60
3.3.2. Rezeptor-Genexpression im Vergleich zu anderen sensorischen Systemen.....	62
4. Diskussion	69
4.1. Vergleich der Karten mit früheren zytoarchitektonischen Arbeiten	69
4.2. Rezeptorarchitektur der neuen Areale	71
4.3. Funktionelle Metaanalyse der Areale	72
4.4. Rezeptorgenexpression der STS-Areale im Kontext der sensorischen Systeme.....	75
5. Zusammenfassung	78
6. Summary	79
7. Literaturverzeichnis.....	80

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Übersicht über Lage und Funktionen des STS.....	2
Abbildung 2: Sechsschichtiger Aufbau des Isocortex.....	4
Abbildung 3: Klassische Hirnkarten.	6
Abbildung 4: Erstellung eines GLI-Bildes.....	13
Abbildung 5: Konvertierung eines Mikroskopbildes in ein GLI-Bild.	14
Abbildung 6: GLI-basierte Grenzfindung.....	16
Abbildung 7: Berechnung der Rezeptordichten.....	21
Abbildung 8: Schematische Darstellung der Rezeptorautoradiographie.	22
Abbildung 9: Grenzfindung in Rezeptorautoradiogrammen.....	25
Abbildung 10: Methodenübersicht der Genkartierung.....	30
Abbildung 11: Rostrocaudaler Verlauf der Areale STS1 und STS2.....	31
Abbildung 12: Zytoarchitektonische Arealgrenzen von STS1/2.	33
Abbildung 13: Zytoarchitektonische Arealgrenzen am rostralen und caudalen Ende	35
Abbildung 14: Arealausschnitte mit GLI-Profil.....	36
Abbildung 15: Dendrogramm der Clusteranalyse.....	37
Abbildung 16: Arealvolumina der zehn untersuchten Gehirne.....	38
Abbildung 17: Auftrittswahrscheinlichkeitskarten (pmaps) der Areale im MNI-Raum.....	40
Abbildung 18: Auftrittswahrscheinlichkeitskarten (pmaps) im 3D MNI-Raum.	41
Abbildung 19: Maximale Wahrscheinlichkeitskarte (MPM) des Gyrus temporalis superior.	42
Abbildung 20: Arealfunktionen im Gyrus temporalis superior.	43
Abbildung 21: Funktionelle Unterschiede zwischen den Arealen und Hemisphären.....	45
Abbildung 22: Lage der Areale in Rezeptor-Autoradiogrammen.....	47
Abbildung 23: Unterschiede in der Myeloarchitektur der Areale.....	48
Abbildung 24: Unterschiede in der laminären Rezeptordichte der Areale.	50
Abbildung 25: Rezeptor-Fingerprints der Areale Te3 bis MTG1.....	54
Abbildung 26: Normalisierte Rezeptor-Fingerprints.	56
Abbildung 27: Multidimensionale Skalierung (<i>MDS-Plot</i>) der Areale	58
Abbildung 28: Hierarchische Clusteranalyse der Areale.	59
Abbildung 29: Genexpression des M ₂ - und 5HT _{1A} -Rezeptors im auditorischen System.	61
Abbildung 30: Genexpression des M ₂ -Rezeptors in verschiedenen sensorischen Systemen. .	62
Abbildung 31: Auswertung der Genexpression.	64
Abbildung 32: Genanalyse des GABA _A -Rezeptors.	66
Abbildung 33: Vergleich der GABA _A Genexpression primärer Areale.	67
Abbildung 34: Genanalyse des NMDA Rezeptors.	68
Abbildung 35: Vergleich der Arealeinteilung mit funktionellen Studien.....	73
Abbildung 36: Vergleich des Areals STS2 mit einer traktographischen Parzellierung.....	75

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Liste der Hirne für die zytoarchitektonische Kartierung.....	9
Tabelle 2: Anzahl der BrainMap Experimente pro Areal.	19
Tabelle 3: Liste der Hemisphären für die quantitative Rezeptorautoradiographie.	20
Tabelle 4: Bindeprotokolle der quantitativen Rezeptorautoradiographie.	23
Tabelle 5: Genliste für die Transkriptomanalyse	27
Tabelle 6: Gehirnareale für die Transkriptomanalyse.....	28
Tabelle 7: Analysierte Gewebelöcke pro Areal	28
Tabelle 8: Mittlere Rezeptordichten der untersuchten Areale.	52
Tabelle 9: Nomenklatur in klassischen Hirnkarten.	70

Verzeichnis der Abkürzungen

STS	Sulcus temporalis superior
AV	Audiovisuelle Integration
ToM	Theory of Mind
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
ROI	Untersuchte Region (<i>Region of Interest</i>)
MTG	Gyrus temporalis medius
STG	Gyrus temporalis superior
BA	Brodmann Areal
GLI	Grey Level Index
MNI	Montreal Neurological Institute
AC	Anteriore Kommissur
PC	Posteriore Kommissur
MD	Mahalanobis Distanz
SD	Standardabweichung (<i>Standard Deviation</i>)
Pmap	Wahrscheinlichkeitskarte
MPM	Maximale Wahrscheinlichkeitskarte
FDR	Falscherkennungsrate (<i>False Discovery Rate</i>)

1. Einleitung

1.1. Lage und Funktion des Sulcus temporalis superior

Montagsmorgen. Es liegen zehn E-Mails im Postfach. Die heutige Gesellschaft fordert von uns ein hohes Maß an Kommunikationsfähigkeit. Dabei handelt es sich neurologisch um einen komplexen Vorgang. Die E-Mails müssen gelesen, verstanden und beantwortet werden. Das heißt, um mit anderen Menschen kommunizieren zu können, müssen die verschiedensten sensorischen Informationen verarbeitet werden. Gelingt diese Integration nicht, ist die Kommunikation stark eingeschränkt. Das zeigt sich beispielsweise an Autisten. Sie zeigen keine Schwierigkeiten beim Wahrnehmen der einzelnen Reize, doch können sie aus diesen Informationen keine Aussagen über den Gemütszustand des Gegenübers ableiten (Baron-Cohen et al., 1995). Das Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch Hypoperfusion des Gyrus temporalis superior (Gendry Meresse et al., 2005), Verlust der grauen Substanz im Sulcus temporalis superior, kurz STS (Boddaert et al., 2004) und einer veränderten Sulcusgeometrie (Levitt et al., 2003). Der STS ist einer der längsten Sulci im Gehirn. Er unterteilt den Temporallappen in den Gyrus temporalis superior (STG) und den Gyrus temporalis medius (MTG). Am caudalen Ende wird der STS vom Gyrus angularis umschlossen (Abbildung 1A). Lange Zeit war der STS nur eine Landmarke. In den letzten zwanzig Jahren rückte er durch Befunde neurologischer bildgebender Verfahren in den Fokus wissenschaftlicher Forschung. Die STS-Region ist an der Personenwahrnehmung beteiligt (Allison et al., 2000; Deen et al., 2015; Jabbi et al., 2015; Lahnakoski et al., 2012; Paulus et al., 2015). Das erklärt die Schwierigkeit von Autisten bei der Beurteilung von Gemütszuständen, die sich unter anderem aus einer veränderten Aktivierung des Sulcus temporalis superior für die Prozessierung der Blickrichtung (Pelphrey et al., 2005) und der Sprache (Gervais et al., 2004) ergeben. Durch funktionelle Magnetresonanz-Tomographie (fMRT) konnten weitere Funktionen des STS aufgedeckt werden: Der STS ist an der Verarbeitung von Sprache (Evans et al., 2014; Kyong et al., 2014; Shultz et al., 2012), Stimme (Belin et al., 2000; Pernet et al., 2015; Schall et al., 2015), Bewegung (Gilaie-Dotan et al., 2013; Herrington et al., 2011; Pelphrey et al., 2004; Thompson & Parasuraman, 2012; Wyk et al., 2009; Yovel & O'Toole, 2016), Gesichtserkennung (Engell & Haxby, 2007; Ethofer et al., 2013; Fox et al., 2009; Furl et al., 2015; Haxby et al., 2000; Pitcher et al., 2011), Theory of Mind (Dodell-Feder et al., 2011; Gallagher & Frith, 2003; Saxe, 2006) und an der audiovisuellen Integration beteiligt (Kreifelts et al., 2007; Matchin et al., 2014; Watson, Latinus, Charest, et al., 2014; Watson, Latinus,

Noguchi, et al., 2014). Wie in Abbildung 1B zu erkennen ist, gibt es eine funktionelle Zweiteilung des STS. Die Interpretation von Gemütszuständen, Gesichtern und Bewegung erfolgt im posterioren Teil des STS. Die Prozessierung der Sprache und die Personenwahrnehmung (ToM) sind hauptsächlich auf den mittleren und anterioren Teil beschränkt. Wie im folgenden Abschnitt dargestellt werden wird, lassen sich die beschriebenen Aktivierungen aber nur unzureichend mit den klassischen Hirnkarten lokalisieren.

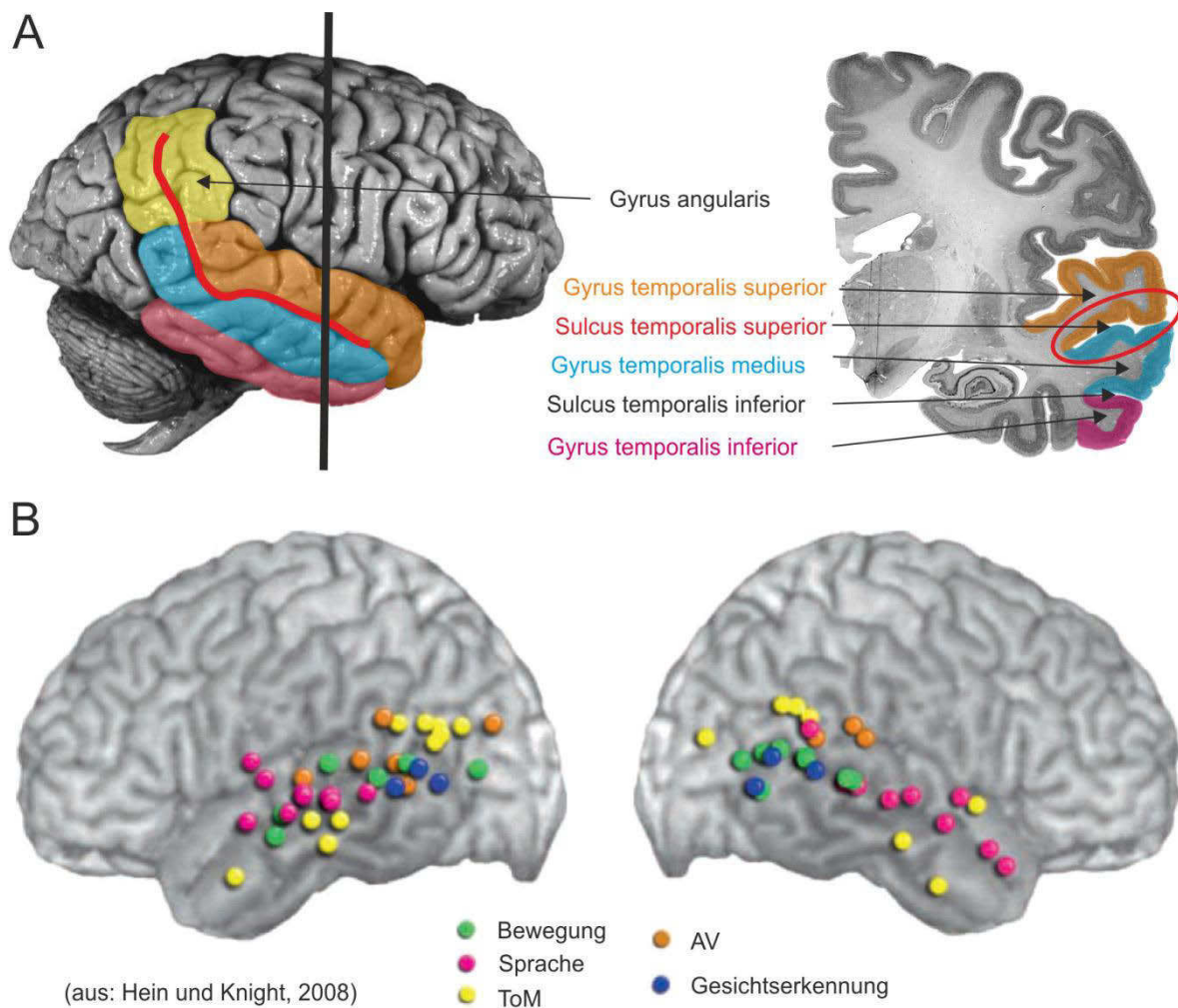


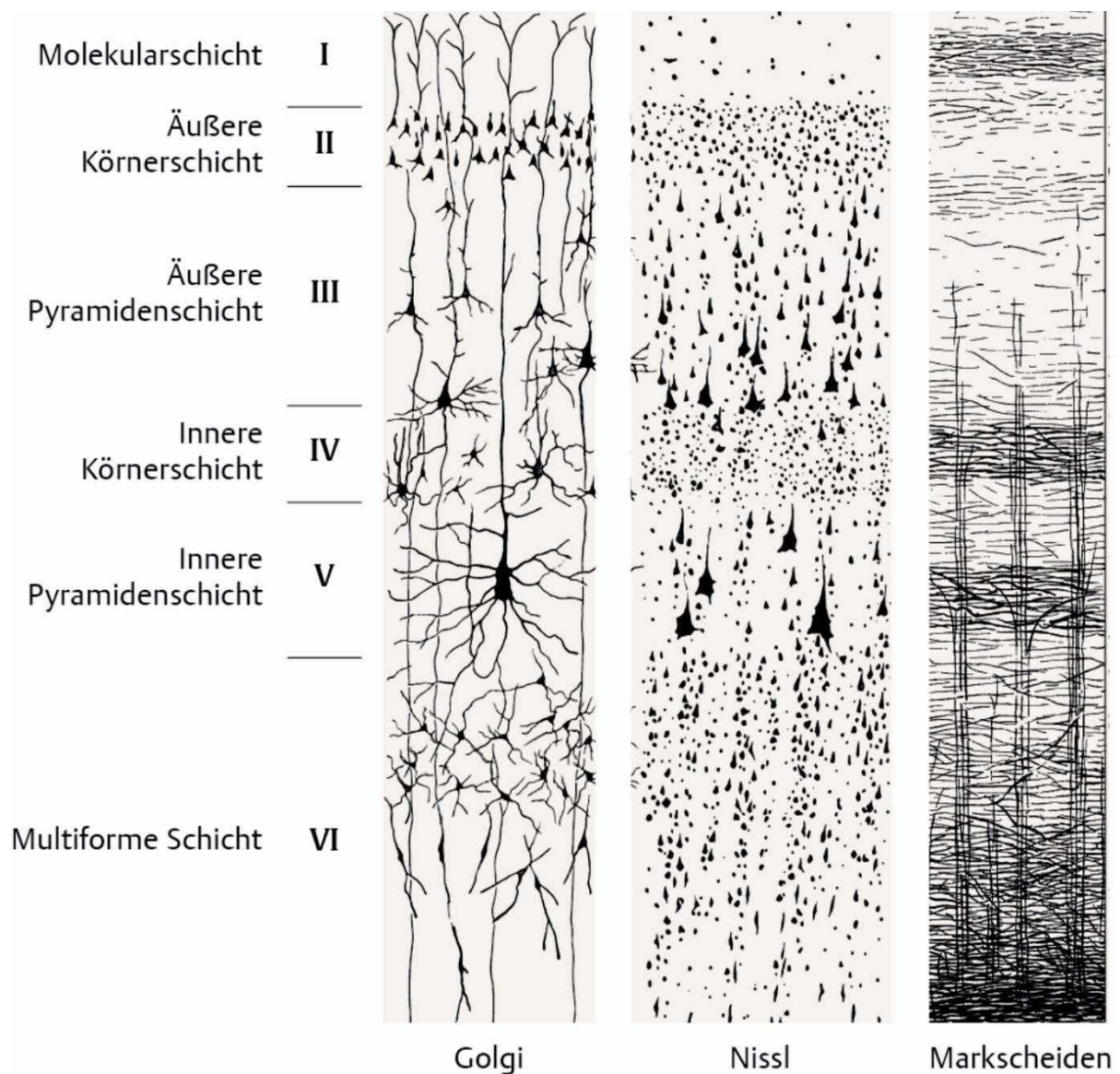
Abbildung 1: Übersicht über Lage und Funktionen des STS.

Übersicht über die Lage des STS und benachbarter Regionen (A). Dargestellt ist die rechte Hemisphäre eines Gehirns. Der Verlauf des STS wurde rot hervorgehoben. Die benachbarten Gyri wurden farblich markiert und benannt. An der markierten Stelle (schwarze Linie) wurden die Regionen auf dem rechts abgebildeten histologischen Schnitt dargestellt. Im unteren Teil der Abbildung sind die multimodalen Funktionen des STS dargestellt (B). Die farbigen Punkte geben verschiedene Loci aus fMRT Experimenten an. Der STS ist beteiligt an der Prozessierung von Sprache, Bewegung, Gesichtern, Theory of Mind (ToM) und der audiovisuellen Integration (AV).

1.2. Klassische Hirnkarten

Seit der Mitte des 19. Jahrhunderts entdeckten Ärzte durch Läsionen verschiedene Regionen im Gehirn und konnten sie einem Verhalten oder einer Funktion zuschreiben. Beispiele hierfür sind der Unfall des Eisenbahnarbeiters Phineas Gage, dessen Frontallappen durch einen Unfall geschädigt wurde und der daraufhin an Persönlichkeitsstörungen und Epilepsien litt (Damasio et al., 1994; Harlow, 1848), sowie die motorischen und sensorischen Aphasien, welche durch Broca (Broca, 1865) und Wernicke (Wernicke, 1874) beschrieben wurden. Doch es dauerte bis zum Anfang des 20. Jahrhunderts bis Gehirnnareale anhand ihres strukturellen Aufbaus auf Schnittserien kartiert wurden.

Die STS-Region gehört zum Isocortex. Es handelt sich entwicklungsgeschichtlich um den jüngsten Teil des Gehirns, der einen Großteil des Cortex einnimmt und sich durch seinen sechsschichtigen Aufbau auszeichnet. Ein Querschnitt durch den Isocortex ist in Abbildung 2 gezeigt. Die sechs Schichten definieren sich über die Art der Neuronen in der jeweiligen Schicht. Nach der zellarmen Molekularschicht folgt der typische Wechsel von Körner- und Pyramidenzellschichten. Zur weißen Substanz hin liegt die multiforme Schicht, die aus unterschiedlichen Zelltypen besteht. Ausgehend von der inneren Körnerschicht bezeichnet man vor allem in der Rezeptorarchitektur, wo eine genaue Schichtzuordnung schwieriger ist, den äußeren Cortexbereich als supragranulär, den inneren Cortexbereich als infragranulär. Außerdem ist in Abbildung 2 eine Markscheidenfärbung dargestellt, auf der die Axone der Neuronen angefärbt sind. Dadurch werden die Verbindungen innerhalb der Schichten (horizontale Fasern) und einzelner Areale (vertikale Fasern) sichtbar. In Schicht IV und V verlaufen breite Streifen horizontaler Faserbündel. Diese werden Baillarger-Streifen genannt. Die Unterschiede im Aufbau des Cortex kann man sich bei der Kartierung zu Nutze machen. Für die zytoarchitektonische Kartierung werden zellkörpergefärbte Schnitte benutzt. Die Abgrenzung der Areale geschieht aufgrund von Unterschieden der Zellgröße und Zelldichte, der Zellanordnung in den einzelnen Schichten, sowie der Breite der einzelnen Schichten. Bei der myeloarchitektonischen Kartierung, die auf der Markscheidenfärbung basiert, lassen sich die Areale nach dem Faserdurchmesser, der Faseranordnung und der Breite ihrer Schichtung unterscheiden. Abbildung 3C zeigt die myeloarchitektonische Kartierung des Temporallappens von Hopf (1954).



(Lüllmann-Rauch, 2015)

Abbildung 2: Sechsschichtiger Aufbau des Isocortex.

Schematisch dargestellt sind eine Ganzkörperfärbung (Golgi), eine Zellkörperfärbung (Nissl) und eine Zellfaserfärbung (Markscheiden). In den zellkörpergefärbten Schnitten sind deutlich die beiden Körner- und Pyramidenzellschichten zu erkennen. Pial liegt die zellarme Molekularschicht, zur weißen Substanz hin die multiforme Schicht. Rechts ist eine Markscheidenfärbung dargestellt. Zu erkennen sind Horizontalfasern, die Neurone der gleichen Schicht verbinden. Besonders prominent sind die Faserbündel in Schicht IV und V, die Baillargerstreifen genannt werden. Die Radiärfasern ziehen in die weiße Substanz und verbinden verschiedene Areale miteinander.

Die berühmteste zytoarchitektonische Karte wurde von Korbinian Brodmann (1909) veröffentlicht und findet noch heute Verwendung (siehe Abbildung 3A). Brodmann teilte das Gehirn in 43 Areale ein. Den STS kartierte er nicht, so dass diese Region meist dem Brodmann Areal 22 (BA22) zugeordnet wird, einer Struktur, die die hinteren zwei Drittel des STG einnimmt.

Sechzehn Jahre später veröffentlichten von Economo und Koskinas eine Hirnkarte (siehe Abbildung 3B) mit 102 Arealen (v. Economo & Koskinas, 1925). Von Economo und Koskinas lehnten ihre Unterteilung des Temporallappens an diejenige von Brodmann an. Ihrer Nomenklatur entsprechend liegt der STS zwischen Area TA (STG) und Area TE1 (MTG). Die TE Region wurde nur formal nach Brodmann in TE1 und TE2 eingeteilt, da sie als Teile derselben Formation angesehen wurden. Die Einteilung geht aber insofern über Brodmann hinaus, da sie die Grenze zwischen seinen beiden Arealen, TA und TE1, im Fundus des STS lokalisiert. TA nimmt die mittleren zwei Drittel des STG ein. Rostral wird das Areal TA von der Temporalregion TG begrenzt, die das vordere Viertel des Temporallappens bedeckt.

Hopf kartierte in seiner myeloarchitektonischen Arbeit (Hopf, 1954) ein Sulcusareal auf der oberen Bank des STS, das er Area profunda (pf in Abbildung 3C) nannte und zeigte damit, dass sich der STS weiter unterteilen lässt. Die mediale Grenze dieses Areals deckt sich mit der von Economo und Koskinas (1925). Es erstreckt sich vom Sulcusgrund ein Viertel, höchstens zur Hälfte auf die obere Bank des Sulcus. Eine rostrocaudale Ausdehnung gibt Hopf nicht explizit an. Die Länge der Area profunda deckt sich auf seinen koronaren Schnittbildern mit der Ausdehnung des Hippocampus.

1.3. Neuerungen in der Hirnkartierung

Die klassische Hirnkartierung hat mehrere Nachteile. Zum einen konnte die Einteilung der Areale von Dritten nicht immer reproduziert werden. Dies liegt nicht nur an der Subjektivität der Grenzziehung des Forschers, sondern auch daran, dass beispielsweise bei Brodmann nicht klar wird, ob mehr als ein Hirn kartiert wurde (Zilles & Amunts, 2010). Die Lage der Areale kann sich aber zwischen Individuen stark unterscheiden (Amunts et al., 2000). Des Weiteren war damals die Darstellung der Hirnkarten auf zweidimensionale Zeichnungen der Hirnoberfläche beschränkt. Das bedeutet, dass zwei Drittel der Hirnoberfläche in klassischen Karten nicht dargestellt werden konnten, weil sie in den Sulci liegen (Zilles et al., 1988).

Diese Nachteile überwindet die Darstellung der Areale in einem dreidimensionalen Gehirnatlas (Amunts & Zilles, 2015). Der Gehirnatlas basiert auf einer am Forschungszentrum Jülich und an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf entwickelten Arealkartierung die Bildanalyse-Methoden benutzt, um Arealaufbau und Arealgrenzen statistisch zu verifizieren (Schleicher et al., 1999; Schleicher et al., 2005; Zilles, Schleicher, et al., 2002). Diese computergestützte Methode der Gehirnkartierung ermöglicht die Analyse der Mikrostruktur verschiedener Areale auf objektiver Grundlage. Ein weiterer Vorteil ist die Darstellung im 3D-Referenzraum. Dazu wird die Lage der Areale von zehn kartierten Gehirnen auf ein individuelles Referenzgehirn übertragen (Collins et al., 1994; Evans et al., 1992; Holmes et al., 1998). In diesem Referenzraum kann durch Überlagerung die Auftrittswahrscheinlichkeit der Areale in jedem Voxel dargestellt werden. Diese Karten sind öffentlich zugänglich (www.jubrain.fz-juelich.de) und ermöglichen den direkten Vergleich mit Aktivierungen aus bildgebenden Studien (Eickhoff et al., 2005, 2007). Die zytoarchitektonischen Karten können durch die Einbeziehung weiterer Modalitäten bestätigt und um neue Arealeigenschaften erweitert werden. In Studien konnte gezeigt werden, dass sich die Verteilung der Rezeptorbindestellen an der Arealgrenze ändert (Amunts et al., 2010; Caspers et al., 2013; Palomero-Gallagher et al., 2009; Zilles & Amunts, 2009). Diese Unterschiede sind arealspezifisch und können mittels quantitativer Rezeptorautoradiographie untersucht werden. Dabei werden die mittleren Rezeptordichten eines Areals für 15 Rezeptortypen aus allen Transmittersystemen bestimmt. Da Rezeptoren an der elektrochemischen Signaltransduktion beteiligt sind, haben sie direkte funktionelle Relevanz. Somit kann man durch den Vergleich der Balance der Rezeptordichten verschiedener Areale erste Struktur-Funktionsbeziehungen herstellen (Zilles et al., 2015; Zilles, Palomero-Gallagher, et al., 2002).

Kürzlich zeigten mehrere Arbeitsgruppen, dass sich Gehirnregionen auch genetisch unterscheiden lassen. In Nagern konnte die regionenspezifische Genexpression durch *single-cell transcriptomics* nachgewiesen werden (Economo et al., 2018; Tasic et al., 2018; Zeisel et al., 2015). Im Menschen wurden die Transkriptomdaten des Allen Brain Atlases mit Hilfe der HCP Karte (Human Connectome Project) gefiltert und entlang einer postulierten kortikalen Hierarchie aufgetragen. Es zeigte sich eine graduelle Expression für verschiedene Gene beginnend vom visuellen bis zum präfrontalen Cortex (Burt et al., 2018). Diese Studien sind erste Versuche genetische Gradienten im Gehirn zu beschreiben. Mit Hilfe der JuBrain Karten, die die zytoarchitektonischen Korrelate zu den Gendaten liefern, ist es möglich die Microarray Daten in eine neuroanatomisch plausible Hierarchie einzuordnen.

1.4. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Aus früheren zytoarchitektonischen Studien (Morosan et al., 2005; Schleicher et al., 2005) ist bekannt, dass sich die STS-Region weiter unterteilen lässt, als dies in klassischen Karten dargestellt wurde. Deshalb ist es Ziel der vorgelegten Arbeit, den anterioren bis mittleren Bereich des STS mittels quantitativer Bildanalyse und statischer Verfahren zytoarchitektonisch zu kartieren. Die Lage der Areale soll rekonstruiert und dreidimensional in einem Referenzgehirn als Wahrscheinlichkeitskarte dargestellt werden. Diese Karten werden benutzt, um in einer funktionellen Metaanalyse die BrainMap Datenbank nach neuropsychologischen Studien zu durchsuchen. Somit können die neu kartierten Areale in einen funktionellen Zusammenhang gestellt und mit anderen auditorischen Arealen verglichen werden. Im zweiten Teil der Studie werden die Areale auf Rezeptorautoradiogrammen identifiziert und Beobachter-unabhängig nachgewiesen. Des Weiteren sollen die neurochemischen Eigenschaften der Areale beschrieben und als Balance der Rezeptordichten im sogenannten Rezeptor-Fingerprint für jedes Areal dargestellt werden. In einer Clusteranalyse werden die Rezeptor-Fingerprints der Areale mit denen bereits beschriebenen Arealen verglichen. Im dritten Teil der Studie wird die Genexpression für die ausgewerteten Rezeptoren untersucht und mit den Rezeptordichten der Areale verglichen. Außerdem soll gezeigt werden, ob sich die Areale anhand der Expression ihrer Rezeptorgene unterscheiden lassen. Die neu kartierten Areale werden als Teil des auditorischen Systems mit Arealen des visuellen und somatosensorischen Systems verglichen, um regionenspezifische Unterschiede herauszuarbeiten.

2. Methoden

2.1. Zytoarchitektonik

2.1.1. Histologische Prozessierung der Gehirne

Es wurden zehn Gehirne aus der Hirnsammlung der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf untersucht (Tabelle 1). Die Körperspender waren 37 bis 85 Jahre alt und gaben ihr Einverständnis zur Hirnentnahme. Die Spender hatten keine neurologischen Erkrankungen, bis auf Fall B09, der an einem Basalganglieninfarkt litt. Die Händigkeit der Personen ist unbekannt. Die Hirnentnahme erfolgte binnen 24 Stunden post mortem. Die Hirne wurden nach der Entnahme für mindestens drei Monate in 4%iger Formaldehydlösung oder Bodians Fixierlösung aufbewahrt. Danach wurden die Hirnhäute und Blutgefäße abpräpariert, bevor das Gehirn in Paraffin eingebettet wurde (siehe Protokoll: Paraffin Einbettung). Das komplette Gehirn wurde seriell geschnitten (20 µm Schnittdicke). Jeder fünfzehnte Schnitt wurde auf einen mit Gelatinelösung überschichteten Objektträger aufgezogen. Anschließend wurden die Zellkörper mit Silbernitrat angefärbt (Protokoll Zellkörperfärbung, Merker B (1983)). Die Schnitte wurden mit Propanol dehydriert und eingedeckelt. Die Areale wurden auf jedem sechzigsten Schnitt kartiert, was einem Abstand von 1,2 mm entspricht.

Tabelle 1: Liste der Hirne für die zytoarchitektonische Kartierung.

Hirnnummer	Geschlecht	Alter [Jahre]	Todesursache	Frischgewicht [g]
B01	weiblich	79	Harnblasen-Karzinom	1350
B03	männlich	69	multiple Hirninfarkte	1360
B04	männlich	75	nekrotisierende Glomerulonephritis	1349
B05	weiblich	59	kardiorespiratorische Insuffizienz	1142
B06	männlich	54	Herzinfarkt	1622
B07	männlich	37	Herzinfarkt	1437
B08	weiblich	72	Nierenversagen	1216
B09	weiblich	79	Cardiorespiratorische Insuffizienz	1110
B10	weiblich	85	Mesenterialinfarkt	1046
B13	männlich	39	Ertrinken	1234

Protokolle für die histologische Prozessierung der Gehirne

Paraffin Einbettung:

- Wässern für 4 Tage
- Entfernen der Hirnhäute
- Dehydration mit Isopropanol
 - 80% 7 Tage
 - 80% 7 Tage
 - 96% 7 Tage
 - 96% 7 Tage
 - 100% 3 Tage
 - 100% 4 Tage
 - 100% 3 Tage
 - 100% 5-7 Tage
- Inkubation mit Chloroform
 - 100% über Nacht
 - 100% 1 Tag
 - 100% 2 Tage
 - 100% 2 Tage
- Inkubation mit Chloroform (100%)+
Paraffin (Mp: 42-44 °C)
 - 8 Stunden
- Inkubation mit Paraffin-Mix
 - 1 Tag 62 °C
 - 1 Tag 62 °C
 - 3-5 Tage 62 °C
 - 5-7 Tage 62 °C
 - 21 Tage 62 °C
- Einbettung in Paraffin-Mix

Zellkörperfärbung:

- Fixierung mit 37%igem Formaldehyddampf über Nacht
- Deparaffinierung mit
 - Xylol 1 Stunde (5x dippen)
für 2-3 Stunden
 - 5 min in 100%, 96%,
Propanol 70%
- Waschen für 20-30 min
- Inkubation mit Ameisensäure
 - 4% 3 Stunden
 - +H₂O₂ über Nacht
- Waschen für 20-30 min
- Inkubation mit Essigsäure (1%) 2x 5min
- Entwicklerlösung A+B+C für 10-60 min
- Stopppad in Essigsäure (1%) für 4 min
- Waschen für 5 min
- Fixierung mit T-MAX (Kodak) für 2 min
- Waschen für 5 min
- Dehydration mit Propanol
 - 2x70% 1-2 min
 - 2x96% 1-2 min
 - 2x100% 1-2 min

Lösungen:

Paraffin-Mix	Paraffin (Mp: 42-44 °C)	500 ml
	Paraffin (Mp: 51-53 °C)	700 ml
	Bienenwachs (Mp: 62-65°C)	250 ml
Entwicklerlösung A	H ₂ O (bi-dest.)	1 l
	Natriumcarbonat	50 g
Entwicklerlösung B	H ₂ O (bi-dest.)	1 l
	Ammoniumnitrat	2 g
	Silbernitrat	2 g
	Wolframatokieselsäure	10 g
Entwicklerlösung C	H ₂ O (bi-dest.)	1 l
	Ammoniumnitrat	2 g
	Silbernitrat	2 g
	Wolframatokieselsäure	10 g
	Formaldehyde (37%)	7,3 ml
Entwicklerlösung A+B+C	Lösung A	1400 ml
	Lösung B	420 ml
	Lösung C	980 ml

2.1.2. Beobachter-unabhängige Untersuchung der Gehirnschnitte

Ausgangspunkt der Beobachter-unabhängigen Methode der Hirnkartierung ist die computergestützte Erzeugung eines Grauwertbildes (*grey level index*, GLI-Bild), das die Neuronendichte des Gehirnschnittes in Graustufen widerspiegelt.

2.1.2.1. Erzeugung der GLI Bilder

Auf den Hirnschnitten wurde die untersuchte Region rechteckig markiert (*Region of Interest* =ROI, siehe Abbildung 4). Die Region wurde an einem Lichtmikroskop (Axioplan 2 imaging, Zeiss) mit automatischem Schlitten und aufmontierter CCD-Kamera (AxioCamMRm, Zeiss) digitalisiert, indem Zeile für Zeile Einzelbilder aufgenommen wurden, die anschließend von der Bildbearbeitungssoftware (Axiovision, Zeiss) zu einem kompletten Mikroskopbild zusammengesetzt wurden. Das digitalisierte Bild wurde anschließend mit einer im Forschungszentrum Jülich entwickelten MatLab-Software (The MathWorks Inc., Natick, USA) in ein GLI-Bild umgewandelt (siehe Abbildung 5). Dafür wurde das Mikroskopbild zur besseren Detektion der Zellen zweimal gefiltert (Gauss-Filter mit den Radien von 1 Pixel und 40 Pixel). Die beiden Bilder wurden voneinander subtrahiert, mit einem individuell berechneten Schwellwert segmentiert (Abb. 5B) und als binäres Bild gespeichert (Abb. 5C). Legt man dieses Bild über das Originalbild (Abb. 5D), so erkennt man, dass nahezu alle Zellen erfasst wurden. Das binäre Bild wird in ein Raster von 16 mal 16 μm eingeteilt (Abb. 5E). Für jedes Kästchen des Rasters wird das Verhältnis von Neuronen zu Neuropil berechnet und als Grauwert dargestellt. Das resultierende GLI-Bild ist in Abbildung 5F dargestellt (Bludau et al., 2014).

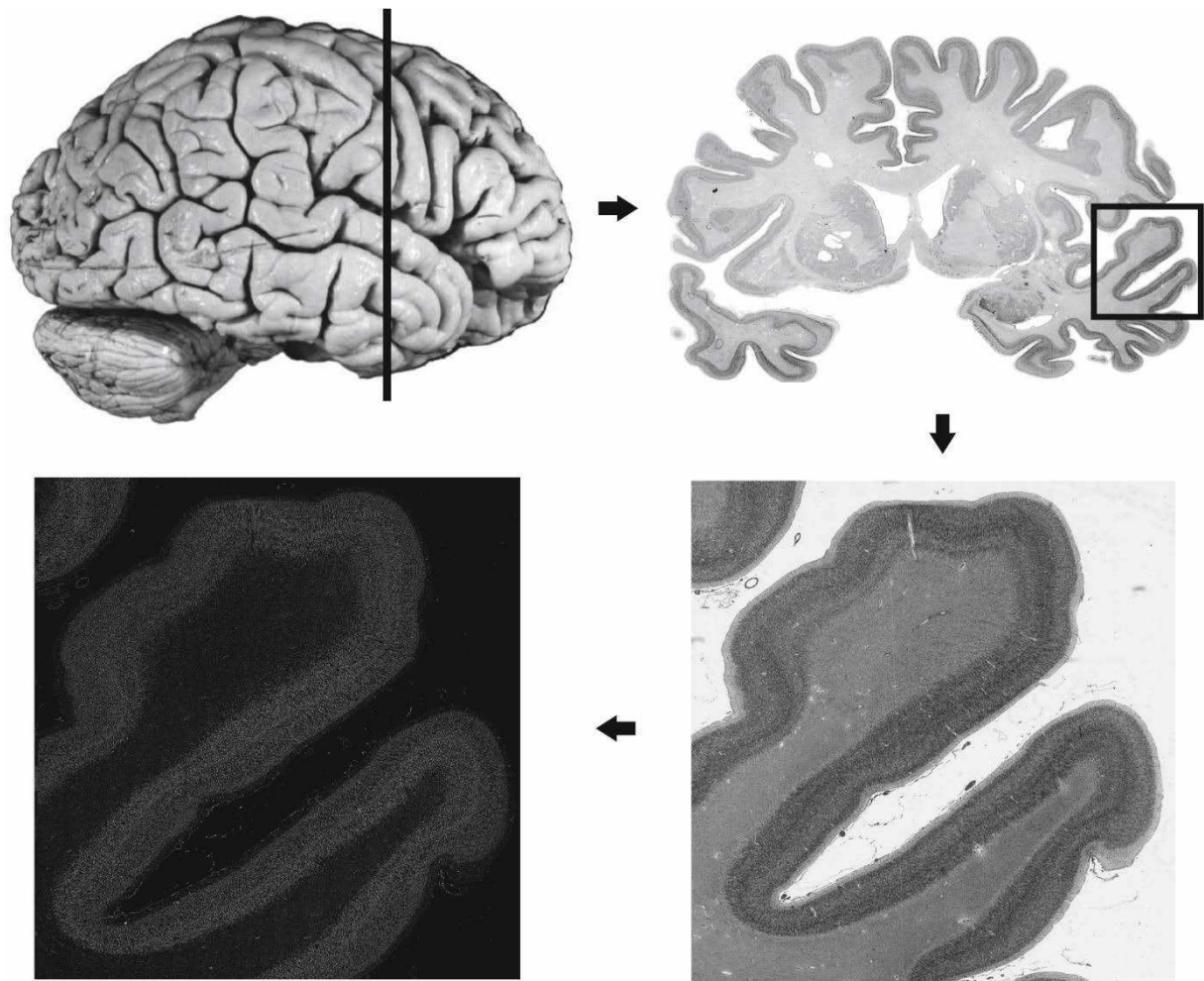


Abbildung 4: Erstellung eines GLI-Bildes.

Das Gehirn wurde in 5500-7500 Schnitte geschnitten ($20\text{ }\mu\text{m}$). Die schwarze Linie gibt die Position des gezeigten Schnittes an. Auf diesem Schnitt wurde die ROI (schwarzer Kasten) eingezeichnet und hochauflösend gescannt ($1\text{ }\mu\text{m}/\text{Pixel}$). Dieser gescannte Bereich wurde mit einem hauseigenen Matlab Code in ein GLI-Bild konvertiert. Dieses GLI-Bild ist die Grundlage für die Beobachter-unabhängige Analyse und dient der Erstellung von mittleren Profilen und der Grenzfindung.

Der Vorteil der GLI-Methode ist, dass sie den Einfluss der Färbintensität von Gehirnschnitten minimiert, da das Verfahren auf der Zellpackungsdichte basiert. Glia- und Epithelzellen werden auch angefärbt und detektiert. Sie zeigen aber keine oder nur zu vernachlässigende laminäre oder arealspezifische Unterschiede und beeinflussen so die Analyse nicht (Tower, 1973; Wree et al., 1982).

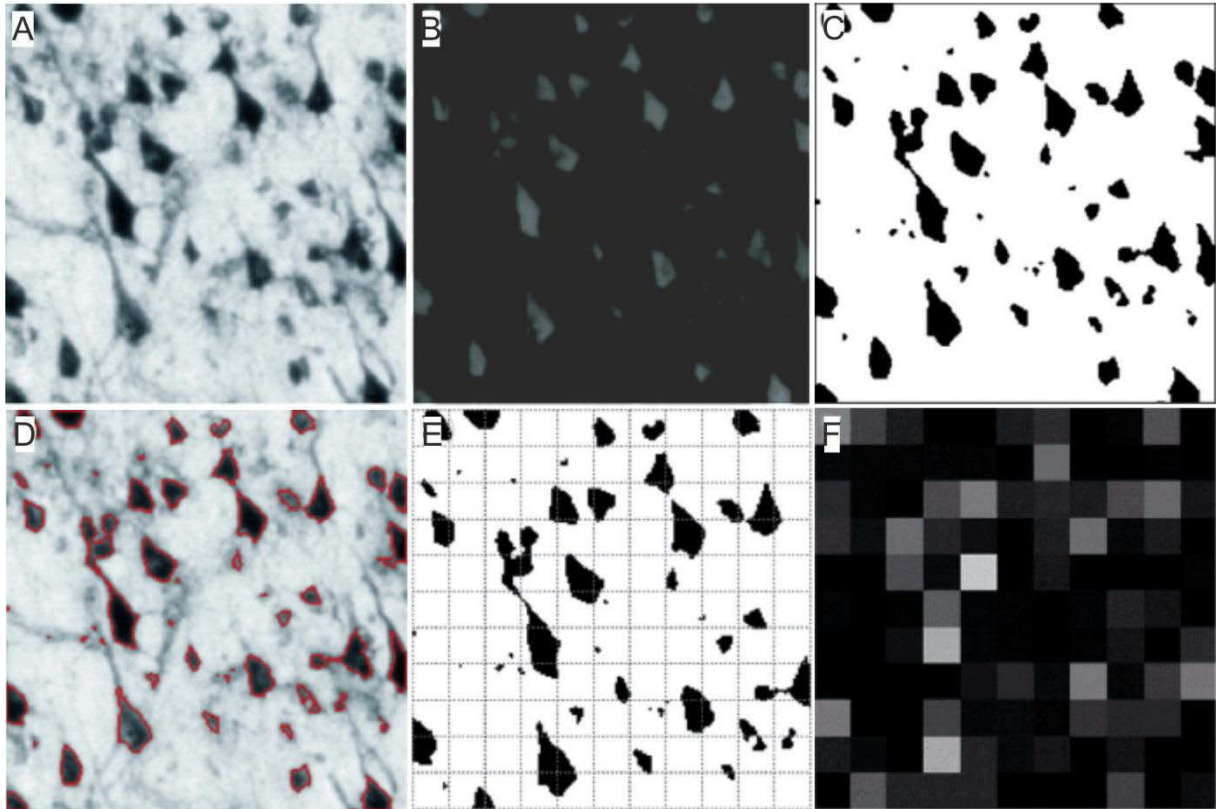


Abbildung 5: Konvertierung eines Mikroskopbildes in ein GLI-Bild.

Bild A zeigt einen Cortexausschnitt in der Auflösung von 1 $\mu\text{m}/\text{Pixel}$. Zur besseren Zellerkennung wird das Bild gefiltert (B; Gauss-Filter, $r=1\text{px}$, $r=40\text{px}$). Die beiden gefilterten Bilder werden voneinander subtrahiert. Bild C zeigt das resultierende binäre Bild. Legt man dieses Bild über das Mikroskopbild (D), erkennt man, dass die Zellerkennung erfolgreich war. Das binäre Bild wird mit einem Gitter mit 16 μm Kantenlänge überlagert (E). Für jedes Feld des Gitters wird der Prozentsatz an Neuronen zu Neuropil berechnet und in Graustufen kodiert. Diese einzelnen Felder bilden die Pixel des GLI-Bildes (F). Abbildungen aus Bludau et. al 2014.

Das GLI-Bild gibt die relative Neuronendichte in jedem Punkt des Mikroskopbilds an, sie kann automatisch mit den hauseigenen MatLab-Programmen analysiert werden und bildet die Grundlage für die Beobachter-unabhängige Methode. Diese besteht aus der Profilanalyse und der Grenzfindung.

2.1.2.2. Profilanalyse

In der quantitativen Analyse wird das GLI-Bild benutzt, um die Zellpackungsdichte über die kortikale Tiefe darzustellen. Dieser Graph heißt Profil. Es wird erstellt, indem auf dem digitalisierten ROI manuell eine äußere (zwischen Schicht I und II) und eine innere Konturlinie (an der Grenze zur weißen Substanz) eingezeichnet wird. Rechtwinklig zu diesen Konturlinien werden automatisch Profillinien erzeugt. Entlang dieser Profillinien wird der GLI-Wert gegen die kortikale Tiefe aufgetragen. Das Profil bildet die Zellpackungsdichte der einzelnen Lamina und deren Breite ab und ermöglicht dadurch die objektive Charakterisierung der Mikrostruktur

der Areale. Da die kortikale Dicke verschiedener Areale variiert, wird die Cortextiefe auf 100% normiert. Anschließend wird ein Block aus 15 Profilen zu einem mittleren Profil zusammengefasst. Dies geschieht für jedes Areal an drei Stellen in der jeweiligen Hemisphäre. Alle extrahierten mittleren Profile für ein Areal werden über die zehn Gehirne gemittelt. Die Form des mittleren Profils wird mathematisch durch einen 10-dimensionalen Merkmalsvektor, bestehend aus Standardabweichung, Mittelwerten in x- und y- Richtung, Kurtosis, Schiefe und deren erster Ableitung, beschrieben. Aus diesen Werten können in der Diskriminanzanalyse die größten Unterschiede in den Profilen bestimmt werden. Die strukturelle Ähnlichkeit der Areale wird in einer Clusteranalyse berechnet. Dazu wird die euklidische Distanz der Merkmalsvektoren der Arealprofile bestimmt und nach der Ward Methode (Ward, 1963) zu Clustern gruppiert. Das Ergebnis der Clusteranalyse wird in einem Dendrogramm visualisiert.

2.1.2.3. Grenzfindung

Für die Bestimmung der Grenzen werden, analog zu der Profilanalyse, auf dem gescannten Mikroskopbild Konturlinien eingezeichnet und automatisch Profillinien erstellt. Blöcke von benachbarten Profilen (Blockweiten von 12-24 Profilen) werden zu mittleren Profilen zusammengefasst und durch den 10-dimensionalen Merkmalsvektor beschrieben. Mit der Mahalanobis-Funktion (Mahalanobis et al., 1949) (Formel 1) wird die Distanz benachbarter Profilblöcke bestimmt. Dazu werden die Profilblöcke über den zu untersuchenden Cortextbereich fortlaufend um eine Position verschoben (*sliding window* Verfahren) und an jeder Profilposition wird die Mahalanobis-Distanz (MD) der Profile aus dem mittleren Merkmalsvektor x_i bestimmt.

$$D_i^2 = (x_i - x_{i+1})' \cdot C_{i,i+1}^{-1} \cdot (x_i - x_{i+1}) \quad (\text{Formel 1})$$

$C_{i,i+1}^{-1}$ = Inverse der Varianz-Covarianz Matrix des Merkmalsvektors
 x_i = Mittelwertsvektor
 D_i^2 = Mahalanobis Distanz

Die MD-Funktion eignet sich besser als die Euklidische Distanz zum Nachweis der Arealgrenzen, da sie sensitiv auf plötzliche Änderungen im laminären Aufbau des Cortex reagiert und insensitive gegenüber allmählichen Änderungen ist, wie sie sich durch geometrische Veränderungen des laminären Musters an Faltungen des Cortextbandes ergeben. Maxima in der Mahalanobis-Funktion geben mögliche Grenzen an (siehe Abbildung 6A), die mit dem Hotellings T²-Test und der Bonferroni-Korrektur ($p \leq 0,01$) auf Signifikanz getestet werden.

Um die Lage der Arealgrenze zu verifizieren, wurden die Blockweiten geändert und erneut mit der MD-Funktion getestet. Nur Grenzen die für mindestens drei Blockweiten (6B) und in drei aufeinanderfolgenden Schnitten an derselben Stelle zu finden waren wurden akzeptiert.

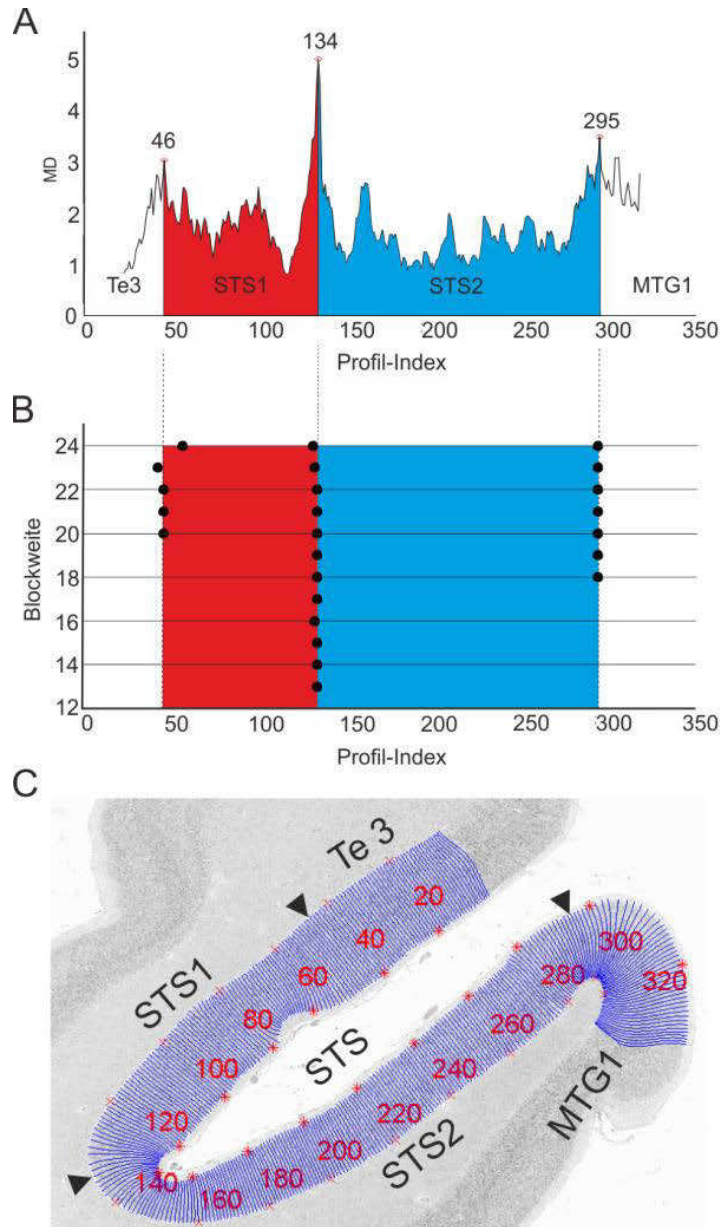


Abbildung 6: GLI-basierte Grenzfindung.

Die MD-Funktion gibt die Unähnlichkeit benachbarter Profilblöcke an. An Profilposition 46, 134 und 295 ist sie am größten. Diese Maxima in der MD-Funktion geben mögliche Grenzen an (A). Die Lage der Grenze wurde für andere Blockweiten überprüft und nur akzeptiert, wenn sie für mehr als drei Blockweiten gefunden wurden (B). Die Lage der Grenzen wurde auf dem Mikroskopbild (C) durch schwarze Pfeilspitzen markiert. Die Areale, die sie abgrenzen, wurden benannt.

2.1.3. Rekonstruktion und Berechnung der Wahrscheinlichkeitskarten

2.1.3.1. 3D-Rekonstruktion der Areale

Waren die Arealgrenzen für ein Gehirn belegt, wurden die Grenzen auf hochaufgelösten Scans jedes 60sten histologischen Schnitts mit der hauseigenen Software Sectiontracer eingezeichnet. Danach erfolgte die 3D-Rekonstruktion der Areale. Für die Rekonstruktion der Gehirne im dreidimensionalen Raum standen drei Datensätze zur Verfügung. Ein MRT-Volumendatensatz des Gehirns vor dem Schneiden, ein Bild des Gehirnblocks vor jedem 60. Schnitt (*Blockface*) und hochaufgelöste Scans von jedem 15. Schnitt. Die hochaufgelösten Scans der Gehirnschnitte wurden mit einer institutseigenen Software durch lineare und nicht-lineare Transformationen an den Volumendatensatz angepasst. Damit konnten die Deformationen, die durch die histologische Prozessierung der Gehirne entstanden, beseitigt werden. Die gleichen Transformationsvorschriften wurden auf die Scans mit den eingezeichneten Arealgrenzen angewendet, um die dreidimensionale Lage der Areale zu rekonstruieren.

2.1.3.2. Berechnung der Arealvolumen

Für die individuellen Gehirne wurde das Arealvolumen berechnet (Formel 2). Da die Gehirne je nach Alter, Geschlecht, Krankheit und Präparationsmethode unterschiedlich schrumpfen, wurde für jedes Gehirn ein individueller Schrumpfungsfaktor berechnet, der die Schrumpfung der Areale durch die histologische Präparation korrigiert (Amunts et al., 2007). Die Schrumpfungsfaktoren wurden aus dem Verhältnis von Frischvolumen und Volumen nach der Fixierung berechnet. Dabei wurde das Frischvolumen aus dem Frischgewicht abgeschätzt, da die Dichte des Gehirns mit 1.033 g/mm³ bekannt ist (Amunts et al., 2005; Kretschmann, 1971).

Das Volumen der Areale wurde wie folgt berechnet:

$$V = s \cdot T \cdot x \cdot y \cdot \sum A_i \cdot F \quad (\text{Formel 2})$$

V = Volumen des Areal [mm³]

s = Anzahl der Schnitte zwischen den Scans der eingezeichneten Areale (s=60)

T = Dicke des Schnitts (20µm)

x,y = Länge und Breite des Pixels (21,2 µm)

A_i = Arealfläche in Pixeln an allen gemessenen Schnitten

F = Schrumpfungsfaktor

Die Volumina der Areale wurden auf das Gesamtvolumen des jeweiligen Gehirns normiert, um individuelle Größenunterschiede auszugleichen. Diese normierten Volumina wurden mit einem Permutationstest ($n = 1000000$) mit Bonferroni-Korrektur ($p \leq 0,05$) für multiple Vergleiche auf Geschlechts- und Hemisphärenunterschiede untersucht.

2.1.3.3. Erstellen der Wahrscheinlichkeitskarten

Anschließend wurden die Areale der zehn rekonstruierten Hirne auf ein individuelles MNI (Montreal Neurological Institute)-Standardgehirn transformiert. Dazu wurden die Gehirne mit Hilfe von affinen Transformationen skaliert, rotiert und geschert und anschließend elastisch auf das Referenzgehirn angepasst (Hömke, 2006). Die Gehirne wurden an der AC-PC-Linie (AC=anteriore Kommissur; PC=posteriore Kommissur) ausgerichtet. Dazu wurden sie 4 mm caudal und 5 mm dorsal in den anatomischen MNI-Referenzraum verschoben (Amunts et al., 2005). Durch Überlagerung der Karten im MNI-Referenzraum wurden die Wahrscheinlichkeitskarten (pmaps) erstellt, die die individuelle Variabilität der Areale aufzeigen. Die Auftrittswahrscheinlichkeit wurde farbkodiert. Der Farbbereich erstreckt sich von blau ($n = 1$) bis rot ($n > 8$) und gibt an, in wie vielen Gehirnen ein Areal in einem bestimmten Voxel zu finden war. In den Pmaps überlappen die Areale. Deshalb wurde aus den Wahrscheinlichkeitskarten eine nicht überlappende maximale Wahrscheinlichkeitskarte (MPM) berechnet, die jedem Voxel das Gehirnareal mit der größten Wahrscheinlichkeit zuordnet (Eickhoff et al., 2005a). Diese maximalen Wahrscheinlichkeitskarten können mit bildgebenden neurologischen Studien verglichen werden und dienen zur Berechnung der funktionellen Metaanalyse.

2.1.4. Funktionelle Metaanalyse der Gehirnnareale

Um statistisch valide Aussagen über die Funktionen der Gehirnnareale zu treffen, wurde auf Basis der maximalen Wahrscheinlichkeitskarten eine funktionelle Metaanalyse erstellt. Datengrundlage für die Analyse waren 7937 Studien mit gesunden Probanden aus der BrainMap Datenbank (www. brainmap.org; Fox PT et al.(2005); Laird AR et al. (2009)). In dieser Datenbank sind die Aktivierungsloci aus den bildgebenden Studien mit Metadaten verknüpft, wie zum Beispiel mit den psychologischen Tests der Experimente. Die verschiedenen psychologischen Tests sind den fünf behavioralen Domänen Kognition, Motorik, Emotion, Selbstwahrnehmung und Wahrnehmung zugeordnet, die weiter in psychologische Kategorien unterteilt werden (z.B. figurative Sprache, ToM etc.). Diese

Kategorisierung erleichtert die funktionelle Zuordnung der Areale und wurde für die funktionelle Analyse der Areale benutzt.

Mit der SPM Anatomy Toolbox (Eickhoff SB et al. (2007); Link zur Toolbox https://www.fz-juelich.de/SharedDocs/Downloads/INM/INM-7/DE/SPM_Toolbox/Toolbox_22c.html) wurde nach Studien in der BrainMap Datenbank gesucht, die Aktivierungen in den zytoarchitektonischen Arealen aufwiesen (zusammengestellt in Tabelle 2). Die ausgewählten Studien lieferten die psychologischen Kategorien, die für jedes Areal statistisch getestet wurden (Vorwärts- und Rückwärtsinferenz). Dabei wurde überprüft, ob eine Aktivierung im Areal wahrscheinlicher ist als die Grundwahrscheinlichkeit für eine Aktivierung in der gesamten Datenbank (Eickhoff et al., 2011; Langner et al., 2015). Dazu wurden Binominaltests angewendet ($p < 0,05$) und für multiple Vergleiche korrigiert (Falscherkennungsrate (FDR); $p < 0,05$). Außerdem wurden mittels Kontrast- und Konjunktionsanalysen die Unterschiede der Areale und die Lateralisierung innerhalb eines Areals untersucht. Der Schwellwert für diese quantitativen Analysen lag bei $p < 0,05$ und wurde für multiple Vergleiche Bonferroni korrigiert ($p < 0,05$).

Tabelle 2: Anzahl der BrainMap Experimente pro Areal.

Für jedes Areal wurden außerdem die Probandenzahl und die Aktivierungen im Areal angegeben (Foci).

Areal	Experimente	Subjekte	Foci
TI rechts	89	1286	1347
TI links	90	1354	1286
TeI rechts	141	1964	2014
TeI links	177	2673	2866
Te1 rechts	186	2738	2636
Te1 links	338	4708	4529
Te2.1 rechts	152	2200	2182
Te2.1 links	286	4115	3497
Te2.2 rechts	334	4673	4499
Te2.2 links	370	5242	4872
Te3 rechts	402	5766	5300
Te3 links	219	3442	2985
STS1 rechts	263	3752	3349
STS1 links	319	4829	4020
STS2 rechts	233	3540	3016
STS2 links	234	3652	3316

2.2. Rezeptorarchitektonik

2.2.1. Prozessierung der Rezeptorhirne

Es wurden sechs Hemisphären von vier Körperspendern untersucht (Tabelle 3). Die Personen waren 72 bis 79 Jahre alt und neurologisch und psychisch gesund. Sie willigten in die Gehirnentnahme ein. Vom entnommenen Gehirn wurden das Kleinhirn und der Hirnstamm entfernt und die Hemisphären getrennt. Jede Hemisphäre wurde in 5-6 ca. 3 cm dicke Scheiben geschnitten. Diese wurden für 10 bis 15 Minuten in -50 °C kaltes Isopentan eingetaucht, bevor die Gehirnscheiben bei -70 °C in luftdichten Plastikbeuteln gelagert wurden. Vor dem Schneiden wurden die Gehirnscheiben auf -20 °C erwärmt und bei dieser Temperatur in einem Cryomikrotom seriell geschnitten. Die Schnittdicke betrug 20 µm. Die Schnitte wurden auf Gelatine überzogenen Objektträgern aufgezogen und über Nacht gefriergetrocknet. Aufeinanderfolgende Schnitte wurden jeweils mit einem anderen Rezeptorliganden inkubiert.

Tabelle 3: Liste der Hemisphären für die quantitative Rezeptorautoradiographie.

Hirn	Hemisphäre	Alter	Geschlecht	Todesursache	post mortem Zeit (h)
1	rechts	72	männlich	Herzinfarkt	8
2	links/rechts	78	männlich	Multiorganversagen	12
3	links/rechts	75	weiblich	Bronchial-Karzinom	16
4	rechts	79	männlich	Chronische Herzinsuffizienz	12

2.2.2. Rezeptorbindung und Erstellen der Autoradiogramme

Die Rezeptorbindung erfolgte in drei Schritten (zusammengefasst in Tabelle 4): In der Präinkubation wurden die Schnitte rehydriert und an das Puffermilieu angepasst. Reste von Neurotransmittern wurden bei diesem Schritt aus dem synaptischen Spalt entfernt. In der Hauptinkubation wurde der Schnitt mit dem radioaktiv markierten Liganden versetzt (totale Bindung). Zusätzlich wurde in einem zweiten Ansatz dem Puffer in 1000-fachem Überschuss Inhibitor zugegeben. Dieser sättigt die Rezeptorbindestellen ab, das heißt der radioaktiv markierte Ligand bindet nur noch unspezifisch an das Gewebe, beispielsweise an Blutgefäße. Die spezifische Bindung des Liganden an den Rezeptor ergibt sich aus der Differenz der totalen und der unspezifischen Bindung. Da die unspezifische Bindung des Liganden an die Schnitte kleiner als 5 % war, ist die totale Bindung eine gute Näherung für die spezifische Bindung. Der anschließende Waschschrift in Pufferlösung stoppte die Bindung und entfernte die nicht

gebundenen radioaktiv markierten Liganden vom Schnitt. Danach wurde der Puffer mit destilliertem Wasser entfernt, da eine Salzkruste auf dem Schnitt das Signal des radioaktiven Liganden blockieren würde. Ein β -sensitiver Film (Kodak, Biomax) wurde mit den getrockneten Schnitten und einem Plastikstandard bekannter radioaktiver Konzentration (Microscale, Amersham) für 9-15 Wochen exponiert. Nach der Entwicklung der Filme wurden die Filmfolien mit einer CCD-Kamera (Sony, Japan; 1924 x 1459 Pixel; 27,2 μ m/Pixel) in 256 Graustufen digitalisiert. Die Auswertung erfolgte mit dem Bildanalysesystem KS400 (Zeiss, Germany). Der Prozess der Autoradioradiographie ist nachzulesen bei Zilles (2002) und soll deshalb nur kurz erläutert werden. Die Radioaktivität schwärzt den Film. Die Schwärzung des Films hängt nicht-linear von der Radioaktivitätskonzentration ab. Deshalb berechnete man aus der Eichkurve des Plastikstandards die Rezeptordichten [fmol/mg Protein] des Autoradiogramms (siehe Abbildung 7).

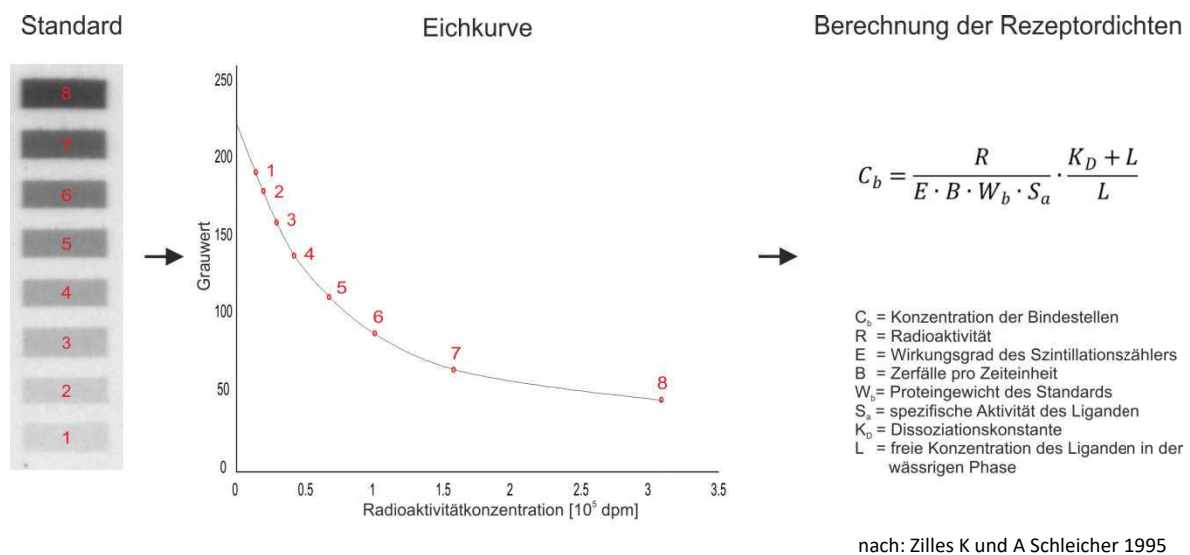


Abbildung 7: Berechnung der Rezeptordichten.

Aus den bekannten Radioaktivitätskonzentrationen des Standards wurde eine Eichkurve erstellt. Die hyperbolische Eichkurve weist jeder Radioaktivitätskonzentration einen Grauwert zu. Die Grauwerte des Autoradiogramms wurden mit Hilfe der Eichkurve in Radioaktivitätskonzentrationen (R) umgerechnet. Diese Konzentrationen wurden in die oben stehende Formel eingesetzt, um die Konzentration an Rezeptorbindestellen zu berechnen.

In einem weiteren Schritt wurden den Konzentrationen der Rezeptorbindestellen (C_b) linear Grauwerte von 0 (schwarz) bis 255 (weiß) zugewiesen. Das entstandene linearisierte Bild wurde anschließend mit den hausinternen MatLab-Skripten kontrastverstärkt und zur besseren Unterscheidung der Rezeptordichten pseudokoloriert. Dazu wurde den steigenden Rezeptorkonzentrationen ein individuell skaliertes Farbbereich von blau bis rot zugewiesen.

Parallel zur Rezeptorautoradiographie wurde ein Schnitt aus jedem Set an Rezeptorschnitten zellkörpergefärbt. Das ermöglicht die zytoarchitektonische Überprüfung der rezeptorarchitektonischen Areale. In einem weiteren Schnitt wurden die Markscheiden nach Gallyas (1979) angefärbt. Der Prozess der Autoradiographie, vom entnommenen Gehirn zum pseudokolorierten Schnitt, ist schematisch in Abbildung 8 dargestellt.

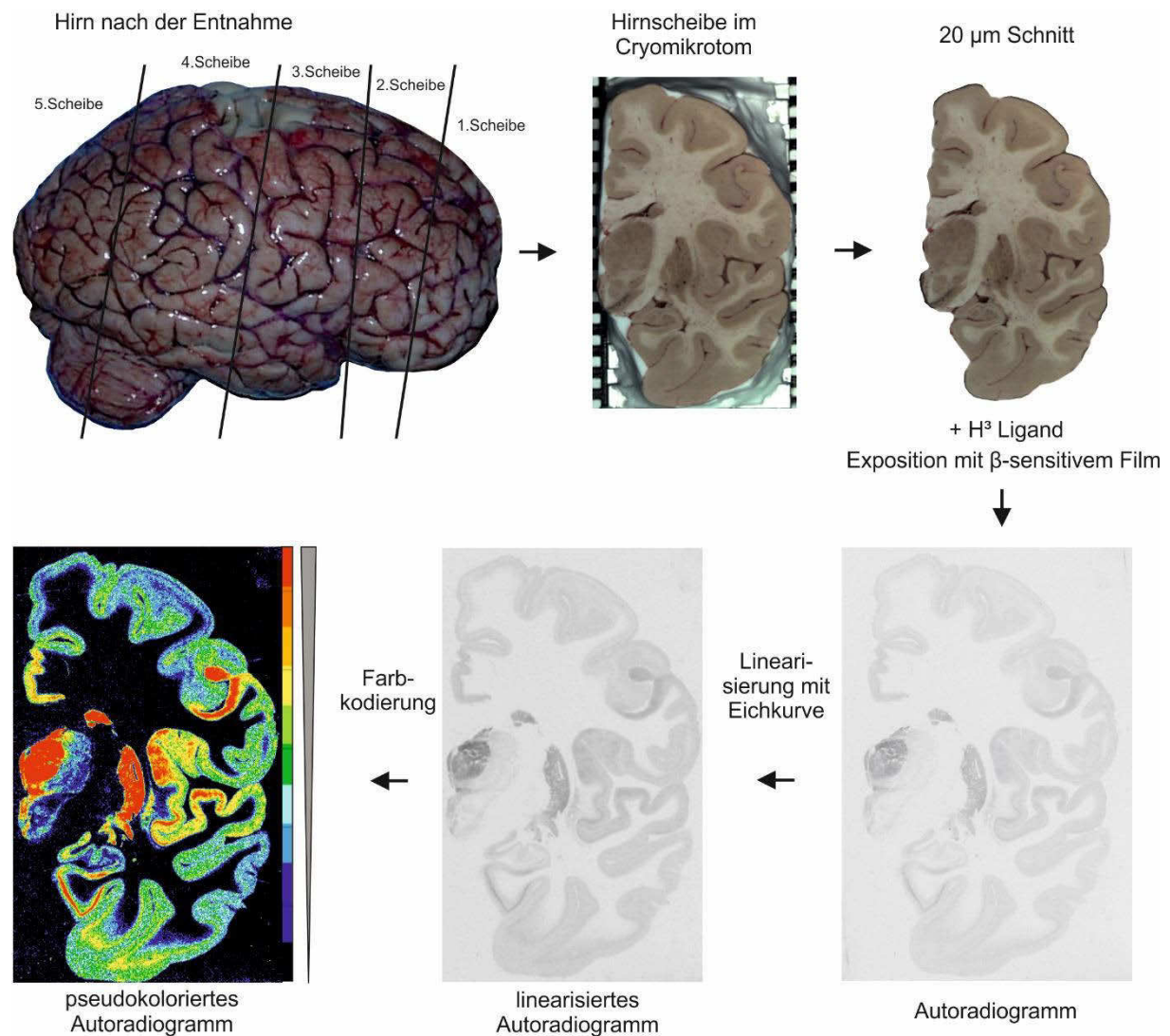


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Rezeptorautoradiographie.

Das Gehirn wurde nach der Entnahme in die Hemisphären geteilt und in ca. 3cm dicke Scheiben geschnitten. Die Hirnscheiben wurden im Cryomikrotom bei -20°C geschnitten (oben Mitte). Die 20 µm Schnitte wurden mit dem radioaktiv markierten Liganden inkubiert. Ein β-sensitiver Film wurde mit dem radioaktiven Schnitt und dem Plastikstandard für 9-15 Wochen exponiert. Das Autoradiogramm wurde mittels Eichkurve linearisiert und zur besseren visuellen Beurteilung pseudokoloriert. In dieser Darstellung kodieren warme Farben für hohe, kalte Farben für niedrige Rezeptorkonzentrationen.

Transmitter-system	Rezeptor	Pharmakologie	Ligand	Kompetitor	Inkubationspuffer	Vorinkubation	Hauptinkubation	Wasschritt	Exposition (in Wochen)
Glutamat	AMPA	Agonist	[³ H]AMPA [10 nM]	Quisqualate [10 µM]	50 mM Tris-acetat (pH 7,2) [+ 100 mM KSCN]*	3x10 min, 4°C	45 min, 4°C	4x4 sec in Puffer (4°C), 2x2 sec mit Aceton/Glutaraldehyd fixieren (4°C)	15
	Kainat	Agonist	[³ H]Kainat [9,4 nM]	SYM 2081 [100 µM]	50 mM Tris-acetat (pH 7,1) [+ 10 mM Ca-acetat]*	3x10 min, 4°C	45 min, 4°C	3x4 sec in Puffer (4°C), 2x2 sec mit Aceton/Glutaraldehyd fixieren bei RT	12
	NMDA	Antagonist	[³ H]MK801 [5 nM]	(+)-MK-801 [100 µM]	50 mM Tris-HCl (pH 7,2) [+ 30 µM Glycin + 50 µM Spermidin]*	15 min, RT	60 min, RT	2x5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	12
GABA	mGlu R2/3	Antagonist	[³ H]LY341,495 [1 nM]	L-Glutamat [1 mM]	10 mM Phosphat-Puffer (pH 7,6) [+ 100 mM KBr]*	2x5 min, RT	60 min, 4°C	2x5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	10
	GABA _A	Agonist	[³ H]Muscimol [7,7 nM]	GABA [10 µM]	50 mM Tris-citrat (pH 7,0)	3x5 min, 4°C	40 min, 4°C	3x3 sec in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	12
	GABA _B	Antagonist	[³ H]CGP 54626 [1,5 nM]	CGP 55845 [100 µM]	50 mM Tris-HCl (pH 7,2) + 2,5 mM CaCl ₂	3x5 min, 4°C	60 min, 4°C	3x2 sec in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	10
Acetylcholin	Benzodiazepin	kompetitiver Antagonist	[³ H]Flumazenil [1 nM]	Clonazepam [2 µM]	170 mM Tris-HCl (pH 7,4)	15 min, 4°C	60 min, 4°C	2x1 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	9
	Nicotin	Agonist	[³ H]Epibatidin [0,5 nM]	Nicotindihydrogentartrat [100 µM]	15 mM Hepes-Tris (pH 7,5) + 120 mM NaCl + 5,4 mM KCl + 0,8 mM MgCl ₂ + 1,8 mM CaCl ₂	20 min, RT	90 min, RT	5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	15
	M ₁	Antagonist	[³ H]Pirenzepin [1 nM]	Pirenzepindihydrochlorid [10 µM]	Mod. Krebs-Ringer (pH 7,4)	15 min, RT	60 min, 4°C	2x1 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	12
Adrenalin	M ₂	Agonist	[³ H]Oxotremorin [0,8 nM]	Carbachol [1 µM]	20 mM Hepes-Tris (pH 7,5) + 10 mM MgCl ₂	20 min, RT	60 min, RT	2x2 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. bei 4°C	15
	M ₃	Antagonist	[³ H]-4-DAMP [1 nM]	Atropinsulfat [10 µM]	50 mM Tris-HCl (pH 7,4) + 1 mM EDTA + 0,1 mM PSMF	15 min, RT	45 min, RT	2x5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. bei 4°C	9
	α ₁	Antagonist	[³ H]Prazosin [0,4 nM]	Phentolaminmesylat [10 µM]	50 mM Na/K-Phosphatpuffer (pH 7,4)	15 min, RT	60 min, RT	2x5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. bei 4°C	15
Serotonin	α ₂	Antagonist	[³ H]RX821002 [6 nM]	Phentolaminmesylat [10 µM]	50 mM Tris-HCl (pH 7,4) + 1 mM MgCl ₂	15 min, RT	90 min, RT	1x5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. bei 4°C	15
	5HT _{1A}	Agonist	[³ H]-8OH-DPAT [1 nM]	5-Hydroxytryptamin [10 µM]	170 mM Tris-HCl (pH 7,6) + 4 mM CaCl ₂ + 0,01% Ascorbat	30 min, RT	60 min, RT	1x5 min in Puffer (4°C), 3x dippen in Aqua dest. (4°C)	15
	5HT ₂	Antagonist	[³ H]Ketanserin [1,14 nM]	Mianserin [10 µM]	170 mM Tris-HCl (pH 7,7)	30 min, RT	120 min, RT	2x10 min in Puffer (4°C), 3x dippen in Aqua dest. (4°C)	15
Adenosin	D ₁	Antagonist	[³ H]SCH-23390 [1,67 nM]	SKF 83566 [1 µM]	50 mM Tris-HCl (pH 7,4) + 120 mM NaCl + 5 mM KCl + 2 mM CaCl ₂ + 1 mM MgCl ₂ [+ 1 µM Mianserin]*	20 min, RT	90 min, RT	2x10 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	15
	A ₁	Antagonist	[³ H]DPCPX [1 nM]	R-PIA [100 µM]	170 mM Tris-HCl (pH 7,4) + 2 U/l Adenosin-desaminase + 1 mM MgCl ₂ [+ 100µM Gpp]*	15 min, 4°C	120 min, RT	2x5 min in Puffer (4°C), 1x dippen in Aqua dest. (4°C)	10

Tabelle 4: Bindeprotokolle der quantitativen Rezeptorautoradiographie.

* Die in eckigen Klammern angegebenen Konzentrationen der Substanzen des Inkubationspuffers wurden nur im Puffer der Hauptinkubation verwendet.

2.2.3. Beobachter-unabhängige Untersuchung der Autoradiogramme

Die Lage der zytoarchitektonischen Areale wurde auf den Autoradiogrammen der Rezeptorbindestellen identifiziert und mit Hilfe der zellkörpergefärbten Schnitte überprüft. Danach erfolgte die quantitative Auswertung der Autoradiogramme.

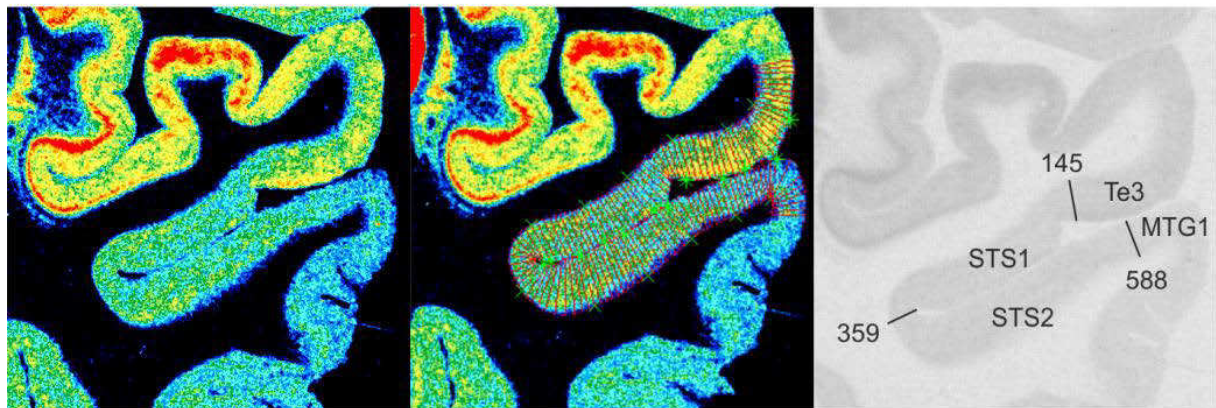
2.2.3.1. Erstellen von „Rezeptor Fingerprints“

Auf den pseudokolorierten Autoradiogrammen wurde der Cortex durch zwei Konturlinien abgegrenzt. Die äußere Konturlinie wurde am Beginn von Schicht I, die innere Konturlinie am Übergang zur weißen Substanz eingezeichnet. Orthogonal zur Konturlinie wurden automatisch Profillinien erzeugt. Entlang dieser Traversen wurde ein Rezeptorprofil erstellt, indem die Rezeptordichte gegen die kortikale Tiefe aufgetragen wurde. 15 dieser Profile wurden zu einem mittleren Profil zusammengefasst. Aus diesem mittleren Profil wurde die mittlere Rezeptordichte über alle kortikalen Schichten bestimmt. Das geschah für jeden Rezeptor an drei Stellen pro Areal und Hemisphäre. Die mittleren Rezeptordichten eines Areals wurden über alle Hemisphären gemittelt. Diese *Grand mean*-Werte aller Rezeptortypen wurden für jedes Areal in Polarkoordinaten aufgetragen und heißen Rezeptor-Fingerprint.

2.2.3.2. Grenzfindung in Autoradiogrammen

An den Arealgrenzen ändert sich häufig das laminäre Muster der Rezeptordichten. Diese Änderung kann mit der Beobachter-unabhängigen Methode nachgewiesen werden (Abbildung 9). Dazu wird der Cortex analog zur Erzeugung der Rezeptorprofile mit Profillinien überzogen. Danach werden die Intensitätsprofile für jede dieser Linien bestimmt, wobei die Rezeptordichte von der pialen Oberfläche bis zum Übergang zur weißen Substanz aufgetragen wird. Die Rezeptorprofile werden zu unterschiedlich großen Blöcken zusammengefasst und durch einen zehndimensionalen Merkmalsvektor beschrieben, der die Charakteristika des mittleren Profils zusammenfasst. Die Merkmalsvektoren benachbarter Profilblöcke werden an jeder Profilposition mittels der Mahalanobis-Funktion auf Unähnlichkeit verglichen. Maxima in der Mahalanobis-Distanz zeigen abrupte Änderungen in der Rezeptordichteverteilung und somit mögliche Grenzen an. Die Grenzen werden mit dem Hotelling's T^2 -Test auf Signifikanz getestet und Bonferroni ($p \leq 0,01$) korrigiert. Lassen sich die Grenzen für mindestens drei andere Blockweiten reproduzieren wird die Grenze akzeptiert.

A



B

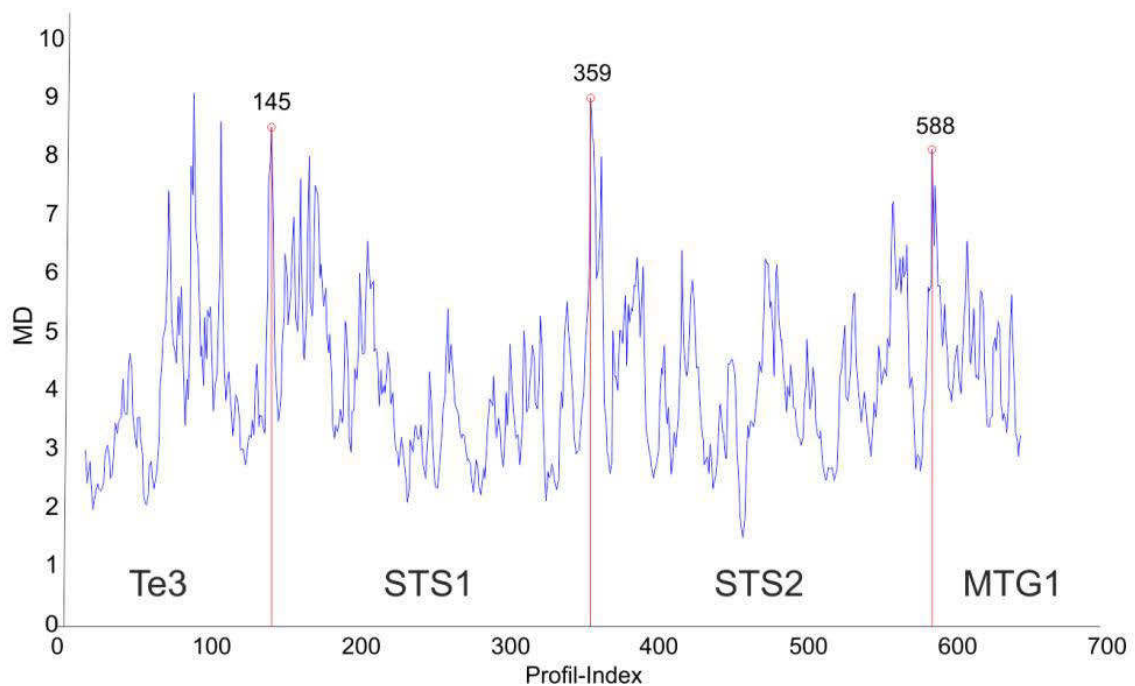


Abbildung 9: Grenzfindung in Rezeptorautoradiogrammen.

Auf dem pseudokolorierten Autoradiogramm des M_2 -Rezeptors (Bild A links) wurden Profillinien zwischen einer äußeren und inneren Konturlinie erzeugt (Bild A Mitte, nur jede 5. Profillinie dargestellt). Für jede Profillinie wurde ein Intensitätsprofil des Rezeptors erstellt. Rezeptorprofile wurden zu unterschiedlich großen mittleren Profilen zusammengefasst (Blockweite $n = 10$ bis $n = 20$). Benachbarte Profilblöcke einer Blockweite wurden mittels der Mahalanobis-Distanz (MD) auf Unähnlichkeit überprüft. Bild B zeigt die Mahalanobis-Funktion für eine Blockweite von 20 Profilen. An Profilposition 145, 359 und 588 fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den Profilblöcken. Diese Grenzen konnten für andere Blockweiten bestätigt werden. Die Position der Grenzen wurde auf dem unkolorierten Autoradiogramm markiert (Bild A rechts). Es konnten nicht nur die gut sichtbaren Grenzen zwischen Te3/STS1 und STS2/MTG1 mit dieser Methode nachgewiesen werden, sondern auch die nicht so offensichtliche Grenze zwischen STS1 und STS2.

2.2.3.3. Clusteranalyse der STS-Areale

Die *Grand mean* Werte der Rezeptordichten unterscheiden sich je nach Rezeptortyp sehr stark und erschweren die Auswertung der Rezeptoren mit niedriger Rezeptordichte. Deshalb wurden die mittleren Rezeptordichten eines Areals auf den Mittelwert aller Areale eines Rezeptors normiert. Damit schließt man aus, dass Rezeptoren mit hohen Rezeptordichten die Berechnung dominieren. Die normierten Rezeptordichten dienten in einer Multivarianzanalyse als Merkmalsvektoren. Die Merkmalsvektoren wurden mittels Euklidischer Distanz und dem Ward Verknüpfungsalgorithmus auf Ähnlichkeit überprüft und hierarchisch zu Clustern zusammengefasst. Dabei zeigen die Areale eines Clusters eine ähnliche Balance in den Rezeptordichten. Das Ergebnis wurde als Dendrogramm dargestellt. Außerdem wurde mittels multidimensionaler Skalierung (MDS) ein Graph (MDS-Plot) erzeugt, um die Ähnlichkeiten in der Balance der Rezeptordichten als Abstand im zweidimensionalen Raum darzustellen.

2.3. Transkriptomik

Ein Rezeptor kann von bis zu 16 Rezeptorgen bestimmt werden, die dessen physiologische Eigenschaften beeinflussen können. Diese funktionelle Feinregulation der Rezeptoren wurde für die zytoarchitektonischen Areale mittels Transkriptomanalyse der Rezeptorgene untersucht. Grundlage der Transkriptomanalyse ist der Datensatz des Allen Brain Atlases (www.human.brain-map.org). In diesem Atlas ist die Genexpression in 3682 Gewebeblöcken von sechs Spendern untersucht worden. Das Genprofil jedes Gewebeblocks enthält Informationen von über 62000 m-RNA Sonden. Damit werden ca. 93 Prozent der bekannten Gene abgedeckt. Die Expressionsdaten eines Gens wurden auf die Expression des Gens im ganzen Gehirn normiert und als z-Werte dargestellt. Außerdem wurden die Genexpressionsprofile der Spender normiert, um sie vergleichbar zu machen (technische Details sind im „technical white paper“ auf der Webseite nachzulesen). Die Position der Gewebeblöcke wurde im ICBM152-Raum dargestellt und mit den Informationen des normierten Genprofils verknüpft. Dieser Allen Brain Microarray Atlas wurden mit den anatomischen Karten des JuBrain Atlases überlagert. Für die Selektion der Gewebeblöcke eines bestimmten Areals wurde JuGEx (www.fz-juelich.de/inm/inm-1/jugex), ein im Institut entwickeltes MatLab-Skript (Bludau et al., 2018), benutzt. Dieses Programm filtert die Microarray Daten jedes Gewebeblocks nach der Expression vorher definierter Gene.

2.3.1. Datenerhebung

Zunächst wurde eine Rezeptor-Genliste erstellt. Dazu wurde die menschliche Gendatenbank von PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) durchsucht. Als Suchkriterium diente der Rezeptorname. In die Genliste wurden Rezeptorgene, Gene von Rezeptoruntereinheiten und regulatorische Proteine, sofern sie unmittelbar mit dem Rezeptor assoziiert sind, aufgenommen. Die Genliste umfasste 54 Rezeptorgene, die in Tabelle 5 aufgelistet sind. Diese Genliste wurde mit JuGex in das Format des Allen Brain Microarray Atlases konvertiert.

Tabelle 5: Genliste für die Transkriptomanalyse

Transmitter System	Rezeptortyp	Rezeptorgen
Glutamate	AMPA	GRIA1-4
	Kainat	GRIK1-5
	NMDA	GRIN1 GRIN2A-D GRINA GRIN3A-B
GABAergic	GABA _A	GABRA1-6 GABRB1-3 GABRG1-3 GABRD/E/P/Q GABRR1-3 GABARAP GABARAPL2-3
		GABBR1
Cholinergic	GABA _B	
	M ₁	CHRM1
	M ₂	CHRM2
	M ₃	CHRM3
	nicotinic	CHRNA2/4/7 CHRNA2
Adenosinergic	Adenosin	ADORA1
Serotoninerger	5HT _{1A}	HTR1A
	5HT ₂	HTR2A
Dopaminergic	D ₁	DRD1

Die neu kartierten Areale und 13 weitere JuBrain Areale aus dem sensorischen und motorischen Cortex (Tabelle 6) wurden in den Referenzraum des Allen Brain Atlases (ICBM152) transferiert. Benutzt wurde ein MatLab Skript des Instituts, das nicht-lineare Transformationen für die Registrierung verwendet. Gewebelöcher innerhalb eines Areals wurden mit JuGex selektiert und die Rezeptorgen-Expression anhand der Genliste aus dem Allen Brain Datensatz ermittelt (Tabelle 7). Um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, wurde die Größe der Areale

auf 60% der maximalen Ausdehnung beschränkt. Die Daten von linker und rechter Hemisphäre wurden zusammengefasst und die mediane Genexpression für jedes Areal bestimmt.

Tabelle 6: Gehirnareale für die Transkriptomanalyse

Funktionelles System	JuBrain Areal	Brodmann Areal
visuell	hOc1	17
	hOc2	18
	hOc3d	19
	hOc3v	19
	hOc4d	19
	hOc4v	19
auditorisch	Te1	41
	Te3	22
	STS1	22
	STS2	21
somatosensorisch	PSC3	3
	PSC2	2
	PSC1	1
motorisch	area 4	4
	area 6	6

Tabelle 7: Analyisierte Gewebelöcke pro Areal

Areal	LH	RH	Σ
Te1	11	2	13
Te3	13	4	17
STS1	12	6	18
STS2	16	11	27
hOc1	32	7	39
hOc2	15	3	18
hOc3v	19	6	25
hOc3d	9	0	9
hOc4v	5	2	7
hOc4d	3	1	4
PSC1	13	10	23
PSC2	11	2	13
PSC3	7	1	8
area4	24	8	32
area6	21	8	29
total			282

2.3.2. Datenauswertung

Die mediane Genexpression der Rezeptorgene eines Areals wurde in Polarkoordinaten aufgetragen und stellt den genetischen Fingerprint dar. Die Anordnung der Rezeptorgene entspricht den Rezeptortypen des Rezeptor-Fingerprints. Da die Genexpression auf z-Werte normiert wurde, lassen sich die genetischen Fingerprints, bei gleicher Skalierung, direkt miteinander vergleichen. Unterschiede der genetischen Fingerprints wurden mittels multidimensionaler Skalierung (MDS) für die verschiedenen sensorischen Regionen berechnet und in einem MDS-Plot dargestellt. Für ionotrope Rezeptoren, die aus mehreren Rezeptoruntereinheiten bestehen, wurde ein neues Darstellungsverfahren gewählt. Die Gene eines Rezeptortyps wurden gegen alle untersuchten Areale aufgetragen. Dafür wurde ein MatLab-Skript geschrieben, das die Genexpressionswerte der Areale interpoliert und das Ergebnis als Oberfläche darstellt. Diese Art der Darstellung hat den Vorteil, dass differentielle Expression der Rezeptorgene intuitiv an Änderungen im Muster des Reliefs abgelesen werden kann. Gene, die ein verändertes Muster zeigen, können daraufhin weiter analysiert werden. In Abbildung 10 ist die Methode der Genkartierung dargestellt. Die Abbildung zeigt eine Genkarte des NMDA Rezeptors und deren Vorteil bei der Untersuchung differentieller Genexpression somatischer Systeme. Die Abbildung zeigt differentielle Genexpression für ein Gen einer Rezeptoruntereinheit (rote Ellipse). Es wird in auditorischen Arealen (orange) hochreguliert, während das Gen in visuellen Arealen (lila) herunterreguliert ist. Differentielle Genexpression zwischen zwei zytoarchitektonischen Arealen wurde anschließend mit JuGex ausgewertet. Dazu wurden die entsprechenden Daten aus dem Allen Brain Datensatz heruntergeladen und die Unterschiede in der Genexpression mit einer permutierten ANOVA ($n=10000$) auf statistische Signifikanz getestet. Außerdem wurde nach Rezeptorgen von ionotropen Rezeptoren gesucht, die über alle Areale gleich reguliert waren, so dass man davon ausgehen kann, dass die Rezeptoruntereinheiten in einem Rezeptor verbaut werden. Für die Rezeptorgene solcher Genpaare wurde eine Korrelation berechnet. Um die Aussagen der Genexpressionsanalyse zu verifizieren, wurde das Genexpressionsprofil für jeden Rezeptortyp mit den mittleren Rezeptordichten korreliert. Beide Korrelationen wurden mit einem Pearson-Test mit anschließender ANOVA berechnet.

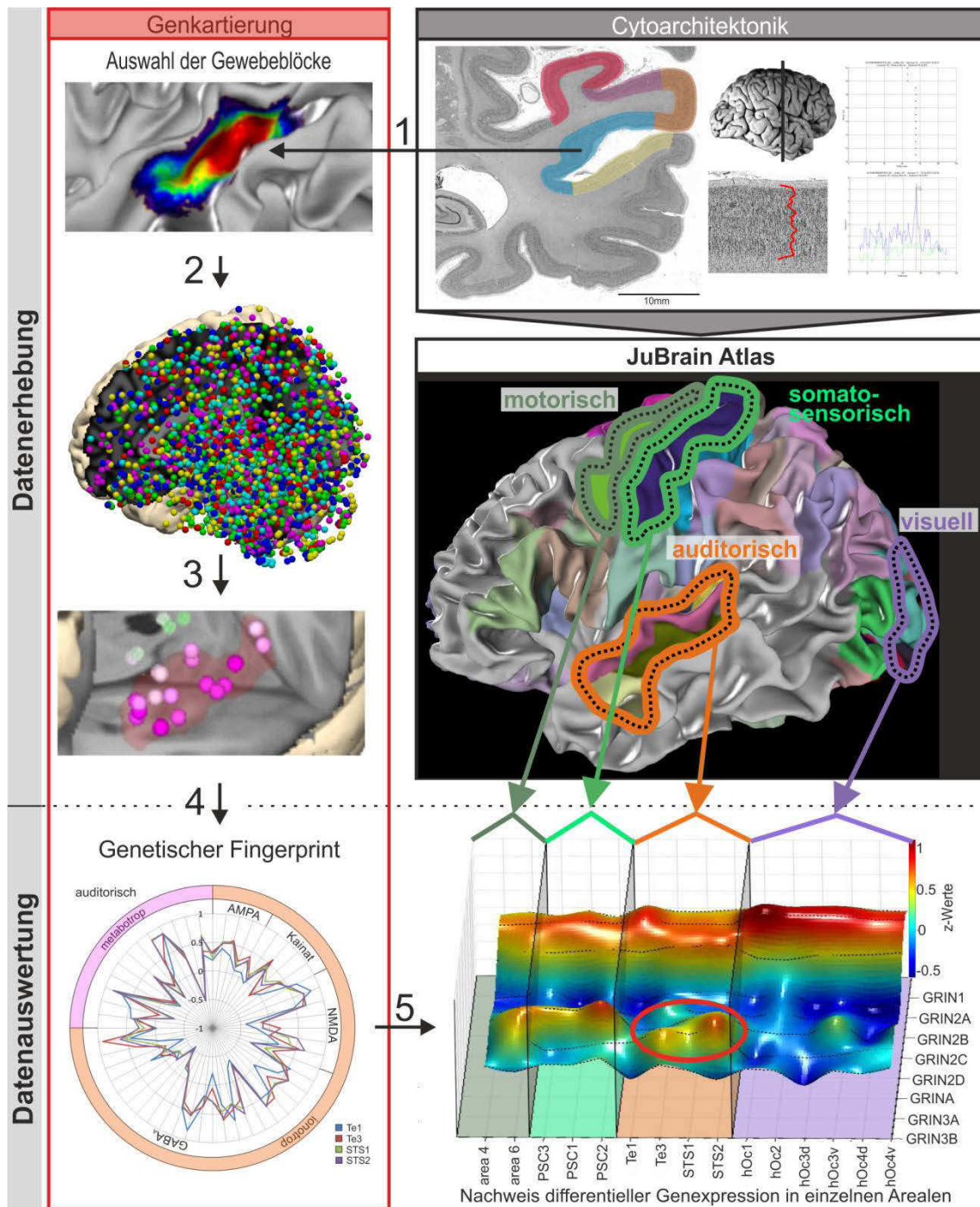


Abbildung 10: Methodenübersicht der Genkartierung.

Grundlage der Genkartierung ist der Allen Brain Microarray Datensatz. Für die Auswertung wurden die zytoarchitektonischen Karten in ICBM152, den Referenzraum des Allen Brain Atlases, transferiert (1). Diese anatomischen Karten wurden benutzt, um aus dem Microarray Atlas Gewebeblöcke zu selektieren. (2). Für jeden Gewebestück pro Areal wurde das Genexpressionsprofil für die ausgewählten Rezeptorgene aus dem Datensatz extrahiert und anschließend die mediane Genexpression pro Areal bestimmt (3). Die Rezeptorgenexpression wurde in Polarkoordinaten aufgetragen und stellt den genetischen Fingerprint des Areals dar (4). Für die ionotropen Rezeptoren wurde aus diesen Daten eine oberflächen-basierte Genkarte erstellt (5). Dazu wurde die Expression der einzelnen Gene eines Rezeptortyps gegen alle untersuchten Areale aufgetragen. Diese Art der Darstellung veranschaulicht Unterschiede der einzelnen funktionellen Systeme (auditorisch, motorisch, somatosensorisch, visuell) am besten. Die rote Ellipse in der Genkarte zeigt ein Rezeptorgen, das im auditorischen Cortex hoch- im visuellen Cortex aber herunterreguliert ist.

3. Ergebnisse

3.1. Zytoarchitektur

3.1.1. Räumliche Lage der Areale STS1 und STS2

Es wurden zwei Areale, STS1 und STS2, im Sulcus temporalis superior gefunden. Abbildung 11 zeigt den rostrocaudalen Verlauf der Areale an einem exemplarischen Beispiel. Areal STS1 (rot) liegt hauptsächlich auf der oberen Bank des Sulcus. Es grenzt lateral an das bereits beschriebene Areal Te3 (Morosan et al., 2005), das heißt es erstreckt sich vom Sulcusgrund bis mindestens zur Mitte der oberen Bank des Sulcus, erreicht aber nicht selten die Krone des STG. Medial grenzt das Areal an STS2. STS2 liegt auf der unteren Bank des Sulcus und endet an der Krone des MTG, auf welche es sich nur selten erstreckt. STS2 wandert rostral auf die obere Bank und verdrängt dort STS1. Die beiden Areale verlaufen in rostrocaudaler Ausdehnung parallel zu Te3.

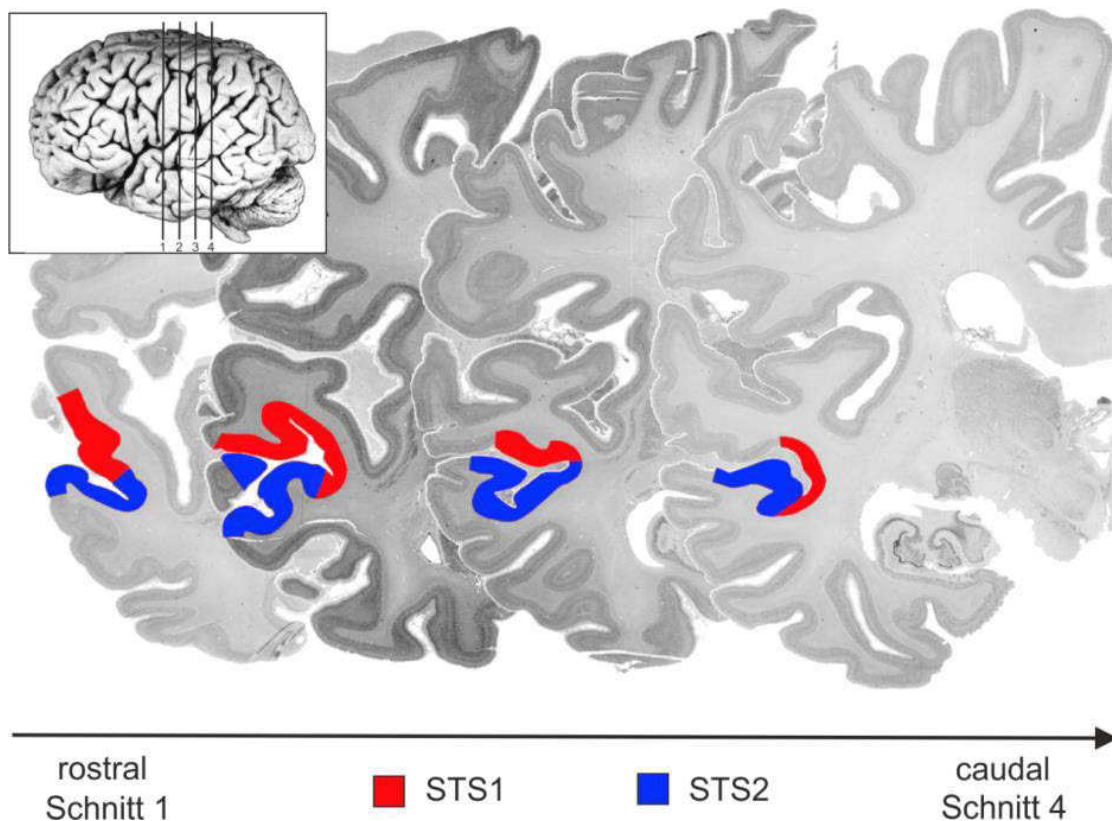


Abbildung 11: Rostrocaudaler Verlauf der Areale STS1 und STS2.

Die Abbildung zeigt die beiden Areale STS1 und STS2 in ihrem rostrocaudalen Verlauf. STS1 liegt meist auf der oberen Bank, STS2 auf der unteren Bank des Sulcus temporalis superior (STS). Die gezeigten Schnittebenen wurden in der Übersicht markiert.

3.1.2. Zytoarchitektonische Beschreibung der Areale

Die neu kartierten Areale unterscheiden sich eindeutig in ihrer Mikrostruktur. Wie sie sich untereinander und zu Nachbararealen abgrenzen lassen, soll im Folgenden beschrieben werden.

Auf der Gyrukrone liegt das bereits beschriebene Areal Te3 (Abbildung 12D). Es hat eine breite Schicht II und IV. Die Schicht IIIc ist prominent und dominiert das Erscheinungsbild des Areals. Sie besteht aus großen Pyramidenzellen, die dicht angeordnet sind. Die innere granuläre Schicht ist in Te3 breiter und die fünfte Schicht ist zellreicher als in STS1. Der Übergang zur weißen Substanz ist kontinuierlich. Geprägt ist das Erscheinungsbild des Areals durch die Anordnung der Zellen in vertikalen Zellsäulen, die an Orgelpfeifen erinnern (Orgelpfeifenstruktur bei von Economo und Koskinas (1925)). Diese Zellsäulen sind in STS1 weniger ausgeprägt.

STS1 (Abbildung 12C) zeichnet durch folgende Charakteristika aus. Schicht II ist breit und geht allmählich in Schicht III über, so dass der Übergang undulierend wirkt. Schicht IIIc hat kleinere Pyramidenzellen und auch nicht die Breite die sie in Te3 einnimmt. Die granulären Zellen in Schicht IV sind in Clustern angeordnet und die Schicht erscheint relativ breit. Schicht V ist zellärmer als Schicht IV. Schicht VI ist klar erkennbar und gut gegen die weiße Substanz abgegrenzt. Das Erscheinungsbild von STS1 wird dominiert von Schichten II, IV und VI und zellärmeren Schichten IIIa/b und V. Deshalb dominiert in diesem Areal eine horizontale, bandartige Struktur.

STS2 (Abbildung 12C) hat eine dichte und kompakte Schicht II, die sich klar gegen die Schicht III abgrenzen lässt und ein gutes Kriterium für die Unterscheidung von STS1 und STS2 ist. Schicht IIIc ist breiter als in STS1 und besteht aus größeren Pyramidenzellen. Die vierte Schicht ist schmaler und gradliniger als in STS1. Ihre granulären Zellen sind oft in Kolumnen angeordnet. Die Zellen von Schicht V und VI sind in etwa gleich groß und gleich verteilt, so dass die beiden Schichten nicht immer gut voneinander abgrenzbar sind. Die Grenze zur weißen Substanz ist relativ scharf.

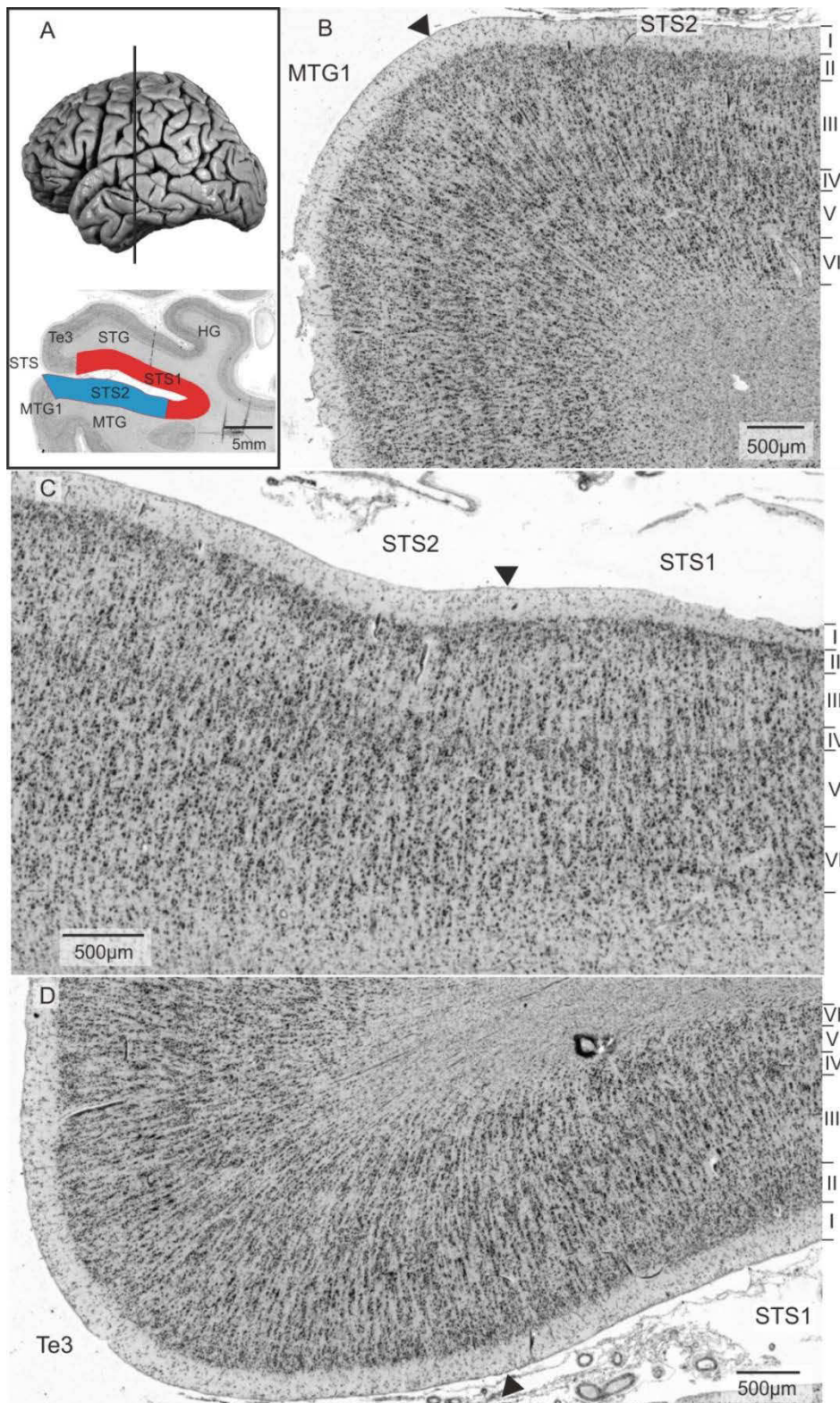


Abbildung 12: Zytoarchitektonische Arealgrenzen von STS1/2.

In einer Übersicht wurden die Lage des Gehirnschnitts und die Areale markiert (A). Zytoarchitektonische Arealgrenzen befinden sich an der angegebenen Position (Pfeilspitze). Auffälligstes Merkmal von MTG1 sind die Zellen in IIIc, die sich von Schicht IV abheben und der ondulierende Übergang von Schicht II zu III (B). STS2 unterscheidet sich von STS1 durch die kompakte Schicht II, eine breitere Schicht IIIc mit größeren Pyramiden (C). Te3 hat größere Pyramidenzellen in Schicht III und einen allmählichen Übergang in die weiße Substanz und lässt sich dadurch von STS1 abgrenzen (D). Die Cortexschichten wurden am rechten Bildrand markiert.

Lateral an STS2 schließt ein bisher unkartiertes Areal an, das wir unserer Nomenklatur folgend MTG1 genannt haben (Abbildung 12B). Es zeichnet sich durch eine lockerere Zellverteilung in Schicht II aus. Diese Schicht ist oft breiter als in STS2. Der Übergang zur dritten Schicht ist fließend. Die Schicht IIIa/b ist relativ zellarm und breiter als in STS2. Schicht IIIc ist gekennzeichnet durch größere Zellen in wenigen Zellschichten, die meist nicht direkt der vierten Schicht aufliegen. Schicht IV ist nicht so kolumnar wie in STS2. Schicht V hat meist ein Band größerer Pyramidenzellen unter Schicht IV, oft mit einem kleinen Abstand zu dieser Schicht. Gegen Schicht VI nimmt die Zellgröße und Zelldichte ab, so dass die VI. Schicht oft deutlich zu sehen ist.

Am Temporalpol schließt ein Areal an, das noch nicht kartiert ist. Es wurde Tp2 genannt (Abbildung 13A). Schicht II wirkt weniger kompakt. Die Schicht IIIa/b ist breiter und die kleinen Pyramidenzellen sind locker über die Schicht verteilt als in STS2. In Schicht IIIc werden die Pyramidenzellen mittelgroß, sind aber noch locker verteilt. In Schicht V nimmt die Zellgröße zur sechsten Schicht hin ab, die Zelldichte bleibt aber in etwa gleich. Da an der Grenze zur Schicht VI die Zellgröße wieder ansteigt, ist die VI. Schicht gut zu erkennen.

Caudal der neu beschriebenen Areale liegt ein Areal, welches ebenfalls noch nicht kartiert ist und STS3 genannt wurde (Abbildung 13B). Es zeichnet sich durch eine dichtere, kompaktere Schicht II aus. Die Grenze zur dritten Schicht wirkt ruhiger und weniger ondulierend. Die Schicht IIIc ist breiter als in STS1 und besteht aus größeren Pyramidenzellen. Schicht IV wirkt schmaler und die Zellen sind nicht so locker gepackt wie in STS1. Die fünfte Schicht ist dichter und besteht aus größeren Pyramidenzellen unter Schicht IV. Schicht VI ist relativ gut abgrenzbar. Charakteristisch für das Areal sind die Zellsäulen, die sich von der III. bis zur VI. Schicht erstrecken und dem Areal eine ausgeprägte „Orgelpfeifenstruktur“ (vgl. Economo 1925) geben.

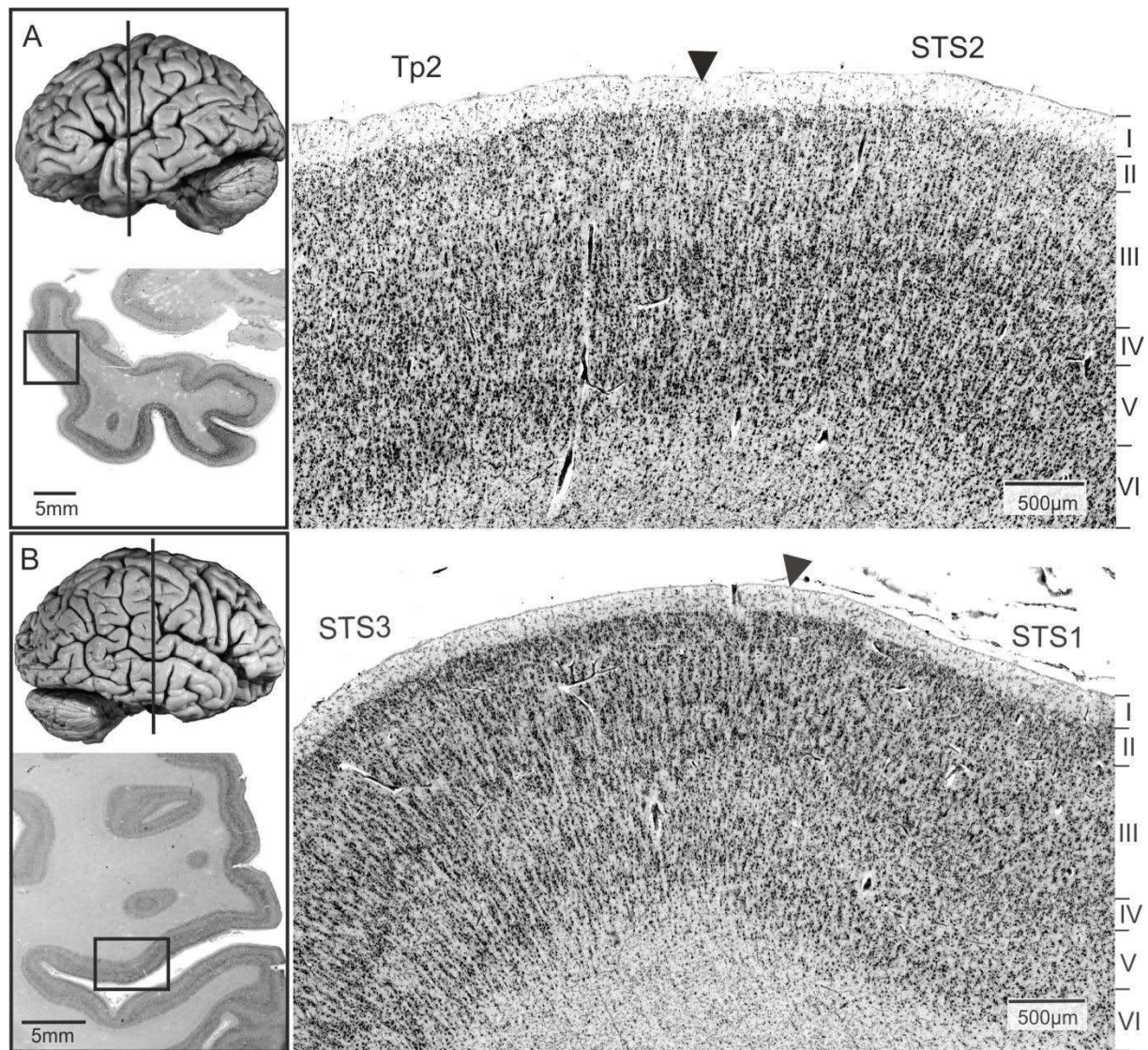


Abbildung 13: Zytoarchitektonische Arealgrenzen am rostralen und caudalen Ende

In einer Übersicht wurden die Lage des Gehirnschnitts und die vergrößerte Cortexstelle markiert. Dargestellt sind die Grenzen (Pfeilspitzen) zwischen den Arealen STS2 und Tp2 am rostralen Ende (A) und STS1 und STS3 am caudalen Ende (B). Areal STS2 unterscheidet sich von Tp2 durch einen kolumnaren Aufbau und gleichmäßigere Verteilung der Zellen in Lamina V und VI, STS3 ist gut durch die prominenten Pyramidenzellen in Lamina III von STS1 zu unterscheiden. Die Cortexschichten wurden am rechten Bildrand markiert.

Die Unterschiede in der Mikroarchitektur der Areale lassen sich mathematisch durch Profile beschreiben. Profile stellen die Zelldichte über die Cortextiefe dar. Sie geben damit Aufschluss über die Breite und Neuronendichte der einzelnen Schichten. In Abbildung 14 ist ein Cortexausschnitt von jedem Areal gezeigt. Dieser Ausschnitt wurde einem Profil, das an dieser Stelle extrahiert wurde, gegenübergestellt.

Zytoarchitektonische Unterschiede in den Arealen lassen sich an der Form der Profile ablesen. Zum Beispiel ist die gutentwickelte Schicht IIIc im Profil von Te3 gut zu erkennen, die es vom STS1-Profil unterscheidet. Auch die geringere Zelldichte von Tp2 in den supragranulären Schichten und Zunahme der Zellgröße infragranulär zeigen sich deutlich im entsprechenden Profil.

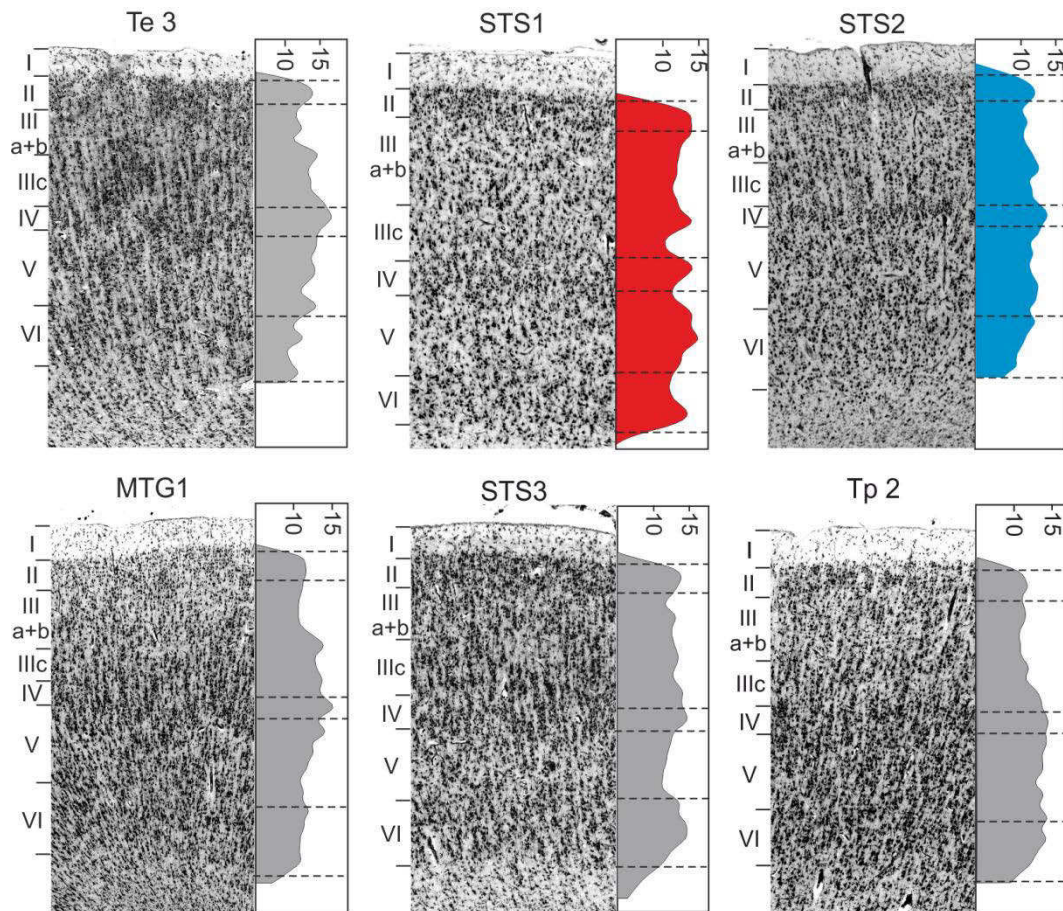


Abbildung 14: Arealausschnitte mit GLI-Profil.

Die Ausschnitte zeigen die Mikrostruktur der Areale. Die Laminae sind am linken Rand markiert. Am rechten Rand sind die GLI-Profile der Areale dargestellt. Die Mikrostruktur jedes Areals wird durch das GLI-Profil gut abgebildet, zum Beispiel ist der zellarme Bereich zwischen Schicht III und IV in Areal MTG1 und die supragranulär niedrigere Zelldichte im Areal Tp2 gut zu erkennen.

Eine Reduktion der Areale auf den GLI-Wert bedeutet, dass nicht alle zytoarchitektonisch relevanten Informationen dargestellt werden können. So können die Zellform und die Orgelpfeifenstruktur, die gerade für Te3 und STS3 charakteristisch sind, mit dieser Methode nicht dargestellt werden. Doch zeigt gerade diese Gegenüberstellung, dass Profile ein probates Mittel darstellen, um die Mikrostruktur der Areale abzubilden.

3.1.3. Hierarchische Clusteranalyse

Für die Areale STS1 und STS2 wurden GLI-Profile an drei Stellen pro Hemisphäre extrahiert. Die gemittelten Profile der Areale aller Gehirne wurden für die Analyse der geometrischen Form in 10 gleichgroße Abschnitte unterteilt (*Bins*). Diese wurden mittels Diskriminanzanalyse miteinander verglichen. Die Hauptunterschiede ergaben sich für die *Bins* 3/4 beziehungsweise 8/9, was in etwa Schicht III und V entspricht. Ein Hauptunterscheidungsmerkmal zwischen STS2 zu STS1 ist eine breitere Schicht III und eine gleichmäßigere Zelldichte in der fünften Schicht. Außerdem lässt sich der Befund auch in den individuellen Profilen in Abbildung 14 nachvollziehen.

Danach wurde mit dem gleichen Datensatz eine hierarchische Clusteranalyse durchgeführt. Dabei wurden die Profile der Areale STS1 und STS2 mit denen der Areale Te1 bis Te3 und den Profilen der Broca Areale (BA 44, BA45) verglichen. Die Profile der Areale wurden nach ihrer Ähnlichkeit in verschiedene Cluster eingeteilt und in einem Dendrogramm dargestellt (Abbildung 15). Die Clustereinteilung wurde statistisch überprüft. Mit einem cophenetischen Koeffizienten von 0,9746 gibt es kein Dendrogramm, das die Ähnlichkeiten in den Profilen der Areale besser darstellt. Abbildung 15 zeigt die vier Cluster der Analyse. Die neuen Areale STS1 und STS2 bilden ein eigenes Cluster und unterscheiden sich deutlich vom primär auditorischen und vom höher assoziativen Cluster. Die größten Unterschiede bestehen jedoch zu den Broca Arealen.

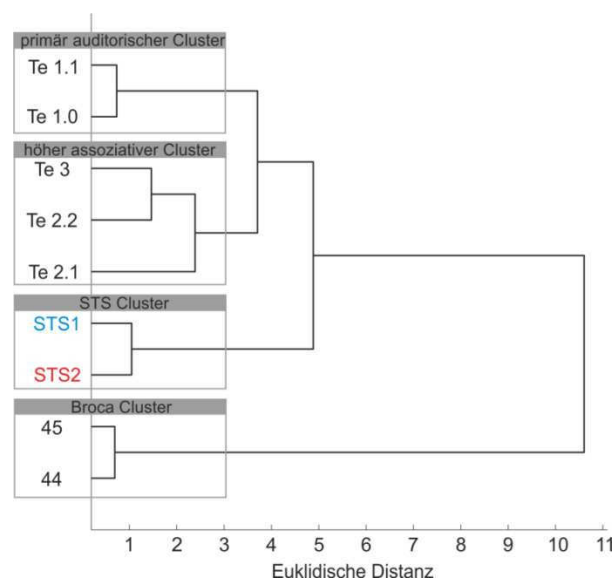


Abbildung 15: Dendrogramm der Clusteranalyse.

Die mittleren Profile der Areale wurden über alle kartierten Gehirne gemittelt und mittels der Euklidischen Distanz und dem Wardschen Verknüpfungsalgorithmus verschiedenen Clustern zugeordnet. Es zeigte sich, dass die neu kartierten STS-Areale ein eigenes Cluster bilden und sich deutlich von Te1-3 unterscheiden.

Von allen kartierten Gehirnen wurden die Volumina der Areale bestimmt (Methode, Formel 2). Die Ergebnisse der Arealvolumina sind in Abbildung 16 dargestellt und entsprechen dem auf das Frischgewicht korrigierten Wert. Das mittlere Volumen über die 20 Hemisphären beträgt für Areal STS1 2007 mm³ (SD=489) und für Areal STS2 3047 mm³ (SD=600). Die Volumina weichen mit 20 bzw. 25% vom Mittelwert ab. Das sieht man auch an den Volumina der einzelnen Gehirne. Bei STS1 (Abbildung 16A) fällt auf, dass bei B06 und B09 das linke Arealvolumen größer ist. Bei B07, B10 und B13 sind die rechten Volumina leicht größer und bei den anderen Gehirnen ist der Unterschied der rechten Hemisphäre stark ausgeprägt. Bei STS2 (Abbildung 16B) ist in B03, B06 und B13 das Volumen der linken Hemisphäre größer in B09 gleich und in den restlichen Gehirnen rechts größer. Die Volumen der Areale wurden mit einem nicht-parametrischen Permutationstest auf Unterschiede getestet (Permutationen: n=1000000). Bei Verwendung eines p-Wertes von 0,05 und Bonferroni-Korrektur ergaben sich keine geschlechtsspezifischen Unterschiede, auch konnte keine Lateralisierung der Areale festgestellt werden.

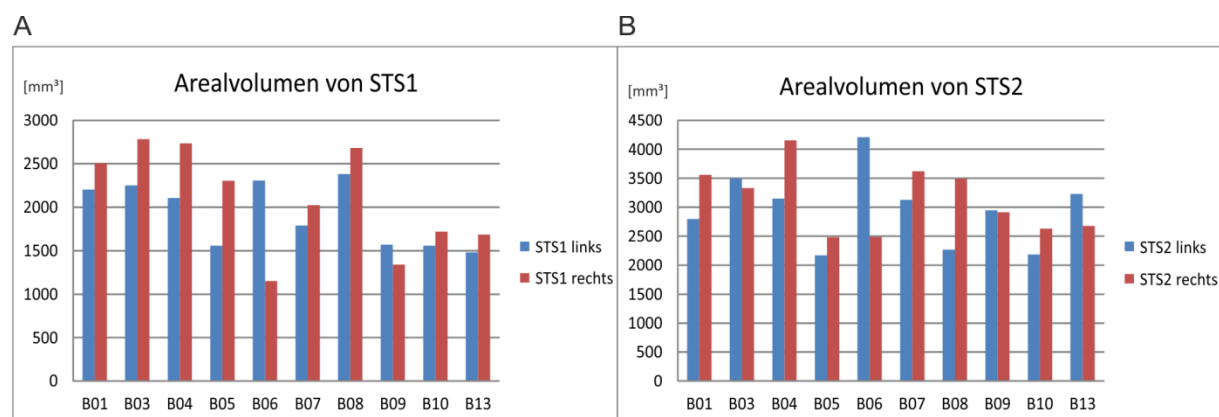


Abbildung 16: Arealvolumina der zehn untersuchten Gehirne.

Dargestellt sind die auf das Frischgewicht der Gehirne korrigierten Volumina der beiden Areale STS1 und STS2. Die Volumenwerte sind für die linke (blau) und rechte Hemisphäre (rot) angegeben. Die Arealvolumen zeigten im Permutationstest keine signifikanten Unterschiede bezüglich Lateralität und Geschlecht.

3.1.4. Wahrscheinlichkeitskarten

Die Arealvolumen der einzelnen Gehirne wurden im MNI-Referenzgehirn überlagert und stellen die interindividuelle Variabilität der Areale dar. Abbildung 17 zeigt die Ausdehnung der Areale als Wahrscheinlichkeitskarten (pmaps). Die rostrocaudale Ausdehnung der Areale wurde in einem sagittalen Schnitt ($x = 54$) dargestellt. Die laterale Ausdehnung wurde in einer koronaren Schnittserie ($y = -5$, $y = -15$, $y = -25$) dargestellt. Die Auftrittswahrscheinlichkeit der Areale in jedem Voxel ist farbkodiert. Dabei bedeutet rot, dass das Areal in wenigstens acht Gehirnen in diesem Voxel gefunden wurde, blau bedeutet eine Übereinstimmung in höchstens zwei der Hirne. Da die Nachbarareale bis auf Te3 noch nicht kartiert sind, muss für die Berechnung der maximalen Wahrscheinlichkeitskarten (MPM) ein Schwellenwert von 40% angenommen werden, um die Ausdehnung der Areale nicht zu überschätzen (Eickhoff et al., 2005b). Wendet man diesen Schwellenwert auf die Areale an, so kann man die Ausdehnung von STS1 mit $y = -3$ bis $y = -34$ in der rechten und $y = -4$ bis $y = -34$ in der linken Hemisphäre angeben. STS2 erstreckt sich von $y = 6$ bis $y = -33$ in der rechten und von $y = 7$ bis $y = -35$ in der linken Hemisphäre. Beide Areale enden caudal ungefähr an der Stelle, wo der Heschl Gyrus endet. STS1 endet rostral in etwa auf Höhe der Limen insulae. STS1 zeigt die gleiche Variabilität am rostralen und caudalen Ende, wohingegen die Variabilität von STS2 am caudalen Ende höher ist. STS2 erstreckt sich in der linken Hemisphäre auch weiter nach caudal. Die maximale Ausdehnung der Areale kann mit $y = 3$ bis $y = -42$ für STS1 und $y = 11$ bis $y = -45$ angegeben werden. Durch die Schmalheit des STS und die Art der Volumenprojektion kann in den Abbildungen nicht zwischen oberer und unter Bank unterschieden werden. Auch erkennt man schlecht, dass die Areale sich nicht auf die Gyrukrone erstrecken.

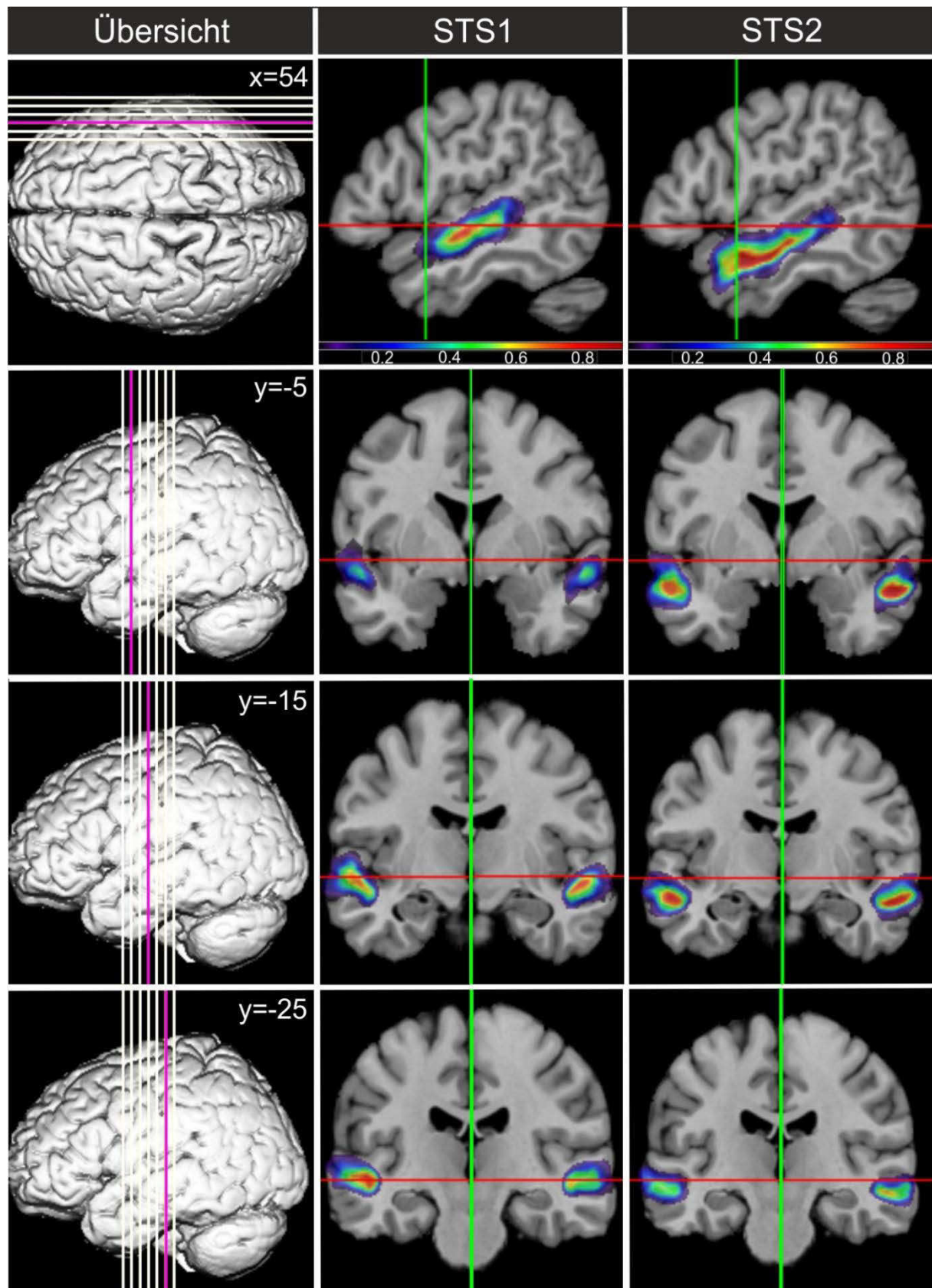


Abbildung 17: Auftrittswahrscheinlichkeitskarten (pmaps) der Areale im MNI-Raum.

Die pmaps von STS1 und STS2 wurden in zwei Schnittrichtungen, sagittal ($x = 54$) und koronar ($y = -5$; $y = -15$; $y = -25$), dargestellt. Die Schnittebene wurde in der Übersicht mit einer Linie (pink) markiert und die Auftrittswahrscheinlichkeit der Areale mit einem Farbbalken in der sagittalen Schnittebene dargestellt.

Zur besseren Visualisierung der Areale wurde eine Oberflächenprojektion der Auftrittswahrscheinlichkeitskarten im dreidimensionalen MNI-Raum erstellt. Das erleichtert die Positionsbestimmung der Areale und ermöglicht die Lagebeziehungen zu makroanatomischen Strukturen. In Abbildung 18 erkennt man, dass es sich bei STS1 und STS2 um Sulcusareale handelt, die niemals auf der lateralen Gyrusfläche liegen. Deshalb wurden die Sulci in dieser Abbildung auch vergrößert dargestellt, um die Ausdehnung im Sulcus verfolgen zu können. Auf der Schnittserie in Abbildung 11 wurde die Position von STS1 auf der oberen Bank, STS2 auf der unteren Bank angegeben. In Abbildung 18 erkennt man, dass dies für alle kartierten Hirne der Fall war.

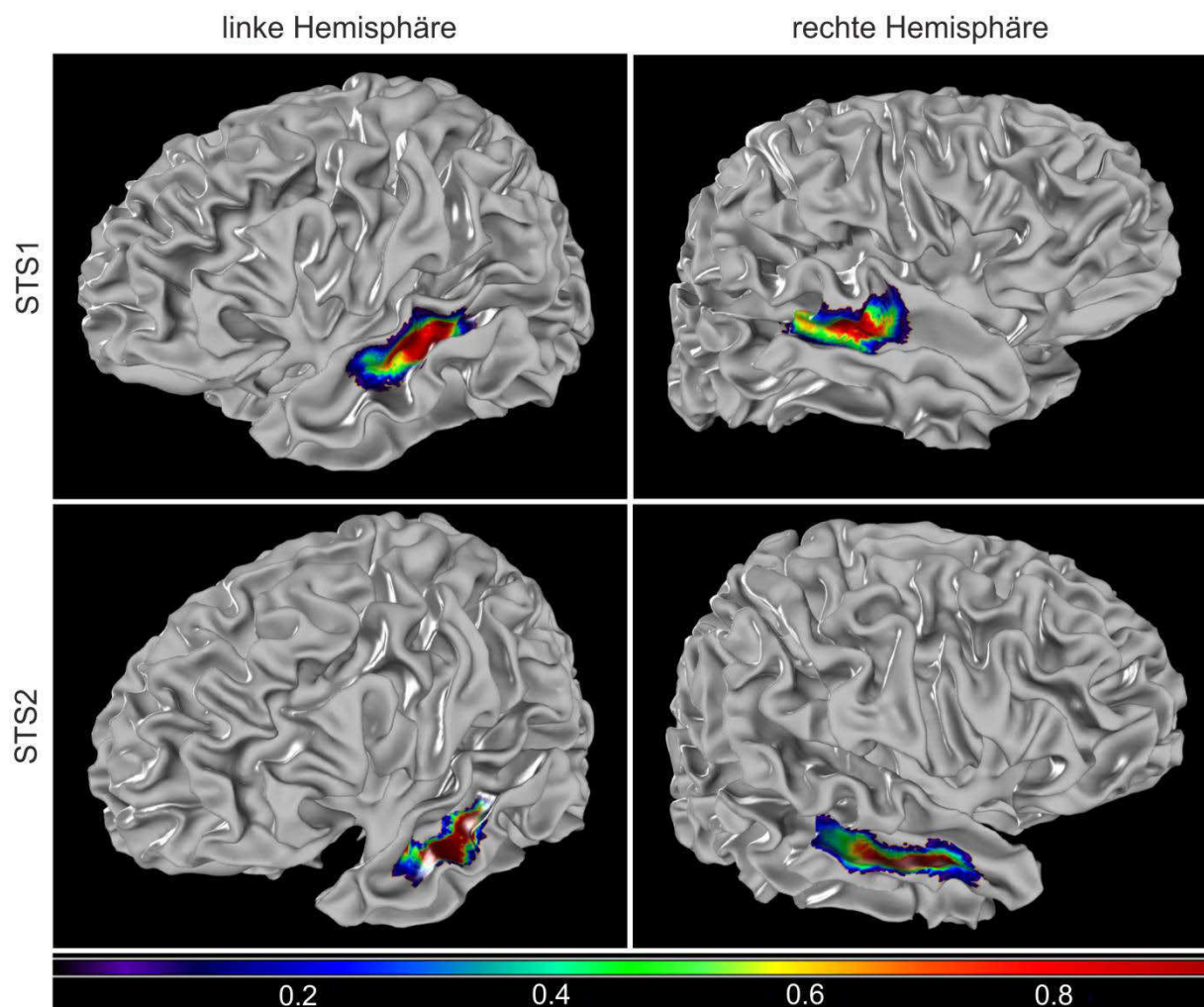


Abbildung 18: Auftritts-wahrscheinlichkeitskarten (pmaps) im 3D MNI-Raum.

Die Auftritts-wahrscheinlichkeitskarten der Areale STS1 und STS2 wurden auf der Oberfläche des MNI-Referenzgehirns dargestellt. Das erleichtert die Lagebeziehungen zu anderen anatomischen Strukturen. Außerdem erkennt man, dass STS1 auf der oberen, STS2 auf der unteren Sulcusbank und niemals auf der lateralen Gyrusfläche liegen. Die Auftritts-wahrscheinlichkeit wurde in einer Farbskala angegeben.

Außerdem wurden maximale Wahrscheinlichkeitskarten (MPMs), basierend auf den pmaps, erstellt. Diese Karten zeigen die Areale zusammenhängend und ohne Überlappungen (Abb. 19). In den MPMs ist die Lage der neu beschriebenen Areale im Vergleich zu bereits kartierten auditorischen Arealen des STG dargestellt. Man erkennt die langgestreckten Areale Te3, STS1 und STS2. Die supratemporale Fläche wird durch den Heschl Gyrus mit seinem primär auditorischen Areal Te1 bestimmt. Dieses Areal teilt das Planum polare mit den temporo-insulären Arealen vom Planum temporale mit den Te2 Arealen ab.

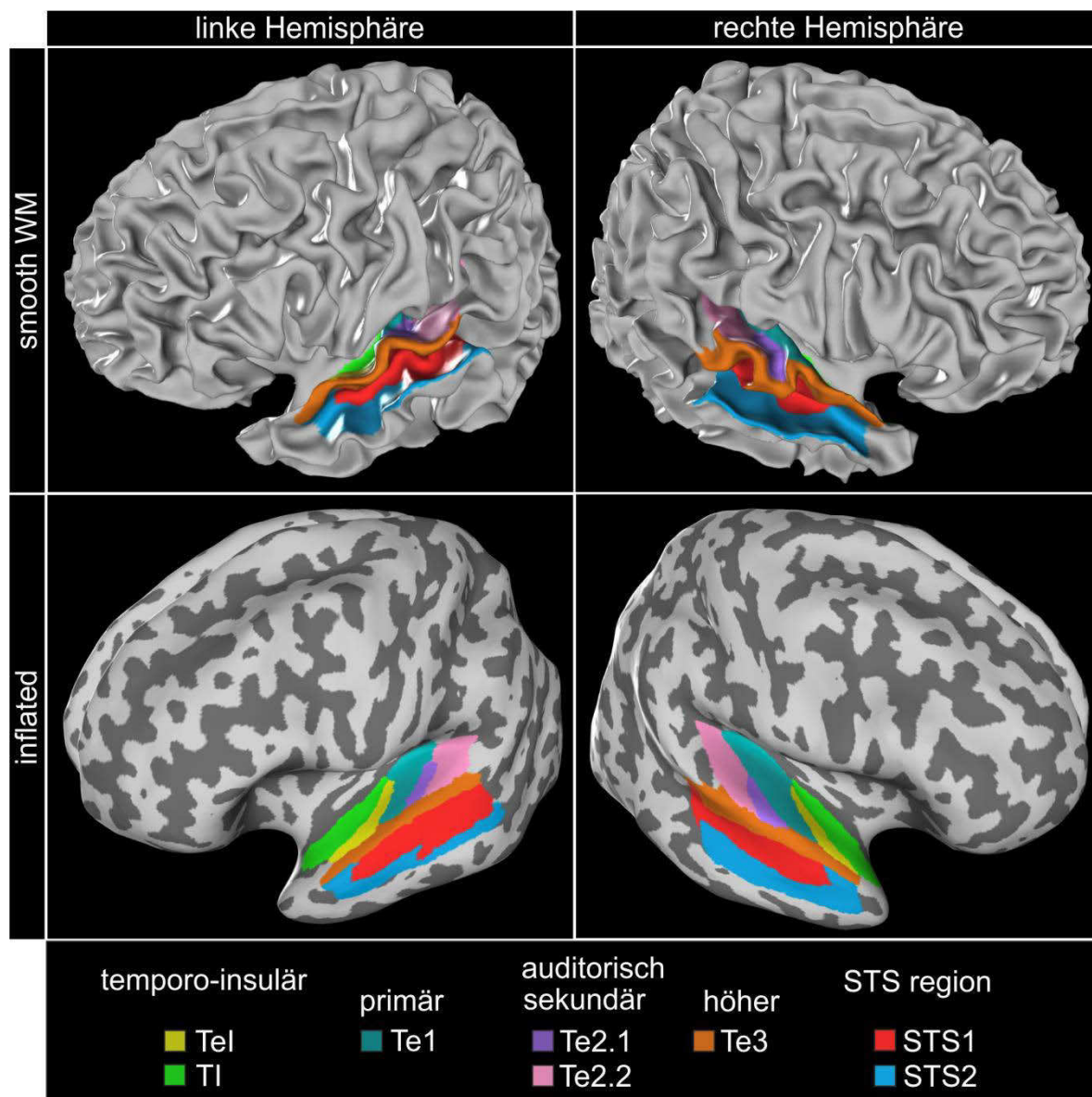


Abbildung 19: Maximale Wahrscheinlichkeitskarte (MPM) des Gyrus temporalis superior.
Die Lage der STS-Areale wurde im Verhältnis zu Arealen des auditorischen Cortex dargestellt. Die MPMs zeigen die Areale in *smooth-white matter* Darstellung (oben) und zur Lagebeziehung im Sulcus als *inflated* MPM.

3.1.5. Funktionelle Metaanalyse

Die Funktion der STS-Areale wurde im Zusammenhang mit den vorgeschalteten auditorischen Arealen untersucht, um Besonderheiten der STS-Region aufzuzeigen. Für die regionenspezifische, quantitativ-funktionelle Analyse wurden die MPMs mit den Arealen aus Abb. 19 benutzt, um die BrainMap Datenbank nach arealspezifischen Aktivierungen in bildgebenden Studien zu durchsuchen. Statistisch signifikante Beziehungen zwischen den Arealen und den von BrainMap vergebenen psychologischen Kategorien wurden in Abbildung 20 dargestellt.

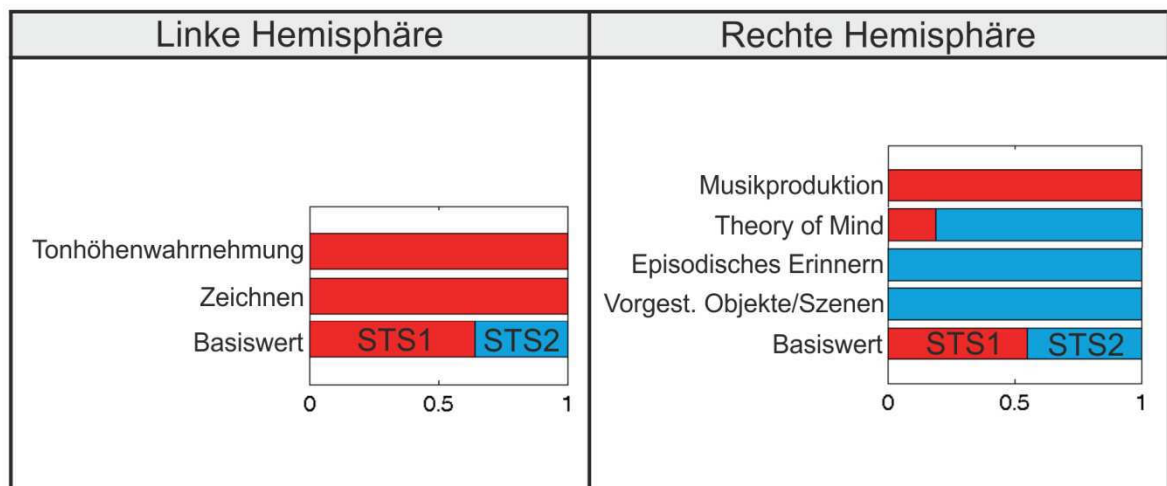
Behaviourale Domänen	temporo-insulär				auditorisch								STS-Region			
	TI		Tel		Te1		Te2.1		Te2.2		Te3		STS1		STS2	
	LH	RH	LH	RH	LH	RH	LH	RH	LH	RH	LH	RH	LH	RH	LH	RH
Schmerzwahrnehmung																
Zeichnen																
Lesen (Overt)																
Musikverständnis																
Passives Hören																
Tonwahrnehmung																
Musikproduktion																
Rezitation/Repetition (Overt)																
Tonhöhenwahrnehmung																
Phonolog. Unterscheidung																
Figurative Sprache																
Semantische Unterscheidung																
Theory of Mind																
Episodisches Erinnern																
Vorgestellte Objekte/Szenen																
Lesen (Covert)																
Selbstkontrolle																

Abbildung 20: Arealfunktionen im Gyrus temporalis superior.

Die funktionelle Analyse der Areale basierte auf funktionellen Studien der BrainMap Datenbank. Die Areale zeigten Aktivierungen bei Aufgaben, die in der BrainMap Datenbank verschiedenen psychologischen Kategorien zugeordnet wurden. Kategorien, die sich für beide Inferenzen (vorwärts/rückwärts) fanden, wurden als farbige Rechtecke für die linke (LH) und rechte Hemisphäre (RH) dargestellt. Durch die funktionelle Analyse konnte gezeigt werden, dass sich die STS-Areale funktionell von den auditorischen Arealen (Te1-3) und den temporo-insulären Arealen abgrenzen lassen. Außerdem unterscheiden sich für beide STS-Areale die Aktivierungen in den Hemisphären.

Während die temporo-insulären und auditorischen Areale vornehmlich durch Aufgaben aktiviert werden, die mit der Analyse von Tönen bzw. Tonhöhen in Verbindung stehen, werden die neu kartierten Areale des STS durch Aufgaben aktiviert, die das Gehörte interpretieren. So wurde das linke STS1 Areal durch figurative Sprache aktiviert und unterscheidet zwischen semantischen Inhalten. STS2 der linken Hemisphäre zeigt zusätzlich Aktivierungen bei episodischem Erinnern, der Imagination von Objekten/Szenen und der Selbstkontrolle. Außerdem wird der STS (außer STS1 rechts) durch Theory-of-mind-Aufgaben aktiviert. Die rechten STS-Areale scheinen eine Rolle beim Musikverständnis zu spielen und bei episodischen Erinnerungen (nur STS2). Diese Hauptfunktionen der Areale wurden weiter auf statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Arealen und Hemisphären getestet (dargestellt in Abb. 21). In der linken Hemisphäre überwiegt im STS1 Areal die Tonhöhenwahrnehmung und Aufgaben die mit Zeichnen assoziiert sind. In der rechten Hemisphäre überwiegen in STS1 Aufgaben die mit Musikproduktion in Verbindung stehen. Das rechte STS2 Areal wird vor allem durch Aufgaben aktiviert, die mit Theory of Mind, episodischem Erinnern und Imagination von Objekten und Szenen assoziiert sind (Abb. 21A). Vergleicht man die Funktionen eines Areals, so konnte festgestellt werden, dass Aufgaben, die mit Zeichnen assoziiert sind, in der linken Hemisphäre von STS1 prozessiert werden. Sinnerschließendes Lesen, das heißt ohne laute Wiederholung der Worte (covert), Selbstkontrolle und semantische Unterscheidungen konnten hauptsächlich der linken Hemisphäre des STS2 Areals zugeordnet werden (Abb. 21B).

A Arealvergleich STS1 vs STS2



B Hemisphärenvergleich links (LH) vs rechts (RH)

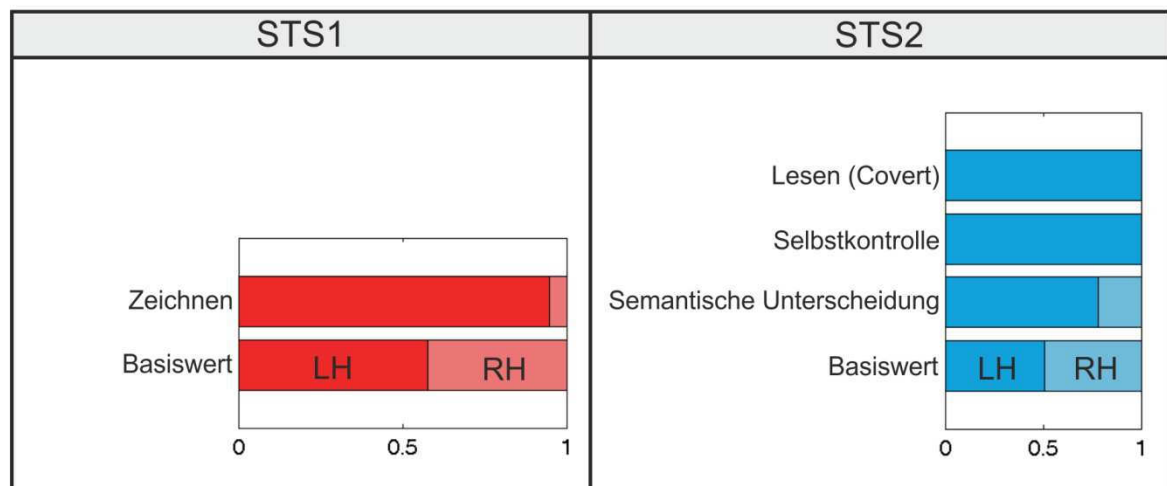


Abbildung 21: Funktionelle Unterschiede zwischen den Arealen und Hemisphären.

Psychologische Kategorien aus der BrainMap Datenbank, die einen Haupteffekt in den Arealen zeigten, wurden zwischen den Arealen (A) und Hemisphären (B) verglichen und für multiple Vergleiche korrigiert (FDR; $p \leq 0,05$). Der Basiswert gibt das Verhältnis zwischen der Anzahl der Studien an, die für die Analyse des Vergleichs zur Verfügung standen.

3.2. Rezeptorarchitektonik

Nachdem die Areale zytoarchitektonisch abgegrenzt waren, wurden sie mittels quantitativer Rezeptorautoradiographie untersucht. Für die Untersuchung standen Autoradiogramme von 15 Transmitterrezeptoren zur Verfügung. In einem ersten Schritt wurde die Lage der Areale auf den Autoradiogrammen anhand des laminären Musters der Rezeptordichte bestimmt und auf korrespondierenden zellkörpergefärbten Schnitten verifiziert. Die Grenzen der STS-Areale wurden anschließend mit der Beobachter-unabhängigen Methode belegt (vergleiche Abb. 9). Die Arealgrenze zwischen STS1 und STS2 liegt im Sulcusgrund. Die Grenze zwischen STS2 und MTG1 liegt auf der unteren Bank, nahe der Gyrukrone (Abb. 22, Myelin). Damit konnten die zytoarchitektonisch gefundenen Grenzen in einer weiteren Modalität mit den Methoden der quantitativen Rezeptorautoradiographie bestätigt werden.

3.2.1. Rezeptordichteverteilung in den STS-Arealen

Die nachgewiesenen Arealgrenzen wurden auf 15 Rezeptorautoradiogrammen in Abbildung 22 eingezeichnet. Die gezeigten Autoradiogramm-Ausschnitte sind aufeinanderfolgend und entsprechen der Schnittebene der rezeptorarchitektonischen Grenzfindung aus Abbildung 9. Deshalb können die objektiv nachgewiesenen Rezeptorgrenzen für Rezeptoren, die keine Arealgrenze an der Stelle zeigen, übertragen werden. In der linken oberen Ecke ist zur Übersicht ein Myelinschnitt der Region gezeigt. Auf diesem Schnitt erkennt man die horizontal verlaufenden Faserbündel, Baillarger-Streifen genannt, in Schicht IV und V.

Zur besseren Sichtbarkeit der Faserverteilung im Myelinschnitt wurden die Cortexstellen der Areale gegenübergestellt (Abbildung 23). In STS1 sind die Faserbündel schmal und weniger dicht als in Te3. Der Baillarger-Streifen ist schmaler in STS1. Außerdem ziehen in Te3 dicke Faserbündel in Schicht V und Schicht VI. STS2 unterscheidet sich von STS1 durch einen breiteren, weniger scharf abgrenzbaren Faserstreifen und mehr Faserbündeln in den infragranulären Schichten. MTG1 zeigt einen gut abgrenzbaren äußeren Baillarger-Streifen, der sich deutlich durch einen weniger dichten Bereich von dem zweiten Baillarger-Streifen abhebt. Diese Unterschiede im Faseraufbau sind ein weiterer Beleg für die Abgrenzung der Areale und bestätigen somit die rezeptorarchitektonisch getroffene Arealeinteilung.

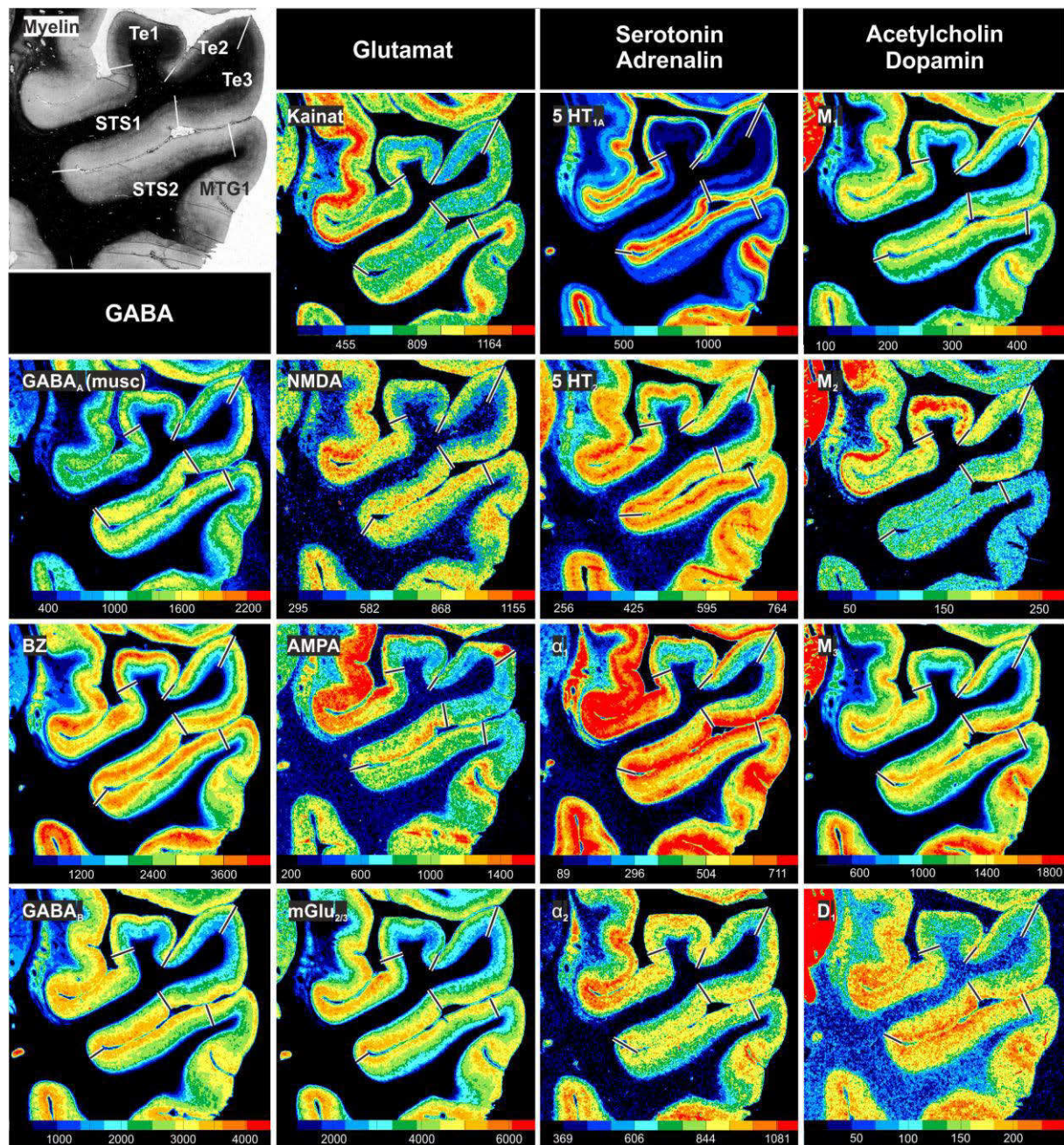


Abbildung 22: Lage der Areale in Rezeptor-Autoradiogrammen.

Auf dem Myelinschnitt wurde die Lage der Areale markiert. Die Autoradiogramme stammen aus sechs Neurotransmittersystemen und ermöglichen die Abgrenzung und neurochemische Beschreibung der Areale. Die Beobachter-unabhängig nachgewiesenen Arealgrenzen wurden auf jedem Autoradiogramm eingezeichnet. Die Farbskala am unteren Bildrand der Autoradiogramme gibt die Dichte der jeweiligen Rezeptorbindestelle in fmol/mg Protein an.

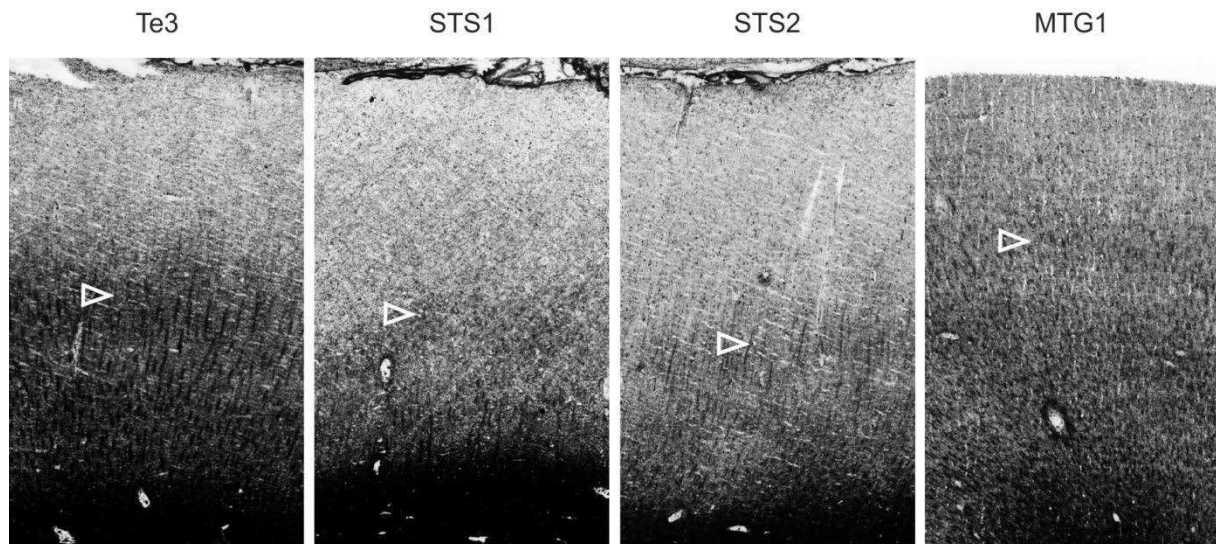


Abbildung 23: Unterschiede in der Myeloarchitektur der Areale.

Dargestellt sind vergrößerte Arealausschnitte des Myelinschnittes aus Abbildung 22. Die Areale unterscheiden sich auch in ihrem Faseraufbau. In Te3 sind dicke Faserbündel zu erkennen, die bis in Schicht IV ziehen und sich in ihrem Durchmesser von den anderen Arealen unterscheiden. Die Pfeilspitzen markieren den Baillargerstreifen von Schicht IV, der in STS1 prominenter ist als in STS2. In Areal MTG1 tritt der innere Baillargerstreifen deutlicher hervor.

Betrachtet man die Rezeptorautoradiogramme aus Abbildung 22, so erkennt man, dass die Rezeptordichte von Te3 zu STS1 in fast allen Autoradiogrammen ansteigt. Besonders deutlich zu erkennen ist das bei den Glutamat-Rezeptoren Kainat, AMPA, mGlu_{2/3}, bei GABA_B und α_1 . STS1 und STS2 zeigen ein ähnliches laminäres Muster; die beiden Areale lassen sich aber auch rezeptorarchitektonisch voneinander unterscheiden. Das erkennt man vor allem auf den Autoradiogrammen der Kainat-, AMPA-, mGlu_{2/3}-Rezeptoren und bei dem Serotoninrezeptor 5HT_{1A}. In MTG1 nimmt die Rezeptordichte wieder ab. Sie liegt aber noch über den Intensitäten von Te3. Es gibt zwei Ausnahmen von diesem allgemeinen Trend: Die Rezeptordichte von Kainat bleibt in MTG1 hoch und die höchste Rezeptordichte findet sich bei diesem Rezeptor infragranulär, wohingegen bei den anderen Rezeptoren die Rezeptordichte supragranulär am höchsten ist. Auch der M₂-Rezeptor zeigt einen von diesem Trend abweichenden Verlauf: Der M₂-Rezeptor zeigt die charakteristisch hohe Rezeptordichte primär sensorischer Areale, deutlich zu erkennen im primär auditorischen Areal (Te1). In Te2 und Te3 finden sich mittlere Rezeptordichten und an der Grenze zu STS1 fällt die Intensität deutlich ab. In STS2 bleibt die Rezeptordichte in etwa auf dem Wert von STS1 und fällt erst wieder in MTG1. Finden sich bei Te2 und Te3 die höchsten Rezeptordichten supragranulär, sind die Rezeptordichten in STS1 bis MTG1 recht homogen über die Schichten verteilt.

Der NMDA-Rezeptor zeigt in Areal Te3 eine deutliche Zweiteilung. Es ist ein supragranuläres Band mit gleichmäßig hoher Intensität erkennbar, das in etwa die Hälfte der kortikalen Tiefe einnimmt. Infragranulär ist die Rezeptordichte niedrig. An der Grenze zu STS1 steigt die Intensität an. Außerdem ist der Übergang zu den infragranulären Schichten kontinuierlicher und weniger scharf abgegrenzt. STS2 ähnelt in der Rezeptordichte Areal STS1. Das supragranuläre Band ist jedoch etwas schmaler und grenzt sich besser gegen die unteren Schichten ab. Am Übergang von STS2 zu MTG1 wird die supragranuläre Schicht schmaler, ist kompakter und lässt sich besser zur granulären Schicht abgrenzen.

Die metabotropen Glutamat-Rezeptoren mGlu_{2/3} zeigen im Areal Te3 die höchsten Rezeptordichten in den oberen Schichten. Danach fällt die Intensität stark ab und bleibt bis zur weißen Substanz auf einem niedrigen Niveau. An der Grenze von Te3 zu STS1 steigt die Rezeptordichte an. Es zeigt sich ein breiter, homogener Bereich hoher Intensität, der erst infragranulär auf ein niedriges Niveau abfällt. STS2 ist gekennzeichnet durch drei in etwa gleich breite, übereinanderliegende Bänder, deren Intensität stufenweise zur weißen Substanz abnimmt. In MTG1 ist die hohe Rezeptordichte nur noch in der äußersten Schicht zu finden. Deshalb lässt sich MTG1 gut von STS2 abgrenzen.

Der Dopamin-Rezeptor D₁ zeigt in Te3 ein schmales Band hoher Rezeptordichte, das in etwa der zweiten Schicht entspricht. An der Grenze zu STS1 wird dieses Band breiter und infragranulär steigt die Intensität an. STS2 zeigt eine ähnliche Rezeptorverteilung wie STS1, unterscheidet sich aber von diesem Areal durch eine leichte Zunahme der Rezeptordichte in der granulären Schicht. Im Areal MTG1 fällt die Rezeptordichte auf einen mittleren Wert ab.

Zur Verdeutlichung der Unterschiede in den Rezeptordichten von STS1 und STS2 wurden die laminären Muster der Areale gegenüber gestellt (Abbildung 24). Die Laminae wurden aus dem benachbarten zellkörpergefärbten Schnitt übertragen und ermöglichen einen direkten Vergleich der Rezeptordichte.

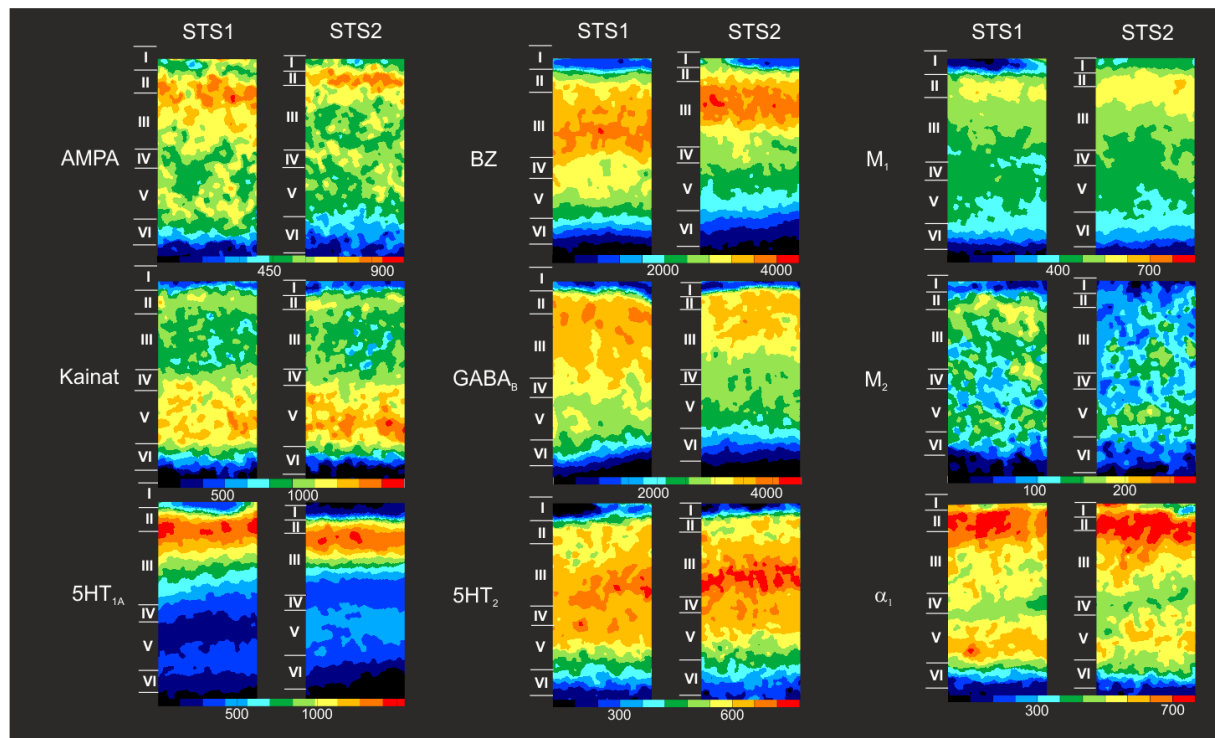


Abbildung 24: Unterschiede in der laminären Rezeptordichte der Areale.

Gegenübergestellt sind die Änderungen der Rezeptordichten der Areale für neun Rezeptorbindestellen. Die Laminae wurden aus dem benachbarten zellkörpergefärbten Schnitt übertragen. Die Farbskala gibt die Rezeptordichte in fmol/mg Protein an.

Im Autoradiogramm des AMPA-Rezeptors finden sich in STS1 hohe Rezeptordichten in der zweiten und oberen dritten Schicht, wohingegen sie in STS2 auf die zweite Schicht begrenzt bleibt. In STS2 sieht man die vierte Schicht deutlicher, die fünfte Schicht hat im Vergleich zu STS1 niedrigere Rezeptordichten und die sechste Schicht ist etwas breiter als in STS1.

Die Intensitäten des Kainat-Rezeptors zeigen ein anderes Bild. Die größten Unterschiede finden sich hier infragranulär. In der fünften Schicht steigt vor allem in der unteren Hälfte die Rezeptordichte von STS1 zu STS2 an. Supragranulär zeigt sich in beiden Arealen ein ähnliches Muster mittlerer Intensität. Die Schicht II lässt sich gut abgrenzen, erscheint aber in STS1 und STS2 ähnlich.

Bei der GABA_A-assoziierten Rezeptorbindestelle Benzodiazepin (BZ) und GABA_B weist STS1 über die gesamte Lamina III eine hohe Rezeptordichten auf, wohingegen sie in STS2 auf die obere Hälfte von Schicht III beschränkt bleibt. Außerdem sind die Rezeptordichten der granulären und infragranulären Schichten in STS2 niedriger als in STS1.

Die Rezeptordichten der beiden Serotoninrezeptoren unterscheiden sich beachtlich. Betrachtet man den 5HT_{1A}-Rezeptor, so fällt die hohe Rezeptordichte in der zweiten und oberen dritten Schicht auf, die beiden Arealen gemeinsam ist, in STS1 aber etwas breiter ausfällt. Der Hauptunterschied liegt in der fünften Schicht: In STS1 lässt sich klar ein oberer Bereich niedriger und ein unterer Bereich höherer Intensität unterscheiden. In STS2 steigt die Intensität im Vergleich zu STS1 an und ist homogen über die fünfte Schicht verteilt. In 5HT₂ liegt die höchste Rezeptordichte in den mittleren Schichten (III bis V). STS2 unterscheidet sich von STS1 durch eine Zunahme der Rezeptordichte in der unteren dritten Schicht, die als kräftig rotes Band das Hauptunterscheidungsmerkmal von STS1 ist.

Bei den muskarinergen Acetylcholinrezeptoren hat der M₁-Rezeptor die höchsten Rezeptordichten in der zweiten Schicht. Im Vergleich zu STS1 zeigt STS2 höhere Rezeptordichten in den Schichten II bis V, so dass sich in STS2 ein breiteres Band hoher Intensität in Schicht II und oberer dritter Schicht findet. Im M₂-Rezeptor dominiert ebenfalls in STS1 die zweite Schicht. Dieses Band verschwindet in STS2. Die zweite Schicht ist somit das Hauptunterscheidungskriterium der beiden Areale, denn in den anderen Schichten sind die Intensitäten diffus verteilt und lassen keine klare Schichtung erkennen. Insgesamt ist aber festzustellen, dass die Rezeptordichten in STS2 weniger dicht sind als in STS1.

Der adrenerge Rezeptor α_1 zeigt in STS1 ein klar abgrenzbares Band hoher Rezeptordichte in der zweiten und oberen dritten Schicht. In STS2 wirkt dieser Übergang diffuser, die Intensität bleibt aber gleich hoch. In STS2 nimmt die Rezeptordichte vor allem in der fünften Schicht ab, so dass das Band weniger dicht und kompakt ist.

3.2.2 Rezeptor-Fingerprints der Areale STS1 und STS1

Nachdem die Arealgrenzen belegt waren, wurden die mittleren Rezeptordichten der Areale bestimmt. Die Rezeptordichten aller Hemisphären eines Areals wurden gemittelt. Diese *Grand mean* Werte sind in Tabelle 8 dargestellt und bilden die Grundlage für die Erstellung des Rezeptor-Fingerprints, der multidimensionalen Skalierung und der Erstellung der hierarchischen Clusteranalyse.

Tabelle 8: Mittlere Rezeptordichten der untersuchten Areale.

In der Tabelle sind die mittleren Rezeptordichten (linke Spalte) mit den Standardabweichungen (rechte Spalte) aufgelistet. Die Rezeptoren wurden ihrer Wirkungsweise nach in exzitatorisch (AMPA bis mGlu_{2/3}), inhibitorisch (GABA; BZ) und modulatorisch eingeteilt und entsprechen somit der Anordnung der *Fingerprints*.

	AMPA		Kainat		NMDA		mGlu _{2/3}	
Te3	415.77	± 182.35	456.72	± 128.19	944.27	± 269.66	2607.82	± 672.67
STS1	461.47	± 198.79	496.53	± 168.89	1026.10	± 265.40	2778.54	± 919.05
STS2	510.57	± 216.32	540.44	± 181.87	1149.63	± 323.85	3071.53	± 972.67
MTG1	488.73	± 225.45	533.83	± 189.77	1031.01	± 286.64	2529.02	± 805.43

	GABA _A		GABA _B		BZ	
Te3	1082.41	± 104.53	1906.10	± 277.16	1968.97	± 387.92
STS1	1267.16	± 195.14	2225.60	± 455.33	2205.47	± 455.21
STS2	1352.11	± 316.50	2347.33	± 524.61	2275.82	± 440.22
MTG1	1144.98	± 170.12	2055.46	± 479.83	2134.19	± 316.76

	M ₁		M ₂		M ₃		nikotinisch	
Te3	494.06	± 153.09	145.44	± 40.14	693.14	± 269.02	47.43	± 14.49
STS1	572.42	± 149.25	131.37	± 46.04	780.03	± 303.65	45.98	± 19.30
STS2	614.27	± 231.42	123.33	± 43.24	809.99	± 293.25	47.80	± 19.96
MTG1	529.96	± 173.00	101.89	± 37.96	780.00	± 249.42	52.76	± 18.40

	α ₁		α ₂		5HT _{1A}		5HT ₂	
Te3	305.51	± 78.85	542.25	± 203.19	278.62	± 106.88	425.26	± 113.22
STS1	361.47	± 126.60	583.69	± 232.46	353.10	± 125.85	473.66	± 110.52
STS2	379.48	± 135.61	580.54	± 222.33	430.66	± 146.33	503.14	± 118.17
MTG1	349.42	± 128.18	512.55	± 208.56	318.59	± 179.39	431.29	± 109.23

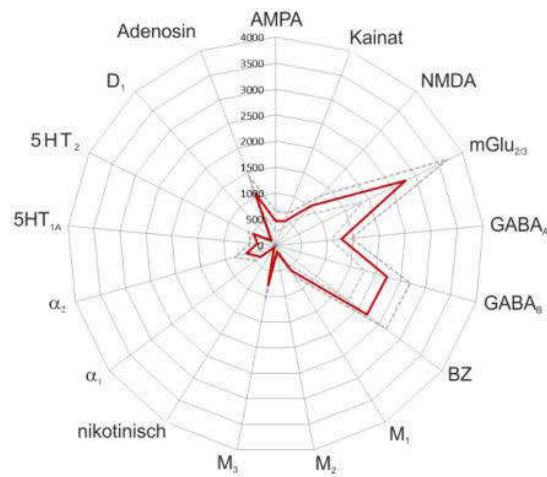
	Adenosin		D ₁	
Te3	1040.73	± 299.76	97.82	± 28.92
STS1	1071.77	± 364.76	113.50	± 31.21
STS2	1078.25	± 374.81	120.72	± 35.17
MTG1	1128.15	± 388.07	99.09	± 29.16

Trägt man die Werte für jedes Areal nach der Reihenfolge der Rezeptorbindestellen in Polarkoordinaten auf, erhält man den Rezeptor-Fingerprint. Abbildung 25A zeigt die Fingerprints für die Areale STS1 und STS2. Die gestrichelte Linie gibt die Standardabweichung an. Aus den Werten der Tabelle 8 kann man die Abweichung von der mittleren Rezeptordichte berechnen. Sie ist arealunabhängig und liegt für die meisten Rezeptoren zwischen 25 und 35 Prozent. Mit drei Ausnahmen: Die Gruppe der GABA-Rezeptoren zeigt mit 15 bis 25 Prozent die niedrigsten Abweichungen vom Mittelwert. Die höchsten Abweichungen wurden in STS1 für den AMPA-Rezeptor mit 43% (Rezeptordichte: 461 fmol/mg $\pm$ 198) und den Adrenalinrezeptor α_2 mit 40% (Rezeptordichte: 583 fmol/mg $\pm$ 232) gefunden.

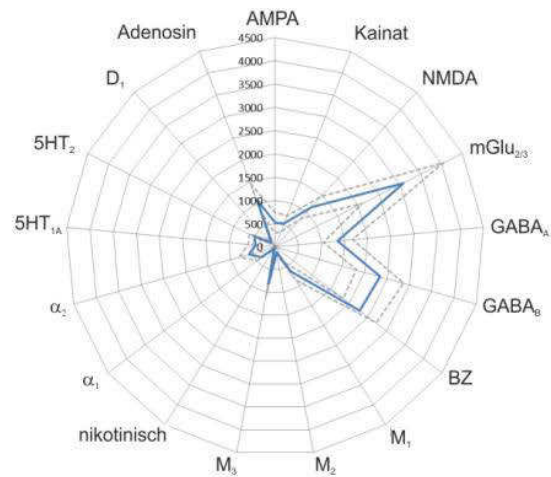
Die geometrische Form des Rezeptor-Fingerprints wird durch die Balance der 17 Rezeptordichten bestimmt und ist arealspezifisch. Es fällt auf, dass die Formen der Fingerprints für die vier Areale Te3 bis MTG1 sehr ähnlich sind (Abbildung 25B), sich aber in ihrer Intensität unterscheiden lassen. Bei den GABAergen Rezeptoren steigt die Rezeptordichte von Te3 über STS1 bis STS2 an und fällt dann in MTG1 ab, liegt aber noch über dem Wert von Te3. In den metabotropen Glutamatrezeptoren (mGlu_{2/3}) ist das Verhältnis der Rezeptordichten der Areale ähnlich, bis auf Areal Te3, das eine höhere Intensität zeigt als das Areal MTG1. Wie sich die Intensitäten der Areale in den anderen Rezeptorbindestellen verhalten, ist in dieser Art der Darstellung schwer zu erkennen.

In der Tabelle 8 fällt auf, dass die Werte der Rezeptordichten zwischen den Rezeptorbindestellen sehr stark schwanken. Der nikotinische Acetylcholin-Rezeptor hat in Areal STS1 mit 46 fmol/mg Protein den kleinsten Wert. Den höchsten Wert erreicht die Rezeptordichte in den metabotropen Glutamat-Rezeptoren mGlu_{2/3} in Areal STS2 mit 3072 fmol/mg Protein. Das erschwert den Arealvergleich im Rezeptor-Fingerprint für die Rezeptorbindestellen mit niedriger Konzentration. Deshalb wurde die Rezeptordichte der Areale auf die Mittelwerte aller Areale eines Rezeptors normiert. Die Intensitäten der Areale wurden in Abbildung 26 als Abweichung vom Mittelwert des Rezeptors dargestellt, dadurch dominiert kein Rezeptor den Graphen und alle Rezeptorbindestellen können ausgewertet werden.

A Rezeptor-Fingerprint von STS1



Rezeptor-Fingerprint von STS2



B Vergleich der Rezeptor-Fingerprints der Areale Te3, STS1/2, MTG1

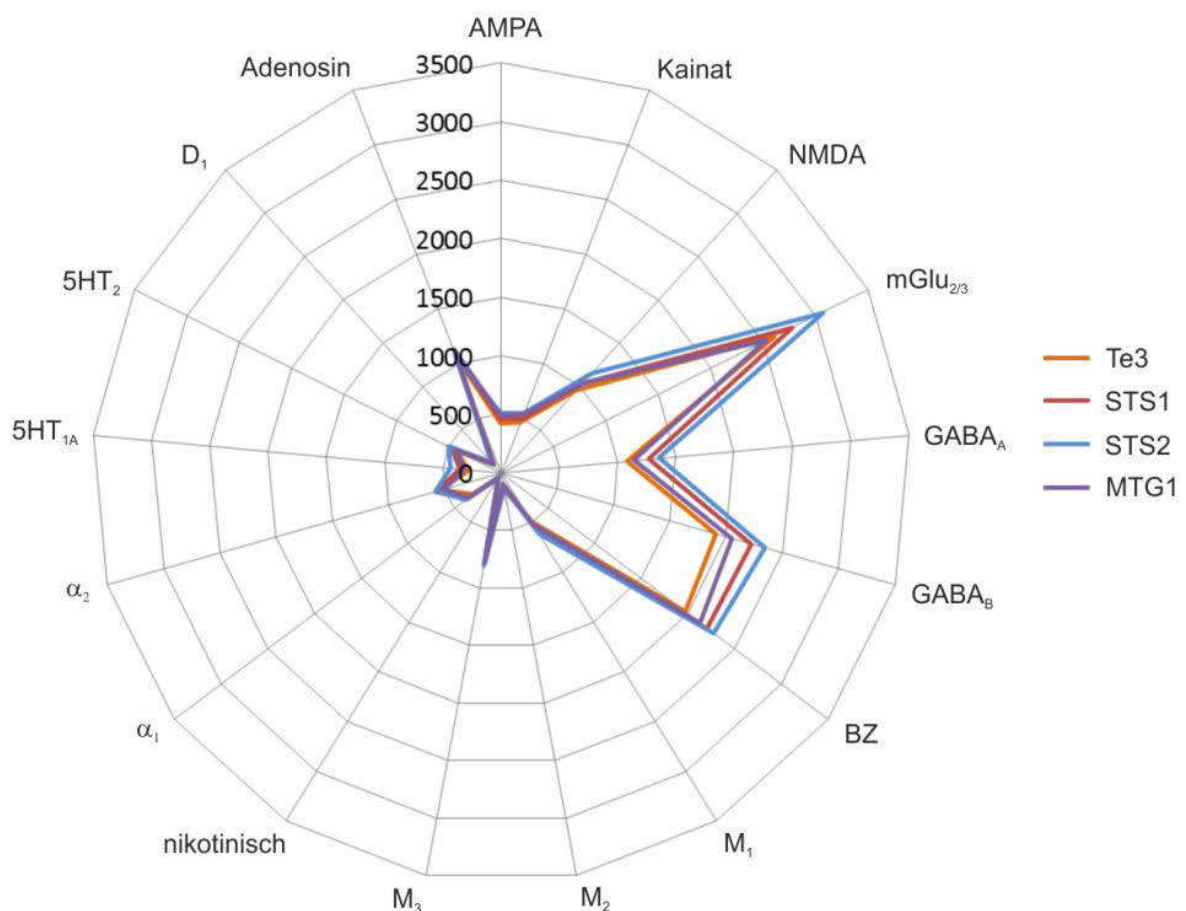


Abbildung 25: Rezeptor-Fingerprints der Areale Te3 bis MTG1.

Im oberen Teil der Abbildung sind die Rezeptor-Fingerprints der Areale STS1 und STS2 mit Standardabweichung (gestrichelte Linie) dargestellt. Diese werden im unteren Teil der Abbildung übereinandergelegt und mit den Arealen Te3 und MTG1 verglichen. Die Rezeptor-Fingerprints haben eine ähnliche Form, unterscheiden sich aber hinsichtlich der Intensität der einzelnen Rezeptoren.

Die normalisierten Rezeptor-Fingerprints in Abbildung 26 zeigen, dass gerade die Rezeptorbindestellen mit den niedrigen Intensitäten zur Unterscheidung der Areale beitragen. Das Verhältnis der Rezeptorintensitäten der Areale ist bei den GABAergen Rezeptoren, wie schon in Abbildung 25 zu sehen war, nahezu konstant. Das lässt sich deutlich am parallelen Verlauf der Arealcurven erkennen. Die glutamatergen Rezeptoren unterscheiden sich im Rezeptordichte-verhältnis der Areale Te3 bis STS2 nicht von den GABAergen Rezeptorintensitäten, weisen aber deutliche Unterschiede im Areal MTG1 auf. Liegt die Rezeptorintensität in mGlu_{2/3} noch 8% unter dem Mittelwert, entspricht sie in NMDA dem Mittelwert und liegt in Kainat und AMPA 5% darüber. Damit verschiebt sich auch das Verhältnis der Areale zueinander. In NMDA ist die Rezeptorintensität von MTG1 etwa gleichhoch wie in STS1. In AMPA und Kainat liegt sie fast auf dem Niveau von STS2. Für die Acetylcholinrezeptoren kann kein einheitliches Muster der Areale angegeben werden. Das Verhältnis der Rezeptordichten des muscarinergen Rezeptors M₁ zeigt die typische Arealabfolge, wie sie für die GABAergen Rezeptoren beschrieben wurde. Auf die Besonderheiten des M₂-Rezeptors wurde bereits bei der Beschreibung der Rezeptordichteverteilung hingewiesen. Es ist der einzige Rezeptor, bei dem Areal Te3 den höchsten Wert hat. Mit 16% liegt die Intensität deutlich über dem Mittelwert, in allen anderen Rezeptortypen liegt sie deutlich darunter. Das Verhältnis der Rezeptorintensität von Areal STS1 liegt, wie in den meisten Rezeptoren, knapp über dem Mittelwert. Besonders an dem Rezeptor ist jedoch, dass die Intensität von STS2 6,5% unter dem Wert von STS1 liegt, und dass MTG1 mit nur 81% des Mittelwerts, den niedrigsten Wert für dieses Areal erreicht. Für die Rezeptorbindestelle M₃ hat das Areal STS2 wieder den höchsten Wert. Die Intensitäten von STS1 und MTG1 sind gleichhoch und liegen 2% über dem Durchschnitt, wohingegen Areal Te3 nur 90% dieses Wertes erreicht. Der nikotinische Acetylcholinrezeptor zeigt über die Arealgrenzen hinweg stets gleichhohe Rezeptordichte. Das ist auch im normalisierten Fingerprint zu sehen: Die Areale Te3 bis STS2 haben in etwa den gleichen Wert knapp unterhalb des Mittelwertes. Nur für Areal MTG1 liegt der Wert 8% über dem Durchschnitt. Die adrenergen Rezeptorbindestellen α_1 und α_2 unterscheiden sich in den Intensitäten der Rezeptordichten der Areale. Bei dem α_1 -Rezeptor liegt die typische Abnahme der Rezeptordichte von STS2 (+9%), STS1 (+4%), MTG1 (± 0) und schließlich Te3 (-13%) vor. Bei dem α_2 -Rezeptor können die Areale STS1 und STS2 nicht voneinander unterschieden werden. Sie liegen gleichhoch bei 5% über dem Mittelwert. Eine Besonderheit ist auch der relativ hohe Wert von Areal Te3 (98%) im Vergleich zu MTG1 (92%). Die Serotoninrezeptoren zeigen die typische Verteilung der Areale. Am Rezeptortyp 5HT_{1A} fallen aber die hohen

Unterschiede in den Rezeptordichten von Areal STS2 (+25%) und von Areal Te3 (-20%) auf. Diese Rezeptorbindestelle zeigt die größten Schwankungen um den Mittelwert. Bei 5HT₂ ändern sich die Werte von den Arealen STS1 und MTG1 nicht. Areal Te3 zeigt mit -10% aber nicht mehr diese große Abweichung vom Mittelwert. Die Intensität von MTG1 entspricht in etwa der von Areal Te3. Die relativen Werte des Dopaminrezeptors D₁ unterscheiden sich nicht wesentlich von denen des Rezeptors 5HT₂. Die relative Rezeptordichte der Areale der Adenosinbindestelle unterscheidet sich deutlich von der typischen Abfolge. Den höchsten Wert erreicht hier Areal MTG1. Dieses Areal hat eine 5% höhere Rezeptordichte als die Areale STS1 und STS2. Areal Te3 liegt 4% unter diesem Durchschnitt.

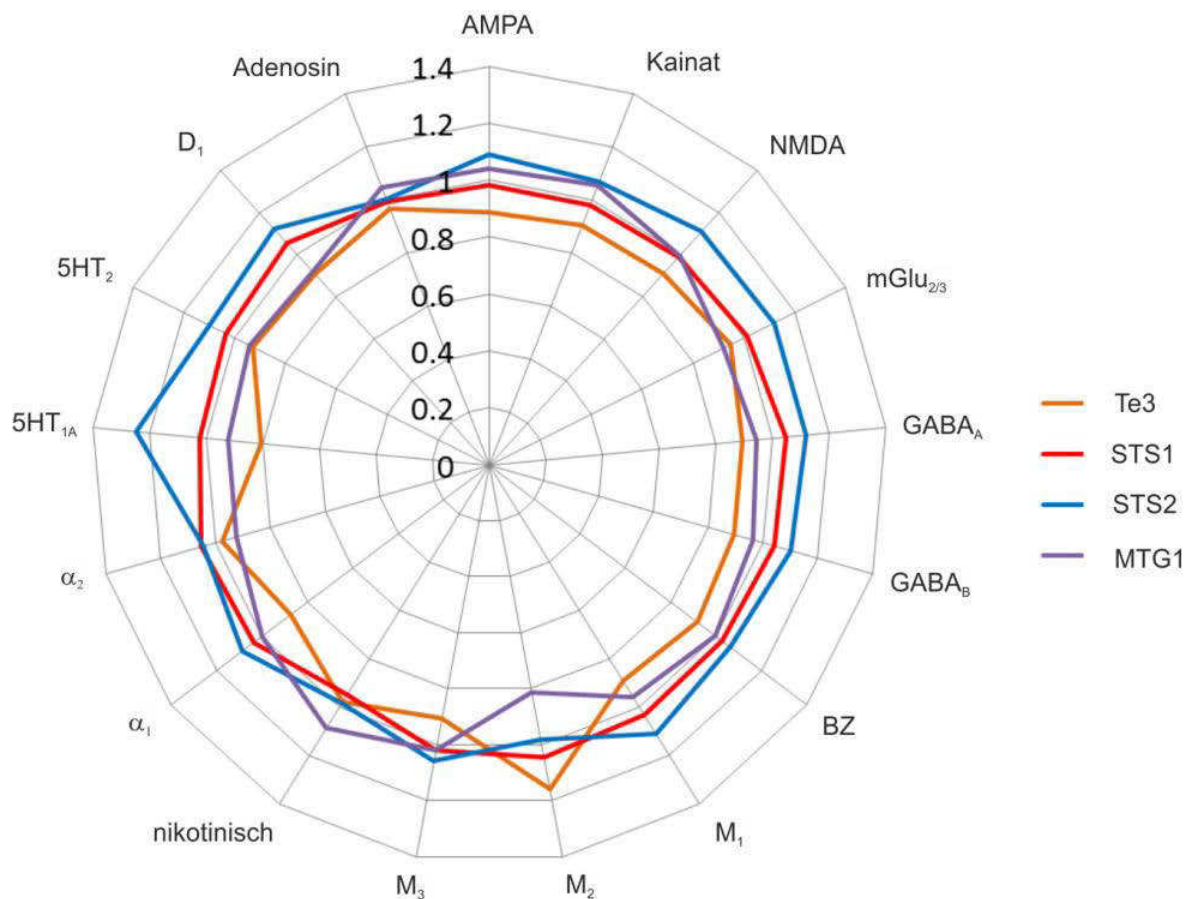


Abbildung 26: Normalisierte Rezeptor-Fingerprints.

Im normalisierten Fingerprint können auch die Unterschiede für die Rezeptoren mit niedriger Rezeptordichte dargestellt werden. So zeigen M₂- und 5HT_{1A}- Rezeptor deutliche Unterschiede zwischen den Arealen.

Der Rezeptor-Fingerprint mit den absoluten Werten der Rezeptordichten in Abbildung 25 zeigte ein sehr ähnliches Bild der verschiedenen Areale. Durch die Normalisierung der Rezeptordichten konnten die Areale deutlich voneinander unterschieden werden (Abbildung 26). War es im vorherigen Kapitel nur möglich die Unterschiede auf den Autoradiogrammen qualitativ zu beschreiben, konnten die Unterschiede der Areale mittels quantitativer Rezeptorautoradiographie objektiv dargestellt werden. Die herausgearbeiteten rezeptorarchitektonischen Unterschiede sollen nun benutzt werden, um die Areale mit bereits beschriebenen Arealen zu vergleichen (Zilles et al., 2015).

Dazu werden die normierten mittleren Rezeptordichten der Areale mittels multidimensionaler Skalierung graphisch dargestellt (Abbildung 27). Dabei entsprechen die Abstände der Areale zueinander ihrer Ähnlichkeit im Rezeptor-Fingerprint. Man erkennt in Abbildung 27 deutlich, dass sich die neuen Areale, STS1 und STS2, in den mittleren Dichten der 17 untersuchten Rezeptoren sowohl von den auditorischen Arealen (Te1-3, braun), als auch von anderen sprachassoziierten Arealen (BA44, BA45, pSTG/STS, grün) unterscheiden lassen. In Abbildung 27 ist zu erkennen, dass zwischen den STS-Arealen und den auditorischen Arealen Te1-3 die Areale des inferioren Parietallappens liegen (PF- und PG-Areale).

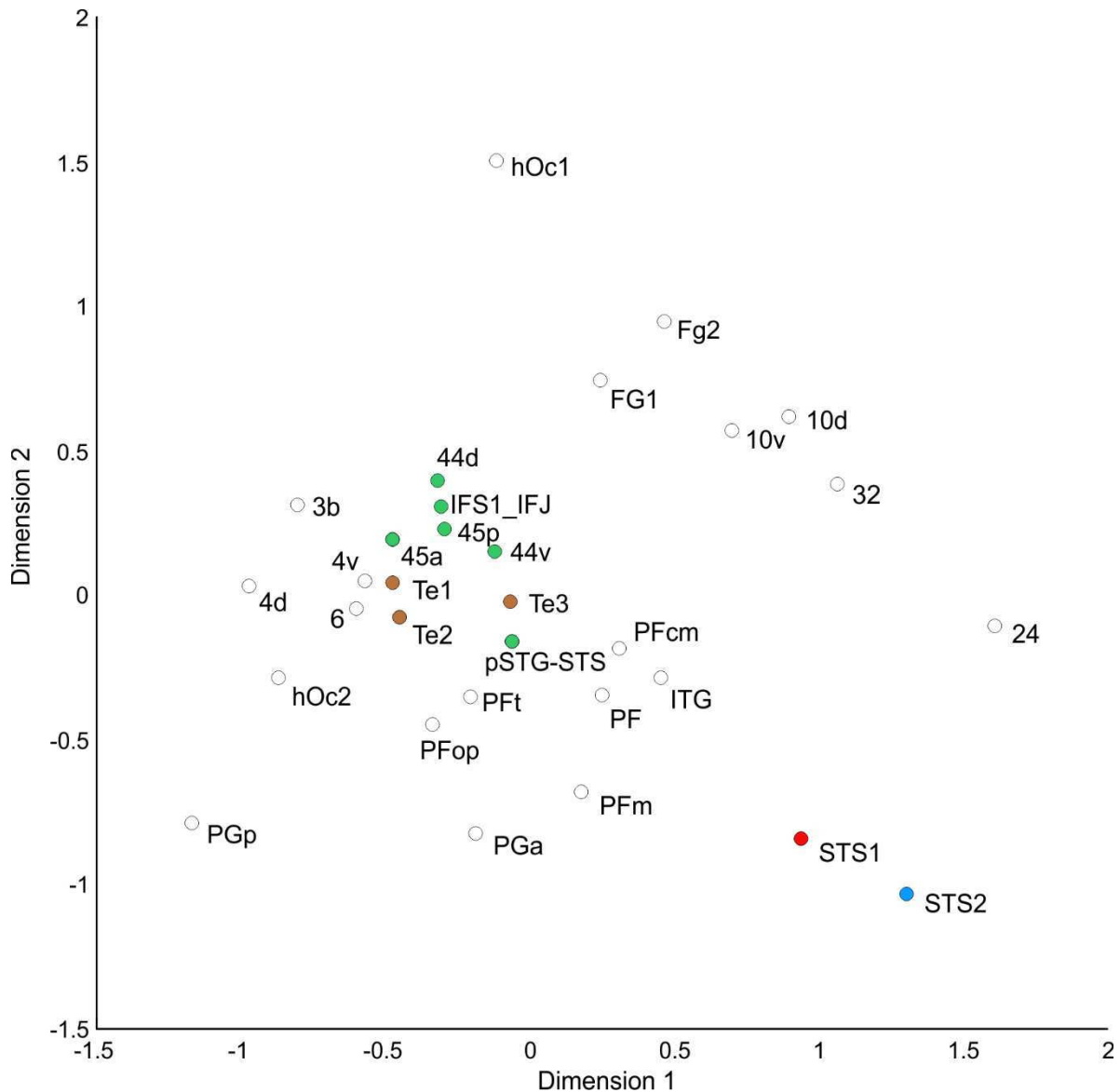


Abbildung 27: Multidimensionale Skalierung (MDS-Plot) der Areale

Der Datensatz der Rezeptor-Fingerprints wurde benutzt um den MDS-Plot zu erstellen. Dabei wurden die Areale so angeordnet, dass ihr Abstand die Ähnlichkeit in der Balance ihrer Rezeptordichten beschreibt. Man erkennt, dass sich die Areale des STS deutlich von den auditorischen (Te1, Te2) und anderen sprachassoziierten Arealen (BA44, BA45, pSTG/STS) unterscheiden.

Wie ähnlich sich diese Areale aber sind, ist in der multimodalen Skalierung schwierig zu erkennen. Deshalb wurde aus dem Datensatz eine hierarchische Clusteranalyse erstellt (Abbildung 28) und die Ähnlichkeit der Areale als Dendrogramm dargestellt. Dabei wurden Areale mit einer ähnlichen Balance ihrer Rezeptordichten zu Clustern zusammengefasst.

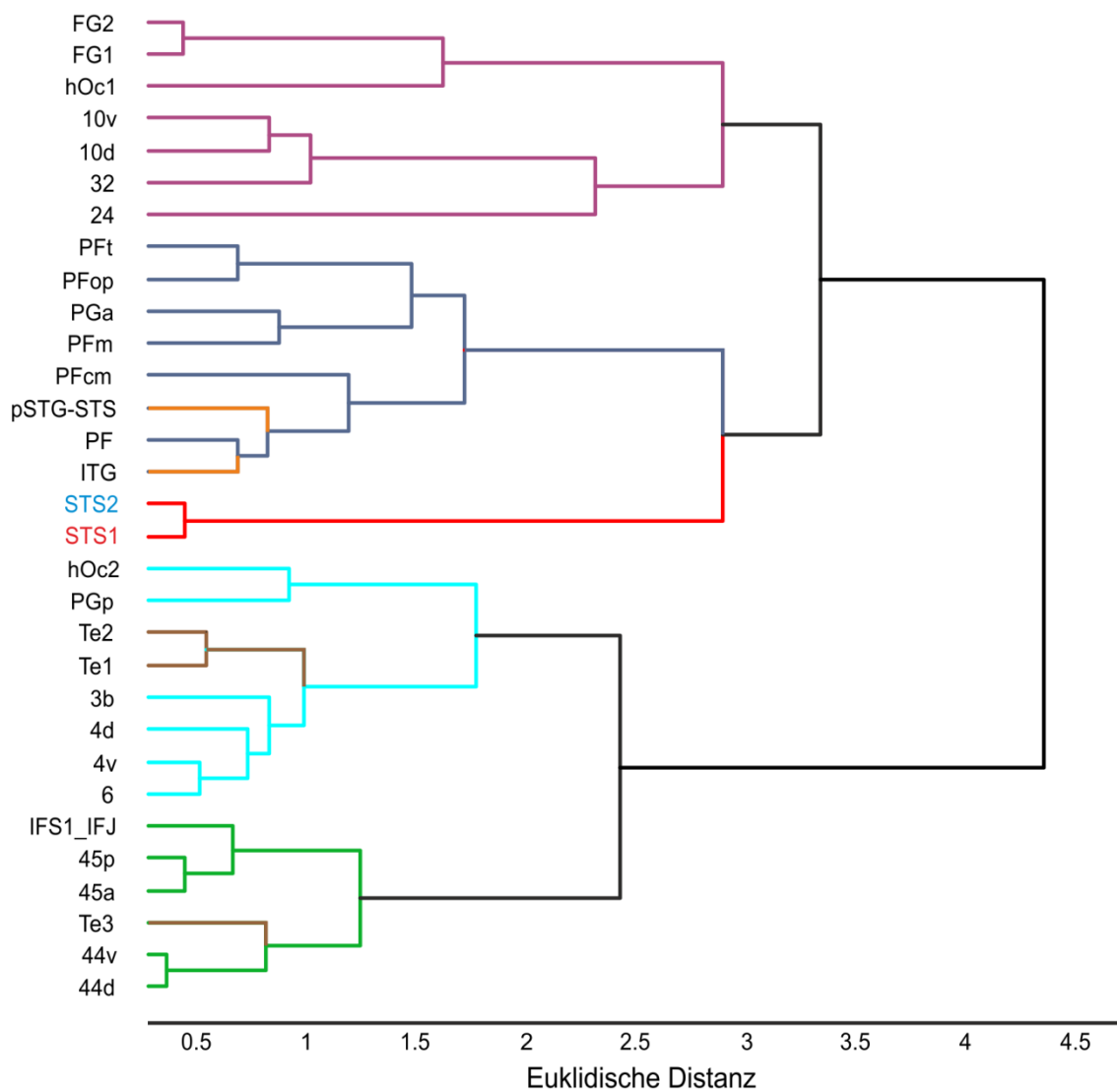


Abbildung 28: Hierarchische Clusteranalyse der Areale.

In einer hierarchischen Clusteranalyse wurden die STS-Areale nach ihrer Balance der mittleren Rezeptordichten mit bereits beschriebenen Arealen verglichen. Das Ergebnis wurde in einem Dendrogramm dargestellt, wobei die Euklidische Distanz die Ähnlichkeit der Areale in der Balance der Rezeptordichten widerspiegelt. Zu erkennen ist, dass sich STS1 und STS2 rezeptorarchitektonisch deutlich von den auditorischen Arealen (Te1, Te2) unterscheiden.

Die Areale STS1 und STS2 bilden mit den multimodalen Arealen des inferioren Parietallappens ein Cluster (dunkelblau). Sie unterscheiden sich aber in ihren Rezeptordichten deutlich von den parietalen Arealen sowie von den temporalen Regionen des posterioren STG/STS (pSTG/STS, orange) und dem Gyrus temporalis inferior (ITG, orange). Diesem Cluster ist ein weiteres höher assoziatives Cluster ähnlich (lila). Es besteht aus Arealen des fusiformen Gyrus, des Frontalpol und des Gyrus cinguli. Die fusiformen Areale (FG1/FG2) sind an der Gesichtserkennung beteiligt. Die Areale des Frontalpol (10v, 10d) und des Gyrus cinguli (24, 32) sind am Arbeitsgedächtnis, episodischem Gedächtnis und an der Persönlichkeit beteiligt. Diesen beiden multimodal assoziativen Clustern stehen das Broca-Cluster (grün) und ein Cluster aus primär und sekundär motorischen und sensorischen Arealen (hellblau) gegenüber. Die Areale Te1 bis Te3 (braun) ordnen sich in diese beiden Cluster ein. Die primär und sekundär auditorischen Areale (Te1, Te2) ähneln in ihren Rezeptordichten den primär sensorischen (3b) und primär motorischen (4d, 4v) Arealen, Te3 clustert zusammen mit dem Broca-Areal (44).

3.3. Transkriptomik

Die Areale wurden bisher in ihrer zytoarchitektonischen Mikrostruktur und anhand ihrer Rezeptordichte unterschieden. Im letzten Teil der Analyse soll die Genexpression der Areale untersucht werden. Dafür wurden Rezeptorgene gewählt, die den Rezeptoren der quantitativen Rezeptorautoradiographie entsprechen und damit einen direkten Vergleich von Gen- und Proteinebene erlauben. Die Genauswahl erfolgte mit der menschlichen PubMed-Gendatenbank und umfasste 54 Rezeptorgene (Tabelle 5).

3.3.1. Expression des M₂- und Serotonin-Rezeptorgens

Der M₂-Rezeptor und der Serotoninrezeptor 5HT_{1A} zeigten im normalisierten Fingerprint (Abbildung 26) einen gegenläufigen Gradienten und die größten Unterschiede zwischen den Arealen. In einer Pilotstudie wurden die Gene dieser Rezeptoren ausgewählt, um die Aussagekraft der Methode zu testen. Die Expression dieser Rezeptorgene wurden zwischen den neu beschriebenen Arealen und dem primär auditorischen Areal Te1 verglichen. Abbildung 29 zeigt die Genexpression in den Gewebelöcken für den M₂-Rezeptor und Serotonin. Im M₂-Rezeptor erkennt man deutlich die niedrigere Genexpression in den STS-Arealen verglichen mit dem primär auditorischen Areal und das umgekehrte Verhältnis für Serotonin. Die Unterschiede in der Genexpression der Areale waren statistisch signifikant und decken sich mit

Ergebnissen aus der Rezeptorautoradiographie, wie man auf den Autoradiogrammen der beiden Rezeptoren erkennen kann.

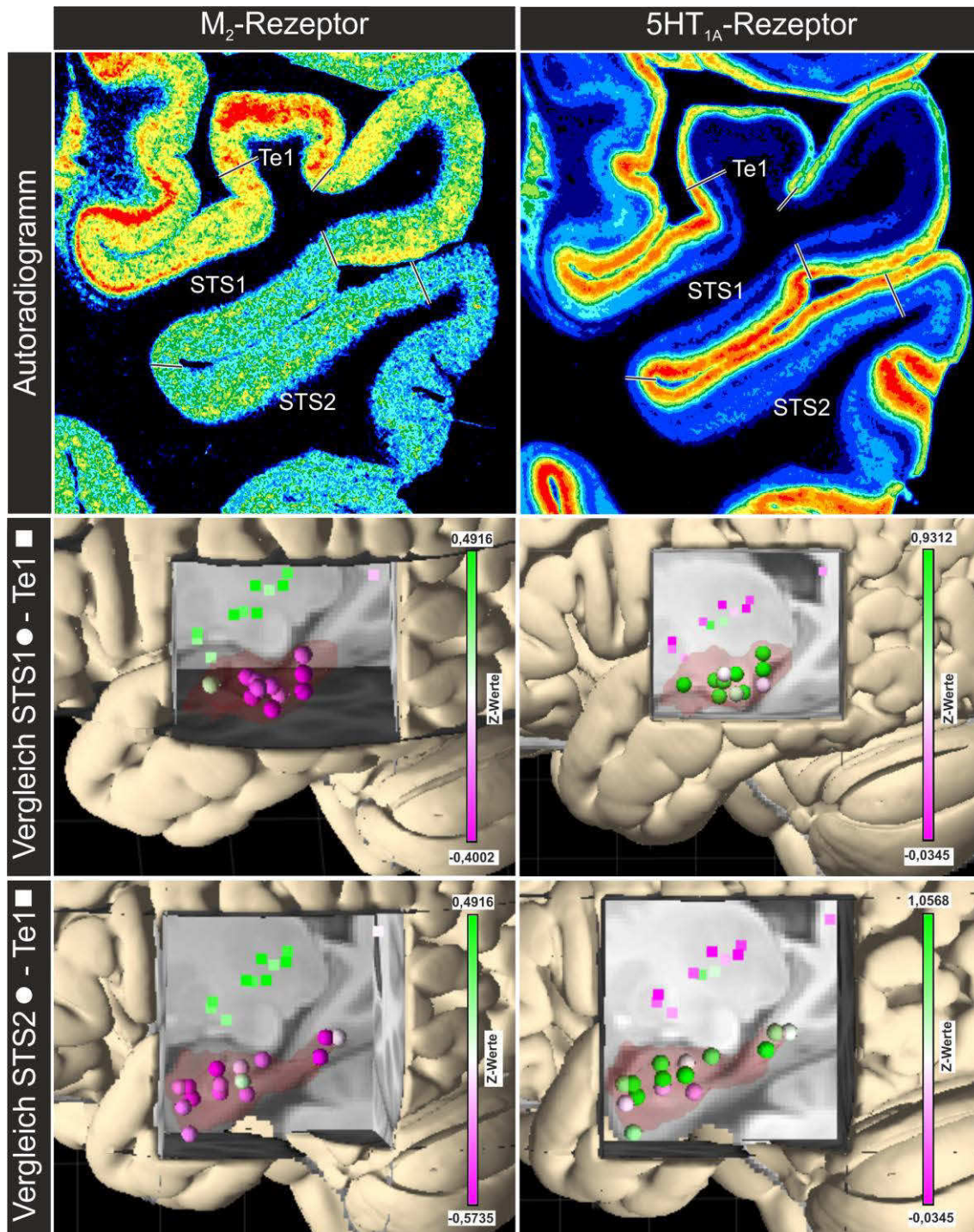


Abbildung 29: Genexpression des M₂- und 5HT_{1A}-Rezeptors im auditorischen System.

Die Rezeptor-Genexpression der neu kartierten Areale STS1/2 wurden mit dem primär auditorischen Areal Te1 verglichen. Die Expression des M₂-Rezeptorgens ist in den Gewebeblöcken von Te1 (Quadrate) höher als in denen der Areale STS1/2 (Kugeln). Für Serotonin wurde ein umgekehrtes Verhältnis gefunden. Diese Ergebnisse lassen sich gut auf den Autoradiogrammen nachvollziehen.

3.3.2. Rezeptor-Genexpression im Vergleich zu anderen sensorischen Systemen

Der Vergleich der Rezeptor-Genexpression von STS1/2 mit dem primär auditorischen Areal Te1 zeigte, dass sich die Genexpression mit den Befunden aus der Rezeptorautoradiographie deckte. Das war Anlass, die Untersuchung auf das visuelle und somatosensorische System auszudehnen und die Genexpression der STS-Areale in einen größeren Zusammenhang zu stellen. Dafür wurde mit JuGEx die Rezeptor-Genexpression in Gewebeproben eines Areals aus dem Allen Brain Datensatz heruntergeladen. Aus diesen Daten wurde die mediane Genexpression pro Areal berechnet. Trägt man die Genexpression des M₂-Rezeptors für alle untersuchten Areale gegen die mittlere Rezeptordichte auf, erkennt man, dass die Rezeptor-Gen Korrelation über Systemgrenzen hinweg gilt (Abb. 30A).

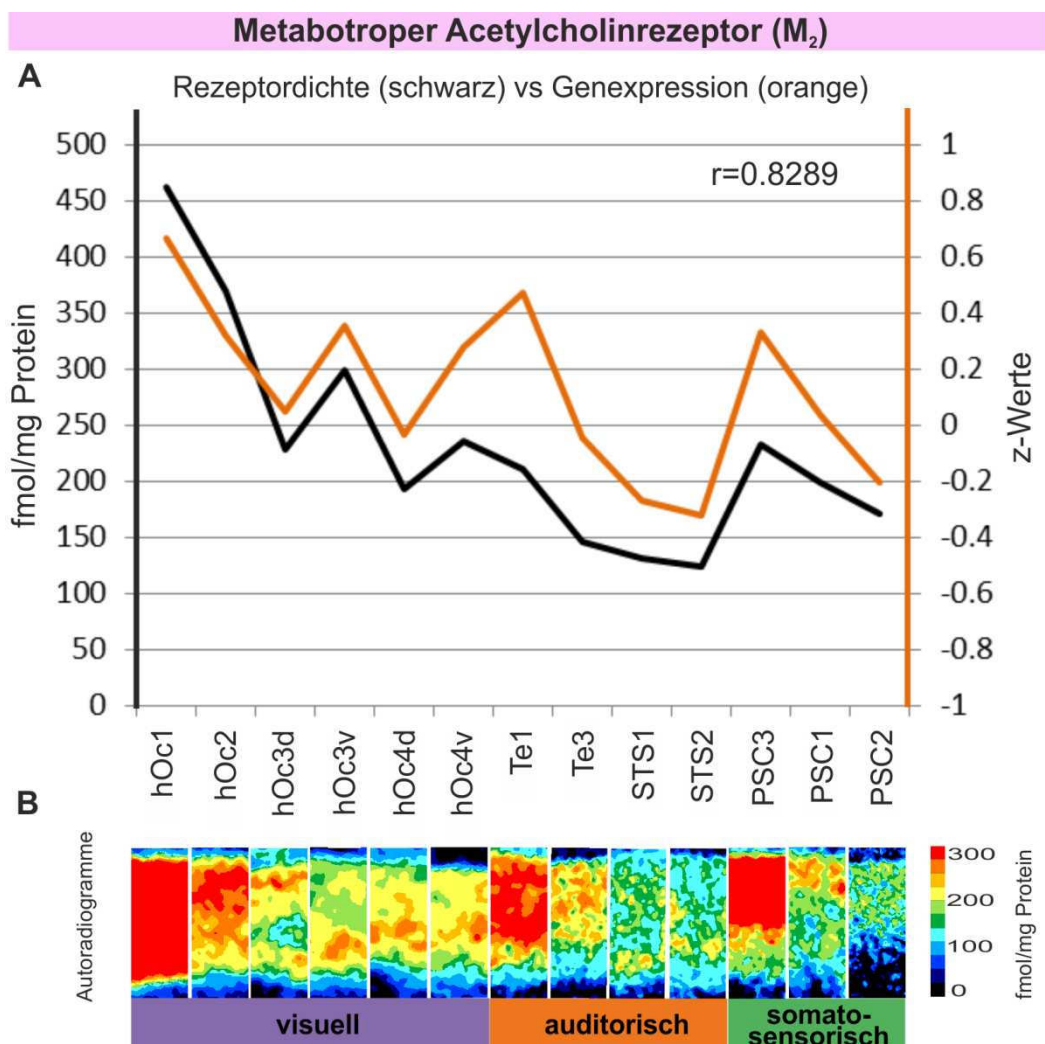


Abbildung 30: Genexpression des M₂-Rezeptors in verschiedenen sensorischen Systemen.

Die Expression des M₂-Rezeptorgens korreliert in allen untersuchten Arealen mit der mittleren Rezeptordichte (A). Innerhalb eines sensorischen Systems ist die Genexpression in den primären Arealen am größten. Die Arealausschnitte aus Rezeptor Autoradiogrammen verdeutlichen den starken Abfall in der Rezeptordichte vom primären zu höher assoziativen Arealen und sind exemplarisch für eine Hemisphäre dargestellt (B).

Die Genexpression ist in primären Arealen eines sensorischen Systems am höchsten. Dies spiegelt sich auch in den Rezeptordichten wider. In Abbildung 30B sind Ausschnitte der Areale aus Autoradiogrammen gezeigt. Die hohen Rezeptordichten in den primären Arealen nehmen schnell ab und sind in den höher assoziativen Arealen am niedrigsten. Man erkennt auch, dass die Rezeptordichte im primär visuellen Cortex (hOc1) am höchsten ist.

Aus dem Datensatz aller Rezeptorgene wurde ein Expressionsprofil für jedes Areal bestimmt. Dazu wurde die Expression der Rezeptorgene in Polarkoordinaten aufgetragen. Diese genetische Fingerprints der Areale lieferten erste Hinweise auf areal- und regionenspezifische Genexpression (siehe Abbildung 31). Trägt man die genetischen Fingerprints der Areale eines sensorischen Systems zusammen auf, so stellt man fest, dass sich deren Genexpression ähnelt, wobei innerhalb des Systems die Unterschiede zum primären Areal am größten sind (Abb. 31A).

Vergleicht man hingegen das auditorische mit dem visuellen System zeigen sich viele regionenspezifische Unterschiede, vor allem in der Expression der ionotropen Rezeptoren GABA_A und NMDA (Abb. 31A). Der Hauptunterschied ist, dass das auditorische System von mehreren Genen eines Rezeptortyps (Sterne) bestimmt wird, wohingegen das visuelle System von der Expression nur weniger hochexprimierter Rezeptorgene abhängt (Pfeilspitzen). Ionotrope Rezeptoren sind Oligomere aus verschiedenen Untereinheiten, die jeweils von einem Gen kodiert werden, wohingegen metabotrope Rezeptoren aus einem Polypeptid bestehen, das die Plasmamembran in sieben Helices durchzieht (Abb. 31B). Die Genexpressionsdaten jedes Areals wurden mit multivariater Statistik verglichen und als MDS-Plot aufgetragen (Abb. 31C). Jedes Areal lässt sich durch die Expression seiner 54 Rezeptorgene eindeutig bestimmen. Die primären Areale (hOc1; Te1) unterscheiden sich deutlich von höher assoziativen Arealen eines funktionellen Systems. Die sensorischen Regionen können nach ihrer Rezeptor-Genexpression getrennt werden, wobei das auditorische dem somatosensorischen System ähnlicher ist, als dem visuellen. Die visuellen Areale unterscheiden sich in der Rezeptor-Genexpression von allen untersuchten Arealen. Die sehr deutlichen Unterschiede zwischen visuellem und auditorischem System in den ionotropen Rezeptoren wurden detaillierter untersucht. Für die Auswertung wurde eine neue Art der Darstellung gewählt, die die Genexpression als oberflächen-basierte Genkarte darstellt. Diese Flächendarstellung erwies sich als sinnvoll, da differentielle Genexpression unmittelbar an einer Veränderung des Reliefmusters zu erkennen ist und danach eingehender untersucht werden kann.

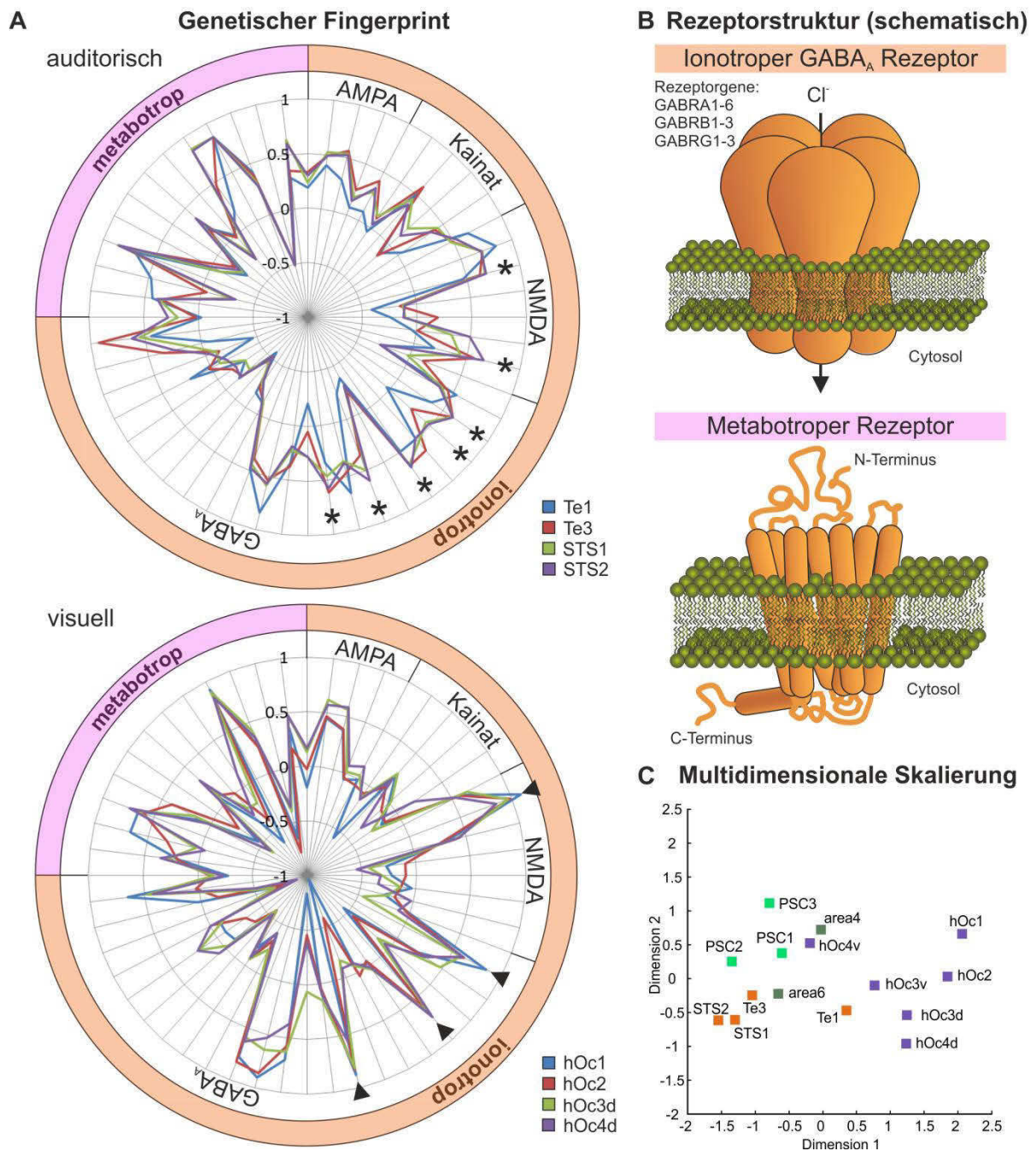


Abbildung 31: Auswertung der Genexpression.

Die genetischen Fingerprints zeigen, dass die Areale eines funktionellen Systems (auditorisch, visuell) sich in ihrer Genexpression ähneln, wobei das primäre Areal (blau) die größten Unterschiede in der Expression der Rezeptorgene aufweist (A). Vergleicht man das auditorische mit dem visuellen System erkennt man deutliche regionale Unterschiede, die sich vor allem in den ionotropen Rezeptoren zeigen. Das auditorische System wird durch die Expression von mehreren Genen eines Rezeptortyps bestimmt (Sterne). Das visuelle System zeigt dagegen nur wenige hochexprimierte Rezeptorgene (Pfeilspitzen). Ionotrope Rezeptoren sind oligomere Rezeptorkomplexe, deren Untereinheiten jeweils von einem Gen kodiert werden, wohingegen metabotrope Rezeptoren aus einem Polypeptid bestehen (B). Die multidimensionale Skalierung der Areale nach ihrer Rezeptorgenexpression verdeutlicht die regionalen Unterschiede (C). Das auditorische System (orange) unterscheidet sich vom somatosensorischen (grün) und motorischen System (oliv). Das visuelle System (lila) zeigt die größten Unterschiede in der Expression der Rezeptorgene aller vier untersuchter Systeme.

Trägt man die Genexpression der inhibitorischen GABA_A-Rezeptoruntereinheiten gegen die Areale auf, so erkennt man deutlich die Unterschiede zwischen visuellem und auditorischem System (Abb. 32A). Im visuellen Cortex sind nur wenige Gene hochreguliert. Die meisten davon kodieren für Rezeptoruntereinheiten der Hauptisoform. Die Hauptisoform eines ionotropen Rezeptors ist die mengenmäßig häufigste Zusammensetzung an Rezeptoruntereinheiten. Die Hauptisoform von GABA_A setzt sich aus je zwei α ₁- und β ₂-Untereinheiten und einer γ ₂-Untereinheit zusammen. Die Gene der Hauptisoform korrelieren mit der mittleren Rezeptordichte der Areale (Abb. 32C) und sind somit für die Unterschiede in den Rezeptordichten zwischen den visuellen und auditorischen Arealen verantwortlich, wie man auf den gleich farbkodierten Autoradiogrammen aus Abbildung 32B erkennt. Die Rezeptordichte von Benzodiazepin (BZ) wurde mit der γ ₂-Untereinheit (grün) verglichen und die Rezeptordichte von GABA_A mit der β ₂-Untereinheit, da die Rezeptorliganden an diesen Untereinheiten binden (Abb. 32C). Vergleicht man die primären Areale von auditorischem und visuellem Cortex, fällt nicht nur die niedrigere Genexpression in den Untereinheiten der Hauptisoform auf (Pfeilspitzen in Abb. 32D), sondern auch eine signifikante Hochregulierung von Rezeptorgen im auditorischen Cortex. Diese Gene sind in Abb. 32E dargestellt. Die Gene der Hauptisoform korrelieren nicht nur mit der mittleren Rezeptordichte, sondern auch untereinander. Daneben gibt es Gene von Untereinheiten, die systemspezifisch exprimiert werden. Es wurden Paare von Genen gefunden, die über alle Areale hinweg das gleiche Expressionsmuster zeigten. Das Genpaar GABRA3/GABRB1 korreliert hoch, zeigt ein gegenläufiges Expressionsmuster (negative Korrelation der Untereinheiten) zur Hauptisoform, und ist nur in den auditorischen Arealen hochreguliert. Das Genpaar GABRA5/GABRB3 wird in visuellen Arealen nur durchschnittlich exprimiert, zeigt aber in den auditorischen Arealen eine deutliche Hochregulierung, die in somatosensorischen Arealen wieder abfällt. Die Expression beider Gene jedes Genpaares korreliert hoch ($r > 0.9$). Generell kann für die Gene des GABA_A-Rezeptors festgestellt werden, dass sich die visuellen sehr stark von den auditorischen und somatosensorischen Arealen unterscheiden (vgl. Abb. 32A). Vergleicht man die primären Areale dieser sensorischen Systeme, so zeigen das auditorische und somatosensorische Areal eine ähnliche Regulation in den Rezeptorgen im Vergleich zu dem visuellen Areal (Abb. 33 A+B). Vergleicht man die Areale untereinander, so zeigen sich nur kleinere Unterschiede (Abb. 33 C). Die geringsten Unterschiede wurden zwischen somatosensorischen und motorischen Arealen gefunden (Abb. 33D).

Analyse der ionotropen GABA_A Rezeptor Genexpression

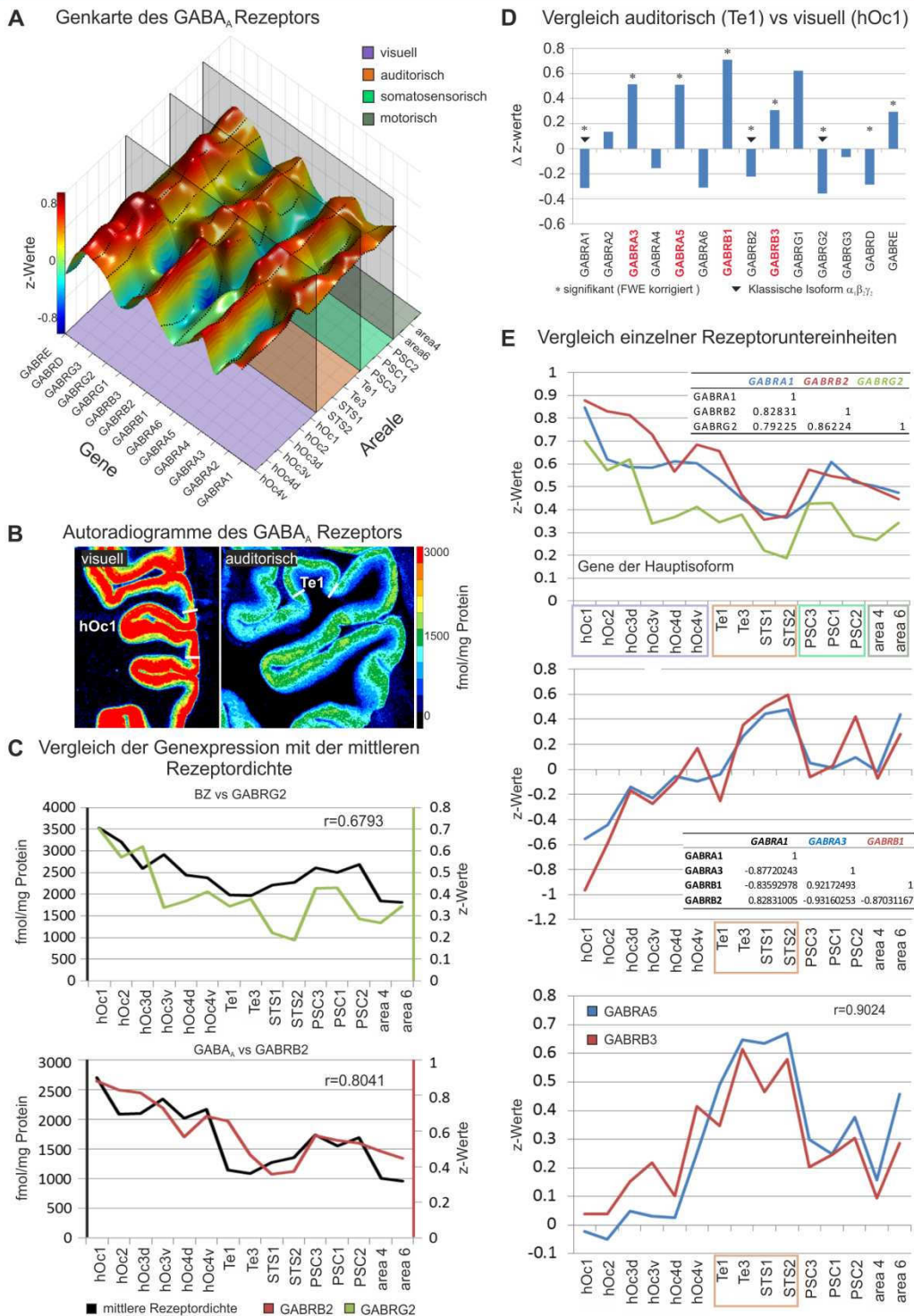


Abbildung 32: Genanalyse des GABA_A-Rezeptors.

Die Genkarte des GABA_A-Rezeptors zeigt deutlich die differentielle Genexpression der unterschiedlichen sensorischen Systeme, besonders am Übergang vom visuellen (lila) zum auditorischen System (orange, A). Das auditorische System hat eine geringere Rezeptordichte als das visuelle System (B). Diese Unterschiede wurden auch in der Genexpression der Untereinheiten der Hauptisoform gefunden (C). Ein direkter Vergleich zeigt eine Herunterregulierung der Gene für Untereinheiten der Hauptisoform (Pfeilspitzen, D). Außerdem zeigt der Graph, dass andere Gene im auditorischen System signifikant hochreguliert werden (rote Gennamen). Diese Regulation der Rezeptorgene verläuft gegenläufig zur klassischen Isoform und ist nur in den auditorischen Arealen zu finden (E).

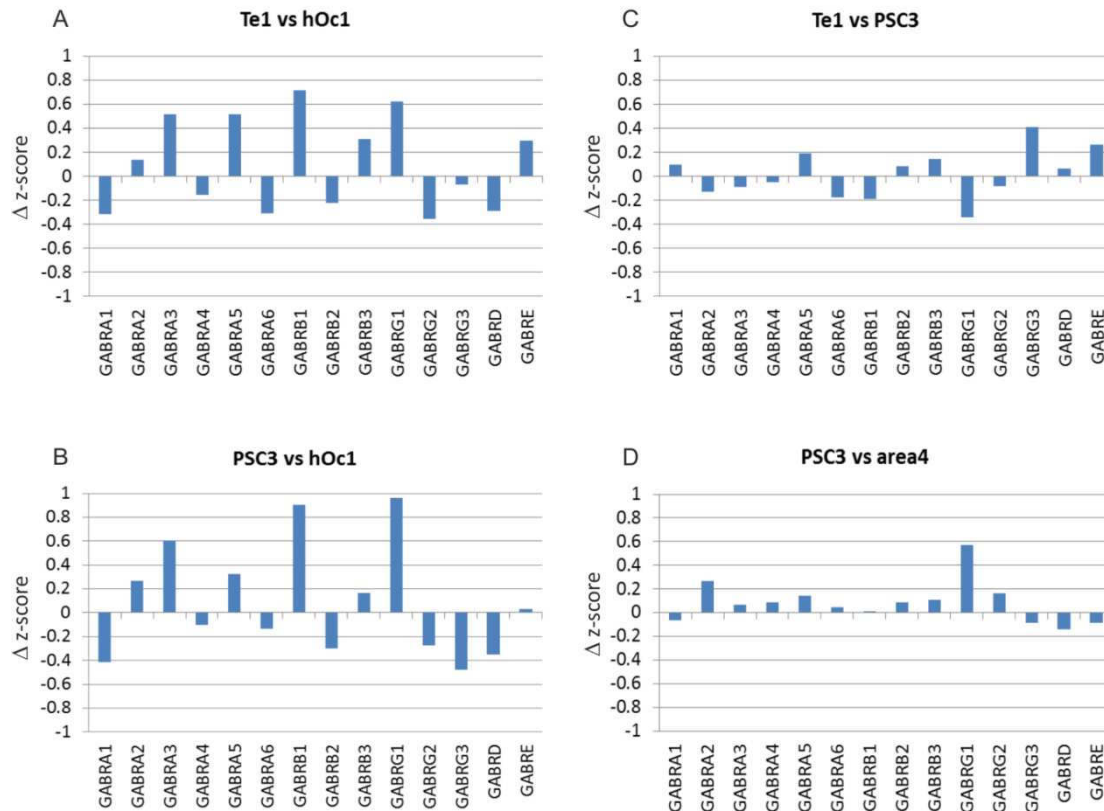


Abbildung 33: Vergleich der GABA_A Genexpression primärer Areale.

Die primär auditorisch und somatosensorischen Areale zeigen im Vergleich zum primär visuellen Areal hOc1 eine ähnliche Regulation in den GABA Rezeptorgenen (A+B) und unterscheiden sich nicht so stark untereinander (C). Die geringsten Unterschiede wurden aber zwischen dem somatosensorischen und motorischen Areal gefunden (D).

Auch für den exzitatorischen NMDA Rezeptor konnte differentielle Genexpression in den auditorischen Arealen nachgewiesen werden. Die Genkarte des NMDA Rezeptors ist in Abb. 34A dargestellt. Auf ihr erkennt man die Hauptisoform aus GRIN1 und GRIN2A, die über alle Areale hinweg hoch exprimiert wird. Herunterreguliert sind alle anderen Untereinheiten im visuellen Cortex, wohingegen in den anderen sensorischen Systemen nur die beiden Gene GRIN2C/D herunterreguliert sind und sich eine deutliche Hochregulierung in den Genen GRIN1 und GRIN3A zeigt. Die Rezeptordichte im visuellen Cortex ist höher als im auditorischen Cortex (Abb. 34B). Dieser Befund lässt sich auch an der Genexpression ablesen. Die Rezeptordichte korreliert für alle Areale mit der Genexpression von GRIN2A (Abb. 34C). Der Vergleich des primär auditorischen mit dem primär visuellen Areals zeigt die Hochregulierung des Gens GRIN3A (Abb. 34D), die für alle auditorischen Areale charakteristisch ist (orangefarbenes Rechteck), dagegen in visuellen und somatosensorischen Arealen nur durchschnittlich exprimiert wird (Abb. 34E). Gen GRIN1 ist in den somatosensorischen Arealen am höchsten exprimiert (Abb. 34 F).

Analyse des ionotropen NMDA Rezeptors

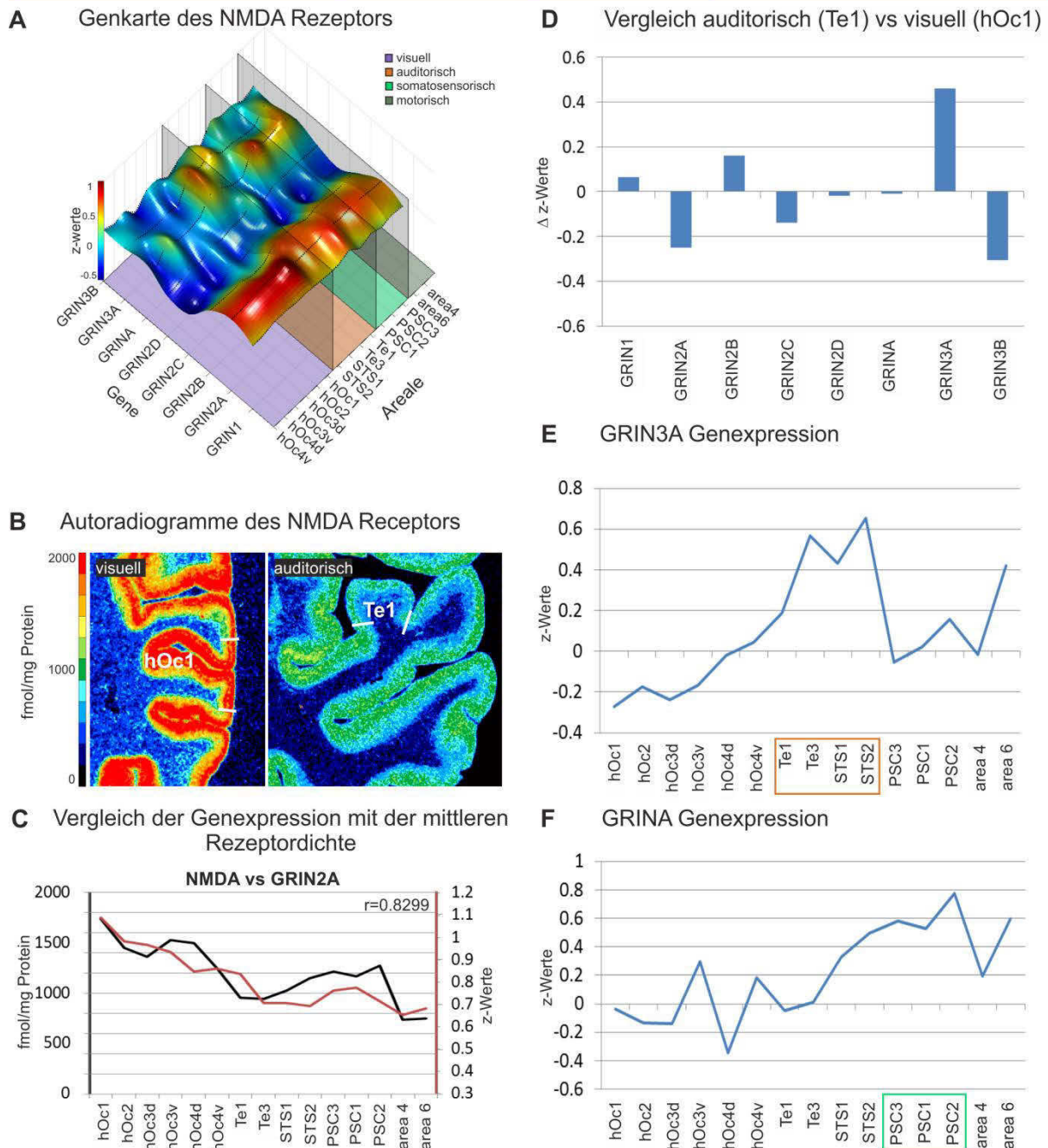


Abbildung 34: Genanalyse des NMDA Rezeptors.

Die Genkarte des NMDA Rezeptors zeigt die Gene der Hauptisoform aus GRIN1/2A und außerdem die differentielle Genexpression von GRIN1A und GRIN3A (A). Die Rezeptordichte ist im auditorischen System niedriger als im visuellen Cortex (B). Die Rezeptordichte aller Areale korreliert mit der Expression von GRIN2A (C). Im auditorischen System fällt die Hochregulation von GRIN3A gegenüber dem visuellen System auf (D). Betrachtet man die GRIN3A Expression in den analysierten Arealen, fällt auf, dass das Gen dieser Untereinheit nur in auditorischen Arealen hochreguliert ist (orangefarbenes Rechteck, E), wohingegen GRIN1A in den somatosensorischen Arealen die höchsten Werte aufweist (grünes Rechteck, F).

4. Diskussion

Bildgebende Studien haben in den letzten Jahren den multimodalen Charakter des STS beschrieben, doch fehlte es bis jetzt an Karten, die die anatomischen Korrelate dieser diversen Funktionen darstellen. In dieser Arbeit wurden erstmals zwei Areale im STS beschrieben, die über die klassischen Karten hinausgehen. Die quantitative Auswertung der Rezeptoren bestätigte die getroffene Arealeinteilung und ermöglichte erste Struktur-Funktionsbeziehungen. Eine Metaanalyse funktioneller Studien der BrainMap Datenbank zeigte dann die funktionelle Sonderstellung der STS-Areale im auditorischen System. In einer dritten Modalität wurde die Genexpression der Rezeptoren für die STS-Areale innerhalb des auditorischen Systems untersucht und in Beziehung zu anderen sensorischen Systemen gestellt. Aus der Perspektive dieser drei Modalitäten sollen die Ergebnisse diskutiert werden. Angefangen von der Einordnung der Areale in den Kontext vorangegangener zytoarchitektonischer Arbeiten zur Beschreibung der Rezeptorarchitektur aus Sicht ihrer Funktion. Ein Vergleich des Transkriptoms der neuen Areale mit anderen sensorischen Arealen schließt die Diskussion ab.

4.1. Vergleich der Karten mit früheren zytoarchitektonischen Arbeiten

Vergleicht man die neu erstellten Karten von Area STS1 und STS2 mit früheren Karten, fallen einige Unterschiede auf. In der Karte von Brodmann (1909), deren Arealnamen auch heute noch oft für die Benennung der Aktivierungen aus bildgebenden Studien verwendet werden, entspricht STS1 BA22. das Areal STS2 ist Teil von BA21 (vgl. Abb.3A). Da Brodmann in seiner zweidimensionalen Zeichnung nur die Lateralansicht dieser Region darstellt, bleibt offen, wo die Areale enden. Die hier vorgestellten Karten zeigen, dass sich die STS-Region weiter unterteilen lässt. So wurde für BA22 und BA21 jeweils ein Sulcusareal gefunden, deren rostrale Grenzen sich mit der von Brodmann angegebenen Grenze zum Temporalpol decken. Die caudale Grenze der Areale liegt aber weiter rostral als die von Brodmann gefundene.

Von Economo (1925) orientierte sich bei seiner Kartierung des Temporallappens an Brodmann, verwendete jedoch eine andere Terminologie. Sein Areal TA entspricht BA22, TE1 Brodmanns Areal 21. Die Einteilung der TE-Areale in TE1 und TE2 vollzieht er nur formal und in Anlehnung an Brodmann, da er die Region als eine einheitliche anatomische Struktur, der Area temporalis propria, ansieht. Die gut entwickelte Schicht V und VI und die in Zellsäulen

zerfallende Schicht IV deckt sich mit unserer Beschreibung von STS2, doch gibt es Unterschiede in der rostrocaudalen Lage. Den Temporalpol grenzt er anders ab, als Brodmann. Seine temporopolare Region nimmt in etwa ein Viertel des Temporallappens ein. Diese rostrale Abgrenzung trifft für das Areal STS1 zu, nicht aber für das rostrale Ende von STS2, das sich in der vorgelegten Arbeit weiter nach rostral erstreckt und besser durch die Einteilung von Brodmann beschrieben wird. Das caudale Ende seiner Areale sieht er an der Grenze der parietalen Formation PG. Die Ausdehnung der Areale STS1 und STS2 erstreckt sich nicht so weit nach caudal. Auch zieht Areal STS2 am caudalen Ende nicht auf den Gyrus temporalis superior, wie von Economo für das Areal TE1 angegeben.

Hopf (1954) kartierte die Area profunda (pf in Abbildung 3C) auf der ventralen Bank des Gyrus temporalis superior und zeigte damit, dass sich die STS-Region weiter unterteilen lässt. Dieses langgestreckte Areal ist das myeloarchitektonische Homolog des neukartierten Areals STS1. Auch wenn es sich in zytoarchitektonischen Schnitten bis fast zur Gyruskronen erstrecken kann, so deckt sich die mediale Grenze mit der myeloarchitektonisch beschriebenen. Auch die rostrocaudale Ausdehnung des Areals entspricht der von STS1. Caudal endet die Area profunda in Koronarschnitten mit dem Heschlgyrus. Diese Grenze deckt sich mit der zytoarchitektonischen Abgrenzung. Die rostrale Grenze gibt Hopf in Koronarschnitten an der Position an, wo der Hippocampus endet und die Amygdala beginnt. Zytoarchitektonisch konnte aber festgestellt werden, dass die Grenze etwas weiter rostral liegt. In Tabelle 9 sind die unterschiedlichen Nomenklaturen der Forscher zusammengestellt.

Tabelle 9: Nomenklatur in klassischen Hirnkarten.

	STS1	STS2
Brodman	BA22	BA22/BA21
Von Economo	TA	TE1
Hopf	Area temporalis paratransversa profunda (pf)	Area temporalis magna dorsalis

Die Karten der Forscher überlappen nur teilweise. Diese Tatsache belegt, die Notwendigkeit der Kartierung einer größeren Anzahl von Gehirnen, da die Lage der Areale in individuellen Gehirnen beträchtlich schwanken kann (Amunts et al., 1999). Die hier vorgelegten Karten der STS-Areale basieren auf zehn Gehirnen und überwinden diesen Nachteil. Sie bilden die interindividuelle Variabilität in den Wahrscheinlichkeitskarten ab, sie sind dreidimensional und

lassen sich direkt mit anderen Karten vergleichen. So war ein Vergleich mit bildgebenden Studien der BrainMap Datenbank für die funktionelle Analyse und des Allen Brain Atlases für die Transkriptomanalyse möglich, nachdem die Existenz der Areale in Rezeptorautoradiogrammen, als zweiter Modalität, bestätigt war.

4.2. Rezeptorarchitektur der neuen Areale

Die Rezeptor Fingerprints der Areale STS1 und STS2 waren sehr ähnlich (siehe Abbildung 23). Beide STS-Areale gehören zum assoziativen Cortex. Die größten Unterschiede werden zwischen primären und multimodalen Arealen gefunden. Je ähnlicher sich die Areale hinsichtlich der Funktion werden, desto ähnlicher sind auch ihrer mittleren Rezeptordichten (Zilles, Schleicher, et al., 2002), deshalb lässt sich das laterale STG Areal Te3 (Morosan et al., 2005). den primär und sekundär auditorischen Arealen (Te1 und Te2) zuordnen, wohingegen sich die STS-Areale deutlich in der Balance ihrer Rezeptordichten von den auditorischen Arealen unterscheiden (vgl. MDS-Plot Abb.27). Diese rezeptorarchitektonische Zuordnung zu zwei unterschiedlichen Clustern (Abb.28) lässt sich durch funktionelle Studien über die Verarbeitung von Sprache belegen. Funktionelle MRT Studien fanden eine Beteiligung des STS an Sprachprozessierung (Evans et al., 2014; Kyong et al., 2014; Shultz et al., 2012) und Stimmerkennung (Belin et al., 2000; Pernet et al., 2015; Schall et al., 2015). Liebenthal et al (2014) fanden heraus, dass der mittlere STS bei Sprachwahrnehmung aktiviert wird, diese Aktivierung kann bis zum anterioren STS reichen. Das ist ein erster Hinweis, dass die neu beschriebenen Areale des STS an der Interpretation von Sprache und nicht primär an der Analyse der akustischen Information beteiligt sind. In den normalisierten Rezeptor-Fingerprints (Abb. 26) lassen sich die Areale STS1 und STS2 deutlich hinsichtlich der Intensität ihrer Rezeptordichte voneinander unterscheiden. Das unterstreicht die zytoarchitektonische Einteilung in STS1 und STS2 und weist auf eine unterschiedliche Funktion der Areale hin. In der Studie von Wilson (2017) konnten Unterschiede zwischen der oberen und unteren Bank gezeigt werden. Die obere Bank des STS scheint an der lexikalischen Analyse der Sprache beteiligt zu sein. Die untere Bank prozessiert wahrscheinlich höhere Sprachaufgaben wie Semantik und Syntax. Die STS-Areale bildeten mit den inferior-parietalen Arealen ein Cluster (Abb. 28). Die funktionelle Gemeinsamkeit ist die Prozessierung der Sprache. Im Parietallappen werden semantische (Gyrus angularis) und phonologische Unterscheidungen (Gyrus supramarginalis) getroffen (Ben Shalom & Poeppel, 2008). Außerdem umfasst das Netzwerk des semantische Gedächtnisses neben dem MTG auch den inferioren Teil des Parietallappens (Binder et al., 2009). Das erklärt, warum die neu gefundenen STS-Areale in der

hierarchischen Clusteranalyse der Rezeptoren mit inferioren parietalen Arealen ein Cluster bilden, wohingegen die primär und sekundär auditorischen Areale in ihrer mittleren Rezeptordichte den primären Arealen des somatosensorischen und motorischen Cortex ähneln. Diese ersten Struktur-/Funktionsbeziehungen der Areale wurden mit einer funktionellen Metaanalyse weiter untersucht.

4.3. Funktionelle Metaanalyse der Areale

In einer quantitativen Analyse psychologischer Studien der BrainMap Datenbank wurden die Funktionen der neu kartierten STS-Areale den bereits kartierten auditorischen Arealen gegenübergestellt (Abb. 20). Die Analyse belegte, dass sich die zytoarchitektonische Einteilung auch auf funktioneller Ebene widerspiegelt. Die STS-Areale konnten hinsichtlich ihrer Funktion unterschieden werden und ließen sich deutlich von den auditorischen Arealen Te1-3 abgrenzen. Die Funktionen der Areale Te1-3 betreffen die spektro-temporale Auswertung des akustischen Signals, wohingegen die STS-Areale linguistische Aufgaben prozessieren. Dies soll exemplarisch an zwei funktionellen Studien belegt werden. Wilson (2017) analysierte den Unterschied in der Aktivierung zwischen gehörtem und gelesenen Text. In Abbildung 35 sind die Areale auf einem Rezeptorautoradiogramm markiert. Diese Gegenüberstellung von Rezeptordichte und funktioneller Studie verdeutlicht die Plausibilität der Struktur-Funktionsbeziehungen, die mit quantitativer Rezeptorautoradiographie erstellt wurden (Abb. 28, Te1-3 und STS-Areale in verschiedenen Clustern). Die Aktivierungen für den gehörten Text stimmen mit der Position der Areale Te1-3 überein und fehlen im gelesenen Text. Der STS war in beiden Zuständen aktiv. Die STS-Region ist somit an der Interpretation der semantischen und nicht der akustischen Information beteiligt. Allen *et al.* lieferten in einer 2017 erschienenen Studie über Tonhöhe und Timbre einen weiteren Hinweis. Die Aktivierungen, die berichtet wurden (Abb.35), decken sich ebenfalls mit der Lage von Te1-3 und stützen die Befunde der Metaanalyse, die Ton- und Tonhöhenwahrnehmung dort lokalisierte. Dagegen scheint der STS an der Prozessierung von linguistischen Aufgaben beteiligt zu sein (figurative Sprache, Semantik; Abb.20).

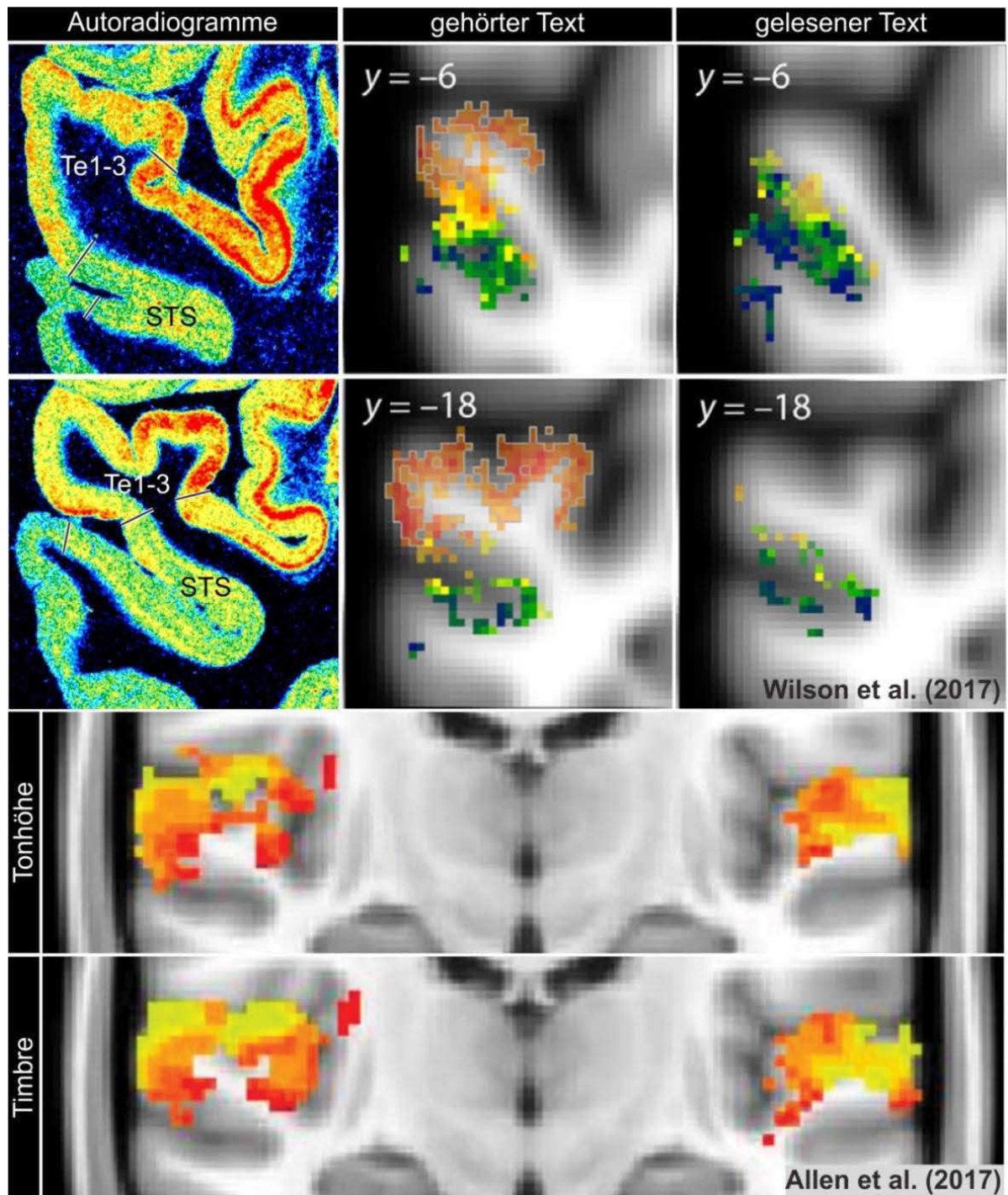


Abbildung 35: Vergleich der Arealeinteilung mit funktionellen Studien.

Vergleich von Rezeptorautoradiogrammen der STG Region mit zwei funktionellen Studien. In der Studie von Wilson et al. (2017) werden Te1-3 durch die akustischen Informationen beim Vorlesen aktiviert. Beim gelesenen Text fehlt die Aktivierung in diesen Arealen. Für beide Zustände ist die STS-Region aktiv. Die Aktivierungen im STS fehlen aber bei der Prozessierung von Tonhöhe und Timbre (Allen et al., 2017), d.h. die STS-Areale sind an Sprachprozessierung beteiligt und unterscheiden sich deutlich von Te1-3.

Außerdem wurde der STS bei höher kognitiven Aufgaben, die Selbstkontrolle oder Personenwahrnehmung (ToM) erfordern, aktiv. Das deckt sich mit einer Studie von Lahnakoski (2012), die, neben der Sprachfunktion, eine Beteiligung an Emotion und sozialer Interaktion für den mittleren STS berichtet. Klinische Studien in Autisten stützen diesen Befund. Autisten haben Schwierigkeiten die Absicht der Mitmenschen aus dem Kontext zu erschließen (Baron-Cohen et al., 1995). Die Patienten zeigen eine Hypoperfusion des Gyrus temporalis superior (Gendry Meresse et al., 2005), einen Verlust der grauen Substanz im STS (Boddaert et al., 2004) und eine veränderte Sulcusgeometrie (Levitt et al., 2003). Sprachfremde Funktionen, die in Verbindung mit visuellen, motorischen und multisensorischen Aufgaben stehen, finden sich hauptsächlich im posterioren Teil des STS und liegen damit hinter STS1 und STS2 (Liebenthal et al., 2014). Diese funktionelle Zweiteilung des STS spricht für die Abgrenzung des mittleren vom posterioren STS.

Die Existenz von STS2 wurde durch eine traktographische Parzellierung des MTG bestätigt. Xu und Kollegen (2015) fanden ein Sulcusareal (sMTG), das dem Areal STS2 dieser Arbeit in Lage und Ausdehnung entspricht (Abb. 36). Diese Studie fand eine funktionelle Verbindung des sMTG zu Arealen des Precuneus und des medialen Frontalpol. Diese Koaktivierungen von STS2 wurden in einer weiteren Studie belegt (Bludau et al., 2014). Der Bereich von STS2 unterhalb des Heschl Gyrus koaktivierte mit Fp2 (medialer präfrontaler Cortex), Precuneus und Gyrus cingularis. Strukturen, die am Arbeitsgedächtnis beteiligt sind. Die Studie von Wilson (2017) postuliert für STS1 Wortverarbeitung, STS2 soll dagegen an der Segmentierung und Klassifikation sprachlicher Begriffe beteiligt sein. Diese Einordnung in Kategorien würde den Abruf von Gedächtnisinhalten erfordern. Episodisches Erinnern war ein Haupteffekt von STS2 in der funktionellen Metaanalyse (Abb. 20). Das Multikomponentenmodell (Baddeley, 2010) beschreibt das episodische Gedächtnis als Teil des Arbeitsgedächtnisses, der mit der Worterkennung der phonologischen Schleife interagiert. Es wäre damit die Instanz zur Integration von Worterkennung und Wortbedeutung.

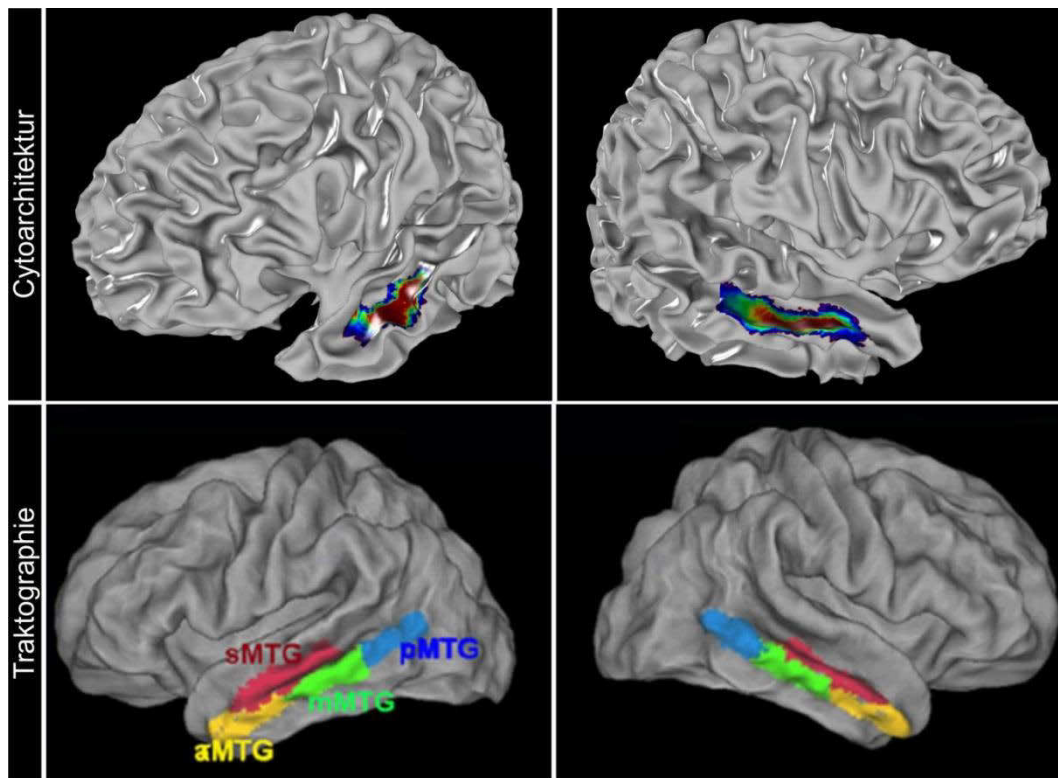


Abbildung 36: Vergleich des Areals STS2 mit einer traktographischen Parzellierung.

Die obere Bildreihe zeigt die probabilistischen Karten von STS2 aus dieser Arbeit und stellt sie einer traktographischen Parzellierung des MTG gegenüber (Abbildung aus Xu et al. 2015). Das Sulcusareal sMTG deckt sich mit der Lage von STS2 im anterioren bis mittleren Bereich des STS.

4.4. Rezeptorgenexpression der STS-Areale im Kontext der sensorischen Systeme

Die STS-Areale ließen sich durch die Expression ihrer Rezeptorgene eindeutig von anderen Arealen des auditorischen Cortex abgrenzen (Abb. 29). Neben dieser arealspezifischen Rezeptorgenexpression, wurden charakteristische Genprofile für jedes sensorische System gefunden. Die auditorischen Areale ließen sich im MDS-Plot und im genetischen Fingerprint von den visuellen Arealen abgrenzen (Abb. 31A+C). So wie der Rezeptor-Fingerprint die „lokale spezifische neurochemische Organisation“ (Zilles, Schleicher, et al., 2002) beschreibt, wurde in dieser Arbeit mit dem genetischen Fingerprint eine Methode aufgezeigt, die regionalen Unterschiede in der Genexpression zu beschreiben. Die genetische Analyse lieferte aber nicht nur eine Möglichkeit Arealunterschiede darzustellen, mit ihrer Hilfe konnten auch andere Fragen als mit der Rezeptorarchitektonik beantwortet werden. So konnte für das auditorische System differentielle Genexpression nachgewiesen werden (Abb. 32+34). Diese betrifft eine strukturelle Änderung in der Zusammensetzung der ionotropen Rezeptoruntereinheiten und ist unabhängig von der mittleren Dichte des jeweiligen Rezeptors, die mit der quantitativen

Rezeptorautoradiographie beschrieben wird. Dies zeigt sich besonders in Abbildung 32E. Gene, die für Untereinheiten der Hauptisoform kodieren, korrelieren mit der mittleren Rezeptordichte des Rezeptors. Daneben gibt es Genpaare mit gegenläufigem Trend (Antikorrelation mit den Genen der Hauptisoform). Durch den Austausch von Rezeptoruntereinheiten verändern sich die physiologischen Eigenschaften der Rezeptoren (Farrant & Nusser, 2005; Groc et al., 2006; Henson et al., 2010; Sanz-Clemente et al., 2013). Diese strukturelle Regulation der Rezeptoren kann die areal- und regionenspezifischen Unterschiede im funktionellen System beeinflussen. Aus Studien in Nagern ist schon länger bekannt, dass Gene von GABA_A-Rezeptoruntereinheiten unterschiedlich im Gehirn exprimiert werden (zusammengefasst in Sieghart *et al.* (2002)). In dieser Arbeit konnte erstmals die areal- und regionenspezifische Expression im menschlichen Gehirn gezeigt werden. Für die Gene des GABA_A-Rezeptors konnte nachgewiesen werden, dass zwei Genpaare, GABRA3/GABRB1 und GABRA5/GABRB3, stark korrelieren und nur in den auditorischen Arealen hochreguliert sind. Die hohe Korrelation dieser Genpaare über alle Areale hinweg ist ein Hinweis, dass diese Rezeptoruntereinheiten in einem Rezeptor verbaut werden und auf diese Art die Arealspezifität beeinflussen können. In welchem Verhältnis die Rezeptoruntereinheiten stehen, kann mit der Transkriptomanalyse nicht beantwortet werden, da sie keine genauen stöchiometrischen Aussagen erlaubt.

Ebenso wie für den inhibitorischen GABA_A-Rezeptor, wurde auch für den exzitatorischen, glutamatergen NMDA Rezeptor differentielle Genexpression gefunden. Bei diesem Rezeptor zeigte GRIN3A eine Hochregulierung in den auditorischen Arealen, wohingegen GRIN1 in den somatosensorischen Arealen am höchsten ist (Abb. 34). Die beiden Gene GRIN2C und GRIN2D waren in allen Arealen herunterreguliert. Dies ist durch Studien gut belegt. GRIN2C wird nur im Cerebellum exprimiert (Rigby et al., 1996) und GRIN2D während der postnatalen Entwicklung (Wenzel et al., 1996), deshalb fand sich eine niedrige Genexpression dieser Gene über alle Areale hinweg. Vom Rezeptorgen GRIN3A weiß man, dass es nach der Geburt hochreguliert wird und am Synapsenabbau beteiligt ist (Roberts et al., 2009). Es ist aber nicht bekannt, welche Rolle diese Untereinheit im Adultus, in vierfach geringerer Konzentration als postnatal, spielt. Die NR3A-Untereinheit (Protein von GRIN3A) verändert die physiologischen Eigenschaften des NMDA Rezeptors erheblich: sehr hohe Glycinaffinität, Insensitivität gegen Glutamat, kein Mg²⁺-Block, geringe Leitfähigkeit (zusammengestellt in Henson (2010)). Der physiologische Effekt von NR3A ist additiv, das heißt er nimmt mit jeder NR2-Untereinheit, die NR3A ersetzt, ab. So ist zu vermuten, dass der Effekt für die auditorischen Areale in einer physiologischen Änderung der Rezeptoreigenschaften, das heißt in einer funktionellen

synaptischen Plastizität liegt und nicht im Synapsenabbau, wie er sich postnatal bei vierfach höheren Konzentrationen zeigt.

In dieser Arbeit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass der anteriore und mittlere Teil des STS aus zwei unterschiedlichen zytoarchitektonischen Arealen STS1 und STS2 auf der oberen und unteren Bank des Sulcus besteht. Die Darstellung der Wahrscheinlichkeitskarten im 3D-Referenzraum geht über die Darstellungsmöglichkeiten klassischer Karten hinaus und ermöglichte den Vergleich mit funktionellen und genetischen Datenbanken. Mit der quantitativen Rezeptorautoradiographie konnte die zytoarchitektonische Einteilung bestätigt werden und es zeigten sich erste Hinweise auf eine Funktion im Netzwerk des semantischen Gedächtnisses. Die funktionelle Metaanalyse bestätigte diesen Befund und zeigte die Sonderstellung der STS-Areale innerhalb des auditorischen Systems. Die untersuchten Areale konnten auch eindeutig anhand der Expression der Rezeptorgene unterschieden werden. Die Analyse lieferte außerdem Belege für differentielle Genexpression der Rezeptoruntereinheiten in den Arealen. Damit konnte eine Hypothese über den Aufbau der Rezeptoren in den einzelnen funktionellen Systemen aufgestellt werden. Durch die Transkriptomanalyse der Rezeptorgene konnten die Befunde der quantitativen Rezeptorautoradiographie ergänzt werden, wodurch sie sich als nützliche weitere Modalität der Gehirnkartierung erwies. Die Verknüpfung der Informationen aus den verschiedenen Modalitäten lieferte wertvolle Erkenntnisse über die Mikrostruktur und den molekularen und genetischen Aufbau der Areale und unterstreicht den gewählten multimodalen Ansatz der Kartierung. Die Arbeit konnte auf diese Weise einen Beitrag zum Verständnis der STS-Region bei der Prozessierung von Sprache leisten, welche Rolle die Areale aber im temporalen Sprachnetzwerk spielen, muss in weiteren Studien untersucht werden.

5. Zusammenfassung

Der Sulcus temporalis superior (STS) spielt eine entscheidende Rolle bei der Integration von Informationen aus primär und sekundär sensorischen Arealen. Funktionelle Studien der letzten zwei Jahrzehnte belegten die Multimodalität des STS. Die Brodmann Karten, die oft zur Benennung der Aktivierungsloci herangezogen werden, bilden diese Region aber nicht adäquat ab, da sie nur die Lateralansicht und nicht die Tiefe des Sulcus berücksichtigen. Es gab jedoch myelo- und zytoarchitektonische Hinweise, dass sich die Sulcusregion feiner unterteilen lässt. Deshalb war es Ziel der vorliegenden Arbeit, diese Region mit einer statistisch überprüfbaren Methode multimodal zu kartieren. Zum ersten Mal wurden zwei Areale, STS1 und STS2, im anterioren und mittleren Bereich des STS zytoarchitektonisch kartiert. Die Lage der Areale wurde als Wahrscheinlichkeitskarte im dreidimensionalen MNI-Standardreferenzgehirn dargestellt. Die Auswertung ihrer Mikrostruktur zeigte deutliche Unterschiede zu primär und höher auditorischen Arealen. Diese Unterschiede konnten mit der quantitativen Rezeptorautoradiographie bestätigt werden. Die Arealgrenzen wurden auf Rezeptorautoradiogrammen belegt und bestätigten die zytoarchitektonische Arealeinteilung in einer weiteren Modalität. Der anschließende Vergleich der Balance der Rezeptordichte von 17 Rezeptorbindestellen ermöglichte erste Struktur-Funktionsbeziehungen zu sprachrelevanten Arealen des inferioren parietalen Cortex. Für eine präzisere funktionelle Beschreibung der Areale wurde eine funktionelle Analyse der BrainMap Datenbank durchgeführt und belegte die Sonderstellung der STS-Areale im auditorischen System. Die STS-Areale sind an höheren sprachlichen und kognitiven Prozessen beteiligt und lassen sich dadurch von auditorischen Arealen unterscheiden. Erstmals wurde für die STS-Areale eine Transkriptomanalyse mit dem Allen Brain Atlas erstellt, womit die Ergebnisse der quantitativen Rezeptorautoradiographie bestätigt werden konnten. Die Expression der Rezeptorgene war arealspezifisch. Für die auditorischen Areale konnte differentielle Genexpression in den Rezeptoruntereinheiten nachgewiesen werden. Paare dieser Rezeptorgene korrelierten und erlaubten erste Hypothesen zum Rezeptoraufbau. Diese strukturelle Rezeptorregulation kann die Arealpezifität neben der Rezeptordichte bestimmen. Somit ist die genetische Kartierung von Gehirnarealen geeignet, als eigenständige Modalität weitere Eigenschaften der Areale zu beschreiben. Es fanden sich Hinweise, dass die neu kartierten Areale Sprache prozessieren und eine Rolle im semantischen Gedächtnis spielen. Weitere Studien sind nötig, um die Rolle der Areale im Sprachnetzwerk zu klären.

6. Summary

The superior temporal sulcus (STS) plays an important role in integrating information from primary and secondary sensory areas. In the last two decades many fMRI studies revealed the multimodality of the STS. Brodmann's maps are often used to name the loci of fMRI experiments, but are not sufficient for this brain region, because it is a 2D drawing of the lateral surface, which does not show the depth of the sulcus. There were myelo- and cytoarchitectonic hints, that this region could be further subdivided. Therefore the aim of this work is to map this region with a multimodal mapping approach. For the first time, two distinct areas STS1 and STS2 were cytoarchitectonically mapped and depicted as probability maps in a 3D MNI standard template brain. Furthermore the microstructure of the new areas revealed strong differences to the primary and secondary auditory areas. These differences could be reproduced with quantitative receptor autoradiography. The areal borders were proved on autoradiographs as a second modality. Besides, the neurochemical properties of the areas were analyzed with quantitative receptor autoradiography. By the analysis of the balance of 17 receptor densities, it was possible to get a first structure/function relationship of the described areas to language-related areas of the inferior parietal lobe. Functional profiling of the BrainMap database confirmed the language-related functions of the STS and point to an exceptional position of the STS areas within the auditory system. The STS areas were activated by tasks related to higher language and cognitive functions. For the first time, the results of quantitative receptor autoradiography could be confirmed with a transcriptome analysis of the Allen Brain Atlas. The expression of receptor genes was area-specific and showed differential expression of subunit genes for auditory areas. Pairs of these genes correlated and allowed a first hypothesis about receptor structure. This structural regulation of receptors could specify a brain area besides receptor density. Therefore, gene mapping, as a new modality, is appropriate to unravel further qualities of brain areas. The new areas are supposed to process language. What their part in the semantic knowledge network is has to be investigated in further studies.

7. Literaturverzeichnis

- Allen, E. J., Burton, P. C., Olman, C. A., & Oxenham, A. J. (2017). Representations of Pitch and Timbre Variation in Human Auditory Cortex. *J Neurosci*, 37(5), 1284-1293. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2336-16.2016
- Allison, T., Puce, A., & McCarthy, G. (2000). Social perception from visual cues: role of the STS region. *Trends Cogn Sci*, 4(7), 267-278.
- Amunts, K., Armstrong, E., Malikovic, A., Hömke, L., Mohlberg, H., Schleicher, A., & Zilles, K. (2007). Gender-Specific Left–Right Asymmetries in Human Visual Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 27(6), 1356-1364. doi: 10.1523/jneurosci.4753-06.2007
- Amunts, K., Kedo, O., Kindler, M., Pieperhoff, P., Mohlberg, H., Shah, N. J., Habel, U., Schneider, F., & Zilles, K. (2005). Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps. *Anat Embryol (Berl)*, 210(5-6), 343-352. doi: 10.1007/s00429-005-0025-5
- Amunts, K., Lenzen, M., Friederici, A. D., Schleicher, A., Morosan, P., Palomero-Gallagher, N., & Zilles, K. (2010). Broca's region: novel organizational principles and multiple receptor mapping. *PLoS Biol*, 8(9). doi: 10.1371/journal.pbio.1000489
- Amunts, K., Malikovic, A., Mohlberg, H., Schormann, T., & Zilles, K. (2000). Brodmann's areas 17 and 18 brought into stereotaxic space-where and how variable? *Neuroimage*, 11(1), 66-84. doi: 10.1006/nimg.1999.0516
- Amunts, K., Schleicher, A., Burgel, U., Mohlberg, H., Uylings, H. B., & Zilles, K. (1999). Broca's region revisited: cytoarchitecture and intersubject variability. *J Comp Neurol*, 412(2), 319-341.
- Amunts, K., & Zilles, K. (2015). Architectonic Mapping of the Human Brain beyond Brodmann. *Neuron*, 88(6), 1086-1107. doi: 10.1016/j.neuron.2015.12.001
- Baddeley, A. (2010). Working memory. *Current biology*, 20(4), R136-R140.
- Baron-Cohen, S., Campbell, R., Karmiloff-Smith, A., Grant, J., & Walker, J. (1995). Are children with autism blind to the mentalistic significance of the eyes? *British Journal of Developmental Psychology*, 13(4), 379-398.
- Belin, P., Zatorre, R. J., Lafaille, P., Ahad, P., & Pike, B. (2000). Voice-selective areas in human auditory cortex. *Nature*, 403(6767), 309-312. doi: 10.1038/35002078
- Ben Shalom, D., & Poeppel, D. (2008). Functional anatomic models of language: assembling the pieces. *The Neuroscientist*, 14(1), 119-127.
- Binder, J. R., Desai, R. H., Graves, W. W., & Conant, L. L. (2009). Where is the semantic system? A critical review and meta-analysis of 120 functional neuroimaging studies. *Cerebral Cortex*, 19(12), 2767-2796.
- Bludau, S., Eickhoff, S. B., Mohlberg, H., Caspers, S., Laird, A. R., Fox, P. T., Schleicher, A., Zilles, K., & Amunts, K. (2014). Cytoarchitecture, probability maps and functions of the human frontal pole. *Neuroimage*, 93 Pt 2, 260-275. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.05.052
- Bludau, S., Muhleisen, T. W., Eickhoff, S. B., Hawrylycz, M. J., Cichon, S., & Amunts, K. (2018). Integration of transcriptomic and cytoarchitectonic data implicates a role for MAOA and TAC1 in the limbic-cortical network. *Brain Struct Funct*. doi: 10.1007/s00429-018-1620-6

- Boddaert, N., Chabane, N., Gervais, H., Good, C., Bourgeois, M., Plumet, M., Barthelemy, C., Mouren, M., Artiges, E., & Samson, Y. (2004). Superior temporal sulcus anatomical abnormalities in childhood autism: a voxel-based morphometry MRI study. *Neuroimage*, 23(1), 364-369.
- Broca, P. (1865). Sur le siège de la faculté du langage articulé. *Bulletins de la Société d'Anthropologie de Paris*, 6(1), 377-393.
- Brodmann, K. (1909). Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde. *Leipzig: Barth*.
- Burt, J. B., Demirtaş, M., Eckner, W. J., Navejar, N. M., Ji, J. L., Martin, W. J., Bernacchia, A., Anticevic, A., & Murray, J. D. (2018). Hierarchy of transcriptomic specialization across human cortex captured by structural neuroimaging topography. *Nature neuroscience*, 21(9), 1251.
- Caspers, S., Schleicher, A., Bacha-Trams, M., Palomero-Gallagher, N., Amunts, K., & Zilles, K. (2013). Organization of the human inferior parietal lobule based on receptor architectonics. *Cereb Cortex*, 23(3), 615-628. doi: 10.1093/cercor/bhs048
- Collins, D. L., Neelin, P., Peters, T. M., & Evans, A. C. (1994). Automatic 3d Intersubject Registration of Mr Volumetric Data in Standardized Talairach Space. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 18(2), 192-205.
- Damasio, H., Grabowski, T., Frank, R., Galaburda, A. M., & Damasio, A. R. (1994). The return of Phineas Gage: clues about the brain from the skull of a famous patient. *Science*, 264(5162), 1102-1105.
- Deen, B., Koldewyn, K., Kanwisher, N., & Saxe, R. (2015). Functional Organization of Social Perception and Cognition in the Superior Temporal Sulcus. *Cereb Cortex*, 25(11), 4596-4609. doi: 10.1093/cercor/bhv111
- Dodell-Feder, D., Koster-Hale, J., Bedny, M., & Saxe, R. (2011). fMRI item analysis in a theory of mind task. *Neuroimage*, 55(2), 705-712. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.12.040
- Economo, M. N., Viswanathan, S., Tasic, B., Bas, E., Winnubst, J., Menon, V., Graybiel, L. T., Nguyen, T. N., Smith, K. A., & Yao, Z. (2018). Distinct descending motor cortex pathways and their roles in movement. *Nature*, 563(7729), 79.
- Eickhoff, S. B., Bzdok, D., Laird, A. R., Roski, C., Caspers, S., Zilles, K., & Fox, P. T. (2011). Co-activation patterns distinguish cortical modules, their connectivity and functional differentiation. *Neuroimage*, 57(3), 938-949.
- Eickhoff, S. B., Paus, T., Caspers, S., Grosbras, M.-H., Evans, A. C., Zilles, K., & Amunts, K. (2007). Assignment of functional activations to probabilistic cytoarchitectonic areas revisited. *Neuroimage*, 36(3), 511-521.
- Eickhoff, S. B., Stephan, K. E., Mohlberg, H., Grefkes, C., Fink, G. R., Amunts, K., & Zilles, K. (2005a). A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage*, 25(4), 1325-1335.
- Eickhoff, S. B., Stephan, K. E., Mohlberg, H., Grefkes, C., Fink, G. R., Amunts, K., & Zilles, K. (2005b). A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage*, 25(4), 1325-1335. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.12.034
- Engell, A. D., & Haxby, J. V. (2007). Facial expression and gaze-direction in human superior temporal sulcus. *Neuropsychologia*, 45(14), 3234-3241. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2007.06.022
- Ethofer, T., Breitscher, J., Wiethoff, S., Bisch, J., Schlipf, S., Wildgruber, D., & Kreifelts, B. (2013). Functional responses and structural connections of cortical areas for processing faces and voices in the superior temporal sulcus. *Neuroimage*, 76, 45-56. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.02.064

- Evans, A. C., Marrett, S., Neelin, P., Collins, L., Worsley, K., Dai, W., Milot, S., Meyer, E., & Bub, D. (1992). Anatomical mapping of functional activation in stereotactic coordinate space. *Neuroimage*, 1(1), 43-53.
- Evans, S., Kyong, J. S., Rosen, S., Golestani, N., Warren, J. E., McGettigan, C., Mourao-Miranda, J., Wise, R. J., & Scott, S. K. (2014). The pathways for intelligible speech: multivariate and univariate perspectives. *Cereb Cortex*, 24(9), 2350-2361. doi: 10.1093/cercor/bht083
- Farrant, M., & Nusser, Z. (2005). Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA A receptors. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(3), 215.
- Fox, C. J., Iaria, G., & Barton, J. J. (2009). Defining the face processing network: optimization of the functional localizer in fMRI. *Hum Brain Mapp*, 30(5), 1637-1651. doi: 10.1002/hbm.20630
- Fox, P. T., Laird, A. R., Fox, S. P., Fox, P. M., Uecker, A. M., Crank, M., Koenig, S. F., & Lancaster, J. L. (2005). BrainMap taxonomy of experimental design: description and evaluation. *Human brain mapping*, 25(1), 185-198.
- Furl, N., Henson, R. N., Friston, K. J., & Calder, A. J. (2015). Network Interactions Explain Sensitivity to Dynamic Faces in the Superior Temporal Sulcus. *Cereb Cortex*, 25(9), 2876-2882. doi: 10.1093/cercor/bhu083
- Gallagher, H. L., & Frith, C. D. (2003). Functional imaging of 'theory of mind'. *Trends Cogn Sci*, 7(2), 77-83.
- Gallyas, F. (1979). Silver staining of myelin by means of physical development. *Neurological research*, 1(2), 203-209.
- Gendry Meresse, I., Zilbovicius, M., Boddaert, N., Robel, L., Philippe, A., Sfaello, I., Laurier, L., Brunelle, F., Samson, Y., & Mouren, M. C. (2005). Autism severity and temporal lobe functional abnormalities. *Annals of neurology*, 58(3), 466-469.
- Gervais, H., Belin, P., Boddaert, N., Leboyer, M., Coez, A., Sfaello, I., Barthelemy, C., Brunelle, F., Samson, Y., & Zilbovicius, M. (2004). Abnormal cortical voice processing in autism. *Nat Neurosci*, 7(8), 801-802. doi: 10.1038/nn1291
- Gilaie-Dotan, S., Kanai, R., Bahrami, B., Rees, G., & Saygin, A. P. (2013). Neuroanatomical correlates of biological motion detection. *Neuropsychologia*, 51(3), 457-463. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2012.11.027
- Groc, L., Heine, M., Cousins, S. L., Stephenson, F. A., Lounis, B., Cognet, L., & Choquet, D. (2006). NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(49), 18769-18774.
- Harlow, J. M. (1848). Passage of an iron rod through the head. *The Boston Medical and Surgical Journal (1828-1851)*, 39(20), 0_1.
- Haxby, J. V., Hoffman, E. A., & Gobbini, M. I. (2000). The distributed human neural system for face perception. *Trends Cogn Sci*, 4(6), 223-233.
- Henson, M. A., Roberts, A. C., Pérez-Otaño, I., & Philpot, B. D. (2010). Influence of the NR3A subunit on NMDA receptor functions. *Progress in neurobiology*, 91(1), 23-37.
- Herrington, J. D., Nymberg, C., & Schultz, R. T. (2011). Biological motion task performance predicts superior temporal sulcus activity. *Brain Cogn*, 77(3), 372-381. doi: 10.1016/j.bandc.2011.09.001
- Holmes, C. J., Hoge, R., Collins, L., Woods, R., Toga, A. W., & Evans, A. C. (1998). Enhancement of MR images using registration for signal averaging. *J Comput Assist Tomogr*, 22(2), 324-333.
- Hömke, L. (2006). A multigrid method for anisotropic PDEs in elastic image registration. *Numerical Linear Algebra with Applications*, 13(2-3), 215-229. doi: 10.1002/nla.477

- Hopf, A. (1954). Die Myeloarchitektonik des Isocortex temporalis beim Menschen. *J. Hirnforsch.*, 1, pp. 208–279.
- Jabbi, M., Kohn, P. D., Nash, T., Ianni, A., Coutlee, C., Holroyd, T., Carver, F. W., Chen, Q., Cropp, B., Kippenhan, J. S., Robinson, S. E., Coppola, R., & Berman, K. F. (2015). Convergent BOLD and Beta-Band Activity in Superior Temporal Sulcus and Frontolimbic Circuitry Underpins Human Emotion Cognition. *Cereb Cortex*, 25(7), 1878-1888. doi: 10.1093/cercor/bht427
- Kreifelts, B., Ethofer, T., Grodd, W., Erb, M., & Wildgruber, D. (2007). Audiovisual integration of emotional signals in voice and face: an event-related fMRI study. *Neuroimage*, 37(4), 1445-1456. doi: 10.1016/j.neuroimage.2007.06.020
- Kretschmann, H. (1971). Biometric studies on the fresh volume of human brain regions. *Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft*, 65, 139.
- Kyong, J. S., Scott, S. K., Rosen, S., Howe, T. B., Agnew, Z. K., & McGettigan, C. (2014). Exploring the roles of spectral detail and intonation contour in speech intelligibility: an FMRI study. *J Cogn Neurosci*, 26(8), 1748-1763. doi: 10.1162/jocn_a_00583
- Lahnakoski, J. M., Glerean, E., Salmi, J., Jaaskelainen, I. P., Sams, M., Hari, R., & Nummenmaa, L. (2012). Naturalistic fMRI mapping reveals superior temporal sulcus as the hub for the distributed brain network for social perception. *Front Hum Neurosci*, 6, 233. doi: 10.3389/fnhum.2012.00233
- Laird, A. R., Eickhoff, S. B., Kurth, F., Fox, P. M., Uecker, A. M., Turner, J. A., Robinson, J. L., Lancaster, J. L., & Fox, P. T. (2009). ALE meta-analysis workflows via the brainmap database: progress towards a probabilistic functional brain atlas. *Frontiers in neuroinformatics*, 3, 23.
- Langner, R., Cieslik, E. C., Behrwind, S. D., Roski, C., Caspers, S., Amunts, K., & Eickhoff, S. B. (2015). Aging and response conflict solution: behavioural and functional connectivity changes. *Brain structure and function*, 220(3), 1739-1757.
- Levitt, J. G., Blanton, R. E., Smalley, S., Thompson, P., Guthrie, D., McCracken, J. T., Sadoun, T., Heinichen, L., & Toga, A. W. (2003). Cortical sulcal maps in autism. *Cerebral Cortex*, 13(7), 728-735.
- Liebenthal, E., Desai, R. H., Humphries, C., Sabri, M., & Desai, A. (2014). The functional organization of the left STS: a large scale meta-analysis of PET and fMRI studies of healthy adults. *Front Neurosci*, 8, 289. doi: 10.3389/fnins.2014.00289
- Lüllmann-Rauch. (2015). *Taschenlehrbuch Histologie*: Thieme.
- Mahalanobis, P. C., Majumdar, D., Yeatts, M., & Rao, C. R. (1949). Anthropometric survey of the United Provinces, 1941: a statistical study. *Sankhyā: The Indian Journal of Statistics*, 89-324.
- Matchin, W., Groulx, K., & Hickok, G. (2014). Audiovisual speech integration does not rely on the motor system: evidence from articulatory suppression, the McGurk effect, and fMRI. *J Cogn Neurosci*, 26(3), 606-620. doi: 10.1162/jocn_a_00515
- Merker, B. (1983). Silver staining of cell bodies by means of physical development. *J Neurosci Methods*, 9(3), 235-241.
- Morosan, P., Schleicher, A., Amunts, K., & Zilles, K. (2005). Multimodal architectonic mapping of human superior temporal gyrus. *Anat Embryol (Berl)*, 210(5-6), 401-406. doi: 10.1007/s00429-005-0029-1
- Palomero-Gallagher, N., Vogt, B. A., Schleicher, A., Mayberg, H. S., & Zilles, K. (2009). Receptor architecture of human cingulate cortex: evaluation of the four-region neurobiological model. *Hum Brain Mapp*, 30(8), 2336-2355. doi: 10.1002/hbm.20667

- Paulus, F. M., Muller-Pinzler, L., Jansen, A., Gazzola, V., & Krach, S. (2015). Mentalizing and the Role of the Posterior Superior Temporal Sulcus in Sharing Others' Embarrassment. *Cerebral Cortex*, 25(8), 2065-2075. doi: 10.1093/cercor/bhu011
- Pelphrey, K. A., Morris, J. P., & McCarthy, G. (2004). Grasping the intentions of others: the perceived intentionality of an action influences activity in the superior temporal sulcus during social perception. *J Cogn Neurosci*, 16(10), 1706-1716. doi: 10.1162/0898929042947900
- Pelphrey, K. A., Morris, J. P., & McCarthy, G. (2005). Neural basis of eye gaze processing deficits in autism. *Brain*, 128(Pt 5), 1038-1048. doi: 10.1093/brain/awh404
- Pernet, C. R., McAleer, P., Latinus, M., Gorgolewski, K. J., Charest, I., Bestelmeyer, P. E., Watson, R. H., Fleming, D., Crabbe, F., Valdes-Sosa, M., & Belin, P. (2015). The human voice areas: Spatial organization and inter-individual variability in temporal and extra-temporal cortices. *Neuroimage*, 119, 164-174. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.06.050
- Pitcher, D., Dilks, D. D., Saxe, R. R., Triantafyllou, C., & Kanwisher, N. (2011). Differential selectivity for dynamic versus static information in face-selective cortical regions. *Neuroimage*, 56(4), 2356-2363. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.03.067
- Rigby, M., Le Bourdelles, B., Heavens, R., Kelly, S., Smith, D., Butler, A., Hammans, R., Hills, R., Xuereb, J., & Hill, R. (1996). The messenger RNAs for the N-methyl-D-aspartate receptor subunits show region-specific expression of different subunit composition in the human brain. *Neuroscience*, 73(2), 429-447.
- Roberts, A. C., Díez-García, J., Rodríguez, R. M., López, I. P., Luján, R., Martínez-Turrillas, R., Picó, E., Henson, M. A., Bernardo, D. R., & Jarrett, T. M. (2009). Downregulation of NR3A-containing NMDARs is required for synapse maturation and memory consolidation. *Neuron*, 63(3), 342-356.
- Sanz-Clemente, A., Nicoll, R. A., & Roche, K. W. (2013). Diversity in NMDA receptor composition: many regulators, many consequences. *The Neuroscientist*, 19(1), 62-75.
- Saxe, R. (2006). Uniquely human social cognition. *Curr Opin Neurobiol*, 16(2), 235-239. doi: 10.1016/j.conb.2006.03.001
- Schall, S., Kiebel, S. J., Maess, B., & von Kriegstein, K. (2015). Voice identity recognition: functional division of the right STS and its behavioral relevance. *J Cogn Neurosci*, 27(2), 280-291. doi: 10.1162/jocn_a_00707
- Schleicher, A., Amunts, K., Geyer, S., Morosan, P., & Zilles, K. (1999). Observer-independent method for microstructural parcellation of cerebral cortex: A quantitative approach to cytoarchitectonics. *Neuroimage*, 9(1), 165-177. doi: 10.1006/nimg.1998.0385
- Schleicher, A., Palomero-Gallagher, N., Morosan, P., Eickhoff, S. B., Kowalski, T., de Vos, K., Amunts, K., & Zilles, K. (2005). Quantitative architectural analysis: a new approach to cortical mapping. *Anat Embryol (Berl)*, 210(5-6), 373-386. doi: 10.1007/s00429-005-0028-2
- Shultz, S., Vouloumanos, A., & Pelphrey, K. (2012). The superior temporal sulcus differentiates communicative and noncommunicative auditory signals. *J Cogn Neurosci*, 24(5), 1224-1232. doi: 10.1162/jocn_a_00208
- Sieghart, W., & Sperk, G. (2002). Subunit composition, distribution and function of GABA-A receptor subtypes. *Current Topics in Medical Chemistry*, 2(8), 795-816.
- Tasic, B., Yao, Z., Graybiel, L. T., Smith, K. A., Nguyen, T. N., Bertagnolli, D., Goldy, J., Garren, E., Economo, M. N., & Viswanathan, S. (2018). Shared and distinct transcriptomic cell types across neocortical areas. *Nature*, 563(7729), 72.
- Thompson, J., & Parasuraman, R. (2012). Attention, biological motion, and action recognition. *Neuroimage*, 59(1), 4-13. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.05.044

- Tower, D. Y., O. (1973). The activities of butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase, the rate of anaerobic glycolysts, and the question of a constant density of glial cells in cerebral cortices of various mammalian species from mouse to whale. *Journal of neurochemistry*, 20(2), 269-278.
- v. Economo, C., & Koskinas, G. (1925). *Die Cytoarchitektur der Hirnrinde des erwachsenen Menschen*. Berlin: Springer.
- Ward, J. H. (1963). Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. *Journal of the American Statistical Association*, 58(301), 236-&. doi: Doi 10.2307/2282967
- Watson, R., Latinus, M., Charest, I., Crabbe, F., & Belin, P. (2014). People-selectivity, audiovisual integration and heteromodality in the superior temporal sulcus. *Cortex*, 50, 125-136. doi: 10.1016/j.cortex.2013.07.011
- Watson, R., Latinus, M., Noguchi, T., Garrod, O., Crabbe, F., & Belin, P. (2014). Crossmodal adaptation in right posterior superior temporal sulcus during face-voice emotional integration. *J Neurosci*, 34(20), 6813-6821. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4478-13.2014
- Wenzel, A., Villa, M., Mohler, H., & Benke, D. (1996). Developmental and regional expression of NMDA receptor subtypes containing the NR2D subunit in rat brain. *Journal of neurochemistry*, 66(3), 1240-1248.
- Wernicke, C. (1874). *Der aphasische Symptomencomplex: eine psychologische Studie auf anatomischer Basis*: Cohn.
- Wilson, S. M., Bautista, A., & McCarron, A. (2017). Convergence of spoken and written language processing in the superior temporal sulcus. *Neuroimage*, 171, 62-74. doi: 10.1016/j.neuroimage.2017.12.068
- Wree, A., Schleicher, A., & Zilles, K. (1982). Estimation of volume fractions in nervous tissue with an image analyzer. *J Neurosci Methods*, 6(1-2), 29-43.
- Wyk, B. C., Hudac, C. M., Carter, E. J., Sobel, D. M., & Pelphrey, K. A. (2009). Action understanding in the superior temporal sulcus region. *Psychol Sci*, 20(6), 771-777. doi: 10.1111/j.1467-9280.2009.02359.x
- Xu, J., Wang, J., Fan, L., Li, H., Zhang, W., Hu, Q., & Jiang, T. (2015). Tractography-based Parcellation of the Human Middle Temporal Gyrus. *Sci Rep*, 5, 18883. doi: 10.1038/srep18883
- Yovel, G., & O'Toole, A. J. (2016). Recognizing People in Motion. *Trends in Cognitive Sciences*, 20(5), 383-395. doi: 10.1016/j.tics.2016.02.005
- Zeisel, A., Muñoz-Manchado, A. B., Codeluppi, S., Lönnerberg, P., La Manno, G., Juréus, A., Marques, S., Munguba, H., He, L., & Betsholtz, C. (2015). Cell types in the mouse cortex and hippocampus revealed by single-cell RNA-seq. *Science*, 347(6226), 1138-1142.
- Zilles, K., & Amunts, K. (2009). Receptor mapping: architecture of the human cerebral cortex. *Curr Opin Neurol*, 22(4), 331-339. doi: 10.1097/WCO.0b013e32832d95db
- Zilles, K., & Amunts, K. (2010). Centenary of Brodmann's map--conception and fate. *Nat Rev Neurosci*, 11(2), 139-145. doi: 10.1038/nrn2776
- Zilles, K., Armstrong, E., Schleicher, A., & Kretschmann, H. J. (1988). The human pattern of gyrification in the cerebral cortex. *Anat Embryol (Berl)*, 179(2), 173-179.
- Zilles, K., Bacha-Trams, M., Palomero-Gallagher, N., Amunts, K., & Friederici, A. D. (2015). Common molecular basis of the sentence comprehension network revealed by neurotransmitter receptor fingerprints. *Cortex*, 63, 79-89. doi: 10.1016/j.cortex.2014.07.007

- Zilles, K., Palomero-Gallagher, N., Grefkes, C., Scheperjans, F., Boy, C., Amunts, K., & Schleicher, A. (2002). Architectonics of the human cerebral cortex and transmitter receptor fingerprints: reconciling functional neuroanatomy and neurochemistry. *Eur Neuropsychopharmacol*, 12(6), 587-599.
- Zilles, K., & Schleicher, A. (1995). Correlative imaging of transmitter receptor distributions in human cortex. *Autoradiography and correlative imaging*, 277-307.
- Zilles, K., Schleicher, A., Palomero-Gallagher, N., & Amunts, K. (2002). Quantitative analysis of cyto-and receptor architecture of the human brain. *Brain mapping: the methods*, 2, 573-602.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Weiterhin wurde diese Dissertation keiner weiteren Fakultät vorgelegt.

Düsseldorf, den 09.10.2019



Daniel Zachlod