

## Zahlemäßige Verteilung der Dendritendorne am Apikalen Dendriten der Pyramidenzellen bei Morbus Alzheimer und Seniler Demenz

Michio YAMADA

*aus der neurologisch-psychiatrischen Universitätsklinik Yamaguchi (Chef: Prof. K. Nakamura) Ube, Japan und Max-Planck-Institut für Psychiatrie (Chef: Prof. G. Peters) München, BRD.*

Bei der morphologischen Untersuchung des Zentralnervensystems in Fällen von Alzheimerscher Erkrankung und seniler Demenz standen die augenfälligen Erscheinungen wie die senilen Plaques und die Alzheimer'schen Fibrillenveränderungen lange Zeit im Vordergrund des Interesses. Als Substrat für die cerebrale Symptomatik, vor allem für den intellektuellen Abbau und die mnesticen Störungen wurde ein hochgradiger Nervenzellverlust postuliert, welcher nie exakt nachgewiesen wurde. Man gewußt aber bei wiederholter Untersuchung der Gehirne von verstorbenen Patienten mit seniler Demenz den Eindruck, daß die Nervenzellzahl nicht so offenkundig verringert ist. Die häufige Diskrepanz zwischen relativ geringem Zellverlust und der Stärke der klinische Symptomatik veranlaßte uns nach weiteren morphologischen Substraten zu suchen.

Mehrere Indizien weisen auf mögliche Veränderungen im Bereich der Dendriten hin. Die Untersuchung der dendritischen Verzweigungen und deren feinerer Aufbau stößt aber neben den aus der Komplexität der Rinde resultierenden Schwierigkeiten bei humanem Autopsiematerial auch auf technische Probleme. Die Golgi-Methode<sup>1)</sup>, die bekanntlich die beste Möglichkeit dafür bietet ist bei langer in Formol liegendem und nicht sofort fixiertem Material nicht immer zufriedenstellend.

### MATERIAL UND METHODE

Mit Hilfe einer neuen Kelemen und Yamada<sup>2)</sup> entwickelten Golgi-Modifikation gelang es nun auch bei lange in Formalin gelagertem Autopsiematerial gute Golgi-imprägnationen mit zuverlässiger Darstellung der Spines zu erreichen. Mit dieser Golgi-Modifikation führten wir in Fällen von Morbus Alzheimer, seniler Demenz und in einer Kontrollgruppe quantitative Untersuchungen der Spines am apikalen Dendriten durch.

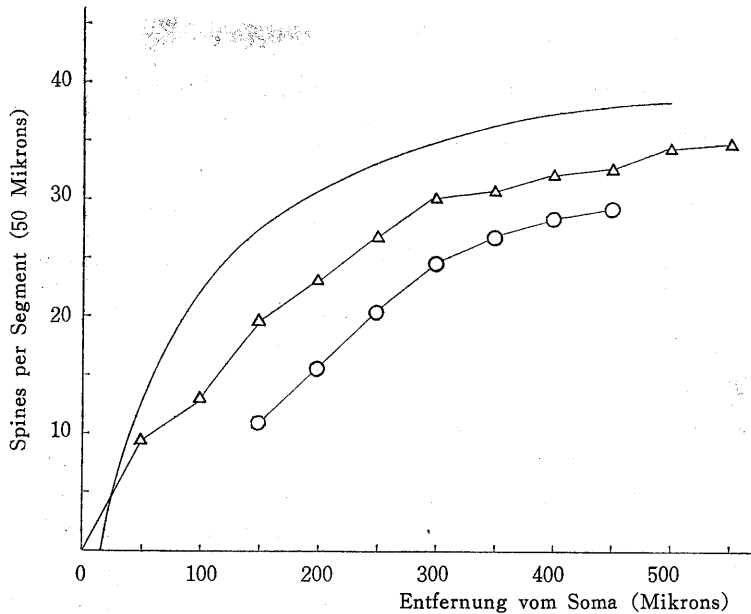


Abb. 1. Der Vergleich der Kontrollfälle von numerischen Verteilungen der Spines auf den apikalen Dendrit an die Pyramidenzellen.

unseres Resultat (Autopsiematerial-Kontrollfälle-  
Gyrus cinguli und Ammonshornformation)

○—○

Resultat von Varverde<sup>3)</sup> (Maus-Area striata)

—

Resultat von Marin-Padilla<sup>4)</sup> (45-tägiger Neugeborenen)

△—△

Es handelte sich dabei um 20 Fälle von seniler Demenz, 15 Fälle mit Alzheimerscher Erkrankung und 30 Kontrollfälle ohne psychische Erkrankungen. Die Unterteilung der Kranken in die 2 Gruppen-senilen Demenz und Morbus Alzheimer-geschah nach Maßgabe des Alters bei Beginn der klinischen Manifestation der Krankheit. Untersucht wurden jeweils 2 Rindenpartien der Gyrus cinguli in einem Frontalschnitt in Höhe der Corpora mamillaria und die Ammonshornformation auf derselben Höhe. Es wurde die numerische Verteilung der Spines auf den apikalen Dendrit der Pyramidenzellen der 5. und z.T. der 3. Schicht bei den erwähnten Erkrankungen registriert und mit den Kontrollfällen verglichen. Der apikale Dendrit wurde bei geeigneten Pyramidenzellen nach Abgang vom Soma in Abschnitte von jeweils  $50 \mu$  unterteilt, wobei bei einzelnen Zellen 7 - 11 Abschnitte also eine Gesamtstrecke zwischen 350 bis  $550 \mu$  ausgemessen wurde. Pro Fall untersuchten wir in jeder Region 30 bis 50 Zellen.

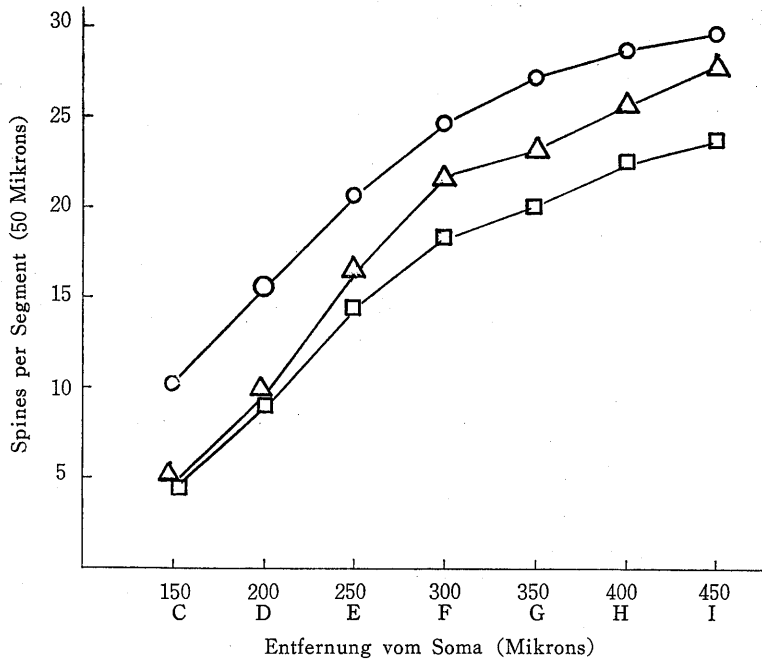


Abb. 2. Die numerische Verteilung der mittelwertigen Spinezahl auf den apikalen Dendrit der Pyramidenzellen.

Kontrollfälle	○—○
senile Demenz	△—△
Morbus Alzheimer	□—□

## RESULTAT UND DISKUSSION

Abb. 1 zeigt die durch durchschnittliche numerische Dichte der Dorne im Verhältnis zu ihrer Entfernung vom Zellsoma. Es handelt sich hierbei um die Kontrollfälle. Man erkennt, daß die Zahl der Spines mit der Entfernung vom Zelleib stark zunimmt, um dann in ein Plateau überzugehen. In einzelnen Zellen, bei denen die Zählung über eine längere Strecke möglich war, zeigte sich eine leichte Abnahme der Dichte der Spines nach einer Entfernung von ca. 500 bis 600  $\mu$  vom Soma.

Diese einer expotentiellen Kurve ähnliche Dichtezunahme der Dorne stimmt mit den Beobachtungen von Valverde<sup>3)</sup> und Marin-Padilla<sup>4)</sup> überein, wobei Valverde diese Dichtezunahme an die Pyramidenzellen der Sehrinde der Maus und der letztere im visuellen Cortex der menschlichen Neugeborenen quantitativ untersucht haben. Abb. 2 sind nun neben den Kontrollfällen die Mittelwerte für die Fälle von Morbus Alzheimer und seniler Demenz der verschiedenen Abschnitte aufgetragen. Bei beiden Gruppen erkennt man nun ebenfalls eine rasche Zunahme der Spines

mit der Entfernung von der Zelle. Sie verhalten sich in dieser Hinsicht ähnlich der Kontrollgruppe. Man erkennt aber in allen Abschnitten eine eindeutige Abnahme der Dichte der Spines, sowohl bei Morbus Alzheimer, als auch bei seniler Demenz gegenüber der Kontrollgruppe. Für die Vergleiche beider Gruppen wurden Mittelwerte für einzelne Abschnitte errechnet.

Die statistische Prüfung erfolgte nach dem Kruskal/Wallis-Test. Für jeden der Abschnitte C bis I lagen für beide Regionen alle Testschwellen unter 1%. Die statistische Signifikationsprüfung ergab sowohl für einzelne Abschnitte als auch für die gesamte Dendritenlänge eine erwiesene stark signifikante Verminderung der Spines bei beiden Erkrankungen gegenüber der Kontrollgruppe. Dies stellt das wesentliche Ergebnis dieser Untersuchung dar. Auch zwischen den beiden Gruppen, d.h. zwischen Morbus Alzheimer und der seniler Demenz ist eine sichtbare Differenz zu registrieren, wobei anscheinend der Verlust an Spines bei der Morbus Alzheimer größer ist als bei seniler Demenz. Interessant ist aber das differente Verhalten der Dorne in verschiedenen Abschnitten. Während in somanahen Abschnitten sich die Abnahme der Spines bei beiden Gruppen fast gleich verhält sind die somaferneren Abschnitte bei seniler Demenz weniger vom Spinesverlust betroffen als bei Morbus Alzheimer.

Bei statistischer Prüfung zeigen die Strecken C bis E keinen signifikanten Unterschied. Die Strecken G bis H haben aber eine Signifikanz von etwa 1%, während die weiter entfernten Strecken der Testschwellen weit unter 1% liegt.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei Morbus Alzheimer und seniler Demenz eine partielle Deafferentierung der Pyramidenzellen der Rinde vorliegt, zumindest was die Rinde von Gyrus cinguli und des Ammons-horns betrifft. Diese Deafferentierung der Rindenzellen scheint uns ein wesentliches morphologisches Substrat der klinischen Symptomatik.

Wie sich die Spines der verschiedenen Nervenzellen der Rinde in unterschiedlichen Regionen im Laufe des Lebens und vor allem im Alter verhalten ist weitgehend unbekannt. Daß die Zahl der Spines am apikalem Dendriten der Pyramidenzellen in den ersten Lebenstagen mit Zunahme der Reize zunimmt und daß ein fehlender Lichtreiz durch Aufenthalt im Dunkeln von der Geburt an eine Verminderung der Zahl der Dorne in visuelle Cortex bewirkt, geht aus den Untersuchungen von Valverde<sup>3)</sup> und Marin-Padilla<sup>4)</sup> hervor und wurde für den Einfluß der Afferenzen sprechen. Andererseits lassen die neuerlichen Untersuchungen von Hirano<sup>5)</sup> an abberenten Nervenzellen die unabhängigkeit der Entsteh-

ung der Dorne von präsynaptischen Verbindungen möglich erscheinen. Nach Untersuchungen von Globus und Mitarbeitern<sup>6)</sup> an optischem Cortex scheint der apikaler Dendrit vorwiegend von den afferenten Endigungen der subcortikalen Neuronen besetzt zu sein und weniger den intracortikalen Querverbindungen zu dienen. Da die subcortikalen Kerngebiete bei den hier zu diskutierenden Erkrankungen weniger alteriert sind, kann der Verlust der Dorne mehr als Folge der Erkrankung der betreffenden Pyramidenzelle selbst denn als sekundärer Prozeß aufgefaßt werden. Daß eine veränderte Stoffwechsellage der Zelle etwa durch Alteration oder Durchtrennung seines Axons zur Ablösung der axosomatischen Synapsen und damit einer partiellen Deafferentierung der Nervenzellen führen kann, ist durch Untersuchungen von Kreuzberg und Schubert<sup>7)</sup> an primär gereizten Zellen gereigt worden. Man kann spekulieren, daß eine krankhafte Stoffwechsellage der Zelle bei Morbus Alzheimer etwa im Sinne gestörter Transportmechanismen an den Dendriten zu Ablösung der Verbindungen an den Spines führt.

Zuletzt sei auf einen Befund hingewiesen, der noch genauerer Prüfung bedarf. Bei Durchmusterung der zahlreichen Schnitten gewinnt man den Eindruck, daß sich Zahl und Ausdehnung der dendritischen Verzweigung bei Fällen von Morbus Alzheimer und seniler Demenz verkleinern. Dieser Eindruck bedarf jedoch der quantitativen Überprüfung.

### ZUSAMMENFASSUNG

Bei 15 Fällen vom Morbus Alzheimer, 20 Fällen von der senilen Demenz und 30 Fällen aus der Kontrollgruppe wurde eine quantitative Untersuchung der Dendritendornen an den apikalen Dendriten des Gyrus cinguli und der Ammonshornformation durchgeführt. Dabei standen Schnitte, die aus formolfixierten Autopsiematerialien hergestellt und dann mit einer Modifikation der Golgi'schen Methode (Kelemen - Yamada) gefärbt wurden, zur Verfügung. In jedem Fall zählten wir Dendritendornen an den apikalen Dendriten der 30 bis 50 Pyramidenzellen aus der 5. und z.T. 3. Schicht über eine Strecke von 350 bis 550  $\mu$  oder mehr vom Zellsoma und die Ergebnisse wurden einer statistischen Prüfung unterzogen.

Daraus ergab sich, daß bei der Kontrollgruppe der Verteilungsmodus der Dornen mit der Modelle nach Valverde und Marin-Padilla gut übereinstimmt. Zahlenmäßig nehmen die Dornen bis zu 350-400  $\mu$  vom Zellsoma rasch zu, dann bleiben beinahe stationär und schließlich sinken langsam ab.

Eine ähnliche Tendenz beobachteten wir sowohl beim Morbus Alzheimer als auch bei der senilen Demenz. Es ist jedoch zu bemerken, daß die Dornzahl in den somanahen Abschnitten deutlich weniger als die der Kontrollgruppe liegt ( $P < 0.01$ ). Bei einem Vergleich vom Morbus Alzheimer mit der senilen Demenz ergab sich, daß obgleich die Dornzahl bei beiden Krankheiten für Abschnitte bis zu  $200 \mu$  vom Zellsoma eine Verminderung etwa gleichen Grades aufweist, die Dornzahlminderung in den distalen Abschnitten beim Morbus Alzheimer signifikant auffällender ist als bei der senilen Demenz ( $P < 0.01$ ).

Mit diesen Befunden ligt der Schluß nahe, da Dornveränderungen an den apikalen Dendriten ein wesentliches morphologisches Substrat, welches der klinischen Symptomatik organischer Demenz entspricht, darstellen.

### SUMMARY

A quantitative investigation was made of apical dendrites of pyramidal cells in the cingulate gyrus and Ammon's horn in 15 cases of Alzheimer's disease, 20 cases of senile dementia and 30 control cases. In each of these cases, sections were prepared from autopsy material stored in formalin over a long period of time and were stained by a modified Golgi's method (Kelemen - Yamada). On these sections, the spines formed long apical dendrites of pyramidal cells of the 3rd to 5th cortical layers were counted over a length of  $350 - 550 \mu$  or even longer from the cell body. Their distribution patterns thus determined were then subjected to a statistical analysis for the detection of significant differences between the groups.

In the control group, the distribution pattern of spines corresponded to the model of Valverde and Marin - Padilla; thus, the number of spines increased sharply as the distance from the cell body increased up to  $350 - 400 \mu$ , then reached a plateau and finally decreased gradually.

Both in Alzheimer's disease and senile dementia, a similar tendency was observed, but with a significant reduction, as compared with the control group, in the number of spines in that portion of dendrite which is near the soma ( $P < 0.01$ ). A comparison of Alzheimer's disease and senile dementia in this respect showed that a decrement in the number of spines was nearly the same in a proximal portion of dendrite up to  $200 \mu$  from the soma, but distally to it a spine-loss was definitely more conspicuous in Alzheimer's disease ( $P < 0.01$ ).

From these findings it is inferred that alterations in the spines of

apical dendrites might represent a primary morphological change which corresponds to the clinical pictures of organic dementia.

### LITERATUR

- 1) Golgi, C.: *Mikroskopische Technik*, 16 Auflage, (Romeis, B.). S. 428-430, R. Oldenbourg, München - Wien, 1968.
- 2) Kelemen, J. and Yamada, M.: A modified impregnation method for staining apical dendrite and spine (Golgi - modification method). *Brain and Nerv*, in press.
- 3) Valverde, F.: Apical dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse. *Exp. Brain Res.*, 3 : 337 - 352, 1967.
- 4) Marin - Padilla, M.: Number and distribution of the apical dendritic spines of the layer V pyramidal cells in man. *J. Comp. Neurol.*, 131 : 475 - 490, 1967.
- 5) Hirano, A. and Zimmerman, H.Z.: Alzheimer's neurofibrillary changes. a topographic study. *Arch. Neurol.*, 7 : 227 - 242, 1962.
- 6) Globus, A. and Scheibel, A.B.: Loss of dendrite spines as an index of pre-synaptic terminal patterns. *Nature*, 212 : 463 - 465, 1966.
- 7) Schubert, P., Kreutzberg, G.W. and Lux, H.D.: Neuroplasmic transport in dendrites: effect of colchicine on morphology of motoneurons in the cat. *Brain Res.*, 47 : 331 - 343, 1972.