

Aus dem Lehrstuhl für Neuroanatomie, Anatomische Anstalt
Institut der Universität München

Vorstand: Univ. Prof. Dr. med. Christoph Schmitz

***Stereologische Untersuchung der von Economo Zellen in Schicht
V in Brodmann Area 24 im Gehirn von männlichen Patienten
mit Schizophrenie***

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

vorgelegt von

Alisa Vollhardt

aus

Groß-Gerau

Jahr

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Christoph Schmitz

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Andrea Schmitt

PD Dr. Ilja Spellmann

Prof. Dr. Jens Neumann

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.09.2023

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Zusammenfassung	5
Abstract (English):.....	8
Abbildungsverzeichnis.....	9
Tabellenverzeichnis.....	15
Abkürzungsverzeichnis.....	17
1 Einleitung.....	20
2 Material und Methoden	28
2.1 Untersuchtes Gewebe	28
2.2 Histologische Aufarbeitung	31
2.2.1 Fixierung der Gehirne	31
2.2.2 Einbettung und Anfertigung von Schnittserien von den Hemisphären	31
2.2.3 Einbettung und Anfertigung von Schnittserien des post mortem Gehirns von Kontrollperson 7	33
2.2.4 Färbung der Schnitte	34
2.3 Stereologische Untersuchung der Gehirnschnitte	36
2.3.1 Verwendete stereologische Messstationen.....	36
2.3.2 „Design-based“ Stereologie.....	37
2.3.3 Durchgeführte stereologische Untersuchungen	43
2.4 Statistische Analyse	54
3 Ergebnisse	56
3.1 Abgrenzung von Brodmann Area 24	56
3.2 Ausdehnung von Brodmann Area 24	68
3.3 Mikroskopisches Erscheinungsbild von Schicht Va und Vb in Brodmann Area 24	73
3.4 Volumen von Brodmann Area 24	80
3.5 Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24	85
3.6 Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24	90
3.7 Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24	95
3.8 Verteilung der von Economo Zellen in Brodmann Area 24.....	100
4 Diskussion	102
4.1 Ergebnisse zum Volumen von Brodmann Area 24 und von Schicht V in Brodmann Area 24.....	102
4.1.1 Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur	102

4.2	Ergebnisse zur Gesamtzahl und Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24.....	107
4.2.1	Vergleich mit Daten aus der Literatur	107
4.2.2	Weitere vergleichende Daten zur Pathologie der von Economo Zellen in der Literatur	110
4.2.3	Vergleich mit Daten aus der Literatur zur Verteilung der von Economo Zellen	113
4.2.4	Von Economo Zellen: Charakteristika und mögliche funktionelle Aspekte	114
4.3	Konnektivität	119
4.3.1	Gesamtüberblick über die Histopathologie von Schicht V in Brodmann Area 24	119
4.3.2	Bedeutung der histopathologischen Befunde von Schicht V in Brodmann Area 24 für die Konnektivität	125
4.4	Neurodegeneration versus Entwicklungsstörung in der Neurogenese	131
	Literaturverzeichnis	134
	Danksagung	147
	Affidavit.....	148
	Publikationsliste	149

Zusammenfassung

Das Interesse um die erstmals von von Economo (von Economo, 1926) beschriebenen Spindelzellen (oder von Economo Zellen; englisch: *von Economo neurons*; abgekürzt VEN) im Gehirn blühte Ende des 20. Jahrhunderts in der neuropathologischen Forschung auf. Diese Zellen wurden mittlerweile bei Menschen, Menschenaffen und weiteren Tierarten vor allem im anterioren Gyrus cinguli (englisch: *anterior cingulate gyrus*; abgekürzt ACC) und im frontoinsulären Cortex gefunden. Der ACC steht unter anderem mit Kognition und Emotion in Verbindung und wird in der Schizophrenie als ein Kerngebiet in der Neuropathologie dieser Erkrankung angesehen, die häufiger bei Männern auftritt. Bisherige Studien konnten zeigen, dass VEN vor allem anfällig gegenüber neuropsychiatrischen Erkrankungen sind, bei denen soziale Defizite eine zentrale Rolle spielen. Für die Schizophrenie untersuchte eine Studie (Brüne et al., 2010) die mittlere Dichte von VEN in Brodmann Area (BA) 24, eine oft untersuchte Region innerhalb des ACC, konnte jedoch keine Veränderung gegenüber PatientInnen mit bipolarer Störung als klinische Kontrollgruppe und gegenüber altersangepassten PatientInnen einer nicht-psychiatrischen Kontrollgruppe feststellen. Studien über die Gesamtzahl von VEN in BA 24 im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie liegen bisher nicht vor. Die vorliegende Arbeit untersuchte daher die Hypothese, dass in BA 24 im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu BA 24 im Gehirn von nicht an Schizophrenie oder einer anderen neurologischen oder psychiatrischen Erkrankung leidenden Kontrollpersonen (im Folgenden: Kontrollpersonen) eine veränderte Dichte und/oder Gesamtzahl der VEN vorliegen.

Für die vorliegende Arbeit wurden beide Hemisphären von 12 Gehirnen von männlichen Patienten mit Schizophrenie und von 11 männlichen Kontrollpersonen mit gleicher Altersverteilung (altersgematchte Kontrollpersonen) untersucht. Die Anfertigung der entsprechenden histologischen Gewebeschnitte dieser Gehirne erfolgte bereits vor etlichen Jahren durch Prof. Dr. med. Helmut Heinsen (Morphologische Hirnforschung der Universität Würzburg). Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg hatte die Verwendung der durch Autopsie gewonnenen Gehirne für die wissenschaftliche Forschung seinerzeit genehmigt.

Jeder zweite oder dritte Schnitt der im Mittel 700 µm dicken Serienschnitte wurde mit Galloxyanin-Chromalaun gefärbt. BA 24 und spezifisch die Schicht V in BA 24 wurden zytoarchitektonisch / mikroskopisch als *region of interest* (ROI) identifiziert und abgegrenzt, da in Schicht Vb in BA 24 die VEN vorliegen. Mittels *designed-based* Stereologie wurden für jede untersuchte Hemisphäre die Gesamtzahl sowie die Dichte von VEN in Schicht V in BA 24 ermittelt. Das Volumen von BA 24 und Schicht V in BA 24 wurden über das Cavalieri-Verfahren ermittelt.

Bei den Patienten mit Schizophrenie wurde im Vergleich mit den Kontrollpersonen eine signifikante Verminderung der mittleren Gesamtzahl von VEN gefunden (-28,3%; $p = 0,027$). Hingegen wies die mittlere Dichte von VEN, trotz reduzierter mittlerer Gesamtzahl dieser Zellen, keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen auf ($p = 0,128$). Die mittleren Volumina von BA 24 ($p = 0,111$) und Schicht V in BA 24 ($p = 0,065$) zeigten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten somit die zuvor beschriebene Hypothese teilweise bestätigen. Ebenfalls konnte die in einer anderen Studie (Brüne et al., 2010) zuvor festgestellte unveränderte Dichte von VEN in Schicht 5 in BA 24 im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie unterstützt werden. Eine Messung der Gesamtzahl von VEN in Schicht V in BA 24 im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie lag in der zitierten Studie von Brüne et al. (2010) jedoch nicht vor, weswegen die vorliegende Arbeit erstmals Ergebnisse dieser Art in der Literatur zur Verfügung stellt.

Der ACC besitzt extensive Verbindungen innerhalb des Gehirns. Ein Verlust von VEN in Schicht V in BA 24, gepaart mit einer reduzierten Gesamtzahl von Nervenzellen in Schicht V in BA 24, könnte eine mögliche neuroanatomisch-neuropathologische Grundlage für die mittels funktioneller Bildgebung festgestellten Konnektivitätsstörungen im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie darstellen. Außerdem könnten (im Sinne einer durch Nervenzellverlust bedingten gestörten Konnektivität) weitere neuroanatomisch-neuropathologische Veränderungen, wie die Reduzierung der mittleren Gesamtzahl von Nervenzellen im lateralen Kerngebiet der Amygdala bei männlichen Patienten mit Schizophrenie (Kreczmanski et al., 2007), erklärt werden.

Die VEN-Neuropathologie könnte somit eine Rolle in der funktionellen Dyskonnektivität und den sich hieraus ableitenden Defiziten in der sozialen Kognition bei PatientInnen mit Schizophrenie, mit denen sie assoziiert werden, spielen.

Abstract (English):

Neuropathological studies about von Economo neurons (VENs) thrived by the end of the 20th century. VENs are specialized projection neurons restricted to a few areas of the cerebral cortex, such as the anterior cingulate cortex (ACC). The ACC is viewed as a core region in the neuropathology of schizophrenia and plays a role in cognition and emotion. VENs are especially vulnerable to those neuropsychiatric diseases in which social deficits are a hallmark. Social deficits are a known issue in schizophrenia, but so far, only a few studies investigated a possible pathology of VENs in schizophrenia. In the present study, rigorous designed-based stereology was used to determine the volume of Brodmann area (BA) 24 within the ACC and layer V of BA 24, as well as the total number and density of VENs in layer V of BA 24 in both brain hemispheres of 12 male patients with schizophrenia and 11 age-matched male controls. Patients with schizophrenia exhibited a significantly lower mean total number of VENs (-28.3%; $p = 0.027$). No significant alterations were found in the mean density of VENs ($p = 0.128$), the mean volume of BA 24 ($p = 0.111$) and the mean volume of layer V in BA 24 ($p = 0.065$). The ACC shows massive connections to other cortical and subcortical regions. Furthermore, there is evidence from neuroimaging studies of aberrant connectivity in schizophrenia. The results of the present study may therefore represent a neuroanatomical basis for altered connectivity, possibly leading to deficits in social cognition, in schizophrenia.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1.1:** Anteriorer Gyrus cinguli (ACC)..... 23
- Abbildung 2.1:** Illustration über den Ablauf einer stereologischen Untersuchung mittels der „optical fractionator“-Methode. Die Illustration zeigt vereinfacht den Vorgang der „designed-based“ Stereologie am Beispiel der vorliegenden Arbeit. Eine Hemisphäre eines Gehirns wird mit gleichbleibendem Abstand (1, 2, 3, 4) geschnitten (**A**). Der Startpunkt (1) wird hierbei zufällig gewählt; der Abstand zum Frontalpol muss aber kleiner sein als der Abstand zwischen den Schnitten. Von diesen Schnitten wird dann eine Schnittserie (SRS-Serie) ausgewählt (1, 3,... oder 2, 4,...) (**B**). Sobald ein Schnitt aus der gewählten SRS-Serie im Mikroskop eingelegt wird, wird in der verwendeten Software die „region of interest“ markiert (gelb) (**C, D**). Im Anschluss daran wird ein virtuelles Gitter („Grid“) aufgelegt (**C**), dessen Kanten *s_{lx}* und *s_{ly}* (**D**) zuvor definiert werden (*s_{lx}*: englisch "side length in orientation of the X axis of a Cartesian coordinate system"; *s_{ly}* entsprechend). Das Gitter stellt den Rahmen für die Zählfenster bzw. Zählwürfel, die „unbiased virtual counting spaces“ (UVCS) (**D, E**), dar, deren Ausmaße (*cs_x*, *cs_y*, *cs_z*) ebenfalls bestimmt werden können. Die spindelförmigen von Economo Zellen (VEN), mit ihrem Zellkern (Nukleus) (hellgrau, oval) und Nukleolus (schwarzer Punkt) sollen gezählt werden (**E**). Die VEN, die mit ihrem spezifischen Zählpunkt (Nukleolus) im Fokus innerhalb der UVCS liegen, werden gezählt (**E**). Dabei gilt es, die rote „exclusion line“ und die grüne „inclusion line“ (**D, E**) zu berücksichtigen. Bei letzterem wird das Objekt gezählt, sollte der spezifische Zählpunkt exakt auf der Linie liegen..... 38
- Abbildung 2.2:** Aufnahme eines repräsentativen Frontalschnitts einer Hemisphäre eines der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 9) (**A**), sowie eine Makroaufnahme der dorsalen Windung von Brodmann Area 24 (BA 24) (**B**) mit den angegebenen Schichten I-III, V-VI und Mark (M). Das Viereck in **A** kennzeichnet BA 24, aus der die Makroaufnahme von **B** entstand. Maßstab = 10 mm in **A** und 0,75 mm in **B**..... 45
- Abbildung 2.3:** Zytoarchitektur von Brodmann Area 24 (BA24). Die Abbildungen **A** und **B** wurden einem Atlas von Ding et al. (2016) entnommen und dienen zur Orientierung in den Makroaufnahmen von BA 24 in einem der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 9) (**C, D**). Die Vierecke (**A, B**) heben die in rosa eingefärbten Regionen BA 24 und BA 32 hervor. Mit angegeben sind die anliegenden Regionen BA 32 und 33 als auch das Corpus callosum (CC) (**C, D**). Maßstab = 2,8 mm in **C** und 4,3 mm in **D**..... 46
- Abbildung 2.4:** Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von einer Zählung der von Economo Zellen (VEN) in einem der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 6). In **A** bis **H** ist ein „unbiased virtual counting frame“ (UVCF) mit seinen Kantenlängen 200 x 200 µm dargestellt. Mit der Ausdehnung in 50 µm Tiefe entsteht ein dreidimensionaler Würfel, der sogenannte „unbiased virtual counting space“ (UVCS), innerhalb dessen die Zählung der VEN erfolgte (**B – G**). Die in **A** gezeigte Fokusebene

befindet sich oberhalb des UVCS (und somit außerhalb des Zählbereiches), und die in **H** gezeigte Fokusebene unterhalb des UVCS (und somit ebenfalls außerhalb des Zählbereiches). Daher sind hier die Umrandungen des UVCF gelb gezeigt. In **A**, **B** und **D** ist mit Pfeilköpfen ein nicht im Fokus liegendes VEN markiert. VEN wurden gezählt, wenn deren Nukleolus innerhalb des UVCF in den Fokus traten (Pfeil in **C**) und die roten Kanten („exclusion lines“) nicht berührten. Bei den grünen Kanten („inclusion lines“) wurden die VEN gezählt, falls deren Nukleolus diese berührte. Neben den VEN sind im Bild ebenfalls Pyramidenzellen gezeigt, die dicht gepackt in Schicht Va und weniger dicht gepackt in Schicht Vb vorliegen. Eine scharf eingestellte Pyramidenzelle wurde exemplarisch mit einem gelben Stern in **D** und **E** gekennzeichnet. Die Maßangaben in μm beschreiben den Abstand zur Oberfläche des Schnittes. Maßstab = $65 \mu\text{m}$ in **A – H**. 52

Abbildung 2.5: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (A, B) und Vb (C, D) in zwei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 4 (**A**, **C**) und Patient mit Schizophrenie 15 (**B**, **D**)). In Schicht Va (**A**, **B**) liegen große, dichtgepackte Pyramidenzellen (Stern) vor. In Schicht Vb befinden sich neben weniger dicht gepackten Pyramidenzellen die senkrecht zur Oberfläche liegenden von Economo Zellen (VEN) (**C**, **D**). Zur Veranschaulichung wurde eine Gruppe von scharf eingestellten VEN eingekreist, sowie der helle ovale Zellkern (Nukleus) (Pfeil) und das dunkle punktförmige Kernkörperchen (Nukleolus) (Pfeilkopf) markiert. Maßstab = $50 \mu\text{m}$ in **A – D**. 53

Abbildung 3.1: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Kontrollperson 3 (die gezeigte rechte Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,38 \text{ cm}^3$ das kleinste Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Kontrollpersonen auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = $3,97 \text{ mm}$ in **A - D** und **H**; $7,32 \text{ mm}$ in **E** und **F** sowie $5,78 \text{ mm}$ in **G**. 57

Abbildung 3.2: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Kontrollperson 3 (die gezeigte linke Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,60 \text{ cm}^3$ ein mittleres Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Kontrollpersonen auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = $3,15 \text{ mm}$ in **A**; $3,28 \text{ mm}$ in **B** und **C**; $3,02 \text{ mm}$ in **D**; $6,03 \text{ mm}$ in **E**; $5,75 \text{ mm}$ in **F**; $4,76 \text{ mm}$ in **G** und $3,95 \text{ mm}$ in **H**. 59

- Abbildung 3.3:** Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Kontrollperson 6 (die gezeigte rechte Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,83 \text{ cm}^3$ das größte Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Kontrollpersonen auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - D** und **H** sowie 7,74 mm in **E - G**. 61
- Abbildung 3.4:** Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Patient 11 mit Schizophrenie (die gezeigte rechte Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,38 \text{ cm}^3$ das kleinste Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Patienten mit Schizophrenie auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - E** und **H** sowie 5,56 mm in **F** und **H**. 63
- Abbildung 3.5:** Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Patient 5 mit Schizophrenie (die gezeigte linke Hemisphäre wies mit einem Volumen von $0,51 \text{ cm}^3$ ein mittleres Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Patienten mit Schizophrenie auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,75 mm in **A - E** und 7,31 mm in **F** sowie 5,53 mm in **G** und **H**. 65
- Abbildung 3.6:** Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Patient 2 mit Schizophrenie (die gezeigte rechte Hemisphäre wies mit einem Volumen von $0,82 \text{ cm}^3$ das größte Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Patienten mit Schizophrenie auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - E** und **H**; 8,17 mm in **F** und 6,94 mm in **G**. 67
- Abbildung 3.7:** Abmessungen von Brodmann Area 24. Gezeigt sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Länge (A) und Dicke (B) von BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der

- Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“). Die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. 71
- Abbildung 3.8:** Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Kontrollperson 8 (in Bezug auf alle Hemisphären der Kontrollpersonen wies die gezeigte Hemisphäre mit 83.528 VEN die niedrigste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 µm. 74
- Abbildung 3.9:** Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Kontrollperson 9 (in Bezug auf alle Hemisphären der Kontrollpersonen wies die gezeigte Hemisphäre mit 153.743 VEN eine mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 µm. 75
- Abbildung 3.10:** Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Kontrollperson 10 (in Bezug auf alle Hemisphären der Kontrollpersonen wies die gezeigte Hemisphäre mit 285.862 VEN die höchste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 µm. 76
- Abbildung 3.11:** Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der linken Hemisphäre des Gehirns von Patient 7 mit Schizophrenie (in Bezug auf alle Hemisphären der Patienten mit Schizophrenie wies die gezeigte Hemisphäre mit 35.233 VEN die niedrigste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 µm. 77
- Abbildung 3.12:** Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der linken Hemisphäre des Gehirns von Patient 1 mit Schizophrenie (in Bezug auf alle Hemisphären der Patienten mit Schizophrenie wies die gezeigte Hemisphäre mit 96.445 VEN eine mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus,

die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μm 78

Abbildung 3.13: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Patient 5 mit Schizophrenie (in Bezug auf alle Hemisphären der Patienten mit Schizophrenie wies die gezeigte Hemisphäre mit 253.438 VEN die höchste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μm 79

Abbildung 3.14: Volumen von Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte des Volumens von BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **B** und **C** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären..... 83

Abbildung 3.15: Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte des Volumens von Schicht V in BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **B** und **C** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären..... 88

Abbildung 3.16: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In (**B**) und (**C**) sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären. Der Stern in **A** zeigt den statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Mittelwerten der Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie an..... 93

Abbildung 3.17: Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in den in der vorliegenden

Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **B** und **C** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären..... 98

Abbildung 3.18: Individuelle, kaudo-rostrale Verteilung der gezählten von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen (**A**) und der Patienten mit Schizophrenie (**B**), jeweils getrennt für die linken und rechten Hemisphären. Die Daten der individuellen Gehirne sind farbcodiert wiedergegeben. Auf der X-Achse bei $x = 0.0$ sind die Daten der jeweils am meisten kaudal gelegenen Schnitte der untersuchten SRS-Serien von Gehirnschnitten repräsentiert, und bei $x = 1.0$ die Daten der jeweils am meisten rostral gelegenen Schnitte. Man erkennt, dass der in Abbildung 3.16 gezeigte Verlust von VEN in Schicht V von BA 24 in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie hauptsächlich die rostralen Anteile von BA24 betraf..... 101

Abbildung 4.1: Afferenzen von Brodmann Area (BA) 24 bei Rhesusaffen (modifiziert nach Vogt et al. (1987). Aus dem Frontallappen kommen Afferenzen unter anderem aus dem orbitalen Cortex (BA 10, BA 12, BA 13), dem medialen Cortex (BA 9, BA 14) sowie BA 6 und BA 46. Aus dem Parietallappen kommen Afferenzen vom posterioren parietalen Cortex (Area Opt), Area PG und PGM. Aus dem Temporallappen kommen Afferenzen von den Arealen Pro, TS1 und dorsale Bank des Sulcus temporalis superior (dSTS), von laterobasalen (LB), akzessorisch basalen (AB) und teilweise auch von basomedialen (BM) Kerngebieten der Amygdala, vom Subiculum und von den parahippocampalen Arealen TH, TL, TF und TE. Weitere Afferenzen liefern BA 25 (neben BA 24 ein weiterer Teil des anterioren cingulären Cortex), die Insula und der posteriore cinguläre Cortex (PCC). 126

Abbildung 4.2: Efferenzen von Brodmann Area (BA) 24 bei Rhesusaffen (modifiziert nach Vogt et al. (1987). Efferenzen ziehen im Frontallappen zu BA 12 (Area an der orbitalen Oberfläche), BA 6, BA 8 und BA 9. Darüber hinaus ziehen Efferenzen im Temporallappen zum basolateralem Kerngebiet der Amygdala (LB) und zum perirhinalen Cortex. Im posterioren cingulärem Cortex (PCC) ziehen Efferenzen zu BA 23. Efferenzen ziehen auch zur Insula und zu weiteren Bereichen des anterioren cingulären Cortex (BA 25 und BA 32). Die kaudale BA 24 gibt keine Efferenzen zu den mit dem Sternchen markierten Arealen ab. 127

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Klinische Charakteristika derjenigen Patienten mit Schizophrenie und derjenigen Kontrollpersonen, deren <i>post mortem</i> Gehirne in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden.	30
Tabelle 2.2: Herstellung von 10 % Formalin.....	31
Tabelle 2.3: Vorbehandlung mit kryoprotektiven Lösungen.	32
Tabelle 2.4: Herstellung von 8 % Celloidin	33
Tabelle 2.5: Herstellung der Perameisensäure	34
Tabelle 2.6: Herstellung der Gallocyanin-Chromalaun-Lösung.....	35
Tabelle 2.7: Abschließender Dehydrierungsvorgang bei der Färbung der Schnitte	35
Tabelle 2.8: Details der bei den stereologischen Untersuchungen gewählten Parameter.	48
Tabelle 3.1: Abmessungen von Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.	69
Tabelle 3.2: Abmessungen von Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.....	70
Tabelle 3.3: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable <i>Länge von Brodmann Area 24</i> (Daten in den Tabellen 3.1 und 3.2 zusammengestellt).	72
Tabelle 3.4: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable <i>Dicke von Brodmann Area 24</i> (Daten in den Tabellen 3.1. und 3.2 zusammengestellt).	72
Tabelle 3.5: Volumen von Brodmann Area 24 (BA 24) in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.	81
Tabelle 3.6: Volumen von Brodmann Area 24 (BA 24) in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.....	82
Tabelle 3.7: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable <i>Volumen von Brodmann Area 24</i> (BA 24) (Daten in den Tabellen 3.5 und 3.6 zusammengestellt).....	84
Tabelle 3.8: Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.....	86
Tabelle 3.9: Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.....	87
Tabelle 3.10: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable <i>Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24</i> (Daten in den Tabellen 3.9 und 3.10 zusammengestellt).....	89
Tabelle 3.11: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.	91
Tabelle 3.12: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.	92

Tabelle 3.13: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable <i>Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24</i> (Daten in den Tabellen 3.13 und 3.14 zusammengestellt).....	94
Tabelle 3.14: Dichte der von Economo Zellen [n/cm^3] in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.	96
Tabelle 3.15: Dichte der von Economo Zellen [n/cm^3] in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.....	97
Tabelle 3.16: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable <i>Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24</i> (Daten in den Tabellen 3.17 und 3.18 zusammengestellt).....	99
Tabelle 4.1: Auszüge aus Studien zu von Economo Zellen in neuropsychiatrischen Erkrankungen im anterioren Gyrus cinguli.	111
Tabelle 4.2: p-Werte der Kovarianzanalyse (ANCOVA).....	120
Tabelle 4.3: Ausschnitt von neuropathologischen Studien in Brodmann Area 24	122

Abkürzungsverzeichnis

[r/ +r].....	Differenz der Werte der linken und rechten Hemisphäre dividiert durch die Summe der Werte der linken und rechten Hemisphäre
ΣA	Fläche der region of interest
Σcs	Summe der in allen Schnitten ausgewerteten unbiased virtual counting spaces
↑	erhöht
↓	reduziert
AB	akzessorisch basales Kerngebiet der Amygdala
ACC	anterioren Gyrus cinguli (englisch: anterior cingulate gyrus)
ACC-cd	kognitiver Anteil des anterioren Gyrus cinguli
asf	area sampling fraction
asf ⁻¹	reziproker Wert der area sampling fraction
AV	abhängige Variable
BA 24	Brodman Area 24
BA 24'	kaudale Anteile der Brodmann Area 24
BA 24sg	subgenualer Anteil der Brodmann Area 24
BM	basomediales Kerngebiet der Amygdala
Breite links	gemessene Breite der linken Hemisphäre
Breite rechts	gemessene Breite der rechten Hemisphäre
CC	Corpus callosum
CCA	Corpus Callosum Agenesie
CE	coefficient of error
CGM	cortical grey matter
cs	counting space
dACC	dorsaler anteriorer cingulärer Cortex
DSM-V	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
dSTS	dorsale Bank des Sulcus temporalis superior
F	Testverfahren basierend auf der F-Statistik
Fix	Fixationszeit
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
GRP	Gastrin Releasing Peptid
gz	guard zone

Abkürzungsverzeichnis

h	Höhe
H	Hemisphäre
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
IL4R α	Interleukin 4 Rezeptor
K	Kontrollpersonen
L	Linke Hemisphäre
Länge links	gemessene Länge der linken Hemisphären
Länge rechts	gemessene Länge der rechten Hemisphären
LB	laterobasales Kerngebiet der Amygdala
MRT	Magnetresonanztomographie
MCC	midcingulärer Cortex
Nest	geschätzte Gesamtzahl
NMB	Neuromedin B
o	keine Unterschiede
Obj	Objektiv
p	Wert nach dem sich die Signifikanz richtet
partiell η^2	Maß für die Effektstärke
PCC	posteriorer cingulärer Cortex
PET	Positronen-Emissions-Tomografie
PMI	<i>Post mortem</i> Intervall
pred	predicted
R	rechte Hemisphäre, Siehe
ROI	region of interest
S	männliche Patienten mit Schizophrenie
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
sl	side length bzw. Seitenlänge des Gitters
SRS	systematic random sampling
ssf	section sampling fraction
ssf ⁻¹	reziproker Wert der section sampling fraction
t	Schnittdicke
tsf	thickness sampling fraction
tsf ⁻¹	reziproker Wert der thickness sampling fraction
tVEN-Nest	transformierte geschätzte Gesamtzellanzahl von von Economo Zellen

Abkürzungsverzeichnis

UVCF.....	unbiased virtual counting frames
UVCS.....	unbiased virtual counting spaces
VEN.....	von Economo Zellen
Dichte VEN_{Gesamt}	geschätzte Dichte der von Economo Zellen beider Hemisphären
Dichte VEN_{Links}	geschätzte Zelldichte der von Economo Zellen der linken Hemisphären
Dichte VEN_{Rechts}	geschätzte Zelldichte der von Economo Zellen der rechten Hemisphären
VEN-Nest.....	geschätzte Gesamtzahl von von Economo Zellen
VEN-Nest $_{\text{Gesamt}}$	geschätzte Gesamtzahl von von Economo Zellen beider Hemisphären
VEN-Nest $_{\text{Links}}$	geschätzte Gesamtzahl von von Economo Zellen der linken Hemisphären
VEN-Nest $_{\text{Rechts}}$	geschätzte Gesamtzahl von von Economo Zellen der rechten Hemisphären
vFTD	verhaltensbetonte Variante der frontotemporalen Demenz
V_{Gesamt}	Volumen beider Hemisphären
V_{Links}	Volumen der linken Hemisphären
V_{Rechts}	Volumen der rechten Hemisphären
\bar{x}	Mittelwert
$\sum n$	Summe des gezählten Objektes

1 Einleitung

Die Schizophrenie ist eine schwere und in der Klinik regelmäßig vorkommende neuropsychiatrische Erkrankung (McCutcheon et al., 2020) mit einer im Mittel geschätzten Inzidenz von 15,2 pro 100.000 Personen weltweit. Die Erkrankung geht mit enormen Belastungen für die Betroffenen, ihre Angehörigen und das Gesundheitswesen einher (Cloutier et al., 2016). PatientInnen mit Schizophrenie haben eine um fast 20 Jahre kürzere Lebenserwartung (Laursen et al., 2014). Zum Teil ist dies auf ein erhöhtes Suizidrisiko zurückzuführen; schätzungsweise 5 % der Erkrankten versterben an Suizid (Palmer et al., 2005).

Nach einer vorausgehenden Prodromalphase (Lewis et al., 2000; Insel, 2010; National Collaborating Centre for Mental Health, 2014; McCutcheon et al., 2020) wird mit Einsatz der ersten Psychose im späteren Jugendalter oder im frühen Erwachsenenalter die Schizophrenie deutlich. Männer sind im Vergleich zu Frauen zum einem etwas häufiger betroffen (McGrath et al., 2008); zum anderem tritt die erste Psychose bei Männern im Mittel etwas früher in einem Alter von 15-24 Jahren auf (Häfner et al., 1994; Häfner et al., 1997; Insel, 2010). Der Verlauf ist entweder kontinuierlich oder schubweise. Anhand der Symptomatik erfolgt nach den international anerkannten Kriterien des diagnostischen und statistischen Leitfadens psychischer Störungen (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; DSM-5*) (American Psychiatric Association, 2013) oder der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems; ICD-10*) (World Health Organization, 2004) die Diagnose. Die verschiedenartig auftretenden Symptome äußern sich laut ICD-10 durch grundlegende und charakteristische Störungen von Denken und Wahrnehmung sowie inadäquate oder verflachte Affekte (World Health Organization, 2004). Die Symptome werden unter anderem in einer Positivsymptomatik (z.B. Halluzinationen, Wahnvorstellungen, Störungen im Denken) oder einer Negativsymptomatik (z.B. abgeflachter Affekt, soziale Zurückgezogenheit, Verlust der Motivation) kategorisiert (Lewis et al., 2000; Health, 2014; McCutcheon et al., 2020). Eine Beeinträchtigung der Kognition kann ebenfalls auftreten. Oft präsentieren sich

PatientInnen in der Klinik aufgrund der Positivsymptomatik (McCutcheon et al., 2020), während die Negativsymptomatik einschließlich kognitiver Defizite bereits die Prodromalphase kennzeichnen können (Health, 2014; McCutcheon et al., 2020).

Die Schizophrenie geht auf die Beschreibung der Dementia praecox mit der Unterteilung in die hebephrenische, katatonische und paranoide Form von Emil Kraepelin zurück (Kraepelin, 1899). Kraepelin beschrieb ein Krankheitsbild, das durch „eine eigenartige Zerstörung des inneren Zusammenhanges der psychischen Persönlichkeit mit vorwiegender Schädigung des Gemütslebens und des Willens“ (Kraepelin, 1913) charakterisiert ist. Bleuler erweiterte das bis dahin von Kraepelin eingeführte Konzept der Dementia praecox und führte die heute bekannte Bezeichnung für die neuropsychiatrische Erkrankung ein (Bleuler, 1911; Noll, 2009). Zunächst wurde von einer biologischen Ursache der Schizophrenie ausgegangen; jedoch erzielten die damaligen Studien wenig erfolgreiche Ergebnisse (Shenton et al., 2001). Dies ebnete den Weg für die Psychoanalytik, die das wissenschaftliche Feld übernahm. Bis zur ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts blieb es daher relativ ruhig in der Schizophrenie-Forschung, da die Psychoanalytik mögliche biologische Ursachen ausblendete. Neue Fortschritte in der Genetik-Forschung, Psychopharmakologie und Bildgebung entfachten erneut das Interesse an einer biologischen Ursache der Schizophrenie (Noll, 2009). Insbesondere die neuropathologische Forschung um die Schizophrenie erfuhr eine Renaissance, nachdem die erste CT-Studie über Schizophrenie von Johnstone et al. (1976) veröffentlicht wurde (Shenton et al., 2001; Love et al., 2018). Erst einige Jahre zuvor beschrieb Plum (1972) mit dem heute oft zitierten Satz „Schizophrenia is the graveyard of neuropathologists“ den Tiefpunkt der neuropathologischen Forschung zur Schizophrenie (Shenton et al., 2001; Harrison et al., 2011).

Die von Johnstone et al. (1976) gefundene Ventrikelerweiterung bei PatientInnen mit Schizophrenie konnte in verschiedenen klinischen Bildgebungsstudien der folgenden Jahre reproduziert werden. Weitere erforschte makroskopische Auffälligkeiten waren eine zerebrale und kortikale Volumenreduzierung im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie. Die Volumendefizite traten gehäuft im medialen Temporallappen auf, aber auch weitere Regionen wie der Frontalcortex, der anteriore cinguläre und insuläre Cortex sowie der Thalamus waren betroffen (Harrison, 1999;

Wright et al., 2000; Shenton et al., 2001; Honea et al., 2005; Ellison-Wright et al., 2010; Haijma et al., 2013; Brugger et al., 2017).

Post mortem Studien komplementierten die Ergebnisse der klinischen Bildgebungsstudien in Hinblick auf mögliche mikroanatomische Veränderungen, und konnten zum Teil die Ergebnisse aus der klinischen Bildgebung bestätigen oder ergänzen (Harrison, 1999; Love et al., 2018). Hierzu zählten unter anderem Veränderungen in der Größe, Dichte, Anzahl und Verteilung von Nerven- und Gliazellen und Veränderungen in der synaptischen und dendritischen Architektur. Oft wurde eine Abnahme der untersuchten Parameter festgestellt (Harrison, 1999; Lewis et al., 2000; Harrison et al., 2011; Bakhshi et al., 2015). Die Abweichungen in der neuronalen Zytoarchitektur könnten als mögliche Grundlage für abweichende neuronale Konnektivitäten gesehen werden (Harrison, 1999). Bei der Frage, ob es sich bei der Schizophrenie eher um einen neurodegenerativen Prozess oder eher um eine Entwicklungsstörung des Gehirns handelt, verdichteten sich die Hinweise auf eine Entwicklungsstörung (Insel, 2010; Harrison et al., 2011, S. 981; Bakhshi et al., 2015; Love et al., 2018). Insbesondere die Abwesenheit einer Gliosis gilt dabei als starkes Argument für die Stützung der Hypothese einer Störung in der Entwicklung (Harrison et al., 2011). Trotz zahlreicher Studien ist die Neuropathologie der Schizophrenie aber nicht, wie beispielsweise bei der Alzheimer-Erkrankung, auf ein oder wenige spezifische und eindeutige Charakteristika beschränkt. Darüber hinaus waren die verschiedenen Studien aufgrund von unterschiedlicher Methodik, unterschiedlich gewählter Parameter und unterschiedlich gewählter Gehirnregionen nicht immer eindeutig in ihren Ergebnissen. Schlussendlich konnten bis heute weder makroskopisch noch mikroskopisch für die Diagnostik verwendbare spezifische Veränderungen des Gehirns bei PatientInnen mit Schizophrenie gefunden werden (Harrison et al., 2011; Love et al., 2018).

Der anteriore Gyrus cinguli (englisch: *anterior cingulate gyrus*; abgekürzt ACC) spielt womöglich eine wichtige Rolle bzw. wird als Kerngebiet (Brugger et al., 2017) in der Neuropathologie der Schizophrenie gesehen. Als Teil des limbischen Systems (Bush et al., 2000), windet sich der ACC (Abbildung 1.1) als vorderer Anteil des cingulären Cortex über den vorderen Abschnitt des Corpus callosum (Shenhav et al., 2013). Der ACC besteht aus mehreren Untereinheiten (Vogt et al., 1995), darunter auch Brodmann Area

24 (BA 24). Funktionell steht der ACC hauptsächlich mit kognitiven und emotionalen, allerdings auch mit motorischen und einigen autonomen Funktionen im Zusammenhang (Vogt et al., 1992; Bush et al., 2000; Fornito et al., 2009; Vogt, 2009; Shenhav et al., 2013). Im ACC konnten klinische Bildgebungsstudien und neuropathologische Studien regelmäßig Veränderung feststellen, die möglicherweise mit der klinischen Manifestation der Schizophrenie korrelieren (Fornito et al., 2009). Wie schon zuvor erwähnt konnten Volumendefizite im ACC aufgezeigt werden (Baiano et al., 2007; Haijma et al., 2013; Brugger et al., 2017), darunter auch spezifisch in BA 24 (Mitelman et al., 2005). Auf histologischer Ebene zeichnete sich das pathomorphologische Bild mit Veränderungen in der neuronalen, synaptischen und dendritischen Dichte weiter aus (Fornito et al., 2009; Roberts et al., 2015; Onwordi et al., 2020). Eine Zunahme der Afferenzen konnte ebenso aufgezeigt werden (Benes et al., 1987; Fornito et al., 2009). Die Untereinheiten des ACC können sich jedoch nach Fornito et al. (2009) in ihrem pathomorphologischen Erscheinungsbild unterscheiden.

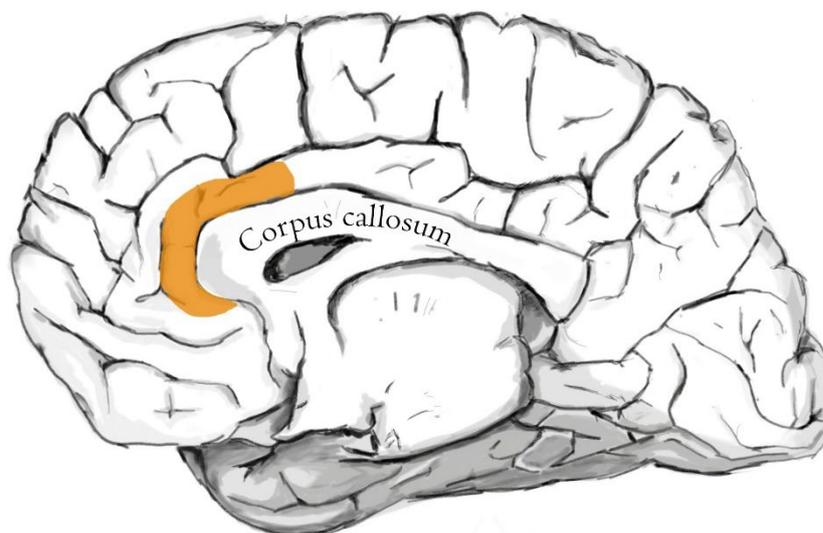


Abbildung 1.1: Anteriorer Gyrus cinguli (ACC).

Die Illustration zeigt eine Medialansicht einer Hemisphäre eines menschlichen Gehirns. Zu erkennen ist der anteriore Gyrus cinguli (orange), der sich als Teil des limbischen Systems und als vorderer Gyrus cinguli vorne um das Corpus callosum windet.

Insbesondere BA 24 innerhalb des ACC geriet in den Fokus vieler Studien. Konkret haben viele Studien die Zelldichte (Nervenzellen und/oder Gliazellen) in BA 24 bei

PatientInnen mit Schizophrenie untersucht (Fornito et al., 2009), weswegen bisher nur wenige Ergebnisse über direkt gemessene Werte der Gesamtzahl von Nervenzellen im ACC vorhanden sind. Die Ergebnisse über die Dichte von Nervenzellen sind recht widersprüchlich, womöglich wegen Unterschieden in der Messmethode. Zum einem wurde eine Erhöhung (Chana et al., 2003), zum anderem eine Erniedrigung (Benes et al., 1986), sowie keine Veränderung (Benes et al., 1991; Kalus et al., 1997; Bouras et al., 2001; Cotter et al., 2001; Höistad et al., 2013) in der mittleren Dichte von Nervenzellen im ACC von PatientInnen mit Schizophrenie festgestellt. In Bezug auf die mittlere Gesamtzahl von Nervenzellen konnten weder Öngür et al. (1998) noch Stark et al. (2004) eine Veränderung messen.

Neben den „normalen“ Nervenzellen (Pyramiden- und Granularzellen) und den Gliazellen liegt in Schicht Vb in BA 24 eine spezielle, in Clustern auftretende Zellart vor, die das Interesse in der Forschung um neuropsychiatrische Erkrankungen geweckt hat: die Spindelzellen bzw. von Economo-Zellen (englisch: *von Economo neurons*; abgekürzt VEN) (Nimchinsky et al., 1995; Nimchinsky et al., 1999). Obwohl diese Zellen bereits 1881 von Wladimir A. Betz erwähnt worden waren (Butti et al., 2013), wurden diese Zellen erstmalig 1926 von ihrem Namensgeber detailliert beschrieben. Nach von Economo (1926) sind diese speziellen Zellen von langgestreckter und spindelartiger Form, die aufgrund ihres schmalen Zellkörpers strichförmig erscheinen und nahezu senkrecht zur Oberfläche der weißen Substanz gerichtet sind. Darüber hinaus entspricht die Breite des apikalen und des basalen Dendriten fast der Breite des Zellkörpers. Nimchinsky et al. (1995) beschrieben neben den langgestreckten und geraden VEN auch kürzere, kräftigere und kurvige VEN, als auch solche mit aus dem Soma kommenden drittem Dendriten. VEN zeigen außerdem im Vergleich zu Pyramidenzellen eine geringere dendritische Verzweigung und weniger Dornenfortsätze (Watson et al., 2006), und können nach ihrer dendritischen Länge, Verzweigung und ihrer Anzahl an Dornenfortsätzen aufgegliedert werden (Banovac et al., 2019; Correa-Júnior et al., 2020). Überwiegend wurden die VEN in großer Anzahl beim Menschen im ACC als auch im frontoinsulären Cortex gefunden (von Economo, 1926; Allman et al., 2011; Butti et al., 2013). In limitierter Anzahl wurden VEN auch im präfrontalen Cortex (BA 9 und 10) beschrieben (Fajardo et al., 2008; Butti et al., 2013; González-Acosta et al., 2018). Neben dem Menschen liegen die VEN auch bei Menschenaffen (Nimchinsky et al., 1999; Allman

et al., 2010), Elefanten (Hakeem et al., 2009), Walen (Butti et al., 2009) und bei weiteren Tierarten (Raghanti et al., 2015) vor. Sie erscheinen erstmalig pränatal in der 36. Woche, woraufhin post partum die Gesamtzahl von VEN in den ersten 8 Monaten zu einem Peak ansteigt (Allman et al., 2010). Mit dem 4. Lebensjahr liegt dann die Gesamtzahl von VEN vor, die bis ins Erwachsenenalter konstant bleibt (Allman et al., 2010). Es wird vermutet, dass es sich bei den VEN um spezialisierte Projektionsneurone handelt (Nimchinsky et al., 1995; Allman et al., 2010; Butti et al., 2013; Cobos et al., 2015; Hodge et al., 2020), wobei noch ungeklärt ist, wohin genau die VEN projizieren (Allman et al., 2010). Auch die genauere Funktion der VEN (Butti et al., 2013) ist nach wie vor ungeklärt. Eine Rolle bei emotionalen Prozessen und Selbstbewertung (Brüne et al., 2011) wie auch bei intuitiver Entscheidungsfindung (Allman et al., 2005) wird vermutet. Da Studien eine mögliche Verknüpfung der VEN-enthaltenden Cortexregionen mit neuropsychiatrischen Erkrankungen, wie zum Beispiel die verhaltensbetonte Variante der frontotemporalen Demenz sowie Autismus und Schizophrenie, aufzeigten (Butti et al., 2013), wurde in den letzten Jahrzehnten die Rolle der VEN bei neuropsychiatrischen Erkrankungen untersucht. Bei einer Reihe von Erkrankungen konnte eine geringere mittlere Dichte oder Anzahl von VEN (sowie weitere pathomorphologische Veränderungen) gezeigt werden, unter anderem bei der Alzheimer-Erkrankung (Nimchinsky et al., 1995; Gefen et al., 2018), der Corpus-callosum-Agenesie (Kaufman et al., 2008), der verhaltensbetonten Variante der frontotemporalen Demenz (Seeley et al., 2006; Kim et al., 2012; Santillo et al., 2013) und der familiären Dysautonomie (Jacot-Descombes et al., 2020). Die in der Literatur vorhandenen Studien über mögliche VEN-Pathologie bei der Schizophrenie sind überschaubar. Bisher wurde eine größere mittlere Anzahl an Lysosomen in den VEN im ACC (BA 24b) bei Schizophrenie berichtet (Krause et al., 2017). Brüne et al. (2010) fanden bei der Messung der Dichte von VEN jedoch keine signifikanten Veränderungen.

Die Bestimmung von Zelldichten als Grundlage für neuropathologische Untersuchungen muss jedoch kritisch gesehen werden. Schmitz and Hof (2005) haben eindrücklich gezeigt, dass Änderungen der Zelldichte in einer *region of interest* keinesfalls eine Änderung der Zellzahl in der untersuchten *region of interest* repräsentieren müssen, solange die Zelldichte an dünnen Gewebeschnitten ermittelt wurde. Vielmehr kann sich die (an dünnen Gewebeschnitten ermittelte) Zelldichte bei

gleichbleibender Zellzahl allein durch Änderungen der Größe, Form und Ausrichtung der Zellen innerhalb der *region of interest* ändern (vgl. Abbildung 3 in Schmitz and Hof (2005)). Umgekehrt können auch massive Änderungen der Gesamtzahl von Zellen in einer *region of interest* ohne jede Änderung der Zelldichte in der untersuchten *region of interest* auftreten, solange sich die Größe der untersuchten *region of interest* entsprechend ändert. Konkret fanden Schmitz, Born, et al. (2005) nach pränataler Bestrahlung von Mäusen trotz einer Verringerung der mittleren Gesamtzahl von Nervenzellen in Hippocampus und Kleinhirn im Gehirn adulter Tiere um ca. 50% keine signifikanten Änderungen der entsprechenden Zelldichten.

Dementsprechend untersuchte die vorliegende Arbeit erstmals die Hypothese, dass in BA 24 im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu BA 24 im Gehirn von nicht an Schizophrenie oder einer anderen neurologischen oder psychiatrischen Erkrankung leidenden Kontrollpersonen (im Folgenden: Kontrollpersonen) eine veränderte Dichte und/oder Gesamtzahl der VEN vorliegen.

Die beschriebene Hypothese wurde an *post mortem* Gehirnen von 12 männlichen Patienten mit Schizophrenie und 11 männlichen Kontrollpersonen, die in Bezug auf ihre Altersverteilung der Altersverteilung der Patienten mit Schizophrenie entsprach (altersgematchte Kontrollpersonen), überprüft. Die Wahl der untersuchten *post mortem* Gehirne erfolgte insbesondere basierend auf der Tatsache, dass exakt dieselben Gehirne bereits Gegenstand früherer Untersuchungen waren (Kreczmanski et al., 2005; Kreczmanski et al., 2007, 2009; Höistad et al., 2013). Insbesondere liegen für die untersuchten *post mortem* Gehirne bereits Bestimmungen der Gesamtzahl von Nervenzellen im lateralen Kerngebiet der Amygdala vor (Kreczmanski et al., 2007), auf das BA 24 u.a. direkt projiziert (Pandya et al., 1981; Stefanacci et al., 2002; Calderazzo et al., 2021).

Konkret wurden zunächst BA 24 und die Schicht V von BA 24 an Serienschnitten beider Hemisphären der untersuchten Gehirne zytoarchitektonisch identifiziert und abgegrenzt. Anschließend wurde das Volumen von Schicht V von BA 24 als auch von BA 24 insgesamt sowie die Gesamtzahl und Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 bestimmt. Die Bestimmung dieser Parameter erfolgte mittels *designed-based* Stererologie (Schmitz

& Hof, 2005), wodurch eine fachgerechte und für die *region of interest* repräsentative Bestandsaufnahme der untersuchten Parameter gewährleistet war.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchtes Gewebe

Die Autopsien aller Patienten wurden nach deutschem Recht mit Einwilligung eines Verwandten durchgeführt (in der vorliegenden Studie wurden nur *post mortem* Gehirne von männlichen Patienten mit Schizophrenie und männlichen Kontrollpersonen untersucht). Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg genehmigte die Verwendung der Autopsien für die wissenschaftliche Forschung. Prof. Dr. med. H. Heinsen (Morphologische Hirnforschung der Universität Würzburg) oder ein von ihm instruierter Pathologe führten die Gewebeextraktion und Weiterverarbeitung durch. Sowohl die Patienten mit Schizophrenie als auch die Kontrollpersonen besaßen einen ähnlichen ethnischen Hintergrund und wurden in deutschen klinischen Einrichtungen hospitalisiert. Die klinischen Aufzeichnungen der Patienten mit Schizophrenie lagen in deutschen staatlichen psychiatrischen Kliniken oder deutschen Universitätskliniken vor. Die Autopsie-Berichte mitsamt der Dokumentation der medizinischen Vorgeschichte standen Prof. Heinsen zur Verfügung. Die Diagnose der Patienten mit Schizophrenie wurde mittels der international anerkannten Klassifikationssysteme ICD-10 und DSM-IV zur Diagnostik psychischer Erkrankungen durchgeführt. Anhand der medizinischen Berichte sicherten erfahrene Psychiater die Diagnose der Schizophrenie mithilfe der DSM-IV Kriterien ab und schlossen außerdem psychopathologische Veränderungen bei den Kontrollpersonen aus. Sowohl bei den Patienten mit Schizophrenie als auch bei den Kontrollpersonen wurden Individuen ausgeschlossen, wenn folgende Punkte zutrafen: neurologische Probleme, die zu einer medizinischen Behandlung oder zu einer Einschränkung der kognitiven Beurteilung führten, wiederkehrende Anfallsleiden, schwere Schädel-Hirn-Traumata mit Bewusstlosigkeit, selbst-verursachte Intoxikation, Substanzabusus und Diabetes mellitus mit einem Blutzuckerspiegel von >200 mg/dl. Die Medikationshistorie wie z.B. Neuroleptika für die Patienten mit Schizophrenie standen für den Zeitraum ihres Krankenhausaufenthaltes zur Verfügung.

Post mortem Gehirne von 12 männlichen Patienten mit Schizophrenie mit einem durchschnittlichen Alter von $50,5 \pm 3,4$ Jahren (alle Angaben als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts) wurden untersucht. Das durchschnittliche *post mortem*

2 Material und Methoden

Intervall lag bei $38,1 \pm 7,7$ Stunden, und die durchschnittliche Fixationszeit der Gehirne lag bei 199 ± 25 Tage. Als Kontrollen wurden 11 männliche Personen untersucht, die ein durchschnittliches Alter von $54,5 \pm 2,5$ Jahre hatten. Das durchschnittliche *post mortem* Intervall lag bei $23,6 \pm 4,3$ Stunden, und die durchschnittliche Fixationszeit bei 1.028 ± 432 Tage. Weitere ausführliche Daten zu den Patienten mit Schizophrenie und den Kontrollpersonen sind in Tabelle 2.1 aufgeführt.

Tabelle 2.1: Klinische Charakteristika derjenigen Patienten mit Schizophrenie und derjenigen Kontrollpersonen, deren *post mortem* Gehirne in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden.

Nr.	A [J]	D [J]	Todesursache	PMI [Std.]	Fix [Tage]	Diagnosen	
						DSM-IV	ICD-10
K1	36	-	Gewehrschuss	24	143	-	-
K2	47	-	akuter Myokardinfarkt	<24	133	-	-
K3	50	-	Lawinenunglück	23	498	-	-
K4	51	-	Sepsis	7	285	-	-
K5	54	-	akuter Myokardinfarkt	18	168	-	-
K6	56	-	akuter Myokardinfarkt	60	3570	-	-
K7	58	-	akuter Myokardinfarkt	28	126	-	-
K8	60	-	gastrointestinale Hämorrhagie	18	101	-	-
K9	60	-	gastrointestinale Hämorrhagie	27	302	-	-
K10	62	-	akuter Myokardinfarkt	<24	3696	-	-
K11	65	-	Bronchopneumonie	6	2289	-	-
S1	22	19	Suizid	88	130	295.30	F20.00
S2	36	28	Suizid	<72	115	295.30	F20.00
S3	46	24	Systemische Hypothermie	<24	327	295.30	F20.01
S4	50	17	Peritonitis	<24	203	295.30	F20.00
S5	50	22	Suizid	18	170	295.30	F20.00
S6	51	17	Sepsis	33	127	295.60	F20.50
S7	54	20	Sepsis	27	250	295.60	F20.50
S8	55	22	Rechtsherzinsuffizienz	25	84	295.30	F20.00
S9	57	37	Sepsis	76	163	295.30	F20.00
S10	60	24	Lungenembolie	<48	311	295.30	F20.01
S11	62	19	Aspiration	7	171	295.30	F20.00
S12	63	22	akuter Myokardinfarkt	15	338	295.60	F20.50

Abkürzungen K: Kontrollperson; S: Patient mit Schizophrenie; A: Alter; D: Alter bei Diagnose der Schizophrenie; PMI: *post mortem* Intervall (Zeit zwischen Eintritt des Todes

und der Autopsie); Fix: Fixationszeit; DSM-IV: Diagnostic Statistical Manual; ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems

2.2 Histologische Aufarbeitung

Die histologische Aufarbeitung der Gehirne wurde vor etwa 30 Jahren im Labor von Prof. Heinsen durchgeführt. In den folgenden Abschnitten werden die Behandlung der Gehirne sowie die Färbungen der Schnitte erläutert (Heinsen et al., 1991; Heinsen et al., 2000).

2.2.1 Fixierung der Gehirne

Die Gehirne wurden für mindestens 4 Wochen in 10 % Formalin (Tabelle 2.2) fixiert. Dabei wurde die Lösung in den ersten 3 Wochen wöchentlich ausgetauscht.

Tabelle 2.2: Herstellung von 10 % Formalin.

10 % Formalin	<ul style="list-style-type: none">- 1 Anteil wässriges Formaldehyd- 9 Anteile Leitungswasser
---------------	---

Nach der Fixierung wurde das Kleinhirn einschließlich des Hirnstammes bis zum rostralen Ende der Pons vom Gehirn abgetrennt. Die beiden Hemisphären wurden medio-sagittal geteilt und das Septum pellucidum entfernt. Dadurch konnten die erreichbaren Anteile des im Seitenventrikel gelegenen Plexus choroideus aus den Gehirnen der älteren Personen (≥ 25 Jahre) herausgeschnitten werden (Verkalkungen im Plexus choroideus können die Anfertigung von Gehirnschnitten beeinträchtigen). Die tief gelegenen Anteile des Plexus choroideus wurden nachfolgend während der Anfertigung der Serienschnitte entfernt.

2.2.2 Einbettung und Anfertigung von Schnittserien von den Hemisphären

Zum Schutz vor Gefrierartefakten wurden die Hemisphären mit einem kryoprotektiven Medium vorbehandelt (Heinsen et al., 1991). Hierzu wurden zwei Lösungen angesetzt,

2 Material und Methoden

in die die Hemisphären jeweils 8 Tage gelegt wurden (Tabelle 2.3). Im Anschluss wurde die überschüssige Flüssigkeit entfernt und die Gehirne in 3 % Agarose-Lösung oder 15 % Gelatine-Lösung eingebettet.

Tabelle 2.3: Vorbehandlung mit kryoprotektiven Lösungen.

1. Lösung	4 % Formaldehyd mit 2 % Dimehtylsulfoxid (DMSO) (Merck, Darmstadt, Deutschland) und 10 % Glycerol	8 Tage
2. Lösung	4 % Formaldehyd mit 2 % DMSO und 20 % Glycerol	8 Tage

Für die Härtung wurden die eingebetteten Hemisphären-Blöcke über Nacht im Kühlschrank (4 ° C) gelagert. Dabei wurde darauf geachtet, dass ein Rand von 5 - 10 mm Einbettmedium um die Hemisphäre bestand. Vor dem Einfrieren wurden die Hemisphären-Blöcke erneut mit kryoprotektiven Lösungen wie oben beschrieben für jeweils 2 Wochen behandelt. Die Hemisphären-Blöcke wurden kaudal des Splenium corporis callosi in einen rostralen und einen kaudalen Abschnitt geteilt, und für 15 Minuten bei - 60° C in entsprechend heruntergekühltem Isopentan tiefgefroren (der Gefrierpunkt von Isopentan liegt bei -160° C). Hierfür wurde das Isopentan in einem Dewargefäß unter kontrollierter Zugabe von Trockeneisblöcken (Temperatur bei Normaldruck (1,013 bar): -78,5° C) auf die gewünschte Temperatur heruntergekühlt. Die tiefgefrorenen Hemisphären-Blöcke wurden anschließend mithilfe von Filterpapier vom überschüssigen Isopentan befreit und in Plastikbeuteln in einem -80°C kalten Gefrierschrank über Nacht oder über mehrere Tage gelagert. Daraufhin wurden die Hemisphären-Blöcke mit Wasser auf dem Objekthalter eines Kryomikrotoms (Jung, Nussloch, Deutschland) befestigt und in 700 µm dicke Schnitte geschnitten. Zur Orientierung wurde auf jeden 5. Schnitt ein Filterpapier (Schleicher & Schuell, Dassel, Deutschland) gelegt. Alle Schnitte wurden makroskopisch auf morphologische Veränderungen untersucht und in mit 4 % Formalin gefüllten Plastikkisten gelagert.

2.2.3 Einbettung und Anfertigung von Schnittserien des post mortem Gehirns von Kontrollperson 7

Bei einer männlichen Kontrollperson (K5 in Tabelle 2.1) wurden die Hemisphären in Celloidin eingebettet (Heinsen et al., 2000). Die Hemisphären wurden zunächst in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 80% und 96% Ethanol-Lösung) dehydriert. Dabei wurden sie jeweils eine Woche in der jeweiligen Lösung belassen. Am Ende der dritten Woche wurden bei den Hemisphären die Hirnhäute in den Bereichen großer und tiefer Sulci (z.B. Sulcus lateralis, Sulcus centralis) entfernt. Die bearbeiteten Hemisphären wurden in eine mit 8 % Celloidin (Tabelle 2.4) gefüllte transparente Plastikkiste mit den Maßen 240 x 140 x 135 mm gelegt.

Tabelle 2.4: Herstellung von 8 % Celloidin

Ethanol-Diethylethermischung	- 750 ml 100 % Ethanol - 750 ml Diethylether
8 % Celloidin	- 180 g Celloidin (Cedukol Nr. 1.04363 Merck, Darmstadt, Deutschland) in der Ethanol-Diethylethermischung lösen

Um das Celloidin von 8% auf 16% zu konzentrieren, wurde die Kiste für 48 Stunden in einem Exsikkator deponiert, in dem Alkohol- und Diethyletherdampf mit einer Vakuumpumpe abgesaugt wurde. So wurden einerseits die Bildung von gasförmigen Blasen verhindert; andererseits gelang das Celloidin tief in die Sulci und in das Ventrikelsystem, ohne in das Gehirngewebe einzudringen. Durch vorige Inzision der Hirnhaut konnte das Celloidin besser die Räume zwischen den Gyri ausfüllen, wodurch die nachfolgende Anfertigung der Serienschnitte erleichtert wurde. Im Anschluss wurde die Kiste mitsamt einer mit Chloroform gefüllten Petrischale (Durchmesser von 185 mm) in ein Aquarium gestellt und darin verschlossen. Während des Härtungsprozesses des Celloidins wurde der Celloidinblock täglich auf Überschuss an Alkohol-Ether überprüft und letzterer entsprechend entfernt. Nach 14 - 16 Tagen löste sich der Celloidinblock von der Wand der Plastikkiste. Besaß der Block eine kautschuk-gleiche Konsistenz,

konnte der letzte Härtungsvorgang in 70 % Ethanol für 2 Tage gestartet werden. Nach dem abgeschlossenen Härtungsvorgang wurden die Hemisphären von K7 auf einem Objekthalter eines Schlittenmikrotoms (Polycut, Cambridge Instruments, London, UK) befestigt und mit einer Schnittdicke von 440 µm geschnitten. Für die Befestigung der Celloidinblöcke wurde als Bindemittel zwischen Block und Objekthalter 8% Celloidin verwendet. Zur Härtung des Celloidins wurden die Blöcke zusammen mit dem Objekthalter in eine Ethanol-Lösung für 3 - 4 h gelegt. Während des anschließenden Schneideprozesses wurden der Celloidinblock und die Klinge des Mikrotoms mit 70% Ethanol feucht gehalten. Die Schnitte wurden in 70% Ethanol aufbewahrt.

2.2.4 Färbung der Schnitte

Jeder zweite oder dritte Schnitt aller Hemisphären wurde mit Gallocyanin-Chromalaun gefärbt (Heinsen et al., 1991). Diese Färbung stellt Nukleinsäuren tiefblau dar (Oertel, 1990). Dabei wurden die Schnitte über Nacht mit Perameisensäure (Tabelle 2.5) inkubiert, um die Selektivität der Färbung zu verbessern (Heinsen et al., 1991). Um eine optimale Inkubation der Schnitte mit der Lösung zu gewährleisten, wurde ein Filterpapier auf die Oberfläche der Lösung gelegt und die Schnitte unter kontinuierlichem Schütteln inkubiert.

Tabelle 2.5: Herstellung der Perameisensäure

Perameisensäure	<ul style="list-style-type: none">- 1 Teil 100 % Ameisensäure- 3 Teile 30 % H₂O₂,- 6 Teile destilliertes Wasser
-----------------	---

Am nächsten Tag wurden die Schnitte eine Stunde mit fließendem Wasser gespült. Unter erneutem kontinuierlichem Spülen (für 3 Stunden) wurden die Schnitte mit Gallocyanin-Chromalaun gefärbt (Tabelle 2.6). Nach der Inkubation der Schnitte in der Färbelösung wurden diese für eine Stunde gespült. Die einzelnen Schnitte wurden zwischen zwei Filterpapieren und Exsikkator-Platten aus Keramik gelegt und in 50% Ethanol (Hoechst CeramTec, Marktredwitz, Deutschland) überführt.

Tabelle 2.6: Herstellung der Gallocyanin-Chromalaun-Lösung

Gallocyanin-Chromalaun-Lösung	<ul style="list-style-type: none"> - 1,5 g Gallocyanin (Aldrich-Chemie, Steinheim, Deutschland) in 1000 ml 5% Kaliumchrom(III)-Sulfat-Dodecahydrat (Merck) lösen - Lösung für 10 Minuten kochen - Filtern der Lösung und Auffüllen des Volumens mit destilliertem Wasser auf 1000 ml - End-pH-Wert der Lösung: 1,8
-------------------------------	--

In einer Petrischale (185 mm Durchmesser, 40 mm Höhe) wurden die Schnitte dehydriert (Tabelle 2.7). Nach dem Dehydrierungsvorgang folgte eine einminütige Immersion in Permout (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA). Abschließend wurden die Schnitte auf Objektträger aufgezogen.

Tabelle 2.7: Abschließender Dehydrierungsvorgang bei der Färbung der Schnitte

1.	80% Ethanol	1 Stunde
2.	100% Ethanol	1 Stunde
3.	100% Ethanol	Über Nacht
4.	100% Propanol : Xylol (Verhältnis 1:1)	2 Stunden
5.	Xylol	2 Stunden
6.	Xylol	Über Nacht

2.3 Stereologische Untersuchung der Gehirnschnitte

Die stereologische Untersuchung wurde vollständig verblindet durchgeführt. Die Auswertung erfolgte somit ohne Angaben darüber, ob es sich bei einem untersuchten *post mortem* Gehirn um ein Gehirn eines Patienten mit Schizophrenie oder um ein Gehirn einer Kontrollperson handelte.

2.3.1 Verwendete stereologische Messstationen

Die Abgrenzung von BA 24 als auch von Schicht V in BA 24 im Gehirn von männlichen Patienten mit Schizophrenie und im Gehirn von männlichen Kontrollpersonen wurde mit folgender Messstation durchgeführt:

- Zeiss Axioskop Mikroskop (Carl Zeiss Microscopy, Jena, Deutschland), ausgestattet mit folgenden Zeiss Objektiven:
 - Plan-Neofluar 1,25 x / 0,035 ∞ / -
 - Plan-Neofluar 2,5 x / 0,075 ∞ / 0,17
 - Plan-Neofluar 10 x / 0,30 ∞ / 0,17
 - Plan-Neofluar 20 x / 0,50 ∞ / 0,17
 - Plan-Neofluar 40 x / 0,75 ∞ / 0,17
 - Plan-Neofluar 100 x / 1,3 oil ∞ / 0,17
- Objektträgertisch (Ludl Electronics Products)
- motorisierte Steuerung des Objektis�s Typ MAC 6000 (Ludl Electronics Products, Hawthorne, NY, USA)
- digitaler Messtaster (Typ MT 1271; Heidenhain, Traunreut, Deutschland)
- 12-bit Farbkamera (1.600 x 1.200 Pixel; Modell 01-MBF-2000R-F-CLR12; MBF Bioscience, Williston, VT, USA)
- Computer mit folgenden Eckdaten:
 - Prozessor: Intel(R) Core(TM) i5 CPU 750 @ 2.67 GHz
 - RAM: 8,0 GB
 - Systemtyp: 64-bit
 - Betriebssystem: Windows 7 Professional
 - Monitor: FlexScan S2433W 24,1 Zoll Color LCD (EIZO Europe GmbH, Mönchengladbach, Deutschland)
 - Auswertungsprogramm: Stereo Investigator 11.01.2 64 bit (MBFBioscience)

Die anschließende stereologische Untersuchung der Gehirnschnitte wurde an der folgenden Messstation durchgeführt:

- Zeiss Axio Imager.M2 Mikroskop (Carl Zeiss Microscopy), ausgestattet mit folgenden Zeiss Objektiven:
 - EC Plan-Neofluar 1,25 x / 0,03 ∞ / 0,17
 - EC Plan-Neofluar 2,5 x / 0,085 ∞ / 0,17
 - Plan-Apochromat 5 x / 0,16 ∞ / 0,16
 - Plan-Apochromat 10 x / 0,45 ∞ / 0,17
 - Plan-Apochromat 20 x / 0,8 ∞ / 0,17
 - Plan-Apochromat 40 x / 0,95 ∞ / 0,13-0,21
 - Plan-Neofluar 100 x / 1,3 oil ∞ / 0,17
- Objektträgtisch STG 4 “x3“ Stepper MBF (Artikelnummer: 963LM100-I F2-MB, Ludl Electronics Products)
- motorisierte Steuerung des Objektisches Typ MAC 6000 (Ludl Electronics Products)
- Luminar HR Kamera (2.752 x 2.192 Pixel, Modell: Lt665RC-MBF, MBF Bioscience)
- Dell Precision 5820 Tower (Dell GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) mit folgenden Eckdaten:
 - Prozessor: Intel(R) Xeon(R) W-2123 CPU @ 3.60 GHz
 - RAM: 64,0 GB
 - Systemtyp: 64-bit
 - Betriebssystem: Windows 10 Pro
 - Monitor: Dell P2715Q 27 Zoll (Dell GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland)
 - Auswertungssoftware: Stereo Investigator 2018.2.2 64 bit (MicroBrightField)

2.3.2 „Design-based“ Stereologie

„Design-based“ Stereologie ist eine in der (neuro)wissenschaftlichen Forschung angewandte Methode, um kleinste Veränderungen quantitativer Parameter auf histologischer Ebene zu ermitteln (Schmitz & Hof, 2005). Dies können z.B. Veränderungen in der Zellzahl, Zelldichte oder des Volumens einer Gehirnregion sein (van Kooten et al., 2008; Lemmens et al., 2011; Wegiel et al., 2014; Falkai et al., 2016). Diese Form der stereologischen Untersuchung erfolgt ohne jegliche Annahmen zur Größe, Gestalt, Verteilung und der räumlichen Orientierung der zu untersuchenden Objekte, und greift stattdessen auf sogenannte „probes“ (ein Satz aus virtuellen Formen, die mit den zu untersuchenden Objekten interagieren) zurück, die wie das Stichprobenverfahren vorab „designed“, also geplant werden. Im Falle der Ermittlung von Zellzahlen werden z.B. „unbiased virtual counting spaces“ als virtuelle Form verwendet, deren Größe und Abstand zueinander vorab bestimmt wird und bei deren

Anwendung bestimmte Regeln befolgt werden müssen, um Fehler in der Messung zu vermeiden (Schmitz & Hof, 2005; Glaser et al., 2006).

2.3.2.1 Bestimmung einer absoluten Zellzahl mit der „optical fractionator“ - Methode

Zur Bestimmung von absoluten Zellzahlen werden vom untersuchten Objekt oder Gewebe (z.B. Gehirn, Leber, Niere) systematisch und randomisiert Proben (englisch: *systematic and random sampling*; abgekürzt SRS) angefertigt (Gundersen, 1986; Gundersen et al., 1987; Schmitz & Hof, 2005; Glaser et al., 2006). Beispielsweise wird ein Organ in gleich dicke Schnitte geschnitten. Von diesen Proben bzw. Schnitten wird mit einem bestimmten Intervall systematisch eine Fraktion dieser Proben zur Untersuchung herangezogen (z.B. jeder zweite oder dritte Schnitt). Wird jeder zweite Schnitt ausgewählt, so ergeben sich zwei mögliche Schnittserien (SRS-Serien), von denen eine zufällig gewählt wird (1, 3,... oder 2, 4,...; siehe [Abbildung 2.1 B](#)).

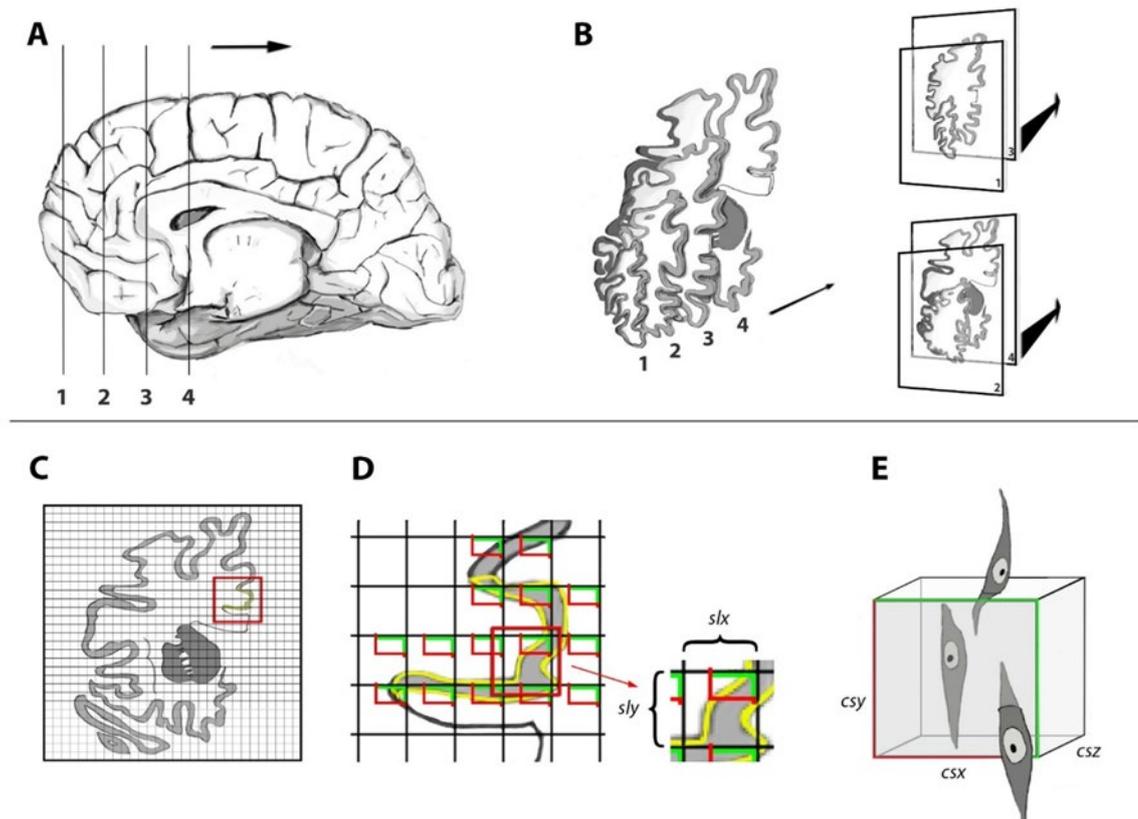


Abbildung 2.1: Illustration über den Ablauf einer stereologischen Untersuchung mittels der „optical fractionator“-Methode. Die Illustration zeigt vereinfacht den Vorgang der „designed-based“ Stereologie am Beispiel der vorliegenden Arbeit. Eine Hemisphäre eines Gehirns wird mit gleichbleibendem Abstand (1, 2, 3, 4) geschnitten (A). Der

Startpunkt (1) wird hierbei zufällig gewählt; der Abstand zum Frontalpol muss aber kleiner sein als der Abstand zwischen den Schnitten. Von diesen Schnitten wird dann eine Schnittserie (SRS-Serie) ausgewählt (1, 3,... oder 2, 4,...) (B). Sobald ein Schnitt aus der gewählten SRS-Serie im Mikroskop eingelegt wird, wird in der verwendeten Software die „region of interest“ markiert (gelb) (C, D). Im Anschluss daran wird ein virtuelles Gitter („Grid“) aufgelegt (C), dessen Kanten *slx* und *sly* (D) zuvor definiert werden (*slx*: englisch "*side length in orientation of the X axis of a Cartesian coordinate system*"; *sly* entsprechend). Das Gitter stellt den Rahmen für die Zählfenster bzw. Zählwürfel, die „unbiased virtual counting spaces“ (UVCS) (D, E), dar, deren Ausmaße (*csx*, *csy*, *csz*) ebenfalls bestimmt werden können. Die spindelförmigen von Economo Zellen (VEN), mit ihrem Zellkern (*Nukleus*) (hellgrau, oval) und Nukleolus (schwarzer Punkt) sollen gezählt werden (E). Die VEN, die mit ihrem spezifischen Zählpunkt (Nukleolus) im Fokus innerhalb der UVCS liegen, werden gezählt (E). Dabei gilt es, die rote „exclusion line“ und die grüne „inclusion line“ (D, E) zu berücksichtigen. Bei letzterem wird das Objekt gezählt, sollte der spezifische Zählpunkt exakt auf der Linie liegen.

In der SRS-Serie wird im folgenden Schritt die zu untersuchende Region (englisch „*region of interest*“; abgekürzt ROI) mit Hilfe der verwendeten Software (Stereo Investigator; MBF Bioscience) markiert. Diese Markierung der ROI ist grundlegend für die weiteren Schritte der „design-based“ Stereologie, da ein Set an virtuellen, mikroskopischen Zählfenstern systematisch und randomisiert die gesamte ROI abdecken muss. Hierfür wird zunächst auf die ROI ein virtuelles Gitter aus quadratischen oder rechteckigen Feldern, das sogenannte „Grid“, gelegt (Abbildung 2.1 C). Das Gitter kann hierbei in seiner Größe durch die Angaben der Ausdehnung in der x und y- Achse bestimmt werden (englisch "*side length in orientation of the X axis of a Cartesian coordinate system*"; abgekürzt *slx*; *sly* entsprechend). Innerhalb des Gitters wird der „unbiased virtual counting frame“ (UVCF), das virtuelle mikroskopische Zählfenster, definiert. Somit befinden sich in jedem Quadrat oder Rechteck des Gitters ein UVCF, die im gleich gewählten x- und y-Abstand voneinander entfernt liegen (Abbildung 2.1 D). Daneben wird auch die Tiefe bzw. Höhe (z-Achse) der UVCF bestimmt, sodass es sich letzten Endes bei diesen Zählfenstern um „Zählwürfel“ oder „Zählquader“, die „unbiased virtual counting spaces“ (UVCS), handelt (Abbildung 2.1 E) Nur innerhalb der UVCS erfolgt die eigentliche stereologische Auswertung. Abhängig von der Schnittdicke kann das zu zählende Objekt (z.B. VEN) durch seine Ausrichtung und Größe auf zwei oder mehreren Schnitten repräsentiert sein. Bei der Auswertung wird daher eine spezifische

und möglichst punktuelle Struktur des Zählobjektes im Fokus gezählt (z.B. der Nukleolus), um unerwünschte Mehrfachzählungen zu vermeiden.

Des Weiteren unterliegt die Zählung weiteren Bedingungen: Zum einem dürfen die zu zählende Objekte nur im Fokus, also der spezifische Zählpunkt scharf dargestellt, innerhalb des UVCS in seiner x-, y- und z-Ausdehnung gezählt werden. Zum anderem sind die sogenannten „inclusion lines“ und „exclusion lines“ im 2-dimensionalen Bild zu berücksichtigen (Abbildung 2.1 E). Bei den „inclusion lines“ handelt es sich um die grünen oberen und rechten Außenkanten des UVCS. Hierbei wird der spezifische Zählpunkt noch berücksichtigt, wenn er genau auf einer oder beider dieser grünen Linien aufliegt. Hingegen wird der Zählpunkt auf den roten unteren und linken Außenkanten, den „exclusion lines“, nicht berücksichtigt.

Da bei der Serienschnittanfertigung das Schneiden einen Einfluss auf das Gewebe direkt an der Ober- oder Unterkante der Schnitte haben kann (sogenannte „lost caps“, siehe Schmitz et al. (2000); Schmitz and Hof (2005); Glaser et al. (2006)) wird je nach Wahl der angewandten histologischen Technik empfohlen, eine „guard zone“ (Abstand der UVCS zur Ober- und Unterkante der Schnitte) zu bestimmen. Somit werden artifiziell erzeugte Veränderungen in diesen Bereichen, wie z.B. Zellverluste, umgangen und nicht fälschlicherweise mitbewertet.

Bei der „optical fractionator“ Methode wird letztlich von mehreren SRS-Serien nur eine bestimmte, zufällig gewählte Serie untersucht, bei der wiederum nur gewählte Bereiche, die UVCS, systematisch und randomisiert über die ROI verteilt untersucht werden. Die Gewinnung der Ergebnisse ist durch diese Methode effektiv, als auch präzise und repräsentativ für die gesamte zu untersuchende Struktur, da sich die ermittelte Zellzahl nun mit der folgenden Formel hochrechnen lässt (West et al., 1996; Schmitz, 1998; Schmitz & Hof, 2005; Glaser et al., 2006):

$$N_{est} = \sum n (ssf \cdot asf \cdot tsf)^{-1}$$

Die geschätzte Gesamtanzahl (englisch: *estimated total number*; abgekürzt N_{est}) errechnet sich aus der Summe der gezählten Objekte ($\sum n$), multipliziert mit dem Kehrwert des Produkts aus der „section sampling fraction“ (*ssf*), der „area sampling fraction“ (*asf*) und der „thickness sampling fraction“ (*tsf*).

Dabei handelt es sich bei der *ssf* um das Intervall (*n*) der gewählten Schnittserie (z.B. 1/2, wenn jeder 2. Schnitt einer Serie zugeordnet wurde oder 1/3, wenn jeder dritte Schnitt einer Schnittserie zugeordnet wurde):

$$ssf = \frac{1}{n}$$

Die *asf* ergibt sich aus dem Quotienten der Grundfläche der UVCS ($csx \times csy$, *cs*=counting space) und der Fläche der Quadrate oder Quader des Gitters:

$$asf = \frac{csx \cdot csy}{slx \cdot sly}$$

Die *tsf* wird aus dem Quotienten der Höhe (*h*) der UVCS und der mittleren Schnittdicke (*t*) berechnet:

$$tsf = \frac{h}{t}$$

Da das Ergebnis aus der oben genannten Formel (N_{est}) einen geschätzten Wert und nicht einen exakten Wert repräsentiert und dieser somit durch mehrfache Wiederholung der Messung bei gleichbleibenden stereologischen Parametern variieren würde, wird ein zugehöriger „coefficient of error“ (CE) berechnet (Glaser et al., 1998; Schmitz, 1998; Schmitz et al., 2000; Schmitz & Hof, 2005). Der CE-Wert gibt an, wie nahe der geschätzte Wert am wahren Wert liegt bzw. wie genau die geschätzte Gesamtanzahl (N_{est}) ist. Unter der Annahme, dass sich bei wiederholten Messungen die Verteilung der daraus resultierenden Werte ($\sum n$) dem einer Poisson-Verteilung annähert, kann der CE-Wert aus dem reziproken Wert der Wurzel der Summe der gezählten Objekte ($\sum n$) vorausgesagt werden ($pred =$ „predicted“) (Schmitz, 1998; Schmitz et al., 2000; Schmitz & Hof, 2005):

$$CE_{pred} = \frac{1}{\sqrt{\sum n}}$$

Eine höhere Summe der gezählten Objekte verringert demnach den CE-Wert. Daneben gilt zu berücksichtigen, dass das Verteilungsmuster der zu zählenden Objekte einen Einfluss auf die Schätzung der Gesamtanzahl hat. Ein Verteilungsmuster in „Clustern“ (Anhäufungen) könnte z.B. bei einer niedrigen Anzahl an UVCS bei wiederholter Messung bei einigen Schätzungen eine sehr geringe oder eine sehr hohe

Gesamtanzahl aufwerfen, wenn die wenigen UVCS oft neben oder genau auf den Clustern auftreffen. Aus diesem Grund ist es sinnvoll, die Anzahl der UVCS, soweit es geht, zu erhöhen (Schmitz, 1998; Schmitz et al., 2000; Schmitz & Hof, 2005).

2.3.2.2 Volumenbestimmung mit der Cavalieri Methode

Das Volumen der ROI kann mit der Cavalieri Methode (Cavalieri, 1635; Gundersen et al., 1987; Schmitz & Hof, 2005; Glaser et al., 2006) geschätzt werden, indem die Summe aller Flächen der ROI ($\sum A$) multipliziert wird mit der Schnittdicke (t) und dem Kehrwert der ssf innerhalb einer SRS-Serie:

$$V_{est} = \sum A \cdot t \cdot ssf^{-1}$$

Die Fläche der ROI kann zum einem ermittelt werden, nachdem die ROI in der Stereo Investigator Software (MBF Bioscience) markiert wurde und die Fläche in „contour measurements“ (= Konturmessung) abgelesen werden kann. Zum anderem kann durch „point counting“ (Schmitz & Hof, 2005; Glaser et al., 2006) die Fläche ermittelt werden. Hierbei wird ein rechteckiges Gitter auf den Schnitt gelegt und dessen Schnittpunkte mit der ROI gezählt. Die Fläche der ROI errechnet sich aus der Summe der Schnittpunkte multipliziert mit der Fläche des zum Schnittpunkt gehörigen Rechtecks des Gitters.

2.3.2.3 Schnittdickenbestimmung nach der histologischen Aufarbeitung

Durch den Prozess der histologischen Aufarbeitung kann es zu einer Schrumpfung des Objektes (hier konkret: der Gehirnschnitte) in der Z-Achse kommen (Dorph-Petersen et al., 2001; Schmitz & Hof, 2005), wodurch eine nachträgliche Schnittdickenmessung- und korrektur, insbesondere für die Schätzung von Volumen und Gesamtanzahl, wichtig ist. Die eigentliche Dicke der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnschnitte wurde von Heinsen et al. (1994) an einem Olympus BH2 Mikroskop (Olympus, Tokio, Japan) nach der Justierung des Feineinstellungsknopfes bei 200-facher Vergrößerung gemessen.

2.3.3 Durchgeführte stereologische Untersuchungen

2.3.3.1 Identifizierung der Region of Interest (ROI)

2.3.3.1.1 Anfertigen von digitalen Fotografien der Serienschnitte der Hemisphären

Von sämtlichen Serienschnitten wurde eine Übersichtsaufnahme und zusätzlich eine Makroaufnahme des ACC angefertigt. Für die Fotografien wurden ein Stativ (Polaroid MP-4 Land Camera; Polaroid, Cambridge, MA, USA), ein Leuchttisch (Kaiser Slimlite; Kaiser Fototechnik, Buchen, Deutschland) und eine Digitalkamera (Canon EOS 5F Mark III; Canon GmbH, Krefeld, Deutschland) verwendet. Dabei wurden die Hemisphären bei der Übersichtsaufnahme mit einem Canon EF 100 mm Objektiv und bei der Makroaufnahme mit einem Canon MP-E65 mm Objektiv, jeweils im gleichbleibenden Arbeitsabstand, fotografiert. Bei den Übersichtsaufnahmen wurde jeweils die gesamte Hemisphäre abgebildet, während bei den Makroaufnahmen jeweils eine vergrößerte Aufnahme des ACC dargestellt wurde. Der Leuchttisch belichtete die zu fotografierenden Hemisphären von unten.

Daneben wurden Makroaufnahmen von den verschiedenen Schichten des Cortex und von den VEN in BA 24 aufgenommen. Hierbei wurde die Digitalkamera über einen OM Mikroskop Adapter (Olympus OM Photomicro Adapter L) und einem Neewer Objektiv Befestigungsadapter OM-EOS (Shenzhen Neewer Technology, Shenzhen, China) auf einem Olympus BH2 Mikroskop (Olympus) montiert. Die Fotos wurden anschließend mit einem Zeiss Planapo Objektiv 40x / 0,95 angefertigt.

2.3.3.1.2 Nachbearbeitung der Fotografien

Da bei einigen Makroaufnahmen der ACC nicht vollständig auf einem Foto aufgenommen werden konnte, wurden nachträglich diejenigen Fotos, die zu einem Schnitt gehörten, mit der Software Photoshop CS 6 (Adobe Systems Software, Dublin, Irland) zusammengesetzt. Die Helligkeit und der Kontrast wurden angepasst. Über die gleiche Software erfolgte auch die Montage der einzelnen Fotografien zu Abbildungen und deren Annotation.

2.3.3.1.3 Zytoarchitektonische Identifizierung der Brodmann Area 24

Zielstruktur der stereologischen Untersuchungen waren die VEN in Schicht V in BA 24 des ACC. BA 24 (Abbildung 2.2 A und Abbildung 2.3 A - D) ist ein Abschnitt des ACC, der sich um den vorderen Anteil des Corpus callosum („Genu“) windet. Dadurch gibt es Bereiche von BA 24, die dorsal, rostral, als auch ventral vom Corpus callosum liegen (Abbildung 2.3 A - D). Anhand der angefertigten Fotografien als auch unter mikroskopischer Betrachtung wurden zunächst die kaudale und rostrale Begrenzung der BA 24 innerhalb der SRS-Serie topographisch und zytoarchitektonisch nach den Kriterien von Vogt et al. (1995) bestimmt. BA 24 ist durch einen agranulären Cortex mit einer dichten bandartigen Schicht Va charakterisiert. Agranulärer Cortex beschreibt die Tatsache, dass von den 6 Isocortexschichten (Schicht I-VI) die durch die Körnerzellen geprägte innere Körnerzellschicht IV (Schicht IV) nicht vorhanden ist. In Schicht Va tritt eine Vielzahl an großen, nah aneinander liegenden Pyramidenzellen auf, die somit als dichtes Band das typische Bild von Schicht Va repräsentieren. Neben Schicht Va treten direkt unterhalb auch große Pyramidenzellen in Schicht Vb auf, die aber hier weniger dicht und zum Teil gruppiert vorliegen. Alle restlichen Schichten lassen sich ebenfalls gut voneinander unterscheiden.

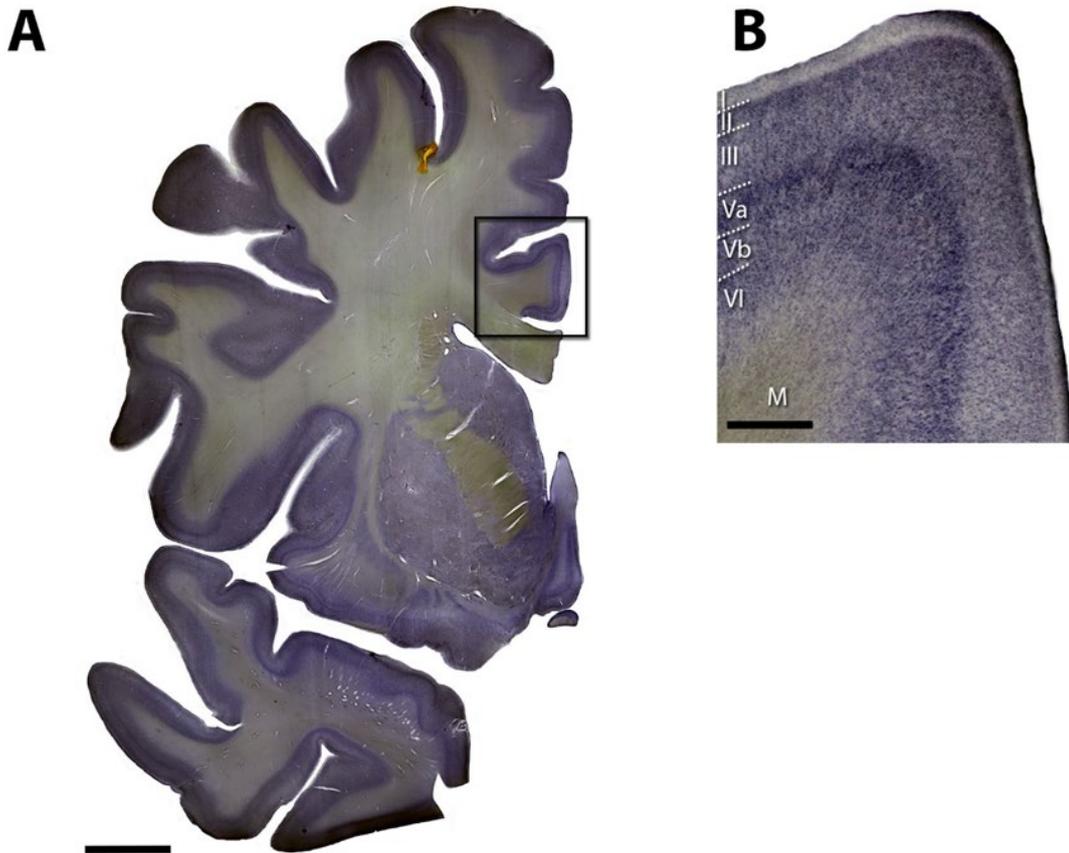


Abbildung 2.2: Aufnahme eines repräsentativen Frontalschnitts einer Hemisphäre eines der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 9) (A), sowie eine Makroaufnahme der dorsalen Windung von Brodmann Area 24 (BA 24) (B) mit den angegebenen Schichten I-III, V-VI und Mark (M). Das Viereck in A kennzeichnet BA 24, aus der die Makroaufnahme von B entstand. Maßstab = 10 mm in A und 0,75 mm in B.

Innerhalb der untersuchten SRS-Serien war das rostrale Ende von BA 24 durch das Auftreten einer dysgranulären Schicht IV in BA 32 gut abgrenzbar ([Abbildung 2.3 C und D](#)). Daneben wurde Schicht IIIc sichtbar, eine von relativ großen Pyramidenzellen gebildete Schicht. Das kaudale Ende von BA 24 zeichnet sich insbesondere durch das Auftreten einer deutlichen Schicht IIIc und einer ausgeprägten granulären Schicht IV in BA 23 aus. In beiden Fällen sollten keine VEN bei mikroskopischer Betrachtung mehr zu sehen sein, da sie spezifisch in BA 24 auftreten und somit als Marker für BA 24 fungieren (Nimchinsky et al., 1995).

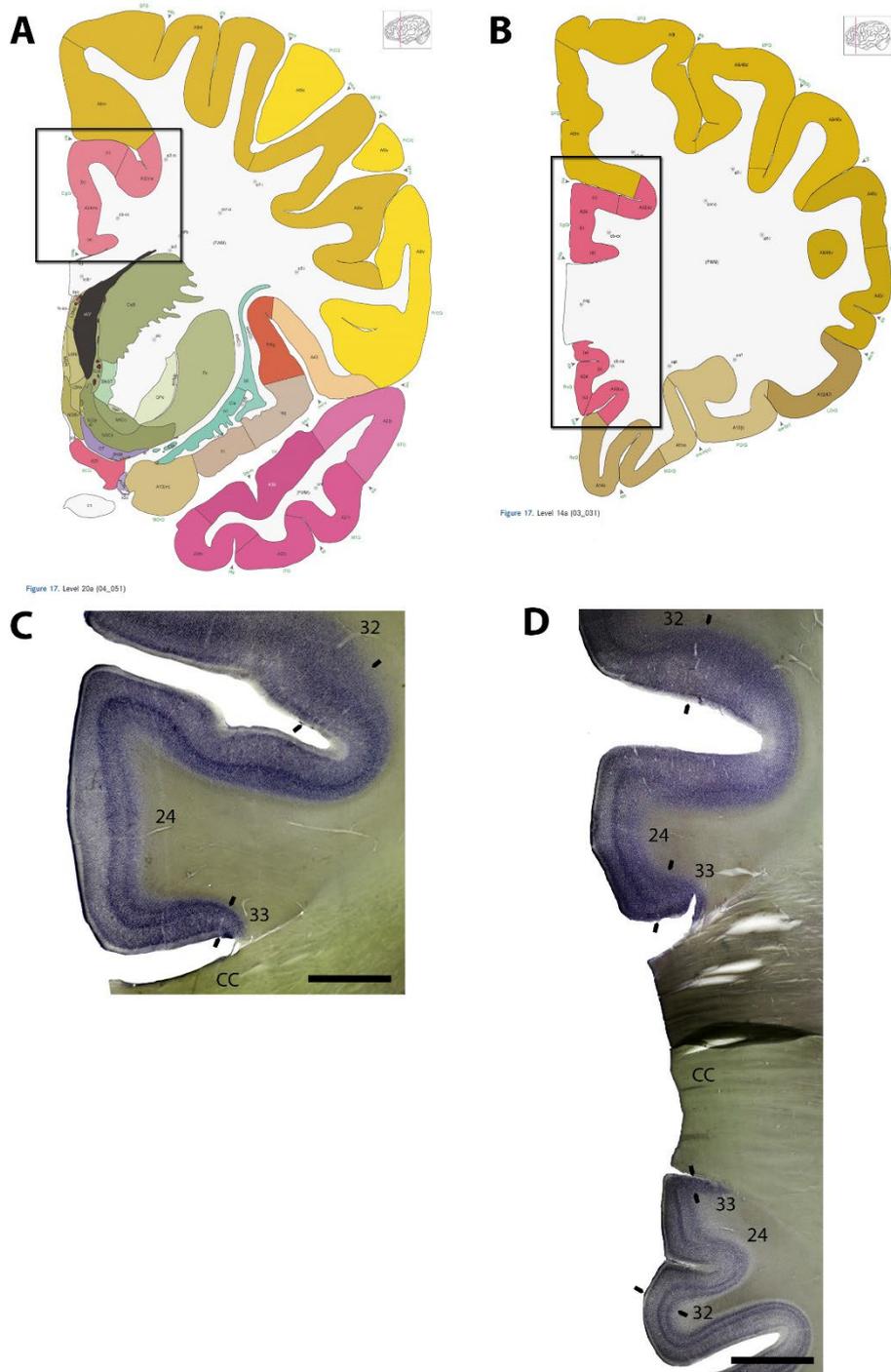


Abbildung 2.3: Zytoarchitektur von Brodmann Area 24 (BA24). Die Abbildungen **A** und **B** wurden einem Atlas von Ding et al. (2016) entnommen und dienen zur Orientierung in den Makroaufnahmen von BA 24 in einem der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 9) (**C**, **D**). Die Vierecke (**A**, **B**) heben die in rosa eingefärbten Regionen BA 24 und BA 32 hervor. Mit angegeben sind die anliegenden Regionen BA 32 und 33 als auch das Corpus callosum (CC) (**C**, **D**). Maßstab = 2,8 mm in **C** und 4,3 mm in **D**.

BA 32 ist nicht nur die rostrale, sondern stellt auch die dorsale und ventrale Begrenzung von BA 24 dar. Da die Nervenzelldichte von Schicht Va in BA 32 nicht die Ausmaße wie in BA 24 erreicht, wurde hier hauptsächlich anhand dieses Kriteriums die dorsale Grenze bestimmt. Schicht IV war hier in BA 32 dorsal von BA 24 nicht deutlich zu erkennen. Hingegen war Schicht IV ventral vom Genu des Corpus callosum deutlicher ausgeprägt und konnte für die Bestimmung der ventralen Grenze von BA 24 (Abbildung 2.3 D) herangezogen werden.

Ebenfalls an BA 24 und ventrorostral und dorsal vom Corpus callosum liegend befindet sich BA 33 (Vogt et al., 1995), in der kaum eine laminäre Organisation vorhanden ist. Allerdings war dieser Mangel der laminären Ausprägung nicht konstant erkennbar. Außerdem wurden regelmäßig Rissartefakte zwischen Corpus callosum und der direkt anliegenden BA 24 beobachtet. In diesem Zusammenhang hatte eine frühere Studie gezeigt, dass der Schrumpfungsfaktor in der weißen und der grauen Substanz unterschiedlich ist (Kretschmann et al., 1982), wodurch die Rissartefakte als auch die scheinbare Abwesenheit von BA 33 als Schrumpfungartefakt erklärt werden können.

2.3.3.2 Bestimmung der Parameter der stereologischen Untersuchungen

Von jeder Hemisphäre wurde im statistischen Mittel jeder 6. Frontalschnitt untersucht, sodass insgesamt pro Hemisphäre im Durchschnitt 13 Schnitte ausgewertet wurden. In Tabelle 2.8 sind unter anderem die jeweiligen Werte für *ssf* (hier der reziproke Wert angegeben) für die untersuchten Hemisphären aufgelistet. Für die Auswertung wurde der Arbeitsablauf bzw. „workflow“ des Modus „optical fractionator“ der Stereo Investigator Software (MBF Bioscience) verwendet.

Da die VEN in BA 24 fast ausschließlich in Schicht Vb (Nimchinsky et al., 1995) auftreten, wurde bei jedem Schnitt in der Stereo Investigator Software (MBF Bioscience) unter Verwendung des 1,25 x Objektivs Schicht V in BA 24 als ROI abgegrenzt. Gleichzeitig wurde für das Gesamtprojekt, in das die vorliegende Arbeit integriert war (Gaus et al., 2022), BA 24 abgegrenzt. Nachfolgend wurden die Parameter des Gitters ($slx \times sly$) als auch der UVCS ($csx \times csy \times h$) in einer Pilotstudie bestimmt. In Anlehnung an Empfehlungen von Schmitz et al. (2000); Schmitz and Hof (2005) sowie Glaser et al. (2006) wurden die Parameter so gewählt, dass in etwa 500 VEN pro Hemisphäre gezählt

wurden. Bei 500 gezählten Zellen ergibt sich ein CE von 0,04. Die final gewählten Parameter für die Zählung der VEN in Schicht V in BA 24 sind in Tabelle 2.8 aufgeführt. Daneben sind auch die von Heinsen et al. (1994) ermittelten Schnittdicken von 455 µm bis 578 µm mit angegeben.

Tabelle 2.8: Details der bei den stereologischen Untersuchungen gewählten Parameter.

Stereologische Parameter geltend für sämtliche ausgewertete Hemisphären							
Obj.	sl (µm)		csx · csy (µm²)		asf⁻¹	h (µm)	gz (µm)
20x	400		40.000		4	50	5
Stereologische Daten der Hemisphären							
Nr.	H	ssf⁻¹	t (µm)	tsf⁻¹	Σn	CE_{pred}[n]	Σcs
S1	L	3	478,1	9,56	561	0,042	2911
	R	6	469,0	9,38	674	0,039	1818
S2	L	12	481,5	9,63	143	0,084	786
	R	12	486,1	9,72	291	0,059	1299
S3	L	3	496,2	9,92	638	0,040	3344
	R	3	485,7	9,71	355	0,053	3704
S4	L	6	460,1	9,20	611	0,040	1783
	R	6	481,5	9,63	476	0,046	1970
S5	L	6	473,2	9,46	478	0,046	1475
	R	6	450,7	9,01	1156	0,029	1972
S6	L	3	502,9	10,06	820	0,035	3048
	R	12	479,9	9,60	86	0,108	705
S7	L	3	496,8	9,94	296	0,058	2841
	R	3	483,8	9,68	410	0,049	2670
S8	L	8	508,2	10,16	399	0,050	1080
	R	4	513,0	10,26	867	0,034	2116
	L	4	521,8	10,44	335	0,055	2050

2 Material und Methoden

S9	R	2	526,6	10,53	666	0,039	3532
S10	L	6	458,5	9,17	440	0,048	1697
	R	6	496,1	9,92	537	0,043	1253
S11	L	4	543,8	10,88	552	0,043	1809
	R	4	535,2	10,70	499	0,045	1575
S12	L	6	468,1	9,36	393	0,050	1615
	R	3	478,0	9,56	679	0,038	2875
K1	L	6	497,4	9,95	537	0,043	1572
	R	6	493,8	9,88	473	0,046	1598
K2	L	6	469,7	9,39	482	0,046	1948
	R	6	462,1	9,24	766	0,036	2272
K3	L	4	553,1	11,06	886	0,034	2577
	R	4	471,4	9,43	578	0,042	1973
K4	L	8	546,0	10,92	361	0,053	903
	R	4	544,1	10,88	924	0,033	1841
K5	L	12	486,1	9,72	205	0,070	725
	R	6	509,5	10,19	582	0,041	2288
K6	L	4	469,6	9,39	1604	0,025	2833
	R	4	469,6	9,39	905	0,033	2534
K7	L	6	507,9	10,16	860	0,034	2310
	R	6	520,0	10,40	483	0,046	2110
K8	L	4	518,0	10,36	973	0,032	2319
	R	4	487,9	9,76	535	0,043	1201
K9	L	4	511,9	10,24	1355	0,027	2761
	R	4	515,5	10,31	932	0,033	3351
K10	L	12	501,1	10,02	339	0,054	1004
	R	6	504,7	10,09	1180	0,029	1738
K11	L	6	493,5	9,87	444	0,047	1270
	R	6	487,8	9,76	496	0,045	1989
\bar{x}		5,63	495,55		614	0,045	2023

Abkürzungen: Obj.: verwendetes Objektiv; sl: Seitenlänge des Gitters; $csx \cdot csy$: Fläche der „unbiased virtual counting spaces“ (UVCS); asf^{-1} : reziproker Wert der „area sampling fraction“; H: Höhe der „unbiased virtual counting spaces“; gz: „guard zone“; S: männliche Patienten mit Schizophrenie; K: männliche Kontrollpersonen; H: Hemisphäre; L: linke Hemisphäre; R: rechte Hemisphäre; ssf^{-1} : reziproker Wert der „section sampling fraction“; t: Schnittdicke gemessen von Heinsen et al. (1994); tsf^{-1} : reziproker Wert der „thickness sampling fraction“; $\sum n$: Summe der in allen Schnitten gezählten Zellen; $CE_{pred}[n]$: „predicted coefficient of error“; $\sum cs$: Summe der in allen Schnitten ausgewerteten UVCS; \bar{x} : Mittelwert.

2.3.3.3 Ausdehnung von Brodmann Area 24

Über die Stereo Investigator Software (MBF Bioscience) wurde von jedem Schnitt mit einem Messwerkzeug („Quick Measure Line“) zum einem die Länge (die ventrodorsale Ausdehnung entlang der Gehirnwandung bis zur Grenze von BA 32) und zum anderen die Dicke (von Schicht I bis Schicht VI) von BA 24 gemessen. Bei der Dicke wurde regelmäßig an verschiedenen Stellen von BA 24 die Dicke gemessen und hieraus ein Mittelwert berechnet. Im Anschluss wurde aus den Längen- und Dicken-Werten der Schnitte ein Mittelwert für die jeweilige Hemisphäre berechnet.

2.3.3.4 Bestimmung des Volumens von Brodmann Area 24

Das Volumen von BA 24 wurde bestimmt, indem in der Stereo Investigator Software (MBF Bioscience) die Fläche der Abgrenzung von BA 24 unter „contour measurements“ abgelesen und mit der in Kapitel 2.3.2.2 beschriebenen Formel verrechnet wurde.

2.3.3.5 Bestimmung des Volumens von Schicht V in Brodmann Area 24

Analog zur Bestimmung des Volumens von BA 24 wurde das Volumen von Schicht V in BA 24 bestimmt, indem in der Stereo Investigator Software (MBF Bioscience) die Fläche der Abgrenzung von Schicht V unter „contour measurements“ abgelesen und mit der in Kapitel 2.3.2.2 beschriebenen Formel verrechnet wurde.

2.3.3.6 Bestimmung der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24

Unter Verwendung des 20x Objektivs und unter den in Kapitel 2.3.2.1 beschriebenen Kriterien wurden die VEN in Schicht V in BA 24 gezählt (Abbildung 2.4). Die VEN wurden anhand ihres typischen, länglichen bzw. spindelförmigen Zellkörpers, der davon abgehenden apikalen und basalen Dendriten und des ovoiden Zellkerns mitsamt des prominenten Nukleolus identifiziert (Abbildung 2.4 A - D und Abbildung 2.5 C und D). Der Nukleolus im Fokus wurde als spezifischer Zählpunkt gewählt.

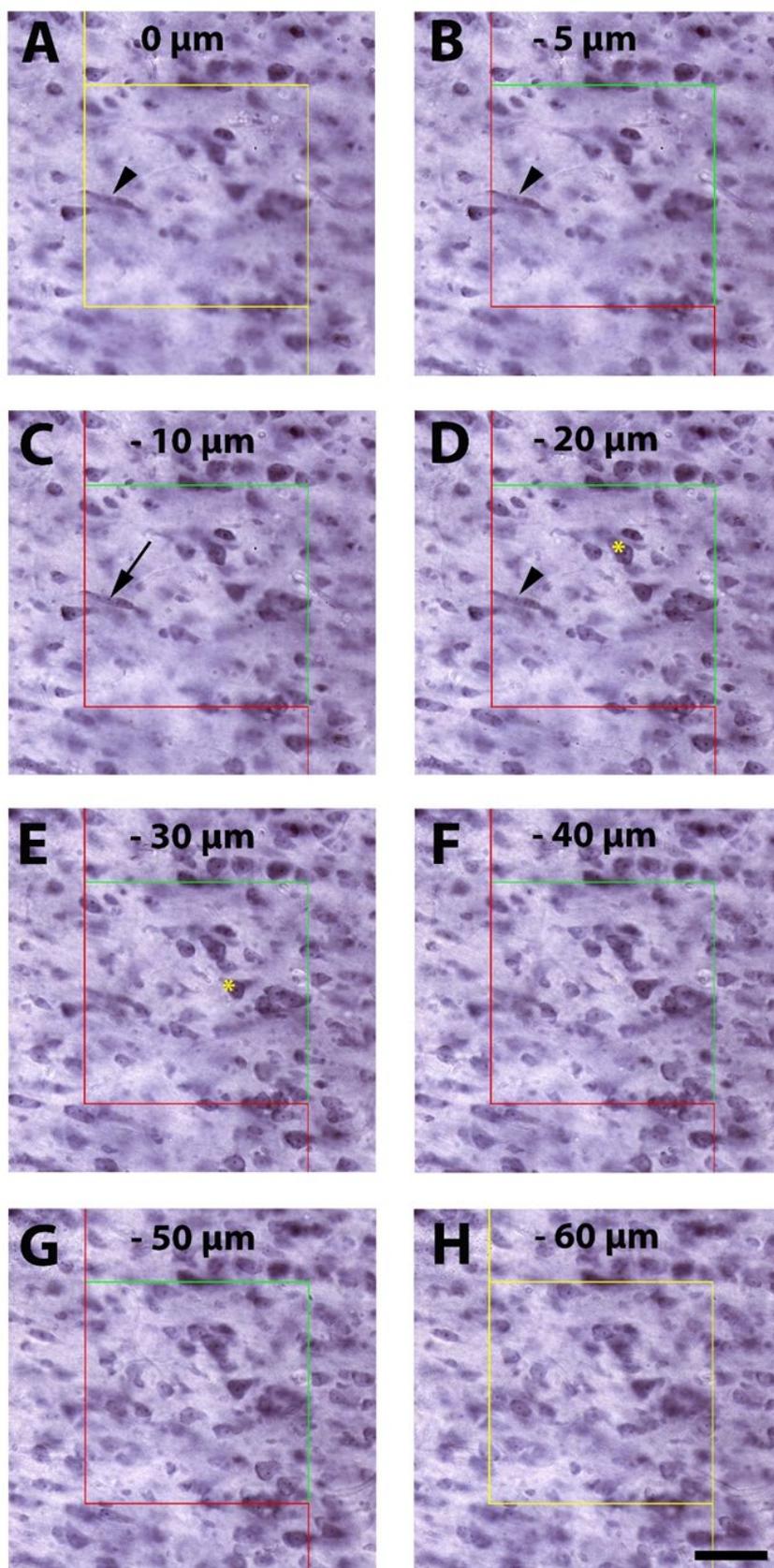


Abbildung 2.4: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von einer Zählung der von Economo Zellen (VEN) in einem der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 6). In A bis H ist ein „unbiased virtual counting frame“ (UVCF) mit seinen Kantenlängen 200 x 200 μm dargestellt. Mit der Ausdehnung in 50 μm Tiefe entsteht ein

dreidimensionaler Würfel, der sogenannte „unbiased virtual counting space“ (UVCS), innerhalb dessen die Zählung der VEN erfolgte (B – G). Die in A gezeigte Fokusebene befindet sich oberhalb des UVCS (und somit außerhalb des Zählbereiches), und die in H gezeigte Fokusebene unterhalb des UVCS (und somit ebenfalls außerhalb des Zählbereiches). Daher sind hier die Umrandungen des UVCF gelb gezeichnet. In A, B und D ist mit Pfeilköpfen ein nicht im Fokus liegendes VEN markiert. VEN wurden gezählt, wenn deren Nukleolus innerhalb des UVCF in den Fokus traten (Pfeil in C) und die roten Kanten („exclusion lines“) nicht berührten. Bei den grünen Kanten („inclusion lines“) wurden die VEN gezählt, falls deren Nukleolus diese berührte. Neben den VEN sind im Bild ebenfalls Pyramidenzellen gezeigt, die dicht gepackt in Schicht Va und weniger dicht gepackt in Schicht Vb vorliegen. Eine scharf eingestellte Pyramidenzelle wurde exemplarisch mit einem gelben Stern in D und E gekennzeichnet. Die Maßangaben in μm beschreiben den Abstand zur Oberfläche des Schnittes. Maßstab = 65 μm in A – H.

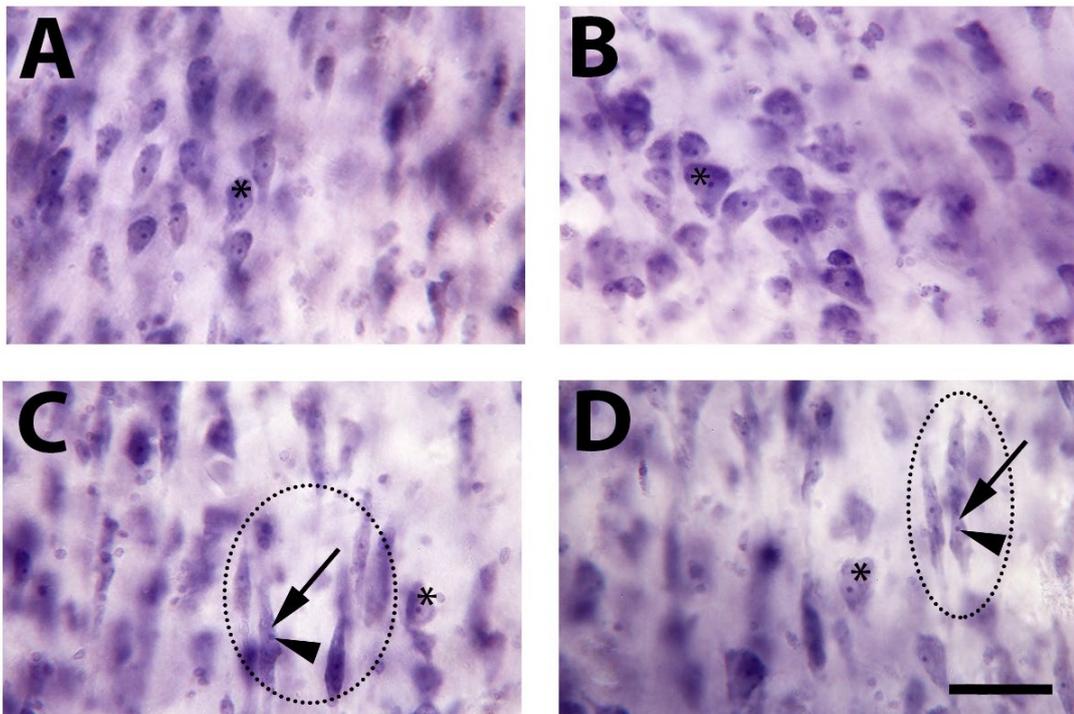


Abbildung 2.5: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (A, B) und Vb (C, D) in zwei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne (Kontrollperson 4 (A, C) und Patient mit Schizophrenie 15 (B, D)). In Schicht Va (A, B) liegen große, dichtgepackte Pyramidenzellen (Stern) vor. In Schicht Vb befinden sich neben weniger dicht gepackten Pyramidenzellen die senkrecht zur Oberfläche liegenden von Economo Zellen (VEN) (C, D). Zur Veranschaulichung wurde eine Gruppe von scharf eingestellten VEN eingekreist, sowie der helle ovale Zellkern (Nukleus) (Pfeil) und das dunkle punktförmige Kernkörperchen (Nukleolus) (Pfeilkopf) markiert. Maßstab = 50 μm in A – D.

2.3.3.7 Bestimmung der rostro-kaudalen Verteilung der von Economo Zellen in Brodmann Area 24

Für die Untersuchung der rostro-kaudalen Verteilung der VEN in BA 24 wurden die einzelnen untersuchten Schnitte einer Hemisphäre in Relation zur ausgewerteten Gesamtschnittanzahl genommen. Nummeriert wurden die ausgewerteten Schnitte von kaudal nach rostral. Die Schnittnummer wurde anschließend durch die Gesamtschnittanzahl dividiert. Die am meisten kaudal gelegenen Schnitte hatten somit einen Wert nahe Null, und die rostral gelegenen Schnitte Werte nahe 1. Die Verteilung der VEN wurde anhand der neuen relativen Schnittnummerierung für jede untersuchte Hemisphäre analysiert und visualisiert.

2.4 Statistische Analyse

Für alle untersuchten abhängigen Variablen

- Länge von BA 24,
- Dicke von BA 24,
- Volumen von BA 24,
- Volumen von Schicht V in BA 24,
- Gesamtzahl an VEN in Schicht V in BA 24 und
- Dichte von VEN in Schicht V in BA 24

wurden getrennt nach Diagnose (Kontrollpersonen, Patienten mit Schizophrenie) und Hemisphäre (links, rechts) Mittelwerte, Standardabweichungen und Standardfehler der Mittelwerte berechnet.

Die statistische Analyse erfolgte für jede abhängige Variable getrennt mittels Kovarianzanalyse (ANCOVA), mit den festen Faktoren *Diagnose* und *Hemisphäre* und den Kovariaten *Alter*, *post mortem Intervall* und *Fixationszeit*. P-Werte $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant gewertet. Da es zu dieser Vorgehensweise kein nicht-parametrisches Äquivalent gibt, wurde auf die Überprüfung der Vereinbarkeit der abhängigen Variablen mit einer Normalverteilung (z.B. mittels Kolmogorow-Smirnow Test) verzichtet.

2 Material und Methoden

Die Berechnungen erfolgten mit der Software IBM SPSS Statistics (Version 26, 64-bit Windows; IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Die grafische Darstellung der Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der abhängigen Variablen erfolgte mit der Software GrapPad Prism (Version 5.04 für Windows; GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3 Ergebnisse

3.1 Abgrenzung von Brodmann Area 24

In den folgenden Abbildungen wird die Abgrenzung von BA 24 in einigen SRS-Serien von Gehirnschnitten von Kontrollpersonen (Abbildung 3.1 - Abbildung 3.3) und Patienten mit Schizophrenie (Abbildung 3.4 - Abbildung 3.6) dargestellt. Die Frontalschnitte der entsprechenden Hemisphären sind dabei jeweils von kaudal nach rostral angeordnet. BA 23 liegt kaudal von BA 24 und war durch eine ausgeprägte granuläre Schicht IV von BA 24 abgrenzbar. Rostral von BA 24 war BA 32 durch eine dysgranuläre Schicht IV identifizierbar. In den Abbildungen 3.1 – 3.6 wurde BA 24 schwarz und Schicht V in BA 24 gelb umrandet.

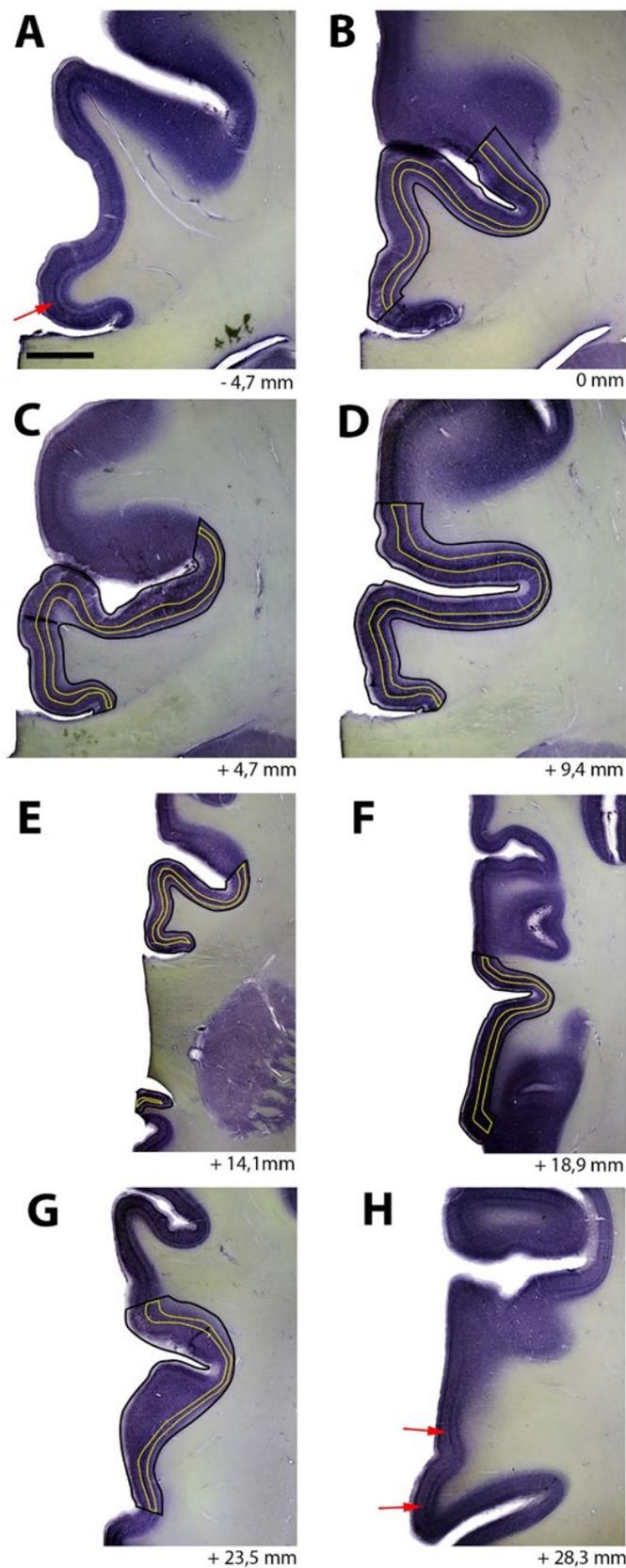


Abbildung 3.1: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Kontrollperson 3 (die gezeigte rechte Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,38 \text{ cm}^3$ das kleinste Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Kontrollpersonen auf). Die Abgrenzung

3 Ergebnisse

von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - D** und **H**; 7,32 mm in **E** und **F** sowie 5,78 mm in **G**.

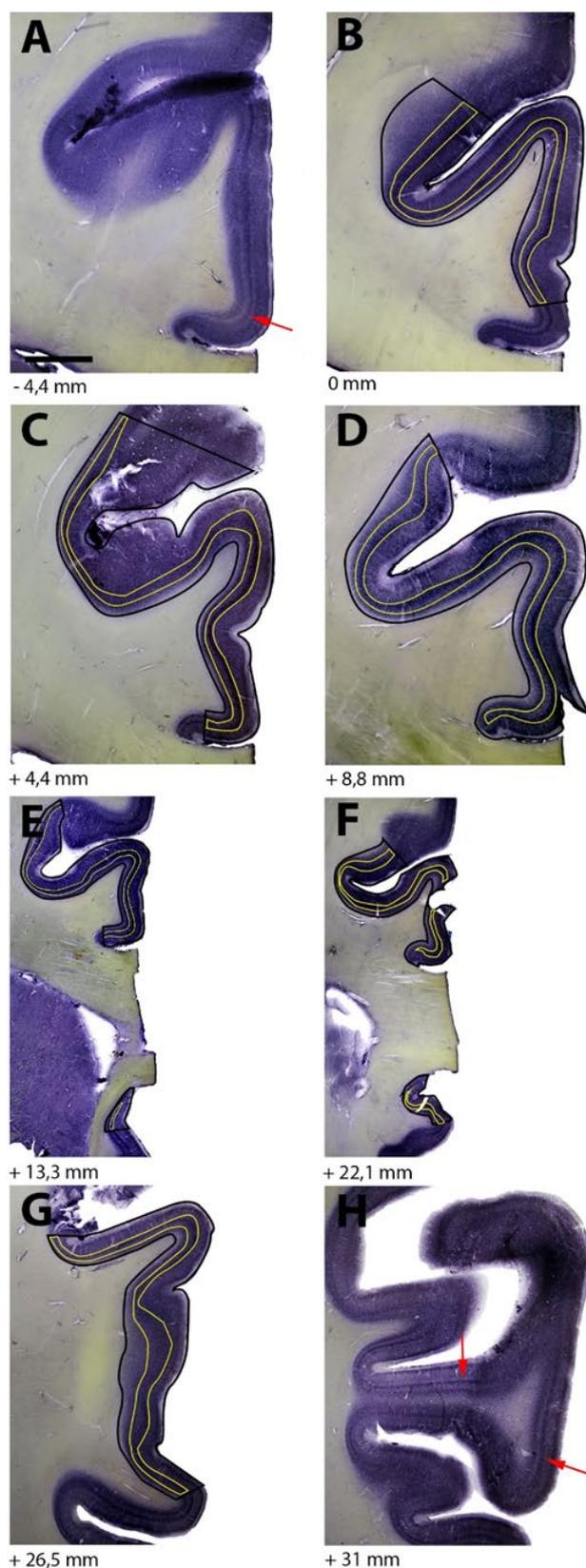


Abbildung 3.2: Makrografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Kontrollperson 3 (die gezeigte linke Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,60 \text{ cm}^3$ ein mittleres Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Kontrollpersonen auf). Die

3 Ergebnisse

Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,15 mm in **A**; 3,28 mm in **B** und **C**; 3,02 mm in **D**; 6,03 mm in **E**; 5,75 mm in **F**; 4,76 mm in **G** und 3,95 mm in **H**.

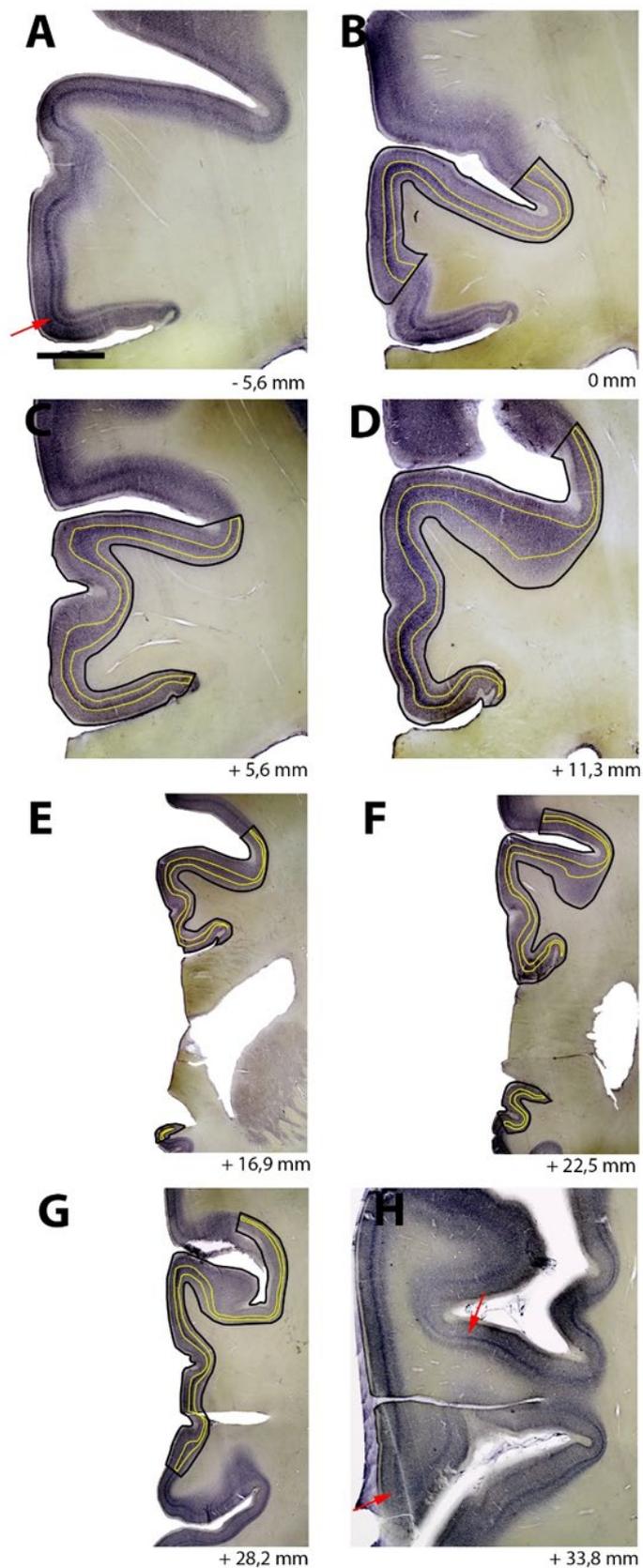


Abbildung 3.3: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Kontrollperson 6 (die gezeigte rechte Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,83 \text{ cm}^3$ das größte Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Kontrollpersonen auf). Die Abgrenzung

3 Ergebnisse

von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - D** und **H** sowie 7,74 mm in **E - G**.

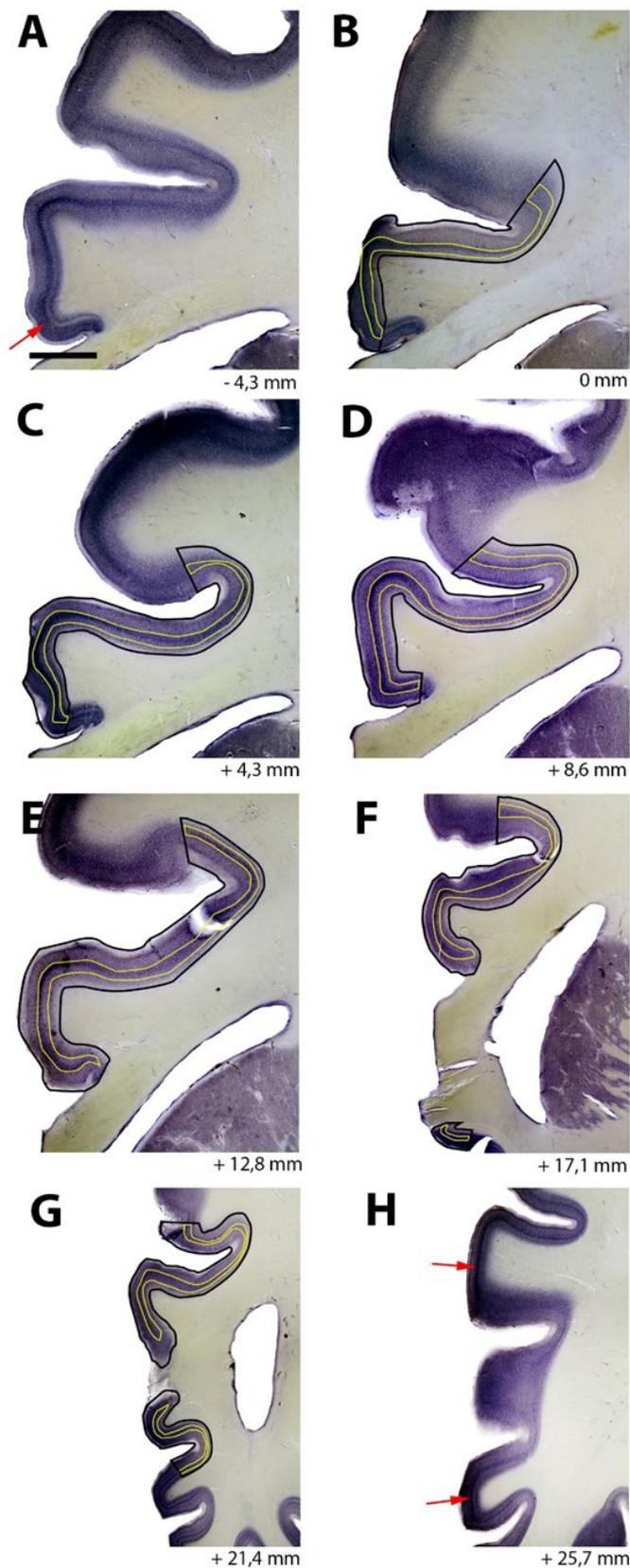


Abbildung 3.4: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Patient 11 mit Schizophrenie (die gezeigte rechte Hemisphäre dieses Gehirns wies mit einem Volumen von $0,38 \text{ cm}^3$ das kleinste Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Patienten mit

3 Ergebnisse

Schizophrenie auf). Die Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - E** und **H** sowie 5,56 mm in **F** und **H**.

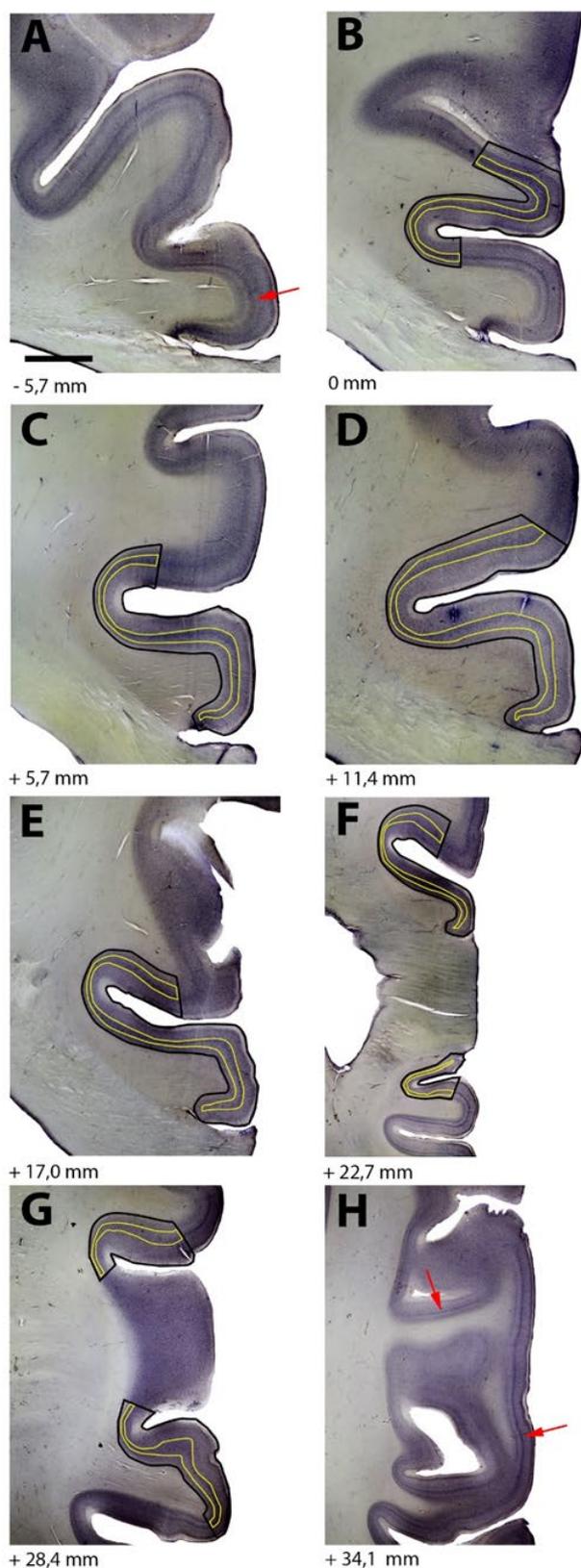


Abbildung 3.5: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Patient 5 mit Schizophrenie (die gezeigte linke Hemisphäre wies mit einem Volumen von $0,51 \text{ cm}^3$ ein mittleres Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Patienten mit Schizophrenie auf). Die

3 Ergebnisse

Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,75 mm in **A - E** und 7,31 mm in **F** sowie 5,53 mm in **G** und **H**.

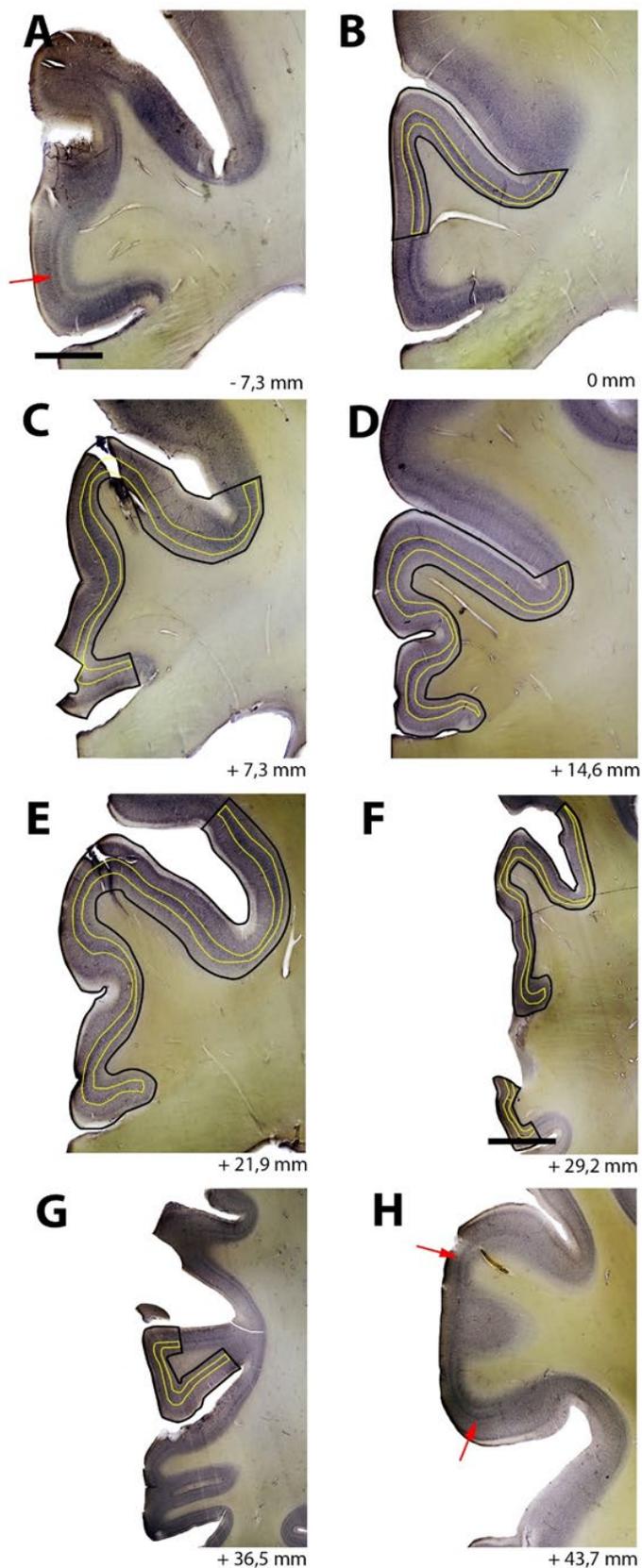


Abbildung 3.6: Makrofotografien einer Serie von Frontalschnitten von Brodmann Area 24 im Gehirn von Patient 2 mit Schizophrenie (die gezeigte rechte Hemisphäre wies mit einem Volumen von $0,82 \text{ cm}^3$ das größte Volumen von Schicht V in BA 24 der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirne von Patienten mit Schizophrenie auf). Die

Abgrenzung von BA 24 ist schwarz markiert, während die Abgrenzung von Schicht V in BA 24 gelb markiert ist (**B - G**). **A** liegt kaudal und **H** liegt rostral von BA 24. Die roten Pfeile markieren Schicht IV in BA 23 (**A**) und BA 32 (**H**). Die Maßangaben in mm unter den einzelnen Schnitten (**A - H**) geben den Abstand zum kaudalsten Schnitt (**B**) der Schnittserie an. Maßstab = 3,97 mm in **A - E** und **H**; 8,17 mm in **F** und 6,94 mm in **G**.

3.2 Ausdehnung von Brodmann Area 24

In Tabelle 3.1 sind die ermittelten Werte für die mittleren Längen und Dicken von BA 24 in den Gehirnen der Kontrollpersonen zusammen mit den zugehörigen Mittelwerten, Standardabweichungen und Standardfehlern der Mittelwerte zusammengefasst; Tabelle 3.2 zeigt die entsprechenden Werte für die Patienten mit Schizophrenie. In Abbildung 3.7 sind diese Werte grafisch dargestellt.

Die Patienten mit Schizophrenie zeigten im Vergleich mit den Kontrollpersonen in der linken Hemisphäre eine geringgradig größere mittlere Länge von BA 24 (+6,7%) sowie eine geringgradig größere mittlere Dicke (+4,7%) von BA 24, in der rechten Hemisphäre dagegen eine geringgradig kleinere mittlere Länge von BA 24 (-5,7%) sowie eine geringgradig kleinere mittlere Dicke von BA 24 (-2,4%). Die ANCOVA zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede dieser Variablen zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie (Tabelle 3.3 und Tabelle 3.4), sowie keinen signifikanten Einfluss der Kovariaten auf diese Parameter.

Tabelle 3.1: Abmessungen von Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.

Nr.	Alter (Jahre)	Länge links (mm)	Länge rechts (mm)	Dicke links (mm)	Dicke rechts (mm)
K1	36	30,41	32,36	2,11	2,22
K2	47	33,63	46,95	2,14	2,20
K3	50	38,88	30,19	2,05	2,05
K4	51	24,28	28,96	2,29	2,24
K5	54	29,82	39,76	1,93	2,03
K6	56	36,12	47,78	2,23	2,21
K7	58	33,30	37,13	2,28	2,12
K8	60	32,59	33,96	1,86	1,95
K9	60	37,91	47,00	2,40	2,09
K10	62	34,91	35,79	2,08	1,82
K11	65	24,91	33,42	1,97	2,13
\bar{x}	54,46	32,43	37,57	2,12	2,10
SD	8,20	4,77	6,89	0,17	0,13
SE	2,47	1,44	2,08	0,05	0,04

Abkürzungen: K: Kontrollperson; Länge links: gemessene Länge von BA 24 in der linken Hemisphäre; Länge rechts: gemessene Länge von BA 24 in der rechten Hemisphäre; Dicke links: gemessene Dicke von BA 24 in der linken Hemisphäre; Dicke rechts: gemessene Dicke von BA 24 in der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

Tabelle 3.2: Abmessungen von Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.

Nr.	Alter (Jahre)	Länge links (mm)	Länge rechts (mm)	Dicke links (mm)	Dicke rechts (mm)
S1	22	41,01	36,28	1,94	1,88
S2	36	28,19	42,31	2,08	2,10
S3	46	37,60	42,53	2,56	2,54
S4	50	35,99	41,76	2,50	2,15
S5	50	30,88	40,78	1,95	2,06
S6	51	33,20	29,50	2,03	1,93
S7	54	32,84	31,11	2,02	1,93
S8	55	44,74	33,62	3,21	2,20
S9	57	34,96	32,81	2,10	2,02
S10	60	34,35	33,14	1,80	2,00
S11	62	27,61	28,61	2,15	1,85
S12	63	33,88	32,81	2,26	1,97
\bar{x}	50,50	34,61	35,44	2,22	2,05
SD	11,67	4,90	5,13	0,38	0,19
SE	3,37	1,42	1,48	0,11	0,05

Abkürzungen: S: Patient mit Schizophrenie; Länge links: gemessene Länge von BA 24 in der linken Hemisphäre; Länge rechts: gemessene Länge von BA 24 in der rechten Hemisphäre; Dicke links: gemessene Dicke von BA 24 in der linken Hemisphäre; Dicke rechts: gemessene Dicke von BA 24 in der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

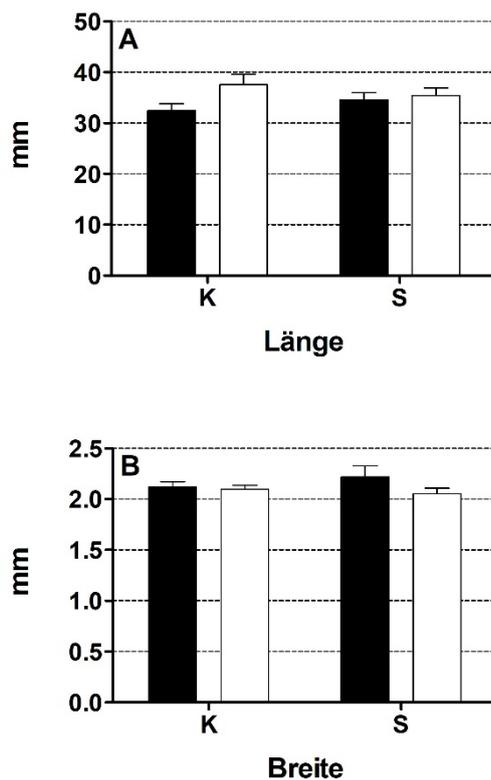


Abbildung 3.7: Abmessungen von Brodmann Area 24. Gezeigt sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Länge (A) und Dicke (B) von BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“). Die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären.

3 Ergebnisse

Tabelle 3.3: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable *Länge von Brodmann Area 24* (Daten in den Tabellen 3.1 und 3.2 zusammengestellt).

		F	p	partielles η^2
Kovariaten	Alter	(1, 40) = 0,018	0,894	< 0,001
	PMI	(1, 40) = 1,054	0,311	0,026
	Fix	(1, 40) = 0,251	0,619	0,006
Feste Faktoren	Diagnose	(1, 40) = 0,063	0,804	0,002
	Hemisphäre	(1, 40) = 3,423	0,072	0,079

Abkürzungen: F: Testverfahren basierend auf der F-Statistik; p: Wert, nach dem sich die Signifikanz richtet; partielles η^2 : Maß für die Effektstärke; PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

Tabelle 3.4: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable *Dicke von Brodmann Area 24* (Daten in den Tabellen 3.1. und 3.2 zusammengestellt).

		F	p	partielles η^2
Kovariaten	Alter	(1, 40) = 0,010	0,922	< 0,001
	PMI	(1, 40) = 1,054	0,152	0,051
	Fix	(1, 40) = 0,024	0,878	0,001
Feste Faktoren	Diagnose	(1, 40) = 0,766	0,387	0,019
	Hemisphäre	(1, 40) = 1,884	0,178	0,045

Abkürzungen: F: Testverfahren basierend auf der F-Statistik; p: Wert, nach dem sich die Signifikanz richtet; partielles η^2 : Maß für die Effektstärke; PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

3.3 Mikroskopisches Erscheinungsbild von Schicht Va und Vb in Brodmann Area 24

Die Abbildung 3.8 - Abbildung 3.13 zeigen repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va und Vb in BA 24 in einigen Gehirnen von Kontrollpersonen (Abbildung 3.8 - Abbildung 3.10) und Patienten mit Schizophrenie (Abbildung 3.11 - Abbildung 3.13). In Schicht Va lag jeweils eine hohe Anzahl an dicht gepackten Pyramidenzellen vor. Schicht Vb zeigte weniger dicht gepackte Pyramidenzellen und (vereinzelt oder in Gruppen vorkommende) VEN. Die gezeigten mikroskopischen Aufnahmen verdeutlichen, dass mögliche Unterschiede in der Gesamtzahl an VEN in Schicht V in BA 24 zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie durch einfaches Mikroskopieren nicht aufgedeckt werden konnten, sondern nur durch eine aufwendige, *design-based* stereologische Untersuchung.

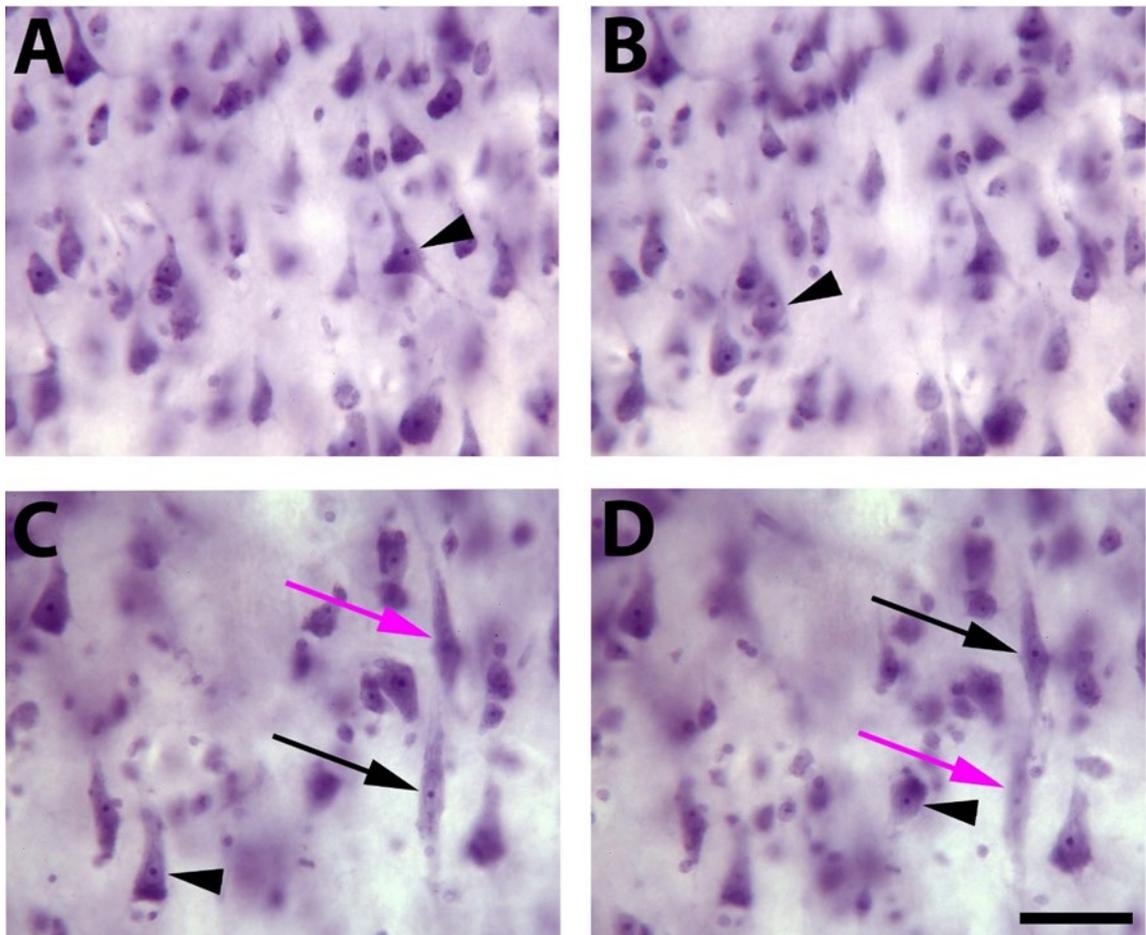


Abbildung 3.8: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (A, B) und Schicht Vb (C, D) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Kontrollperson 8 (in Bezug auf alle Hemisphären der Kontrollpersonen wie die gezeigte Hemisphäre mit 83.528 VEN die niedrigste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μ m.

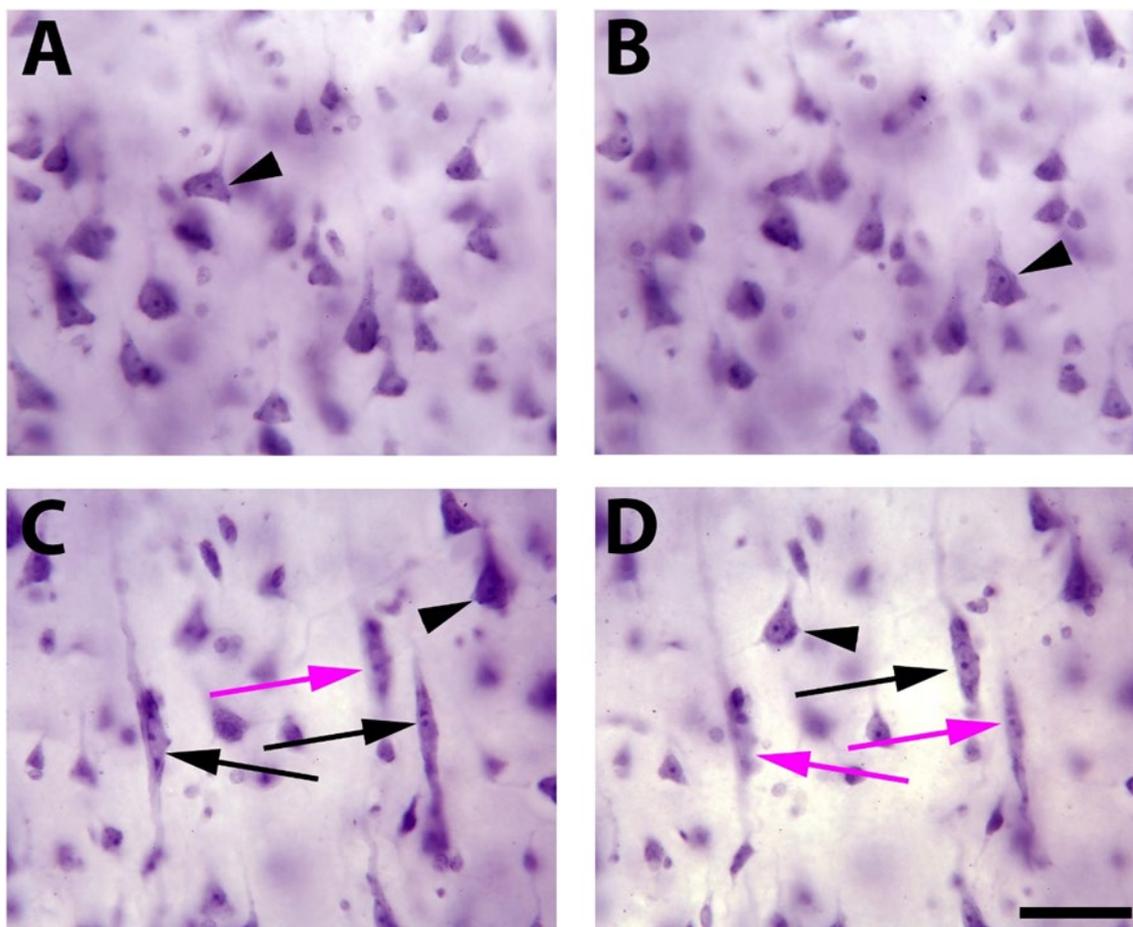


Abbildung 3.9: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Kontrollperson 9 (in Bezug auf alle Hemisphären der Kontrollpersonen wies die gezeigte Hemisphäre mit 153.743 VEN eine mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μ m.

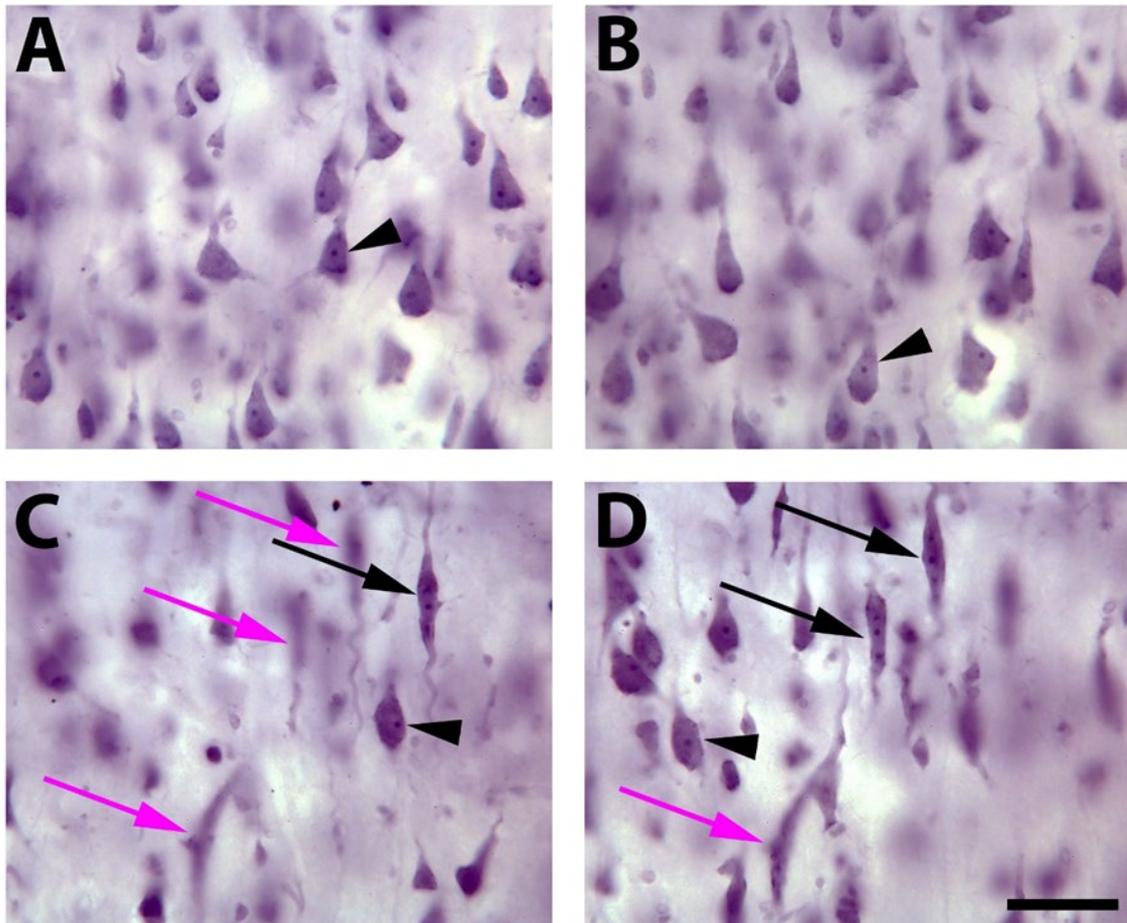


Abbildung 3.10: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Kontrollperson 10 (in Bezug auf alle Hemisphären der Kontrollpersonen wies die gezeigte Hemisphäre mit 285.862 VEN die höchste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μm .

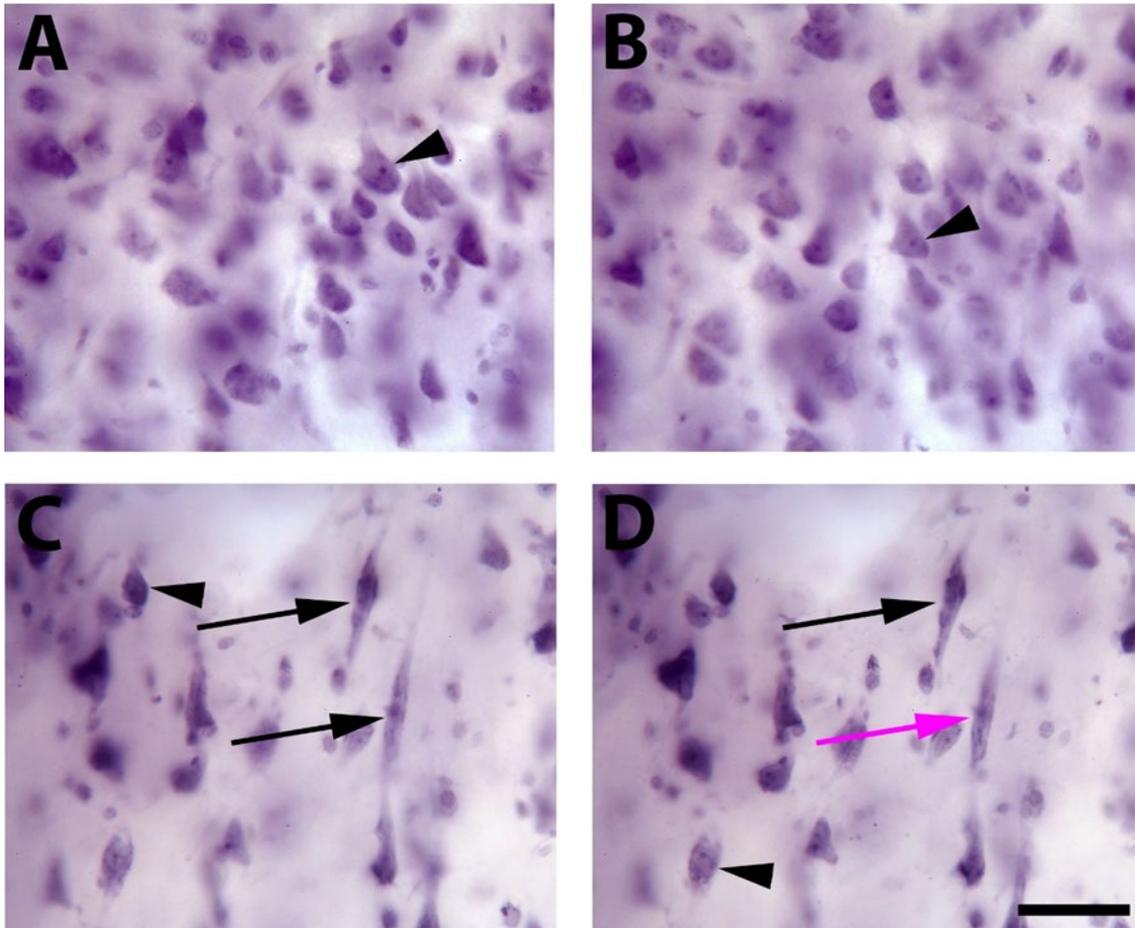


Abbildung 3.11: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der linken Hemisphäre des Gehirns von Patient 7 mit Schizophrenie (in Bezug auf alle Hemisphären der Patienten mit Schizophrenie wies die gezeigte Hemisphäre mit 35.233 VEN die niedrigste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μ m.

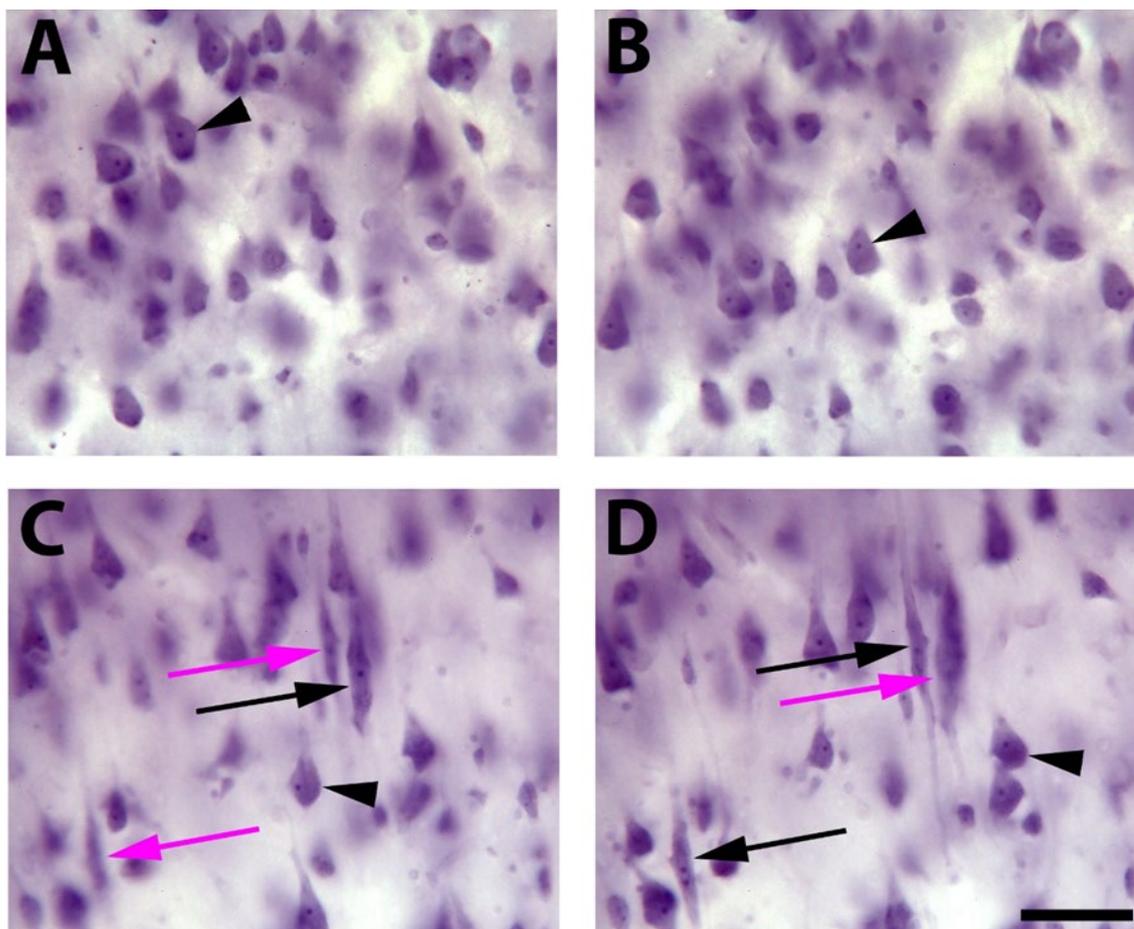


Abbildung 3.12: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (**A, B**) und Schicht Vb (**C, D**) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der linken Hemisphäre des Gehirns von Patient 1 mit Schizophrenie (in Bezug auf alle Hemisphären der Patienten mit Schizophrenie wies die gezeigte Hemisphäre mit 96.445 VEN eine mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μ m.

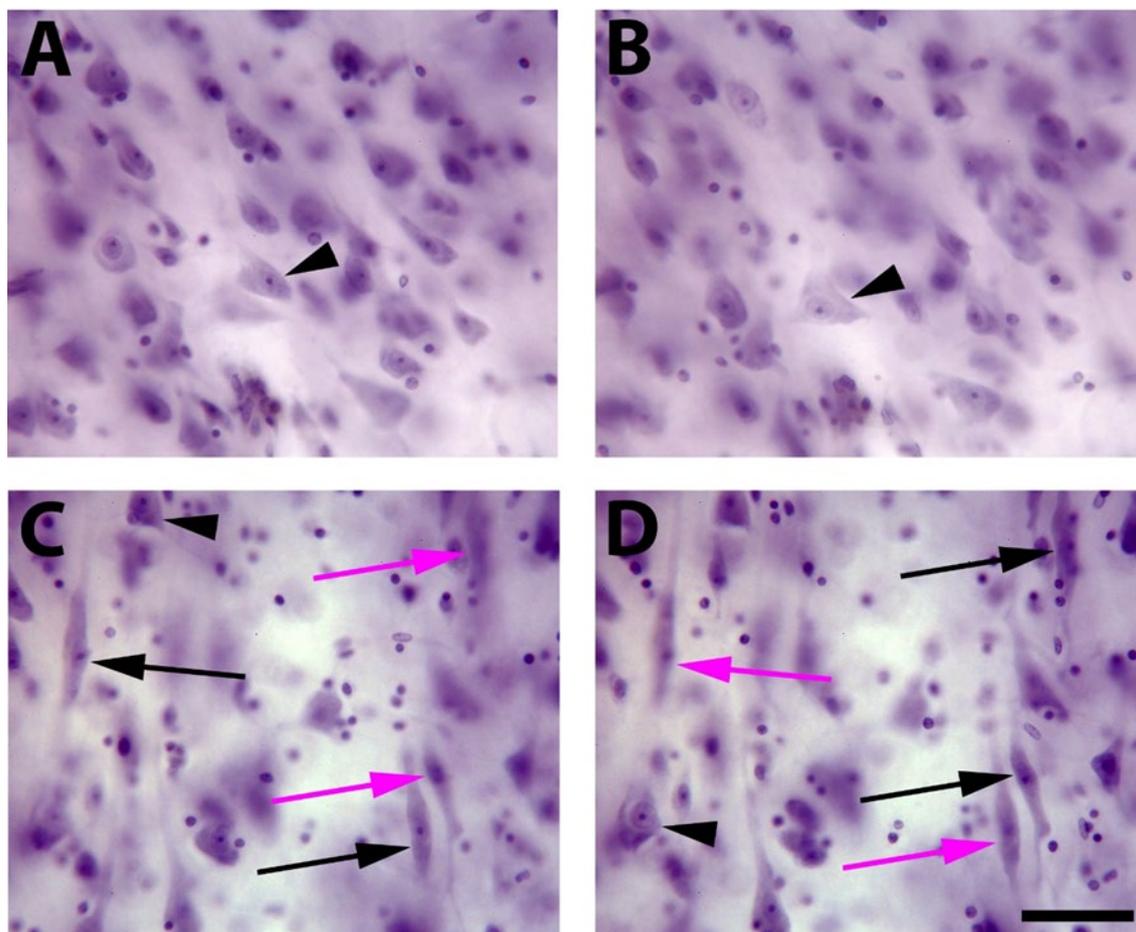


Abbildung 3.13: Repräsentative mikroskopische Aufnahmen von Schicht Va (A, B) und Schicht Vb (C, D) (jeweils in zwei verschiedenen Fokusebenen) in Brodmann Area 24 in der rechten Hemisphäre des Gehirns von Patient 5 mit Schizophrenie (in Bezug auf alle Hemisphären der Patienten mit Schizophrenie wies die gezeigte Hemisphäre mit 253.438 VEN die höchste Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 auf). Die schwarzen Pfeilköpfe markieren Pyramidenzellen in Schicht Va im Fokus, die schwarzen Pfeile VEN im Fokus und die pinken Pfeile solche VEN, die nicht im Fokus, aber dennoch gut erkennbar sind. Maßstab = 50 μ m.

3.4 Volumen von Brodmann Area 24

In Tabelle 3.5 sind die ermittelten Werte für das Volumen von BA 24 in den Gehirnen der Kontrollpersonen zusammen mit den zugehörigen Mittelwerten, Standardabweichungen und Standardfehlern der Mittelwerte zusammengefasst; Tabelle 3.6 zeigt die entsprechenden Werte für die Patienten mit Schizophrenie. In Abbildung 3.14 sind diese Werte grafisch dargestellt.

Die Patienten mit Schizophrenie zeigten im Vergleich mit den Kontrollpersonen in beiden Hemisphären ein kleineres mittleres Volumen von BA 24 (links: -14,8%; rechts: -13,9%). Die ANCOVA zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede im mittleren Volumen von BA 24 zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie, sowie keinen signifikanten Einfluss der Kovariaten auf das mittlere Volumen von BA 24 (Tabelle 3.7).

Tabelle 3.5: Volumen von Brodmann Area 24 (BA 24) in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.

Nr.	Alter (Jahre)	V _{Links} (cm ³)	V _{Rechts} (cm ³)	V _{Gesamt} (cm ³)	[l-r/l+r]
K1	36	1,97	1,99	3,95	- 0,004
K2	47	2,38	2,73	5,10	- 0,069
K3	50	2,42	1,56	3,98	0,218
K4	51	1,66	1,77	3,43	- 0,033
K5	54	1,70	2,79	4,49	- 0,242
K6	56	2,20	3,02	5,22	- 0,157
K7	58	2,79	2,85	5,64	- 0,012
K8	60	1,86	2,10	3,96	- 0,063
K9	60	2,23	2,67	4,90	- 0,089
K10	62	3,09	2,23	5,32	0,161
K11	65	1,50	2,52	4,01	- 0,254
\bar{x}	54,46	2,16	2,38	4,55	- 0,049
SD	8,20	0,49	0,48	0,72	0,146
SE	2,47	0,15	0,15	0,22	0,044

Abkürzungen: K: Kontrollperson; V_{Links} : Volumen von BA 24 in der linken Hemisphäre; V_{Rechts} : Volumen von BA 24 in der rechten Hemisphäre; V_{Gesamt} : Volumen von BA 24 in beiden Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz des Volumens von BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe des Volumens von BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

Tabelle 3.6: Volumen von Brodmann Area 24 (BA 24) in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.

Nr.	Alter (Jahre)	V _{Links} (cm ³)	V _{Rechts} (cm ³)	V _{Gesamt} (cm ³)	[l-r/l+r]
S1	22	1,10	2,04	3,14	- 0,302
S2	36	1,84	3,31	5,15	- 0,286
S3	46	2,25	2,73	4,99	- 0,097
S4	50	2,11	2,66	4,77	- 0,116
S5	50	1,75	2,30	4,05	- 0,137
S6	51	2,08	1,64	3,72	0,118
S7	54	1,90	1,65	3,55	0,071
S8	55	1,92	1,87	3,79	0,014
S9	57	1,65	1,57	3,22	0,025
S10	60	1,83	1,70	3,52	0,037
S11	62	1,64	1,40	3,05	0,080
S12	63	2,05	1,73	3,78	0,083
\bar{x}	50,50	1,84	2,05	3,95	- 0,024
SD	11,67	0,30	0,58	0,68	0,120
SE	3,37	0,09	0,17	0,20	0,034

Abkürzungen: S: Patienten mit Schizophrenie; V_{Links} : Volumen von BA 24 in der linken Hemisphäre; V_{Rechts} : Volumen von BA 24 in der rechten Hemisphäre; V_{Gesamt} : Volumen von BA 24 in beiden Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz des Volumens von BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe des Volumens von BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

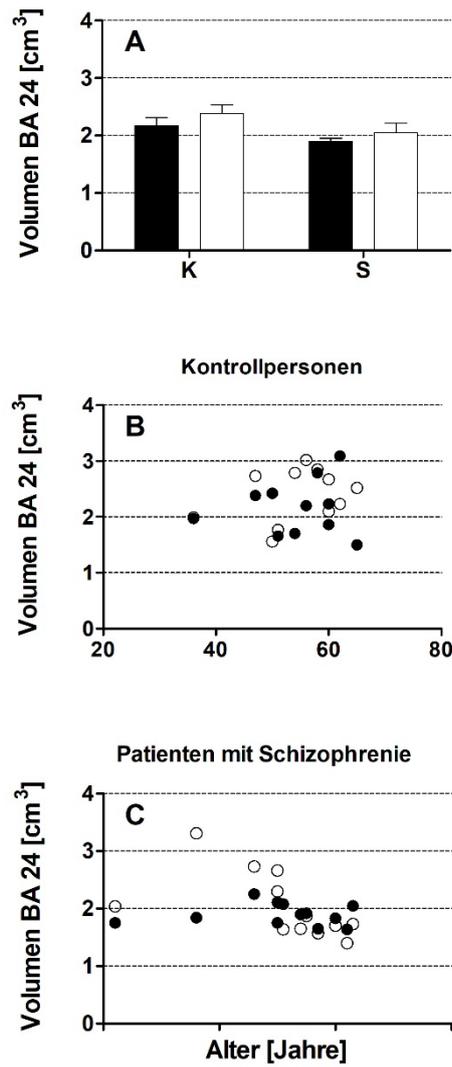


Abbildung 3.14: Volumen von Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte des Volumens von BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **B** und **C** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären.

3 Ergebnisse

Tabelle 3.7: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable *Volumen von Brodmann Area 24* (BA 24) (Daten in den Tabellen 3.5 und 3.6 zusammengestellt).

		F	p	partielles η^2
Kovariaten	Alter	(1, 40) = 0,622	0,435	0,015
	PMI	(1, 40) = 0,117	0,734	0,003
	Fix	(1, 40) = 1,702	0,200	0,041
Feste Faktoren	Diagnose	(1, 40) = 2,662	0,111	0,062
	Hemisphäre	(1, 40) = 1,927	0,173	0,046

Abkürzungen: F: Testverfahren basierend auf der F-Statistik; p: Wert, nach dem sich die Signifikanz richtet; partielles η^2 : Maß für die Effektstärke; PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

3.5 Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24

In Tabelle 3.8 sind die ermittelten Werte für das Volumen von Schicht V in BA 24 in den Gehirnen der Kontrollpersonen zusammen mit den zugehörigen Mittelwerten, Standardabweichungen und Standardfehlern der Mittelwerte zusammengefasst; Tabelle 3.9 zeigt die entsprechenden Werte für die Patienten mit Schizophrenie. In Abbildung 3.15 sind diese Werte grafisch dargestellt.

Die Patienten mit Schizophrenie zeigten im Vergleich mit den Kontrollpersonen in beiden Hemisphären ein kleineres mittleres Volumen von Schicht V in BA 24 (links: -16,7%; rechts: -16,1%). Die ANCOVA zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede im mittleren Volumen von Schicht V in BA 24 zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie, sowie keinen signifikanten Einfluss der Kovariaten auf das mittlere Volumen von BA 24 (Tabelle 3.10).

Tabelle 3.8: Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.

Nr.	Alter (Jahre)	V _{Links} (cm ³)	V _{Rechts} (cm ³)	V _{Gesamt} (cm ³)	[l-r/l+r]
K1	36	0,53	0,51	1,04	0,015
K2	47	0,63	0,69	1,32	- 0,045
K3	50	0,60	0,38	0,98	0,222
K4	51	0,42	0,45	0,87	- 0,034
K5	54	0,90	0,79	1,69	0,065
K6	56	0,61	0,83	1,44	- 0,150
K7	58	0,74	0,74	1,49	0,000
K8	60	0,51	0,52	1,02	- 0,009
K9	60	0,58	0,72	1,30	-0,107
K10	62	0,67	0,58	1,25	0,076
K11	65	0,41	0,65	1,06	- 0,226
\bar{x}	54,46	0,60	0,62	1,12	- 0,018
SD	8,20	0,14	0,15	0,43	0,120
SE	2,47	0,04	0,04	0,13	0,036

Abkürzungen: K: Kontrollperson; V_{Links} : Volumen von Schicht V in BA 24 in der linken Hemisphäre; V_{Rechts} : Volumen von Schicht V in BA 24 in der rechten Hemisphäre; V_{Gesamt}: Volumen von Schicht V in BA 24 in beiden Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz des Volumens von Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe des Volumens von Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

Tabelle 3.9: Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.

Nr.	Alter (Jahre)	V _{Links} (cm ³)	V _{Rechts} (cm ³)	V _{Gesamt} (cm ³)	[l-r/l+r]
S1	22	0,46	0,55	1,01	- 0,090
S2	36	0,43	0,82	1,25	- 0,319
S3	46	0,58	0,62	1,20	- 0,038
S4	50	0,60	0,70	1,31	- 0,075
S5	50	0,51	0,61	1,12	- 0,083
S6	51	0,51	0,39	0,90	0,125
S7	54	0,46	0,44	0,90	0,026
S8	55	0,48	0,49	0,96	- 0,009
S9	57	0,46	0,41	0,87	0,058
S10	60	0,53	0,42	0,95	0,119
S11	62	0,45	0,38	0,83	0,091
S12	63	0,54	0,46	1,00	0,082
\bar{x}	50,50	0,50	0,52	1,02	- 0,009
SD	11,67	0,05	0,14	0,16	0,125
SE	3,37	0,02	0,04	0,05	0,036

Abkürzungen: S: Patient mit Schizophrenie; V_{Links}: Volumen von Schicht V in BA 24 in der linken Hemisphäre; V_{Rechts}: Volumen von Schicht V in BA 24 in der rechten Hemisphäre; V_{Gesamt}: Volumen von Schicht V in BA 24 in beiden Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz des Volumens von Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe des Volumens von Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

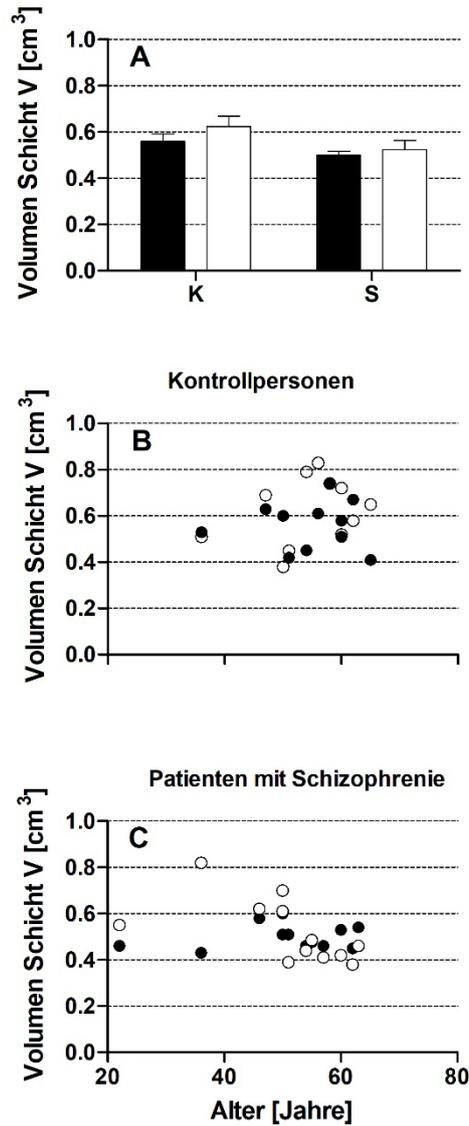


Abbildung 3.15: Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte des Volumens von Schicht V in BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **B** und **C** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären.

Tabelle 3.10: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable *Volumen von Schicht V in Brodmann Area 24* (Daten in den Tabellen 3.9 und 3.10 zusammengestellt).

		F	p	partielles η^2
Kovariaten	Alter	(1, 40) = 0,158	0,693	0,004
	PMI	(1, 40) = 0,460	0,502	0,011
	Fix	(1, 40) = 0,797	0,377	0,020
Feste Faktoren	Diagnose	(1, 40) = 3,612	0,065	0,083
	Hemisphäre	(1, 40) = 1,544	0,221	0,037

Abkürzungen: F: Testverfahren basierend auf der F-Statistik; p: Wert, nach dem sich die Signifikanz richtet; partielles η^2 : Maß für die Effektstärke; PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

3.6 Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24

In Tabelle 3.11 sind die ermittelten Werte für die Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in den Gehirnen der Kontrollpersonen zusammen mit den zugehörigen Mittelwerten, Standardabweichungen und Standardfehlern der Mittelwerte zusammengefasst; Tabelle 3.12 zeigt die entsprechenden Werte für die Patienten mit Schizophrenie. In Abbildung 3.16 sind diese Werte grafisch dargestellt.

Die Patienten mit Schizophrenie zeigten im Vergleich mit den Kontrollpersonen in beiden Hemisphären eine kleinere mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 (links: -41,3%; rechts: -29,7%). Die ANCOVA zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie in Bezug auf die mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 ($p = 0,027$). Die Hemisphäre (links, rechts) und die Kovariaten hatten jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die mittlere Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 (Tabelle 3.13).

Tabelle 3.11: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.

Nr.	Alter (Jahre)	VEN- N_{est} -Links	VEN- N_{est} -Rechts	VEN- N_{est} -Gesamt	[l-r/l+r]
K1	36	128.210	112.112	240.322	0,067
K2	47	108.670	169.905	278.574	- 0,220
K3	50	156.815	87.190	244.005	0,285
K4	51	126.148	160.879	287.027	- 0,121
K5	54	71.635	142.278	213.913	- 0,330
K6	56	241.036	135.996	377.032	0,279
K7	58	209.284	120.557	330.218	0,270
K8	60	161.284	83.528	244.813	0,318
K9	60	236.746	153.743	390.488	0,213
K10	62	163.078	285.862	448.940	- 0,273
K11	65	105.175	116.135	221.310	- 0,050
\bar{x}	54,46	155.314	142.562	273.054	0,040
SD	8,20	55.053	55.179	113.809	0,248
SE	2,47	16.599	16.637	34.315	0,075

Abkürzungen: K: Kontrollperson; VEN- N_{est} -Links: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der linken Hemisphäre; VEN- N_{est} -Rechts: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der rechten Hemisphäre; VEN- N_{est} -Gesamt: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in beiden Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

Tabelle 3.12: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.

Nr.	Alter (Jahre)	VEN- N_{est} -Links	VEN- N_{est} -Rechts	VEN- N_{est} -Gesamt	[l-r/l+r]
S1	22	64.371	151.731	216.102	- 0,404
S2	36	135.797	66.732	202.529	0,341
S3	46	75.987	41.382	117.360	0,295
S4	50	106.754	110.013	216.676	- 0,015
S5	50	109.965	253.438	363.133	- 0,396
S6	51	98.971	41.519	140.490	0,409
S7	54	35.233	47.606	82.839	- 0,149
S8	55	129.774	142.327	272.101	- 0,046
S9	57	55.937	56.114	112.051	-0,002
S10	60	96.835	127.875	224.710	- 0,138
S11	62	96.445	85.461	181.906	0,060
S12	63	88.302	77.895	166.197	0,063
\bar{x}	50,50	91.174	100.174	191.349	0,001
SD	11,67	29.413	61.954	77.091	0,260
SE	3,37	8.491	17.885	22.254	0,075

Abkürzungen: S: Patient mit Schizophrenie; VEN- N_{est} -Links: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der linken Hemisphäre; VEN- N_{est} -Rechts: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der rechten Hemisphäre; VEN- N_{est} -Gesamt: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in beiden Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

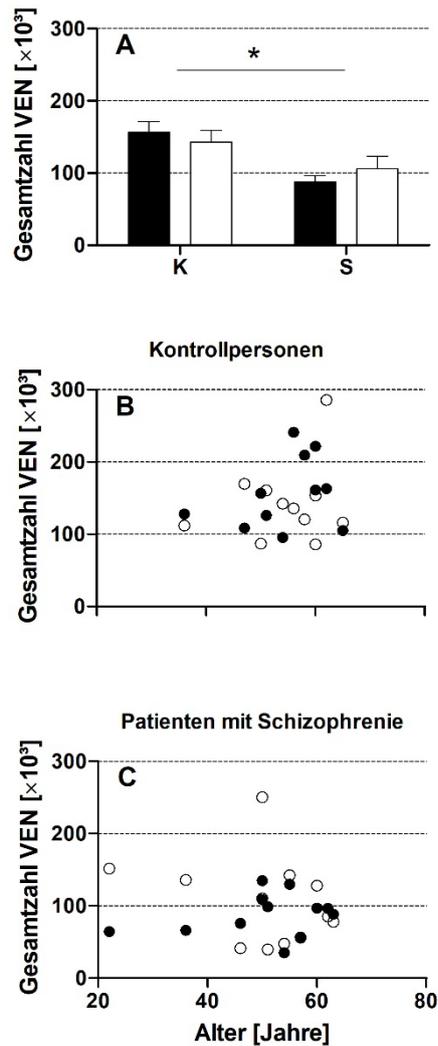


Abbildung 3.16: Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **(B)** und **(C)** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen **(B)** und der Patienten mit Schizophrenie **(C)** als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären. Der Stern in **A** zeigt den statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Mittelwerten der Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie an.

Tabelle 3.13: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable *Gesamtzahl an von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24* (Daten in den Tabellen 3.13 und 3.14 zusammengestellt).

		F	p	partielles η^2
Kovariaten	Alter	(1, 40) = 0,066	0,799	0,002
	PMI	(1, 40) = 0,011	0,917	< 0,001
	Fix	(1, 40) = 3,147	0,084	0,073
Feste Faktoren	Diagnose	(1, 40) = 5,304	0,027	0,117
	Hemisphäre	(1, 40) = 0,040	0,842	0,001

Abkürzungen: F: Testverfahren basierend auf der F-Statistik; p: Wert, nach dem sich die Signifikanz richtet; partielles η^2 : Maß für die Effektstärke; PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

3.7 Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24

In Tabelle 3.14 sind die ermittelten Werte für die Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in den Gehirnen der Kontrollpersonen zusammen mit den zugehörigen Mittelwerten, Standardabweichungen und Standardfehlern der Mittelwerte zusammengefasst; Tabelle 3.15 zeigt die entsprechenden Werte für die Patienten mit Schizophrenie. In Abbildung 3.17 sind diese Werte grafisch dargestellt.

Die Patienten mit Schizophrenie zeigten im Vergleich mit den Kontrollpersonen in beiden Hemisphären eine kleinere mittlere Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 (links: -37,5%; rechts: -15,1%). Die ANCOVA zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede in der mittleren Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie, sowie keinen signifikanten Einfluss der Kovariaten auf die mittlere Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 (Tabelle 3.16).

Tabelle 3.14: Dichte der von Economo Zellen [n/cm^3] in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen.

Nr.	Alter (Jahre)	Dichte VEN _{Links}	Dichte VEN _{Rechts}	Dichte VEN _{Gesamt}	[l-r/l+r]
K1	36	242.406	218.232	460.638	0,052
K2	47	172.200	246.101	418.301	- 0,177
K3	50	261.098	227.996	489.094	0,068
K4	51	300.507	358.127	489.094	- 0,087
K5	54	212.038	179.695	658.635	0,083
K6	56	394.827	164.749	559.576	0,411
K7	58	282.086	162.193	444.278	0,270
K8	60	318.134	166.605	484.739	0,313
K9	60	380.387	213.252	593.639	- 0,343
K10	62	242.286	494.856	737.142	- 0,343
K11	65	256.245	178.630	434.876	0,178
\bar{x}	54,46	278.282	237.312	515.696	0,095
SD	8,20	67.164	102.325	108.928	0,228
SE	2,47	20.251	30.852	32.843	0,069

Abkürzungen: K: Kontrollperson; Dichte VEN_{Links}: Dichte der von Economo Zellen (VEN) [n/cm^3] in Schicht 5 in BA 24 der linken Hemisphäre; Dichte VEN_{Rechts}: Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 der rechten Hemisphäre; Dichte VEN_{Gesamt}: Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 beider Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz der Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe der Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

3 Ergebnisse

Tabelle 3.15: Dichte der von Economo Zellen [n/cm^3] in Schicht V in Brodmann Area 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie.

Nr.	Alter (Jahre)	Dichte VEN _{Links}	Dichte VEN _{Rechts}	Dichte VEN _{Gesamt}	[l-r/l+r]
S1	22	139.519	274.785	414.275	- 0,326
S2	36	156.618	164.647	321.265	- 0,025
S3	46	131.939	66.548	198.487	0,329
S4	50	223.596	156.749	380.345	0,176
S5	50	211.656	413.277	624.933	- 0,323
S6	51	194.789	100.336	295.1.76134	0,320
S7	54	76.214	108.547	184.761	- 0,175
S8	55	272.433	293.326	565.759	- 0,037
S9	57	121.285	136.639	257.925	- 0,060
S10	60	182.779	306.619	489.397	- 0,253
S11	62	213.183	226.532	439.715	- 0,030
S12	63	163.492	169.885	333.377	- 0,019
\bar{x}	50,50	173.959	201.488	375.448	- 0,035
SD	11,67	53.363	102.681	138.088	0,221
SE	3,37	15.405	29.642	39.863	0,063

S: Patient mit Schizophrenie; Dichte VEN_{Links}: Dichte der von Economo Zellen (VEN) [n/cm^3] in Schicht 5 in BA 24 der linken Hemisphäre; Dichte VEN_{Rechts}: Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 der rechten Hemisphäre; Dichte VEN_{Gesamt}: Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 beider Hemisphären; [l-r/l+r]: Differenz der Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre, dividiert durch die Summe der Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 in der linken und der rechten Hemisphäre; \bar{x} : Mittelwert; SD: Standardabweichung; SE: Standardfehler des Mittelwerts.

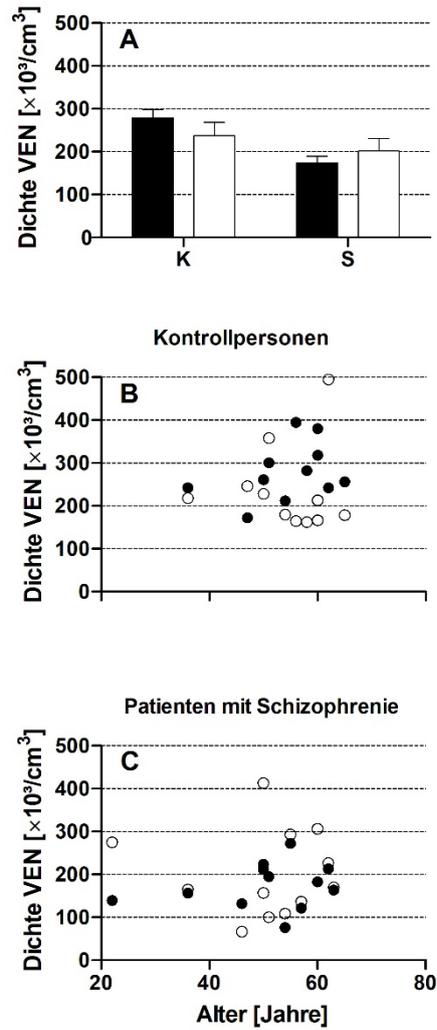


Abbildung 3.17: Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24. In **A** sind die Mittelwerte und Standardfehler der Mittelwerte der Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen („K“) und der Patienten mit Schizophrenie („S“) gezeigt; die schwarzen Balken repräsentieren Werte der linken Hemisphären und die weißen Balken Werte der rechten Hemisphären. In **B** und **C** sind die individuellen Werte der Kontrollpersonen (**B**) und der Patienten mit Schizophrenie (**C**) als Funktion des Alters gezeigt; dabei repräsentieren schwarze Punkte Werte der linken Hemisphären und weiße Punkte Werte der rechten Hemisphären.

Tabelle 3.16: Ergebnisse der ANCOVA der abhängigen Variable *Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24* (Daten in den Tabellen 3.17 und 3.18 zusammengestellt).

		F	p	partielles η^2
Kovariaten	Alter	(1, 40) = 0,039	0,844	0,001
	PMI	(1, 40) = 0,455	0,504	0,011
	Fix	(1, 40) = 1,945	0,171	0,046
Feste Faktoren	Diagnose	(1, 40) = 2,421	0,128	0,057
	Hemisphäre	(1, 40) = 0,043	0,836	0,001

Abkürzungen: F: Testverfahren basierend auf der F-Statistik; p: Wert, nach dem sich die Signifikanz richtet; partielles η^2 : Maß für die Effektstärke; PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

3.8 Verteilung der von Economo Zellen in Brodmann Area 24

In Abbildung 3.18 ist die individuelle, kaudo-rostrale Verteilung der gezählten VEN in Schicht V von BA 24 in den Gehirnen der Kontrollpersonen und der Patienten mit Schizophrenie jeweils getrennt für die linken und rechten Hemisphären dargestellt. Die Daten der individuellen Gehirne sind farbcodiert wiedergegeben. Auf der X-Achse bei $x = 0.0$ sind die Daten der jeweils am meisten kaudal gelegenen Schnitte der untersuchten SRS-Serien von Gehirnschnitten repräsentiert, und bei $x = 1.0$ die Daten der jeweils am meisten rostral gelegenen Schnitte.

Man erkennt eine Zunahme der VEN in BA 24 von kaudal nach rostral, wie sie auch von Nimchinsky et al. (1995) beschrieben wurde. Darüber hinaus zeigt Abbildung 3.18, dass der in Abbildung 3.16 gezeigte Verlust von VEN in Schicht V von BA 24 in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie hauptsächlich die rostralen Anteile von BA24 betraf.

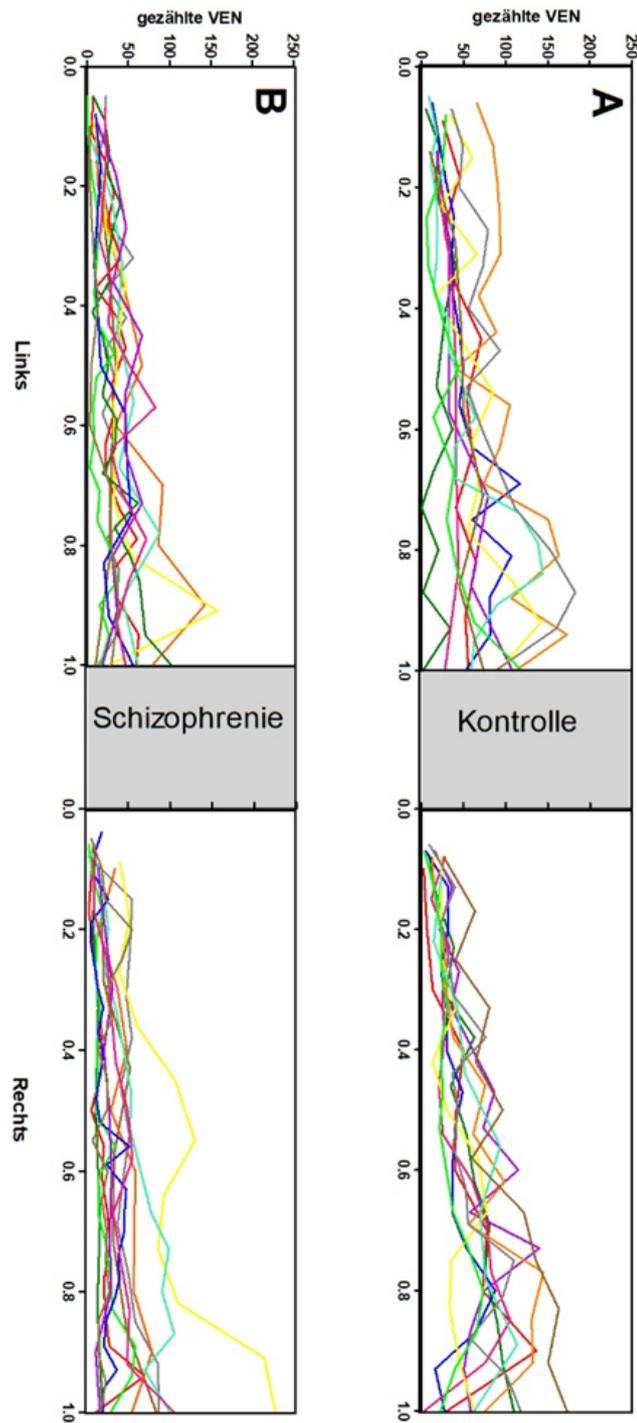


Abbildung 3.18: Individuelle, kaudo-rostrale Verteilung der gezählten von Economo Zellen in Schicht V von BA 24 in den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gehirnen der Kontrollpersonen (A) und der Patienten mit Schizophrenie (B), jeweils getrennt für die linken und rechten Hemisphären. Die Daten der individuellen Gehirne sind farbcodiert wiedergegeben. Auf der X-Achse bei $x = 0.0$ sind die Daten der jeweils am meisten kaudal gelegenen Schnitte der untersuchten SRS-Serien von Gehirnschnitten repräsentiert, und bei $x = 1.0$ die Daten der jeweils am meisten rostral gelegenen Schnitte. Man erkennt, dass der in [Abbildung 3.16](#) gezeigte Verlust von VEN in Schicht V von BA 24 in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie hauptsächlich die rostralen Anteile von BA24 betraf.

4 Diskussion

4.1 Ergebnisse zum Volumen von Brodmann Area 24 und von Schicht V in Brodmann Area 24

4.1.1 Vergleich mit Ergebnissen aus der Literatur

4.1.1.1 Vergleich mit Ergebnissen von *post mortem* Studien

Weder das mittlere Volumen von BA 24 noch das mittlere Volumen von Schicht V in BA 24 zeigten in der vorliegenden Arbeit einen signifikanten Unterschied zwischen den Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie.

Diese Ergebnisse passen gut zu Ergebnissen anderer *post mortem* Studien (Öngür et al., 1998; Highley et al., 2001; Höistad et al., 2013), die ebenfalls keine signifikanten Änderungen im mittleren Volumen von BA 24 bei PatientInnen mit Schizophrenie gefunden hatten. In einer Studie von Öngür et al. (1998) wurden stereologisch jeweils in einer Hemisphäre von 11 PatientInnen mit Schizophrenie, 14 PatientInnen mit bipolarer Störung und 9 PatientInnen mit depressiver Störung („major depressive disorder“) im Vergleich zu 11 Kontrollpersonen (alle Gruppen wurden gematcht für Alter, Geschlecht und PMI) das mittlere Volumen, die mittlere Gesamtzahl als auch die mittlere Dichte von Nerven- und Gliazellen in BA 24 ermittelt. Allerdings wurde in dieser Studie (Öngür et al., 1998) lediglich ein Teil von BA 24, nämlich der unter dem Corpus callosum gelegene subgenuale Anteil (BA 24sg), untersucht. Im Vergleich zu Kontrollpersonen zeigten die PatientInnen mit Schizophrenie ein um 10,3% (nicht signifikant) höheres Volumen. In der vorliegenden Arbeit jedoch war das mittlere Volumen von BA 24 bei den Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu den Kontrollpersonen in beiden Hemisphären niedriger (links: -14,8%; rechts: -13,9%), wenn auch nicht signifikant. Höistad et al. (2013) untersuchten an derselben Sammlung von *post mortem* Gehirnen, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, den dorsalen ACC (dACC) der linken Hemisphären von 13 Patienten mit Schizophrenie und 13 Kontrollpersonen. Dabei entspricht der dACC den nach Vogt et al. (1995) beschriebenen kaudalen Anteilen von BA 24 (BA 24'). Konkret untersuchten Höistad et al. (2013) das mittlere Volumen, die mittlere Gesamtzahl und die mittlere Dichte von Nerven- und Gliazellen in BA 24' spezifisch in den oberflächlichen und tiefen Cortex-Schichten

(Schicht II – III und Schicht V – VI), und ermittelten außerdem das Verhältnis der mittleren Dichte von Gliazellen zur mittleren Dichte von Nervenzellen (GNI = englisch: *Glia/Neuron Index*). Wie in der vorliegenden Arbeit wurde bei den Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen ein nicht signifikantes niedrigeres mittleres Volumen in den oberflächlichen und tiefen Cortex-Schichten (Schicht II – III: ca. – 6,3%; Schicht V – VI: - 9,3%) gemessen. Bei den Kontrollpersonen wiesen die oberflächlichen Cortex-Schichten V und VI ein mittleres Volumen von ca. 0,43 cm³ und bei den Patienten mit Schizophrenie ca. 0,39 cm³ auf (Verhältnis = 1,1). In der vorliegenden Arbeit wurde ein sehr ähnliches Verhältnis (1,2) des mittleren Volumens von Schicht V in BA 24 der linken Hemisphären beim Vergleich der Gehirne der Kontrollpersonen und der Gehirne der Patienten mit Schizophrenie ermittelt. Highley et al. (2001) untersuchten das Volumen des Frontallappens (Cortex und weiße Substanz) und zusätzlich den ACC in den Gehirnen von 28 Kontrollpersonen im Vergleich zu den Gehirnen von 24 PatientInnen mit Schizophrenie. Hierbei zeigte der ACC ein mittleres Volumen von 36,4 cm³ in den Gehirnen der Kontrollpersonen und 37,6 cm³ in den Gehirnen der PatientInnen mit Schizophrenie. Das mittlere Volumen des ACC zwischen den beiden Gruppen wurde über eine ANCOVA analysiert und wies, wie bereits oben erwähnt, keine signifikanten Unterschiede auf ($p = 0,812$).

Stereologisch untersuchten Bouras et al. (2001) die Dicke der einzelnen Cortex-Schichten, die mittlere Dichte und die mittlere Größe von Nervenzellen in der linken BA 24 und der linken BA 24sg in 44 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie, 21 Gehirnen von PatientInnen mit bipolarer Störung, 20 Gehirnen von PatientInnen mit depressiver Störung und 55 Gehirnen von nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen. Hierbei war die mittlere kortikale Dicke in den Schichten II, V und VI in BA 24 und die mittlere kortikale Dicke in den Schichten II, V und VI in BA 24sg in den Gehirnen der PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu den Gehirnen der Kontrollpersonen jeweils signifikant reduziert. In der vorliegenden Arbeit wurden in der Messung der ventrodorsalen Ausdehnung und in der Ausdehnung von Schicht I – VI von BA24 in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu den Gehirnen der Kontrollpersonen keine signifikanten Änderungen gefunden. Diese Daten legen nahe, dass im Gegensatz zu Bouras et al. (2001) in der vorliegenden Arbeit auch die mittlere

kortikale Dicke der Schicht V in BA 24 in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu den Gehirnen der Kontrollpersonen unverändert war.

Dem ACC übergeordnet konnte in einer *post mortem* Studie, die das mittlere Volumen von jeweils der gesamten grauen und weißen Substanz des Gehirns sowie jeweils der grauen und weißen Substanz des Frontalcortex in 14 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie und 19 Gehirnen von Kontrollpersonen untersuchte, allein im Frontalcortex eine signifikante Verringerung des Volumens um 12% in den Gehirnen der PatientInnen mit Schizophrenie festgestellt werden (Selemon et al., 2002). Der ACC wurde in dieser Studie von Selemon et al. (2002) nicht explizit erwähnt. Allerdings ist aufgrund der gewählten Topographie davon auszugehen, dass der ACC in den Volumenmessungen von Selemon et al. (2002) mitberücksichtigt wurde. In einer Studie von Gaus et al. (2022), die an derselben Sammlung von *post mortem* Gehirnen wie in der vorliegenden Arbeit erfolgte, wurden das mittlere Volumen sowie die mittlere Dichte und mittlere Gesamtzahl von Nervenzellen in der gesamten grauen Substanz, in BA 24 und in Schicht V in BA 24 ermittelt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit flossen ebenfalls in die Studie von Gaus et al. (2022) ein. In dieser Studie konnte für die graue Substanz des Gehirns („cortical gray matter“ = CGM) eine mittlere Volumenreduktion von 6,3 % in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu den Gehirnen der Kontrollpersonen ermittelt werden. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant. Es muss jedoch kein Widerspruch zwischen den Ergebnissen von Selemon et al. (2002) und den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit bzw. den Daten von Gaus et al. (2022) bestehen. Denkbar wäre, dass bei Patienten mit Schizophrenie spezifisch der Frontalcortex von einer Volumenreduktion betroffen ist, und davon wiederum andere Regionen als der ACC verstärkt betroffen sind.

4.1.1.2 Vergleich mit klinischen Bildgebungsstudien

In klinischen Bildgebungsstudien wurden neben weiteren Gehirnregionen auch eine Reduktion des mittleren Volumens des Frontallappens in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen nachgewiesen (Harrison, 1999; Wright et al., 2000; Shenton et al., 2001; Honea et al., 2005; Ellison-Wright et al., 2010; Haijma et al., 2013; Brugger et al., 2017). In einer frühen Übersichtsarbeit von

Shenton et al. (2001), bei der 193 Magnetresonanztomographie (MRT) - Studienergebnisse von 1988 bis 2000 berücksichtigt wurden, berichteten 60% dieser Studien Abnormalitäten des Frontallappens in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie (ohne Unterscheidung zwischen grauer und weißer Substanz) im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen. In einer späteren Meta-Analyse mit 317 zwischen 1998 und 2012 publizierten Studien über volumetrische Messungen von Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie gegenüber Gehirnen von Kontrollpersonen (beide Gruppen wurden jeweils für Alter und Geschlecht gematcht) verdichteten sich ebenfalls Hinweise auf eine Volumenreduzierung des Frontalcortex (mit einem aus der Meta-Analyse berechneten gewichteten Mittel der Effektstärke (Cohen's d von -0,49) sowie des ACC (Cohen's d = -0,34) (Haijma et al., 2013). Weitere Indizien für eine signifikante Volumenreduktion des ACC in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie gegenüber Gehirnen von Kontrollpersonen wurden von Baiano et al. (2007) sowie Brugger et al. (2017) berichtet. In der Meta-Analyse von Baiano et al. (2007), die sich speziell mit dem Volumen des ACC in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen befasste und die 7 Studien inkludierte, wurde eine signifikante Reduktion des Volumens des ACC in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie aufgezeigt (standardisierte Mittelwertdifferenz = - 0,70). Demgegenüber untersuchten Brugger et al. (2017) in 108 Studien in der Literatur, die bis 2016 publiziert worden waren, die gemessenen Volumina in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie und in Gehirnen von nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen mit der Fragestellung, ob in PatientInnen mit Schizophrenie eine größere interindividuelle Variabilität im Volumen besteht. Dabei stellten die Autoren fest, dass die Volumina von Temporalcortex, Thalamus, Putamen und dem dritten Ventrikel in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie gegenüber Gehirnen von nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen signifikant stärker variieren; das Volumen des ACC wies jedoch nur eine geringe interindividuelle Variabilität auf. Daraus schlossen Brugger et al. (2017), dass der ACC unabhängig von den Subtypen und der biologischen Heterogenität der Schizophrenie gleichmäßig betroffen ist und wahrscheinlich eine Kernregion für die Erkrankung darstellt. Mitelman et al. (2005) untersuchten die graue und die weiße Substanz in den einzelnen Brodmann Arealen des Gyrus cinguli in 37 Gehirnen von

PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu 37 Gehirnen von Kontrollpersonen und stellten unter anderem speziell ein reduziertes mittleres Volumen der grauen Substanz in BA 24 in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie fest. Daneben untersuchten Haznedar et al. (2004) in 27 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie, in 13 Gehirnen von PatientInnen mit schizoider Persönlichkeitsstörung und in 32 Gehirnen von nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen mittels Positronen-Emissions-Tomografie (PET) mit ¹⁸Fluor-Desoxyglukose und MRT den Gyrus cinguli. Bei dieser Studie zeigten ebenfalls die volumetrischen Messungen über das MRT eine Volumenreduktion im linken anterioren Gyrus cinguli und BA 24' (kaudale Anteile von BA 24) in den Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu den Gehirnen von Kontrollpersonen.

4.1.1.3 Vergleich der Ergebnisse von *post mortem* Studien und klinischen Bildgebungsstudien

Die in klinischen Bildgebungsstudien berichteten Ergebnisse zum ACC konnten größtenteils nicht in *post mortem* Studien bestätigt werden. Auch die vorliegende Arbeit konnte lediglich Tendenzen einer Volumenreduktion in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen aufzeigen, die jedoch statistisch nicht signifikant waren. Diese Diskrepanz in den Ergebnissen zwischen *post mortem* Studien und klinischen Bildgebungsstudien sind höchstwahrscheinlich auf unterschiedliche Methodik als auch mit der einhergehenden unterschiedlichen Bestimmung der zu untersuchenden Region(en) zurückzuführen. Darüber hinaus könnten Antipsychotika, bei denen ein Zusammenhang zwischen der Einnahme und einem Volumenverlust des Gehirns bzw. Teilen des Gehirns berichtet wurde (Ho et al., 2011; Fusar-Poli et al., 2013; Veijola et al., 2014), ebenfalls einen Einfluss auf die Ergebnisse genommen haben. Des Weiteren könnten mögliche biologische Subtypen der Schizophrenie, die unterschiedliche neuroanatomische Veränderungen präsentieren (Honnorat et al., 2019), eventuell zu den Diskrepanzen zwischen *post mortem* Studien und klinischen Bildgebungsstudien beigetragen haben.

4.1.1.4 Zusammenhang zwischen dem Alter und dem Volumen von BA 24

In der vorliegenden Arbeit zeigte die ANCOVA keinen signifikanten Einfluss der Kovariate Alter auf das mittlere Volumen von BA 24 und von Schicht V in BA 24 zwischen den Gehirnen von Kontrollpersonen und den Patienten mit Schizophrenie.

Bei gesunden Individuen scheint laut MRT-Studien ein Zusammenhang zwischen Alter und abnehmendem Volumen der grauen Substanz (Passe et al., 1997; Gur et al., 2002), als auch des gesamten Gehirns (Foteno et al., 2005) vorhanden zu sein. Bei älteren PatientInnen mit Schizophrenie konnte eine gegenüber Kontrollpersonen stärkere mittlere Volumenreduktion des gesamten Gehirns wie auch der grauen Substanz aufgezeigt werden (Hulshoff Pol et al., 2002; Veijola et al., 2014). Veijola et al. (2014) stellten dabei eine jährliche Volumenreduktion des Gehirns bei 33 PatientInnen mit Schizophrenie von 0,69% fest, die gegenüber 71 gesunden nach Alter und Geburtsort gematchten Kontrollpersonen (- 0,49%) signifikant ($p = 0,003$) stärker ausgeprägt war. Der Temporallappen schien besonders betroffen zu sein. Gemäß den Autoren dieser Studie sei ein Einfluss von Antipsychotika auf die Volumenreduktion möglich (Veijola et al. (2014).

4.2 Ergebnisse zur Gesamtzahl und Dichte der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24

4.2.1 Vergleich mit Daten aus der Literatur

Die mittlere Gesamtzahl von VEN in Schicht V in BA 24 war in der vorliegenden Arbeit in den Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu den Kontrollpersonen signifikant um ca. 28 % reduziert. Im Gegensatz dazu zeigte die mittlere Dichte von VEN in Schicht V in BA 24 in der vorliegenden Arbeit keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten mit Schizophrenie und den Kontrollpersonen.

Brüne et al. (2010) untersuchten in 20 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu 19 Gehirnen von PatientInnen mit bipolarer Störung als klinische Kontrollgruppe und in 22 Gehirnen von nach Alter gematchten Kontrollpersonen die mittlere Dichte der VEN in Schicht Vb in BA 24, entweder im rechten oder im linken ACC. Die mittlere Dichte von VEN war hierbei in den Gehirnen der PatientInnen mit

Schizophrenie im Vergleich zu den Gehirnen der nach Alter gematchten Kontrollpersonen um 7,3% reduziert, allerdings nicht signifikant. Nach Aufteilung der PatientInnen mit Schizophrenie in „early onset“ und „late onset“ (früher oder später Einsatz der ersten Psychose) zeigten die „early onset“ PatientInnen (n=4) in der Studie von Brüne et al. (2010) nur isoliert in Schicht V des rechten ACC eine von den Autoren trotz $p = 0,05$ als „signifikant“ beschriebene Reduktion der mittleren Dichte der VEN im Vergleich zu den nach Alter gematchten Kontrollpersonen (- 28, 5%; PatientInnen mit Schizophrenie: 42,91 VEN/mm³; Kontrollpersonen: 59,99 VEN/mm³). Unter Berücksichtigung der Cortex-Dicke in Schicht Vb als Kovariate war das Ergebnis tatsächlich statistisch signifikant ($p = 0,042$). Im Vergleich hierzu zeigte die vorliegende Arbeit (wenn auch nicht zwischen „early onset“ und „late onset“ Schizophrenie unterschieden wurde) eine größere, aber nicht signifikante Reduzierung der mittleren Dichte von VEN in BA 24 im ACC der linken Hemisphäre (- 37,5 %) gegenüber der rechten Hemisphäre (-15,1 %). Neben einer Korrelation zwischen der Dichte der VEN in Schicht V des ACC und des Alters der PatientInnen zum Zeitpunkt der ersten Psychose ($r = 0.663$, $p = 0,037$, $R^2 = 0,439$) berichteten Brüne et al. (2010) auch eine Korrelation zur Erkrankungsdauer ($r = - 0.629$, $p = 0,051$, $R^2 = 0,396$) im rechtem ACC. In Bezug auf diese Befunde vermuteten Brüne et al. (2010), dass ein unterschiedlicher biologischer Hintergrund bei PatientInnen mit „early onset“ Schizophrenie möglich sei, bei dem neuroentwicklungsbedingte Störungen eine größere Rolle spielen.

Womöglich der größte und gravierendste Unterschied zwischen der Studie von Brüne et al. (2010) und der vorliegenden Arbeit liegt in der verwendeten Methodik. Entgegen der hier vorliegenden Arbeit, die auf der Methode der „designed-based“ Stereologie basiert und bei der in systematischen und randomisierten Schnittserien (aus im Durchschnitt 13 Schnitten pro Hemisphäre) im Mittel 2023 *unbiased virtual counting frames* ausgewertet wurden, die die gesamte ROI abdeckten, wurden in der Studie von Brüne et al. (2010) die gesamte ROI (Schicht Vb) in lediglich 4 Schnitten pro Gehirn untersucht. Dieser Unterschied zeigt sich auch in den Mittelwerten beider Arbeiten, bei der die Mittelwerte von Brüne et al. (2010) um ca. den Faktor 4 kleiner sind (PatientInnen mit Schizophrenie: 54,5 VEN/mm³; Kontrollpersonen: 58,8 VEN/mm³) als die in der vorliegenden Arbeit (Patienten mit Schizophrenie: links 174,0 VEN/mm³; rechts 201,5 VEN/mm³; Kontrollpersonen: links 278,3 VEN/mm³; rechts 237,3

VEN/mm³). Somit sind die in der vorliegenden Arbeit ermittelten mittleren Dichten von VEN mit den von Brüne et al. (2010) beschriebenen mittleren Dichten von VEN nicht vergleichbar. Darüber hinaus sind im Gegensatz zu Brüne et al. (2010) die mittleren Dichten von VEN in der vorliegenden Arbeit unabhängig von Größe, Gestalt, Verteilung und räumlicher Orientierung, wohingegen bedingt durch die verwendete Methodik nicht ausgeschlossen werden kann, dass diese Fehlerquellen in der Arbeit von Brüne et al. (2010) eine Rolle gespielt haben könnten.

In einer weiteren Studie gingen Brüne et al. (2011) der Fragestellung nach, ob PatientInnen, die an Suizid verstorben waren, gegenüber nicht an Suizid verstorbenen PatientInnen eine höhere Dichte von VEN im ACC zeigen. Hierzu untersuchten die Autoren zunächst die mittlere Dichte von VEN entweder im rechten oder linken ACC in 20 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie und in 19 Gehirnen von PatientInnen mit bipolarer Störung (bereitgestellt, wie zuvor auch in Brüne et al. (2010), aus der *brain bank* der Stanley Foundation) und stellten dabei keinen signifikanten Unterschied fest (PatientInnen mit Schizophrenie: - 3,5%). Von den 20 PatientInnen mit Schizophrenie waren vier an Suizid verstorben, während von den 19 PatientInnen mit bipolarer Störung fünf an Suizid verstorben waren. In den Gehirnen derjenigen PatientInnen mit Schizophrenie, die an Suizid verstorben waren, war die mittlere Dichte von VEN nicht signifikant um 25,2% im Vergleich zu denjenigen Gehirnen der PatientInnen mit bipolarer Störung, die an Suizid verstorben waren, erhöht. Darüber hinaus wurden die PatientInnen unabhängig von der Diagnose in an Suizid Verstorbene (n = 9) und nicht an Suizid Verstorbene (n = 30) aufgeteilt, wobei hier Brüne et al. (2011) im Vergleich eine signifikante (p = 0,002), um 32,7% erhöhte mittlere Dichte von VEN in den Gehirnen der an Suizid verstorbenen PatientInnen feststellen konnten. Unter Berücksichtigung der Hemisphäre zeigte der rechte (n = 6), nicht aber der linke (n = 3) ACC in den Gehirnen von an Suizid verstorbenen PatientInnen eine signifikant (p = 0,042) höhere mittlere Dichte von VEN im Vergleich zu den Gehirnen der nicht an Suizid verstorbenen PatientInnen. In der vorliegenden Arbeit lag im Vergleich eine ebenfalls um 23,7% erhöhte signifikante (p = 0,042) mittlere Dichte in 3 Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie, die an Suizid verstorben waren, gegenüber 9 Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie, die nicht an Suizid verstorben waren, vor. Im rechten ACC war die mittlere Dichte von VEN in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie, die an Suizid

verstorben waren, verglichen zu den Patienten mit Schizophrenie, die nicht an Suizid verstorben waren, nicht signifikant erhöht (+ 48,27%), und im linken ACC sogar leicht erniedrigt (- 3,21%). Basierend auf ihren Ergebnissen vermuteten Brüne et al. (2011) einen Zusammenhang der VEN mit emotionaler Verarbeitung und Selbstbewertung mit negativer Selbsteinschätzung. In beiden beschriebenen Studien von Brüne et al. (2010, 2011) wurde jedoch dieselbe Methodik verwendet, die sich – wie oben bereits beschrieben – deutlich von der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Methodik unterschied.

Es sei an dieser Stelle explizit darauf hingewiesen, dass in beiden Studien von Brüne et al. (2010, 2011) keine Gesamtzahlen von VEN berichtet wurden. Die vorliegende Arbeit hat jedoch verdeutlicht, dass eine Erfassung der Gesamtzahl von Zellen neben der Dichte der untersuchten Zellen unbedingt erforderlich ist, da die mittlere Zelldichte lediglich einen Hinweis, allerdings keine endgültige Aussage über mögliche Veränderungen der Gesamtzahl von Zellen unter pathologischen Bedingungen liefern kann.

4.2.2 Weitere vergleichende Daten zur Pathologie der von Economo Zellen in der Literatur

Weitere Daten zur Pathologie von VEN im Bereich des ACC bei der Schizophrenie sind in der Literatur kaum vorhanden. Krause et al. (2017) untersuchten in Schicht Vb in BA 24b in 3 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie, in 3 Gehirnen von PatientInnen mit bipolarer Störung und in 3 Gehirnen von Kontrollpersonen (alle Gruppen für Alter gematcht) die Anzahl von Lysosomen in insgesamt 84 VEN und in 88 Pyramidenzellen. Diese Studie entdeckte im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen eine signifikant ($p = 0,024$) erhöhte mittlere Anzahl an Lysosomen in VEN im Gehirn von PatientInnen mit Schizophrenie. Hier scheinen die VEN speziell betroffen zu sein, da im Gegensatz die Pyramidenzellen keine Veränderung in der mittleren Lysosomenzahl zwischen den Gruppen zeigten. Krause et al. (2017) schlussfolgerten daraus, dass bei der Schizophrenie ein pathologischer Prozess auf zellulärer Ebene vorhanden ist, der hauptsächlich die VEN betrifft.

Abseits der Schizophrenie wurden die VEN im ACC in einer Reihe von neuropsychiatrischen Erkrankungen untersucht (Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: Auszüge aus Studien zu von Economo Zellen in neuropsychiatrischen Erkrankungen im anterioren Gyrus cinguli.

Studie	Neuropsychiatrische Erkrankung	Studienergebnisse zu VEN im ACC
Brüne et al. (2010)	Schizophrenie Bipolare Störung	- Dichte von VEN ACC o - Dichte von VEN im rechtem ACC in early onset Schizophrenie ↓
Brüne et al. (2011)	Schizophrenie Bipolare Störung	- Dichte von VEN ACC bei Suizid-Verstorbenen ↑ - Dichte von VEN in Schizophrenie o - Dichte von VEN in Bipolarer Störung o
Krause et al. (2017)	Schizophrenie Bipolare Störung	- Lysosomen in VEN bei Schizophrenie ↑ - VEN > Pyramidenzellen - Lysosomen in VEN bei bipolarer Störung o - Größe VEN vs Nervenzellen o
Nimchinskiy et al. (1995)	Morbus Alzheimer	- Gesamtzahl von VEN ↓
Gefen et al. (2018)	Morbus Alzheimer	- Dichte von VEN ↓
Kaufman et al. (2008)	CCA	- Gesamtzahl von VEN ↓
Seeley et al. (2006)	vFTD Morbus Alzheimer	- Gesamtzahl von VEN bei vFTD ↓ - Gesamtzahl von VEN bei Alzheimer o
Santillo et al. (2013)	vFTD Alzheimer	- VEN/10.000 Nervenzellen bei vFTD ↓ - VEN/10.000 Nervenzellen bei Alzheimer o

4 Diskussion

Jacot-Descombes et al. (2020)	Familiäre Dysautonomie	- Dichte von VEN ↓ - VEN/Pyramidenzellen Verhältnis ↓
Simms et al. (2009)	Autismus	- Dichte von VEN o - in 3 Autismus Fällen ↑ - in 6 Autismus Fällen ↓

VEN: von Economo Zellen; CCA: Corpus Callosum Agenesie; vFTD: verhaltensbetonte Variante der frontotemporalen Demenz; ACC: anteriorer cingulärer Cortex; ↓: reduziert; ↑: erhöht; o: keine Unterschiede zwischen Gehirnen von PatientInnen mit untersuchter neuropsychiatrischen Erkrankung und Kontrollpersonen

Dabei wurde in einer Studie (Nimchinsky et al., 1995), bei der die morphologischen Eigenschaften und die anatomische Verteilung der VEN im ACC in 4 Gehirnen von PatientInnen mit Morbus Alzheimer und in 4 Gehirnen von Kontrollpersonen untersucht wurden, ein mittlerer Verlust von 60% der VEN in den Gehirnen der PatientInnen mit Morbus Alzheimer gefunden (die Analyse von vollständigen Serien von Gehirnschnitten war in dieser Studie nicht möglich). Außerdem waren die VEN in ihrer Morphologie verändert.

Eine weitere Studie untersuchte die mittlere Dichte von VEN und Nervenzellen in BA 24 und BA 25 im ACC und konnte im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen (n = 5), eine signifikant ($p < 0,05$) reduzierte mittlere Dichte von VEN, als auch „neurofibrillary tangles“ in den VEN, in Gehirnen von PatientInnen mit Morbus Alzheimer (n = 5) ausmachen (Gefen et al., 2018).

Post mortem wurden Verminderungen in der mittleren Gesamtzahl von VEN oder der mittleren Dichte von VEN im ACC auch bei Corpus-Callosum-Agenesie (Kaufman et al., 2008), bei der verhaltensbetonten Variante der frontotemporalen Demenz (Seeley et al., 2006; Santillo et al., 2013) und bei familiärer Dysautonomie (Jacot-Descombes et al., 2020) jeweils im Vergleich zu Kontrollpersonen berichtet. Daneben fand Seeley et al. (2006), die neben der stereologischen Quantifizierung der VEN auch die Morphologie der VEN und ihr immunohistochemisches Färbemuster untersuchten, abweichende

Morphologien von VEN in der verhaltensbetonten Variante der frontotemporalen Demenz.

Bei Autismus wurde eine Beteiligung der VEN vermutet (Allman et al., 2010), konnte aber in Studien nicht bestätigt werden. Simms et al. (2009) ermittelten die mittlere Dichte von Nervenzellen und von VEN, als auch die Fläche und Volumen von Nervenzellen in BA 24 a, b und c, in Gehirnen von PatientInnen mit Autismus (n = 9) im Vergleich zu nach Alter gematchten Kontrollpersonen (n = 4). Bei 3 von 9 Autismus-Fällen wurde eine Erhöhung der mittleren Dichte von VEN im ACC, bei den restlichen 6 Autismus-Fällen hingegen eine Reduzierung der mittleren Dichte von VEN gegenüber nach Alter gematchten Kontrollpersonen gefunden (Simms et al., 2009).

4.2.3 Vergleich mit Daten aus der Literatur zur Verteilung der von Economo Zellen

Die vorliegende Arbeit zeigte eine Zunahme der VEN im ACC von kaudal nach rostral. Dieser Gradient in der VEN-Verteilung ([Abbildung 3.18](#)) wurde zuvor schon in einer Studie über die morphologischen Eigenschaften und die anatomische Verteilung der VEN im ACC von Nimchinsky et al. (1995) (siehe oben) beschrieben, als auch in der oben beschriebenen Studie von Brüne et al. (2010). Darüber hinaus untersuchten zwei Studien die unterschiedliche Architektur und Verteilung verschiedenster Rezeptorklassen in den Subregionen des ACC in 18 *post mortem* Gehirnen von Personen ohne neurologische oder psychiatrische Erkrankungen (Palomero-Gallagher et al., 2008; Vogt, 2009). Hierbei konnte ein Gradient bzw. eine unterschiedliche Verteilung der verschiedenen Rezeptorklassen von Neurotransmittern zwischen dem rostralen und dem kaudalen Bereich der BA 24 gezeigt werden. Aus diesen Ergebnissen schlossen die Autoren dieser Studien eine unterschiedliche neurochemische Architektur im rostralem und kaudalem Bereich von BA 24, wodurch sich zwei unterschiedliche Subregionen (kaudaler ACC und midcingulärer Cortex (MCC)) als eigene strukturelle und funktionelle Einheiten ergaben (Vogt, 2009) ergaben. Eine Unterscheidung zwischen MCC und ACC wurde darüber hinaus durch unterschiedliche Konnektivität (der parietale Cortex steht nur mit dem MCC in Verbindung) und der vermuteten primären Funktion des MCC in der Prämotorik bestärkt (Vogt, 2009). Die unterschiedliche Verteilung der VEN könnte

demnach, wie die Rezeptorverteilung, einer strukturellen und funktionellen Einteilung von BA 24 in rostral und kaudal unterliegen.

4.2.4 Von Economo Zellen: Charakteristika und mögliche funktionelle Aspekte

Die Funktion der VEN im ACC ist bis heute nicht gänzlich geklärt. In der Literatur werden zwei wesentliche Aspekte der VEN diskutiert: VEN sind Projektionsneurone (Nervenzellen, die Informationen in entfernte Areale des Zentralnervensystems entsenden), und VEN sind funktionell in die soziale Kognition eingebunden. In den folgenden Abschnitten wird näher auf die einzelnen Punkte dieser Aspekte eingegangen.

4.2.4.1 Von Economo Zellen als Projektionsneurone

Mehrere Studien klassifizierten die VEN als Projektionsneurone (Vogt et al., 1995; Allman et al., 2010; Butti et al., 2013; Cobos et al., 2015; Hodge et al., 2020). Auf der einen Seite erfolgten immunhistochemische und fluoreszente Färbungen des Gyrus cinguli vom Menschen (4 Kontrollpersonen, 4 PatientInnen mit Morbus Alzheimer), bei denen weitere Merkmale der VEN identifizieren wurden (Nimchinsky et al., 1995; Butti et al., 2013). Hierbei wurde ein lipophiler fluoreszenter Tracer verwendet, Dil (1,1'-Diocetadecyl- 3,3,3',3'- tetramethylindo- carbocyaninperchlorat), der Nervenfasern sowohl anterograd (vom Nervenzellkörper entlang der Nervenfasern) als auch retrograd (von der Nervenfasern rückläufig zum Nervenzellkörper) anfärben kann (Mufson et al., 1990). Nimchinsky et al. (1995) injizierten den fluoreszenten Farbstoff Dil in das Cingulum, welches retrograd einige VEN anfärbte, was für die Eigenschaft der VEN als Projektionsneurone spricht. Unterstützt wurde dieses Ergebnis durch eine immunhistochemische Untersuchung des Neurofilament Triplet Protein, welches in zahlreichen VEN lokalisiert wurde und die VEN als pyramidenzellähnlich, aber trotzdem eigenständige Zellgruppe, identifizierte (Nimchinsky et al., 1995). Die Calciumbindenden Proteine Parvalbumin, Calbindin und Calretinin wurden in den VEN immunhistochemisch nicht nachgewiesen (Nimchinsky et al., 1995), wodurch sich die VEN von den GABAergen Nervenzellen (sogenannte Interneurone) abheben, bei denen diese Proteine vorkommen (Cowan et al., 1990; Andressen et al., 1993; Barinka et al.,

2010). Auf der anderen Seite wurden molekularbiologische Studien durchgeführt, um die VEN weiter zu entschlüsseln (Cobos et al., 2015; Hodge et al., 2020). Dabei zeigte sich, dass die VEN im ACC sowie im frontoinsulären Cortex in 6 *post mortem* Gehirnen von Personen, die keine Dokumentation von neurologischen Symptomen oder Verletzungen des Gehirns aufwiesen, Transkriptionsfaktoren exprimierten, die im Zusammenhang mit der Differenzierung von subcerebralen Projektionsneuronen stehen (Cobos et al., 2015). Eine RNA-Sequenzierung von isolierten Zellkernen aus Schicht V des frontoinsulären Cortex von 5 *post mortem* Gehirnen von neurologisch und neuropsychiatrisch gesunden Personen stellte eine starke Übereinstimmung des gefundenen Clusters der VEN zu denen von extratelenzephalischen, exzitatorischen Nervenzellen der Maus fest (Hodge et al., 2020).

Die Klärung der Frage nach den genauen Projektionen der VEN steht weiterhin noch aus (Allman et al., 2010). Cobos et al. (2015) und Hodge et al. (2020) vermuteten eine Projektion zu subcortikalen Gebieten, mit einer Verbindung von autonomen Zentren des Cortex zum Hirnstamm oder Rückenmark (Cobos et al., 2015).

Weiterhin wurde bei der immunohistochemischen Quantifizierung des Proteins „disrupted in schizophrenia 1“ (DISC 1) im frontoinsulären Cortex in zwei Gehirnen von Personen von einer bevorzugten Expression von DISC 1 in den VEN berichtet (Allman et al., 2010). DISC 1 steht im Zusammenhang mit der neuronalen Entwicklung (Millar et al., 2003; Kim et al., 2009), darunter auch mit der Entwicklung der Ausläufer der Nervenzellen (Miyoshi et al., 2003; Xia et al., 2016) und steht höchstwahrscheinlich in Verbindung zu der charakteristischen dendritischen Architektur der VEN (Allman et al., 2010; Butti et al., 2013). Außerdem wird DISC 1 als genetischer Risikofaktor für die Schizophrenie angesehen (Farrell et al., 2015), bei der eine Veränderung von DISC 1 mit einer abnormalen Kognition assoziiert wird (Chubb et al., 2008). Eine Untersuchung der dendritischen Architektur der VEN in mit der Golgi-Methode (eine Silberfärbung, speziell für die strukturelle Analyse des Gehirns (Angulo et al., 1996)) gefärbten Schnitten des rechten ACC und des frontoinsulären Cortex eines *post mortem* Gehirns zeigte, dass die VEN gegenüber den Pyramidenzellen eine weniger stark ausgeprägte dendritische Architektur besitzen (Watson et al., 2006). Watson et al. (2006) nehmen an, dass die VEN im Vergleich zu den Pyramidenzellen in Schicht V weniger Informationen

empfangen und verarbeiten, und nur einen Bereich der „Minicolumns“ (ein Paket aus senkrecht ausgerichteten Zellen, die eine funktionelle Einheit bilden) verarbeiten. Laut weiteren Studien, in der die VEN strukturell mit der Golgi-Methode in BA 24 in 5 *post mortem* Gehirnen von Männern frei von neurologischen oder psychiatrischen Erkrankungen (Banovac et al., 2019) und in Schicht V in ACC und MCC in 4 *post mortem* Gehirnen von Personen ohne vaskuläre oder neurodegenerative Erkrankungen (Correa-Júnior et al., 2020) untersucht wurden, sind die VEN in ihrer dendritischen Morphologie teilweise deutlich heterogen. Sie können somit basierend auf ihrer totalen dendritischen Länge in große oder kleine VEN (Banovac et al., 2019) oder basierend auf ihrem Dendritenbaum und der Morphologie der dendritischen Spines in drei Untergruppen unterteilt werden (Correa-Júnior et al., 2020). Correa-Júnior et al. (2020) vermuteten hinter der heterogenen dendritischen Morphologie eine unterschiedliche räumliche und zeitliche synaptische Verarbeitung. Dies wiederum könnte als weitere Eigenschaft eines Netzwerkes für komplexe Informationsverarbeitung beim Menschen gesehen werden. Diese Art der komplexen Informationsverarbeitung würde sich laut Correa-Júnior et al. (2020) zum Beispiel bei sozialer Interaktion widerspiegeln. In der vorliegenden Arbeit wurden die Schnitte mit Galloxyanin-Chromalaun gefärbt, wodurch sich die dendritische Architektur der VEN und somit ihre Einteilung in Untergruppen nicht nachvollziehen ließ. Zukünftig könnte man jedoch der Fragestellung nachgehen, ob die verminderte reduzierte mittlere Gesamtzahl von VEN in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie eine bestimmte morphologische Untergruppe von VEN betrifft.

4.2.4.2 Von Economo Zellen und soziale Kognition

Hinter den festgestellten biochemischen Eigenschaften der VEN wird ebenfalls ein Bezug zur sozialen Kognition gesehen (Allman et al., 2005; Allman et al., 2010; Stimpson et al., 2011; Butti et al., 2013). Die von den VEN exprimierten Rezeptoren für Vasopressin 1a, Dopamin D3 und Serotonin 2b lassen auf eine Rolle bei sozialen Bindungen vermuten, aber auch bei der Antizipation von Belohnung und Bestrafung (Allman et al., 2005). Serotonin 2b Rezeptoren sind im Gastrointestinaltrakt stark vertreten, wo sie an der Förderung der Peristaltik beteiligt sind (Borman et al., 2002). Aufgrund der auch starken Expression der Serotonin 2b Rezeptoren in den VEN und dem Zusammenspiel der

Serotonin 2b und Dopamin D3 Rezeptoren in der Antizipation von Belohnung und Bestrafung vermuten Allman et al. (2005) eine Verbindung zum „Bauchgefühl“ bzw. zur Intuition.

Die Größe der VEN deutet nach Allman et al. (2005) außerdem auf schnell leitende Axone hin. Hierdurch wird insgesamt den VEN eine Rolle in der schnellen intuitiven Erfassung und Einschätzung komplexer sozialer Situationen (mit nachfolgender intuitiver Adaption des Verhaltens) zugesprochen. Die in Allman et al. (2010) in den VEN im frontoinsulären Cortex in zwei Gehirnen von an Myokardinfarkt verstorbenen Männern gefundene immunohistochemische Expression von den Peptiden Neuromedin B (NMB) und Gastrin Releasing Peptide (GRP) sind an der Regulierung der Verdauung und des Appetits beteiligt, womit hier eine weitere Verknüpfung der VEN zum Gastrointestinaltrakt und dem „Bauchgefühl“ bestehen könnte (Butti et al., 2013). In einer weiteren Studie zeigten insbesondere die VEN in Schicht V im ACC in *post mortem* Gehirnen von Personen ohne neurologische oder psychiatrische Erkrankungen im Vergleich zu *post mortem* Gehirnen von Menschenaffen eine prozentual höhere immunohistochemische Expression von NMB, von Transkriptionsfaktor ATF3 und Interleukin 4 Rezeptor (IL4R α) (Stimpson et al., 2011). ATF3 spielt höchstwahrscheinlich eine Rolle in der Schmerzsensitivität, IL4R α in der Immunfunktion und allergischen Reaktionen. Diese biochemische Zusammensetzung der VEN leistet vermutlich einen Beitrag zur Selbstwahrnehmung von eigenen Körperzuständen, die wiederum hilfreich für die Bewertung von Emotionen innerhalb sozialer Interaktionen sein könnten. Insgesamt schlossen Stimpson et al. (2011), dass diese biochemischen Modifikationen der VEN bei Menschen zu einer erhöhten interozeptiven Sensibilität führen und wesentlich zur sozialen Intelligenz beitragen könnten.

Darüber hinaus werden die VEN-enthaltenen Areale des Gehirns mit sozialen, kognitiven und emotionalen Funktionen assoziiert (Allman et al., 2010; González-Acosta et al., 2018). Zunächst wurden die VEN in Gehirnen von Menschen, Menschenaffen (Nimchinsky et al., 1995; Nimchinsky et al., 1999; Allman et al., 2010) und weiteren stark sozialen Tieren (Elefanten und Wale (Butti et al., 2009; Hakeem et al., 2009)) vorgefunden. Hieraus folgte die Vermutung, dass die VEN aus einem Selektionsdruck heraus entstanden, um das soziale Überleben bei den phylogenetisch verschiedenen

Arten zu gewährleisten (Butti et al., 2013). Allerdings zeigte sich, dass in *post mortem* Gehirnen von verschiedenen Tierspezies (z.B. Schwein, Schaf, Kuh) die stereologisch quantifizierten VEN nicht nur auf stark enzephalisierte oder sozial komplexe Arten beschränkt sind (Raghanti et al., 2015), weswegen die Idee von den VEN als „Nervenzellen, die uns menschlich machen“ (Butti et al., 2013) zu eng gefasst war. Treffender erscheint das schon zuvor aufgestellte Konzept von VEN, die ein spezialisiertes Netzwerk bilden, dessen Funktion von der jeweiligen Cortexregion bestimmt wird (Butti et al., 2013). Darüber hinaus scheinen die VEN eine aus der Evolution neu hervorgegangene neuronale Spezialisierung zu sein (Nimchinsky et al., 1999). In diesem Zusammenhang wurde vermutet, dass hierdurch die VEN insbesondere für neuropsychiatrischen Erkrankungen des Menschen anfällig sind (Allman et al., 2005; Butti et al., 2013).

Die bereits oben beschriebene Vulnerabilität der VEN in neuropsychiatrischen Erkrankungen (Kapitel 4.2.2, Tabelle 4.1) betreffen insbesondere Erkrankungen mit Defiziten in der sozialen Kognition. Dieser Umstand kann als ein weiteres, indirektes Indiz für die Rolle der VEN bei der sozialen Kognition gesehen werden. Die Corpus-Callosum-Agenesie und die verhaltensbetonte Variante der frontotemporalen Demenz sind mit einer Beeinträchtigung im sozialen und emotionalen Verhalten verknüpft (Seeley et al., 2006; Kaufman et al., 2008). Die familiäre Dysautonomie zeigt ebenfalls Verhaltensstörungen mit, wie auch bei Autismus auftretendem, stereotypischem Verhalten und emotionaler Starrheit (Jacot-Descombes et al., 2020). Insbesondere wird in der unterschiedlichen symptomatischen Ausprägung der Corpus-Callosum-Agenesie und der chirurgischen Sektion des Corpus callosum eine Verbindung zwischen den VEN und der sozialen Kognition gezogen (Allman et al., 2010). Soziale Defizite zeigen sich hier nur in der Corpus-Callosum-Agenesie, jedoch nicht bei einer chirurgischen Sektion des Corpus callosum (Shorvon, 2005). Auch in der Schizophrenie äußern sich soziale Defizite in Form von Schwierigkeiten, Emotionen und Gedanken anderer Menschen abzuleiten und emotional auf andere Menschen zu reagieren (Green et al., 2015). Die in dieser Arbeit aufgezeigte Verminderung der VEN in Schicht V in BA 24 unterstützt somit die Diskussion um die Beteiligung der VEN bei der sozialen Kognition.

4.3 Konnektivität

4.3.1 Gesamtüberblick über die Histopathologie von Schicht V in Brodmann Area 24

Die vorliegende Arbeit war Teil eines größeren Projekts (Gaus et al., 2022), das auf einer gemeinsamen Hypothese basierte. Neben der Ermittlung des mittleren Volumens von Schicht V in BA 24 sowie der mittleren Gesamtzahl und der mittleren Dichte der VEN in Schicht V in BA 24 in 12 Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu 11 Gehirnen von Kontrollpersonen (jeweils rechte und linke Hemisphäre) (vorliegende Arbeit) wurden in denselben Gehirnen auch die mittlere Gesamtzahl und die mittlere Dichte von Nervenzellen in der grauen Substanz („cortical gray matter“, CGM), in BA 24 sowie in Schicht V in BA 24 ermittelt. Darüber hinaus wurden die mittleren Volumina dieser ROIs bestimmt. Die Ergebnisse der ANCOVA aus Gaus et al. (2022) sind für den Gesamtüberblick in Tabelle 4.2 gezeigt.

Tabelle 4.2: p-Werte der Kovarianzanalyse (ANCOVA)

ROI	Variable	Alter	PMI	Fix	Diagnose	Hemisphäre
CGM	Volumen	0,072	0,090	0,480	0,095	0,802
CGM	Gesamtzahl von Nervenzellen	0,035	<0,001	0,064	0,007	0,179
CGM	Dichte von Nervenzellen	<0,001	<0,001	0,070	0,041	0,127
BA 24	Volumen	0,435	0,734	0,200	0,111	0,173
BA 24	Gesamtzahl von Nervenzellen	0,696	0,409	0,265	0,078	0,101
BA 24	Dichte von Nervenzellen	0,097	0,365	0,007	0,773	0,295
BA 24 Schicht V	Volumen	0,693	0,502	0,377	0,065	0,221
BA 24 Schicht V	Gesamtzahl von Nervenzellen	0,442	0,057	0,603	0,002	0,113
BA 24 Schicht V	Dichte von Nervenzellen	0,041	0,025	0,398	0,024	0,434
BA 24 Schicht V	Gesamtzahl von VEN	0,799	0,917	0,084	0,027	0,842
BA 24 Schicht V	Dichte von VEN	0,844	0,504	0,171	0,128	0,836

p-Werte < 0,05 sind fett gedruckt wiedergegeben. ROI: *region of interest*; CGM: cortical gray matter; BA 24: Brodmann Areal 24. PMI: *post mortem* Intervall; Fix: Fixationszeit.

Es zeigte sich, dass in denselben Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie nicht nur die Gesamtzahl der VEN in Schicht V in BA 24 reduziert war, sondern auch die mittlere Gesamtzahl ($p = 0,007$) sowie die mittlere Dichte von Nervenzellen ($p = 0,041$) im CGM (Gaus et al., 2022). Darüber hinaus wurde eine signifikante Reduzierung der mittleren Gesamtzahl ($p = 0,02$) und der mittleren Dichte ($p = 0,024$) von Nervenzellen in Schicht V in BA 24 in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu den

Gehirnen der Kontrollpersonen festgestellt. In BA 24 insgesamt fanden sich jedoch keine signifikanten Veränderungen der genannten Variablen zwischen den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie gegenüber den Gehirnen der Kontrollpersonen (Gaus et al., 2022).

Die global gefundene, verminderte mittlere Dichte von Nervenzellen im CGM im Gehirn von Patienten mit Schizophrenie ist vermutlich eine Konsequenz der reduzierten Gesamtzahl von Nervenzellen. Hierbei bleibt unklar, ob der Prozess des Nervenzellverlustes diffus den gesamten Cortex betrifft oder in einzelnen Cortexregionen auftritt. BA 24 scheint an dieser Stelle nicht von diesem globalen Nervenzellverlust betroffen zu sein. Der in der vorliegenden Arbeit und in Gaus et al. (2022) beschriebene Verlust von VEN (- 28,3%) und Nervenzellen (- 21,1%) spezifisch in Schicht V in BA 24 in Gehirnen von Patienten mit Schizophrenie lässt auf ein isoliertes pathologisches Geschehen in diesem Bereich bei der Schizophrenie schließen. In beiden Arbeiten zeigte die ANCOVA keinen Effekt des Alters auf die Gesamtzahl von Nervenzellen ($p = 0,442$) sowie auf die Gesamtzahl der VEN ($p = 0,799$) in Schicht V in BA 24 (Tabelle 4.2). Somit scheint das Alter nicht mit dem Verlust von VEN und Nervenzellen in Schicht V in BA 24 assoziiert zu sein, was gegebenenfalls die Hypothese eines neurodegenerativen Prozesses bei der Schizophrenie unterstützt hätte.

Höistad et al. (2013) wiesen bereits zuvor auf die Möglichkeit einer region- und schichtspezifischen Pathologie bei der Schizophrenie hin. In dieser Studie wurde, wie zuvor beschrieben, unter anderem stereologisch die mittlere Gesamtzahl und die mittlere Dichte von Nerven- und Gliazellen im linken dACC (BA 24') untersucht, wobei hier eine höhere Dichte von Gliazellen in den Schichten V-VI gegenüber den Schichten II-III im dACC in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie ($n = 13$) als auch in den Gehirnen der Kontrollpersonen ($n = 13$) vorlag. Eine signifikante Veränderung in der Gesamtzahl und Dichte von Nervenzellen zwischen den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie und den Gehirnen der Kontrollpersonen wurde jedoch nicht gemessen.

Benes et al. (1986) untersuchten unter anderem die mittlere Dichte von Nervenzellen in den einzelnen Schichten von BA 24 im ACC in jeweils 10 *post mortem* Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie und Kontrollpersonen, und fanden spezifisch in Schicht V eine signifikant ($p = 0,08$) reduzierte mittlere Dichte von

Nervenzellen bei der Schizophrenie. Weiterhin konnte *post mortem* in Schicht V des linken BA 24 c eine signifikant ($p < 0,025$) erhöhte mittlere Dichte an Parvalbumin-immunreaktiven Interneuronen in 5 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu 5 Kontrollpersonen gemessen werden (Kalus et al., 1997). Allerdings wurde auch im Gegensatz hierzu in Schicht II-VI in BA 24 in 18 *post mortem* Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie eine signifikante (Schicht V mit $p < 0,01$) Verminderung der mittleren Dichte von Interneuronen gegenüber 12 *post mortem* Gehirnen von Kontrollpersonen gefunden (Benes et al., 1991). Die Ergebnisse aus den Studien, die überwiegend über die Dichte von Nervenzellen in den einzelnen Schichten in BA 24 berichten (Tabelle 4.3), sind insgesamt recht uneinheitlich.

Tabelle 4.3: Ausschnitt von neuropathologischen Studien in Brodmann Area 24

Studie	Area	Ergebnisse der Studien für Gehirne von PatientInnen mit Schizophrenie
Benes et al. (1986)	BA 24	- Dichte von Nervenzellen L V ↓ - Dichte von Gliazellen o - Nervenzell-Glia-Ratio o - Nervenzellgröße L III & VI o
Benes et al. (1991)	BA 24	- Dichte von Nervenzellen L I-VI o - Dichte von Interneuronen L II- VI ↓ - Dichte von Gliazellen L I – VI o
Kalus et al. (1997)	BA 24c (hier Zählverfahren) BA24 (hier Immunhistochemie)	- Dichte von Nervenzellen L II-VI o - Parvalbumin-positive Dichte von Interneuronen in LVa und LVb ↑
Öngür et al. (1998)	BA 24sg	- Dichte von Nervenzellen o - Gesamtzahl von Nervenzellen o - Dichte von Gliazellen o

4 Diskussion

		<ul style="list-style-type: none"> - Gesamtzahl von Gliazellen o - Verteilung der Nervenzellgröße verändert: 2.500-3.500 μm^3 ↓, 1.000-1.500 μm^3 ↑ - Volumen o
Bouras et al. (2001)	BA 24 a, b BA 24sg a	<ul style="list-style-type: none"> - Dichte von Nervenzellen o - Diameter Dichte von Nervenzellen in BA 24 LV und in BA 24sg LVI ↓ - Dicke in in BA 24 L II - VI ↓ und BA 24sg L II, V, VI ↓
Cotter et al. (2001)	BA 24b	<ul style="list-style-type: none"> - Dichte von Nervenzellen o - Dichte von Gliazellen L VI (↓) - Nervenzellgröße o
Chana et al. (2003)	BA 24c	<ul style="list-style-type: none"> - Dichte von Nervenzellen LV & VI ↑ - Nervenzellgröße LV ↓ - Dichte von Gliazellen LI-VI o - Gliazellgröße LI-VI o
Stark et al. (2004)	BA 24	<ul style="list-style-type: none"> - Gesamtzahl von Nervenzellen o - Dichte von Nervenzellen o - Gesamtzahl von Gliazellen ↓ - Dichte von Gliazellen o - Volumen o
Höistad et al. (2013)	BA 24'	<ul style="list-style-type: none"> - Gesamtzahl von Nervenzellen o - Dichte von Nervenzellen o - Gesamtzahl von Gliazellen o - Dichte von Gliazellen o - Volumen o

Area: Region die in der Studie untersucht wurde; BA: Brodmann Area; ↓: reduziert; ↑: erhöht; o: keine Unterschiede zwischen PatientInnen mit Schizophrenie und Kontrollpersonen; BA 24': Brodmann Area nach Vogt et al. (1995).

Neben der oben genannten Reduzierung der mittleren Dichte von Nervenzellen in Schicht V in *post mortem* Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie (Benes et al., 1986), konnte auch eine um 33 % signifikante Erhöhung der mittleren Dichte von Nervenzellen in Schicht V ($p = 0,003$) und VI ($p = 0,06$) in BA 24c in 15 *post mortem* Gehirnen (jeweils eine Hemisphäre) von PatientInnen mit Schizophrenie verglichen zu 15 *post mortem* Gehirnen (jeweils eine Hemisphäre) von Kontrollpersonen festgestellt werden (Chana et al., 2003). Viele weitere Studien zeigten keine Veränderungen in der mittleren Dichte von Nervenzellen in Schicht V in BA 24 zwischen *post mortem* Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie und Kontrollpersonen auf (Benes et al., 1991; Kalus et al., 1997; Bouras et al., 2001; Cotter et al., 2001; Höistad et al., 2013). Mögliche Gründe für die Diskrepanzen zwischen den Studien könnte zum einem die unterschiedliche Auswahl der ROI sein, zum anderem die angewandte Form der stereologischen Untersuchung. BA 24 wurde zwar als Untersuchungsgegenstand ausgewählt, aber letztlich wurden teilweise nur Subregionen (z.B. BA 24b oder BA 24c) ausgewertet (Kalus et al., 1997; Cotter et al., 2001; Chana et al., 2003). Hinsichtlich der angewendeten stereologischen Methodik, wendeten außerdem einige Studien keine „designed-based“ Stereologie an (z.B. Benes et al. (1986); Benes et al. (1991); Chana et al. (2003)).

Für BA 24 konnten 2 weitere *post mortem* Studien in jeweils einer Hemisphäre in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie ($n = 11$ bzw. 12 in Stark et al. (2004)) im Vergleich zu Gehirnen von Kontrollpersonen ($n = 11$ bzw. 14 in Stark et al. (2004)) (Tabelle 4.3) keine signifikanten Unterschiede der mittleren Gesamtzahl von Nervenzellen feststellen (Öngür et al., 1998; Stark et al., 2004). Weitere Studien in der Schizophrenie zur mittleren Gesamtzahl von Nervenzellen in BA 24 und speziell in Schicht V in dieser Region konnten nicht ausfindig gemacht werden, da sich die Studien überwiegend auf die mittlere Dichte von Nervenzellen konzentrierten.

Darüber hinaus untersuchten Bouras et al. (2001) auch die mittlere Größe von Nervenzellen, als auch die Dicke des Cortex in jeweils den einzelnen Schichten im linken BA 24 und im linken BA 24sg in 44 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie gegenüber 55 Gehirnen von nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen. Hier war die mittlere Größe der Neuronen in Schicht V in BA 24 und auch in BA 24sg in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie reduziert (Bouras et al., 2001). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Öngür et al. (1998), welche auf Grundlage ihrer Ergebnisse eine Schrumpfung der Nervenzellen in BA 24 in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie vermuten. Die Ergebnisse dieser *post mortem* Studie zeigten unter anderem keine Unterschiede im Volumen von BA24sg und in der mittleren Gesamtzahl von Nervenzellen in BA 24sg in 11 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie verglichen zu 11 Gehirnen von Kontrollpersonen auf, jedoch zeigten sie eine signifikante ($p = 0,03$ und $0,025$) Reduzierung der Zellen mit einem großen Volumen von $2.500 - 3.000 \mu\text{m}^3$ und $3.000 - 3.500 \mu\text{m}^3$ in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie auf. Da Bouras et al. (2001) ebenfalls eine signifikante ($p < 0,05$ und für Schicht V in BA 24 $p < 0,01$) Reduzierung der Dicke der Cortexschichten (Schicht II – VI in BA 24 und Schicht II, V-VI in BA 24sg) vorfanden, wird die Größenabnahme der Nervenzellen mit als Grund für die Dickenabnahme und außerdem als mögliche wichtige zytoarchitektonische Anomalie in der Schizophrenie angesehen.

Insgesamt wurde keine eindeutige Pathologie in Schicht V in BA 24 gefunden, allerdings zeigt sich, dass verschiedene pathologische Prozesse in BA 24 (Tabelle 4.3) in der Schizophrenie stattfinden. Zusammen mit den Ergebnissen dieser Doktorarbeit kommt Schicht V in BA 24 in der Pathologie der Schizophrenie eine gesonderte Rolle zu.

4.3.2 Bedeutung der histopathologischen Befunde von Schicht V in Brodmann Area 24 für die Konnektivität

Schicht V gilt als „output“ Schicht des Cortex, von wo aus Informationen an weitere Cortexgebiete weitergeleitet werden (Feldmeyer et al., 2000; Palomero-Gallagher et al., 2015). Der cinguläre Cortex besitzt eine Vielzahl von Verbindungen mit frontalen, temporalen, okzipitalen und parietalen Arealen (Vogt, 2009). Die Vielzahl an kortikalen

4 Diskussion

Verbindungen zeigt sich auch in BA 24 als Teil des cingulären Cortex (Abbildung 4.1, Abbildung 4.2).

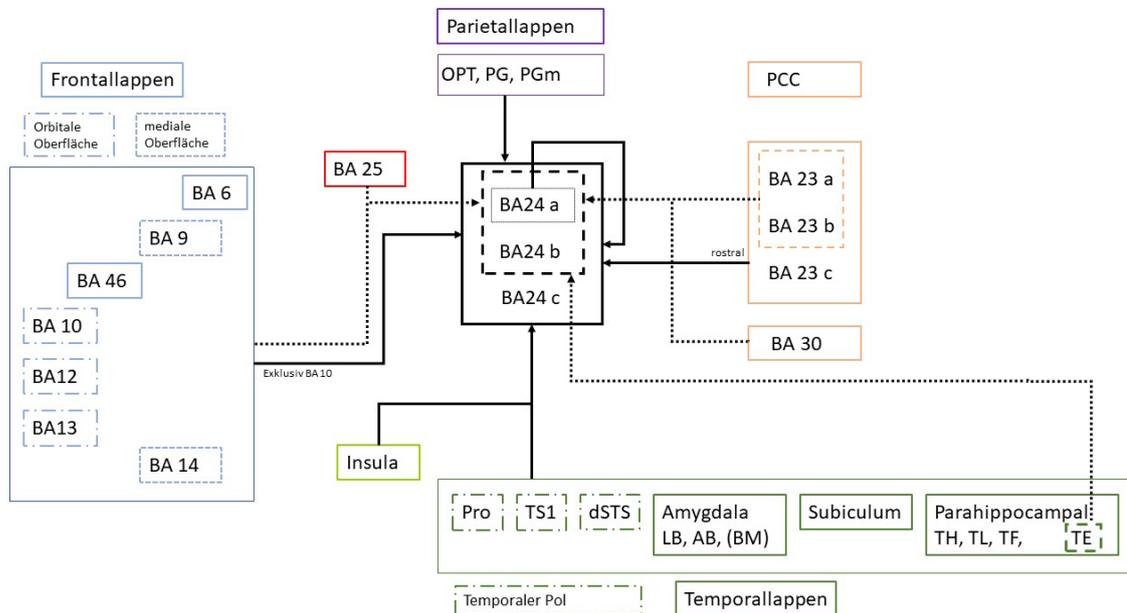


Abbildung 4.1: Afferenzen von Brodmann Area (BA) 24 bei Rhesusaffen (modifiziert nach Vogt et al. (1987)). Aus dem Frontallappen kommen Afferenzen unter anderem aus dem orbitalen Cortex (BA 10, BA 12, BA 13), dem medialen Cortex (BA 9, BA 14) sowie BA 6 und BA 46. Aus dem Parietallappen kommen Afferenzen vom posterioren parietalen Cortex (Area Opt), Area PG und PGm. Aus dem Temporallappen kommen Afferenzen von den Arealen Pro, TS1 und dorsale Bank des Sulcus temporalis superior (dSTS), von laterobasalen (LB), akzessorisch basalen (AB) und teilweise auch von basomedialen (BM) Kerngebieten der Amygdala, vom Subiculum und von den parahippocampalen Arealen TH, TL, TF und TE. Weitere Afferenzen liefern BA 25 (neben BA 24 ein weiterer Teil des anterioren cingulären Cortex), die Insula und der posteriore cinguläre Cortex (PCC).

* Hier wurden bei einer Injektion des Tracers in den kaudalen Anteilen von BA 24 keine Neurone markiert

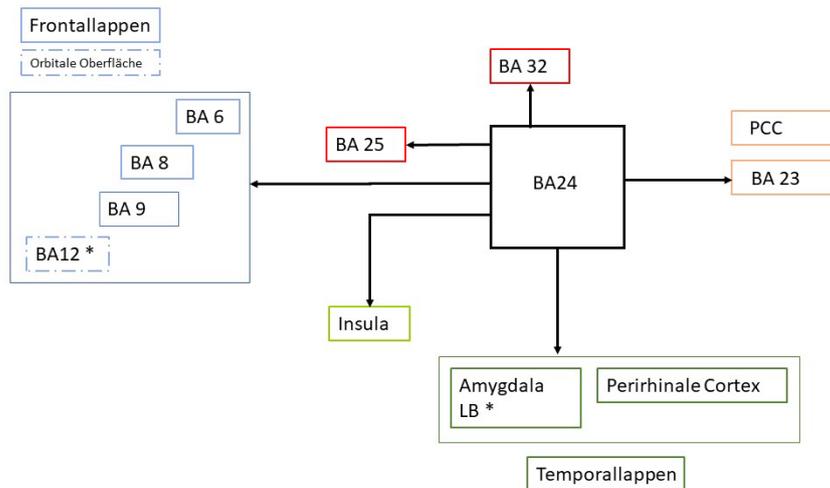


Abbildung 4.2: Efferenzen von Brodmann Area (BA) 24 bei Rhesusaffen (modifiziert nach Vogt et al. (1987)). Efferenzen ziehen im Frontallappen zu BA 12 (Area an der orbitalen Oberfläche), BA 6, BA 8 und BA 9. Darüber hinaus ziehen Efferenzen im Temporallappen zum basolateralen Kerngebiet der Amygdala (LB) und zum perirhinalen Cortex. Im posterioren cingulären Cortex (PCC) ziehen Efferenzen zu BA 23. Efferenzen ziehen auch zur Insula und zu weiteren Bereichen des anterioren cingulären Cortex (BA 25 und BA 32). Die kaudale BA 24 gibt keine Efferenzen zu den mit dem Sternchen markierten Arealen ab.

Aus Tract-Tracing Studien (bei denen eine Substanz bzw. ein Tracer in eine Gehirnregion injiziert, axonal transportiert und im Zielgebiet nachgewiesen wird) an Rhesusaffen wurden Afferenzen überwiegend aus den frontalen (z.B. BA 9 und BA 12) und temporalen Bereichen (z.B. posterior parahippocampaler Cortex, Amygdala; vgl. Abbildung 4.1) nachgewiesen (Pandya et al., 1981; Vogt et al., 1987). Ebenso hervorzuheben ist die Verbindung von BA 24 mit den lateralen (LA) und basolateralen Kerngebieten der Amygdala (BLA) (Pandya et al., 1981; Stefanacci et al., 2002; Benes, 2010; Vogt, 2019; Calderazzo et al., 2021). Während in einer Tract-Tracing Studie an 5 Rhesusaffen die Projektion zur Amygdala in BA 24a und BA 24b gleichmäßig aus den oberflächlichen Schichten (Schicht I-II) und den tiefen Schichten (Schicht V-VI) ausging, ging sie in BA 24c hauptsächlich aus den tiefen Schichten aus (Calderazzo et al., 2021). In diesem Zusammenhang sei auf eine Studie von Kreczmanski et al. (2007) verwiesen, die an denselben Gehirnen, die in der vorliegenden Arbeit sowie in Gaus et al. (2022)

untersucht wurden, unter anderem im LA eine signifikante ($p = 0,015$) mittlere reduzierte Gesamtzahl von Nervenzellen in den Gehirnen der Patienten mit Schizophrenie ($n = 13$) im Vergleich zu den Gehirnen der Kontrollpersonen ($n = 13$) fanden. Der oben beschriebene generelle Nervenzellverlust in Schicht V in BA 24 könnte somit ein Problem im „output“ und somit eine Störung in der Konnektivität verursacht haben, die sich nachfolgend auf das laterale Kerngebiet der Amygdala ausgewirkt hatte. Pathomorphologische Befunde wie diese könnten eine anatomische Grundlage für die in der Schizophrenie gefundene Dyskonnektivität sein (Harrison, 1999). In beiden Regionen, ACC und Amygdala, wurden in klinischen Studien über das funktionelle MRT (fMRT) abnormale Konnektivitäten in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie im Vergleich zu Kontrollpersonen beobachtet (Aleman et al., 2005).

Konkret wurde in einer fMRT Studie, bei der 19 PatientInnen mit Schizophrenie und 19 nach Alter, Geschlecht und intellektueller Funktion gematchte Kontrollpersonen untersucht wurden, in den Gehirnen der PatientInnen mit Schizophrenie eine reduzierte Konnektivität zwischen dem ACC und der bilateralen Insula sowie dem superioren temporalen und präcentralen Gyrus gefunden (White et al., 2010). Eine weitere Studie untersuchte über das fMRT das Netzwerk des kognitiven Teils des ACC (ACC-cd) in Gehirnen von jeweils 30 PatientInnen mit Schizophrenie und gematchten Kontrollpersonen und fand ebenfalls in den Gehirnen der PatientInnen mit Schizophrenie Abweichungen im positivem (dorsaler ACC, dorsaler posteriorer cingulärer Cortex, dorsolateraler und dorsomedialer präfrontaler Cortex, supplementär-motorisches Areal etc.) und negativem (orbitofrontaler/ventraler medialer präfrontaler Cortex, PCC/Präcuneus, Amygdala, hippocampaler und parahippocampaler Gyurs etc.) Netzwerk vor (Yan et al., 2012).

Hinsichtlich der Amygdala wurde über das fMRT in jeweils 18 Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie und in Gehirnen von PatientInnen mit bipolarer Störung eine Abweichung der Konnektivität zwischen dieser und Regionen des präfrontalen Cortex, darunter auch der mittlere cinguläre Cortex (BA 32/24), gegenüber den Gehirnen von 18 Kontrollpersonen festgestellt (Liu et al., 2014). Bestätigt wird letzteres auch durch eine weitere fMRT-Studie, bei der eine verringerte Interaktion zwischen Amygdala und ACC in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie ($n = 28$) im Vergleich

zu Gehirnen von gemäß demographischer Kriterien gematchten Kontrollpersonen (n = 33) gemessen wurde (Comte et al., 2018).

Das Cingulum, eine prominente Faserbahn der weißen Substanz, die dem cingulären Gyrus und so auch BA 24 Informationen zu- und abführt (Fujiwara et al., 2007; Heilbronner et al., 2014; Bubb et al., 2018), zeigte ebenfalls in der klinischen Bildgebung in der Schizophrenie Veränderungen auf, die möglicherweise zu einer gestörten funktionellen limbisch-kortikalen Konnektivität beiträgt (Wang et al., 2004; Kubicki et al., 2005; Abdul-Rahman et al., 2011; Bubb et al., 2018).

Abnormale Konnektivität bei der Schizophrenie erstreckt sich demnach auf viele Gehirnregionen. Dabei ist eine Hypo-/Hyper- Konnektivität bzw. eine Dyskonnektivität zu beobachten. Es herrscht weitestgehend Einigkeit, dass die Dyskonnektivität ein Kernproblem in der Pathologie der Schizophrenie ist (Pettersson-Yeo et al., 2011; Comte et al., 2018; Nath et al., 2021). Dabei ergeben sich die folgenden Trends. Zum einen scheint in strukturellen und funktionellen Bildgebungsstudien die Hypokonnektivität bei der Schizophrenie zu überwiegen. Darüber hinaus scheint der Frontallappen frequent involviert zu sein (Pettersson-Yeo et al., 2011). Auch scheint hier in PET und fMRT Studien eine reduzierte ACC-Aktivierung in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie üblich zu sein (Adams et al., 2007).

Der ACC ist ein Bestandteil von kognitiven und von emotionalen Prozessen (Vogt et al., 1992; Bush et al., 2000; Fornito et al., 2009; Vogt, 2009; Shenhav et al., 2013). Es wird vermutet, dass die Emotionsverarbeitung über Interaktion eines dorsalen und eines ventralen Systems vermittelt wird. Zugehörig zum ventralen System ist die Amygdala, zum dorsalen System der ACC (Etkin et al., 2006; Comte et al., 2018). In der Schizophrenie sind Defizite in der Kognition (Fioravanti et al., 2012) bzw. soziale Kognition (Green et al., 2015) und in der Emotionsverarbeitung, z.B. Erkennung und Expression von Emotionen (Trémeau, 2006; Kring et al., 2008), bekannt. Eine gestörte Konnektivität im kortiko-limbischen System könnte mit den in der Schizophrenie auftretenden Defiziten in der Emotionsverarbeitung (Comte et al., 2018), Kognition (Wang et al., 2004; Fitzsimmons et al., 2013) und Verhalten (Nath et al., 2021) assoziiert sein.

Im fMRT von Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie (n = 14 bzw. 20) im Vergleich zu Gehirnen von nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen (n = 14 bzw. 24) wurde in Reaktion oder Beurteilung auf Gesichtsausdrücke eine reduzierte Amygdala-Aktivität in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie aufgezeigt (Das et al., 2007; Mukherjee et al., 2014). Weitere fMRT Studien zeigten eine Hypoaktivität der Amygdala in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie gegenüber emotionalen Stimuli auf (Aleman et al., 2005). Aus diesen Studien wird die Vermutung geschlossen, dass eine Störung in der Amygdala und in ihrer Verbindung zum Präfrontalcortex eine Basis für die Negativsymptomatik, wie Affektverflachung, darstellt. Insbesondere eine Läsion im BLA würde die Verarbeitung von emotionalen Stimuli und emotionalem Lernen stören. Auch Benes (2010) vermutete, dass ein gestörter Informationsfluss zum BLA oder ACC mit Affektverflachung zusammenhängt. Im Bereich des kognitiven Anteils des ACC (dorsaler und kaudaler Anteil) fanden Yan et al. (2012) außerdem im fMRT eine Korrelation zwischen abnormaler Konnektivität und dem Schweregrad der Symptomatik, als auch der Leistung im Stroop-Test, in Gehirnen von PatientInnen mit Schizophrenie (n = 30) im Vergleich zu Gehirnen von gematchten Kontrollpersonen (n = 30) vor. Beim Stroop-Test handelt es sich um ein Experiment, bei dem ProbandInnen Aufgaben bewältigen, die die mentale Konfliktverarbeitung widerspiegeln (Stroop, 1935). Dabei war die in der Studie von Yan et al. (2012) beobachtete Dyskonnektivität zwischen ACC und PCC in den Gehirnen der PatientInnen mit Schizophrenie mit einer ausgeprägteren Positivsymptomatik und beeinträchtigter Leistung im Stroop-Test assoziiert, während eine erhöhte Asymmetrie in der funktionellen und strukturellen Konnektivität mit einer ausgeprägteren Negativsymptomatik assoziiert war. Daneben wurde in der funktionellen Bildgebung (fMRT) auch in weiteren Regionen, wie z.B. im Thalamus, eine abnormale Konnektivität bei der Schizophrenie festgestellt, die mit Defiziten in Kognition und Verhalten korrelierten (Mier et al., 2017; Chen et al., 2019; Athanassiou et al., 2022).

Amygdala und ACC sind funktionell eng miteinander verknüpft und interagieren, wie schon zuvor erwähnt, zwecks der Emotionsverarbeitung miteinander. Das Einwandern von Afferenzen von BLA in den ACC während der Jugend könnte bei der Entstehung der Schizophrenie von Bedeutung sein (Benes, 2010). Allerdings scheinen in der Pathophysiologie und Ausprägung der Symptome der Schizophrenie verschiedene

Regionen involviert zu sein, wie der Präfrontalcortex, ACC, die Hippocampusformation und BLA. In diesen Regionen wurden in Bildgebungsstudien veränderte Volumina und in *post mortem* Studien ein dysfunktionales GABA und Glutamat-System aufgezeigt (Benes, 2010). Zusammen mit fMRT Studien wird das Ausmaß der Konnektivitätsstörung deutlich, dass letztlich möglicherweise zum komplexen symptomatischen Bild der Schizophrenie führt. Eine Reduzierung der VEN in Schicht V in BA 24, die als Projektionsneurone in die soziale Kognition verwickelt zu sein scheinen, unterstützen die von Benes (2010) beschriebene Hypothese einer gestörten kortiko-limbischen Konnektivität. Weitere Studien, die sich mit Störungen im zellulären Netzwerk befassen, könnten zum Gesamtbild der Dyskonnektivität bei der Schizophrenie beitragen. Auch wäre es interessant, solche Studien zukünftig direkt mit fMRT Studien zusammenzubringen.

4.4 Neurodegeneration versus Entwicklungsstörung in der Neurogenese

Generell wird bei der Schizophrenie zwischen zwei pathologische Hypothesen abgewogen: die Schizophrenie ist entweder neurodegenerativen oder entwicklungsgestörten Ursprungs (Harrison et al., 2011). Bisher wird allerdings von einem entwicklungsgestörten Ursprung der Schizophrenie ausgegangen (Lewis et al., 2000; Lewis et al., 2002; Rapoport et al., 2005; Insel, 2010; Harrison et al., 2011; Weinberger, 2017). Dies liegt zum einem daran, dass bisherige Studien offensichtliche neurodegenerative Veränderungen, allen voran eine Gliosis, nicht auffinden konnten (siehe Tabelle 4 in Harrison (1999); Harrison et al. (2011)). Weitere Hinweise für einen entwicklungsgestörten Ursprung der Schizophrenie würden sich unter anderem auch in den Ventrikelerweiterungen und den reduzierten kortikalen Volumina beim „onset“ (= Erstmanifestation der Schizophrenie), als auch in der Art der gefundenen zytoarchitektonischen Veränderungen zeigen (Harrison, 1999).

Neben diesen neuropathologischen Hinweisen gibt es weitere Befunde, die gut mit der Annahme eines entwicklungsgestörten Ursprungs der Schizophrenie vereinbar sind. Longitudinalstudien deuten darauf hin, dass subtile und unspezifische Probleme bereits vor dem „onset“ zu beobachten sind, wie zum Beispiel eine verzögerte Entwicklung oder subtile Abweichungen in der Motorik oder Kognition in der Kindheit (Harrison, 1999;

Rapoport et al., 2005; Insel, 2010; McCutcheon et al., 2020). Auch manifestiert sich die Erkrankung oft in einem Alter (18-25 Jahren), bei der die Entwicklung des Präfrontalcortex noch nicht abgeschlossen ist (Insel, 2010).

Eine Kombination von Genen, die anfällig gegenüber Schizophrenie sind, und umweltbedingte Risikofaktoren scheinen eine Rolle für die Ausbildung der Schizophrenie zu spielen, indem sie womöglich früh die normale Entwicklung des Gehirns negativ beeinflussen (Lewis et al., 2002; Rapoport et al., 2005; Weinberger, 2017). Genetische Studien zeigten, dass Kandidatengene der Schizophrenie (Gene, die mit dem Erscheinen von Schizophrenie assoziiert sind) mit Abweichungen in der neurologischen Entwicklung assoziiert sind (Insel, 2010). Die pränatale Entwicklung wird außerdem als kritische Phase für die Ausprägung der Schizophrenie gesehen (Weinberger, 2017). Viele mit der Schizophrenie verbundene negative, umweltbedingte Ereignisse finden um die prä- und perinatale Periode statt (z.B. Infektion im 2. Trimester oder Geburtskomplikationen (Lewis et al., 2002; Insel, 2010)). Zu diesen umweltbedingten Risikofaktoren zählt auch die Hypoxie. Schmidt-Kastner et al. (2006) untersuchten eine mögliche Verknüpfung zwischen für die Schizophrenie in Verdacht stehende Kandidatengene und der ischämischen und hypoxischen Regulation und/oder vaskulären Expression. Über 50 % der in der Studie von Schmidt-Kastner et al. (2006) untersuchten Gene zeigten, dass sie der Regulation durch Hypoxie unterliegen und/oder im Gefäßsystem exprimiert sind. Hypoxisch-ischämische Geschehen könnten demnach über die Regulierung der Expression jener Kandidatengene ein Störfaktor in der Entwicklung sein, welches zur Pathologie und Ausprägung der Schizophrenie beiträgt. Für die Kandidatengene DISC 1 und Neuroregulin 1 ist zum Beispiel bekannt, dass sie bei der neuronalen Migration eine Rolle spielen (Sei et al., 2007; Chubb et al., 2008; Muraki et al., 2015), wodurch eine veränderte Gesamtzahl von Nervenzellen im Cortex verursacht werden könnte

Allman et al. (2010) untersuchten die Ontogenese der VEN im frontoinsulären Cortex als auch im ACC beim Menschen. VEN wurden in der 36. Woche *post conceptionem* aufgefunden und liegen pränatal in geringer Anzahl vor. In den ersten 8 Monaten nach der Geburt stieg die Zahl der VEN jedoch stark an. Die VEN könnten entweder durch eine Differenzierung einer bereits vorhandenen Zelle oder durch Migration hervorgegangen

sein. In beiden Fällen könnten die VEN auch während der postnatalen Entwicklung beeinträchtigt werden (Allman et al., 2005).

In Gen-veränderten Tiermodellen führte eine prä- oder perinatale Entwicklungsstörung in der Neurogenese und der neuronalen Migration zu strukturellen und funktionellen Defiziten beim erwachsenen Tier, die mit jenen in der Schizophrenie vergleichbar waren (Muraki et al., 2015). Weitere Studien mit Tiermodellen könnten den möglichen Bezug zwischen Störungen in der Entwicklung und der Pathologie der Schizophrenie weiter auf den Grund gehen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die VEN in den herkömmlichen Tiermodellen (Maus, Ratte) nicht vorkommen und daher deren pathologischer Hintergrund in jenen Tiermodellen nicht erfasst werden kann. Hier muss auf andere Methoden zurückgegriffen werden. Interessant wäre, ob die Vulnerabilität der VEN genetisch nachvollziehbar ist bzw. mit hypoxisch-ischämischen Geschehen während der Entwicklung zusammenhängt.

Literaturverzeichnis

- Abdul-Rahman, M. F., Qiu, A., & Sim, K. (2011). Regionally specific white matter disruptions of fornix and cingulum in schizophrenia. *PLoS One*, *6*(4), e18652. doi:10.1371/journal.pone.0018652
- Adams, R., & David, A. S. (2007). Patterns of anterior cingulate activation in schizophrenia: a selective review. *Neuropsychiatr Dis Treat*, *3*(1), 87-101. doi:10.2147/ndt.2007.3.1.87
- Aleman, A., & Kahn, R. S. J. P. i. n. (2005). Strange feelings: do amygdala abnormalities dysregulate the emotional brain in schizophrenia? , *77*(5), 283-298.
- Allman, J. M., Tetreault, N. A., Hakeem, A. Y., Manaye, K. F., Semendeferi, K., Erwin, J. M., . . . Hof, P. R. (2010). The von Economo neurons in fronto-insular and anterior cingulate cortex in great apes and humans. *Brain Struct Funct*, *214*(5-6), 495-517. doi:10.1007/s00429-010-0254-0
- Allman, J. M., Tetreault, N. A., Hakeem, A. Y., Manaye, K. F., Semendeferi, K., Erwin, J. M., . . . Hof, P. R. (2011). The von Economo neurons in fronto-insular and anterior cingulate cortex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1225*, 59.
- Allman, J. M., Watson, K. K., Tetreault, N. A., & Hakeem, A. Y. (2005). Intuition and autism: a possible role for Von Economo neurons. *Trends Cogn Sci*, *9*(8), 367-373. doi:10.1016/j.tics.2005.06.008
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.).
- Andressen, C., Blumcke, I., & Celio, M. R. (1993). Calcium-binding proteins: selective markers of nerve cells. *Cell Tissue Res*, *271*(2), 181-208. doi:10.1007/BF00318606
- Angulo, A., Fernández, E., Merchán, J. A., & Molina, M. (1996). A reliable method for Golgi staining of retina and brain slices. *J Neurosci Methods*, *66*(1), 55-59. doi:10.1016/0165-0270(95)00160-3
- Athanassiou, M., Dumais, A., Tikasz, A., Lipp, O., Dubreucq, J. L., & Potvin, S. (2022). Increased cingulo-orbital connectivity is associated with violent behaviours in schizophrenia. *J Psychiatr Res*, *147*, 183-189. doi:10.1016/j.jpsychires.2022.01.001
- Baiano, M., David, A., Versace, A., Churchill, R., Balestrieri, M., & Brambilla, P. (2007). Anterior cingulate volumes in schizophrenia: a systematic review and a meta-analysis of MRI studies. *Schizophr Res*, *93*(1-3), 1-12. doi:10.1016/j.schres.2007.02.012
- Bakhshi, K., & Chance, S. A. (2015). The neuropathology of schizophrenia: A selective review of past studies and emerging themes in brain structure and cytoarchitecture. *Neuroscience*, *303*, 82-102. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.06.028
- Banovac, I., Sedmak, D., Džaja, D., Jalšovec, D., Jovanov Milošević, N., Rašin, M. R., & Petanjek, Z. (2019). Somato-dendritic morphology and axon origin site specify

- von Economo neurons as a subclass of modified pyramidal neurons in the human anterior cingulate cortex. *Journal of anatomy*, 235(3), 651-669.
- Barinka, F., & Druga, R. (2010). Calretinin expression in the mammalian neocortex: a review. *Physiol Res*, 59(5), 665-677. doi:10.33549/physiolres.931930
- Benes, F. M. (2010). Amygdalocortical circuitry in schizophrenia: from circuits to molecules. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 239-257. doi:10.1038/npp.2009.116
- Benes, F. M., & Bird, E. D. (1987). An analysis of the arrangement of neurons in the cingulate cortex of schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry*, 44(7), 608-616. doi:10.1001/archpsyc.1987.01800190024004
- Benes, F. M., Davidson, J., & Bird, E. D. (1986). Quantitative cytoarchitectural studies of the cerebral cortex of schizophrenics. *Arch Gen Psychiatry*, 43(1), 31-35. doi:10.1001/archpsyc.1986.01800010033004
- Benes, F. M., McSparren, J., Bird, E. D., SanGiovanni, J. P., & Vincent, S. L. (1991). Deficits in small interneurons in prefrontal and cingulate cortices of schizophrenic and schizoaffective patients. *Arch Gen Psychiatry*, 48(11), 996-1001. doi:10.1001/archpsyc.1991.01810350036005
- Bleuler, E. (1911). *Dementia praecox, oder Gruppe der Schizophrenien* (Vol. 1): Deuticke.
- Borman, R. A., Tilford, N. S., Harmer, D. W., Day, N., Ellis, E. S., Sheldrick, R. L., . . . Baxter, G. S. (2002). 5-HT(2B) receptors play a key role in mediating the excitatory effects of 5-HT in human colon in vitro. *Br J Pharmacol*, 135(5), 1144-1151. doi:10.1038/sj.bjp.0704571
- Bouras, C., Kovari, E., Hof, P. R., Riederer, B. M., & Giannakopoulos, P. (2001). Anterior cingulate cortex pathology in schizophrenia and bipolar disorder. *Acta Neuropathol*, 102(4), 373-379. doi:10.1007/s004010100392
- Brugger, S. P., & Howes, O. D. (2017). Heterogeneity and Homogeneity of Regional Brain Structure in Schizophrenia: A Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, 74(11), 1104-1111. doi:10.1001/jamapsychiatry.2017.2663
- Brüne, M., Schöbel, A., Karau, R., Benali, A., Faustmann, P. M., Juckel, G., & Petrasch-Parwez, E. (2010). Von Economo neuron density in the anterior cingulate cortex is reduced in early onset schizophrenia. *Acta neuropathologica*, 119(6), 771-778.
- Brüne, M., Schöbel, A., Karau, R., Faustmann, P. M., Dermietzel, R., Juckel, G., & Petrasch-Parwez, E. J. P. O. (2011). Neuroanatomical correlates of suicide in psychosis: the possible role of von Economo neurons. 6(6), e20936.
- Bubb, E. J., Metzler-Baddeley, C., & Aggleton, J. P. (2018). The cingulum bundle: Anatomy, function, and dysfunction. *Neurosci Biobehav Rev*, 92, 104-127. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.05.008
- Bush, G., Luu, P., & Posner, M. I. (2000). Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex. *Trends in cognitive sciences*, 4(6), 215-222.
- Butti, C., Santos, M., Uppal, N., & Hof, P. R. (2013). Von Economo neurons: clinical and evolutionary perspectives. *Cortex*, 49(1), 312-326. doi:10.1016/j.cortex.2011.10.004

- Butti, C., Sherwood, C. C., Hakeem, A. Y., Allman, J. M., & Hof, P. R. (2009). Total number and volume of Von Economo neurons in the cerebral cortex of cetaceans. *J Comp Neurol*, *515*(2), 243-259. doi:10.1002/cne.22055
- Calderazzo, S. M., Busch, S. E., Moore, T. L., Rosene, D. L., & Medalla, M. (2021). Distribution and overlap of entorhinal, premotor, and amygdalar connections in the monkey anterior cingulate cortex. *J Comp Neurol*, *529*(4), 885-904. doi:10.1002/cne.24986
- Cavalieri, B. (1635). *Geometria Indivisibilibus Continuorum*. Bononiae: Typis Clementis Ferronij (reprinted 1966 as *Geometria Degli Indivisibili*. Torino: Unione Tipografico-Editrice Torinese).
- Chana, G., Landau, S., Beasley, C., Everall, I. P., & Cotter, D. J. B. p. (2003). Two-dimensional assessment of cytoarchitecture in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder, bipolar disorder, and schizophrenia: evidence for decreased neuronal somal size and increased neuronal density. *53*(12), 1086-1098.
- Chen, P., Ye, E., Jin, X., Zhu, Y., & Wang, L. (2019). Association between Thalamocortical Functional Connectivity Abnormalities and Cognitive Deficits in Schizophrenia. *Sci Rep*, *9*(1), 2952. doi:10.1038/s41598-019-39367-z
- Chubb, J. E., Bradshaw, N. J., Soares, D. C., Porteous, D. J., & Millar, J. K. (2008). The DISC locus in psychiatric illness. *Mol Psychiatry*, *13*(1), 36-64. doi:10.1038/sj.mp.4002106
- Cloutier, M., Aigbogun, M. S., Guerin, A., Nitulescu, R., Ramanakumar, A. V., Kamat, S. A., . . . Wu, E. (2016). The Economic Burden of Schizophrenia in the United States in 2013. *J Clin Psychiatry*, *77*(6), 764-771. doi:10.4088/JCP.15m10278
- Cobos, I., & Seeley, W. W. (2015). Human von Economo neurons express transcription factors associated with Layer V subcerebral projection neurons. *Cereb Cortex*, *25*(1), 213-220. doi:10.1093/cercor/bht219
- Comte, M., Zendjidjian, X. Y., Coull, J. T., Cancel, A., Boutet, C., Schneider, F. C., . . . Fakra, E. (2018). Impaired cortico-limbic functional connectivity in schizophrenia patients during emotion processing. *Soc Cogn Affect Neurosci*, *13*(4), 381-390. doi:10.1093/scan/nsx083
- Correa-Júnior, N. D., Renner, J., Fuentealba-Villaruel, F., Hilbig, A., & Rasia-Filho, A. A. (2020). Dendritic and spine heterogeneity of von Economo neurons in the human cingulate cortex. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, *12*, 25.
- Cotter, D., Mackay, D., Landau, S., Kerwin, R., & Everall, I. (2001). Reduced glial cell density and neuronal size in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry*, *58*(6), 545-553. doi:10.1001/archpsyc.58.6.545
- Cowan, R. L., Wilson, C. J., Emson, P. C., & Heizmann, C. W. (1990). Parvalbumin-containing GABAergic interneurons in the rat neostriatum. *J Comp Neurol*, *302*(2), 197-205. doi:10.1002/cne.903020202
- Das, P., Kemp, A. H., Flynn, G., Harris, A. W., Liddell, B. J., Whitford, T. J., . . . Williams, L. M. (2007). Functional disconnections in the direct and indirect amygdala

- pathways for fear processing in schizophrenia. *Schizophr Res*, 90(1-3), 284-294. doi:10.1016/j.schres.2006.11.023
- Ding, S. L., Royall, J. J., Sunkin, S. M., Ng, L., Facer, B. A., Lesnar, P., . . . Lein, E. S. (2016). Comprehensive cellular-resolution atlas of the adult human brain. *J Comp Neurol*, 524(16), 3127-3481. doi:10.1002/cne.24080
- Dorph-Petersen, K. A., Nyengaard, J. R., & Gundersen, H. J. (2001). Tissue shrinkage and unbiased stereological estimation of particle number and size. *J Microsc*, 204(Pt 3), 232-246. doi:10.1046/j.1365-2818.2001.00958.x
- Ellison-Wright, I., & Bullmore, E. (2010). Anatomy of bipolar disorder and schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res*, 117(1), 1-12. doi:10.1016/j.schres.2009.12.022
- Etkin, A., Egner, T., Peraza, D. M., Kandel, E. R., & Hirsch, J. (2006). Resolving emotional conflict: a role for the rostral anterior cingulate cortex in modulating activity in the amygdala. *Neuron*, 51(6), 871-882. doi:10.1016/j.neuron.2006.07.029
- Fajardo, C., Escobar, M. I., Buritica, E., Arteaga, G., Umbarila, J., Casanova, M. F., & Pimienta, H. (2008). Von Economo neurons are present in the dorsolateral (dysgranular) prefrontal cortex of humans. *Neurosci Lett*, 435(3), 215-218. doi:10.1016/j.neulet.2008.02.048
- Falkai, P., Malchow, B., Wetzstein, K., Nowastowski, V., Bernstein, H. G., Steiner, J., . . . Schmitt, A. (2016). Decreased Oligodendrocyte and Neuron Number in Anterior Hippocampal Areas and the Entire Hippocampus in Schizophrenia: A Stereological Postmortem Study. *Schizophr Bull*, 42 Suppl 1(suppl_1), S4-S12. doi:10.1093/schbul/sbv157
- Farrell, M. S., Werge, T., Sklar, P., Owen, M. J., Ophoff, R. A., O'Donovan, M. C., . . . Sullivan, P. F. (2015). Evaluating historical candidate genes for schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 20(5), 555-562. doi:10.1038/mp.2015.16
- Feldmeyer, D., & Sakmann, B. (2000). Synaptic efficacy and reliability of excitatory connections between the principal neurones of the input (layer 4) and output layer (layer 5) of the neocortex. *J Physiol*, 525 Pt 1(Pt 1), 31-39. doi:10.1111/j.1469-7793.2000.00031.x
- Fioravanti, M., Bianchi, V., & Cinti, M. E. (2012). Cognitive deficits in schizophrenia: an updated metanalysis of the scientific evidence. *BMC Psychiatry*, 12, 64. doi:10.1186/1471-244x-12-64
- Fitzsimmons, J., Kubicki, M., & Shenton, M. E. (2013). Review of functional and anatomical brain connectivity findings in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*, 26(2), 172-187. doi:10.1097/YCO.0b013e32835d9e6a
- Fornito, A., Yücel, M., Dean, B., Wood, S. J., & Pantelis, C. (2009). Anatomical abnormalities of the anterior cingulate cortex in schizophrenia: bridging the gap between neuroimaging and neuropathology. *Schizophr Bull*, 35(5), 973-993.
- Fotinos, A. F., Snyder, A. Z., Girton, L. E., Morris, J. C., & Buckner, R. L. (2005). Normative estimates of cross-sectional and longitudinal brain volume decline in aging and AD. *Neurology*, 64(6), 1032-1039. doi:10.1212/01.WNL.0000154530.72969.11

- Fujiwara, H., Namiki, C., Hirao, K., Miyata, J., Shimizu, M., Fukuyama, H., . . . Murai, T. (2007). Anterior and posterior cingulum abnormalities and their association with psychopathology in schizophrenia: a diffusion tensor imaging study. *Schizophr Res*, 95(1-3), 215-222. doi:10.1016/j.schres.2007.05.044
- Fusar-Poli, P., Smieskova, R., Kempton, M. J., Ho, B. C., Andreasen, N. C., & Borgwardt, S. (2013). Progressive brain changes in schizophrenia related to antipsychotic treatment? A meta-analysis of longitudinal MRI studies. *Neurosci Biobehav Rev*, 37(8), 1680-1691. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.06.001
- Gaus, R., Popal, M., Heinsen, H., Schmitt, A., Falkai, P., Hof, P. R., . . . Vollhardt, A. (2022). Reduced cortical neuron number and neuron density in schizophrenia with focus on area 24: a post-mortem case-control study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. doi:10.1007/s00406-022-01513-6
- Gefen, T., Papastefan, S. T., Rezvani, A., Bigio, E. H., Weintraub, S., Rogalski, E., . . . Geula, C. (2018). Von Economo neurons of the anterior cingulate across the lifespan and in Alzheimer's disease. *Cortex*, 99, 69-77. doi:10.1016/j.cortex.2017.10.015
- Glaser, E. M., & Wilson, P. D. (1998). The coefficient of error of optical fractionator population size estimates: a computer simulation comparing three estimators. *J Microsc*, 192(Pt 2), 163-171. doi:10.1046/j.1365-2818.1998.00417.x
- Glaser, J., Greene, G., & Hendricks, S. (2006). *Stereology for biological research: with a focus on neuroscience*: MBF Press.
- González-Acosta, C. A., Escobar, M. I., Casanova, M. F., Pimienta, H. J., & Buriticá, E. (2018). Von Economo Neurons in the Human Medial Frontopolar Cortex. *Front Neuroanat*, 12, 64. doi:10.3389/fnana.2018.00064
- Green, M. F., Horan, W. P., & Lee, J. (2015). Social cognition in schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*, 16(10), 620-631. doi:10.1038/nrn4005
- Gundersen, H. J. (1986). Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc*, 143(Pt 1), 3-45.
- Gundersen, H. J. G., & Jensen, E. (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *Journal of microscopy*, 147(3), 229-263.
- Gur, R. C., Gunning-Dixon, F. M., Turetsky, B. I., Bilker, W. B., & Gur, R. E. (2002). Brain region and sex differences in age association with brain volume: a quantitative MRI study of healthy young adults. *Am J Geriatr Psychiatry*, 10(1), 72-80. doi:<https://doi.org/10.1097/00019442-200201000-00009>
- Häfner, H., & an der Heiden, W. (1997). Epidemiology of schizophrenia. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 42(2), 139-151.
- Häfner, H., Maurer, K., Löffler, W., Fätkenheuer, B., Der Heiden, W. A., Riecher-Rössler, A., . . . Gattaz, W. J. T. B. j. o. p. (1994). The epidemiology of early schizophrenia: influence of age and gender on onset and early course. *164(S23)*, 29-38.

- Haijma, S. V., Van Haren, N., Cahn, W., Koolschijn, P. C., Hulshoff Pol, H. E., & Kahn, R. S. (2013). Brain volumes in schizophrenia: a meta-analysis in over 18 000 subjects. *Schizophr Bull*, *39*(5), 1129-1138. doi:10.1093/schbul/sbs118
- Hakeem, A. Y., Sherwood, C. C., Bonar, C. J., Butti, C., Hof, P. R., & Allman, J. M. (2009). Von Economo neurons in the elephant brain. *Anat Rec (Hoboken)*, *292*(2), 242-248. doi:10.1002/ar.20829
- Harrison, P. J., Lewis, D. A., & Kleinman, J. E. (2011). Neuropathology of schizophrenia.
- Harrison, P. J. J. B. (1999). The neuropathology of schizophrenia: a critical review of the data and their interpretation. *122*(4), 593-624.
- Haznedar, M. M., Buchsbaum, M. S., Hazlett, E. A., Shihabuddin, L., New, A., & Siever, L. J. (2004). Cingulate gyrus volume and metabolism in the schizophrenia spectrum. *Schizophr Res*, *71*(2-3), 249-262. doi:10.1016/j.schres.2004.02.025
- Health, N. C. C. f. M. (2014). National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance *Psychosis and Schizophrenia in Adults: Treatment and Management: Updated Edition 2014*. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK) Copyright © National Collaborating Centre for Mental Health, 2014.
- Heilbronner, S. R., & Haber, S. N. (2014). Frontal cortical and subcortical projections provide a basis for segmenting the cingulum bundle: implications for neuroimaging and psychiatric disorders. *J Neurosci*, *34*(30), 10041-10054. doi:10.1523/jneurosci.5459-13.2014
- Heinsen, H., Arzberger, T., & Schmitz, C. (2000). Celloidin mounting (embedding without infiltration) — a new, simple and reliable method for producing serial sections of high thickness through complete human brains and its application to stereological and immunohistochemical investigations. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *20*(1), 49-59. doi:10.1016/s0891-0618(00)00067-3
- Heinsen, H., & Heinsen, Y. L. (1991). Serial Thick, Frozen, Galloxyanin Stained Sections of Human Central Nervous System. *Journal of Histotechnology*, *14*(3), 167-173.
- Heinsen, H., Henn, R., Eisenmenger, W., Gotz, M., Bohl, J., Bethke, B., . . . Puschel, K. (1994). Quantitative investigations on the human entorhinal area: left-right asymmetry and age-related changes. *Anat Embryol (Berl)*, *190*(2), 181-194. doi:10.1007/BF00193414
- Highley, J. R., Walker, M. A., Esiri, M. M., McDonald, B., Harrison, P. J., & Crow, T. J. (2001). Schizophrenia and the frontal lobes: post-mortem stereological study of tissue volume. *Br J Psychiatry*, *178*(4), 337-343. doi:10.1192/bjp.178.4.337
- Ho, B. C., Andreasen, N. C., Ziebell, S., Pierson, R., & Magnotta, V. (2011). Long-term antipsychotic treatment and brain volumes: a longitudinal study of first-episode schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, *68*(2), 128-137. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2010.199
- Hodge, R. D., Miller, J. A., Novotny, M., Kalmbach, B. E., Ting, J. T., Bakken, T. E., . . . Cobbs, C. J. N. c. (2020). Transcriptomic evidence that von Economo neurons are regionally specialized extratelencephalic-projecting excitatory neurons. *11*(1), 1-14.

- Höistad, M., Heinsen, H., Wicinski, B., Schmitz, C., & Hof, P. R. (2013). Stereological assessment of the dorsal anterior cingulate cortex in schizophrenia: absence of changes in neuronal and glial densities. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 39(4), 348-361.
- Honea, R., Crow, T. J., Passingham, D., & Mackay, C. E. (2005). Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry*, 162(12), 2233-2245. doi:10.1176/appi.ajp.162.12.2233
- Honorat, N., Dong, A., Meisenzahl-Lechner, E., Koutsouleris, N., & Davatzikos, C. (2019). Neuroanatomical heterogeneity of schizophrenia revealed by semi-supervised machine learning methods. *Schizophr Res*, 214, 43-50. doi:10.1016/j.schres.2017.12.008
- Hulshoff Pol, H. E., Schnack, H. G., Bertens, M. G., van Haren, N. E., van der Tweel, I., Staal, W. G., . . . Kahn, R. S. (2002). Volume changes in gray matter in patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 159(2), 244-250. doi:10.1176/appi.ajp.159.2.244
- Insel, T. R. (2010). Rethinking schizophrenia. *Nature*, 468(7321), 187-193. doi:10.1038/nature09552
- Jacot-Descombes, S., Keshav, N., Brosch, C. M. S., Wicinski, B., Warda, T., Norcliffe-Kaufmann, L., . . . Hof, P. R. (2020). Von Economo Neuron Pathology in Familial Dysautonomia: Quantitative Assessment and Possible Implications. *J Neuropathol Exp Neurol*, 79(10), 1072-1083. doi:10.1093/jnen/nlaa095
- Johnstone, E. C., Crow, T. J., Frith, C. D., Husband, J., & Kreel, L. (1976). Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *Lancet*, 2(7992), 924-926. doi:10.1016/s0140-6736(76)90890-4
- Kalus, P., Senitz, D., & Beckmann, H. (1997). Altered distribution of parvalbumin-immunoreactive local circuit neurons in the anterior cingulate cortex of schizophrenic patients. *Psychiatry Res*, 75(1), 49-59. doi:10.1016/s0925-4927(97)00020-6
- Kaufman, J. A., Paul, L. K., Manaye, K. F., Granstedt, A. E., Hof, P. R., Hakeem, A. Y., & Allman, J. M. (2008). Selective reduction of Von Economo neuron number in agenesis of the corpus callosum. *Acta Neuropathol*, 116(5), 479-489. doi:10.1007/s00401-008-0434-7
- Kim, E. J., Sidhu, M., Gaus, S. E., Huang, E. J., Hof, P. R., Miller, B. L., . . . Seeley, W. W. (2012). Selective fronto-insular von Economo neuron and fork cell loss in early behavioral variant frontotemporal dementia. *Cereb Cortex*, 22(2), 251-259. doi:10.1093/cercor/bhr004
- Kim, J. Y., Duan, X., Liu, C. Y., Jang, M. H., Guo, J. U., Pow-anpongkul, N., . . . Ming, G. L. (2009). DISC1 regulates new neuron development in the adult brain via modulation of AKT-mTOR signaling through KIAA1212. *Neuron*, 63(6), 761-773. doi:10.1016/j.neuron.2009.08.008
- Kraepelin, E. (1899). *Psychiatrie: Ein Lehrbuch für Studierende und Aerzte, II. Band* (6. Aufl. ed.): Leipzig, J. A. Barth.

- Kraepelin, E. (1913). *Psychiatrie: Ein Lehrbuch für Studierende und Aerzte, III. Band, II. Teil* (8. Aufl. ed.): Leipzig, J. A. Barth.
- Krause, M., Theiss, C., & Brune, M. (2017). Ultrastructural Alterations of Von Economo Neurons in the Anterior Cingulate Cortex in Schizophrenia. *Anat Rec (Hoboken)*, *300*(11), 2017-2024. doi:10.1002/ar.23635
- Kreczmanski, P., Heinsen, H., Mantua, V., Woltersdorf, F., Masson, T., Ulfing, N., . . . Schmitz, C. (2007). Volume, neuron density and total neuron number in five subcortical regions in schizophrenia. *Brain*, *130*(Pt 3), 678-692. doi:10.1093/brain/awl386
- Kreczmanski, P., Heinsen, H., Mantua, V., Woltersdorf, F., Masson, T., Ulfing, N., . . . Schmitz, C. (2009). Microvessel length density, total length, and length per neuron in five subcortical regions in schizophrenia. *Acta Neuropathol*, *117*(4), 409-421. doi:10.1007/s00401-009-0482-7
- Kreczmanski, P., Schmidt-Kastner, R., Heinsen, H., Steinbusch, H. W., Hof, P. R., & Schmitz, C. (2005). Stereological studies of capillary length density in the frontal cortex of schizophrenics. *Acta Neuropathol*, *109*(5), 510-518. doi:10.1007/s00401-005-1003-y
- Kretschmann, H. J., Tafesse, U., & Herrmann, A. (1982). Different volume changes of cerebral cortex and white matter during histological preparation. *Microsc Acta*, *86*(1), 13-24.
- Kring, A. M., & Moran, E. K. (2008). Emotional response deficits in schizophrenia: insights from affective science. *Schizophr Bull*, *34*(5), 819-834. doi:10.1093/schbul/sbn071
- Kubicki, M., Park, H., Westin, C. F., Nestor, P. G., Mulkern, R. V., Maier, S. E., . . . Shenton, M. E. (2005). DTI and MTR abnormalities in schizophrenia: analysis of white matter integrity. *Neuroimage*, *26*(4), 1109-1118. doi:10.1016/j.neuroimage.2005.03.026
- Laursen, T. M., Nordentoft, M., & Mortensen, P. B. (2014). Excess early mortality in schizophrenia. *Annu Rev Clin Psychol*, *10*, 425-448. doi:10.1146/annurev-clinpsy-032813-153657
- Lemmens, M. A., Sierksma, A. S., Rutten, B. P., Dennissen, F., Steinbusch, H. W., Lucassen, P. J., & Schmitz, C. (2011). Age-related changes of neuron numbers in the frontal cortex of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Structure and Function*, *216*(3), 227-237.
- Lewis, D. A., & Levitt, P. (2002). Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci*, *25*, 409-432. doi:10.1146/annurev.neuro.25.112701.142754
- Lewis, D. A., & Lieberman, J. A. (2000). Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. *Neuron*, *28*(2), 325-334. doi:10.1016/s0896-6273(00)00111-2
- Liu, H., Tang, Y., Womer, F., Fan, G., Lu, T., Driesen, N., . . . Wang, F. (2014). Differentiating patterns of amygdala-frontal functional connectivity in schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr Bull*, *40*(2), 469-477. doi:10.1093/schbul/sbt044

- Love, S., Perry, A., Ironside, J., & Budka, H. (2018). *Greenfield's Neuropathology-Two Volume Set* (9th ed. ed.). Boca Raton: CRC Press.
- McCutcheon, R. A., Marques, T. R., & Howes, O. D. (2020). Schizophrenia—an overview. *JAMA psychiatry*, *77*(2), 201-210.
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. (2008). Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev*, *30*(1), 67-76. doi:10.1093/epirev/mxn001
- Mier, D., Eisenacher, S., Rausch, F., Englisch, S., Gerchen, M. F., Zamoscik, V., . . . Kirsch, P. (2017). Aberrant activity and connectivity of the posterior superior temporal sulcus during social cognition in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, *267*(7), 597-610. doi:10.1007/s00406-016-0737-y
- Millar, J. K., Christie, S., & Porteous, D. J. (2003). Yeast two-hybrid screens implicate DISC1 in brain development and function. *Biochem Biophys Res Commun*, *311*(4), 1019-1025. doi:10.1016/j.bbrc.2003.10.101
- Mitelman, S. A., Shihabuddin, L., Brickman, A. M., Hazlett, E. A., & Buchsbaum, M. S. (2005). Volume of the cingulate and outcome in schizophrenia. *Schizophr Res*, *72*(2-3), 91-108. doi:10.1016/j.schres.2004.02.011
- Miyoshi, K., Honda, A., Baba, K., Taniguchi, M., Oono, K., Fujita, T., . . . Tohyama, M. (2003). Disrupted-In-Schizophrenia 1, a candidate gene for schizophrenia, participates in neurite outgrowth. *Mol Psychiatry*, *8*(7), 685-694. doi:10.1038/sj.mp.4001352
- Mufson, E. J., Brady, D. R., & Kordower, J. H. (1990). Tracing neuronal connections in postmortem human hippocampal complex with the carbocyanine dye Dil. *Neurobiol Aging*, *11*(6), 649-653. doi:10.1016/0197-4580(90)90031-t
- Mukherjee, P., Whalley, H. C., McKirdy, J. W., Sprengelmeyer, R., Young, A. W., McIntosh, A. M., . . . Hall, J. (2014). Altered amygdala connectivity within the social brain in schizophrenia. *Schizophr Bull*, *40*(1), 152-160. doi:10.1093/schbul/sbt086
- Muraki, K., & Tanigaki, K. (2015). Neuronal migration abnormalities and its possible implications for schizophrenia. *Front Neurosci*, *9*, 74. doi:10.3389/fnins.2015.00074
- Nath, M., Wong, T. P., & Srivastava, L. K. (2021). Neurodevelopmental insights into circuit dysconnectivity in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *104*, 110047. doi:10.1016/j.pnpbp.2020.110047
- Nimchinsky, E., Vogt, B. A., Morrison, J. H., & Hof, P. R. (1995). Spindle Neurons of the Human Anterior Cingulate Cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, *355*(1), 27-37.
- Nimchinsky, E. A., Gilissen, E., Allman, J. M., Perl, D. P., Erwin, J. M., & Hof, P. R. (1999). A neuronal morphologic type unique to humans and great apes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *96*(9), 5268-5273. doi:10.1073/pnas.96.9.5268
- Noll, R. (2009). *The encyclopedia of schizophrenia and other psychotic disorders*: Infobase Publishing.

- Oertel, B. (1990). B. Romeis, Mikroskopische Technik (17. neubearbeitete und erweiterte Auflage, herausgegeben von P. BÖCK). 697 S., 49 Abb., ca. 40 Tab. München – Wien – Baltimore 1989. Urban und Schwarzenberg. DM 148,00. ISBN: 3-541-11227-1. *Journal of Basic Microbiology*, 30(2), 144-144. doi:<https://doi.org/10.1002/jobm.3620300221>
- Öngür, D., Drevets, W. C., & Price, J. L. J. P. o. t. N. A. o. S. (1998). Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *95*(22), 13290-13295.
- Onwordi, E. C., Halff, E. F., Whitehurst, T., Mansur, A., Cotel, M.-C., Wells, L., . . . Shatalina, E. (2020). Synaptic density marker SV2A is reduced in schizophrenia patients and unaffected by antipsychotics in rats. *Nature communications*, 11(1), 1-11.
- Palmer, B. A., Pankratz, V. S., & Bostwick, J. M. (2005). The lifetime risk of suicide in schizophrenia: a reexamination. *Arch Gen Psychiatry*, 62(3), 247-253. doi:10.1001/archpsyc.62.3.247
- Palomero-Gallagher, N., Mohlberg, H., Zilles, K., & Vogt, B. (2008). Cytology and receptor architecture of human anterior cingulate cortex. *J Comp Neurol*, 508(6), 906-926. doi:10.1002/cne.21684
- Palomero-Gallagher, N., & Zilles, K. (2015). Chapter 22 - Isocortex. In G. Paxinos (Ed.), *The Rat Nervous System (Fourth Edition)* (pp. 601-625). San Diego: Academic Press.
- Pandya, D. N., Van Hoesen, G. W., & Mesulam, M. M. (1981). Efferent connections of the cingulate gyrus in the rhesus monkey. *Exp Brain Res*, 42(3-4), 319-330. doi:10.1007/bf00237497
- Passe, T. J., Rajagopalan, P., Tupler, L. A., Byrum, C. E., MacFall, J. R., & Krishnan, K. R. (1997). Age and sex effects on brain morphology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 21(8), 1231-1237. doi:10.1016/s0278-5846(97)00160-7
- Pettersson-Yeo, W., Allen, P., Benetti, S., McGuire, P., & Mechelli, A. (2011). Dysconnectivity in schizophrenia: where are we now? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(5), 1110-1124.
- Plum, F. (1972). Prospects for research on schizophrenia. 3. Neurophysiology. Neuropathological findings. *Neurosci Res Program Bull*, 10(4), 384-388.
- Raghanti, M. A., Spurlock, L. B., Treichler, F. R., Weigel, S. E., Stimmelmayer, R., Butti, C., . . . Hof, P. R. (2015). An analysis of von Economo neurons in the cerebral cortex of cetaceans, artiodactyls, and perissodactyls. *Brain Struct Funct*, 220(4), 2303-2314. doi:10.1007/s00429-014-0792-y
- Rapoport, J. L., Addington, A. M., Frangou, S., & Psych, M. R. (2005). The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*, 10(5), 434-449. doi:10.1038/sj.mp.4001642
- Roberts, R. C., Barksdale, K. A., Roche, J. K., & Lahti, A. C. (2015). Decreased synaptic and mitochondrial density in the postmortem anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Schizophr Res*, 168(1-2), 543-553. doi:10.1016/j.schres.2015.07.016

- Santillo, A. F., Nilsson, C., & Englund, E. (2013). von Economo neurones are selectively targeted in frontotemporal dementia. *Neuropathol Appl Neurobiol*, *39*(5), 572-579. doi:10.1111/nan.12021
- Schmidt-Kastner, R., van Os, J., H. W. M. S., & Schmitz, C. (2006). Gene regulation by hypoxia and the neurodevelopmental origin of schizophrenia. *Schizophr Res*, *84*(2-3), 253-271. doi:10.1016/j.schres.2006.02.022
- Schmitz, C. (1998). Variation of fractionator estimates and its prediction. *Anat Embryol (Berl)*, *198*(5), 371-397. doi:10.1007/s004290050191
- Schmitz, C., Born, M., Dolezel, P., Rutten, B., de Saint-Georges, L., Hof, P., & Korr, H. (2005). Prenatal protracted irradiation at very low dose rate induces severe neuronal loss in rat hippocampus and cerebellum. *Neuroscience*, *130*(4), 935-948.
- Schmitz, C., & Hof, P. R. (2000). Recommendations for straightforward and rigorous methods of counting neurons based on a computer simulation approach. *J Chem Neuroanat*, *20*(1), 93-114. doi:10.1016/s0891-0618(00)00066-1
- Schmitz, C., & Hof, P. R. (2005). Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience*, *130*(4), 813-831. doi:10.1016/j.neuroscience.2004.08.050
- Seeley, W. W., Carlin, D. A., Allman, J. M., Macedo, M. N., Bush, C., Miller, B. L., & DeArmond, S. J. (2006). Early frontotemporal dementia targets neurons unique to apes and humans. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, *60*(6), 660-667.
- Sei, Y., Ren-Patterson, R., Li, Z., Tunbridge, E. M., Egan, M. F., Kolachana, B. S., & Weinberger, D. R. (2007). Neuregulin1-induced cell migration is impaired in schizophrenia: association with neuregulin1 and catechol-o-methyltransferase gene polymorphisms. *Mol Psychiatry*, *12*(10), 946-957. doi:10.1038/sj.mp.4001994
- Selemon, L. D., Kleinman, J. E., Herman, M. M., & Goldman-Rakic, P. S. (2002). Smaller frontal gray matter volume in postmortem schizophrenic brains. *Am J Psychiatry*, *159*(12), 1983-1991. doi:10.1176/appi.ajp.159.12.1983
- Shenhav, A., Botvinick, M. M., & Cohen, J. D. (2013). The expected value of control: an integrative theory of anterior cingulate cortex function. *Neuron*, *79*(2), 217-240. doi:10.1016/j.neuron.2013.07.007
- Shenton, M. E., Dickey, C. C., Frumin, M., & McCarley, R. W. (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res*, *49*(1-2), 1-52. doi:10.1016/s0920-9964(01)00163-3
- Shorvon, S. (2005). *Handbook of epilepsy treatment*. New York: Wiley.
- Simms, M. L., Kemper, T. L., Timbie, C. M., Bauman, M. L., & Blatt, G. J. (2009). The anterior cingulate cortex in autism: heterogeneity of qualitative and quantitative cytoarchitectonic features suggests possible subgroups. *Acta Neuropathol*, *118*(5), 673-684. doi:10.1007/s00401-009-0568-2

- Stark, A. K., Uylings, H. B., Sanz-Arigita, E., & Pakkenberg, B. (2004). Glial cell loss in the anterior cingulate cortex, a subregion of the prefrontal cortex, in subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, *161*(5), 882-888. doi:10.1176/appi.ajp.161.5.882
- Stefanacci, L., & Amaral, D. G. (2002). Some observations on cortical inputs to the macaque monkey amygdala: an anterograde tracing study. *J Comp Neurol*, *451*(4), 301-323. doi:10.1002/cne.10339
- Stimpson, C. D., Tetreault, N. A., Allman, J. M., Jacobs, B., Butti, C., Hof, P. R., & Sherwood, C. C. (2011). Biochemical specificity of von Economo neurons in hominoids. *Am J Hum Biol*, *23*(1), 22-28. doi:10.1002/ajhb.21135
- Stroop, J. R. J. J. o. e. p. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *18*(6), 643.
- Trémeau, F. (2006). A review of emotion deficits in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci*, *8*(1), 59-70. doi:10.31887/DCNS.2006.8.1/ftremeau
- van Kooten, I. A., Palmen, S. J., von Cappeln, P., Steinbusch, H. W., Korr, H., Heinsen, H., . . . Schmitz, C. (2008). Neurons in the fusiform gyrus are fewer and smaller in autism. *Brain*, *131*(Pt 4), 987-999. doi:10.1093/brain/awn033
- Veijola, J., Guo, J. Y., Moilanen, J. S., Jaaskelainen, E., Miettunen, J., Kyllonen, M., . . . Murray, G. K. (2014). Longitudinal changes in total brain volume in schizophrenia: relation to symptom severity, cognition and antipsychotic medication. *PLoS One*, *9*(7), e101689. doi:10.1371/journal.pone.0101689
- Vogt, B. A. (2009). *Regions and subregions of the cingulate cortex* (Vol. 1).
- Vogt, B. A. (2019). Cingulate cortex in the three limbic subsystems. *Handb Clin Neurol*, *166*, 39-51. doi:10.1016/b978-0-444-64196-0.00003-0
- Vogt, B. A., Finch, D. M., & Olson, C. R. (1992). Functional heterogeneity in cingulate cortex: the anterior executive and posterior evaluative regions. *Cereb Cortex*, *2*(6), 435-443. doi:10.1093/cercor/2.6.435-a
- Vogt, B. A., Nimchinsky, E. A., Vogt, L. J., & Hof, P. R. (1995). Human cingulate cortex: surface features, flat maps, and cytoarchitecture. *J Comp Neurol*, *359*(3), 490-506. doi:10.1002/cne.903590310
- Vogt, B. A., & Pandya, D. N. (1987). Cingulate cortex of the rhesus monkey: II. Cortical afferents. *J Comp Neurol*, *262*(2), 271-289. doi:10.1002/cne.902620208
- von Economo, C. F. (1926). Eine neue Art Spezialzellen des Lobus cinguli und Lobus insulae. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, *100*(1), 706-712.
- Wang, F., Sun, Z., Cui, L., Du, X., Wang, X., Zhang, H., . . . Zhang, D. (2004). Anterior cingulum abnormalities in male patients with schizophrenia determined through diffusion tensor imaging. *Am J Psychiatry*, *161*(3), 573-575. doi:10.1176/appi.ajp.161.3.573
- Watson, K. K., Jones, T. K., & Allman, J. M. (2006). Dendritic architecture of the von Economo neurons. *Neuroscience*, *141*(3), 1107-1112. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.04.084
- Wegiel, J., Flory, M., Kuchna, I., Nowicki, K., Ma, S. Y., Imaki, H., . . . Brown, W. T. (2014). Stereological study of the neuronal number and volume of 38 brain subdivisions

- of subjects diagnosed with autism reveals significant alterations restricted to the striatum, amygdala and cerebellum. *Acta Neuropathol Commun*, 2(1), 141. doi:10.1186/s40478-014-0141-7
- Weinberger, D. R. (2017). Future of Days Past: Neurodevelopment and Schizophrenia. *Schizophr Bull*, 43(6), 1164-1168. doi:10.1093/schbul/sbx118
- West, M. J., Ostergaard, K., Andreassen, O. A., & Finsen, B. (1996). Estimation of the number of somatostatin neurons in the striatum: an in situ hybridization study using the optical fractionator method. *J Comp Neurol*, 370(1), 11-22. doi:10.1002/(sici)1096-9861(19960617)370:1<11::Aid-cne2>3.0.Co;2-o
- White, T. P., Joseph, V., Francis, S. T., & Liddle, P. F. (2010). Aberrant salience network (bilateral insula and anterior cingulate cortex) connectivity during information processing in schizophrenia. *Schizophr Res*, 123(2-3), 105-115. doi:10.1016/j.schres.2010.07.020
- World Health Organization. (2004). ICD-10 : international statistical classification of diseases and related health problems : tenth revision (2nd ed ed.). Geneva: World Health Organization.
- Wright, I. C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P. W., David, A. S., Murray, R. M., & Bullmore, E. T. (2000). Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 157(1), 16-25. doi:10.1176/ajp.157.1.16
- Xia, M., Zhu, S., Shevelkin, A., Ross, C. A., & Pletnikov, M. (2016). DISC1, astrocytes and neuronal maturation: a possible mechanistic link with implications for mental disorders. *J Neurochem*, 138(4), 518-524. doi:10.1111/jnc.13663
- Yan, H., Tian, L., Yan, J., Sun, W., Liu, Q., Zhang, Y. B., . . . Zhang, D. (2012). Functional and anatomical connectivity abnormalities in cognitive division of anterior cingulate cortex in schizophrenia. *PLoS One*, 7(9), e45659. doi:10.1371/journal.pone.0045659

Danksagung

Herrn Univ. Prof. Dr. med. Christoph Schmitz (Anatomische Anstalt der LMU München) für die interessante Auswahl und Übertragung des Forschungsthemas, für die außerordentliche Unterstützung und für die Vermittlung weiterer fachlicher Unterstützung, die es mir ermöglichte, diese Arbeit erfolgreich durchzuführen.

Herrn Prof. Dr.med. Helmut Heinsen (Universität Würzburg) für die Bereitstellung der Gehirnsammlung und für die fachliche Unterstützung bei der Identifizierung von Brodmann Area 24 und der von Economo Zellen.

Frau Dr. rer. biol. hum. Maren Kiessling (früher Anatomische Anstalt der LMU München; jetzt Institut für Anatomie der Universität Rostock) für die technische Unterweisung und geduldige Einführung in die Stereologie.

Meine KollegInnen aus dem Labor, die mir bei Rückfragen zur histologischen Methodik zur Verfügung standen, sowie für die Instandhaltung der Gehirnsammlung.

Meine Freunde, darunter Uta Splietker, die mir insbesondere in der Endphase der Dissertation motivierend zur Seite standen.

Meine Familie, die die ersten Pflastersteine für den Weg, den ich heute gehe, legten.

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Vollhardt, Alisa

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

„Stereologische Untersuchung der von Economo Zellen in Schicht V in Brodmann Area 24 im Gehirn von männlichen Patienten mit Schizophrenie“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 11.09.2023

Ort, Datum

Alisa Vollhardt

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Publikationsliste

Gaus R, Popal M, Heinsen H, Schmitt A, Falkai P, Hof PR, Schmitz C, Vollhardt A. Reduced cortical neuron number and neuron density in schizophrenia with focus on area 24: a post-mortem case-control study. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2022 Nov 9. doi: 10.1007/s00406-022-01513-6

Schmitt A, Tatsch L, Vollhardt A, Schneider-Axmann T, Raabe FJ, Roell L, Heinsen H, Hof PR, Falkai P, Schmitz C. Decreased oligodendrocyte number in hippocampal subfield CA4 in schizophrenia: a replication study. Cells 2022;11(20):3242. PMID 36291109