



Morphologie außergewöhnlicher Synaptic Ribbons in Ribbonsynapsen der Mäuseretina

Gustavus D, Menzler S, Bastelberger A und Jastrow H

Anatomisches Institut, Histologie, J. Gutenberg-Universität, Becherweg 13, D-55128 Mainz

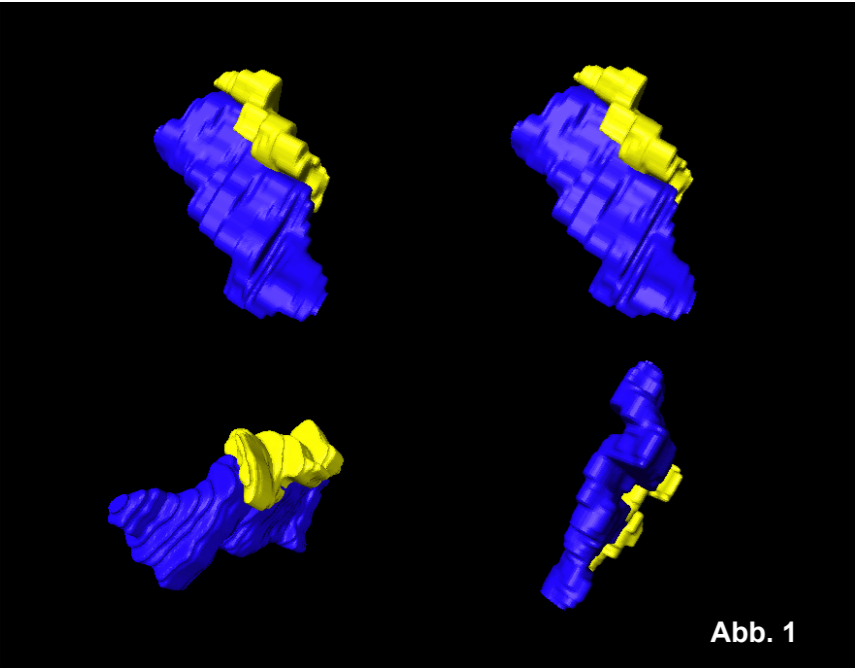


Abb. 1

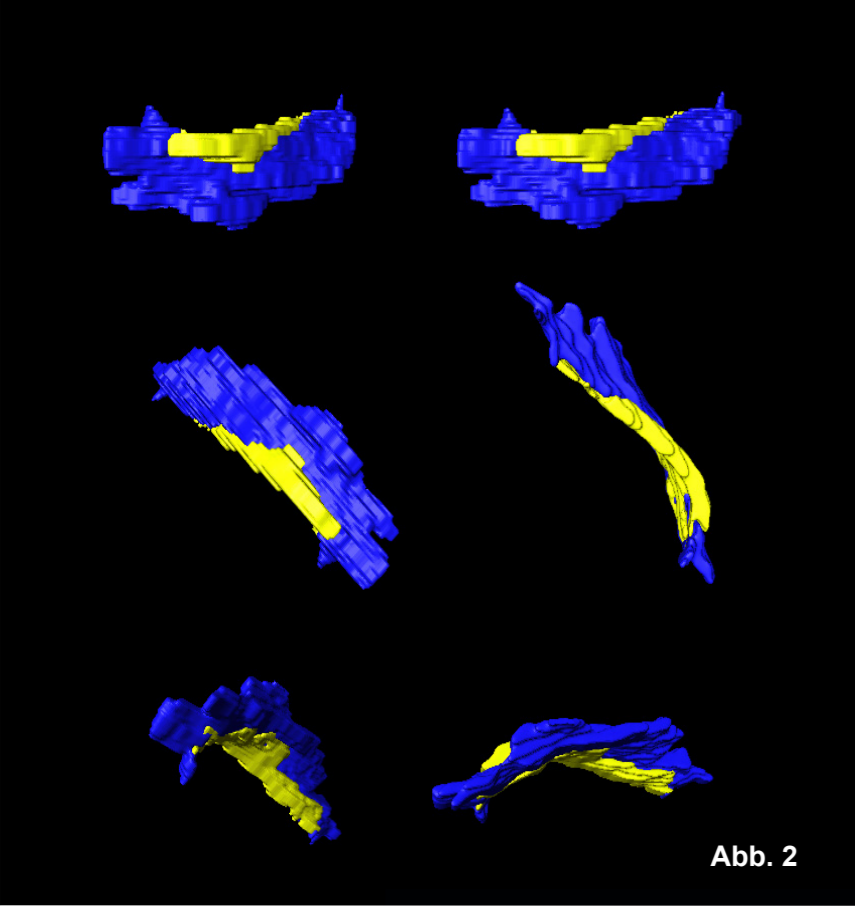


Abb. 2



Abb. 3

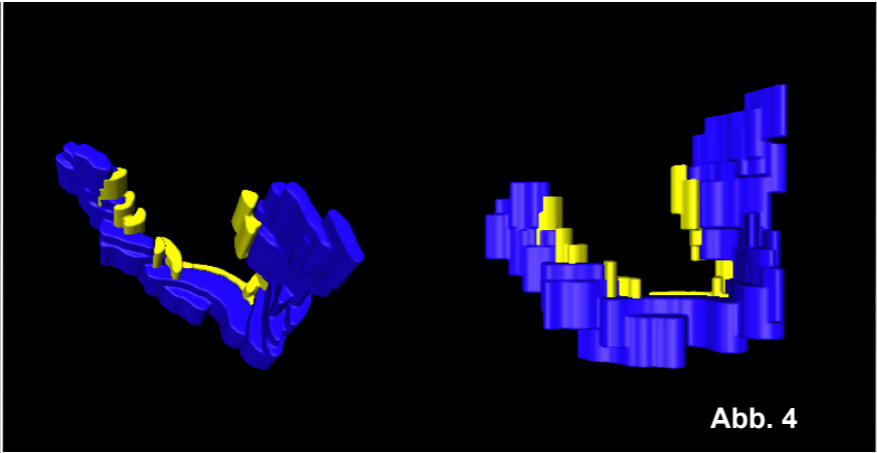


Abb. 4

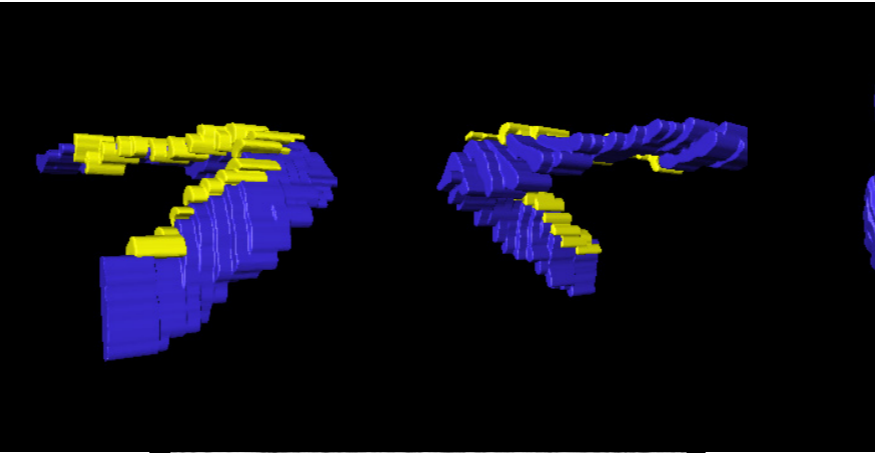


Abb. 5

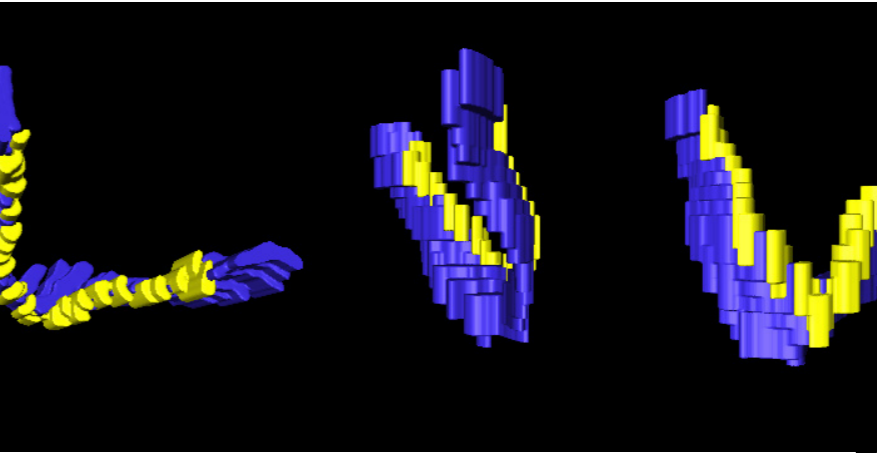


Abb. 6

Abstract:

Hochleistungssynapsen in Stäbchen der äußeren plexiformen Schicht (OPL) der Retina von Mammaliern zeigen im Transmissionselektronenmikroskop elektronendichte Profile von Synaptic Ribbons (SR). Diese sind über die ebenfalls elektronendichte Arciform Density (AD) an der präsynaptischen Membran verankert.

Um die Morphologie von SR mit außergewöhnlichen Schnittprofilen und deren AD in Stäbchen dreidimensional zu visualisieren, wurden Serienschritte von 18 Mäuseretinae mit insgesamt 28 rekonstruierten SR (BALB/c) erstellt. Mit geeigneter Software wurden die relevanten Strukturen von bis zu 48 Serienschritten digital rekonstruiert. Die Untersuchung bezog sich auf Strukturen in der OPL, da sich nur hier die beschriebenen Schnittprofile zeigten.

Während 71% der rekonstruierten SR die erwartete und bereits dokumentierte Hufeisenform mit abgeplatteten Vorder- und Rückseiten aufwiesen, wurden ferner SR mit in sich gedrehter Struktur dokumentiert, in diesen Fällen folgte die AD oftmals über einen Großteil des Verlaufs stringent. Die in sich gedrehten SR waren somit stark membranassoziiert, sie zeigten die typische U- bzw. C-Form jedoch nur noch ansatzweise.

Darüber hinaus fanden sich in zwei der untersuchten Retinae in Synapsen der OPL neben den oben beschriebenen SR solitäre, plattenförmige, trapezoide SR und Kugeln (Synaptic Spheres, SS) ohne AD. Plattenförmige SR und SS zeigten keine erkennbare räumliche Zuordnung zur präsynaptischen Membran.

Weiterhin wurden in einer Serie zwei V-förmige SR dokumentiert, deren AD die SR über den kompletten membranahnen Verlauf an die Präsynapse assoziierte.

Es steht zur Diskussion, ob diese V-artigen, in sich gedrehten und solitären bzw. sphäroiden Formen in der Tat atypisch sind oder nur die Bandbreite des möglichen Formenreichtums beschreiben und in welcher Weise die Morphologie der SR mit Licht und Dunkelexposition korreliert.

Einleitung

Die Terminalen der ersten und zweiten Neurone der Retina von Mammaliern weisen eine spezielle Zellorganelle auf, die in die Bindung und Freisetzung synaptischer Vesikel (SV) involviert ist. Es handelt sich hierbei um Synaptic Bodies (SB), welche in elektronenmikroskopischen Schnitten meistens als gerade oder gebogene bandförmige Strukturen imponieren (Synaptic Ribbons, SR). Dreidimensional sind die SR der Photorezeptoren zumeist C- bis hufeisenförmige Organellen (Abb. 2, 4).

Nach 60 – 90 Minuten Lichtgabe treten an den konvexen Kanten von SR klumpige Verdickungen und von SR abgelöste Synaptic Spheres (SS) auf. Letztere liegen in unmittelbarer Nachbarschaft zu SR und werden als Abbauprodukte derselben angesehen (Abb. 3).

SR sind durch Proteinbrücken, die von der Arciform Density (AD) ausgehen, stringent an die präsynaptische Membran gebunden. Hierdurch minimiert sich die Wegstrecke, welche die an das SR gebundenen SV zurücklegen müssen, um ihren Neurotransmitter (Glutamat) in den synaptischen Spalt ausschütten zu können.

Bei der Analyse von Serienschritten der Mäuseretina fielen ungewöhnliche SR-Profile auf, deren dreidimensionale Morphologie sich kaum mit den bisherigen Vorstellungen über den Bau von SR in Einklang bringen ließ (Abb. 8a-d) und hier im Detail untersucht werden sollte.

Material und Methode

Retinae von dunkeladaptierten BALB/c – Mäusen wurden ohne bzw. nach 30 und 90 Minuten Lichtgabe entnommen und für die Elektronenmikroskopie aufgearbeitet (Tabelle 1). Die Gewebestücke wurden mittels eines Ultramikrotoms in Serien von bis zu 48 Schnitten mit einer Dicke von 50 nm geschnitten. An einem TEM (LEO 906E) wurden zufällig ausgewählte Synapsen der OPL mit angeschnittenen SR über den Verlauf der gesamten Serie digital dokumentiert.

Hierbei wurden insgesamt 30 SB rekonstruiert, wovon 22 SB aus 7 Stäbchenzellen und 8 SB aus 3 Zapfenzellen stammten.

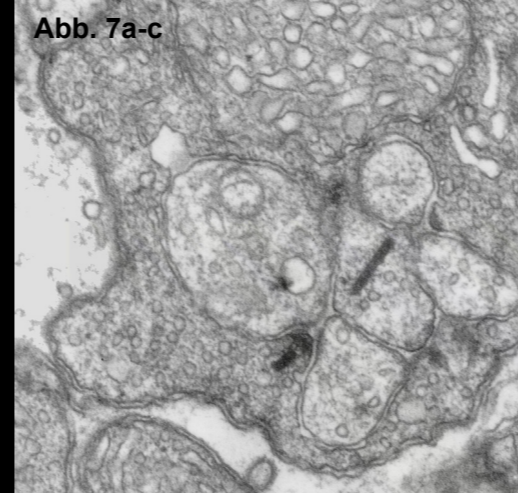
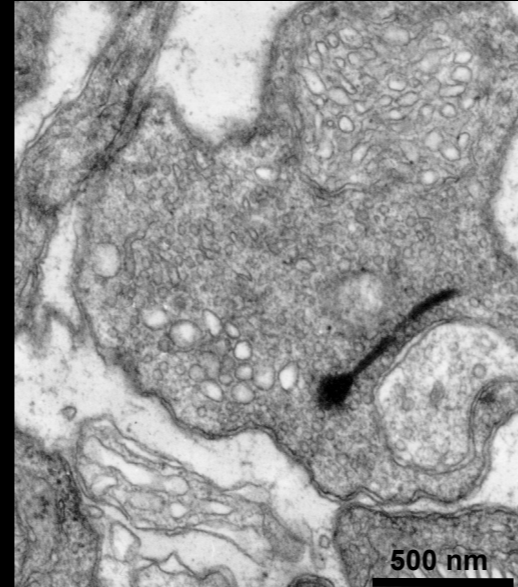
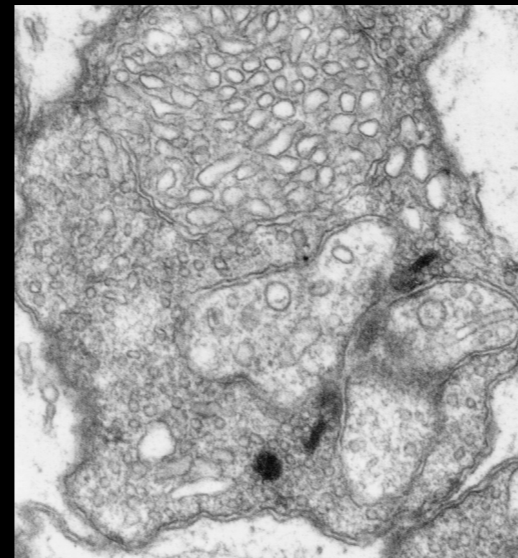


Abb. 7a-c



500 nm

Tabelle 1. Experimentelle Bedingungen des Untersuchungsmaterials.

Belichtung	keine (Kontrolle)	30 min	90 min
SB in Stäbchenzellen (Tiere)	11 (2)	5 (2)	6 (3)
SB in Zapfenzellen (Tiere)	6 (2)	-	2 (1)

Nach Überlagerung der digitalisierten Schnitte mit Adobe® Photoshop® wurden die relevanten Strukturen mit Hilfe von Software der Firma Corvis (Mainz) segmentiert. Die eigentliche dreidimensionale Darstellung erfolgte mit der Visualisierungssoftware Amira®.

Die farblich segmentierten Objekte wurden zur besseren Darstellung interpoliert und mit einer Isosurface überzogen. Zur optimalen Datengewinnung wurden von sämtlichen ausgewerteten SR in allen drei Achsen gradweise Bilddaten erzeugt, die danach zur Erstellung von Filmsequenzen dienten.

Mittels eines 3D-Druckers (Z406, Firma Zcorp.) folgte die Herstellung dreidimensionaler Gipsmodelle von ausgesuchten SR.

Ergebnisse

Zwanzig von 30 SB zeigten die bereits bekannte C- bis hufeisenförmige Struktur, doch fanden sich auch davon abweichende Formen wie zwei bis um 90° gedrehte SR, die nur noch annähernd an ein C erinnerten (Abb. 12). Auch hier folgte die AD der Drehung. Diese in sich spiralisierten SR traten in Stäbchenzellen nach 90 Minuten Lichtgabe auf.

In Stäbchenterminals der zwei Dunkeltiere wurden u.a. zwei V-artige SR rekonstruiert, die in der Retina in dieser Form bisher noch nicht beschrieben worden sind (Abb. 5, 6, 8a-d). Einige Profile dieser SR zeigten in den Originalschnitten einen ungewöhnlich starken, annähernd rechtwinkligen Knick (Abb.). Die im Vergleich zu C-förmigen SR um etwa ein Drittel kleinere AD folgte wie auch die Zellmembran bei kleinerer Postsynapse dem Verlauf des SR.

In zwei Zapfenzellen der Dunkeltiere wurden an der präsynaptischen Membran pro Zelle ein C-förmiges und ein freies SR ohne AD gefunden (Abb. 9-11), in einem Fall zusätzlich zwei SS. Die freien SR lagen durch einen dünnen Zellfortsatz getrennt in derselben Terminalen wie die C-förmigen SR und die SS (Abb. 3, 7a-c). Sie waren etwa ein Drittel so groß wie C-förmige SR, hatten eine trapezoide Form und ähnelten den SR aus der inneren plexiformen Schicht (IPL), die jedoch eine AD aufweisen und kleiner als die freien SR sind.

Nach 90 min Belichtung wurden in einer Zapfenzelle an der präsynaptischen Membran zwei plattenförmige SR mit jeweils durchgängiger AD gefunden und rekonstruiert (Abb. 1). Diese waren größer als die entsprechenden Strukturen in der IPL, jedoch um etwa zwei Drittel kleiner als C-förmige SR.

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen, dass die dreidimensionale Regelform der SR eine hufeisenförmige Struktur ist (Abb. 2, 4). Diese Form ergibt sich daraus, dass die SR die den Photorezeptor invaginierenden Zellausläufer umgeben.

Ein wichtiger neuer Befund ist der, dass in Zapfenzellen neben C-förmigen SR trapezoide Platten vorkommen (Abb. 3, 9, 11), die interessanterweise unter Dunkelheit keine AD haben und in einiger Entfernung von der präsynaptischen Membran liegen. Nach 90 min. Belichtung weisen sie jedoch eine AD auf (Abb. 1) und sind an der präsynaptischen Membran verankert.

Da in den hier untersuchten Synapsen keine C-förmigen, sondern nur trapezoide SR vorkamen, liegt der Gedanke nahe, dass sich die großen C-förmigen in kleinere trapezoide SR umwandeln, was zu einer verminderten Neurotransmitterausschüttung führen könnte.

Die V-artigen SR (Abb. 5, 6, 8a-d) scheinen eine im Scheitelbereich stark abgeknickte, funktionell nicht wesentlich unterschiedliche Variante der bekannten C- bis hufeisenförmigen SR darzustellen. Bislang ist nicht bekannt, wodurch die Formveränderung ausgelöst wird. Es wird angenommen, dass hier ein Zusammenhang mit der veränderten Synapsegeometrie besteht.

Dieses Poster enthält vorab veröffentlichte Daten aus der Dissertation von D. B. Gustavus.

Adobe® und Photoshop® sind registrierte Handelszeichen der Firma Adobe Systems Inc., 345 Park Avenue, San Jose Ca 95110, USA. Amira® ist ein registriertes Warenzeichen der Inred - Visual Concepts GmbH, Ihnestr. 23, D-14195 Berlin-Dahlem. Die Segmentierungssoftware stammt von der Firma CorVis Med. Datenverarbeitung GmbH & Co. KG, Anna-Stenner-Straße 66, D-55129 Mainz. Unser Dank gilt: Herrn Univ.-Prof. Dr. L. Vollrath, Frau Dr. I. Spiwocks-Becker und Frau I. von Graevnitz für ihre tatkräftige Unterstützung.

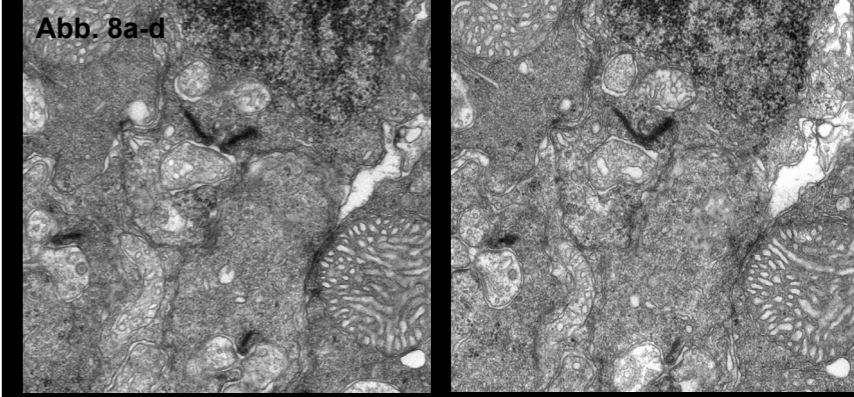


Abb. 8a-d

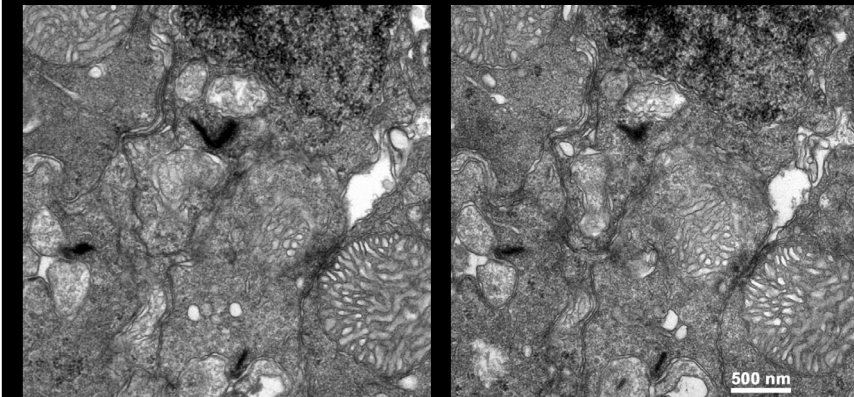


Abb. 9

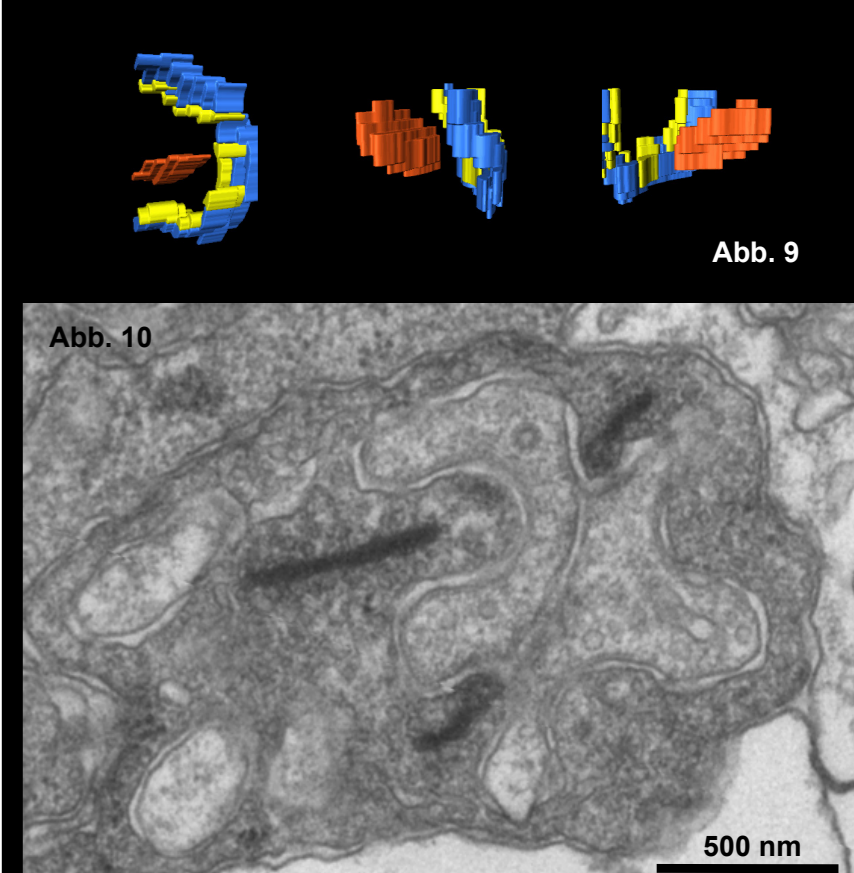


Abb. 10

500 nm

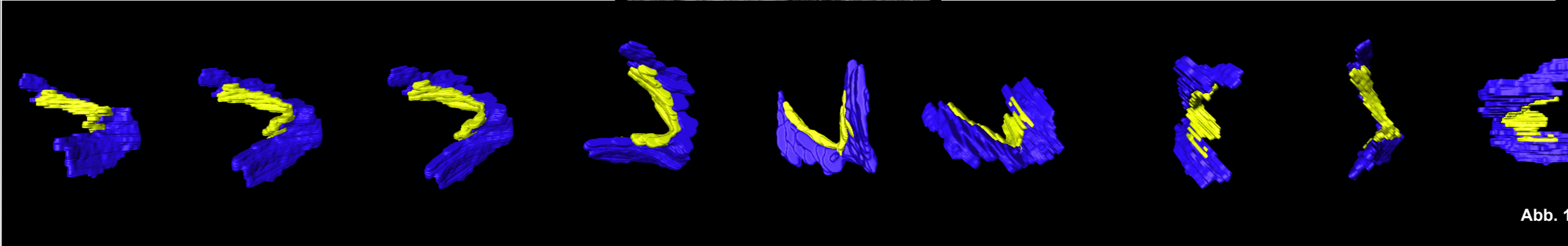


Abb. 11

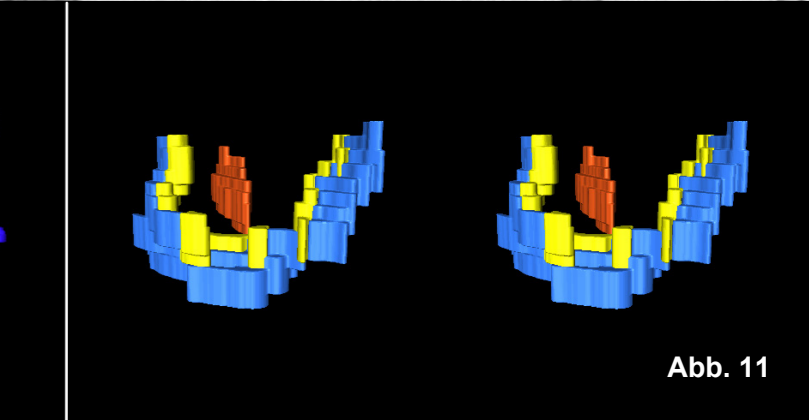


Abb. 12