



Dreidimensionale Visualisierung synaptischer Körperchen im ersten und zweiten Neuron der Sehbahn

Holger Jastrow, Dirk B. Gustavus, Georgios Kolios und Lutz Vollrath

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

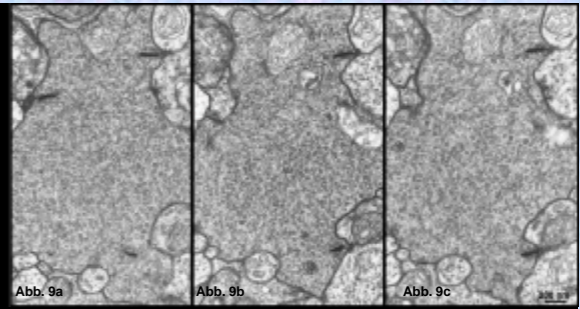
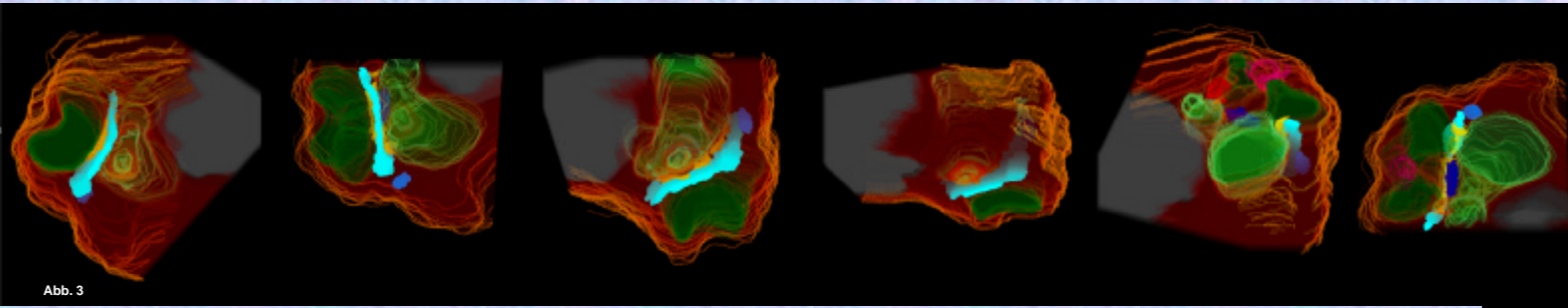
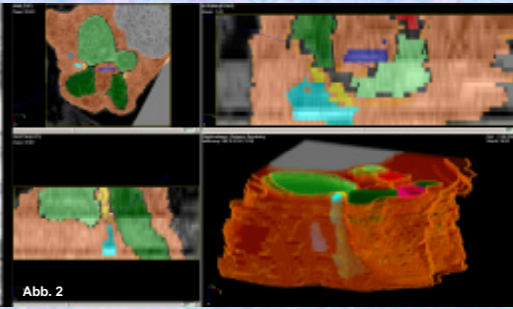
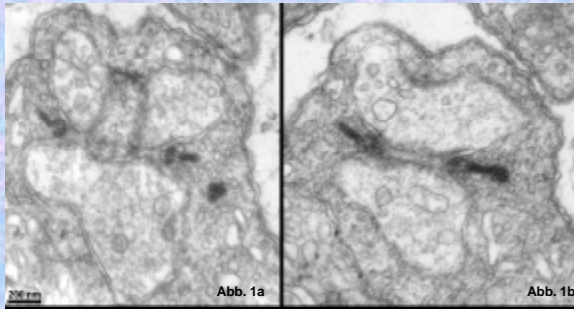
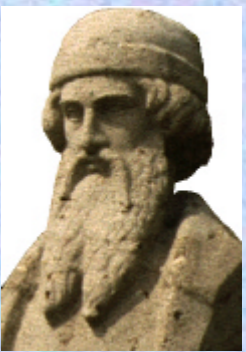


Abb. 1a: Original Serienbilder eines Stäbchenfortsatzes
Abb. 1b: Bildschirmfoto der Visualisierungssoftware der Firma ConVis (Mainz)
Abb. 2: 3D-Rekonstruktion eines Stäbchenfortsatzes mit Membran und Mitochondrium
Abb. 3: Darstellung der Invagination der SBZ- und Horizontalfortsätze
Abb. 4: Visualisierung der AD mit SK, SK* und transparenten Membranen
Abb. 5: komplette Rekonstruktion der AD
Abb. 7a-d: verschiedene Ansichten von vier SK mit zugehörigen AD in Stäbchenfortsätzen

Einleitung

Die glutamatergen Synapsen von Sinneszellen mit hoher Entladungsrate weisen synaptische Körperchen (SK) auf. In der Retina sind diese an der Signaltransduktion zwischen Stäbchen, Zapfen und deren Bipolarzellen (erste Synapse in der äußeren plexiformen Schicht; OPL) und zwischen Bipolar- und Ganglienzellen (zweite Synapse in der inneren plexiformen Schicht; IPL) beteiligt. SK binden synaptische Vesikel (SV) an ihrer Oberfläche und zeigen funktions- sowie Tageszeit-abhängige morphologische Veränderungen (Adly et al. 1999). Um diese überwiegend auf Profillängenmessungen basierenden, für das funktionelle Verständnis der Synapsen wichtigen Befunde vollständig erfassen zu können, sind jedoch 3D-Rekonstruktionen notwendig. Hier werden Computerrekonstruktionen vorgestellt, die eine Visualisierung der SK in räumlicher Beziehung zu Fortsätzen anderer Zellen, der Zellmembran, und der in unmittelbarer Nähe vieler SK gelegenen Membranverankerung (Arciform Density, AD) zeigen. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag auf dem Vergleich der Morphologie von SK der Stäbchen und den Stäbchen-Bipolarzellen (SBZ).

Material und Methode

SK-Profile von Stäbchen und Bipolarzellfortsätzen der Retina von BALB/c-Mäusen wurden bei 10.000 – 16.000-facher Vergrößerung in 15 lückenlosen Schnittserien mit bis zu 32 Schnitten digital dokumentiert. Die so gewonnenen 8bit Grauwert-TIFF-Bilder (Abb.1,9) wurden mit Adobe® Photoshop® und einem selbst entwickelten IDL® - Programm überlagert und in Volumendatensätze überführt. Mit Hilfe von Software der Fa. ConVis (Mainz; Abb.2) erfolgte eine Interpolation zur Kantenglättung und die Segmentierung der Daten, wobei die interessanten Strukturen als verschiedenfarbige Voxeloobjekte markiert und visualisiert wurden (Abb.3-8,10-12).

Ergebnisse

Die SK sind elektronendichte, von SV umgebene Zellorganellen (Abb.1,9). In Stäbchenterminalen findet man C- bis U-förmige, an Vorder- und Rückseite abgeplattete, in der Lichtphase (Abb.3-5,8) am Außenrandbereich des mittleren Bogenabschnitts verdickte Strukturen. Der Abstand der beiden Hauptflächen zueinander beträgt ~35 nm, die Bogenlänge kann über 2 µm messen. Hauptsächlich in der Nähe des aufsteigenden Arcus größerer SK treten in der Lichtphase Gruppen von 1-5 volumenmäßig kleineren, klumpigen bis kugelförmigen SK mit maximal 150 nm Quer-durchmesser auf (im Folgenden als SK* bezeichnet). Nur die großen SK sind über feine elektronendichtere Verbindungen mit den unmittelbar darunter an der Zellmembran verankerten Verdichtungen (AD) verknüpft. Letztere haben die Form einer gebogenen Rinne mit einer durchschnittlichen Bogenlänge von ~500 nm (Abb.5,6). SK* liegen weiter im Zytoplasma und haben keine Beziehung zur AD. Im Bezug auf die Horizontalfortsätze sind die SK innerhalb der betrachteten Ebene parallel angeordnet und stehen somit in der 3D-Ansicht senkrecht auf ihnen (Abb.3-5,8). In der Regel läßt sich nur ein großes SK pro Fortsatz dokumentieren.

Die SK der Fortsätze der SBZ in der IPL besitzen ein etwa 4-fach kleineres Volumen als die der Stäbchenterminalen. Ihre Form gleicht in etwa rechteckigen Platten mit Kantenlängen von ~ 200 x 350 nm und einem Abstand zwischen den beiden großen, flachen Hauptflächen von ca. 35 nm (Abb.10-12). Häufig trifft man im selben Fortsatz mehrere, vereinzelte, einige hundert Nanometer voneinander entfernte SK (Abb.10). Deren Abstand zur Zellmembran ist durchschnittlich größer als bei den SK der Stäbchen. Dazu passend sind die SK in SBZ nur über relativ enge Bereiche mit AD verbunden, die auch wesentlich kleiner und kürzer sind als in der OPL (100 bis ~250 nm) und sich gelegentlich gar nicht nachweisen lassen. Klumpige oder kugelförmige SK* konnten nur in geringer Zahl während der Lichtphase in Fortsätzen der SBZ gefunden werden.

Diskussion

Die hier gezeigten bogenförmigen SK der Maus ähneln den sichelförmigen bei Katzen rekonstruierten Organellen (Rao-Mirotnik et al. '95) mit dem Unterschied, daß dort keine Randverdickungen in der Lichtphase beschrieben wurden. Die von Sjöstrand ('58) angefertigten Plastizindmodelle von Stäbchensynapsen des Kaninchens zeigen eher bandförmige SK gleichmäßiger Dicke. Beide Quellen erwähnen auch keine rundlich-klumpigen SK*. Diese und die für die Lichtphase typischen Randverdickungen von SK (Adly et al. '99) deuten, wie auch die in unmittelbarer Nachbarschaft gelegenen SK*, auf Ab- oder Aufbauvorgänge des elektronendichten Materials der Organellen hin. Solche Strukturen lassen sich nur in verschiedenen Haarzelltypen und unter Dauerlichtbedingungen in der Zirbeldrüse finden. In unbehandelten Pinealozysten der Ratte rekonstruierte kleine rechteckige plattenförmige SK (Jastrow et al. '97) ähneln denen der SBZ der Maus.

Zahlenmäßig wenige C- bis U-förmige Platten der Stäbchenterminalen stehen einer signifikant größeren Menge deutlich kleinerer plattenförmiger SK der SBZ Fortsätze gegenüber. Das Gesamtvolumen des elektronendichten Materials und die zur Vesikelbindung zur Verfügung stehende Oberfläche der SK ist an beiden Lokalisationen jedoch vermutlich gleich groß.

In Stäbchenterminalen verankert die AD mittels dünner proteinhaltiger Brücken SK über weite Strecken sehr nah am Plasmalemm, wodurch größere Vesikelmengen in unmittelbarer Nähe der präsynaptischen Membran festgehalten werden. Dies soll für die Aufrechterhaltung der hohen Sekretionsrate und damit auch der tonisch hohen Feuerrate der ersten Neurone der Sehbahn verantwortlch sein (Rao-Mirotnik et al. '95). Bei den zweiten Neuronen, die nicht so komplexe Synapsen ausbilden und mit geringeren Raten feuern, ist ein längerer so inniger Membrankontakt der SK vermutlich physiologisch nicht notwendig.

Literatur

Adly M, Spiwoks-Becker I, Vollrath L (1999). Ultrastructural changes of photoreceptor synaptic ribbons in relation to time of day and illumination. IOVS 40(10):2165-2172.
Jastrow H, von Mach M-A, Vollrath L (1997). The shape of synaptic ribbons in the rat pineal gland. Cell Tiss Res 287:255-261.
Rao-Mirotnik R, Harkins AB, Buchsbaum G, Sterling P (1995). Mammalian rod terminal: architecture of binary synapse. Neuron 14:561-569.
Sjöstrand FS (1958). Ultrastructure of retinal rod synapses of the guinea-pig eye as revealed by three-dimensional reconstructions from serial sections. J Ultrastruct Res 2:122-170.

Dieses Poster enthält vorab veröffentlichte Daten aus den Dissertationen von Dirk B. Gustavus und Georgios Kolios.

IDL® ist ein registriertes Handelszeichen der Firma Research Systems Inc., 2995 Wilderness Place, Suite 203, Boulder CO 80301, USA. Adobe® und Photoshop® sind registrierte Handelszeichen der Firma Adobe Systems Inc., 345 Park Avenue, San Jose Ca 95110, USA. Die verwendete Segmentierungs- und Visualisierungssoftware wurde entwickelt von der Firma ConVis Medizinische Datenverarbeitung GmbH & Co. KG, Anna-Stenner-Straße 66, D-55129 Mainz, http://www.convis.de

Zusammenfassung

Synaptische Körperchen (SK) spielen eine wichtige Rolle bei der Reizübertragung in der Retina. Mit der hier geschilderten Methode wurden SK der ersten und zweiten Synapsen der Sehbahn der Maus und erstmals auch deren zugehörige Membranverankerung (Arciform density) dreidimensional rekonstruiert. Dabei zeigte sich, daß einer geringeren Zahl größerer, meist U-förmiger SK der Stäbchenterminalen eine größere plattenförmiger, kleinerer Organellen der Bipolarzellen gegenübersteht.

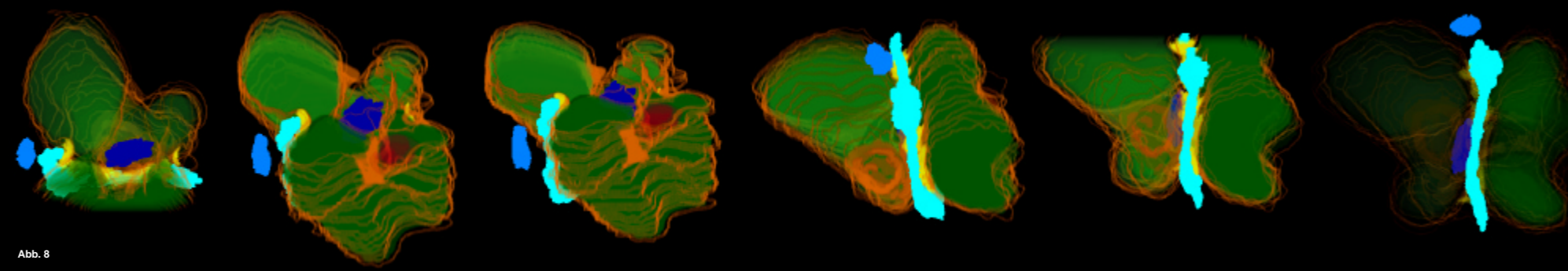
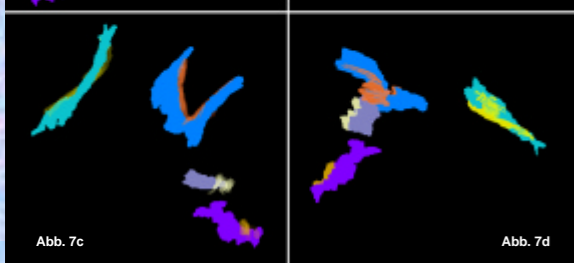
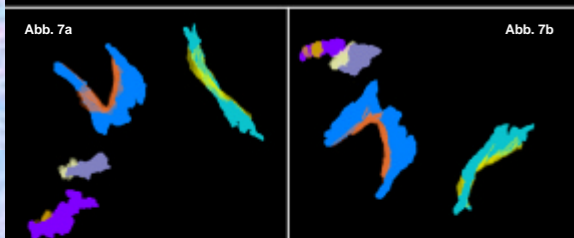
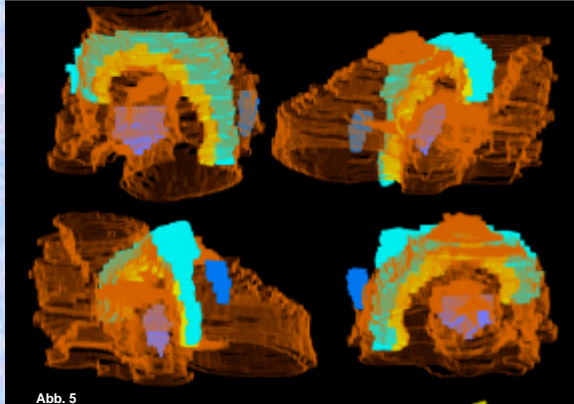
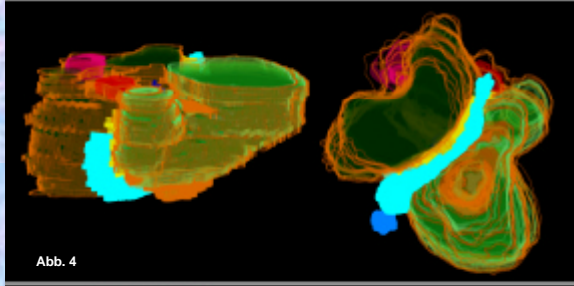
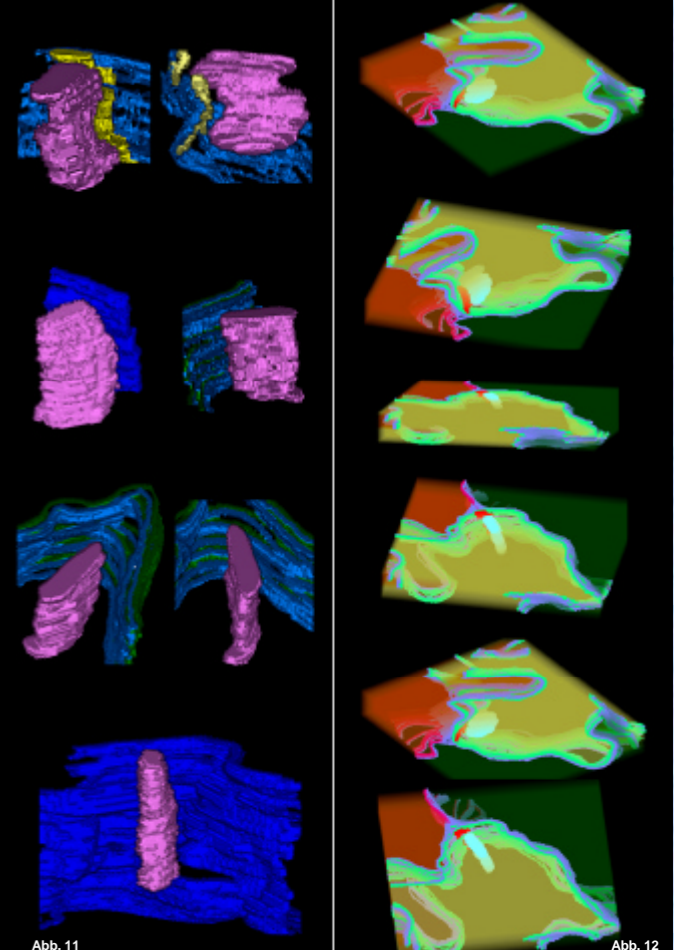
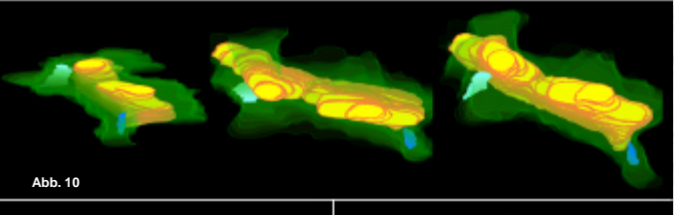


Abb. 8: 3D-Rekonstruktion von SK, SK* und der AD im Stäbchenfortsatz
Abb. 9a-c: Serie von Originalbildern eines Fortsatzes einer Stäbchenbipolarzelle
Abb. 10: Visualisierung zweier SK mit Zellmembran und Mitochondrium
Abb. 11: Detailbilder verschiedener plattenförmiger SK in Stäbchenbipolarzellen in Relation zum Plasmalemm und der AD
Abb. 12: Darstellung eines SBZ-Fortsatzes mit SK und der AD



Danksagungen
Unser Dank gilt:
Frau Ilse von Graevenitz,
Frau Anke Bastelberger,
Frau Martina Kirchner,
Herrn Antonios Kolios
und der Firma ConVis (Mainz)
für tatkräftige Unterstützung sowie
Frau Dr. Isabella Spiwoks-Becker
für hilfreiche Diskussionen.

