

**Der Einfluss von Neuropeptid Y auf die Glukoseaufnahme im  
dorsalen Tectum opticum während visueller Stimulation der  
Unke *Bombina orientalis*: Quantitative Analyse mit Hilfe der  
<sup>14</sup>C-2-Desoxiglukose-Technik**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
- Dr. rer. nat. -  
des Fachbereiches Naturwissenschaften  
Institut für Biologie  
Abteilung Neurobiologie  
der  
Universität Kassel

vorgelegt von  
Simone Funke  
aus  
Gut Escheberg/Hessen

**Kassel 2005**

**Der Einfluss von Neuropeptid Y auf die Glukoseaufnahme im dorsalen Tectum opticum während visueller Stimulation der Unke *Bombina orientalis*: Quantitative Analyse mit Hilfe der <sup>14</sup>C-2-Desoxiglukose-Technik**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
- Dr. rer. nat. -  
des Fachbereiches Naturwissenschaften  
Institut für Biologie  
Abteilung Neurobiologie  
der  
Universität Kassel

vorgelegt von  
Simone Funke  
aus  
Gut Escheberg/Hessen

**Kassel 2005**

Tag der Disputation: 15.12. 2005

Referent:

Prof. Dr. rer. nat. J.-P. Ewert  
Leiter der Abteilung Neurobiologie  
Universität Kassel

Co-Referentin:

Prof. Dr. A. Wöhrmann-Repenning  
Abteilung Zoologie/Vergleichende Anatomie  
Universität Kassel

Mein erster Dank gilt Herrn Prof. Dr. J.-P. Ewert, dem Leiter der Abteilung Neurobiologie der Universität Kassel, für die Anregung zur vorliegenden Arbeit. Ohne seine wissenschaftliche Betreuung, sein fortwährendes Interesse am Fortgang meiner Arbeit und seiner Bereitschaft zu zahlreichen konstruktiven Diskussionen, sowie der Bereitstellung eines Forschungslabors, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ich danke für das meiner Arbeit fachlich und zeitlich entgegengebrachte Engagement.

Frau Prof. Dr. Wöhrmann-Repenning danke ich für die Übernahme des Co-Referats.

Viele helfende Hände und Köpfe haben bei der Fertigstellung mitgewirkt, allen Mitarbeitern der Abteilung Neurobiologie sei herzlich gedankt. Frau Dr. Evelyn Schürg-Pfeiffer danke ich für Ihren fachlichen Rat. Besonderer Dank gilt Frau Karin Große-Mohr für ihre stete technische Unterstützung in allen Phasen des Entstehens dieser Arbeit.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken für ihr Vertrauen und ihre Unterstützung.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2 ANATOMISCHE UND MORPHOLOGISCHE GRUNDLAGEN</b>	<b>6</b>
<b>2.1 VISUELLES SYSTEM DER ANUREN</b>	<b>6</b>
2.1.1 AUFBAU DER RETINA	6
2.1.2 RETINO-TECTALE UND RETINO-PRAETECTALE PROJEKTIONEN	8
2.1.3 TECTUM OPTICUM	8
2.1.3.1 HISTOLOGISCHE STRUKTUR DES TECTUM OPTICUM	9
2.1.4 PRAETECTUM	12
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>14</b>
<b>3.1 VERSUCHSTIERE UND IHRE HALTUNG</b>	<b>14</b>
3.1.1 VERSUCHSTIERE FÜR VERGLEICHSSUDIEN: <i>BUFO MARINUS L.</i>	16
<b>3.2 ANÄSTHESIE UND OPERATIONSTECHNIK</b>	<b>19</b>
3.2.1 DEMOBILISIERUNG MIT SUCCINYLSCHOLIN	20
<b>3.3 [<sup>14</sup>C]-2-DESOXI-D-GLUKOSE-METHODE</b>	<b>21</b>
3.3.1 VERSUCHSAPPARATUR	23
3.3.2 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	25
3.3.3 DENSITOMETRISCHE BILDANALYSE MIT SIGMA SCAN PRO 5	29
<b>3.4 NEUROPEPTID Y</b>	<b>30</b>
3.4.1 PRIMÄRSTRUKTUR UND GEWEBEVERTEILUNG	30
3.4.2 WIRKUNG VON NPY	31
3.4.3 NPY REZEPTOREN	32
<b>3.5 DOPAMINAGONIST APOMORPHIN (APO)</b>	<b>34</b>
3.5.1 WIRKUNG VON APO	34
3.5.2 DOPAMIN (DA)	35
<b>3.6 STATISTIK</b>	<b>36</b>
3.6.1 MITTELWERT, STANDARDABWEICHUNG UND STANDARDFEHLER	36

---

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>VERHALTENSBEOBSACHTUNGEN</b>	<b>38</b>
4.1.1	VERHALTEN UNTER APO	38
4.1.2	VERHALTEN UNTER NPY	38
<b>4.2</b>	<b>QUALITATIVE <sup>14</sup>C-2DG BEFUNDE</b>	<b>39</b>
4.2.1	AUTORADIOGRAPHIE <i>BOMBINA ORIENTALIS</i>	41
4.2.2	VERGLEICHSTUDIE FÜR DIE ERMITTELTEN BEFUNDE AN <i>BOMBINA ORIENTALIS</i>	47
4.2.3	PRÜFUNG EINER WIRKUNG DURCH DAS AGAROSEGEL	48
4.2.4	VERSUCHE UNTER SUCCINYLSCHOLIN	49
4.2.5	VERGLEICHVERSUCHE MIT <i>BUFO MARINUS</i>	51
<b>4.3</b>	<b>QUANTITATIVE AUSWERTUNGEN</b>	<b>54</b>
4.3.1	GRUPPE 1: <i>BOMBINA ORIENTALIS</i> UNBEHANDELT	55
4.3.2	GRUPPE 2: <i>BOMBINA ORIENTALIS</i> - TECTALE <sup>14</sup> C-2DG-AUFNAHME UNTER DEM EINFLUSS VON NPY	59
4.3.3	GRUPPE 3: <i>BOMBINA ORIENTALIS</i> - TECTALE <sup>14</sup> C-2DG-AUFNAHME UNTER DEM EINFLUSS VON APO	64
4.3.4	GRUPPE 4: <i>BOMBINA ORIENTALIS</i> - TECTALE <sup>14</sup> C-2DG-AUFNAHME UNTER DEM EINFLUSS VON APO UND NPY	68
<b>4.4</b>	<b>AUTORADIOGRAPHIE KONTROLLVERSUCHSTIERE <i>BUFO MARINUS</i></b>	<b>72</b>
4.4.1	GRUPPE 2: <i>BUFO MARINUS</i> - TECTALE <sup>14</sup> C-2DG-AUFNAHME UNTER DEM EINFLUSS VON NPY	72
4.4.2	GRUPPE 4: <i>BUFO MARINUS</i> - TECTALE <sup>14</sup> C-2DG-AUFNAHME UNTER DEM EINFLUSS VON APO UND NPY	76
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>80</b>
<b>5.1</b>	<b>VORBEMERKUNGEN</b>	<b>80</b>
<b>5.2</b>	<b>ÜBERSICHT ÜBER FRAGESTELLUNGEN UND ERGEBNISSE</b>	<b>81</b>
<b>5.3</b>	<b>KARTIERUNG VON HIRNAKTIVITÄT MIT HILFE VON <sup>14</sup>C-2DG UNTER DEM EINFLUSS VON NPY</b>	<b>82</b>
<b>5.4</b>	<b>NEUROMODULATION UNTER NPY</b>	<b>83</b>
<b>5.5</b>	<b>NEUROMODULATION UNTER APOMORPHIN</b>	<b>84</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>93</b>

---

<b>8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>107</b>
--------------------------------	------------

---

<b>9 ANHANG</b>	<b>114</b>
-----------------	------------

---

<b>9.1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>114</b>
----------------------------------	------------

<b>9.2 PHYSIOLOGISCHE BLUTERSATZLÖSUNG (RINGERLÖSUNG) FÜR UNKEN UND KRÖTEN</b>	<b>115</b>
--	------------

<b>9.3 ERKLÄRUNG</b>	<b>116</b>
----------------------	------------

<b>9.4 CURRICULUM VITAE</b>	<b>117</b>
-----------------------------	------------

### 1 Einleitung

Neuropeptid Y (NPY), einer der häufigsten peptidergen Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem der Säuger, ist an der Steuerung zahlreicher physiologischer Prozesse beteiligt. So greift NPY z.B. modulierend ein in hormonelle Regelkreise, den zirkadianen Rhythmus, das Sexualverhalten, den Blutdruck und gastrointestinale Abläufe. NPY beeinflusst zudem die visuelle Verarbeitung (z.B. den genikulo-kortikalen Transfer), epileptiforme Anfallsgeschehen, Schmerz- und Angstepfinden und stimuliert die Nahrungsaufnahme. Auch Amphibien weisen eine verstärkte NPY-Immunreaktivität im zentralen Nervensystem auf. Anhand immunocytochemischer Untersuchungen konnten NPY- immunreaktive (NPY-ir) Zellen in verschiedenen Gehirnstrukturen nachgewiesen werden, unter anderem im Nucleus suprachiasmaticus, im Infundibulum, im Pallium, im praetectalen Thalamus (Lpd und Lpv), im Tectum opticum, im Torus semicircularis und im Tegmentum (siehe z.B. Danger et al. 1985, Andersen et al. 1992, Lázár et al. 1993). Das visuelle System der Anuren stellt ein wichtiges System in der Sinneswahrnehmung dar. Das Tectum opticum ist zentrale Schaltstelle zwischen retinalen Afferenzen und motorischen Efferenzen (Ewert 1984, Satou & Ewert 1985, Ewert et al. 1994). Es erhält retinalen Input nicht nur direkt von der Retina, sondern wird auch indirekt über verschiedene visuelle Projektionsbahnen mit retinalen Signalen versorgt, z.B. dem Nucleus isthmi, dem posterodorsalen und posteroventralen Tegmentum, dem kontralateralen Tectum opticum oder dem posterioren praetectalen Thalamus (Székely & Lázár 1976, Gruberg & Udin 1978, Lázár 1979, Roth et al. 2003). Es wird angenommen, dass Strukturen des praetectalen Thalamus als inhibitorische Kontrollinstanz fungieren für die exzitatorischen retino-tectalen Prozesse (Ewert 1970) und somit auch eine wichtige Funktion erfüllen in Bezug auf das Beutefangverhalten. Die chinesische Rotbauchunke, *Bombina orientalis*, zählt zu den aktiven Jägern, d.h. sie zeigt eine im Ablauf situationsangepasste Beutefangstrategie auf sich bewegende Beutestimuli: Orientiertes Zuwenden auf die Beute, Annähern, Fixieren und Schnappen; dieses Antwortverhalten kann in seiner



Abfolge variieren, da es abhängig ist von der Art und den Bewegungen eines Beutetieres. Lebenswichtig aber ist die Fähigkeit, Beute von Nicht-Beute (Feind) unterscheiden zu können. Frühere Arbeiten an Fröschen und Kröten belegen, dass Tectum und Praetectum als wichtige und funktional untrennbare Strukturen für die parallele Verarbeitung retinaler Eingänge fungieren (Ewert 1970, 1987, Grüsser & Grüsser-Cornehls 1976, Freeman & Norden 1984). Beutediskriminierung basiert auf einem mit dem Tectum opticum kommunizierenden retino-praetectalen Netzwerk (Ewert 1974, 1987, Ingle 1983, Ewert et al. 1994, 1996). Visuelle Signale erfahren eine retinale Vorverarbeitung, dabei wird jeder retinale Ausschnitt, der einen definierten Bereich des Gesichtsfeldes repräsentiert, topographisch im contralateralen mesencephalen Tectum opticum und dem Praetectum abgebildet. Das Praetectum nimmt über spezifische Neuronen die retinalen Signale aus dem angrenzenden praetectalen Neuropil auf (Lázár 1979, 1984, 1989, Matsumoto 1989); neuroanatomische Untersuchungen belegen, dass über praetectale Projektionsneuronen Verbindungen zum Tectum opticum bestehen (Wilczynski & Northcutt 1977, Neary & Northcutt 1983, Weerasuriya & Ewert 1983, Kozicz & Lázár 1994). Unilaterale praetectale Läsionsexperimente durchgeführt an Fröschen und Kröten, bestätigen die Annahme, dass über praetecto-tectale Projektionsbahnen inhibitorische Einflüsse auf das Tectum opticum einwirken. Mechanisches Durchtrennen dieser Bahnen bzw. Ausschalten praetectaler Neuronen führt zu einer erhöhten ipsilateralen tectalen Aktivität (Disinhibition) gegenüber contralateral visuell dargebotenen Reizen (Ewert 1970, Ewert et al. 1996). Für die Beuteerkennung stellt das Praetectum eine wichtige neuroanatomische Struktur dar. Nach dessen Ausschaltung erlischt die Unterscheidung zwischen Beute und Feind. Dann löst jeder bewegte visuelle Reiz Beutefang aus. Der Beutefang erfährt seine Modulation über disinhibitorische striato-praetecto-tectale Einflüsse (Ewert 1992, 1997, Patton & Grobstein 1998, Buxbaum-Conradi & Ewert 1999). Die Suche nach Neurotransmittern, mittels derer der praetecto-tectale Einfluss vermittelt wird, wurde anhand immunocytochemischer Untersuchungen demonstriert. Dabei zeigte sich, dass NPY als ein Neurotransmitter in den praetecto-tectalen

Projektionsneuronen nachgewiesen werden konnte (Kozicz & Lázár 1994). Die retinalen Eingänge im Tectum opticum von Fröschen weisen besonders im Layer 9 ein dichtes Netzwerk NPY-ir Fasern auf. Zahlreiche Axone NPY-ir Zellen aus Praetectum und Torus semicircularis, projizieren zu den oberen Schichten des jeweiligen ipsilateralen Tectum opticum. Dieser Nachweis lässt vermuten, dass NPY modulierend in den retino-tectalen Transfer eingreift und Einfluss übt über praetecto-tectale Projektionsbahnen auf die Verarbeitung visueller Signale. An *Bufo marinus* gewonnene elektro-physiologische Daten bewiesen die Vermutung, dass NPY visuelle retino-tectale Eingänge inhibitorisch beeinflusst (Schwippert & Ewert 1995, Buxbaum-Conradi & Ewert 1995, Schwippert et al. 1998). Untersuchungen mit NPY-Fragmenten lieferten Aufschluss über den Rezeptortyp, der im Tectum opticum vorwiegend von NPY angesprochen wird. NPY<sub>13-36</sub> (ein Y<sub>2</sub> Rezeptoragonist), aber nicht das Fragment NPY<sub>18-36</sub> (ein Y<sub>2</sub> Rezeptorantagonist) konnte die exzitatorische N1-Welle des an der tectalen Oberfläche abgeleiteten Feldpotenziales abschwächen (Schwippert et al. 1998).

Im Hinblick auf die bereits gewonnenen Erkenntnisse sollte in dieser Arbeit eine Modulierbarkeit retino-tectaler Aktivität durch Neuropeptid Y an der chinesischen Rotbauchunke (*Bombina orientalis*) überprüft und mit Hilfe der <sup>14</sup>[C]-2-Desoxiglukose-Methode (<sup>14</sup>C-2DG) (Sokoloff et al. 1977) quantitativ analysiert werden. Als Vergleichstier diente die Agakröte (*Bufo marinus*). Zur Darstellung eines möglichen Effektes auf das Tectum opticum wird NPY lokal auf die tectale Oberfläche visuell stimulierter Rotbauchunken appliziert. Mit Hilfe der <sup>14</sup>C-2DG-Methode und den daraus autoradiographisch zu ermittelnden Daten, können die zerebralen Aktivitäten visualisiert und miteinander verglichen werden. In einer weiteren Versuchsreihe wird hinterfragt, welche inhibitorische Wirkung NPY entwickeln kann, wenn zuvor der retinale Input pharmakologisch durch systemische Apomorphingabe merklich erhöht wird. Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag leisten, die Rolle von NPY im retino-tectalen Informationstransfer bei Anuren zu

diskutieren, im Hinblick auf eine mögliche praetecto-tectale inhibitorische Modulation.

Zusammenfassend lassen sich die Ziele dieser Arbeit wie folgt beschreiben:

### (1) Überlegungen zur Wahl des Versuchstieres

Neuropeptid Y stellt aus phylogenetischer Sicht ein evolutionär konserviertes Neuropeptid dar. Seine Primärstruktur zeigt nur wenig Varianz beim Vergleich stammesgeschichtlich älterer Vertreter mit höher entwickelten Spezies. *Bombina orientalis* zählt unter den Anuren zu den stammesgeschichtlich ältesten rezenten Vertretern. Die Wahl dieses Versuchstieres wurde also ganz bewusst getroffen. Welche Funktion erfüllt NPY im retinotectalen Informationstransfer? Zahlreiche Autoren unterstützen die Annahme, dass praetectal freigesetztes NPY eine evolutionär konservierte Rolle spielt bei der Modulation visueller Prozesse (z.B. Lázár 2001, Carr & al. 2002)

### (2) Grundlegende Fragestellung

Zahlreiche Studien belegen eine hohe Präsenz an NPY- Immunreaktivität im visuellen System der Anuren. Insbesondere im Praetectum finden sich zahlreiche NPY-ir Zellen, deren Axone in den oberen tectalen Schichten des Tectum opticum terminieren (Kozicz & Lázár 1994). Wirken sich Signale des praetectalen Thalamus über die Freisetzung von NPY auf den tectalen Metabolismus in den retinalen Projektionsfeldern von *Bombina orientalis* und *Bufo marinus* aus? Reguliert NPY den überwiegend excitatorischen retinalen Input via Inhibition? Welchen Beitrag kann die <sup>14</sup>C-2DG-Methode zur quantitativen Auswertung dabei leisten?

### (3) Weiterführende Überlegung

Frühere Arbeiten an Kröten mit dem Dopaminagonisten APO führten zu der Überlegung experimentell die modulatorischen Fähigkeiten von NPY genauer zu untersuchen. Unter der Wirkung von APO verstärken sich unter anderem die retinalen Ausgänge in die retinalen Projektionsfelder von Praetectum und

insbesondere dorsalem Tectum opticum. Der tectale Ausgang dagegen vermindert sich. Möglicherweise ist eine derartige Verminderung auf inhibitorische praetecto-tectale Projektionen zurückzuführen (Glagow & Ewert 1996). Inwieweit nimmt NPY inhibitorisch Einfluss auf dopaminerg stark erhöhte retinale Eingänge?

## 2 Anatomische und morphologische Grundlagen

Im Folgenden wird ein Überblick über die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Hirnareale gegeben, aus anatomischer, physiologischer und histologischer Sicht.

### 2.1 Visuelles System der Anuren

Wie bei allen Vertebraten entwickeln sich bei Anuren während der Embryogenese am Neuralrohr drei primäre Hirnbläschen. Von rostral nach caudal differenzieren sich Prosencephalon, Mesencephalon und Rhombencephalon. Das Rhombencephalon untergliedert sich später in das Metencephalon mit Cerebellum und Pons und das Myelencephalon bzw. Medulla oblongata. Das Prosencephalon wächst während der weiteren Embryogenese zum Diencephalon und Telencephalon aus. In der Medullarplatte des Diencephalon bildet sich zunächst die Sehgrube, aus der sich die primäre Augenblase entwickelt, welche ihrerseits den Augenbecher bildet. Aus dem inneren Blatt des Augenbechers entwickelt sich die Retina, aus dem äußeren Blatt das Pigmentepithel des Auges. Zwischen beiden Blättern liegt der Sehventrikel, der zum Sehstiel auswächst, dem späteren Nervus opticus.

#### 2.1.1 Aufbau der Retina

Histologisch zeigen die Retinae aller Vertebraten einen einheitlichen Grundbauplan (Dowling 1976). Die neuronale laminare Struktur der Retina unterscheidet mindestens fünf Zelltypen angeordnet in drei retinalen Schichten: Photorezeptorzellen, Bipolarzellen, Horizontalzellen, amakrine Zellen und Ganglienzellen. Die Rezeptorzellen (Zapfen, Stäbchen) finden sich in der äußeren Zellschicht; Bipolarzellen, Horizontalzellen und amakrine Zellen in der inneren Zellschicht und die Ganglienzellen in der nach ihnen benannten Ganglienzellschicht. Die einzelnen Schichten sind durch die

sogenannten äußeren und inneren plexiformen Schichten histologisch unterscheidbar (Dowling 1976). In der äußeren Faserschicht laufen Prozesse zwischen Rezeptor-, Bipolar- und Horizontalzellen ab. Innen erfolgen Interaktionen zwischen Bipolar-, amakrinen Zellen und Ganglienzellen (Dowling 1990). Die äußere plexiforme Schicht ist beim Frosch relativ schmal, unterscheidet sich aber nur geringfügig von anderen Spezies. Die Endigungen der Rezeptorzellen sind dort zu finden. Zapfen und Stäbchen bilden terminal sog. Ribbon-Synapsen aus, deren Besonderheit u.a. darin begründet ist, dass eine Ribbon-Synapse mehrere postsynaptische Kontakte zu den Dendriten der Bipolar- und Horizontalzellen ausbildet. Die Horizontalzellen in der äußeren plexiformen Schicht bilden Synapsen, die lediglich mit einem postsynaptischen Element verbunden sind.

Die innere plexiforme Schicht stellt sich im Verhältnis zur äußeren ausgeprägter dar, mit komplexer synaptischer Verschaltung und mit einer größeren Varianz der Synapsentypen. Zwei Synapsentypen können innerhalb der inneren plexiformen Schicht beobachtet werden, Ribbon- und konventionelle Synapsen, wobei in der Regel davon auszugehen ist, dass Ribbon-Synapsen an den Endigungen bipolarer Zellen zu finden sind und konventionelle Synapsen an den Endigungen amakriner Zellen. Amakrine Zellen können mit Bipolarzellen seriell verbunden sein. Sie bilden den Hauptanteil aller synaptischen Kontakte zu den Ganglienzellen. Diese erhalten über die Bipolar- und amakrinen Zellen retinale Signale, die nach Übermittlung durch die Rezeptorzellen bereits eine Vorverarbeitung erfahren haben (Kuffler 1952, Dowling 1976).

Der über die Rezeptorzellen vermittelte Ausschnitt des Gesichtsfeldes wird „rezeptives Feld“ genannt, die entsprechende neuronale Verschaltung „perzeptive Einheit“ (Grüsser & Grüsser-Cornehls 1976). Eine Weiterleitung der optischen Signale erfolgt über die Axone des Nervus opticus, die weitverzweigt mit ihren synaptischen Endigungen retinotopisch in die tectalen Schichten hereinreichen. Anuren zeigen vier verschiedene Typen retinaler Ganglienzellen (Lettvin et al. 1959). Je nach Antwortverhalten gegenüber definierten optischen Parametern, getestet an Kröten, werden R2-, R3- und

R4-Neuronen klassifiziert (Ewert & Hock 1972). Danach überwiegen im Praetectum die retinalen Eingänge von R3- und R4-Neuronen, im Tectum opticum die retinalen Eingänge von R2- und R3-Neuronen. Ganglienzellen der Klasse R1 konnten in Fröschen nachgewiesen werden (Ewert 1984).

### **2.1.2 Retino-tectale und retino-praetectale Projektionen**

Alle visuellen Informationen erfahren über die Retina eine Vorverarbeitung. Nach einer ersten Spezifikation, vermittelt durch retinale Ganglienzellen R2, R3, R4 (Ewert & Hock 1972), gelangt visueller Input über retino-tectale und retino-praetectale Projektionsbahnen des Nervus opticus zum Tectum opticum (TO) und zum praetectalen Thalamus. Da die Fasern des Nervus opticus fast vollständig im Chiasma opticum kreuzen, stellt jeweils das kontralaterale TO das Hauptprojektionsgebiet dar; die Axone enden retinotopisch (Gaze 1958, Ewert & Borchers 1971). Ipsilaterale Eingänge konnten ebenfalls nachgewiesen werden (Butler 1974, Trachtenberg & Ingle 1974, Gaillard & Galand 1977, Repérant et al. 1982, Grüsser-Cornehls 1984, Wye-Dvorak et al. 1991). Die diencephalen visuellen Kernstrukturen werden mit Projektionen von der ipsilateralen und contralateralen Retina versorgt. Das subtectale Tegmentum erhält contralateralen retinalen Input (zus. gef. Fite & Scalia 1976, Scalia 1976, Székely & Lázár 1976, Ewert 1984, Grüsser-Cornehls 1984, Lázár 1984). Weiterhin konnten retinotopische Projektionsmuster im Neuropil Bellonci (NB), im Corpus geniculatum thalamicum (Cp) und im anterioren thalamischen Nucleus (A) nachgewiesen werden (Neary u. Northcutt 1983). Ferner werden im Diencephalon die praetectalen Areale, posterodorsaler praetectaler Thalamus (Lpd) und posteriorer praetectaler Thalamus (P) innerviert (Scalia & Gregory 1970, Fite & Scalia 1976, Lázár 1979).

### **2.1.3 Tectum opticum**

Während in der Retina bereits eine Vorverarbeitung visueller Signale stattfindet, erfolgt die Informationsverarbeitung des retinalen Input bei

Amphibien hauptsächlich im Mittelhirndach, dem Tectum opticum, in Verbindung mit prae- und posttectalen Strukturen. Die retinalen afferenten Fasern endigen in den oberen Schichten 9 und 8 des kontralateralen Tectum opticum. Das Tectum erhält auch indirekt visuellen Input aus Layer 7 der kontralateralen tectalen Hemisphäre (Rubinson 1968, Lázár 1969, Wilczynski & Northcutt 1977). Nicht-visueller Input wird ebenfalls im Tectum verarbeitet. Die entsprechenden Afferenzen ziehen vom ipsilateralen Tegmentum (TEG) zum Layer 7 (Skékely & Lázár 1976, Wilczynski & Northcutt 1977). Afferenzen aus dem Nucleus isthmi (IST) mit visuellem und nicht-visuellem Input terminieren in den oberen tectalen Schichten, Layer 8 und 9 (Wilczynski & Northcutt 1977, Gruberg & Udin 1978, Gruberg & Lettvin 1980, Grobstein 1989, Gruberg 1989, Gruberg et al. 1989). Desweiteren erhält das Tectum opticum Afferenzen aus den praetectalen-thalamischen Nuclei, dem posterioren praetectal-thalamischen Nucleus (P) (Rubinson 1968, Lázár 1969, Scalia 1976, Wilczynski & Northcutt 1977, Neary & Wilczynski 1980, Wilczynski 1981, Weerasuriya & Ewert 1983), dem lateralen posterodorsalen praetectal-thalamischen Nucleus (Lpd) (Wilczynski & Northcutt 1977, Wilczynski 1981, Weerasuriya & Ewert 1983) und dem anterioren dorsalen thalamischen Nucleus (A) (Neary & Wilczynski 1980, Lázár et al. 1983, Neary & Northcutt 1983), sowie dem Komplex bestehend aus dem Neuropil Bellonci (früher Nucleus Bellonci) und ventrolateralen dorsalen thalamischen Nucleus (Vld) (Trachtenberg & Ingle 1974, Neary & Wilczynski 1980). Hauptprojektionsgebiet der genannten diencephalen Strukturen ist die Lamina A von Layer 9 (Skékely et al. 1973, zus. gef. Scalia 1976). Weitere Afferenzen erhält das Tectum aus der präoptischen Region (PO) und vom infundibularen Hypothalamus mit Projektionsgebiet in Layer 3 und 5 des Tectum opticum (Wilczynski & Northcutt 1977, Neary 1980).

### **2.1.3.1 Histologische Struktur des Tectum Opticum**

Das Tectum opticum zeigt im histologischen Schnitt eine deutliche laminäre Schichtung, wobei zellreiche und faserhaltige (plexiforme) Schichten alternieren. Aufteilung und Benennung der einzelnen Schichten orientieren sich am Schema nach Gaupp et al. (1904), der eine Aufteilung in neun Layer



vornahm. Potter (1969) untergliederte Layer 9 in sechs weitere Laminae (A-F). Die von Ariëns Kappers et al. (1960) aufgeführte Stratifizierung in lediglich sechs Schichten, ist der Aufteilung von Gaupp grundsätzlich vergleichbar, sie fasst lediglich einige Schichten zusammen (A = Stratum zonale (1), B = Stratum opticum (2), C – F = Stratum fibrosum et griseum superficiale (3), Layer 8 = Stratum griseum centrale (4), Layer 7 = Stratum album centrale (5), Layer 6 – 1 = Stratum periventriculare (6) (zus.gef. von Scalia 1976). Der Myelinisierungsgrad in den einzelnen Laminae ist unterschiedlich, während die Fasern der Laminae A, C und E unmyelinisiert sind, finden sich in Layer B, D, F und G myelinisierte Fasern (Potter 1972). Sechs morphologisch unterscheidbare Neuronentypen konnten im Tectum opticum identifiziert werden (Székely et al. 1973). Es finden sich große birnenförmige Neuronen in tieferen tectalen Schichten (Layer 2/4/6), große pyramidale Neuronen (Somata in Layer 4/6, Axone in Layer 7), große ganglionäre Neuronen (Somata in Layer 6/7 und 8, Axone in Layer 7), kleine birnenförmige Neuronen (Somata in Layer 8, Dendriten in Layer 9), bipolare Neuronen (Somata in Layer 8, Dendriten bis Layer 9 – C, Axone bis Layer 6) und kleine Neuronen wie Sternzellen und amakrine Zellen in Layer 9.

Mittels elektrophysiologischer Untersuchungsmethoden konnten verschiedene Typen tectaler Projektionsneuronen am Tectum opticum von Frosch und Kröte nach visueller Stimulation extrazellulär (Grüsser & Grüsser-Cornehls 1970, von Wietersheim & Ewert 1978, Ewert 1984, 1997) und intrazellulär (Matsumoto et al. 1986) abgeleitet werden. Grüsser und Grüsser-Cornehls (1976) nahmen eine Einteilung der Neuronentypen in T1 bis T9 vor unter Berücksichtigung von Form, Größe, Lokalisation des exzitatorischen rezeptiven Feldes (ERF) und eingehender monocularer oder binocularer visueller Signale. Vier Subtypen von T5-Neuronen konnten klassifiziert werden (Ewert 1984, 1997) welche eine unterschiedlich starke Aktivierung auf sich bewegende Objekte variierender Größe und Konfiguration erfahren. Als T5.2 bezeichnete Neuronen z.B. dienen der Beuteerkennung. Morphologisch konnten sie als pyramidale Neuronen charakterisiert werden, lokalisiert an der Grenze von Layer 6 zu Layer 7 (Ewert et al. 1985, Matsumoto 1989). Ihre langen Axone verlassen das

## 2 Anatomische und morphologische Grundlagen

Tectum und können bis in die Medulla oblongata verfolgt werden (Weerasuriya & Ewert 1983, Matsumoto et al. 1986, Schwippert et al. 1990). Die Nettoaktivität der T5.2-Neuronen ist maßgebend für die Aktivierung des bulbar/spinalen motorischen Systems, somit maßgeblich für die Beutefangaktivität bei Kröten (Ewert 1984, 1989, Satou & Ewert 1985). Morphologisches Korrelat ist im Prinzip das Modell "column concept" von Székely und Lázár (1976).

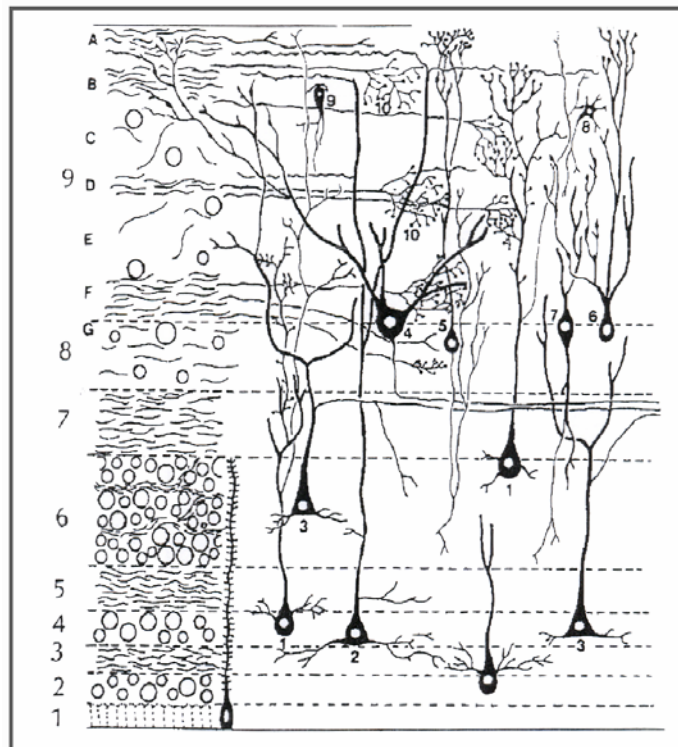


Abbildung 1: Laminäre Schichtung des Tectum opticum bei Amphibien (nach Székely & Lázár 1976). Darstellung der einzelnen tectalen Schichten (nummeriert von 1-9 am linken Rand), sowie die in den Schichten befindlichen Neuronentypen, nummeriert von 1-10 in der Abb.) 1,2 = große birnenförmige Zellen, 3 = pyramidale Zellen, 4 = ganglionäre Zellen, 5, 6 = kleine birnenförmige Zellen, 7 = bipolare Neuronen, 8 = Sternzellen, 9 = amakrine Zellen, 10 = optische Endigungen

### 2.1.4 Praetectum

Der praetectale Thalamus liegt im caudalen Diencephalon und grenzt an das rostrale Tectum opticum (Neary & Northcutt 1983). Der praetectale Thalamus gliedert sich in den posterioren Nucleus (P), den lateralen posterodorsalen Nucleus (Lpd) und den posteroventralen Nucleus (Lpv). Die Nuclei dienen z.T. als Schaltstellen zwischen verschiedenen telencephalen Strukturen und dem Tectum opticum, z.B. im Zusammenhang mit Lern- und Startprogrammen (Ewert 1991, 1997). Eine kürzlich veröffentlichte Studie bestätigt die thalamischen Projektionen auch für *Bombina orientalis* (Roth et al. 2003). Direkte retinale Projektionen in diese Region existieren nachweislich (Scalia & Fite 1974). Dabei muß die retinale Topographie bei der praetecto-tectalen Projektion berücksichtigt werden (Székely & Lázár 1976). Beim Vergleich der retino-tectalen mit der retino-praetectalen Projektion fällt auf, dass die Projektionen im Praetectum auf rostro-caudaler Achse sich spiegelverkehrt darstellen (Ewert et al. 1974). In mehreren Untersuchungen konnte der praetectalen Region eine inhibitorische Kontrollfunktion nachgewiesen werden. Um im Tectum ungehinderte Erregungsausdehnung zu unterbinden, bedarf es zusätzlicher inhibitorischer Instanzen. Einerseits wird eine interne tectale Hemmung diskutiert, zum anderen konnte aufgrund von sogenannten Läsionsexperimenten eine extratectale Inhibition durch das Praetectum eindeutig nachgewiesen werden. In diesen Experimenten wurde die praetectale Lpd/P-Region mechanisch oder pharmakologisch ausgeschaltet, in deren Folge inhibitorische Einflüsse entfielen und Beutefang auf jeden visuell dargebotenen Stimulus ausgelöst wurde. Eine weitere Bestätigung praetecto-tectaler Inhibition lieferten elektrophysiologische Hirnreizungs- und Ableitversuche (Ewert 1968, Ingle 1973, 1980, Ewert et al. 1974, Ewert & v. Wietersheim 1974a, b, Ewert 1987, Beneke et al. 1992, Schwippert et al. 1995). Mittels antidromer Stimulations- und Ableittechnik identifizierten Buxbaum-Conradi und Ewert (1995) an Kröten TH3- und TH4-Neuronen als praetecto-tectale Projektionsneuronen. Interessanterweise ist die Lage von TH4- und TH3-Neuronen übereinstimmend mit der Lage von NPY-ir Zellen, die ihre Axone in das dorsale Tectum opticum entsenden (Kozicz & Lázár 1994). Für *Bombina*

*orientalis* bestätigten Roth et al. (2003) über intrazelluläre Ableitung und anterograde Biocytin-Färbung TH4-analoge Neuronen als inhibitorisch wirksame praetectale Projektionsneuronen zum Tectum opticum. Ein mechanisches Durchtrennen praetecto-tectaler Verbindungen oder gezieltes Ausschalten praetectaler Neuronen, z.B. durch Kainsäure (Ewert 1968, Ewert et al. 1996), führte nach Präsentation optischer Stimuli ipsilateral zu einer höheren tectalen Aktivität als contralateral. Hinzu kam eine verminderte Selektivität für figurale visuelle Bewegungsmuster. Dies verdeutlicht, dass praetecto-tectale inhibitorische Projektionen spezifizierend wirken auf die tectale Erregungsausbreitung (Székely 1973, Ewert 1974, 1987, 1997, Székely & Lázár 1976, Ewert et al. 1985, Arbib 1987a, Ewert 1987, 1997). Wie bereits erwähnt, stellt das Praetectum eine Schaltstelle zwischen Tectum opticum und telencephalen Strukturen dar, d.h. es wirkt nicht nur modulierend auf das Tectum, sondern vermittelt zusätzlich zwischen Tectum und Telencephalon. Diese Art des Informationstransfers wird als "Gating loop" diskutiert, wonach das Praetectum selbst einer telencephalen inhibitorischen Steuerung durch das caudale Striatum unterliegt (Ewert 1987, 1997).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Versuchstiere und ihre Haltung

Alle Versuche wurden an männlichen und weiblichen, adulten chinesischen Rotbauchunken, *Bombina orientalis*, durchgeführt.



Abbildung 2: *Bombina orientalis* (Chinesische Rotbauchunke)

Chinesische Rotbauchunken gehören zu den Tetrapoden und erfahren folgende systematische Einordnung (Remane et al. 1986):

Klasse:	Amphibia
Ordnung:	Anura
Unterordnung:	Opisthocoela
Familie:	Discoglossidae
Gattung:	<i>Bombina</i>
Art	<i>Bombina orientalis</i>

Die Anuren (Frösche und Kröten) stellen weitaus die größte Ordnung lebender Amphibien dar mit 5209 Spezies (Amphibiaweb 2005). Es findet sich eine Aufteilung der Anuren in zwei Unterordnungen: Archaeobatrachia (mit den Familien Leiopelmatidae, Discoglossidae, Pipidae, Rhinophrynidae, Pelobatidae und Pelodytidae) und Neobatrachia (mit den Oberfamilien

Hyloidea (= Bufonidae), Microhyloidea und Ranoidea (z.B. Duellmann 1975, Dubois 1986). Fossile Funde noch bestehender Anuren-Familien belegen eine Existenz der Discoglossidae seit dem mittleren Jura, während erste Funde der Neobatrachia aus der späten Kreidezeit stammen (Sanchiz 1998, Báez 2000, Roček 2000, Roček & Rage 2000).

Die zur Gattung *Bombina* zählenden Unken umfasst zwei Arten, die Chinesische Rotbauchunke (*Bombina orientalis*) und die sogenannte Riesenunke (*Bombina maxima*). Aus Europa stammen zwei weitere, besser erforschte Arten, die Gelbbauchunke (*Bombina variegata*) und die Rotbauchunke (*Bombina bombina*). Die Chinesische Rotbauchunke hat ihren Verbreitungsschwerpunkt in Nord-Ost-China (Shantung-Gebirge, Mandschurei), auch zu finden in Ost-Sibirien, Japan und Korea. Die Tiere sind tag- und dämmerungsaktiv, leben semiaquatisch und bevorzugen schneller fließende Bachläufe oder überschwemmte Wiesen als ihr Biotop (Nietzke 1989). Zur Paarungszeit im April und Mai suchen die Unken kleine, langsam fließende Bachläufe auf, insbesondere nach langen Regenfällen zeigen sie eine vermehrte Paarungsaktivität. Die Laichperiode kann sich bis in den frühen September hineinziehen. Die Anheftung der Eiballen, bis zu 100 Eier pro Gelege, erfolgt an einzelne Pflanzenstengel. Zur Winterruhe im November vergraben sich die Tiere im Schlamm, bis im März die ersten wärmeren Regenfälle einsetzen. Die natürliche Nahrung der aktiven Jäger besteht u.a. aus kleinen Grillen, Regenwürmern, Kaulquappen, Kleininsekten, Blattläusen und Nacktschnecken.

Adulte Rotbauchunken erreichen ein durchschnittliches Körpergewicht von 0,010 kg, die Körperform ist vergleichbar mit der bei uns beheimateten Gelbbauchunke (*Bombina variegata*). Die in der Regel blattgrüne Körperoberseite, teilweise aber auch bräunlich gefärbt, weist kleinere und größere schwarze, unregelmäßige und leicht erhabene Flecken auf. Die Körperunterseite ist glatt, orangerot gefärbt und zeigt eine dem Rücken ähnliche schwarze Fleckung. Diese typische Färbung bildet sich in der Regel mit sechs Landmonaten aus. Geschlechtsreif werden die Rotbauchunken mit

drei bis vier Jahren und können ein Lebensalter von bis zu 25 Jahren erreichen.

Der Familienname Discoglossidae (Scheibenzüngler) beschreibt die physiologische Besonderheit der Zungenanatomie. Die Zunge der Unken hat eine scheibenähnliche Form und ist mit ihrer gesamten Fläche mit dem Mundboden verwachsen, sie kann also beim Beutefang nicht herausgeschnellt werden.

Die für die Versuche eingesetzten Unken wurden unter konstanten äußeren Bedingungen in einem Amphibienraum gehalten. Die Lufttemperatur lag bei 22°C, bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von etwa 60%. Über eine Zeitschaltuhr wurde künstlich ein 12-stündiger Tag/Nacht-Rhythmus erzeugt. Insgesamt standen 17 Terrarien mit durchschnittlich 15 Tieren zur Verfügung. Jedes Terrarium hatte eine ausreichend große Grundfläche, wobei ein Drittel der Terrarienfläche als Landzone diente und jeweils mit einer ca. 3cm dicken Schaumstoffmatte ausgelegt war. Die restlichen zwei Drittel des Beckens waren als Wasserzone mit ca. 20°C temperiertem Wasser befüllt (vgl. Richtlinien des Europarates ETS123, Appendix A, Ewert et al. 2005). Als Unterschlupf dienten Kork, halbierte Tontöpfe, Steine, künstliche Pflanzen und Baumrinde. Um ein möglichst natürliches Verhalten der Unken zu gewährleisten, wurde ein geeigneter Lebensraum bei natürlicher Nahrungsart und geeigneter Fütterungstechnik geschaffen. Gefüttert wurden Rote Mückenlarven, Blattläuse, Grillen, Mehlwürmer, Fliegen und Bachflohkrebse. Um "Modifikationen des speziesspezifischen Beuteschemas" (Konditionieren auf Pinzette bzw. Hand) (Ewert et al. 1983, 1994, 2001) zu verhindern, wurden die Unken nicht direkt gefüttert, sondern erhielten ihr Futter aus kleinen Schalen, die in das Terrarium gestellt wurden.

#### **3.1.1 Versuchstiere für Vergleichsstudien: *Bufo marinus* L.**

Als Kontroll-Versuchstier diente die Agakröte (*Bufo marinus*). Sie gehört zur Familie der echten Kröten (*Bufo*).



Abbildung 3: *Bufo marinus* (Agakröte)

Agakröten erfahren folgende systematische Einordnung:

Klasse :	Amphibia
Ordnung:	Anura
Unterordnung:	Procoela
Familie:	Bufoidea
Gattung:	<i>Bufo</i> (echte Kröten)
Art:	<i>Bufo marinus</i> (Agakröte)

Das Hauptverbreitungsgebiet von *Bufo marinus* erstreckt sich von Patagonien über Süd- und Mittelamerika bis nach Texas. In Südflorida wurde sie eingebürgert, ebenso wurden Tiere aus Hawaii in den australischen Nordosten importiert, um auf den Zuckerrohrplantagen Schädlinge, vor allem den Zuckerrohrkäfer, zu vernichten, daher auch der Beiname „Cane toad“ (Rohrkröte). Die Agakröte ist - außer *Bufo blombergi* - eine der größten Kröten aus der Familie der Bufonidae. Die Weibchen können bis zu 1,5 kg schwer werden, die Männchen sind in der Regel etwas kleiner und leichter. Die Agakröte hat eine trockene, warzige Haut und ist grau-braun gefärbt mit einer helleren Bauchseite. Augenscheinliches Merkmal der Kröten sind die großen, fast dreieckigen Parotiden, über die sie ein giftiges Hautsekret zur Verteidigung absondern können. Augen und Schleimhäute von Angreifern werden stark gereizt. Das Gift kann für manche Tiere tödlich sein. Beim Menschen löst Krötengift häufig starke Hautreizungen aus. Im Sekret sind pharmakologisch wirksame Substanzen enthalten wie Indoalkylamine, Bufogenine, Bufotoxine und Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin),



sowie die Halluzinogene Bufotenin, Dimethyltryptamin (DMT) und 5-Methoxy-DMT. Manche Schlangenarten bevorzugen Kröten gegenüber Fröschen gerade wegen des Hautsekretes.

Die Agakröte gehört zu den nachtaktiven Tieren, tagsüber hält sie sich meist versteckt. Die Paarungszeit richtet sich nach den klimatischen Begebenheiten; zumeist erfolgt die Paarung ab einer Temperatur von ca. 25°C. Die Tiere suchen dazu stehende Gewässer auf. Das Weibchen setzt Eischnüre mit mehreren tausend Eiern ab, die vom Männchen direkt befruchtet werden. Die Nahrung der Agakröte besteht vorwiegend aus Regenwürmern, Nacktschnecken, Grillen, Heimchen, Heuschrecken, kleinen Eidechsen und jungen Mäusen.

In Australien stellt die Agakröte ein großes Problem dar, da sie, bedingt durch einen Mangel an natürlichen Feinden, das ökologische Gleichgewicht der einheimischen Tierwelt stört. Die australische Regierung versucht die Population der Kröte biologisch zu kontrollieren.

Die Agakröten, die in der Abteilung Neurobiologie für Versuchszwecke zur Verfügung standen, wurden über den Zoofachhandel (Fa. Tropenhaus Th. Marxen, Hamburg) bezogen. Die Tiere wurden in Aqua-Terrarien von ausreichender Größe unter konstanten Bedingungen gehalten. Je nach Größe wurden bis zu vier Tiere in einem Terrarium untergebracht (vgl. Richtlinien des Europarates ETS123, Appendix A, Ewert et al. 2005). Um annähernd ein natürliches Lebensumfeld zu schaffen, wurden  $\frac{3}{4}$  der Grundfläche des Beckens mit Schaumstoffmatten als Landteil ausgelegt. Das unbedeckte Viertel enthielt auf ca. 20°C temperiertes Wasser. Unterschlupf wurde geboten durch Steine, halbierte Kunststoffröhren und Tongefäße. Abgedeckt waren die Terrarien mit Aluminiumlochgittern. Mittels Zeitschaltuhr wurde ein 12-stündiger Tag/Nacht-Rhythmus für die künstliche Beleuchtung gewählt. Die Tiere wurden bei einer konstanten Raumtemperatur von 22°C und einer relativen Luftfeuchte von 60% gehalten.

Die Einfuhr der Anuren sowie ihre Verwendung in den Experimenten unterlagen den nationalen und internationalen Bestimmungen von Artenschutz und Naturschutz. Eine Genehmigung zur Einfuhr der Unken und Kröten wurde vom "Bundesamt für Ernährung und Forstwirtschaft" und der "Abteilung Forsten und Naturschutz" der Stadt Kassel durch den Regierungspräsidenten erteilt. Die Überprüfung der Tierhaltung erfolgte durch das "Staatliche Veterinäramt" der Stadt Kassel. Die Versuchsdurchführung wurde genehmigt vom Regierungspräsidenten und der Ethikkommission.

#### **3.2 Anästhesie und Operationstechnik**

Die Rotbauchunken erhielten zunächst eine subcutane Injektion Ketavet<sup>®</sup>, in einer Dosierung von 400 mg/kg Körpergewicht. Nach ca. 30-45 min hatten die Tiere das Stadium der chirurgischen Toleranz erreicht und der Eingriff konnte vorgenommen werden. Zusätzlich wurde zur Lokalanästhesie des Operationsfeldes Meaverin<sup>®</sup> eingesetzt. Unter binokularer Kontrolle wurde zunächst das Schädeldach vorsichtig freipräpariert und mit Hilfe eines Dentalbohrers oberhalb des Tectum opticum lokal eröffnet. Der freigelegte Bereich wurde mit einem Tropfen chemisch reinen Paraffinöls (Merck) versorgt, um ein Austrocknen der Gehirnoberfläche zu verhindern. Einer Infektion des Operationsfeldes konnte durch Auftragen einer antibiotischen Augensalbe (Nebacetin<sup>®</sup>) vorgebeugt werden. Um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch Ketavet ausschließen zu können, wurden die Tiere erst nach einer 24-stündigen Warteperiode für die Experimente eingesetzt.

Die Agakröten erhielten eine intralymphatische Injektion Ketavet in einer Dosierung von 100 mg Ketaminhydrochlorid pro kg Körpergewicht. Nach ca. 45 min hatten die Tiere das Stadium der chirurgischen Toleranz erreicht und konnten in gleicher Vorgehensweise, wie für die Rotbauchunken beschrieben, vorbereitet werden.

#### 3.2.1 Demobilisierung mit Succinylcholin

Um eine sichere Positionierung des mit NPY getränkten Gelkissens auf der tectalen Oberfläche zu gewährleisten, sollten die Versuchstiere durch die Gabe eines Muskelrelaxans immobilisiert werden. Dazu wurde den Tieren ca. 15 min vor Versuchsbeginn 60 mg/kg Körpergewicht Succinylcholin (2%-iges Succinyl-Asta<sup>®</sup>) als subcutane Injektion verabreicht.

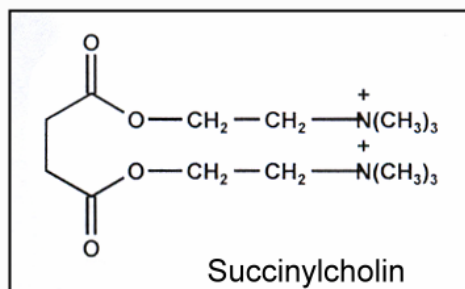


Abbildung 4: Strukturformel Succinylcholin

Succinylcholin (Suxamethoniumchlorid), ein Bischolinester der Bernsteinsäure, ist eine synthetische Substanz, die agonistisch am nikotinischen ACh-Rezeptor wirkt. Aufgrund einer Depolarisation der neuromuskulären Endplatte kommt es nach Verabreichung von Succinylcholin zunächst zu fibrillären Zuckungen der Muskulatur, denen infolge einer Dauerdepolarisation eine Relaxierung folgt. Beim Menschen ist die Wirkung von Succinylcholin nur von kurzer Dauer (bei entsprechender Dosierung nur 1-2 min), da die Substanz durch die Serumcholinesterase rasch abgebaut wird. Verwendung findet Suxamethoniumchlorid in der Narkoseeinleitung, häufig in Kombination mit einem kurz wirkenden Narkotikum zwecks Intubation bei Inhalationsnarkosen. Beim Tier gibt es mitunter erhebliche Unterschiede in der Abbaugeschwindigkeit von Succinylcholin, z.B. durch atypische Serumcholinesterase oder auch geringe Mengen an Serumcholinesterase im Blut, was bei einigen Spezies zu verlangsamten Abbauprozessen führen kann und folglich auch zu einer lang anhaltenden Muskelrelaxation, häufig begleitet durch die unerwünschte Nebenwirkung einer peripheren Atemlähmung. Bis zur Wirkungsabnahme

muss beatmet werden (Löscher 1997); bei persistierender Apnoe aufgrund relativer oder absoluter Succinylcholinüberdosierung wird humane Serum-Cholinesterase als Antidot verabreicht. Eine ausreichende Sauerstoffversorgung musste demnach für die Versuchstiere gewährleistet sein. Da Anuren bis zu 80% ihres Sauerstoffbedarfes auch über die Haut decken können, wurde zur Aufrechterhaltung der Hautatmung ein angefeuchtetes dünnes Vlies auf die Rückenhaut der Tiere gelegt und regelmäßig befeuchtet.

#### 3.3 [<sup>14</sup>C]-2-Desoxi-D-Glukose-Methode

Die [<sup>14</sup>C]-2-Desoxi-D-Glukose (<sup>14</sup>C-2DG) Methode erlaubt einen Blick in die funktionelle Aktivität des Gehirns und ermöglicht es, regional ablaufende physiologische und biochemische Energiestoffwechselprozesse innerhalb des Gehirns quantitativ zu erfassen. Die lokale zerebrale Glukosemetabolisierung und die zerebrale Durchblutung korrelieren eng mit der funktionellen Aktivität im Nervengewebe. Je höher die funktionelle Aktivität, desto höher der Umsatz an Glukose und desto höher die Durchblutung im aktiven Gewebe (Sokoloff 1992). [<sup>14</sup>C]-2-Desoxiglukose unterscheidet sich chemisch durch den Austausch von einer Hydroxylgruppe durch ein Hydrogenatom auf dem zweiten Carbonatom. Die Aufnahme erfolgt wie Glukose vor allem über den ATP-Bedarf der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-Pumpen (Sokoloff 1984) in das synaptische Neuropil, die Perikaryen und in die umliegenden Gliazellen.

Es besteht ein direkter Bezug zwischen der lokalen funktionalen Aktivität, der Durchblutung im Gewebe und dem Energiestoffwechsel. Auf diese Weise können mit Hilfe der [<sup>14</sup>C]-2-Desoxi-D-Glukose-Methode neuronale Stoffwechsellagen dargestellt werden, welche physiologische und verhaltenstypische Zustände, aber auch pharmakologisch beeinflusste Stoffwechsellagen widerspiegeln. Die <sup>14</sup>C-2DG-Methode basiert auf einem kinetischen Modell über das biochemische Verhalten von 2-Desoxiglukose und Glukose im Gehirn (Sokoloff et al. 1977, Sokoloff 1982).

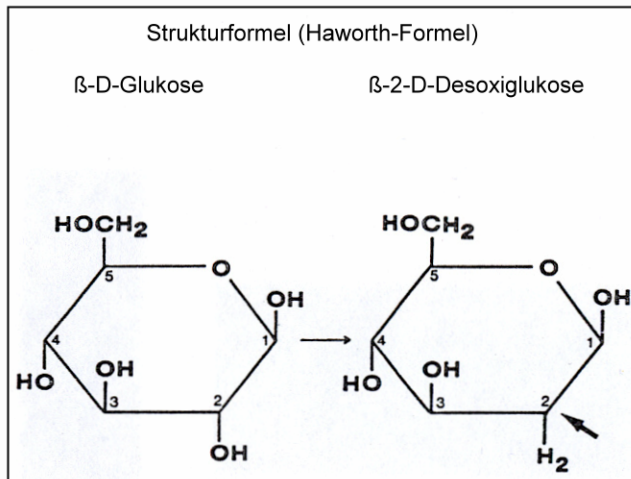


Abbildung 5: Strukturformel β-D-Glukose und β-2-D-Desoxiglukose

Beide Hexosen können die Bluthirnschranke bi-direktional mit Hilfe des gleichen Trägermoleküls passieren und werden im Nervengewebe durch das Enzym Hexokinase phosphoryliert zu ihren Hexose-6-Phosphat-Derivaten (Sols & Crane 1954). Anders als Glukose-6-Phosphat, welches sehr schnell metabolisiert wird zu Pyruvat und Laktat, unter aeroben Bedingungen zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O, kann Desoxiglukose-6-Phosphat (DG-6-P) nicht in jener Form umgewandelt werden; es reichert sich somit proportional zur neuronalen Aktivität regional im Nervengewebe an. Desoxiglukose-6-Phosphat kann umgebaut werden zu Desoxiglukose-1-Phosphat und weiter zu Uridin-diphospho-Desoxiglukose, Glycogen, Glycolipiden und Glykoproteinen. Aber diese Reaktionen laufen sehr langsam ab (Nelson et al. 1984). Es handelt sich hierbei um relativ stabile Abbauprodukte, die in ihrer Gesamtheit für die Desoxiglucosephosphorylation stehen. DG-6-P und seine Derivate lagern sich im Nervengewebe folglich ab, nicht dauerhaft aber lange genug, um ausgiebige Messungen durchführen zu können, ohne eine signifikante Verminderung der akkumulierten Derivate erwarten zu müssen. Die [<sup>14</sup>C]-2-Desoxi-D-Glukose-Methode misst demnach immer die Netto-Rate der Glukosephosphorylation und stellt ein Maß für den lokalen Hirnstoffwechsel dar.

### 3.3.1 Versuchsanordnung

Als grundlegender Bestandteil aller durchgeführten Versuche diente die von Ewert (1968) entwickelte und von Burghagen (1979) modifizierte Standardapparatur. Bei diesem Modell handelt es sich um eine Rundarena mit sogenannter Attrappenwechselautomatik. Das Versuchstier befindet sich freibeweglich auf einem runden Podest ( $\varnothing = 13 \text{ cm}$ , bzw.  $\varnothing = 30 \text{ cm}$ ), umgeben von einem 20 cm hohen Glaszylinder aus nicht reflektierendem Glas gleichen Durchmessers. Muster in Wurm-Konfiguration wurden horizontal ausgerichtet, um Versuchstier und Podest bewegt, so dass das Versuchstier freie Orientierungs-, Zuwendungs- und Schnappbewegungen durchführen konnte.



Abbildung 6: Versuchsarena mit Attrappenwechselautomatik (nach Ewert 1968 & Burghagen 1979), a: Glaszylinder mit Abdeckung, b: Attrappenarme u. -halterungen (Abdeckung fehlt), c: Schaltelement für Attrappenhalterungen, d: Steuerelement für Richtungswechsel, e: Beleuchtung, ringförmige Abgrenzung fehlt zwecks Darstellung

### 3 Material und Methoden

---

Eine weitere ringförmige Abgrenzung ( $\varnothing = 40$  cm) mit homogen weißem Hintergrund diente als Schutzvorrichtung vor störenden Einflüssen. Die Darbietung der visuellen Reizmuster konnte mit Hilfe von sechs Attrappenarmen gewährleistet werden, die jeweils über einen separaten Elektromotor (6V) einzeln mit konstanter Winkelgeschwindigkeit ( $8^\circ/\text{s}$ ) angesteuert werden konnten, ohne direkten störenden Eingriff durch den Experimentator. Die Expositionswinkel der Reizgebung (Halterungen, Motor etc.) waren so eingestellt, dass das Versuchstier nur das Reizmuster als visuellen Bewegungsreiz wahrnehmen konnte.



Abbildung 7: Versuchsarena mit *Bombina orientalis* mit ringförmiger Abgrenzung

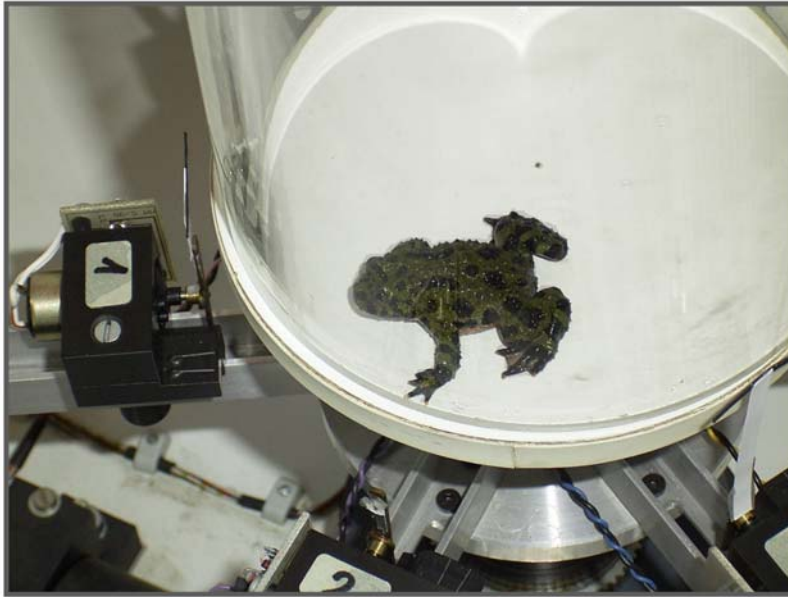


Abbildung 8: *Bombina orientalis* am Glaszylinderrand, orientiertes Zuwenden auf Beute-Attrappe 1

#### 3.3.2 Versuchsdurchführung

Die Thematik dieser Arbeit erforderte eine Aufteilung der Versuchstiere in verschiedene Gruppen. Dies war erforderlich, um einerseits physiologische bzw. metabolisch durch Pharmaka unbeeinflusste tectale Stoffwechsellagen zu charakterisieren und andererseits, um pharmakologisch beeinflusste Tiere auf eine veränderte tectale Stoffwechsellage zu untersuchen und die gewonnenen Ergebnisse mit denen unbehandelter Tiere vergleichen zu können. Es erfolgte somit eine Einteilung der Versuchstiere in vier Gruppen: Als Beute-Attrappen für *Bombina orientalis* dienten 2 x 24 mm<sup>2</sup> horizontal ausgerichtete schwarze Kartonstreifen (Kuhn 2003). Für die Agakröten wurden Beute-Attrappen der Größe 4 x 28 mm<sup>2</sup> gewählt (Finkenstädt et al. 1985, 1986, Finkenstädt & Ewert 1987, Glasgow & Ewert 1999). Bei allen Versuchstieren der Spezies *Bombina orientalis* wurde vor Versuchsbeginn die positive Antwortbereitschaft auf die entsprechenden Beute-Attrappen getestet. Eingesetzt wurden nur die Tiere, die während einer 30s dauernden Stimulation mindestens 20 Reaktionen in Form von Zuwende- oder Schnappbewegungen auf die Beute-Attrappe zeigten. Um während der



Versuchsperiode von 45 min eine Habituation der Tiere an das dargebotene Beutemuster zu verhindern, wurde einerseits die Bewegungsrichtung alle zwei Minuten geändert (bei konstant gehaltener Winkelgeschwindigkeit von  $v = 8^\circ/\text{s}$ ), andererseits konnten die horizontal ausgerichteten Beute-Attrappen über die schwenkbaren Attrappenarme ins Gesichtsfeld der Versuchstiere ein- bzw. wieder herausgeschwenkt werden. Ein geringer Blut-Glukose-Spiegel der Versuchstiere ist erforderlich, um eine optimale Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -2DG zu gewährleisten (Young & Deutsch 1980); daher wurde bei allen Versuchstieren durch einen 1-wöchigen Futter-Entzug eine metabolische Hypoglycämie induziert.

#### 1. Versuchstiergruppe – Normal-Aktivität:

In dieser ersten Kontrollgruppe sollten zunächst physiologische zerebrale Aktivitätszustände nach visueller Stimulation mit einem Beutemuster ermittelt werden, damit eine „Normal-Aktivität“ in beiden TO ermittelt und als Vergleich zu den folgenden Versuchen herangezogen werden konnte.  $^{14}\text{C}$ -2DG wurde subkutan injiziert in einer Dosierung von  $0,23 \mu\text{Ci}/\text{kg}$  Körpergewicht ( $150 \mu\text{Ci}/\text{kg}$  KG bei *Bufo marinus*). Der visuelle Stimulus wurde für 45 min alternierend um die frei bewegliche Unke in der beschriebenen Versuchsarena bewegt. Im Anschluss an das Experiment wurde das Versuchstier mit einer Überdosis Ketavet<sup>®</sup> tief narkotisiert, dekapitiert und das Gehirn entnommen. Das exstirpierte Gehirn erhielt eine dreiminütige Vorfixation mit 2%igem Glutaraldehyd in Phosphatpufferlösung und wurde umgehend in flüssigem Stickstoff für 6s auf  $-196^\circ\text{C}$  schockgefroren, mit Kryostat-Einbettmittel (Reichert-Jung) ummantelt und nach ca. 2h Lagerung im Kryostat bei  $-20^\circ\text{C}$  geschnitten. Die histologischen Gehirnschnitte ( $25 \mu\text{m}$  Schnittdicke) wurden mit einem feinen Pinsel auf Objektträger überführt und sofort bei  $+60^\circ\text{C}$  auf der Wärmeplatte getrocknet. Die angefertigten Schnittpräparate wurden zusammen mit acht [ $^{14}\text{C}$ ]-Methylmethacrylat-Standardstrahlern mit einem Kodak BioMax MR Röntgenfilm in Kontakt gebracht und konnten nach 21 Tagen entwickelt und autoradiographisch ausgewertet werden. Mit Hilfe von SigmaScan Pro 5 konnten die durchschnittlichen [ $^{14}\text{C}$ ]-Konzentrationen in

den verschiedenen Hirnregionen ermittelt und in einen Falschfarbencode umgesetzt werden.

#### 2. Versuchstiergruppe – NPY-Applikation:

Die Tiere der zweiten Versuchsgruppe mussten operativ auf das Experiment vorbereitet werden, weil für die tectale Applikation von NPY ein Zugang geschaffen werden musste. Die Rotbauchunken erhielten zunächst eine subcutane Injektion Ketavet<sup>®</sup>, in einer Dosierung von 400 mg/kg KG. Nach ca. 30-45 min hatten die Tiere das Stadium der chirurgischen Toleranz erreicht und der Eingriff konnte vorgenommen werden. Zusätzlich wurde zur Lokalanästhesie des Operationsfeldes Meaverin<sup>®</sup> eingesetzt, um Schmerzfreiheit während des Eingriffes zu gewährleisten. Unter binokularer Kontrolle wurde oberhalb des Tectum opticum ein entsprechendes Hautareal, das Schädeldach und Teile der Dura mater vorsichtig freipräpariert. Der freigelegte Bereich wurde mit einem Tropfen chemisch reinen Paraffinöls (Merck) versorgt, um ein Austrocknen der Gehirnoberfläche zu verhindern. Einer Infektion des Operationsfeldes konnte durch Auftragen einer antibiotischen Augensalbe (Nebacetin<sup>®</sup>) vorgebeugt werden. Um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch Ketavet<sup>®</sup> ausschließen zu können, wurden die Tiere erst nach einer 24-stündigen Erholungsphase für die Experimente eingesetzt. Eine Stunde vor Versuchsbeginn wurden die operierten Rotbauchunken wiederholt auf ihre Antwortbereitschaft auf die Beute-Attrappen getestet. Fünf Minuten vor der <sup>14</sup>C-2DG-Injektion wurde ein mit NPY getränktes kleines Gelkissen in einer Größe von 0,5 x 0,5 mm<sup>2</sup> mit Hilfe eines Mikromanipulators unilateral auf die Oberfläche des Tectum opticum aufgetragen. Das in Frosch-Ringer gelöste porcine NPY in einer Konzentration von 10<sup>-4</sup> mol/l wurde zu diesem Zweck in ein Agarosegel (Gerbu) mit einer Gelstärke von 0,5% überführt, um eine Diffusion über die gesamte tectale Oberfläche zu vermeiden. Ein weiteres Gelkissen in gleicher Größe ohne NPY wurde auf der anderen tectalen Hälfte aufgetragen und diente als Kontrolle. Da sich eine Immobilisierung der Versuchstiere mit Succinylcholin als ungeeignet erwiesen hatte (Erläuterung siehe Kap. 4.2.4),

bedurfte es zur gezielten Applikation des NPY-Gelkissens einer kurzzeitigen Absenkung der Körpertemperatur und Fixation der Versuchstiere. Es folgten die subkutane  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion und der beschriebene Versuchsablauf in der Versuchsarena.

#### 3. Versuchstiergruppe – APO-Applikation:

In dieser Gruppe erhielten die Tiere nach der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion eine subkutane Injektion des Dopamin-Agonisten Apomorphin in einer Dosierung von 50 mg/kg KG. Der weitere Versuchsablauf gestaltete sich wie bei den pharmakologisch unbeeinflussten Tieren (vgl. 1. Versuchstiergruppe).

#### 4. Versuchstiergruppe – APO/NPY-Applikation:

In dieser Gruppe wurden die Tiere in gleicher Vorgehensweise operativ vorbereitet wie die zweite Gruppe. Die Unken erhielten eine subcutane Injektion  $^{14}\text{C}$ -2DG, dann wurde Apomorphin systemisch verabreicht und in einem letzten Schritt NPY unilateral auf die tectale Oberfläche aufgetragen.

Chronologische Kurzfassung der Experimente:

- (a) Prüfen der Beutefangmotivation
- (b) Anästhesie, Operation und unilaterale tectale NPY-Applikation nach 24h-iger Erholung
- (c)  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion ((c') und Apomorphin-Injektion)
- (d) 5 min später, visuelle Stimulation mit Beute-Attrappen für 45 min
- (e) Töten der Versuchstiere und Anfertigen von Gehirnschnitten

In der Versuchstiergruppe 1 fehlten Schritt (b) und (c'), in Versuchstiergruppe 3 fehlte Schritt (b).

Parallel wurden zur histologischen Aufarbeitung entsprechend Gehirnschnitte angefertigt und mit verschiedenen Färbetechniken angefärbt.

#### 3.3.3 Densitometrische Bildanalyse mit SigmaScan Pro 5

Die autoradiographisch erzeugten Röntgenbilder wurden über eine CCD-IRIS Videokamera (Sony) digital in den Rechner eingelesen und über eine geeignete Software (IDS Falcon/Eagle) als Grafik im Bitmap-Format abgespeichert. Die Bitmap-Grafiken standen damit einer weiteren Verarbeitung mit SigmaScan Pro 5 zur Verfügung.

SigmaScan Pro 5 ist eine für wissenschaftliche Zwecke entwickelte Bildanalyse-Software, die es erlaubt, digitale Bilder über automatisierte Arbeitsprozesse auszuwerten. Mit Hilfe dieser Software wurden die durchschnittlichen [ $^{14}\text{C}$ ]-Konzentrationen der einzelnen Gehirnregionen ermittelt, und über geeichte Standardraster konnten die entsprechenden Aktivitäten zugeordnet werden. Zuvor wurden die gemessenen Intensitätswerte über ein sog. "Clearfield" korrigiert, indem störende Lichteinflüsse bzw. die dadurch entstandenen Intensitäten vom Originalbild entfernt wurden. Solche störenden Lichteinflüsse treten beim Einlesen der Röntgenaufnahmen über die Kamera auf. Die daraus resultierenden Ergebnisse wurden ins Verhältnis gesetzt zu einer sog. Referenzstruktur, der "white matter" (siehe Glasgow 1999), welche sich unbeeinflusst zeigt bei visueller Stimulation. Die in diesem anatomisch definierten Bereich ermittelten Grauwerte spiegeln keine neuronale Aktivität wieder und müssen in der Auswertung Berücksichtigung finden. In einem weiteren Arbeitsschritt wurden die Röntgenimages entsprechend ihres Aktivitätsmusters in Falschfarben codiert. Die Radioaktivität, Maßstab für zerebrale Aktivitäten, wurde in einem Farbspektrum codiert, das von Dunkelblau aufsteigend zu warmen Farben bis Dunkelrot reichte, wobei Dunkelblau keine Aktivität und Dunkelrot eine erhöhte zerebrale Aktivität signalisierte.

### 3.4 Neuropeptid Y

#### 3.4.1 Primärstruktur und Gewebeverteilung

Neuropeptid Y (NPY), erstmals 1982 von Tatemoto aus Schweinehirn isoliert (Tatemoto 1982), ist einer der häufigsten peptidergen Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem. NPY greift in zahlreiche physiologische Abläufe ein. Zusammen mit dem pankreatischen Polypeptid (PP) und dem Peptid YY (PYY), welche eher Hormoncharakter haben, aber eine enge strukturelle Homologie zu NPY aufweisen (Tatemoto et al. 1982), gehört auch NPY zur sogenannten Familie der pankreatischen Polypeptide. Menschliches NPY zeigt eine strukturelle Homologie zu PYY (67%) und PP (50%; Hoyle 1999). Allen gemeinsam ist die Sequenz von 36 Aminosäuren mit einem C-terminalen Tyrosinamidrest (Conlon et al. 1991, Larhammar 1996). Das "Y" steht für die Aminosäure Tyrosin, woraus sich die Namen der Peptide ableiten lassen.

Entwicklungsgeschichtlich betrachtet zeigt NPY wenig Varianz, so unterscheiden sich NPY von Mensch und Schwein lediglich in einer Aminosäure (hNPY: Met17, pNPY: Leu17). Selbst bei entwicklungsgeschichtlich weit entfernten Spezies wie dem Rochen (*Torpedo marmorata*) sind 33 von 36 Aminosäuren mit denen des humanen Peptids identisch (Buschauer et al. 2000). Wie aus einer Untersuchung von McKay et al. (1992) an *Rana temporaria* hervorgeht, zeigt die NPY-Primärstruktur von Amphibien entwicklungsgeschichtlich auch nur wenig Varianz gegenüber der Primärstruktur beim Menschen. Die Abweichung beruht lediglich in einer Aminosäure an Position 19 (hNPY: Arg19, aNPY: Lys19). Die strukturelle Ähnlichkeit von humanem NPY zum NPY der Amphibien lässt vermuten, dass auch die Interaktionen des Peptids mit den diversen Rezeptoren ähnlich verlaufen. Mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz konnten McKay und Mitarbeiter (1992) die Gewebeverteilung von NPY bei Amphibien nachweisen. NPY Immunreaktivität zeigte sich im Gehirn, im Pankreas und im

Gastrointestinaltrakt. Im Gehirngewebe fanden sich höhere NPY-Konzentrationen als in den anderen untersuchten Gewebeproben. Über Gelchromatographie, Reverse-phase HPLC und Massenspektroskopie konnte bestätigt werden, dass es sich strukturell in allen Geweben um dasselbe Peptid handelt. Gewebeproben aus dem Gastrointestinaltrakt lieferten kein analoges Peptid zu dem Säuger-PYY; demnach ist die Entwicklung des PYY phylogenetisch höher anzusiedeln. Die Rolle von NPY bei Nicht-Säugetieren ist noch nicht soweit abgeklärt. Eine sicher bestätigte physiologische Funktion von NPY bei Amphibien ist eine Hemmung der hypophysären Melanotropin-Freisetzung (MSH = melanocyte-stimulating hormone) (Chartrel et al. 1982, Danger et al. 1986, 1987, 1989, Tuinhof et al. 1993).

#### **3.4.2 Wirkung von NPY**

Synthetisiert wird NPY in sympathischen Neuronen; es wird gemeinsam mit Noradrenalin gespeichert und auch als Cotransmitter freigesetzt. Eine Vielzahl biologischer Funktionen können NPY zugeschrieben werden. Innerhalb des Zentralnervensystems wirkt NPY modulierend auf hormonelle Regelkreise (Kalra et al. 1992), es verstärkt Gedächtnisleistungen (Flood et al. 1989), agiert im zirkadianen Rhythmus von Säugern (Hall et al. 1999) und moduliert Abläufe visueller Prozesse (Gamlin et al. 1996, Schwippert & Ewert 1995). Desweiteren fördert NPY im peripheren Nervensystem die Vasokonstriktion, indem es Noradrenalin und Angiotensin II in ihrer Funktion verstärkt (Wahlstedt & Hakanson 1986, Lundberg et al. 1987, Maturi et al. 1989).

NPY gilt zudem als stärkster bekannter Stimulator der Nahrungsaufnahme (Inui 1999, Lofthus et al. 2000). Es wird gehemmt durch Leptin, hemmt selbst die Lipolyse und wirkt fördernd auf die Fettspeicherung (Ingenhoven & Beck-Sickinger 1999). Ferner scheint NPY eine entscheidende modulierende Rolle zu übernehmen beim Auftreten pathologischer Hyperaktivitäten im Gehirn,

wie sie bei epileptiformen Anfällen auftreten (Furtinger et al. 2001, Silva et al. 2005, Vezzani et al. 1999). Diese zahlreichen Funktionen werden durch verschiedene Rezeptorsubtypen vermittelt.

#### 3.4.3 NPY Rezeptoren

Derzeit bekannt sind sechs NPY-Rezeptorsubtypen, fünf davon sind bereits kloniert (Y1 - Y6). Sie gehören alle zur Familie der G-Protein-gekoppelten heptahelikalen Membranrezeptoren. Die Existenz von Y3 wird vermutet. Dieser Rezeptor konnte bislang aber noch nicht vollständig pharmakologisch identifiziert werden. Mittels dieser sechs Rezeptorsubtypen lassen sich die unterschiedlichen, teilweise gegensätzlichen biologischen Effekte von NPY erklären.

##### Der Y1-Rezeptor

Eine Expressierung der Y1-mRNA findet sich im Gehirn von Säugern vorwiegend in Hippocampus, Thalamus, Nucleus amygdalae und Cortex, peripher in Herz, Niere, Milz und Lunge sowie in der Skelettmuskulatur. In der Peripherie sind die Rezeptoren postsynaptisch an den Blutgefäßen lokalisiert, ihre Aktivierung bedeutet langanhaltende Vasokonstriktion bzw. Verstärkung anderer konstriktorischer Stimuli (Buschauer 2000). Zentralnervös ist NPY über Y1-Rezeptoren anxiolytisch und sedativ wirksam (Heilig et al. 1993). Zusammen mit weiteren Rezeptorsubtypen scheint der Y1-Rezeptor die Nahrungsaufnahme zu regulieren (Inui 1999).

##### Der Y2-Rezeptor

Eine hohe Y2-Rezeptordichte ist im zentralen Nervensystem nachweisbar, besonders zahlreich sind die Rezeptorsubtypen im Hippocampus vertreten (Dumont et al. 1992). Durch Binden von NPY am Y2-Rezeptorsubtyp kommt es in der Regel zu einer Inhibition der Neurotransmitterfreisetzung von Glutamat im ZNS, was ausschlaggebend sein könnte für die antikonvulsive Wirkung von NPY und die modulatorische Rolle bei der visuellen

Informationsverarbeitung. In der Peripherie kommt es zu einer Hemmung der Acetylcholin- und Noradrenalinfreisetzung, was regional eine Minderdurchblutung bewirkt.

#### Der Y3-Rezeptor

Die Existenz dieses Rezeptorsubtyps ist noch nicht bewiesen, pharmakologische Studien lassen seine Existenz aber vermuten (Cabrele & Beck-Sickinger 2000). Postuliert wird eine Modulation der Glutamateffekte und Beeinflussung der Herzkreislaufregulation in Richtung Hypotonie und Bradykardie.

#### Der Y4-Rezeptor

Die mRNA des humanen Y4-Rezeptors konnte vorwiegend im Verdauungstrakt nachgewiesen werden. Eine Beeinflussung gastrointestinaler Funktionen ist anzunehmen. Neuere Untersuchungen beweisen die Existenz von Y4-Rezeptorsubtypen auch im ZNS und belegen, dass NPY über diese Rezeptoren eine Stimulation der Gonadotropinfreisetzung induzieren kann (Buschauer 2000).

#### Der Y5-Rezeptor

NPY entfaltet seine Wirkung auf die Appetitregulation primär über den Y5-Rezeptor, mutmaßlich aber auch über den Y1-Rezeptor (Gerald et al. 1996). Die Rezeptorgene beider Rezeptorsubtypen werden primär in Gehirnregionen exprimiert, die nachweislich an der Regulation der Nahrungsaufnahme beteiligt sind. Dementsprechend hoch ist auch die NPY-Konzentration in diesen Arealen, besonders im Hypothalamus, einem wichtigen Zentrum für die Nahrungsaufnahme. Versuche an Mäusen bewiesen, dass durch Injektion von NPY in den Hypothalamus eine enorme Steigerung des Appetits herbeigeführt werden konnte.

#### Der Y6-Rezeptor

Lediglich bei Maus und Kaninchen konnte bisher ein funktionsfähiges Rezeptorprotein nachgewiesen werden, mit zentraler Wirksamkeit.



## 3.5 Dopaminagonist Apomorphin (APO)

Apomorphin (APO) entsteht durch Einwirken anorganischer Säuren auf das Morphinmolekül. Es weist eine eindeutige konstitutionschemische Ähnlichkeit mit dem Dopaminmolekül auf und besitzt daher eine direkte stimulierende Wirkung auf dopaminerge Rezeptoren (Dopamin-Agonist).

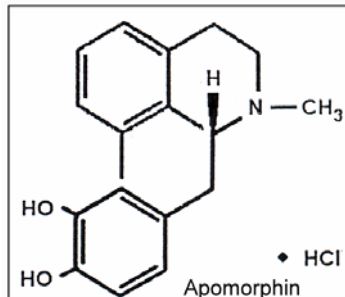


Abbildung 9: Strukturformel Apomorphin

### 3.5.1 Wirkung von APO

Neben seiner stark emetischen Wirkung beim Menschen bewirkt Apomorphin bei verschiedenen Wirbeltiergruppen gewisse Formen stereotypen Verhaltens (Andersen et al. 1975, Wynne & Delius 1995, 1996) und beeinflusst zudem die Informationsverarbeitung im visuellen System (Glagow & Ewert 1994, 1996, 1997). Das Wirkprinzip von Apomorphin beruht auf einer Bindung an dopaminergen D2/D1-Rezeptoren, sowohl prae- als auch postsynaptisch, wodurch es bei einigen Spezies zu einer motorischen Stimulation kommt. Unterschiedliche Reaktionen sind aber möglich, da die dopaminergen Rezeptoren keine homogene Gruppe darstellen, sondern mehrere Subtypen aufweisen (Mc Culloch 1982, Joyce et al. 1991). In der Medizin wird Apomorphin auch als Antiparkinson-Medikament eingesetzt.

#### 3.5.2 Dopamin (DA)

Dopamin, kurz DA, ist ein zur Gruppe der Katecholamine gehöriger Neurotransmitter mit folgender Strukturformel:

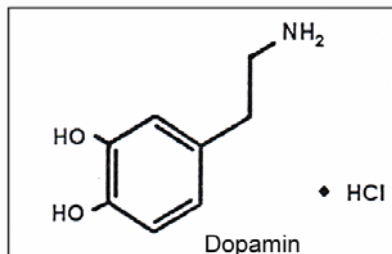


Abbildung 10: Strukturformel Dopamin

DA wird aus den Aminosäuren Phenylalanin bzw. Tyrosin synthetisiert. Tyrosin wird durch die Tyrosinhydroxylase mit einer zweiten Hydroxylgruppe ausgestattet und dann durch die DOPA-Decarboxylase zum biogenen Amin Dopamin decarboxyliert. Diese Syntheseschritte laufen in den chromaffinen Zellen von Nebennierenmark, Hypothalamus, Substantia nigra und weiteren Teilen des Nervensystems ab. Dopamin entwickelt in Vertebraten einerseits seine Wirkung über Adrenorezeptoren als Sympathomimetikum und steigert die Perfusion abdominalen und renalen Blutgefäße, andererseits wirkt es über spezifische Dopaminrezeptoren D1 bis D<sub>x</sub> (genaue Anzahl nicht bekannt) im Hypothalamus hemmend auf die Prolaktinfreisetzung und disinhibierend im Bereich der Basalganglien und dem Striatum. Höchste Konzentrationen an DA sind in den die extrapyramidale Motorik steuernden Basalganglien sowie im mesolimbischen Belohnungssystem (Nucleus accumbens) nachzuweisen. Pharmakologisch findet Dopamin Einsatz in der Notfallmedizin zur akuten Schocktherapie zur Anregung von Herz- und Nierenfunktion. Pathophysiologisch bewirkt ein Dopaminüberschuss peripher eine ausgeprägte Tachykardie und Hypertonie (Phäochromozytom), Dopaminmangel aufgrund degenerierender dopaminergischer Neuronen in der Substantia nigra ist Ursache für das Krankheitsbild des Morbus Parkinson.

### 3.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs 1992), ein Vergleich unabhängiger Stichproben gemessener Werte. Desweiteren wurden Mittelwerte, Standardabweichungen und Standardfehler berechnet.

#### 3.6.1 Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler

Der Mittelwert  $\bar{x}$  berechnet sich aus dem Gesamtstichprobenumfang  $N$  (ermittelt in  $k$  Messungen an  $n$  Unken bzw. Kröten).

$$\text{Formel 1: } \bar{x} = \frac{1}{n}(x_1 + x_2 + \dots + x_n) = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Ein Maß dafür, wie stark die Beobachtungen durchschnittlich von ihrem Mittelwert abweichen, ist die Varianz. Die positive Wurzel aus der Varianz wird als Standardabweichung  $\pm s$  bezeichnet.

$$\text{Formel 2: } s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Der Standardfehler  $s_{\bar{x}}$  ist die Standardabweichung des Mittelwertes und wird folgendermaßen berechnet:

$$\text{Formel 3: } s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

#### 3.6.2 U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney

Der U-Test ist ein Rangsummentest für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben ( $n$ ;  $m$ ) aus Grundgesamtheiten mit ähnlicher bis gleicher Verteilungsform. Da die ermittelten Daten keine ausreißerfreien Messwerte liefern, aufgrund individueller und umweltbedingter Schwankungen wie Stoffwechsellage, jahreszeitliche Abhängigkeiten, Tagesrhythmus und Temperatur, erwies sich der U-Test als geeignet. Andererseits ist eine Prüfung auf Normalverteilung bei einem kleinen Stichprobenumfang kaum durchführbar.

Zur Berechnung der Prüfgröße  $U$  erstellt man aus den  $(n+m)$  Stichprobenwerten eine gemeinsame aufsteigende Rangfolge, wobei zu jeder Rangzahl vermerkt wird, aus welcher der beiden Stichproben der zugehörige Wert stammt.  $R_1$  bzw.  $R_2$  definieren die Summe der auf Stichprobe 1 oder 2 entfallenden Werte.

$$\text{Formel 4: } U_1 = mn + \frac{m(m+1)}{2} - R_1$$

$$\text{Formel 4: } U_2 = mn + \frac{n(n+1)}{2} - R_2$$

Die Prüfgröße wird dabei für den kleineren Wert für  $U_{1/2}$  festgelegt. Die Nullhypothese wird für  $U$ -Werte, die kleiner sind als die tabellierten kritischen Werte, verworfen. Es gilt dann die Alternativhypothese. Die Nullhypothese wird beibehalten, wenn die  $U$ -Werte größer sind als die tabellierten kritischen Werte.

### 4 Ergebnisse

#### 4.1 Verhaltensbeobachtungen

##### 4.1.1 Verhalten unter APO

Bisherige Ergebnisse zeigen, dass eine systemische (intralymphatische) APO-Applikation bei Kröten in einer Dosis von 40 mg/kg Körpergewicht zu unterschiedlichen Reaktionen führte. Erdkröten (*Bufo bufo spinosus*) zeigten deutlich erhöhte Schnappreaktionen auf bewegte Beute-Attrappen bei gleichzeitiger Einschränkung von Kopf- und Körperbewegungen. Der entsprechende Versuch führte bei Agakröten (*Bufo marinus*) nicht zu gesteigerten Schnappreaktionen (Glagow & Ewert 1992, 1993, 1994). Die in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Versuchstiere (*Bombina orientalis*) zeigten ebenfalls keine verstärkten Schnappreaktionen unter dem Einfluss von APO. Nach systemischer Applikation von APO in einer Dosierung von 50mg/kg KG reagierten die Unken ähnlich wie Erd- und Agakröten mit einer Hypokinese bzw. Akinese, sowie einem Ausfall gerichteter Orientierungsbewegungen. Lediglich vereinzelt konnte bei einigen Tieren ein vermehrtes Wischen am Kopf beobachtet werden.

##### 4.1.2 Verhalten unter NPY

Eine Stunde vor Versuchsbeginn wurden alle Versuchstiere auf ihre positive Antwortbereitschaft auf Beute-Attrappen getestet. Die Rotbauchunken zeigten sich bei diesen Vortests sehr aktiv, da ihnen zuvor für eine Woche das Futter entzogen wurde. Bei der Durchführung der [<sup>14</sup>C]-Versuche ohne weitere pharmakologische Beeinflussung konnten häufige Zuwende-, Verfolgungs- und Schnappreaktionen beobachtet werden. Einer Habituation konnte weitestgehend entgegengewirkt werden durch regelmäßiges Wechseln der Bewegungsrichtung. Nach Ablauf von in der Regel 20-25 min der Versuchsperiode zeigte sich eine Aktivitätsabnahme durch weniger Schnappreaktionen, wohingegen orientiertes Zuwenden und Verfolgen der

Beute-Attrappen weiterhin gezeigt wurde. Tiere, denen NPY auf die tectale Oberfläche appliziert wurde, zeigten sich wie die unbehandelten Tiere zu Versuchsbeginn sehr beuteaktiv, nach durchschnittlich 10 Minuten konnte dann eine deutliche Abnahme in der Beutefangaktivität verzeichnet werden, die sich gegen Ende der Versuchsdauer noch weiter verminderte.

### 4.2 Qualitative $^{14}\text{C}$ -2DG Befunde

Zur qualitativen Auswertung der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Autoradiographien wurden histologische Schnitte (Klüver-Barrera-Färbung) vom medialen Mesencephalon angefertigt. Mit Hilfe der histologischen Schnitte konnten die Aktivitätsmuster der Röntgenimages den entsprechenden neuroanatomischen Strukturen zugeordnet werden. Abbildung 11 zeigt einen histologischen Schnitt des medialen Mesencephalon (A) im Vergleich zu einem autoradiographisch bearbeiteten Schnitt (B) der entsprechenden Hirnregion. Von besonderem Interesse waren bei dieser Arbeit die Veränderungen im  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch im Tectum opticum infolge lokaler pharmakologischer Beeinflussung. Aus diesem Grund sind unter (a) und (b) Ausschnittsvergrößerungen vom Tectum opticum der Schnitte (A) und (B) dargestellt. Die Autoradiographie zeigt den Querschnitt einer unbehandelten, visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke. Direkt unter Abbildung (A) verdeutlicht eine Schemazeichnung vom Gehirn der Unke *Bombina orientalis* die Schnittebene (siehe Pfeil) durch das mediale Mesencephalon.

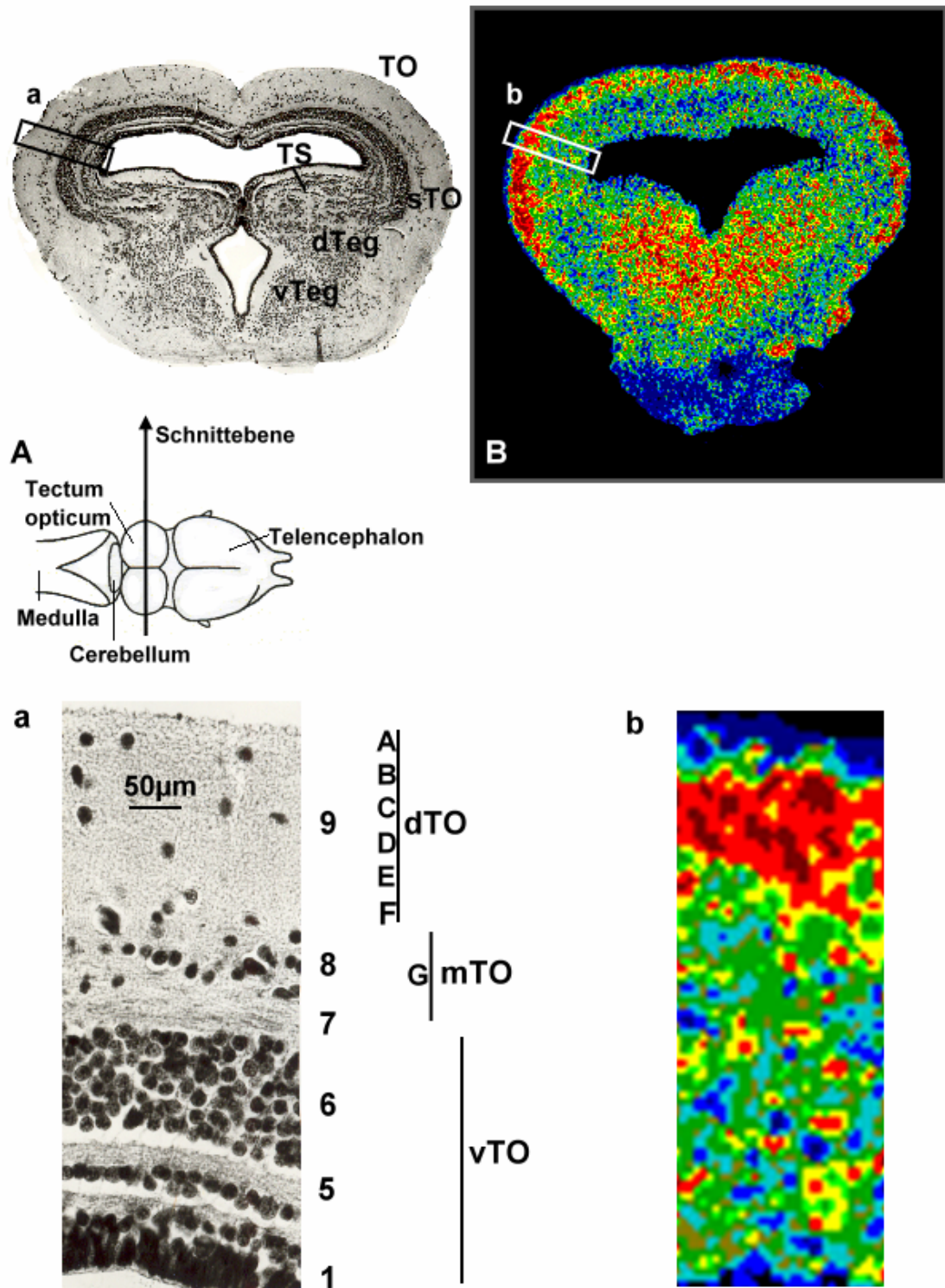


Abbildung 11: Querschnitte durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*; (A) zeigt einen histologischen Schnitt (Klüver-Barrera-Färbung) mit schematischer Kennzeichnung der anatomischen Strukturen. (B) zeigt eine neuroanatomisch entsprechende <sup>14</sup>C-2DG-Autoradiographie. (a) und (b) stellen Ausschnittsvergrößerungen vom Tectum opticum aus (A) und (B) dar. (TS, Torus semicircularis; dTeg, dorsales Tegmentum; vTeg, ventrales Tegmentum, To, Tectum opticum; sTO, Schnappzone ventrolaterales Tectum opticum; dTO, dorsales Tectum opticum; mTO, mediales Tectum opticum; vTO, ventrales Tectum opticum)

### 4.2.1 Autoradiographie *Bombina orientalis*

Zur Beurteilung pharmakologischer Effekte durch Neuropeptid Y bzw. Apomorphin auf den Hirnmetabolismus von *Bombina orientalis* war es zunächst erforderlich, die Gehirnaktivitäten pharmakologisch unbeeinflusster Tiere (Gruppe 1) nach visueller Reizgabe zu untersuchen. Auf der Basis der ermittelten Daten aus Gruppe 1 konnten dann die Versuche unter dem Einfluss von NPY bzw. Apomorphin durchgeführt werden. Die Versuchsbedingungen gestalteten sich für alle Tiere gleich. Aus Gruppe 1 wurden insgesamt zwölf Rotbauchunken zur Bestimmung der regionalen zerebralen Aktivitäten nach visueller Stimulation mittels Beute-Attrappen herangezogen. Die Gruppen 2, 3 und 4 bestanden aus jeweils fünf Versuchstieren. Diese Tiere erhielten teilweise eine operative (Gruppen 2 u. 4) und eine pharmakologische Vorbehandlung (Gruppen 2, 3 u. 4), der nachfolgende Versuch gestaltete sich wie bei Gruppe 1.

Im Folgenden werden zunächst zwecks Illustration die zerebralen Aktivitäten einzelner Rotbauchunken der vier verschiedenen Versuchstiergruppen an jeweils einem Falschfarben-codierten Röntgenbild dargestellt. Die Abbildungen 12, 14, 16 und 18 zeigen Querschnitte aus dem Bereich des Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Die zu jedem Schnitt erstellten Histogramme (Abbildung 13, 15, 17, 19) demonstrieren die lokalen Änderungen der Radioaktivität [ $\mu\text{Ci}$ ] ermittelt an sechs, im gleichen Abstand ( $15\mu\text{m}$ ) durch beide tectalen Hälften geführten Messlinien (SEC\_1-6). Abbildung 12 zeigt einen Querschnitt vom Mesencephalon einer unbehandelten Rotbauchunke. Das Tier erhielt nach vorangegangener Überprüfung seiner Beutefangmotivation eine subcutane  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion in einer Dosierung von  $0,23 \mu\text{Ci}/\text{kg}$  Körpergewicht. Es folgte die visuelle Stimulation in der Versuchsarena für 45 min mit den beschriebenen Beute-Attrappen, die horizontal ausgerichtet am Podestrand um das freibewegliche Versuchstier mit konstanter Winkelgeschwindigkeit ( $8^\circ/\text{s}$ ) und wechselnder Bewegungsrichtung herumgeführt wurden. In den retino-tectalen Schichten beider tectalen Hälften finden sich ähnlich verteilte  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahmen und demnach gleichmäßige Aktivierungen der retino-tectalen Schichten.



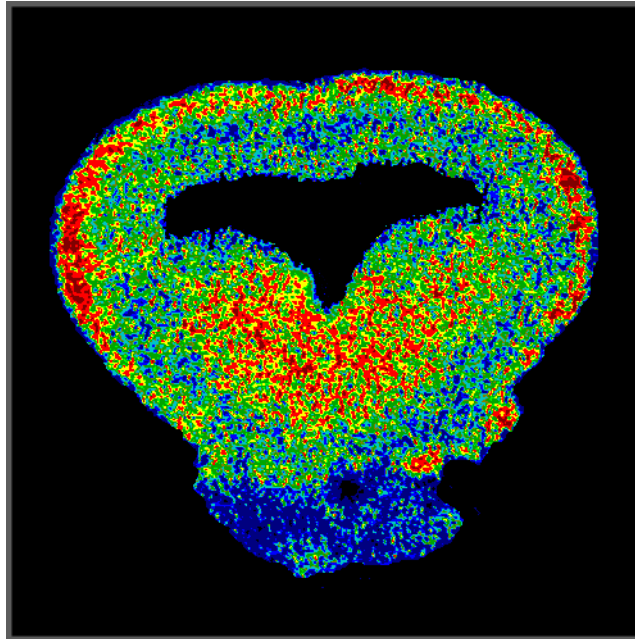


Abbildung 12: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Querschnitt durch das mediale Mesencephalon. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten pharmakologisch unbehandelten Rotbauchunke.

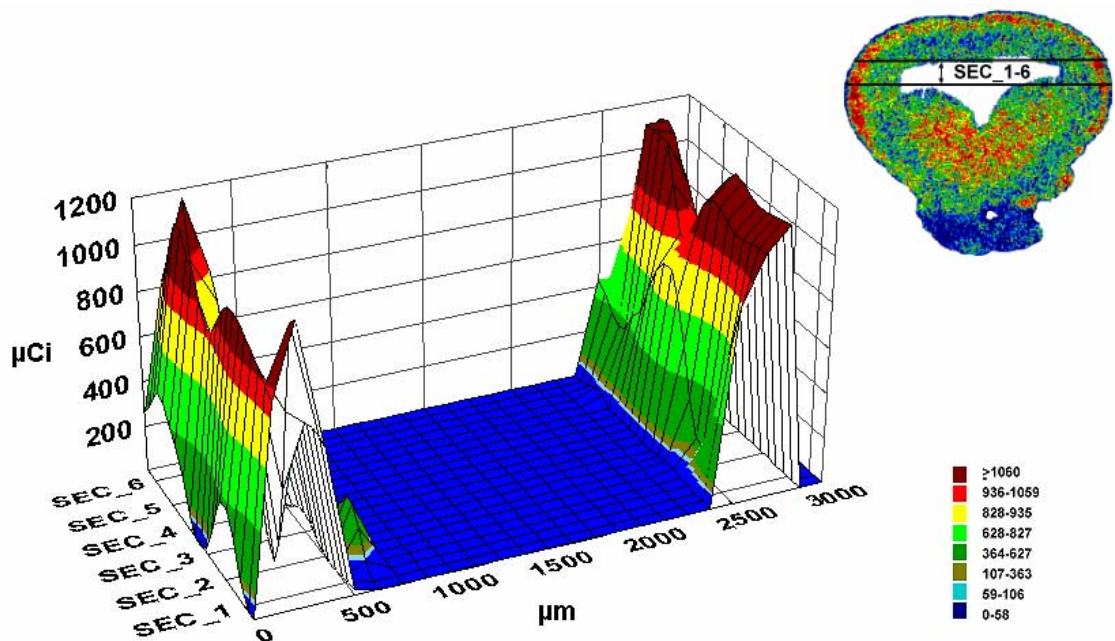


Abbildung 13: Histogramm des unter Abbildung 12 dargestellten Querschnittes des Mesencephalon. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_1-6) durch beide tectalen Hälften.

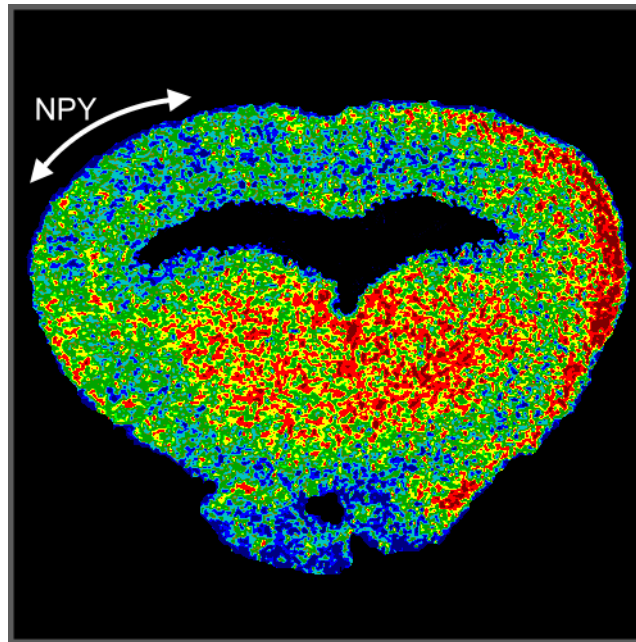


Abbildung 14: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke unter dem Einfluss von unilateral appliziertem NPY in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l.

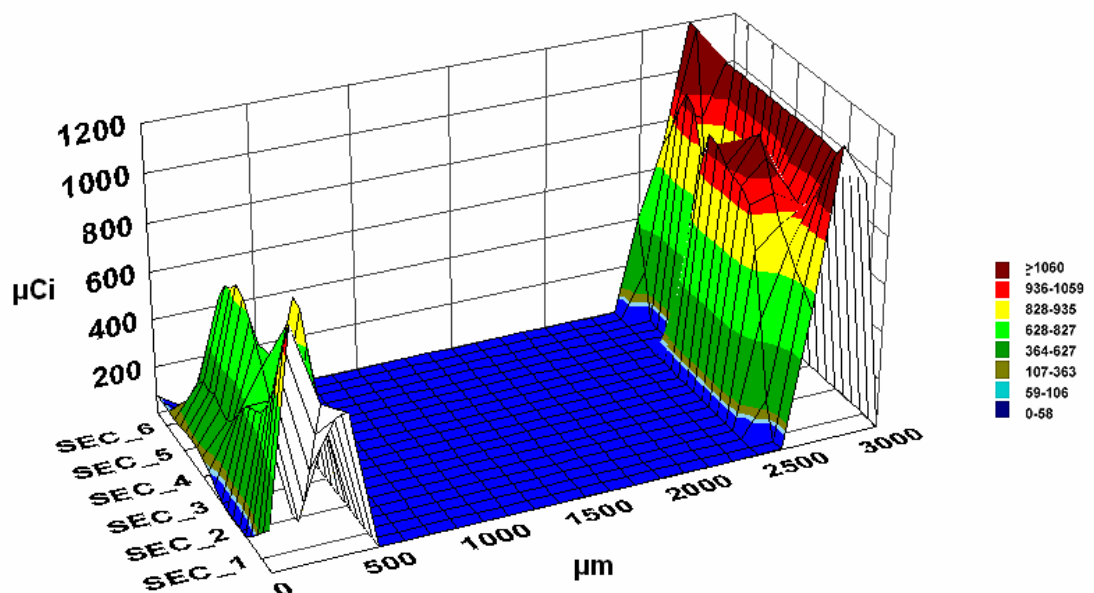


Abbildung 15: Histogramm des unter Abbildung 14 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bombina orientalis*, nach unilateraler NPY-Applikation auf die tectale Oberfläche. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften.

Abbildung 14 beschreibt die Aktivitätsänderungen im Tectum opticum einer Rotbauchunke der Gruppe 2, bei welcher, fünf Minuten vor systemischer  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion und anschließender visueller Stimulation, unilateral auf die tectale Oberfläche NPY in Form eines  $0,5 \times 0,5\text{mm}^2$  großen Gelkissens in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l aufgetragen wurde. Beim Vergleich beider Hirnhälften zeigt die unter dem Einfluss von NPY stehende Hälfte eine deutlich schwächere Aktivierung der oberen tectalen Schichten. NPY bewirkt demnach einen verminderten Glukosegebrauch in den retino-tectalen Schichten des Tectum opticum.

Abbildung 16 zeigt den Einfluss von Apomorphin auf den lokalen Hirnmetabolismus von *Bombina orientalis*. Systemisch verabreichtes Apomorphin, kurz nach der subcutanen  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion bewirkte bei den Tieren der Gruppe 3 eine stark erhöhte  $^{14}\text{C}$ -2-DG-Aufnahme in den retino-tectalen Schichten des Tectum opticum. Derartige Aktivitätserhöhungen konnten bereits in Versuchen an *Bufo bufo* (Erdkröte) und *Bufo marinus* (Agakröte) nachgewiesen werden (Glagow & Ewert 1996, 1997a/b, 1999). Eindeutig erhöht unter der Apomorphinwirkung zeigte sich bei der Erd- und Agakröte der Glukosemetabolismus in den primären praetectalen und tectalen Projektionsfeldern retinaler Ganglienzellen, was auf eine dopaminerge Erhöhung der visuellen Aktivität der retinalen Ganglienzellen hindeutet (Glagow & Ewert 1996, 1997a/b, 1999).

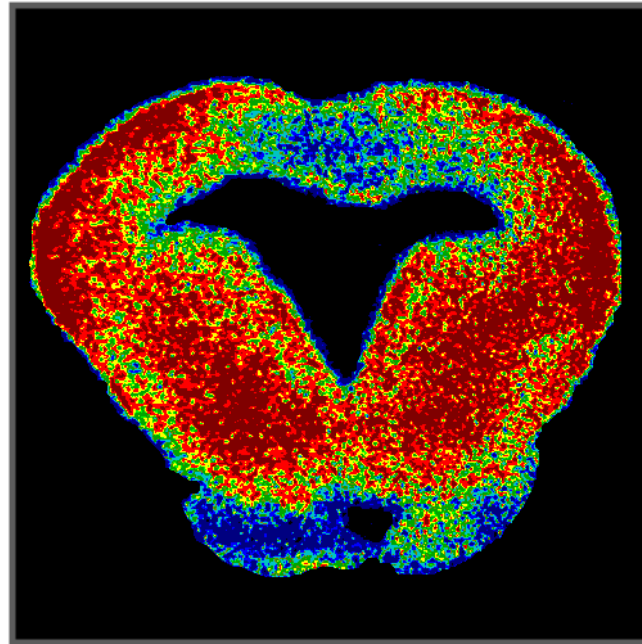


Abbildung 16: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke unter dem Einfluss von Apomorphin in einer Dosierung von 50 mg/kg KG.

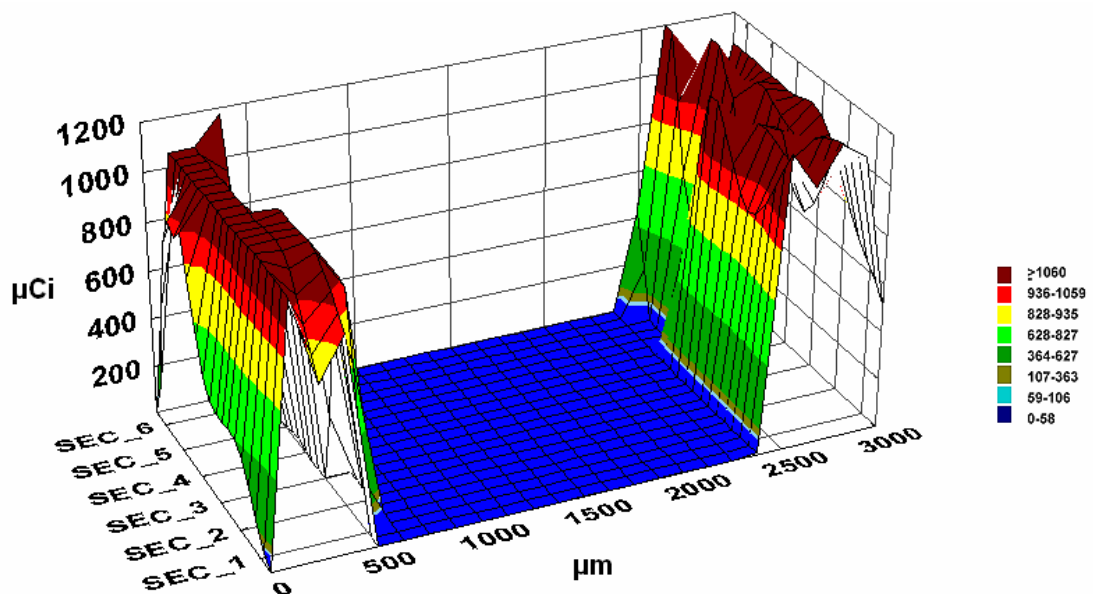


Abbildung 17: Histogramm des unter Abbildung 16 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bombina orientalis*, nach systemischer Apomorphin-Gabe. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften.

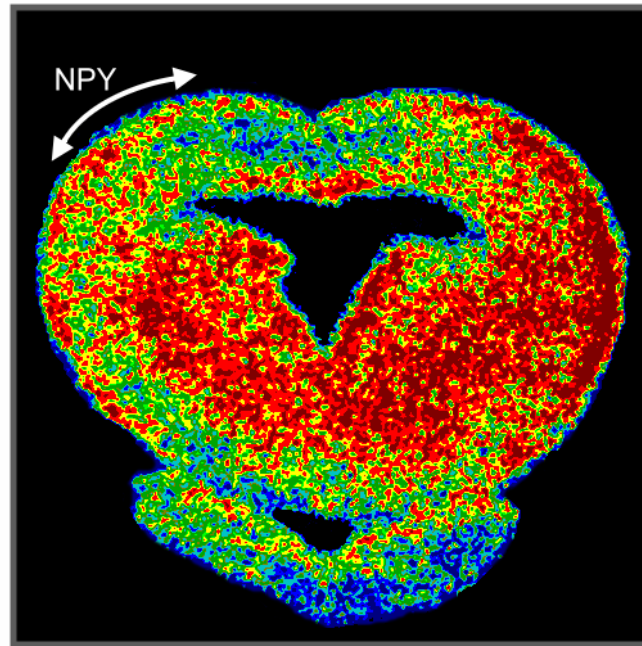


Abbildung 18: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke unter dem Einfluss von Apomorphin in einer Dosierung von 50 mg/kg KG und unilateral appliziertem NPY in einer Dosierung von  $10^{-4}$  mol/l.

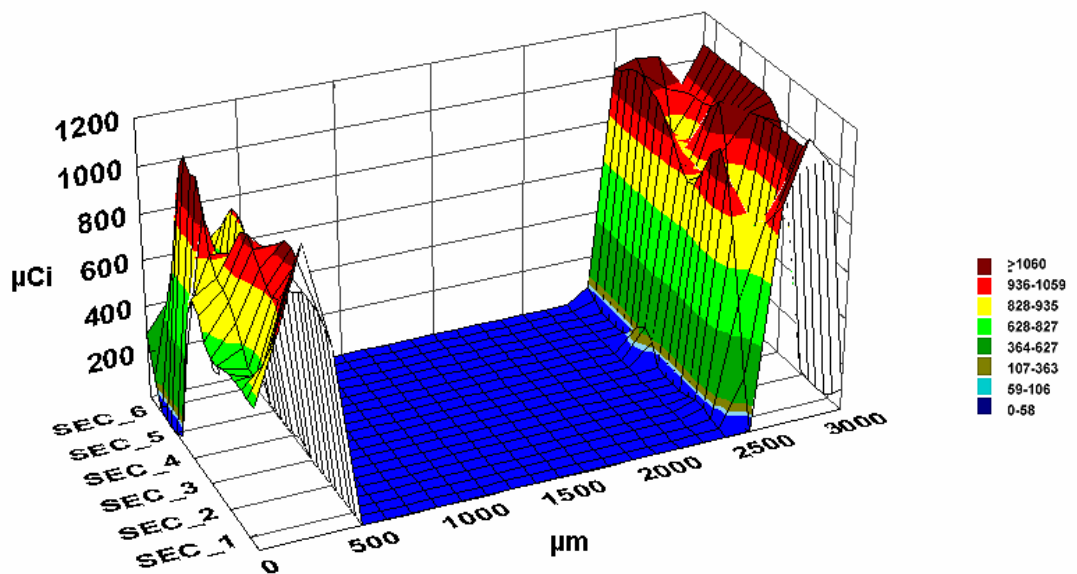


Abbildung 19: Histogramm des unter Abbildung 18 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bombina orientalis*, nach systemischer Apomorphin Applikation und unilateraler NPY Applikation. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften.

In der 4. Versuchstiergruppe wurden die Tiere nach der operativen Vorbereitung zunächst behandelt wie die Tiere der Gruppe 3. Zusätzlich wurde Ihnen NPY unilateral auf die tectale Oberfläche appliziert, danach folgte die visuelle Reizgabe wie in der beschriebenen Versuchsdurchführung. In Abbildung 18 ist an der von NPY unbeeinflussten tectalen Seite der gesteigerte Glukosemetabolismus durch Apomorphin deutlich zu erkennen. Die linke Seite, auf die NPY oberflächlich aufgetragen wurde, zeigt im Vergleich zur rechten NPY-unbehandelten tectalen Hälfte eine deutlich sichtbar verminderte Aufnahme an  $^{14}\text{C}$ -2-DG.

### **4.2.2 Vergleichsstudie für die ermittelten Befunde an *Bombina orientalis***

Zum besseren Vergleich der Versuchsgruppen untereinander werden nachfolgend die unterschiedlichen  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahmen einander gegenüber gestellt (vgl. Abbildung 20). Es zeigen sich deutliche Aktivitätsunterschiede in den retino-tectalen Projektionsfeldern, sowohl bei den Abbildungen 20a und 20b, als auch bei 20c und 20d. Unter dem Einfluss von Apomorphin stehende Versuchstiere zeigen generell höhere neuronale Aktivitäten, selbst unter dem Einfluss von NPY.

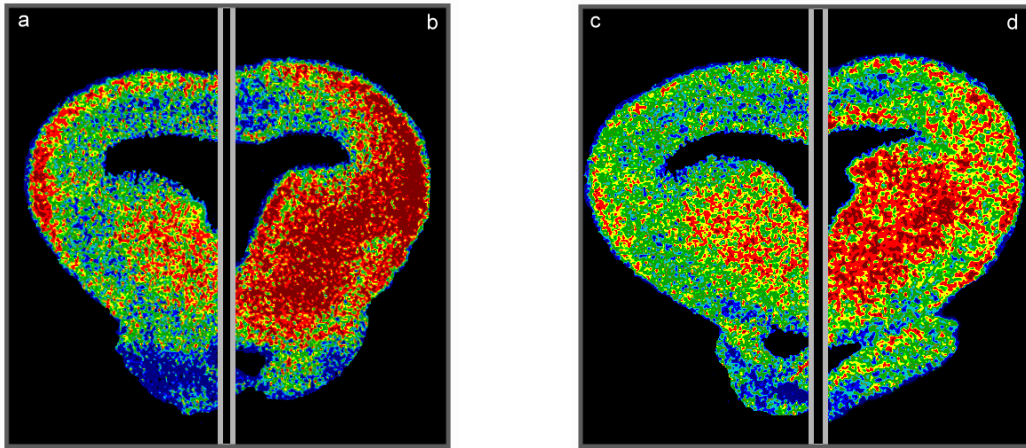


Abbildung 20: Gegenüberstellung jeweils einer tectalen Hälfte verschiedener Versuchstiere: a = unbehandelte Rotbauchunke, b = Rotbauchunke nach systemischer APO-Applikation, c = Rotbauchunke nach unilateraler NPY-Applikation, d = Rotbauchunke nach Gabe von APO und NPY

### 4.2.3 Prüfung einer Wirkung durch das Agarosegel

In allen unilateralen NPY-Versuchen wurde ein Gelkissen mit NPY auf die eine Tectumhälfte und ein Gelkissen ohne NPY auf die gegenüberliegende Hälfte appliziert. Folglich war die "Wirkung des Gels" auf beiden Tectumhälften gleich. Um darüber hinaus zweifelsfrei beurteilen zu können, ob allein durch die Applikation des Gelkissens auf die Tectum-Oberfläche ein reduzierter Glukosegebrauch in den oberen tectalen Schichten herbeigeführt werden kann, wurde ein Kontrollversuch bei *Bombina orientalis* durchgeführt. In diesem Versuch wurde ein Gelkissen der Größe  $0,5 \times 0,5 \text{ mm}^2$  (ohne NPY) unilateral auf die tectale Oberfläche aufgetragen, fünf Minuten bevor die  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion erfolgte. Abbildung 21 zeigt einen Querschnitt des Mesencephalon einer Rotbauchunke, die auf den Effekt des Agarose-Gelkissens überprüft wurde. Nach Auswertung der Röntgenbilder konnte demnach keine Intensitätsabnahme in der tectalen Hälfte infolge Einwirkung des Gelkissens gemessen werden.

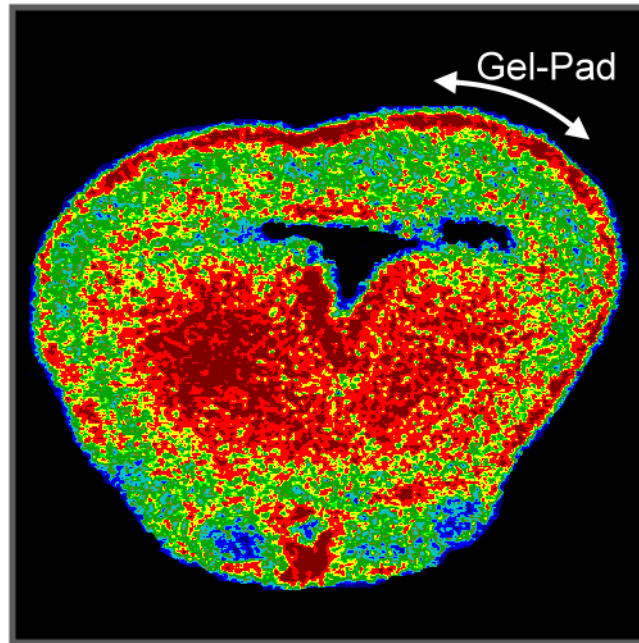


Abbildung 21: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten pharmakologisch unbehandelten Rotbauchunke unter dem Einfluss eines unilateral aufgetragenen Agarose-Gelkissens (Gel-Pad).

### 4.2.4 Versuche unter Succinylcholin

Für eine sichere Plazierung des NPY-Gelkissens auf der tectalen Oberfläche von *Bombina orientalis* wurde zunächst eine Demobilisierung der Rotbauchunken in Erwägung gezogen. Zur Demobilisierung geeignet erwies sich eine subkutane Injektion Suxamethoniumchlorid (2%-iges Succinyl-Asta®) in einer Dosierung von 60 mg/kg Körpergewicht. Nach ca. 10-20 min post injectionem trat eine Lähmung der quergestreiften Muskulatur ein, die bis zu einer Stunde anhielt und somit in der Regel Versuchsvorbereitung und Versuchsdurchführung überdauerte. Eine gezielte Applikation des NPY-Gelkissens war mittels Mikromanipulator zwar garantiert, aber Bewegungen der Unken während des Versuches waren unterbunden aufgrund der langen Wirkdauer. Dies konnte für die Standardisierung der visuellen Reizgebung prinzipiell von Vorteil sein. Unter dem Einsatz von Succinylcholin konnten jedoch unter visueller Stimulation keine auswertbaren Röntgenbilder entwickelt werden, da in allen Hirnregionen nur geringe Mengen an  $^{14}\text{C}$ -2DG



aufgenommen wurden. Vermutlich verlangsamt sich unter dem Einfluss von Succinylcholin die Stoffwechselrate, somit auch die Glukosemetabolisierung im Gehirn. Eventuell zurückzuführen ist dies auf die Ausbildung einer Hypotonie in Verbindung mit verzögertem Blutfluss und kardialen Arrhythmien wie sie beim Säuger häufiger beobachtet werden (Löscher 1997).

Abbildung 22 zeigt zur Illustration einen histologischen Schnitt durch das mediale Mesencephalon einer Succinylcholin-behandelten visuell stimulierten Rotbauchunke. Vergleichende neurophysiologische Untersuchungen an *Bombina orientalis* zeigten auf visuelle Reizgebung unter Succinylcholin ebenfalls nur sehr schwache Antworten von retinalen Afferenzen (Ewert & Schwippert 2005, pers. Mitt.). Aufgrund des allgemein reduzierten Hirnmetabolismus wurde daher auf den Einsatz von Succinylcholin oder eines anderen Muskelrelaxans bei der Reizgebung verzichtet.

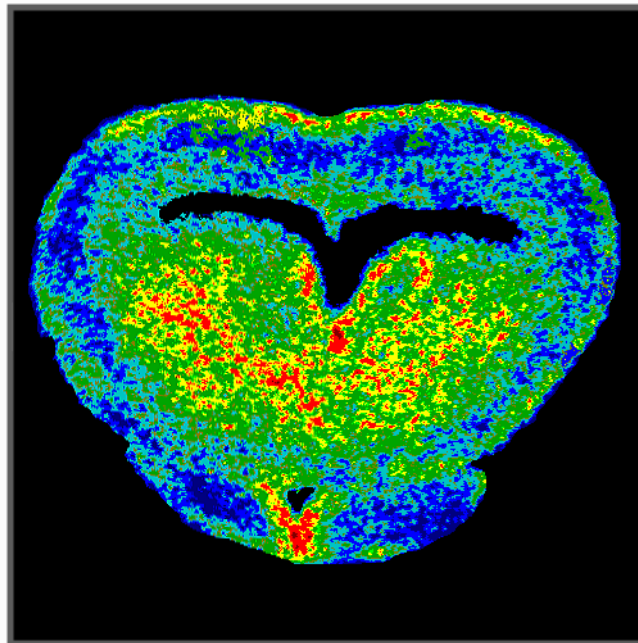


Abbildung 22:  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme einer visuell stimulierten Unke unter dem Einfluss des Muskelrelaxans Succinyl-Asta® (2%ig) in einer Dosierung von 60 mg/kg KG.

### 4.2.5 Vergleichsversuche mit *Bufo marinus*

An Agakröten sollte überprüft werden, inwiefern sich die gefundenen Ergebnisse auf eine andere Spezies übertragen lassen. Bei den Experimenten mit Agakröten wurde auf die 1. und 3. Versuchstiergruppe verzichtet, da bereits  $^{14}\text{C}$ -2DG-Studien zu dieser Thematik vorliegen (z.B. Glasgow & Ewert 1999a/b), so dass hier jeweils fünf Tiere für die Versuchstiergruppen 2 und 4 ausgewählt wurden. Da es sich bei den eingesetzten *Bufo marinus* um ältere Tiere handelte, die nur selten auf visuelle Bewegungsreize (Beuteattrappen) mit Beutefang reagierten, erfolgte bei diesen Tieren eine zusätzliche visuelle Reizgabe über einen durch Zeitschaltelektronik ausgelösten Beleuchtungswechsel (98 Lux = An; 2 Lux = Aus). Das Zeitintervall zwischen Ein und Aus betrug 3 s.

Die Kröten der 2. Versuchstiergruppe erhielten nach operativer Vorbereitung NPY unilateral auf die tectale Oberfläche appliziert, in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l. Abbildung 23 zeigt den Querschnitt im Bereich des Mesencephalon einer Agakröte. Auch bei Agakröten erfolgt unter dem Einfluss von NPY eine verminderte Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -2DG in den Schichten des Tectum opticum. Die unbehandelte rechte tectale Hälfte zeigt jedoch im Gegensatz zu Vergleichsquerschnitten bei *Bombina orientalis* eine erhöhte Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -2DG in tieferen Tectum-Schichten, was unterschiedliche retino-tectale Projektionsfelder bzw. eine vermehrte Ansprechbarkeit retinaler Eingänge in tieferen Schichten des Tectum opticum vermuten lässt. Bei der Bewertung dieser Befunde muss der durch Beleuchtungswechsel erweiterte Versuchsablauf berücksichtigt werden. Denn auf diffuse On/Off- bzw. Off-Stimuli des Gesichtsfeldes sprechen nicht die dorsal im Tectum endigenden retinalen R2- bzw. R1-Neuronen an, sondern die tiefer endigenden R3- und R4-Neuronen.

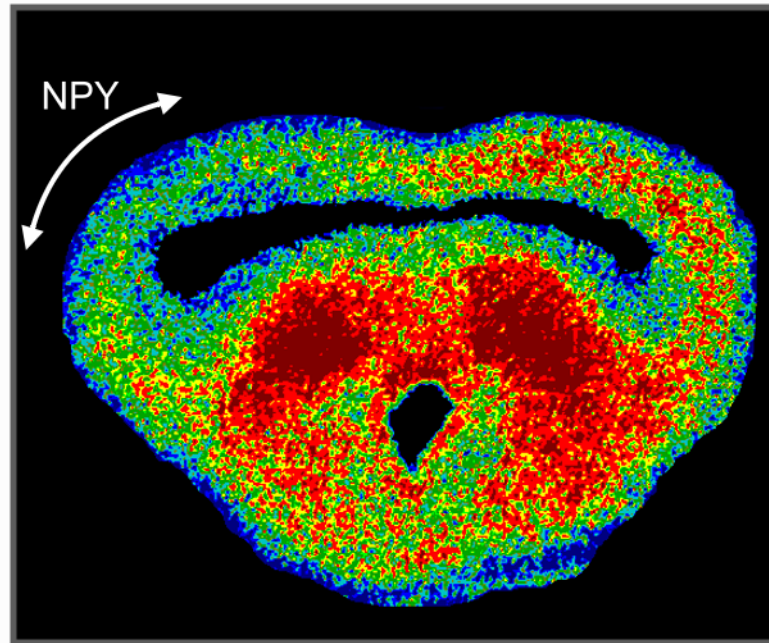


Abbildung 23: Querschnitt durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen und Beleuchtungswechsel visuell stimulierten Agakröte unter dem Einfluss von unilateral appliziertem NPY in einer Dosierung von  $10^{-4}$  mol/l.

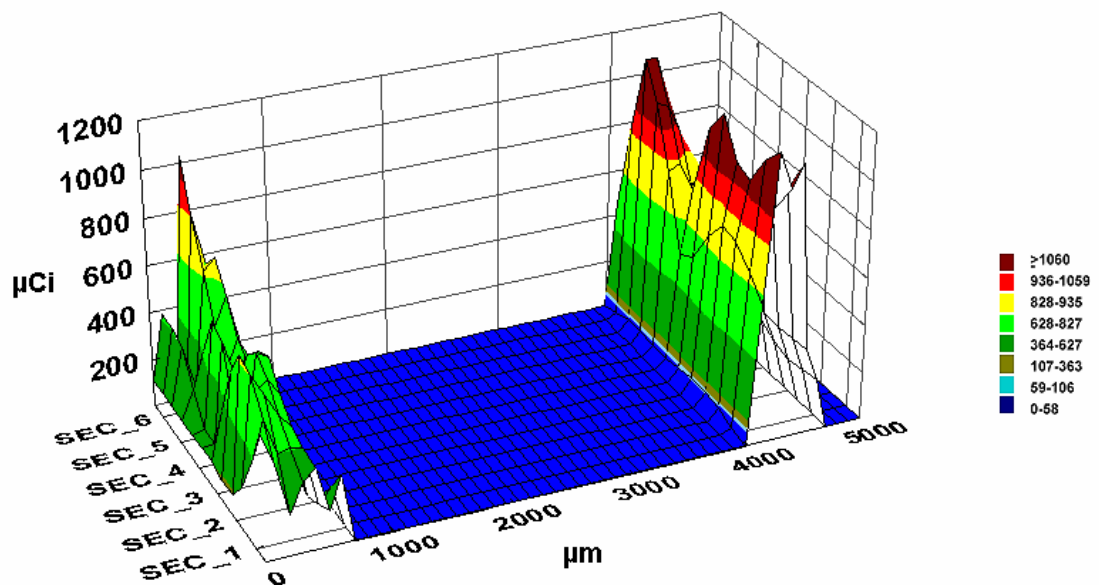


Abbildung 24: Histogramm des unter Abbildung 23 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*, nach unilateraler NPY-Applikation auf die tectale Oberfläche. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_1-6) durch beide tectalen Hälften.

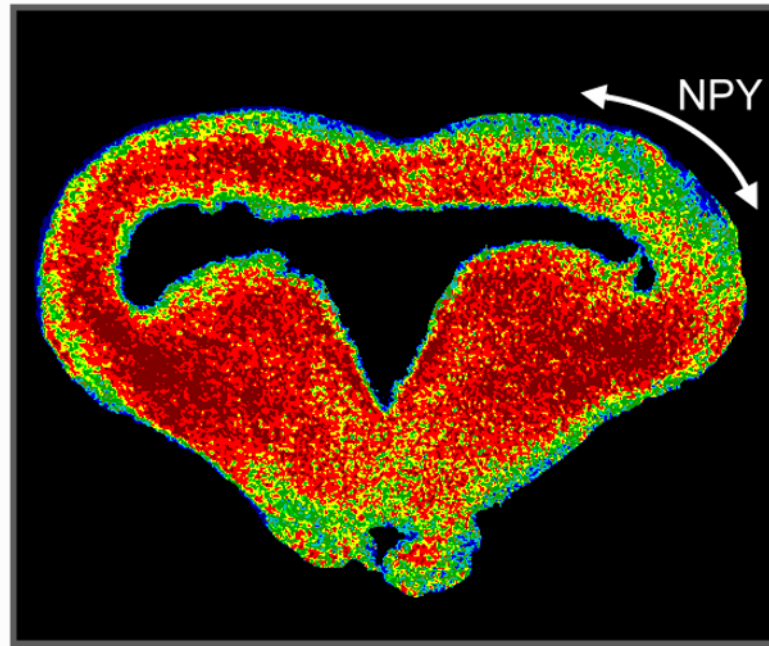


Abbildung 25: Querschnitt durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen und Beleuchtungswechsel visuell stimulierten Agakröte unter dem Einfluss von Apomorphin in einer Dosierung von 40 mg/kg KG und unilateral appliziertem NPY in einer Dosierung von  $10^{-4}$  mol/l.

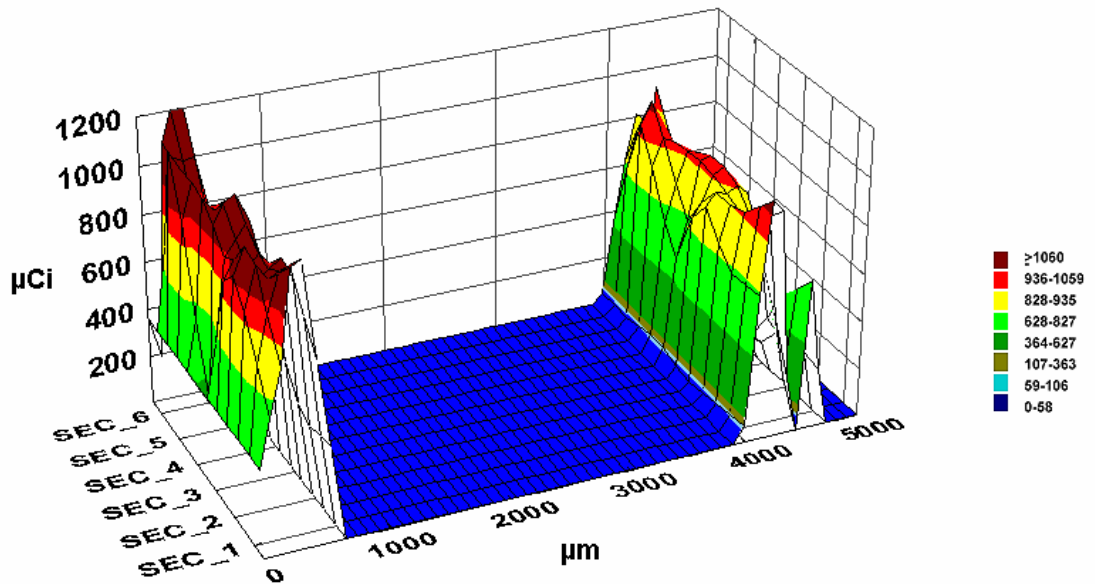


Abbildung 26: Histogramm des unter Abbildung 18 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*, nach systemischer Apomorphin Applikation und unilateraler NPY Applikation. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_1-6) durch beide tectalen Hälften.

Den operativ vorbereiteten Kröten der 4. Versuchstiergruppe wurde kurz nach der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion zunächst Apomorphin systemisch verabreicht in einer Dosierung von 40 mg/kg KG und anschließend wurde NPY, eingebettet im Gelkissen, in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l unilateral auf die tectale Oberfläche aufgetragen. Ein Nachweis für den erhöhten Glukosemetabolismus in den primären praetectalen und tectalen Projektionsfeldern retinaler Ganglienzellen konnte in Versuchen an *Bufo bufo* und *Bufo marinus* bereits erbracht werden (Glagow & Ewert 1996, 1997a/b, 1999). Eine deutliche Aktivierung der nur unter Apomorphinwirkung stehenden linken tectalen Hälfte ist in Abbildung 25 deutlich zu erkennen. Die rechte von Apomorphin und NPY beeinflusste tectale Hälfte zeigt im Verhältnis zur linken Seite eine deutlich verminderte  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme.

### 4.3 Quantitative Auswertungen

Zur quantitativen Auswertung der Glukosemetabolisierung im Tectum opticum von *Bombina orientalis* und *Bufo marinus* diente folgendes einheitliche Messverfahren: Es wurden bei allen Versuchstiergruppen tectale rechts-links Vergleiche erstellt. Dazu wurden die entsprechenden mesencephalen Querschnitte auf den Röntgenfilmen ausgewählt und die tectale [ $^{14}\text{C}$ ]-Konzentration (Schwärzung des Röntgenfilmes) wurde über jeweils zehn Messreihen ermittelt. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen (Layer 9) zum ventralen Tectum opticum (Layer 1) der jeweiligen Seite. Die gemessenen Grauwerte wurden alle ins Verhältnis gesetzt zu acht Standardstrahlern, woraus sich die Strahlungsintensitäten in den histologischen Gehirnschnitten ergaben. Der Wertebereich der Standardstrahler reichte von 0 bis  $\geq 1060$  [ $\mu\text{Ci}$ ], woraus sich nach Zuordnen der Grauwerte die entsprechende Aktivitätslage und somit der Grad des  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauchs in den Hirnregionen erkennen ließen. In den Grafiken sind farbig die gemittelten Strahlungsintensitäten der Einzeltiere und schwarz die sich daraus ergebende durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme aller Versuchstiere dargestellt.

### 4.3.1 Gruppe 1: *Bombina orientalis* unbehandelt

Es standen 12 Versuchstiere für die Auswertung der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Konzentrationen im Tectum opticum zur Verfügung. Pro Einzeltier wurden zehn Messreihen ermittelt, sowohl an der rechten als auch an der linken tectalen Hälfte, alle auf Höhe des ventrolateralen Tectum opticum (Schnappzone; sTO). Die ermittelte durchschnittliche Dicke des Tectum bei *Bombina orientalis* betrug  $500\mu\text{m}$ . Ein rechts-links Vergleich wurde angestrebt um festzustellen, ob unbehandelte Tiere auf beiden tectalen Hälften gleich verteilte Aktivitätsmuster zeigen; denn eine Gleichverteilung war die Grundvoraussetzung für den unilateralen Einsatz von NPY auf die tectale Oberfläche. Der Effekt von NPY konnte dann ins Verhältnis gesetzt werden zur unbeeinflussten tectalen Hälfte. Abbildung 27a zeigt sowohl die gemittelten Strahlungsintensitäten ( $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme) der Einzeltiere (Unke 1-12, farbige Kurvenverläufe) als auch die sich daraus ergebende durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme aller Versuchstiere (schwarzer Kurvenverlauf). In Abbildung 27a werden die Messwerte, ermittelt am linken Tectum opticum, verglichen mit Abbildung 27b, welche die Messwerte des rechten Tectum opticum grafisch darstellt. Abbildung 27c zeigt die Messwerte von beiden tectalen Hälften in einer Grafik zusammengefasst.

## 4 Ergebnisse

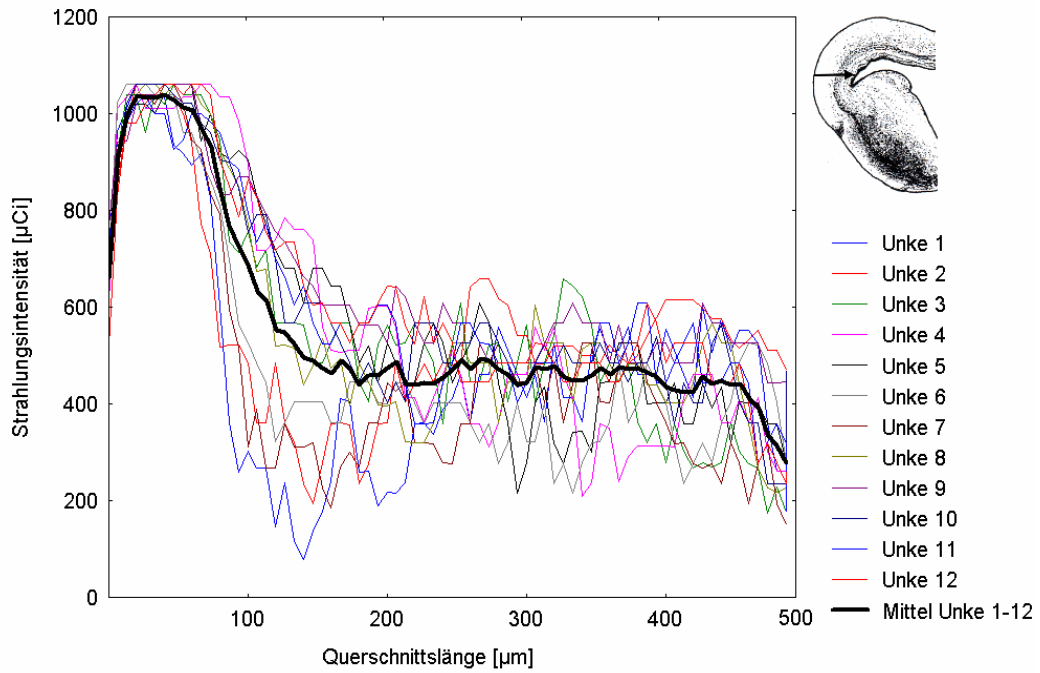


Abbildung 27a: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum. Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere ( $n = 12$ ) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel Unke1-12) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum.

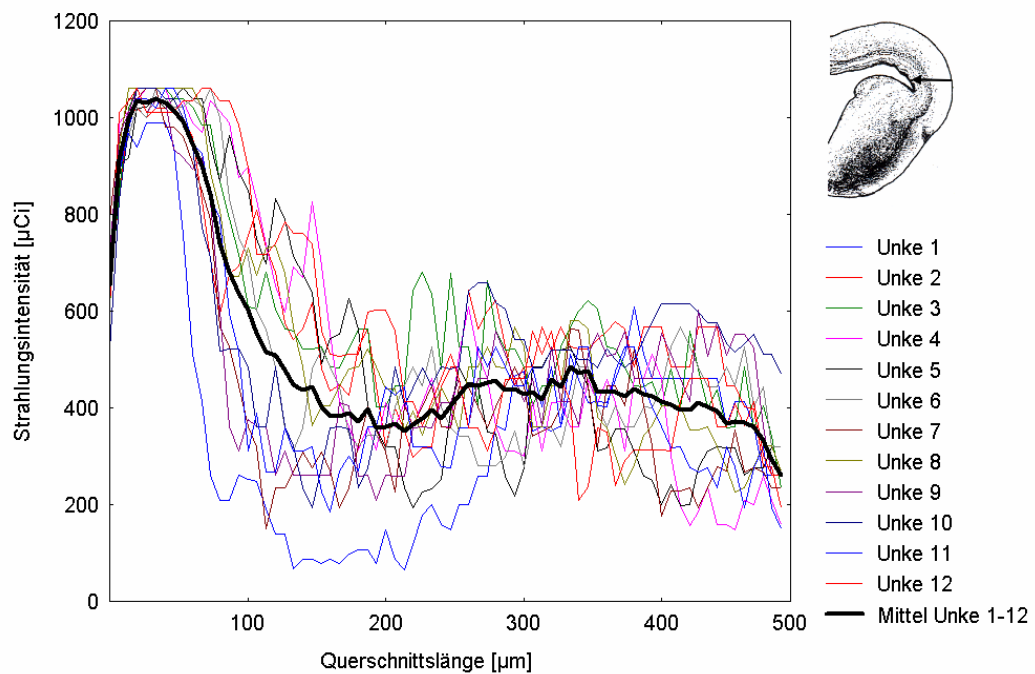


Abbildung 27b: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum ( $n = 12$ ). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 27a.

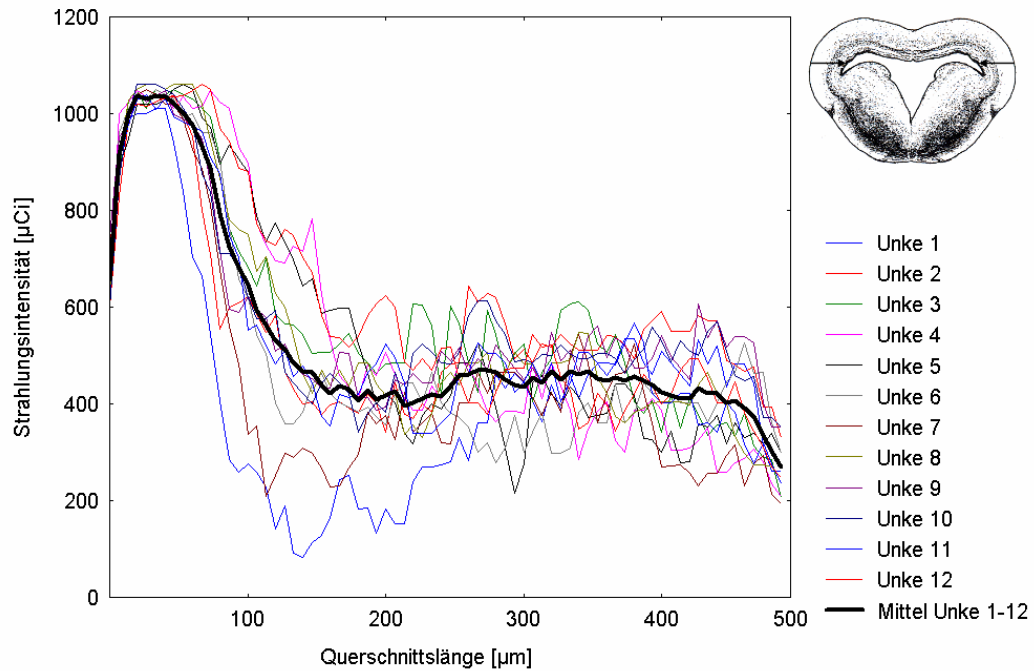


Abbildung 27c: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken und rechten Tectum opticum (n = 12). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 27a.

Abbildung 27a und 27b zeigen tendenziell ähnliche gemittelte Kurvenverläufe, was auch Bestätigung findet in 27c, so dass man von einer gleichen Aktivitätslage beider Tectumhälften ausgehen kann. Die Messkurven zeigen erhöhte Strahlungsintensitäten in einem Tectumbereich von ca. 30-90µm, bezogen auf die Gesamtdicke des Tectum opticum von durchschnittlich 500µm. Histologisch entspricht dieser Bereich den oberen Schichten von Layer 9 des Tectum opticum. Bezogen auf die ermittelten Messdaten an 12 unbehandelten Versuchstieren folgen die entsprechenden statistischen Auswertungen für Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler.



## 4 Ergebnisse

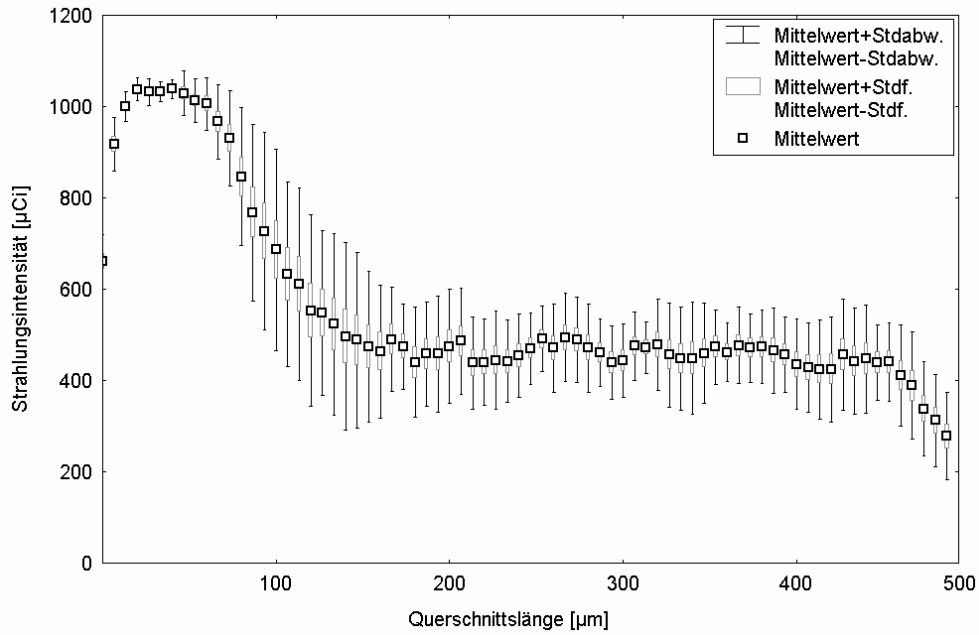


Abbildung 28a: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 12$ ). Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum.

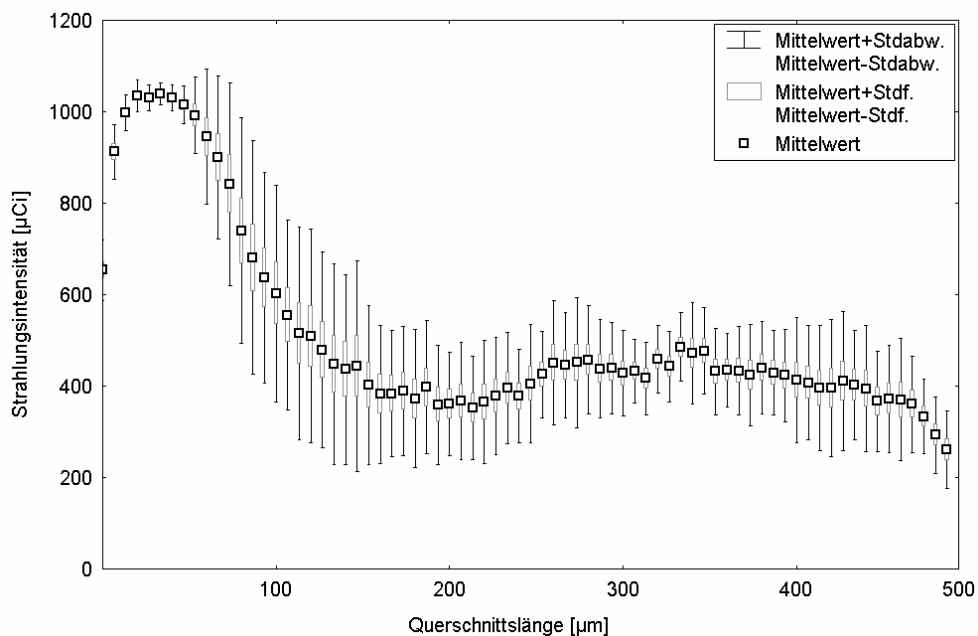


Abbildung 28b: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 12$ ). Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum.

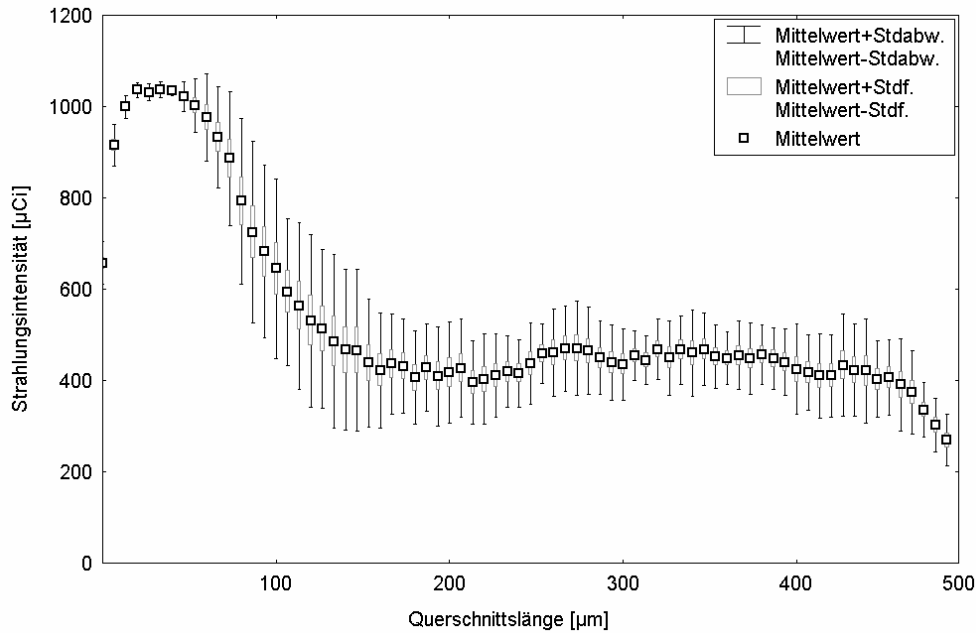


Abbildung 28c: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 12). Quelle der Messdaten sind beide tectalen Hälften.

Zur statistischen Prüfung der Ergebnisse diente der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney. Verglichen wurden alle gemittelten Werte linker Tectumhälften mit den gemittelten Werten rechter Tectumhälften (n = 12) zur Prüfung einer Gleichverteilung. Der daraus berechnete U-Wert lag über dem kritischen Tabellenwert und somit wurde die Nullhypothese beibehalten; d.h. eine Gleichverteilung konnte bestätigt werden.

### 4.3.2 Gruppe 2: *Bombina orientalis* - Tectale $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme unter dem Einfluss von NPY

Mit dem Nachweis ähnlich verteilter  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahmen in beiden tectalen Hälften von *Bombina orientalis*, war die Grundvoraussetzung dafür geschaffen, innerhalb eines Versuchstieres den Effekt von NPY nach unilateraler tectaler Applikation zu beurteilen und dabei gleichzeitig die andere unbehandelte tectale Hälfte im Vergleich prüfen zu können. NPY wurde zur Prüfung seiner Wirkung unilateral auf die tectale Oberfläche in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l aufgetragen, bevor 5 min später die  $^{14}\text{C}$ -

2DG-Injektion erfolgte, mit der anschließenden visuellen Stimulation unter den definierten Versuchsbedingungen. Die grafische Auswertung beider tectalen Hälften ergab deutlich voneinander abweichende Kurvenverläufe, nachfolgend in den Abbildungen 29a und 29b dargestellt. Es standen fünf Versuchstiere zur Erstellung der Messdaten zur Verfügung.

Um den durch NPY hervorgerufenen Effekt schneller erfassen zu können, zeigt Abbildung 29c die Mittelwert-Kurven aus Abbildung 29a und 29b (hier farbig dargestellt). In den oberen tectalen Schichten der mit NPY behandelten linken tectalen Hälfte sind besonders in Layer 9 eindeutig geringere Strahlungsintensitäten zu messen von maximal 600  $\mu\text{Ci}$ , während die unbehandelte tectale Hälfte in Layer 9 den maximalen Strahlungsintensitätswert von  $\geq 1060$  [ $\mu\text{Ci}$ ] erreicht. Bezogen auf die ermittelten Messdaten an fünf Versuchstieren, unilateral mit NPY behandelt, folgen die entsprechenden statistischen Grafiken für Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler in Abbildung 30a und 30b.

## 4 Ergebnisse

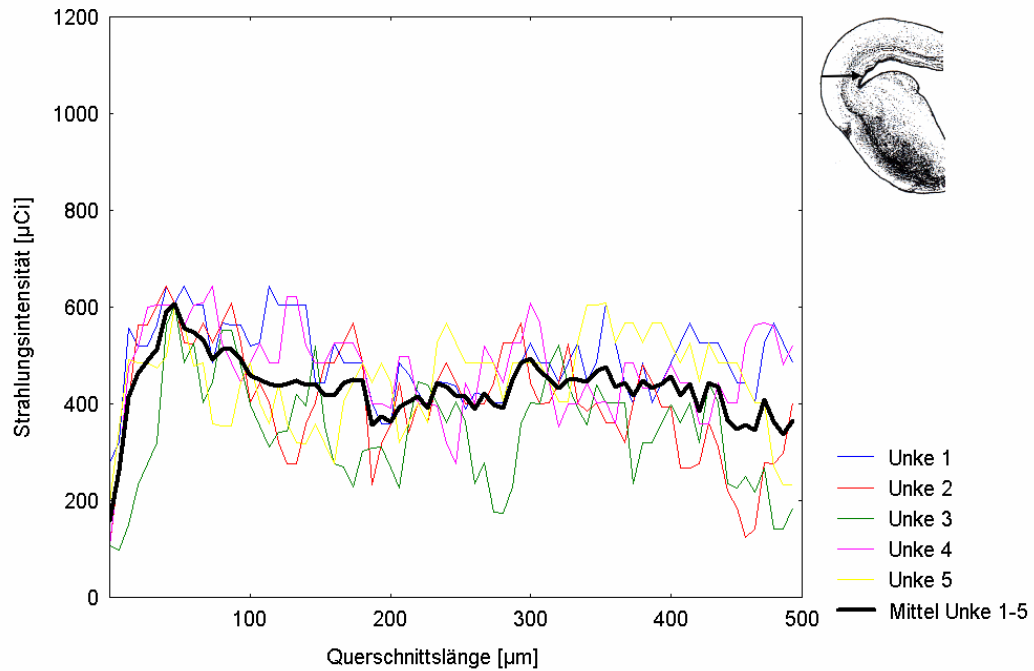


Abbildung 29a: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die tectale Oberfläche. Der durchschnittliche <sup>14</sup>C-2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel<sub>Unke1-5</sub>) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum.

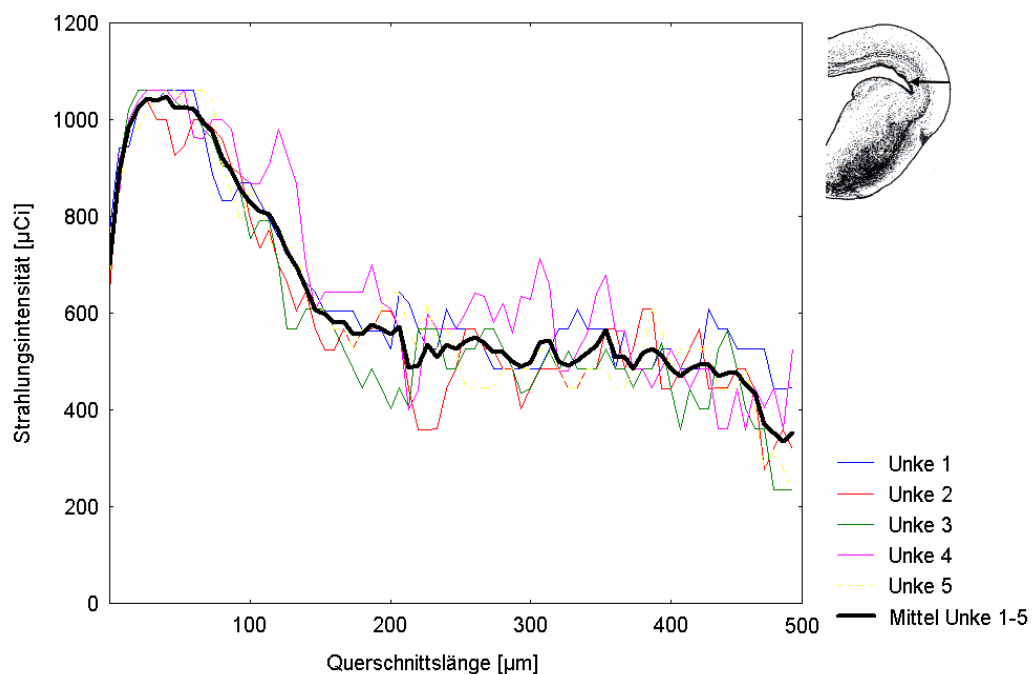


Abbildung 29b: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die linke tectale Oberfläche. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 29a.

## 4 Ergebnisse

---

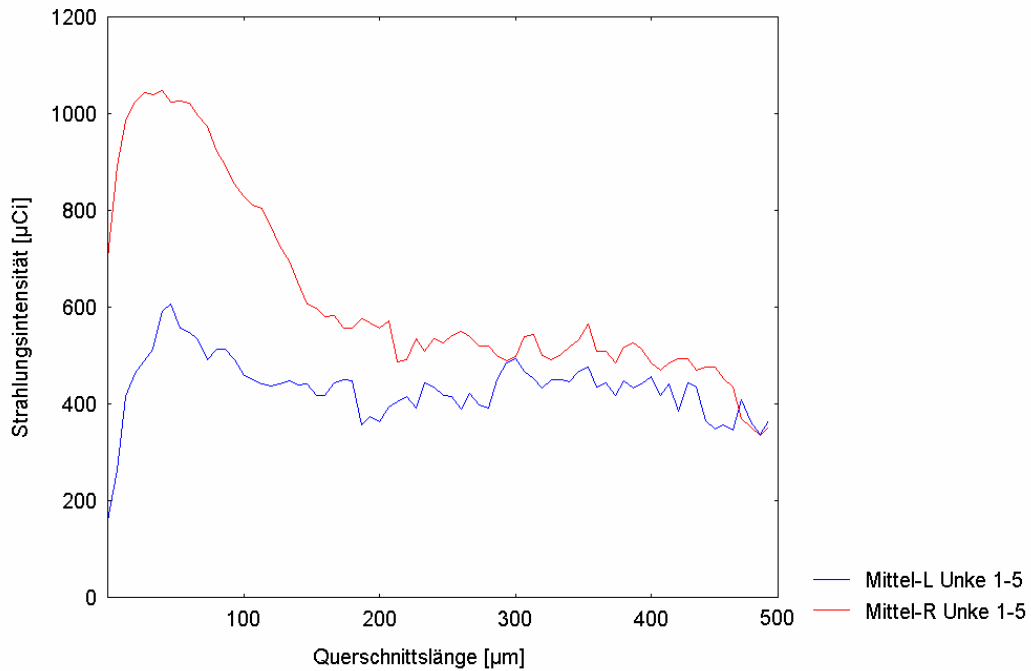


Abbildung 29c: Vergleich der Mittelwerte ( $\text{Mittel}_{\text{Unke}1-5}$ ) aus Abb. 29a und 29b. Die durchschnittlichen Strahlungsintensitäten vom linken Tectum opticum nach Applikation von NPY (blauer Kurvenverlauf) liegen deutlich unter denen des rechten unbehandelten Tectum opticum (roter Kurvenverlauf).

Der zur Prüfung der Ergebnisse herangezogene U-Test ergab beim statistischen Vergleich der gemittelten Werte  $n = 5$  für die Prüfgröße U einen niedrigeren Wert als der kritische Tabellenwert, die Nullhypothese wird auf dem 1% Niveau abgelehnt, d.h. die Alternativhypothese wird akzeptiert mit einer Signifikanz von  $p < 0,01$ .

## 4 Ergebnisse

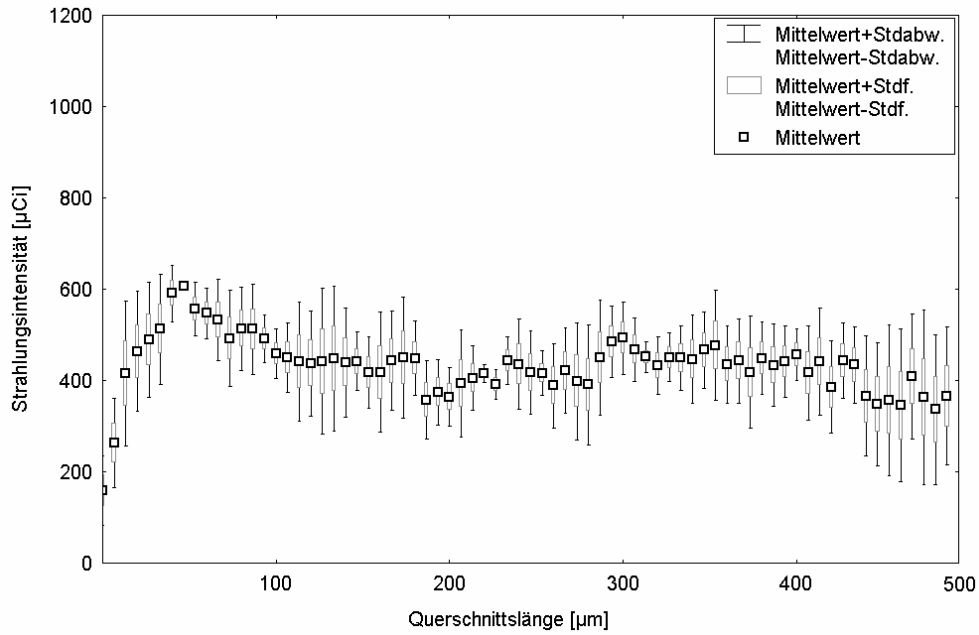


Abbildung 30a: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum.

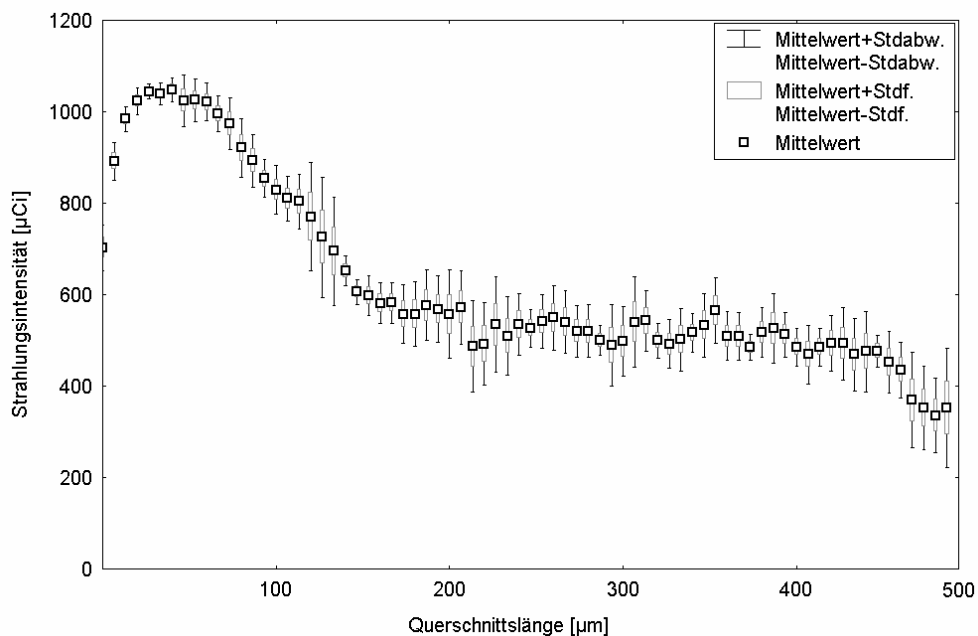


Abbildung 30b: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum.

### 4.3.3 Gruppe 3: *Bombina orientalis* - Tectale $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme unter dem Einfluss von APO

Zur Untersuchung dopaminerger Einflüsse auf die retino-tectale Informationsverarbeitung wurde der Dopamin D2/D1 Rezeptor-Agonist Apomorphin systemisch verabreicht in einer Dosierung von 50 mg/kg KG. Kurz vor Gabe der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion wurde Apomorphin systemisch verabreicht, danach erfolgte die visuelle Stimulation unter den definierten Versuchsbedingungen. Ausgewertet wurden die Röntgenbilder von fünf Versuchstieren. Der dopaminerge Einfluss spiegelt sich in Abbildung 31a, 31b und 31c wieder. Auffällig sind die erhöhten Strahlungsintensitäten, die in allen tectalen Schichten gemessen werden konnten. Maximalwerte wurden nicht nur im Bereich von Layer 9 gemessen, sondern auch in Layer 8. Aber auch mediales und ventrales Tectum opticum zeigen erhöhte Strahlungsintensitäten. Die neuronalen Aktivitäten im Tectum opticum haben sich um ca. 40% unter dem Einfluss von Apomorphin verstärkt im Vergleich zu APO-unbehandelten Tieren. Abbildung 32 verdeutlicht den Effekt von APO im Vergleich zu unbehandelten Tieren. Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte aus den Abbildungen 27c ( $\text{Mittel}_{\text{Unke1-12}}$ ) und 31c ( $\text{Mittel}_{\text{Unke1-5}}$ ).

Bezogen auf die ermittelten Messdaten an fünf Versuchstieren, systemisch mit APO behandelt, folgen die entsprechenden statistischen Grafiken für Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler in Abbildung 33a, 33b und 33c.

## 4 Ergebnisse

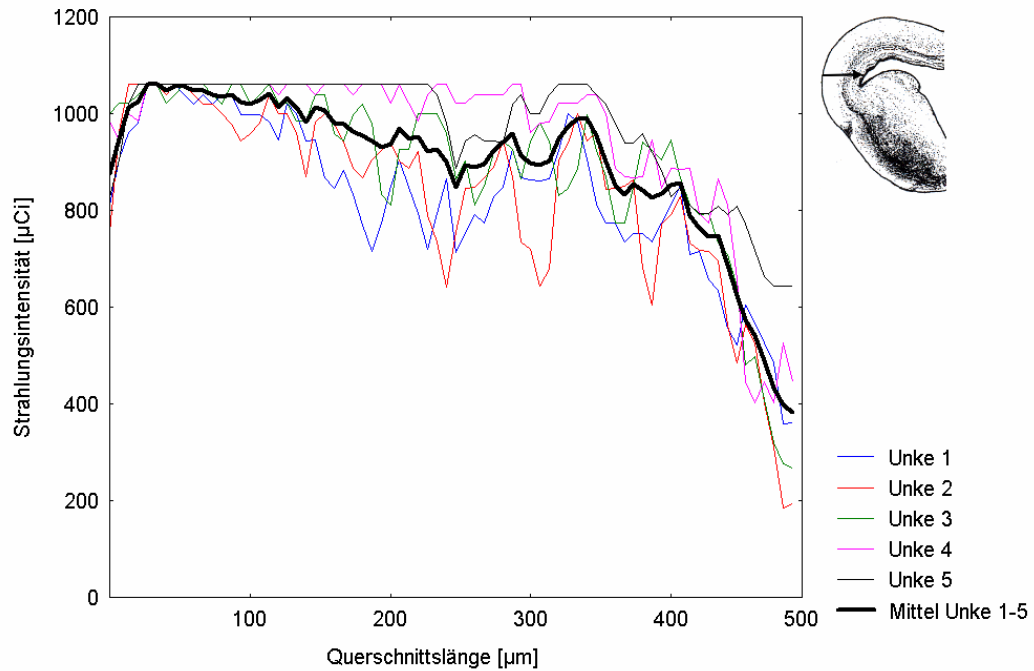


Abbildung 31a: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach systemischer Applikation von APO (50 mg/kg KG). Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere ( $n = 5$ ) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel<sub>Unke1-5</sub>) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum.

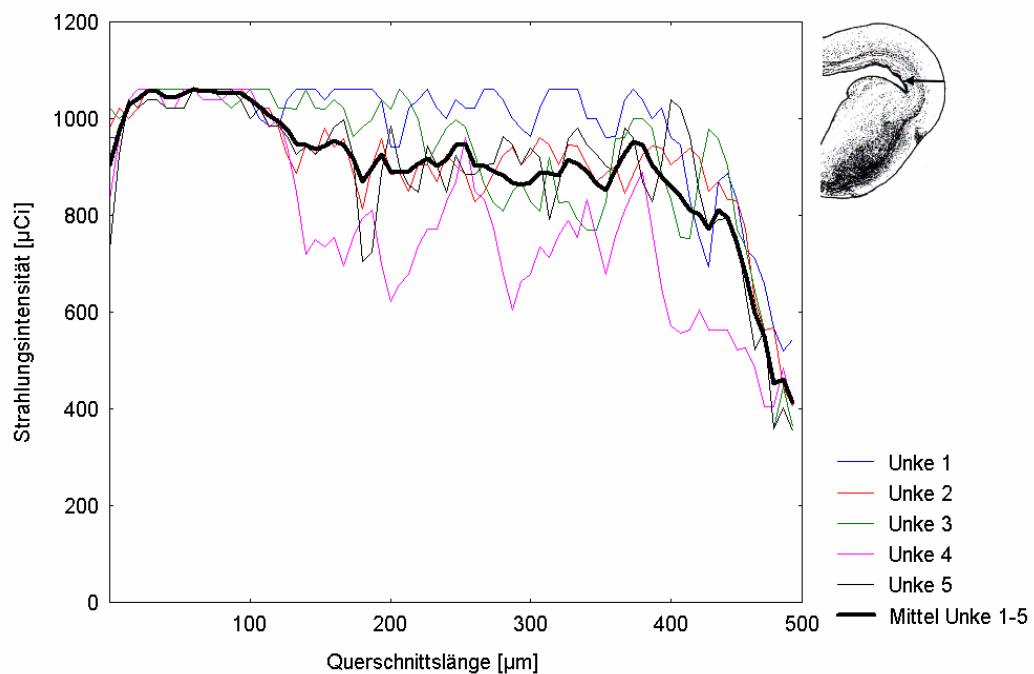


Abbildung 31b: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach systemischer Applikation von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 31a.



## 4 Ergebnisse

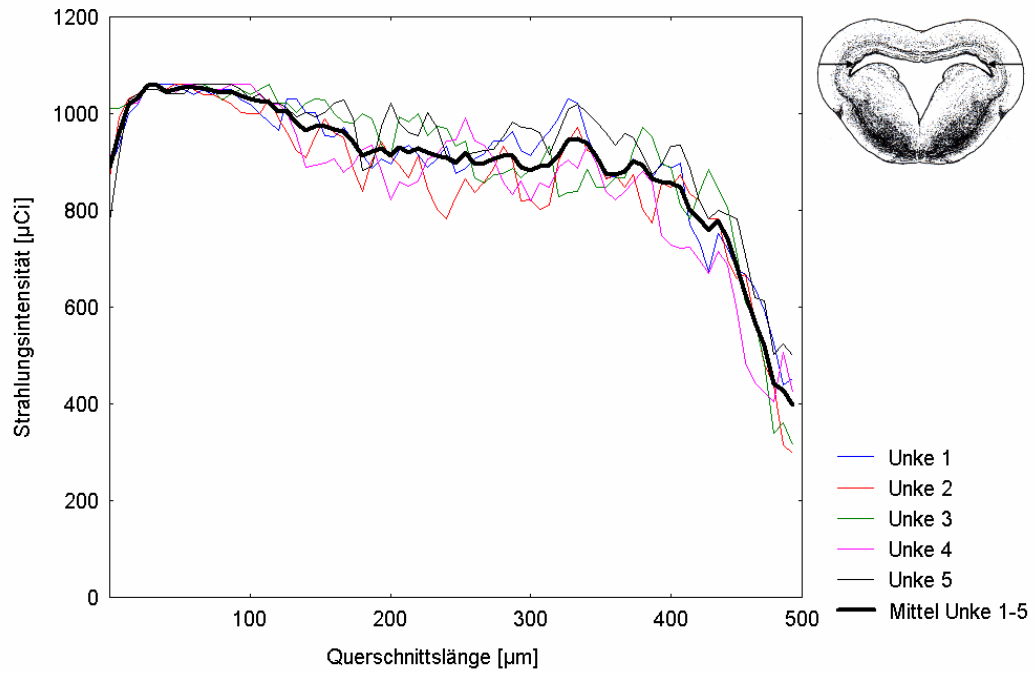


Abbildung 31c: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken und rechten Tectum opticum nach systemischer Applikation von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 31a.

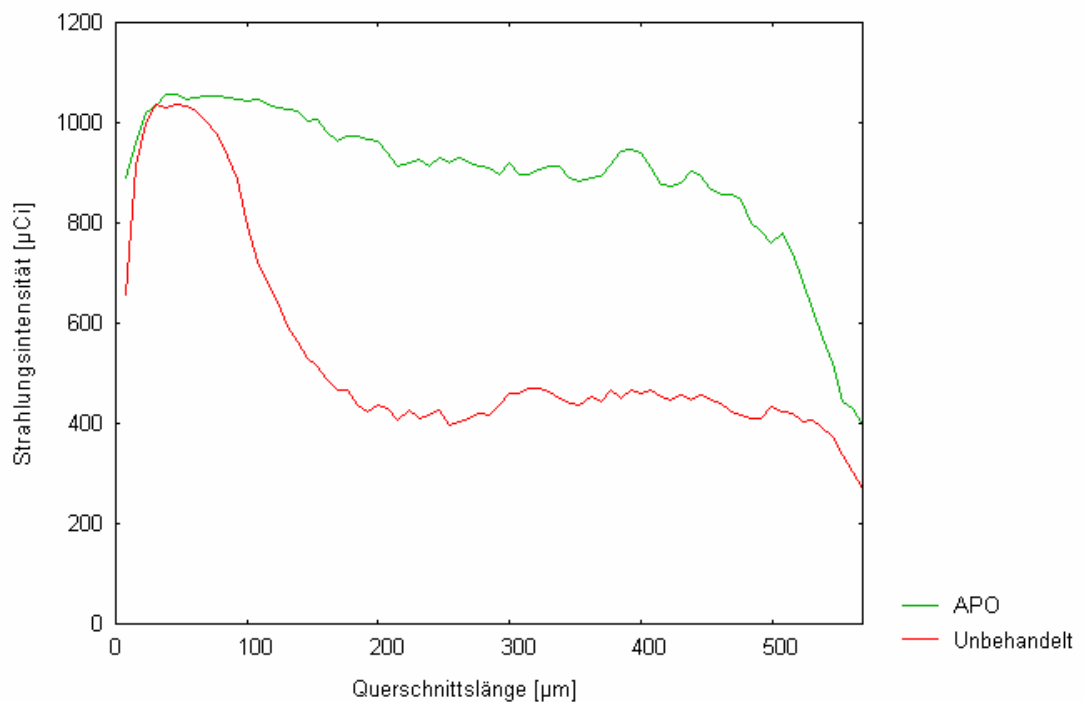


Abbildung 32: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Mittelwerte beider tectalen Hälften von unbehandelten *Bombina orientalis* (n = 12; roter Kurvenverlauf) und mit APO behandelten *Bombina orientalis* (n = 5; grüner Kurvenverlauf).

## 4 Ergebnisse

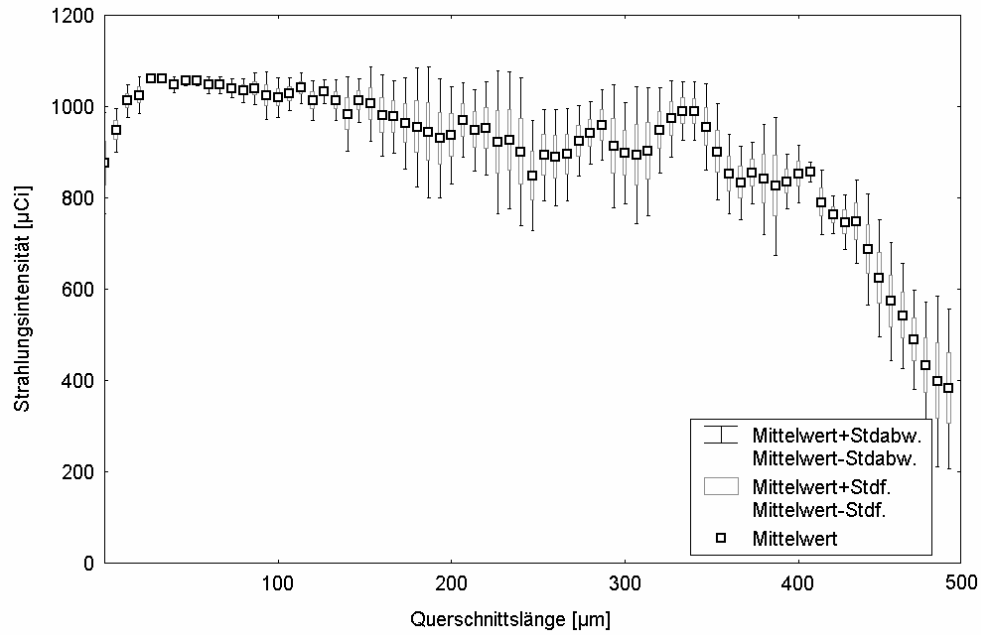


Abbildung 33a: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach systemischer Applikation von APO. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum.

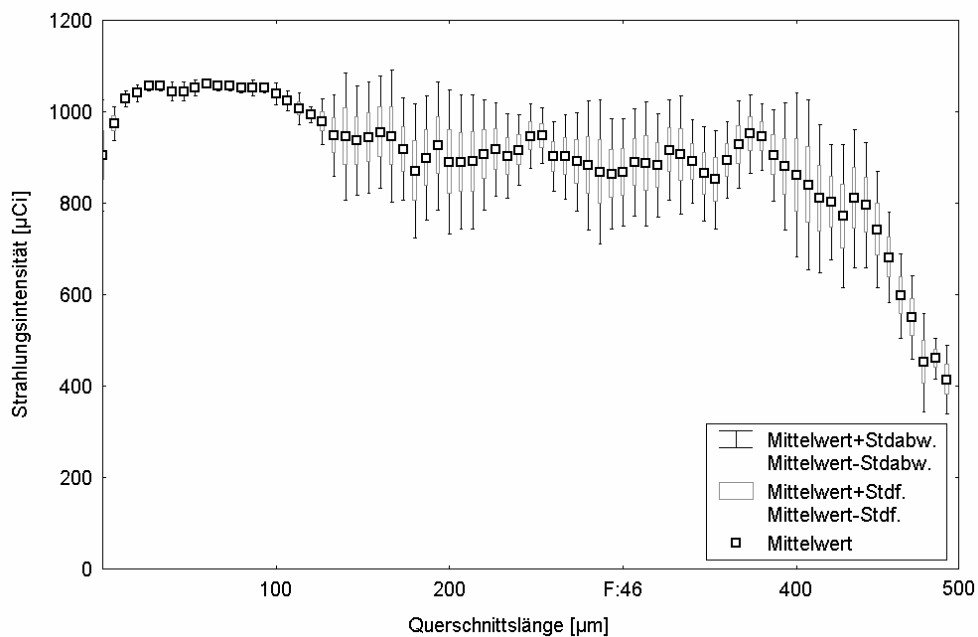


Abbildung 33b: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach systemischer Applikation von APO. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum.

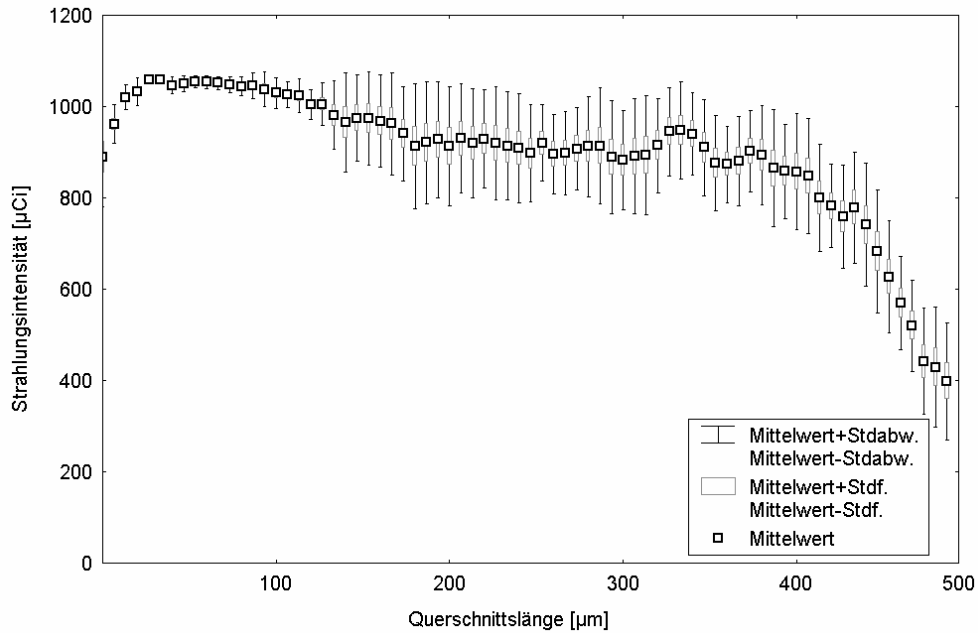


Abbildung 33c: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach systemischer Applikation von APO. Quelle der Messdaten sind beide tectalen Hälften.

Der zur Prüfung der Ergebnisse herangezogene U-Test ergab beim statistischen Vergleich der gemittelten Werte (n = 5) für die Prüfgröße U einen größeren Wert als der kritische Tabellenwert und somit wurde die Nullhypothese beibehalten.

### 4.3.4 Gruppe 4: *Bombina orientalis* - Tectale $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme unter dem Einfluss von APO und NPY

Zur Klärung der Frage, ob NPY den unter APO stark erhöhten retino-tectalen Metabolismus beeinflussen kann, wurden fünf weitere Versuchstiere eingesetzt. Fünf Minuten vor systemischer Apomorphingabe und folgender  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion wurde NPY unilateral auf die tectale Oberfläche aufgebracht, und es konnte dann die visuelle Stimulation unter den gegebenen Versuchsbedingungen folgen. Der Effekt von NPY unter dem gleichzeitigen Einfluss von APO stellt sich quantitativ in einer Grafik wie folgt dar:

## 4 Ergebnisse

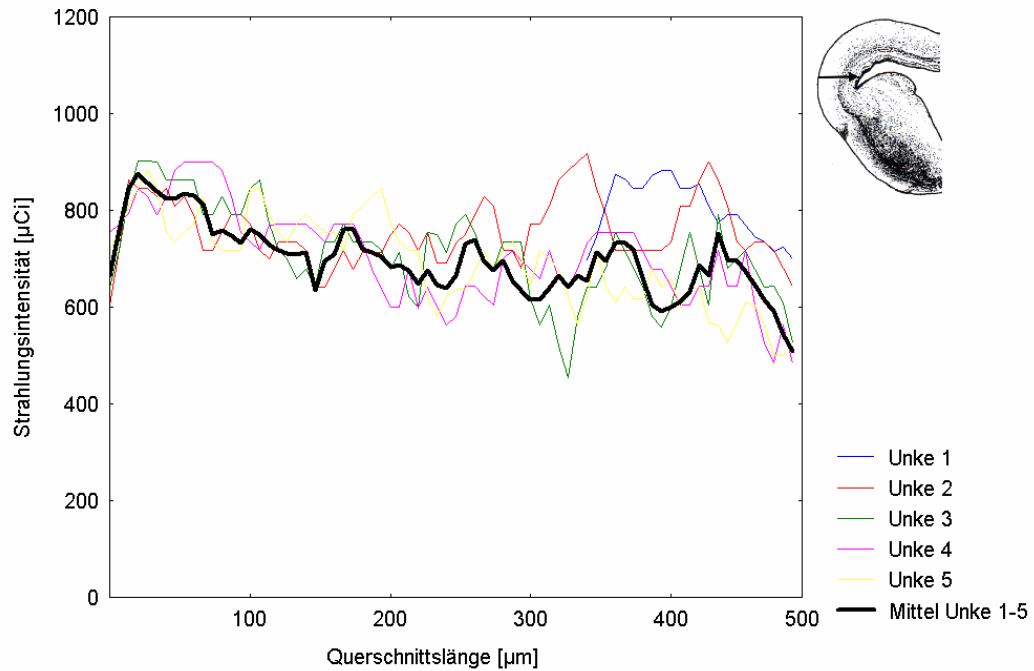


Abbildung 34a: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die linke tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Der durchschnittliche <sup>14</sup>C-2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel Unke1-5) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum.

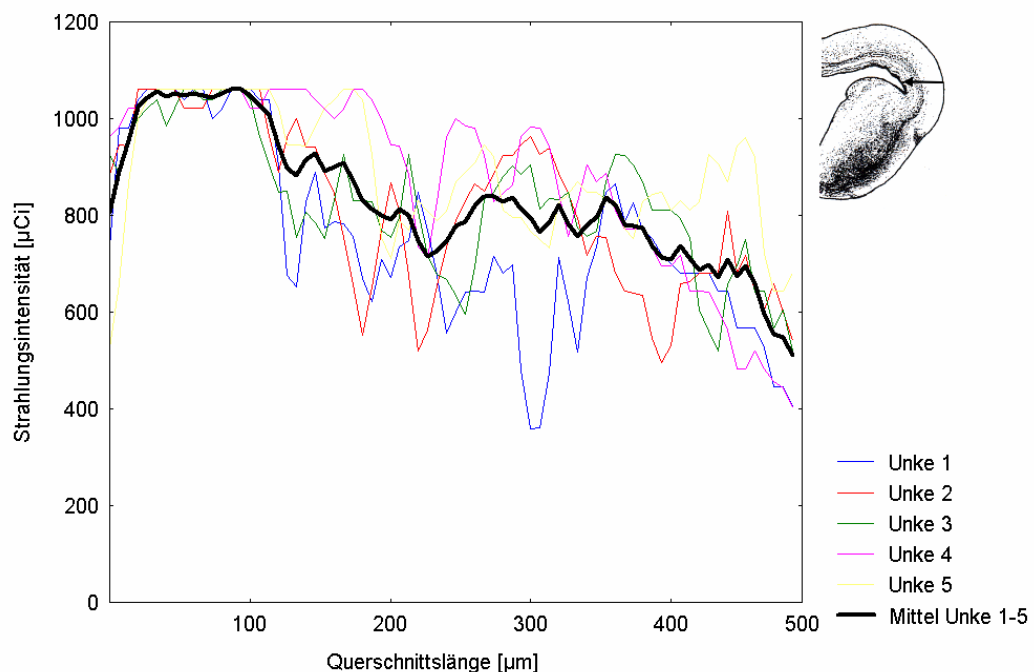


Abbildung 34b: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die linke tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 34a.

## 4 Ergebnisse

---

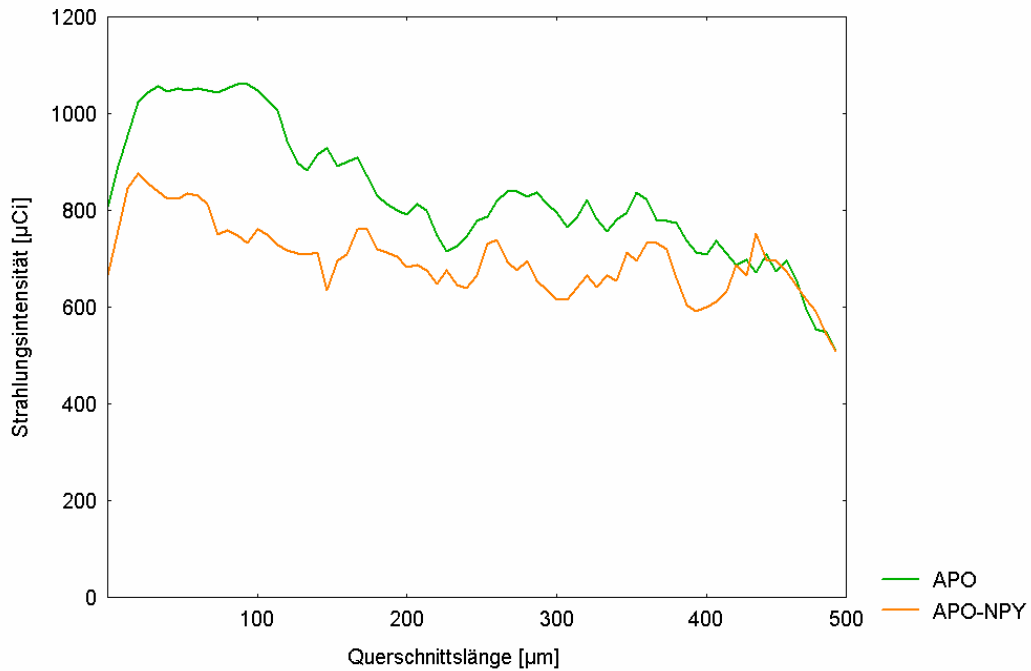


Abbildung 34c: Vergleich der Mittelwerte aus Abb. 34a und 34b, die durchschnittlichen Strahlungsintensitäten vom linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY und systemischer Gabe von APO (oranger Kurvenverlauf) liegen deutlich unter denen des rechten nur unter dem Einfluss von APO stehenden Tectum opticum (grüner Kurvenverlauf).

Die durch Apomorphin erhöhten retino-tectalen Aktivitäten können unter dem Einfluss von NPY deutlich abgeschwächt werden, was die starke Wirkung von NPY quantitativ belegt. Bezogen auf die ermittelten Messdaten ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche und systemischer APO Gabe, folgen die entsprechenden statistischen Grafiken für Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler in Abbildung 35a und 35b.

## 4 Ergebnisse

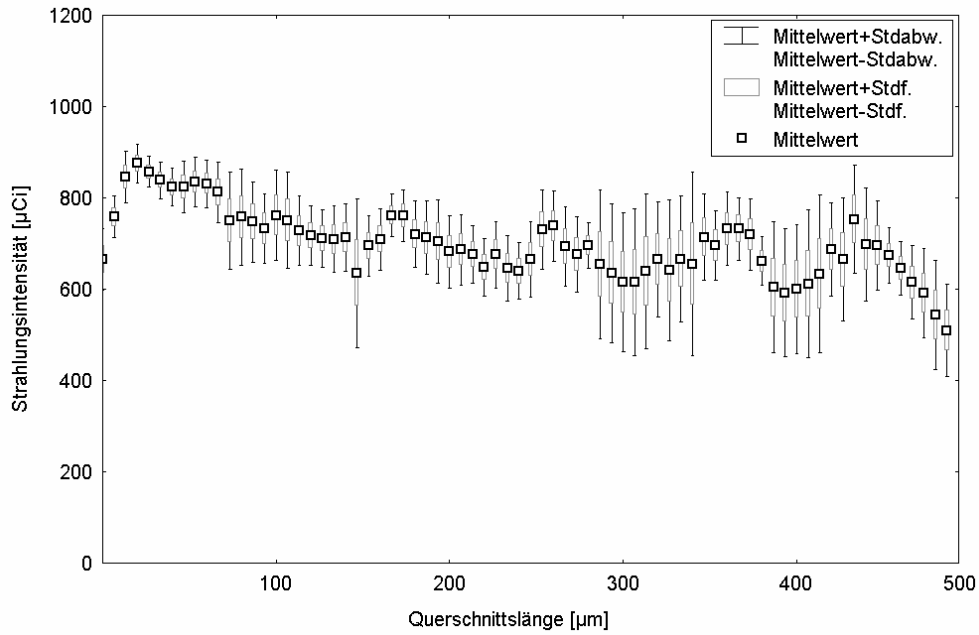


Abbildung 35a: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche und systemischer APO Gabe. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum.

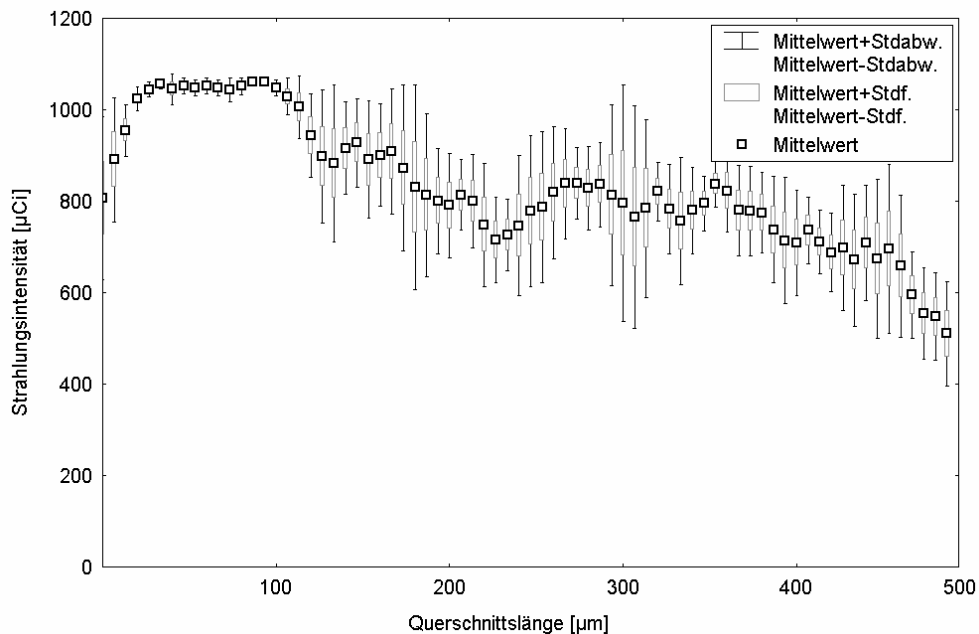


Abbildung 35b: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche und systemischer APO Gabe. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum.

Der zur Prüfung der Ergebnisse herangezogene U-Test ergab beim statistischen Vergleich der gemittelten Werte ( $n = 5$ ) für die Prüfgröße  $U$  einen niedrigeren Wert als der kritische Tabellenwert, die Nullhypothese wird auf dem 1% Niveau abgelehnt, d.h. die Alternativhypothese wird mit einer Signifikanz von  $p < 0,01$  akzeptiert.

### 4.4 Autoradiographie Kontrollversuchstiere *Bufo marinus*

Bei den Kontrollversuchen wurde auf die Versuchsgruppen 1 und 3 zur Untersuchung unbehandelter und durch Apomorphin beeinflusster Kröten verzichtet, da bereits  $^{14}\text{C}$ -2DG-Studien zu dieser Thematik vorliegen (z.B. Glasgow & Ewert 1999a/b), so dass insgesamt zwei Versuchstiergruppen mit jeweils fünf Tieren ausgewertet wurden. Entsprechend der Einteilung von *Bombina orientalis* wurde die Eingruppierung von *Bufo marinus* in Versuchstiergruppe 2 und 4 vorgenommen.

#### 4.4.1 Gruppe 2: *Bufo marinus*- Tectale $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme unter dem Einfluss von NPY

An den Versuchstieren der Gruppe 2 sollte der Effekt von NPY nach unilateraler tectaler Applikation beurteilt werden. NPY wurde in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l aufgetragen, bevor 5 min später die  $^{14}\text{C}$ -2DG-Injektion erfolgte, mit der anschließenden visuellen Stimulation unter den beschriebenen Versuchsbedingungen. Zur wirksamen visuellen Stimulation diente hauptsächlich ein Beleuchtungswechsel. Die quantitative grafische Auswertung beider tectalen Hälften ergab auch bei *Bufo marinus* erkennbar voneinander abweichende Kurvenverläufe, nachfolgend in Abbildung 36a und 36b dargestellt.

## 4 Ergebnisse

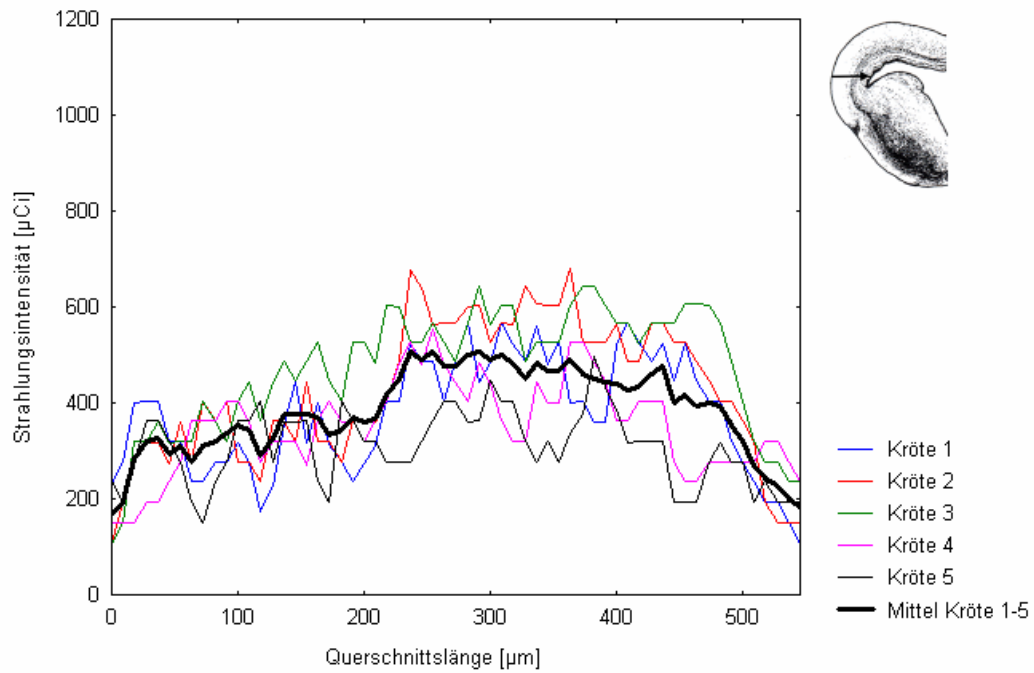


Abbildung 36a: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum, nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die linke tectale Oberfläche. Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere ( $n = 5$ ) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel<sub>Kröte1-5</sub>) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum.

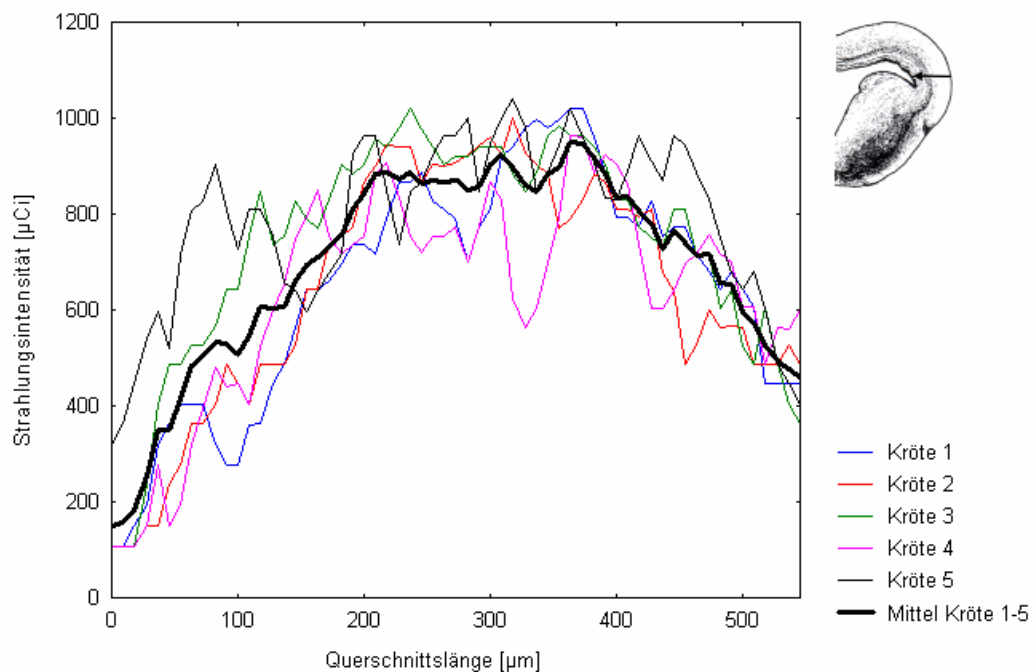


Abbildung 36b: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum, nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die linke tectale Oberfläche. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 36a.



Beim Betrachten der von NPY unbeeinflussten tectalen Hälfte (Abb. 36a) fällt auf, dass *Bufo marinus* eine anders verteilte Staffelung der Strahlungsintensitäten über dem Tectum-Querschnitt aufweist als *Bombina orientalis*. Während bei *Bombina orientalis* das dorsale Tectum opticum mit Layer 9 seine höchsten [<sup>14</sup>C]-Konzentrationen aufweist, finden sich bei *Bufo marinus* ausgeprägtere [<sup>14</sup>C]-Akkumulationen in den tieferen zentralen tectalen Schichten im Übergangsbereich von dorsalem zu medialem Tectum opticum. In den superfiziellen Schichten des dorsalen Tectum opticum sind nur geringe <sup>14</sup>C-2DG-Aufnahmen messbar.

Bezogen auf die ermittelten Messdaten an fünf Versuchstieren, unilateral mit NPY behandelt (Abb.36b), folgen die entsprechenden statistischen Grafiken für Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler in Abbildung 37a und 37b.

Der zur Prüfung der Ergebnisse herangezogene U-Test ergab beim statistischen Vergleich der gemittelten Werte von n = 5 Versuchstieren für die Prüfgröße U einen niedrigeren Wert als der kritische Tabellenwert, die Nullhypothese wird auf dem 1% Niveau abgelehnt, d.h. die Alternativhypothese wird mit einer Signifikanz von  $p < 0,01$  akzeptiert.

## 4 Ergebnisse

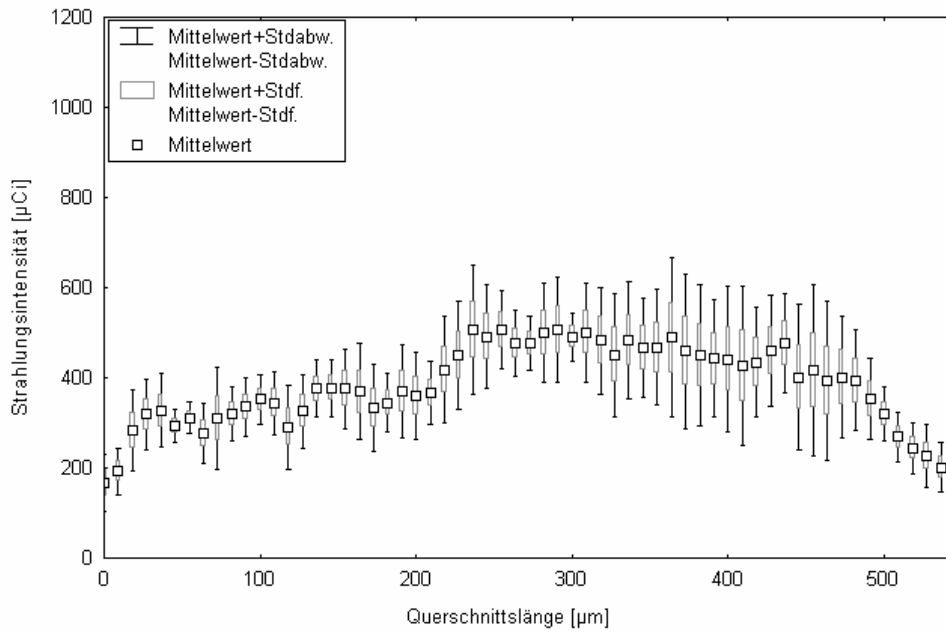


Abbildung 37a: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum.

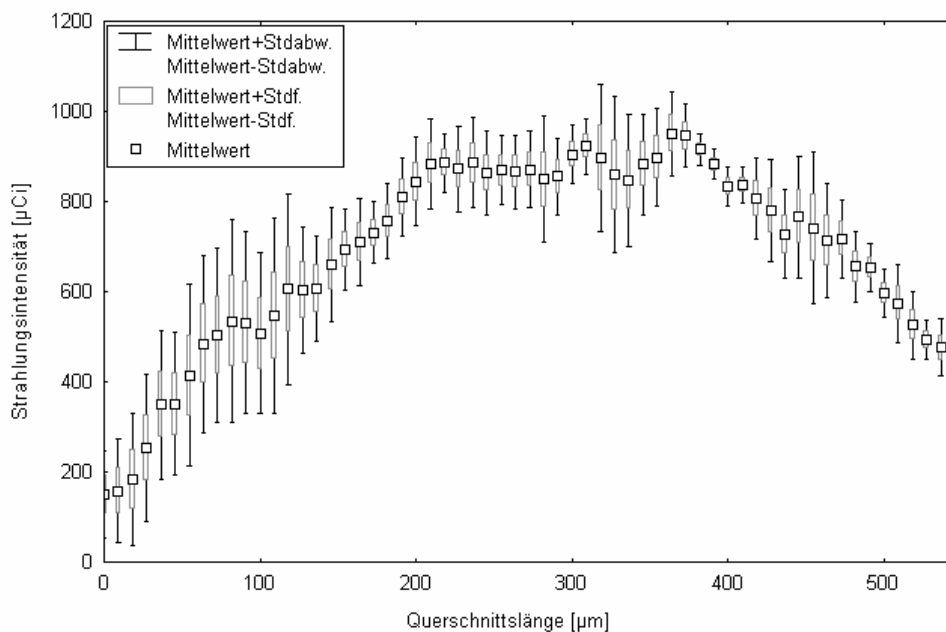


Abbildung 37b: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das rechte unbehandelte Tectum opticum.

### 4.4.2 Gruppe 4: *Bufo marinus*- Tectale <sup>14</sup>C-2DG-Aufnahme unter dem Einfluss von APO und NPY

Auch an *Bufo marinus* (Gruppe 4) sollte geprüft werden, inwiefern NPY eine unter APO erhöhte zerebrale Aktivität beeinflussen kann. Fünf Minuten vor systemischer Apomorphingabe und nachfolgender <sup>14</sup>C-2DG-Injektion wurde NPY unilateral auf die tectale Oberfläche aufgebracht, und es konnte dann die visuelle Stimulation unter den gegebenen Versuchsbedingungen folgen. Der quantitative Effekt von NPY unter dem gleichzeitigen Einfluss von APO wird grafisch in Abbildung 38a gezeigt.

Bezogen auf die ermittelten Messdaten an fünf Versuchstieren, unilateral mit NPY und systemische mit Apomorphin behandelt, folgen die entsprechenden statistischen Grafiken für Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler in Abbildung 39a und 39b.

Der zur Prüfung der Ergebnisse herangezogene U-Test ergab beim statistischen Vergleich der gemittelten Werte von  $n = 5$  Versuchstieren für die Prüfgröße  $U$  einen niedrigeren Wert als der kritische Tabellenwert, die Nullhypothese wird auf dem 1% Niveau abgelehnt, d.h. die Alternativhypothese wird akzeptiert mit einer Signifikanz von  $p < 0,01$ .

## 4 Ergebnisse

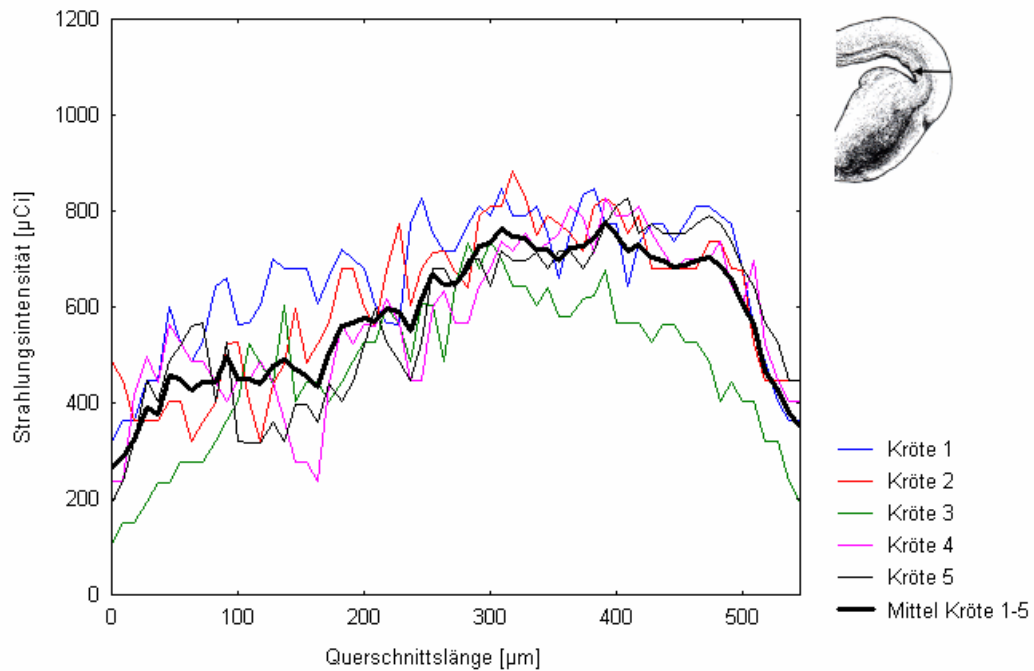


Abbildung 38a: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die rechte tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere ( $n = 5$ ) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert ( $\text{Mittel}_{\text{Kröte1-5}}$ ) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum.

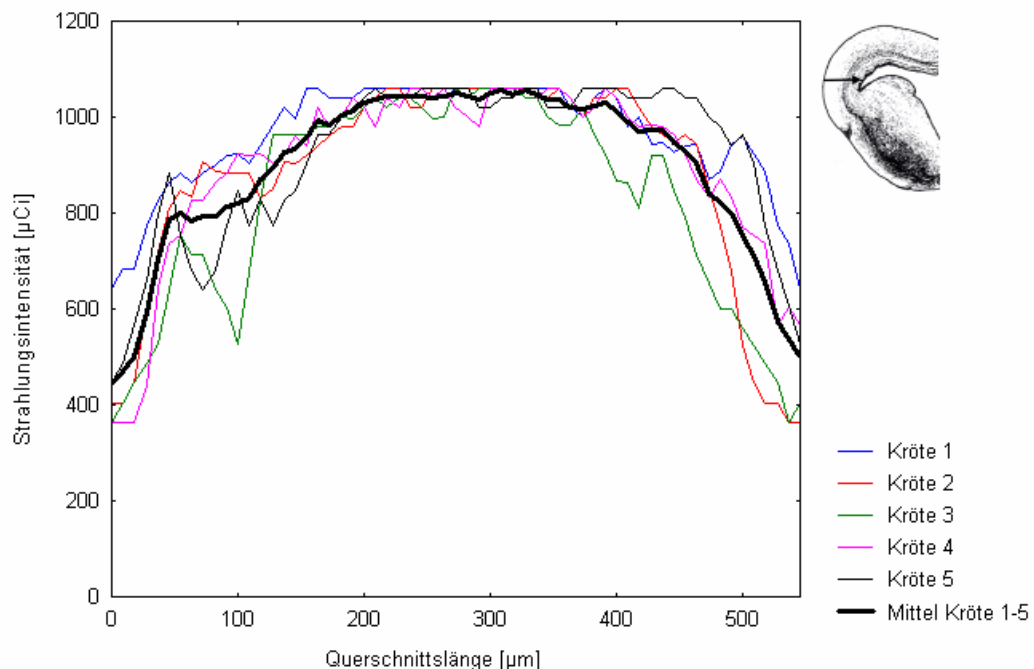


Abbildung 38b: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die rechte tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 38a.

## 4 Ergebnisse

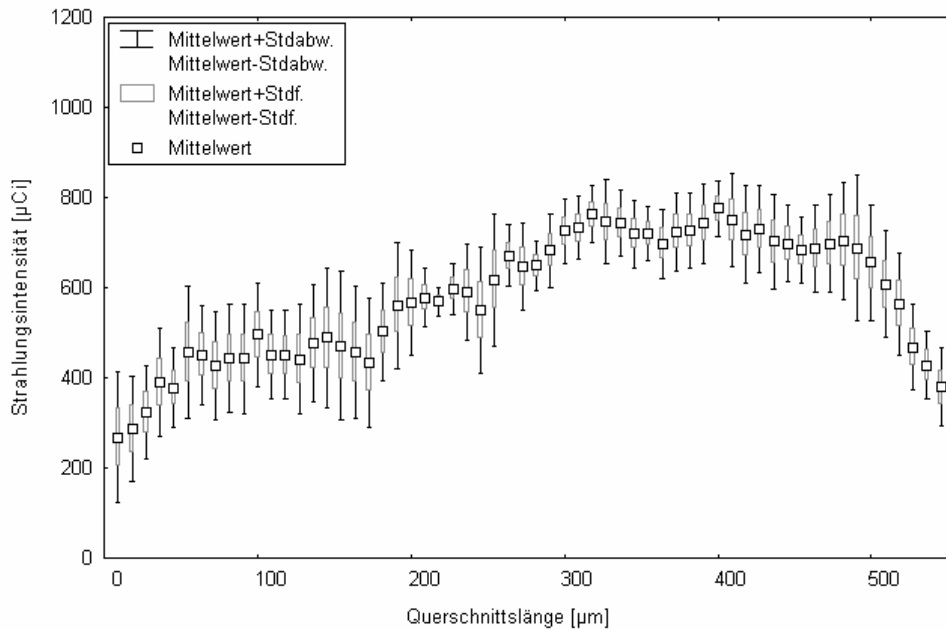


Abbildung 39a: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach systemischer APO-Gabe und nach unilateraler Applikation von NPY auf die rechte tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum.

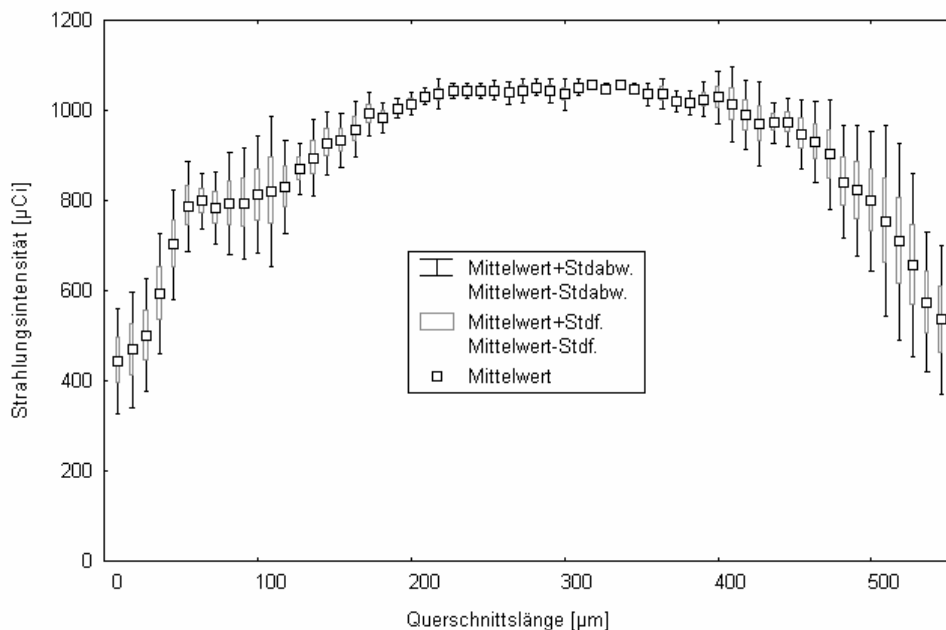


Abbildung 39b: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 5$ ) nach systemischer APO-Gabe und unilateraler Applikation von NPY auf die rechte tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das linke unbehandelte Tectum opticum.

## 4 Ergebnisse

---

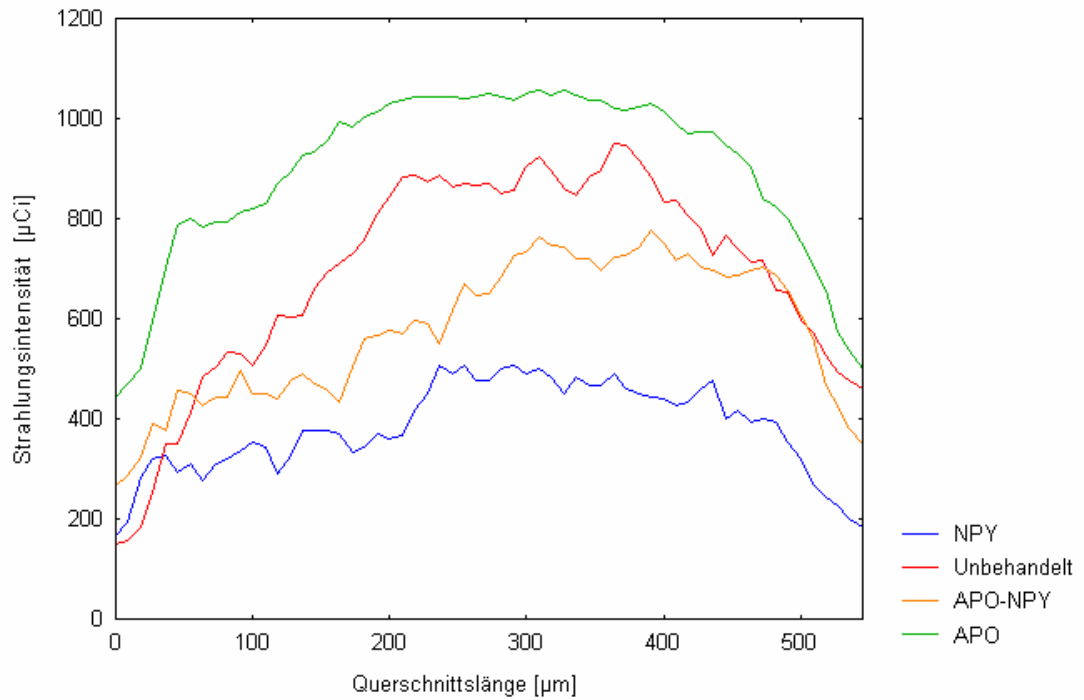


Abbildung 40: Verglichen werden die Mittelwerte der Versuchsgruppen 2 und 4. Blau: Gruppe 2 (*Bufo marinus*) nach unilateraler NPY-Applikation; Rot: Gruppe 2 (*Bufo marinus*) unbehandelte tectale Hälfte; Orange: Gruppe 4 (*Bufo marinus*) nach systemischer APO-Gabe und unilateraler NPY-Applikation; Grün: Gruppe 4 (*Bufo marinus*) nach systemischer APO-Gabe.

## 5 Diskussion

### 5.1 Vorbemerkungen

Die vielfältigen Funktionen von NPY beim Säuger lassen auch bei Amphibien vermuten, dass dieses Neuropeptid eine Vielfalt neuromodulatorischer Funktionen erfüllt. Zahlreiche immunocytochemische Untersuchungen weisen eine ausgedehnte Verteilung von NPY-Immunreaktivität im Gehirn von Amphibien nach. Kozicz und Lázár (1994) fokussierten ihre Untersuchungen auf den Ursprung tectaler immunreaktiver NPY-Fasern beim Frosch (*Rana esculenta*). Ein dichtes Netzwerk immunreaktiver NPY-Fasern konnte in Layer 9 des Tectum opticum nachgewiesen werden und etwas weniger zahlreich in den periventriculären Faserschichten des Tectum. In den Bereichen von Praetectum und Torus semicircularis konnten immunreaktive NPY-Zellen gefunden werden, wobei die Axone der praetectalen immunreaktiven Zellen bis zum Außenrand des Tectum opticum nachverfolgt werden konnten. Die Anwesenheit von NPY-ir Fasern in den tieferen Schichten des Tectum und die NPY-ir Zellen im Torus semicircularis lassen vermuten, dass die Zellen des Torus ebenfalls zum Tectum projizieren. Die Lokalisation der NPY-ir Zellen des praetectalen Thalamus ist weitgehend kongruent mit der Lokalisation visuell sensitiver TH3 und TH4 Neuronen, deren Axone zum ipsilateralen Tectum opticum ziehen (Buxbaum-Conradi & Ewert 1995). Läsionen in der praetectalen Region bewirkten eine Reduktion der Immunreaktivität ipsilateral zur vorgenommenen Läsion. Läsionen im Torus semicircularis blieben dagegen ohne Auswirkungen auf die Immunreaktivität von NPY. Kozicz und Lázár (1994) lokalisierten aufgrund der gefundenen Ergebnisse die Hauptquelle immunreaktiver NPY-Fasern in den postero-dorsalen und postero-ventralen praetectalen thalamischen Nuclei. Auch an *Rana pipiens* vorgenommene Versuche (Chapman & Debski 1995) führten zu der Erkenntnis, dass ipsilaterale praetecto-tectale Übertragung durch NPY vermittelt wird.

Die vergleichenden  $^{14}\text{C}$ -2DG-Analysen visuell stimulierter *Bombina orientalis* und *Bufo marinus* zeigen unter dem Einfluss von NPY eine Absenkung ihres Energiestoffwechsels in den retinarecipienten Schichten. Dieser Befund findet sein neurophysiologisches Korrelat: Elektrophysiologisch gewonnene Daten an *Bufo marinus* zeigten stark reduzierte Feldpotentiale nach lokaler NPY-Applikation, aufgenommen an der tectalen Oberfläche, nach visueller Stimulation der Versuchstiere oder nach elektrischer Stimulation des kontralateralen Nervus opticus (Schwippert & Ewert 1995). Weitere Analysen mit NPY-Fragmenten (NPY<sub>13-36</sub> =  $Y_2$ -Rezeptor-Agonist und NPY<sub>18-36</sub> =  $Y_2$ -Rezeptor-Antagonist) ließen eine  $Y_2$ -vermittelte inhibitorische Modulation durch NPY vermuten (Schwippert et al. 1998). Es wird angenommen, dass NPY (im Tectum aus prä-tecto-tectalen Projektionsneuronen (Kozicz & Lázár 1994, Buxbaum-Conradi & Ewert 1995, Schwippert & Ewert 1998) freigesetzt) präsynaptisch an NPY-rezeptiven retino-tectalen Axonendigungen wirkt mit dem Ziel, den Glutamat vermittelten retino-tectalen Transfer zu hemmen. Die in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der [ $^{14}\text{C}$ ]-2-Desoxiglukose Methode an *Bombina orientalis* durchgeführten Experimente ergeben den erstmaligen Beweis für die neuromodulatorische "Potenz" von NPY bezüglich des retino-tectalen Informationstransfers auf der Grundlage des gemessenen Energiestoffwechsels.

### 5.2 Übersicht über Fragestellungen und Ergebnisse

#### (1) Wahl des Versuchstieres

*Bombina orientalis*, stammesgeschichtlich ältester Vertreter unter den Anuren, zeigt eine nachweisliche Beeinflussbarkeit in der Verarbeitung visueller Signale durch lokal auf der tectalen Oberfläche wirkendes NPY. So liegt die Vermutung nahe, dass für die visuelle Signalverarbeitung bei Anuren grundlegende neurochemische Abläufe in praetectalen Strukturen und deren Projektionen zum Tectum opticum evolutionär erhalten bzw. konserviert geblieben sind.



### (2) Grundlegende Fragestellung

Ob eine Aktivierung praetecto-tectaler Projektionsneurone eine Freisetzung von NPY im Tectum opticum von *Bombina orientalis* bewirkt, kann nur indirekt beantwortet werden; porcines NPY wurde, eingebettet in einem Gelkissen, lokal auf die tectale Oberfläche unilateral aufgebracht und auf seine Wirksamkeit geprüft. Mit Hilfe der  $^{14}\text{C}$ -2DG Methode konnte der Nachweis erbracht werden, dass die unter dem Einfluss von NPY stehende tectale Hälfte, im Gegensatz zur unbehandelten tectalen Hälfte, einen deutlich niedrigeren  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch aufwies. Besonders in den oberen Schichten des Tectum opticum (Layer 9), zeigte die  $^{14}\text{C}$ -2DG Methode eine qualitativ und quantitativ auswertbare Aktivitätsminderung an.

### (3) Weiterführende Überlegung

Systemisch verabreichtes APO führt auch bei *Bombina orientalis* zu einer Verstärkung des retinalen Ausgangs in die retino-tectalen Projektionsfelder. Unter dem Einfluss von lokal appliziertem NPY, unilateral auf die tectale Oberfläche des Versuchstieres aufgebracht, kam es jedoch auch hier zu einer deutlich niedrigeren Aufnahme von  $^{14}\text{C}$ -2DG. Diese experimentell durch APO erzeugte signifikante Erhöhung des  $^{14}\text{C}$ -2DG Metabolismus unterstreicht die Vermutung, dass NPY inhibitorisch in den retino-tectalen Informationstransfer eingreift. Nachfolgend sollen die Befunde diskutiert werden.

## 5.3 Kartierung von Hirnaktivität mit Hilfe von $^{14}\text{C}$ -2DG unter dem Einfluss von NPY

Mit Hilfe der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Methode können die neuromodulatorischen Wirkungen von NPY kartiert und gemessen werden.  $^{14}\text{C}$ -2DG wird wie Glucose im Neuropil und in den Perikarien der Neuronen und den anliegenden Gliazellen aufgenommen (Ryan & Sharp 1982). Das durch Phosphorylierung entstandene  $^{14}\text{C}$ -2DG-6-Phosphat akkumuliert für die Zeitdauer des Versuches in den Nervenzellen und kann zunächst nicht weiter metabolisiert werden (Sokoloff et al. 1977, Miller & Kinley 1981). Akkumuliertes  $^{14}\text{C}$ -2DG

stellt ein Maß für die prae- und postsynaptische neuronale Aktivität dar (Schappmann & Stryker 1980, Theurich et al. 1984, Nuedo & Masterton 1986), wobei zu berücksichtigen ist, dass 240 min nach erfolgter Injektion ca. 66% niedrigere  $^{14}\text{C}$ -2DG-Konzentrationen gemessen werden können als nach 45 min (Miller & Kinley 1981). Die  $^{14}\text{C}$ -2DG-Methode gibt Auskunft über den metabolischen Aktivitätszustand der verschiedenen Gehirnregionen unter bestimmten Reiz-Reaktionssituationen bzw. über Änderungen von Aktivitätszuständen einzelner Strukturen unter dem Einsatz von Neuropharmaka, wie in diesen Untersuchungen mit NPY durchgeführt.

### 5.4 Neuromodulation unter NPY

Das Tectum opticum ist das mesencephale Kernstück visueller Informationsverarbeitung für Amphibien. Kontrollinstanz zum Tectum opticum stellt das diencephale Praetectum dar, welches retinalen Input erhält und u.a. inhibitorischen Einfluss auf das Tectum opticum ausübt (Ewert 1974, 1987 Székely & Lázár 1976). Wie oben erwähnt, wird vermutet, dass NPY über die Fasern von praetecto-tectalen Projektionsneuronen im Tectum opticum praesynaptisch an retino-tectalen Axonendigungen über  $Y_2$ -Rezeptoren wirkt, um die Glutamat vermittelte retino-tectale Übertragung zu hemmen.

Glutamat spielt im Tectum opticum eine große Rolle bei der Übertragung retino-tectaler Informationen. Der retinale Hauptinformationsfluss zum Tectum opticum stammt von den retinalen Ganglienzellen des kontralateralen Auges (Scalia 1976, Singman & Scalia 1990). Gabriel und Straznicky (1995) konnten die Neurotransmitter der retinalen Afferenzen identifizieren. Sie stellten fest, dass 88% der retinalen Ganglienzellen Glutamat als exzitatorischen Neurotransmitter nutzen und 6%  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) als inhibitorischen Neurotransmitter. Zahlreiche Autoren unterstützen die Hypothese, dass NPY die Glutamatfreisetzung unterbinden kann durch Aktivierung von  $Y_2$ -Rezeptoren (Colmers et al. 1987, Haas et al. 1987, Greber et al. 1994, Vezzani et al. 1994, 1999, Silva et al. 2005). Das Hauptinteresse dieser Arbeiten konzentriert sich auf die Hippocampus-

Region. Man vermutet, dass NPY eine Kontrollfunktion übernimmt im Zusammenhang mit pathologischen neuronalen Hyperaktivitäten, wie sie bei epileptiformen Anfällen auftreten. Es konnte nachgewiesen werden, dass in der Akutphase der Epilepsie größere Mengen an NPY exprimiert werden, um überschießende Glutamatfreisetzungen zu inhibieren, was eine mögliche antikonvulsive Wirkung von NPY unterstreicht (Silva et al. 2005).

Verglichen mit dem hier betrachteten neurophysiologischen Wirkungsgefüge an Unken, Kröten und Fröschen würden die tectalen visuellen Erregungsprozesse durch visuelle Prozesse des praectalen Thalamus inhibitorisch kontrolliert, vermittelt durch NPY. Fällt diese Kontrolle aus (z.B. nach einer Praectumläsion), dann ergießt sich die tectale Übererregung "epileptogen" in die Beutefangmotorik (Ewert 1968, 1984). Grundlegend konnte bereits durch Läsionsexperimente im Bereich der praectalen Lpd/P-Region gezeigt werden, dass nach chemischem Durchtrennen der ipsilateralen praectecto-tectalen Projektionen bei den tectalen Neuronen ein deutlicher Anstieg ihrer Entladungsrate gegenüber sich bewegenden Objekten zu verzeichnen war. Dabei ging aber die Fähigkeit verloren, Beute von Feindmustern zu differenzieren (Ingle 1973, Ewert 1974, 1984, Ewert et al. 1996). Die gewonnenen Ergebnisse dieser Arbeit zeigen sowohl bei *Bombina orientalis* als auch bei *Bufo marinus* deutlich eine durch NPY induzierte Verminderung in der <sup>14</sup>C-2DG-Aufnahme. Die geringere Glukosemetabolisierung in den oberen tectalen Schichten von *Bombina orientalis* signalisiert eine deutlich herabgesetzte neuronale Aktivität an den retino-tectalen Eingängen des Tectum opticum, überwiegend vermittelt durch R2-Neuronen. Die geringere Glukosemetabolisierung in den zentralen Schichten von *Bufo marinus* ist dagegen – reizgebungsbedingt – überwiegend auf R3- und R4-Neuronen zurückzuführen.

### 5.5 Neuromodulation unter Apomorphin

Verhaltensänderungen, induziert durch die Gabe von Apomorphin (APO), sind u.a. an Kröten, Schildkröten, Tauben und Ratten genauer untersucht

worden (Wynne & Delius 1995, 1996, Andersen et al. 1975, Glasgow & Ewert 1994, 1996, 1997). Obwohl die Applikationsarten des Wirkstoffes durchaus unterschiedliche Effekte hervorrufen können, so wurde doch bei den genannten Tierarten lokomotorische Akinese ausgelöst, begleitet von bestimmten motorischen Stereotypien, wie vermehrtes Picken, Beißen oder Schnappen. Apomorphin wirkt über D2/D1-Rezeptoren. Eine Dosisabhängigkeit konnte bei den meisten Tieren festgestellt werden.

Für Amphibien wird APO als direkter D2/D1-Rezeptor-Agonist beschrieben (Chu et al. 1994). Durch Anwenden der <sup>14</sup>C-2DG-Methode konnten die veränderten Aktivitätsverhältnisse in den einzelnen Gehirnregionen gemessen und die Unterschiede zu unbehandelten Kröten anhand der Falschfarben-codierten Röntgenimages herausgestellt werden (Glasgow & Ewert, 1994, 1996, 1997). Bisherige Ergebnisse zeigen, dass eine systemische (intralymphatische) APO-Applikation bei Kröten in einer Dosis von 40 mg/kg Körpergewicht zu unterschiedlichen Reaktionen führte. Erdkröten (*Bufo bufo*) zeigten deutlich erhöhte Schnappreaktionen auf bewegte Beute-Attrappen bei gleichzeitig eingeschränkter Locomotorik (Akinese). Entsprechende Versuche führten bei Agakröten (*Bufo marinus*) zwar zur Akinese, jedoch nicht zu gesteigerten Schnappreaktionen (Glasgow & Ewert 1992, 1993, 1994). Dies könnte zurückzuführen sein auf eine Dosisabhängigkeit bzw. auf eine speziesbezogene Sensitivität der dopaminergen Rezeptoren (Kramer 1976). Eindeutig erhöht unter der Apomorphinwirkung zeigte sich bei Erd- und Agakröten der Glukosemetabolismus in den primären praetectalen und tectalen Projektionsfeldern retinaler Ganglienzellen, was auf eine dopaminerge Aktivitätserhöhung der retinalen Ganglienzellen auf visuelle Reize hindeutet (Glasgow & Ewert 1996, 1997a/b, 1999). Elektrophysiologische Ableitungen von summierten Feldpotenzialen und von Ableitungspotenzialen einzelner Opticusfasern belegen, dass sowohl nach systemischer als auch nach intraokularer Verabreichung von APO die retinalen Ausgänge in den oberen tectalen Projektionsfeldern und in den praetectalen Projektionsfeldern verstärkt werden (Glasgow 1997a/b, Röttgen 1999). Nucleus Bellonci und der anteriore dorsale thalamische Nucleus zählen ebenfalls zu den durch APO

intensivierten retinalen Projektionsfeldern (Lázár 1971, Fite & Scalia 1976). Im Tectum opticum der von Glasgow und Ewert (1999) untersuchten Erdkröten war die Glukosemetabolisierung im Bereich der oberen tectalen Schichten (dTO), dem direkten Projektionsgebiet retinaler Ganglienzellen, stark erhöht, in den mittleren Schichten dagegen stark reduziert. Entsprechend verminderten sich unter dem Einfluss von APO die visuellen Entladungsraten tectaler T5.1- und T5.2-Neuronen (Glasgow & Ewert 1997b), deren Axone in den motorischen Neuronenverbänden der Medulla oblongata terminieren (Székely & Lázár 1976, Ewert & Weerasuriya 1988, Satou & Ewert 1985, Ewert et al. 1990, Matsumoto et al. 1991). T5.1- und T5.2-Neuronen fungieren als praemotorische Neuronen, für die Ansteuerung des Beutefangverhaltens (Ewert 1987, 1997). Die reduzierten Entladungsraten von T5.1- und T5.2-Neuronen, wie durch APO-Applikation induziert, erklären die verminderte Beutefangmotorik (Glasgow & Ewert 1997a).

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Unken zeigten keine verstärkten Schnappreaktionen oder ähnliche stereotype Verhaltensweisen unter dem Einfluss von APO. Die Tiere reagierten ähnlich wie *Bufo marinus* ausschließlich mit Akinese, d.h. einem Ausfall gerichteter Orientierungsbewegungen. Lediglich bei einzelnen Tieren konnte ein häufigeres Wischen am Kopf mit Hilfe der Vorderextremität beobachtet werden. Aber auch bei den Unken zeigte sich nach systemischer Apomorphingabe in einer Dosierung von 50 mg/kg Körpergewicht mittels der <sup>14</sup>C-2DG-Methode ebenfalls ein verstärkter Glukosemetabolismus in den oberen Schichten des Tectum opticum. APO wurde daher in den vorliegenden Untersuchungen eingesetzt, um zu prüfen, ob bzw. inwieweit der durch APO gesteigerte visuelle retinale Input in das Tectum opticum durch NPY abgeschwächt werden kann. Zu klären war also, welches inhibitorische "Potenzial" NPY entwickeln kann, wenn zuvor der retinale Input pharmakologisch durch systemische Apomorphingabe merklich erhöht wird. Um den Effekt von NPY zu testen, wurde NPY unilateral auf das Tectum opticum von *Bombina orientalis* appliziert, während Apomorphin systemisch einwirkte. So konnten beide applizierten Substanzen gleichzeitig am visuell stimulierten Versuchstier wirken, wobei der Einfluss von NPY lokal begrenzt war. Der

Vorteil bei dieser Vorgehensweise in tectalem rechts/links-Vergleich ist sofort ersichtlich. Ein Vergleich zwischen zwei Versuchstieren birgt mehrere Fehlerquellen, die nur schwer in die Auswertung einfließen können, wie z.B. Stoffwechsellage, Motivationslage, Alter des Tieres, aber auch andere äußere Faktoren, die auf verschiedene Tiere unterschiedlich wirken. Die Behandlung eines Einzeltieres mit zwei Wirkstoffen, in der Form wie es in diesen Versuchen vorgenommen wurde, verschafft den Vorteil einen direkten Vergleich ziehen zu können: Während APO die Glukosemetabolisierung im Bereich der von NPY unbeeinflussten tectalen Hälfte sichtbar erhöhen konnte, wies die von NPY beeinflusste tectale Hälfte einen deutlich geringeren Glukosegebrauch auf. Durchschnittlich ergab sich eine reduzierte  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme von 22%.

In den Kontrollversuchen an *Bufo marinus* konnten die inhibitorischen Effekte von NPY auf die tectale visuelle Aktivität bestätigt werden. Aufgrund der erweiterten Versuchsbedingungen bei *Bufo marinus* haben sich bei der Auswertung der Röntgenimages unterschiedliche tectale  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahmen ergeben. Da die eingesetzten Versuchstiere im Vortest nur eine geringe Beutefangmotivation zeigten, wurde eine zusätzliche visuelle Stimulation über wechselnde Beleuchtung eingesetzt. Die retinalen Ganglienzellen antworten auf verschiedene Parameter visueller Stimuli, wie z.B. Licht an und aus, Bewegung, Reiz-Hintergrund-Kontrast und wichten sie unterschiedlich. Retinale R1- und R2-Neuronen zeigen meist keine Antworten bei Belichtungswechsel, R3-Neuronen antworten dagegen mit einer kurzen ON-Off-Salve von Aktionspotentialen. R4-Neuronen sind beim Verdunkeln des Gesichtsfeldes anhaltend aktiviert (Grüsser & Grüsser-Cornehls 1976, Ewert 1984, Matsumoto & Schwippert 1986). Die vier retinalen Ganglienzelltypen terminieren in unterschiedlicher Tiefe des Tectum, hauptsächlich in den Schichten B, D, F und G von Layer 9 (Lettvin et al. 1959, Scalia 1976). Maturana et al. (1960) beschrieb als Erster die Tiefen-Verteilung der axonalen Endigungen retinaler Ganglienzellen im Tectum, ermittelt an *Rana pipiens*. R1-/R2-Neuronen finden sich in den obersten tectalen Schichten ( $74 \pm 59\mu\text{m}$ ), R3 und R4 in tieferen Schichten ( $290 \pm 55\mu\text{m}$ ;  $385 \pm 47\mu\text{m}$ ). Hieraus erklärt sich die unterschiedliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-

Aufnahme bei *Bombina orientalis* und *Bufo marinus*. Bei *Bufo marinus* wurden vermutlich verstärkt R3- und R4-Ganglienzellen angesprochen aufgrund des effektiven zusätzlichen Beleuchtungswechsels, weshalb sich ein anderes Aktivierungsmuster in den Röntgenimages darstellt als bei *Bombina orientalis*.

Zusammenfassend zeigt sich, dass unter der Wirkung von NPY, auch wenn mittels systemischer Apomorphingabe eine dopaminerge Erhöhung des retinalen Input induziert wurde, eine abgeschwächte Glukosemetabolisierung in den retinalen Projektionsfeldern des Tectum opticum registriert werden kann. Die gewonnenen Erkenntnisse dieser Arbeit unterstützen die Vermutung, dass physiologisch freigesetztes NPY starke neuro-modulatorische Fähigkeiten besitzt.

Hiermit stellt sich die Frage nach der Ontogenese der NPY produzierenden Neuronen des praetectalen Thalamus (Ewert 2004). Nach Clairambault (1976) differenziert sich bei Anuren der caudo-dorsale Thalamus in einen lateralen und einen medialen Abschnitt vor der Metamorphose. Dieser Parzellierungsprozess ist 6-12 Monate nach der Metamorphose abgeschlossen. Die NPY produzierenden Neuronen befinden sich im lateralen Abschnitt (Lpd). Mit dieser Parzellierung einhergehend fand D'Aniello et al. (1996) beim Frosch, dass NPY-Immunreaktivität praetectaler Neuronen in den Entwicklungsstadien 24-25 einsetzt, in den Stadien 28-30 fortgeschritten ist und maximale Ausprägung während und nach der Metamorphose zeigt.

Die Primärstruktur von Neuropeptid Y ist evolutionär konserviert. Das zeigen zahlreiche Strukturvergleiche an entwicklungsgeschichtlich unterschiedlichen Spezies. Säuger und Knorpelfische weisen eine 92%ige Übereinstimmung in ihrer Aminosäuresequenz auf, bei den meisten Speziesvergleichen lassen sich 70-80%ige Übereinstimmungen nachweisen (z.B. Larhammar 1993, Blomqvist 1992, Soderberg 1993, Ebersole 2000). Wie aus einer Untersuchung von McKay et al. (1992) an *Rana temporaria* hervorgeht, zeigt die NPY-Primärstruktur von Amphibien entwicklungsgeschichtlich auch nur

wenig Varianz gegenüber der Primärstruktur beim Menschen. Die Varianz beruht lediglich in einer Aminosäure an Position 19 (hNPY: Arg<sup>19</sup>, aNPY: Lys<sup>19</sup>). Verschiedene Autoren vermuten, dass praetectal freigesetztes NPY bei Tetrapoden ebenfalls eine entwicklungsgeschichtlich konservierte Rolle übernimmt im Hinblick auf die Modulation visueller Informationsverarbeitung (Lázár 2001, Ebersole et al. 2001, Carr et al. 2002). Entwicklungsgeschichtlich wenig Varianz in der Aminosäuresequenz und nachweislich zahlreiche physiologische Prozesse, in die NPY modulierend eingreift, unterstreichen die wichtige Rolle von Neuropeptid Y. Auch die Ergebnisse dieser Arbeit weisen NPY als einen potenten Neuromodulator aus und stützen die Hypothese, dass eine Aktivierung praetecto-tectaler Projektionsneuronen zu einer Freisetzung von NPY im Tectum opticum führt.



## 6 Zusammenfassung

(1) Neuropeptid Y (NPY), einer der häufigsten peptidergen Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem der Säuger, ist an der Steuerung zahlreicher physiologischer Prozesse beteiligt. Auch Amphibien weisen eine verstärkte NPY-Immunreaktivität im Zentralnervensystem auf. Im Hinblick auf bereits gewonnene Erkenntnisse sollte in der vorliegenden Arbeit eine Modulierbarkeit retino-tectaler Aktivität durch Neuropeptid Y an der chinesischen Rotbauchunke (*Bombina orientalis*) überprüft und erstmals mit Hilfe der  $^{14}\text{C}$ -2-Desoxyglukose-Methode ( $^{14}\text{C}$ -2DG) (Sokoloff et al. 1977) quantitativ analysiert werden. Als Vergleichstier diente die Agakröte (*Bufo marinus*). Zur Darstellung eines möglichen Effektes auf das Tectum opticum wurde NPY lokal auf die tectale Oberfläche visuell stimulierter Rotbauchunken appliziert. Mit Hilfe der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Methode und den daraus autoradiographisch ermittelten Daten konnten die zerebralen Aktivitäten visualisiert, quantitativ ausgewertet und miteinander verglichen werden. In einer weiteren Versuchsreihe wurde hinterfragt, welche inhibitorische Wirkung NPY entwickeln kann, wenn zuvor der retinale Input pharmakologisch durch systemische Gabe von Apomorphin (APO) signifikant erhöht wurde.

(2) Die  $^{14}\text{C}$ -2DG-Methode erlaubt einen Blick in die funktionale Aktivität des Gehirns und ermöglicht es, regional ablaufende physiologische und biochemische Energiestoffwechselprozesse innerhalb des Gehirns quantitativ zu erfassen. Mit Hilfe der  $^{14}\text{C}$ -2DG-Methode werden die neuromodulatorischen Wirkungen von NPY kartiert und analysiert.

(3) Versuchstiergruppe 1 – *Bombina orientalis* – unbehandelt

Zur Beurteilung pharmakologischer Effekte durch NPY bzw. APO auf den Hirnmetabolismus war es zunächst erforderlich, die Gehirnaktivitäten pharmakologisch unbeeinflusster Tiere nach visueller Reizgabe zu untersuchen. Im Bereich des medialen Mesencephalon wurden die tectalen

$^{14}\text{C}$ -2DG-Konzentrationen über zehn Messreihen pro Einzeltier sowohl an der rechten als auch an der linken tectalen Hälfte auf Höhe des ventrolateralen Tectum opticum ermittelt. Beim rechts-links Vergleich zeigen sich gleich verteilte Strahlungsintensitäten. Basierend auf dieser Aussage konnte NPY unilateral auf die tectale Oberfläche aufgebracht und auf seine Wirkung geprüft werden.

### (4) Versuchstiergruppe 2 – *Bombina orientalis* – NPY-Applikation

Der unilaterale Einsatz von NPY auf die tectale Oberfläche des Versuchstieres bewirkt, dass die unter dem Einfluss von NPY stehende tectale Hälfte, im Gegensatz zur unbehandelten tectalen Hälfte, einen deutlich niedrigeren  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch aufweist. Besonders in den oberen Schichten des Tectum opticum (Layer 9) zeigt die  $^{14}\text{C}$ -2DG-Methode qualitativ und quantitativ auswertbare Aktivitätsminderungen an.

(5) Verhalten unter NPY: Durchschnittlich nach 10 min Versuchsdauer zeigt *Bombina orientalis* eine deutliche Abnahme in der Beutefangaktivität, die sich gegen Ende der Versuchszeit noch weiter reduziert.

### (6) Versuchstiergruppe 3 – *Bombina orientalis* – APO-Applikation

Systemisch verabreichtes APO führt bei *Bombina orientalis* zu einer Verstärkung des retinalen Ausgangs in die retino-tectalen Projektionsfelder. Die neuronalen Aktivitäten im Tectum opticum erhöhen sich unter dem Einfluss von APO im Durchschnitt um 40% im Vergleich zu APO-unbehandelten Tieren.

(7) Verhalten unter APO: *Bombina orientalis* zeigt nach systemischer Applikation von APO keine verstärkten stereotypen Schnappreaktionen. Die Tiere reagieren ausschließlich mit Akinese, d.h. einem Ausfall gerichteter Lokomotionen und Orientierungsbewegungen.

### (8) Versuchstiergruppe 4 – *Bombina orientalis* – APO/NPY-Applikation

Die durch systemisch verabreichtes APO erhöhten retino-tectalen Aktivitäten im Tectum opticum werden unter dem unilateralen Einsatz von NPY deutlich

abgeschwächt. Eindeutig niedrigere  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahmen sind in den oberen Schichten des Tectum opticum messbar, was die starke Wirkung von NPY quantitativ belegt.

### (9) Versuchstiergruppe 2 – *Bufo marinus* – NPY-Applikation

Der unilaterale Einsatz von NPY auf die tectale Oberfläche von *Bufo marinus* zeigt ebenfalls, dass die unter dem Einfluss von NPY stehende tectale Hälfte, im Gegensatz zur unbehandelten tectalen Hälfte, einen deutlich niedrigeren  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch aufweist. *Bufo marinus* zeigt aber aufgrund erweiterter Versuchsbedingungen (On-Off-Beleuchtungswechsel) anders verteilte Strahlungsintensitäten über dem Tectum-Querschnitt als *Bombina orientalis*. Stärkere [ $^{14}\text{C}$ ]-Akkumulationen zeigen sich in den tieferen zentralen Schichten des Tectum opticum.

### (10) Versuchstiergruppe 4 – *Bufo marinus* – APO/NPY-Applikation

Auch die durch systemisch verabreichtes APO erhöhten retino-tectalen Aktivitäten im Tectum opticum von *Bufo marinus* werden unter dem unilateralen Einsatz von NPY deutlich abgeschwächt.

(11) Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit leisten einen Beitrag zum Einfluss von NPY auf den retino-tectalen Informationstransfer bei Anuren im Sinne einer praetecto-tectalen inhibitorischen Modulation. Im Einklang mit früheren neuroanatomischen, immunocytochemischen und elektro-physiologischen Befunden liefern diese Ergebnisse erstmals ein biochemisches Korrelat auf der Basis des tectalen Energiestoffwechsels.

(12) Es ist hervorzuheben, dass NPY-vermittelte inhibitorische Modulationen visuellen Informationstransfers in der vorliegenden Arbeit an *Bombina orientalis* nachgewiesen wurden, die phylogenetisch zu den ältesten Anuren (Anamnioten) gehört. Vergleichbares ist an verschiedenen Amnioten – einschließlich Primaten – beschrieben worden, was darauf hinweist, dass solche NPY-vermittelten Prozesse sich innerhalb der Tetrapoden relativ früh herausgebildet haben und in der Evolution konserviert worden sind.

## 7 Literaturverzeichnis

- AmphibiaWeb (2005) Information on amphibian biology and conservation. Berkeley, California: AmphibiaWeb
- Andersen H, Bræstrup C, Randrup A (1975) Apomorphine-induced stereotyped biting in the tortoise in relation to dopaminergic mechanisms. *Brain Behav Evol* 11: 365-373
- Andersen AC, Tonon MC, Pelletier G, Conlon JM, Fasolo A, Vaudry H (1992) Neuropeptides in the amphibian brain. *Int Rev Cytol* 138: 89-210
- Arbib MA (1987a) Levels modeling of mechanisms of visually guided behavior. *Behav Brain Sci* 10: 407-465
- Ariens Kappers CU, Huber CG, Crosby EC (1936) The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man. Hafner, New York, 1960
- Báez AM (2000) Tertiary Anurans from South America. In: Heatwole H (ed) *Amphibian biology*, Vol 4. Paleontology. Surrey Beatty, Chipping Norton, Australia, pp 1388-1401
- Beneke TW, Schwippert WW, Ewert J-P (1992) Pretectal inputs to the optic tectum of toads - changes of field potentials. *Verh Dtsch Zool Ges (short comm)* 85: 57
- Blomqvist AG, Soderberg C, Lundell I, Millner R, Larhammar D (1992) Strong evolutionary conservaton of neuropeptide Y: sequences of chicken, goldfish and *Torpedo marmorata* DNA clones. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 2350-2354
- Burghagen H (1979) Der Einfluss von figuralen, visuellen Mustern auf das Beutefangverhalten verschiedener Anuren. Dissertation, Univ. of Kassel
- Buschauer B, Bernhardt G, Dove S (2000) NPY Rezeptoren als Zielstrukturen für neue Arzneistoffe. *Pharm Ztg* 24
- Butler A (1974) Retinal projections in the night lizard, *Xantusia vigilis* Baird. *Brain Res* 80: 116-121
- Buxbaum-Conradi H, Ewert J-P (1995) Pretecto-tectal influences I. What the toad's pretectum tells its tectum: an antidromic stimulation/recording study. *J Comp Physiol A* 176: 169-180
- Buxbaum-Conradi H, Ewert J-P (1999) Responses of single neurons in the toad's caudal ventral striatum to moving visual stimuli and test of their efferent projection by extracellular antidromic stimulation/recording techniques. *Brain Behav Evol* 54: 338-354

- Cabrele C, Beck-Sickinger AG (2000) Molecular characterization of the ligand-receptor interaction of the neuropeptide Y family. *J Pept Sci* 6: 97-122
- Carr JA, Brown CL, Mansouri R, Venkatesan S (2002) Neuropeptides and amphibian prey-catching behaviour. *Comp Biochem Physiol Part B* 132(1): 151-162
- Chapman AM, Debski EA (1995) Neuropeptide Y immunoreactivity of a projection from the lateral thalamic nucleus to the optic tectum of the leopard frog. *Vis Neurosci* 12: 1-9
- Chartrel N, Conlon JM, Danger JM, Fournier A, Tonon MC, Vaudry H (1991) Characterization of melanotropin-releasing-inhibiting factor (melanostatin) from frog brain: homology with human neuropeptide Y. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(9): 3862-3866
- Chu J, Wilcox RE, Wilczynski W (1994) Pharmacological characterization of D1 & D2 dopamine receptors in *Rana pipiens*. *Soc Neurosci Abstr* 20: 167
- Clairambault P (1976) Development of the prosencephalon. In: Llinás R, Precht W (ed) *Frog neurobiology*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 924-945
- Comer C, Grobstein P (1981) Organisation of sensory inputs to the midbrain of the frog, *Rana pipiens*. *J Comp Physiol* 142: 161-168
- Colmers WF, Lukowiak K, Pittman QJ (1987) Presynaptic action of neuropeptide Y in area CA1 of the rat hippocampal slice. *J Physiol* 383: 285-299
- Conlon JM, Bjornholm B, Jorgensen FS, Youson JH, Schwartz TW (1991) Primary structure and conformational analysis of peptide methioninetyrosine, a peptide related to neuropeptide Y and peptide YY isolated from lamprey intestine. *Eur J Biochem* 199: 293-298
- Danger JM, Leboulenger F, Guy J, Tonon MC, Benyamina M, Martel JC, Saint-Pierre S, Pelletier G, Vaudry H (1986) Neuropeptide Y in the intermediate lobe of the frog pituitary acts as an  $\alpha$ -MSH-release inhibiting factor. *Life Sci* 39: 1183-1192
- Danger JM, Perroteau I, Franzoni MF, Saint Pierre S, Fasolo A, Vaudry H (1989) Innervation of the pars intermedia and control of  $\alpha$ -MSH secretion in the newt. *Neuroendo* 50: 543-549
- Danger JM, Tonon MC, Lamacz M, Martel JC, Saint-Pierre S, Peletier G, Vaudry H (1987) Melanotropin release inhibiting activity of neuropeptide Y: structure-activity relationships. *Life Sci* 40: 1875-1880

- D'Aniello B, Vallarino M, Pinelli C, Fiorentino M, Rastogi KR (1996) Neuropeptide Y: Localization in the brain and pituitary of the developing frog (*Rana esculenta*). *Cell Tiss Res* 285:253-259
- Diebschlag E (1935) Zur Kenntnis der Grosshirnfunktionen einiger Urodelen und Anuren. *Z Vergl Physiol* 21: 343-394
- Dowling JE (1976) Physiology and morphology of the retina. In: Llinás R, Precht W (ed) *Frog neurobiology*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 278-296
- Dowling E (1990) Functional and pharmacological organization of the retina: dopamine interplexiform cells and neuromodulation. In: Cohen B, Bodis-Wollner I (eds) *Vision and the brain*. Raven Press, New York, pp 1-18
- Dubois A (1986) *Miscellanea taxonomica [sic] batrachologica (I)*. *Alytes* 5: 7-95
- Duellman WE (1975) On the classification of frogs. *Occ Pap Mus Nat Hist Univ Kansas* 42: 1-14
- Dumont Y, Cadieux A, Doods H, Pheng LH, Abounader R, Hamel E, Jacques D, Regoli D, Quirion R (2000) BIIE0246, a potent and highly selective non peptide Y Y(2) receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 129: 1075-1088
- Eckert R Randall D (1986) *Tierphysiologie*. G. Thieme, Stuttgart New York
- Ebersole TJ, Conlon M, Goetz FW, Boyd SK (2001) Characterization and distribution of neuropeptide Y in the brain of a caecilian amphibian. *Peptides* 22(3): 325-334
- Ewert J-P (1968) Der Einfluss von Zwischenhirndefekten auf die Visuomotorik im Beute- und Fluchtverhalten der Erdkröte (*Bufo bufo* L). *Z Vergl Physiol* 61: 41-70
- Ewert J-P (1970) Neural mechanisms of prey-catching and avoidance behavior in the toad (*Bufo bufo* L). *Brain Behav Evol* 3/1-4: 36-56
- Ewert J-P (1974) The neural basis of visually guided behavior. *Sci Amer* 230: 34-42
- Ewert J-P (1984) Tectal mechanisms that underlie prey-catching and avoidance behaviors in toads. In: Vanegas H (ed.) *Comparative neurology of the optic tectum*. Plenum Press, New York London, pp 39-120
- Ewert J-P (1987) Neuroethology of releasing mechanisms: prey-catching in toads. *Behav Brain Sci* 10: 337-405

- Ewert J-P (1987) Measuring visual discrimination: principles in configurational perception. In: Guthrie DM (ed) Aims and methods in neuroethology. Manchester University Press, pp 152-206
- Ewert J-P (1989) The release of visual behavior in toads: stages of parallel/hierarchical information processing. In: Ewert J-P, Arbib MA (eds) Visuomotor coordination, amphibians, comparisons, models, and robots. Plenum Press, New York London, pp 39-120
- Ewert J-P (1991) Challenges from neuroethology for neural engineering. In: Ewert J-P, Werner H (eds) Models of Brain Function & Artificial Neuronal Nets. GhK Univ Edition, Kassel, pp 29-66
- Ewert J-P (1997) Schlüsselreiz und Auslösemechanismus - Heutiger Stand der Konzepte am Beispiel des Beutefangs der Erdkröte.- 1. Teil. PdN-Bio 46(5): 45-46. 2. Teil PdN-Bio 46(6): 42-47
- Ewert J-P (1997) Neural correlates of key stimulus and releasing mechanism: a case study and two concepts. Trends Neurosci. 20: 332-339
- Ewert J-P (2004) Motion Perception Shapes the Visual World of Amphibians. In: Prete FR, Complex Worlds from Simpler Nervous Systems. The MIT Press, Cambridge Massachusetts London England, pp 117-160
- Ewert J-P, Borchers HW (1971) Reaktionscharakteristik von Neuronen aus dem Tectum opticum und Subtectum der Erdkröte *Bufo bufo* (L). Z Verg Physiol 71: 165-189
- Ewert J-P, Hock FJ (1972) Movement sensitive neurones in the toad's retina. Exp Brain Res 16: 41-59
- Ewert J-P, Weerasuriya A (1988) The motor pattern generator for snapping in toads. Soc Neurosci Abstr 14: 312
- Ewert J-P, Wietersheim A v (1974a) Musterauswertung durch tectale und thalamus/praetectale Nervennetze im visuellen System der Kröte (*Bufo bufo* L). J Comp Physiol 92: 131-148
- Ewert J-P, Wietersheim A v (1974b) Der Einfluss von Thalamus/Praetectum-Defekten auf die Antwort von Tectum-Neuronen gegenüber bewegten visuellen Mustern bei der Kröte (*Bufo bufo* L). J Comp Physiol 92: 149-160
- Ewert J-P, Hock FJ, Wietersheim A v (1974) Thalamus/Praetectum/Tectum: retinale Topographie und physiologische Interaktionen bei der Kröte (*Bufo bufo* L). J Comp Physiol 92: 343-356
- Ewert J-P, Matsumoto N, Schwippert WW (1985) Morphological identification of prey-selective neurons in the grass frog's optic tectum. Naturwissenschaften 72: 661-662

- Ewert J-P, Schürg-Pfeiffer E, Schwippert WW (1996) Influence of pretectal lesions on tectal responses to visual stimulation in anurans: field potential, single neuron and behavior analyses. *Acta Biologica Acad Sci Hungaria* 47(2-4): 223-245
- Ewert J-P, Beneke TW, Schürg-Pfeiffer E, Schwippert WW, Weerasuriya A (1994) Sensorimotor processes that underlie feeding behavior in tetrapods. In: Bels VL, Chardon M, Vandevallé P (eds) *Advances in comparative and environmental physiology*, Vol. 18: Biomechanics of feeding in vertebrates. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 119-161
- Ewert J-P, Cooper JE, Langton T, Matz G, Reilly K, Schwantje H (2005) Proposals for the revision of Appendix A of the Convention ETS 123. Species-specific proposals for Amphibians (1b). Scientific Background. Council of Europe. Directorate General I – Legal Affairs, Department of Public Law, pp 1-47
- Finkenstädt T, Ewert J-P (1985) Glucose utilization in the toad's brain during anesthesia and stimulation of the ascending reticular arousal system: a <sup>14</sup>C-2-deoxyglucose study. *Naturwissenschaften* 72: 161-162
- Finkenstädt T, Ewert J-P (1987) Visual associative conditioning in the toad: a 2-deoxyglucose study. In: Elsner N, Creutzfeldt O (eds) *New frontiers in brain research*. G Thieme-Verlag, Stuttgart
- Fite KV, Scalia F (1976) Central visual pathways in the frog. In: Fite KV (ed) *The amphibian visual system: a multidisciplinary approach*. Academic Press, New York London, pp 87-118
- Flood JF, Baker ML, Hernandez EN, Morley JE (1989) Modulation of memory processing by neuropeptide Y varies with brain injection site. *Brain Res* 503: 73-82
- Forth W, Henschler D, Rummel W (1987) *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Wissenschaftsverlag, Mannheim Wien Zürich
- Freeman JA, Norden JJ (1984) Neurotransmitters in the optic tectum of non mammalians. In: Vanegas H (ed) *Comparative neurology of the optic tectum*. Plenum Press, New York London, pp 469-546
- Furtinger S, Pirker S, Czech T, Baumgartner C, Ransmayr G, Sperk G (2001) Plasticity of Y1 and Y2 Receptors and Neuropeptide Y Fibers in Patients with Temporal Lobe Epilepsy. *J Neurosci* 21(15): 5804-5812
- Gabriel R, Straznicky C (1995) Synapses of optic axons with GABA- and glutamate –containing elements in the optic tectum of *Bufo marinus*. *J Hirnforschung* 36: 329-40



- Gaillard F, Galand G (1979) Diencephalic binocular wide field neurons in the frog. *Exp Brain Res* 34: 511-520
- Gamlin PDR, Reiner A., Keyer KT, Brecha N, Karten HJ (1996) Projection of the nucleus pretectalis to a retino-recipient tectal layer in the pigeon (*Columba livia*). *J Comp Neurol* 368: 424-438
- Gaupp E, Ecker A und Wiedersheim R (1904) Anatomie des Frosches. Viehweg und Sohn, Braunschweig
- Gerald C Walker MW, Criscione L, Gustafson EL, Batzl-Hartmann C, Smith KE, Vaysse P, Durkin MM, Laz TM, Linemeyer DL, Schaffhauser AO, Whitebread S, Hofbauer KG, Taber RI, Branchek TA, Weinshank RL (1996) A receptor subtype involved in neuropeptide-Y-induced food intake. *Nature* 382: 168-171
- Glagow M, Ewert J-P (1992) The influence of apomorphine on prey-catching and visually evoked excitability of retinal class-R2-neurons in toads *Bufo bufo*. *Verh Dtsch Zool Ges (short comm)* 85: 66
- Glagow M, Ewert J-P (1993) Pharmakologische Beeinflussung des neuronalen Makronetzwerkes durch Apomorphin. In: Ewert J-P (ed.) BMFT/DLR-Bericht 1991-1993: Verbundprojekt "Sekon". Verarbeitungsprinzipien und Modulation visueller Informationen, pp 63-74
- Glagow M, Ewert J-P (1994) Increases of excitatory receptive fields of retinal ganglion cells in common toads under apomorphine are not associated with size preference in prey-snapping. *Neurosci Lett* 173: 83-86
- Glagow M, Ewert J-P (1996) Apomorphine-induced suppression of prey oriented turning in toads is correlated with activity changes in pretectum and tectum: <sup>14</sup>C-2DG studies and single cell recordings. *Neurosci Lett* 220: 215-218
- Glagow M, Ewert J-P (1997a) Dopaminergic modulation of visual responses in toads. I. Apomorphine-induced effects on visually directed appetitive and consummatory prey-catching behavior. *J Comp Physiol A* 180: 1-9
- Glagow M, Ewert J-P (1997b) Dopaminergic modulation of visual responses in toads. II. Influences of apomorphine on retinal ganglion cells and tectal cells. *J Comp Physiol A* 180: 11-18
- Glagow M, Ewert J-P (1999) Apomorphine alters prey-catching patterns in the common toad: behavioural experiments and <sup>14</sup>C-2-deoxyglucose brain mapping studies. *Brain Behav Evol* 54: 223-242
- Greber S, Schwarzer C, Sperk G (1994) Neuropeptide Y inhibits potassium-stimulated glutamate release through Y2 receptors in rat hippocampal slices in vitro. *Br J Pharmacol* 113: 737-740

- Grobstein P (1989) Organization in the sensorimotor interface: a case study with increased resolution. In: Ewert J-P, Arbib MA (eds) Visuomotor coordination: amphibians, comparisons, models, and robots. Plenum Press, New York London, pp 537-568
- Gruberg ER (1989) Nucleus isthmi and optic tectum in frogs. In: Ewert J-P, Arbib MA (eds) Visuomotor coordination: Amphibians, comparisons, models, and robots. Plenum Press, New York London, pp 341-356
- Gruberg ER, Udin SB (1978) Topographic projections between the nucleus isthmi and the tectum of the frog *Rana pipiens*. J Comp Neurol 179: 487-500
- Gruberg ER, Lettvin JY (1980) Anatomy and physiology of a binocular system in the frog *Rana pipiens*. Brain Res 192: 313-325
- Gruberg ER, Wallace MT, Waldeck RF (1989) Relationship between isthmotectal fibers and other tectopetal systems in the leopard frog. J Comp Neurol 288: 39-50
- Grüsser-Cornehls U (1984) The neurophysiology of the anuran visual system. In: Vanegas H (ed) Comparative neurology of the optic tectum. Plenum Press, New York London, pp 297-385
- Grüsser O-J, Grüsser-Cornehls U (1970) Die Neurophysiologie visuell gesteuerter Verhaltensweisen bei Anuren. Verh Deutsch Zool Ges Köln 64: 201-218
- Grüsser O-J, Grüsser-Cornehls U (1976) Neurophysiology of the anuran visual system. In: Llinás R, Precht W (eds) Frog neurobiology. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 297-385
- Gaze RM (1958) The representation of the retina on the optic lobe of the frog. Q J Exp Physiol 43: 209-214
- Hall AC, Earle-Cruikshanks G, Harrington ME (1999) Role of membrane conductances and protein synthesis in subjective day phase advances of the hamster circadian clock by neuropeptide Y. Eur J Neurosci 11: 3424-3432
- Haas HL, Hermann A, Greene RW, Chan Palay V (1987). Action and location of neuropeptide tyrosine (Y) on hippocampal neurons of the rat in slice preparations. J Comp Neurol 257: 208-215
- Heilig M, McLeod S, Brot M, Heinrichs SC, Menzaghi F, Koob GF, Britton KT (1993) Anxiolytic-like action of neuropeptide Y: mediation by Y1 receptors in amygdala and dissociation from food intake effects. Neuropsychopharm 8: 357-363

- Hoyle CHV (1999) Neuropeptide families and their receptors : evolutionary perspectives. *Brain Res* 848: 1-25
- Ingenhoven N, Beck-Sickinger AG (1999) Molecular characterization of the ligand-receptor interaction of neuropeptide Y. *Curr Med Chem* 6: 1055-1066
- Ingle D (1973) Disinhibition of tectal neurons by pretectal lesions in the frog. *Science* 180: 422-424
- Ingle D (1980) Some effects of pretectum lesions on the frog's detection of stationary objects. *Behav Brain Res* 1: 139-163
- Ingle D (1983) Prey selection in frogs and toads: a neuroethological model. In: Satinoff E, Teitelbaum P (eds) *Handbook of behavioral neurobiology*, Vol 6: Motivation. Plenum Press, New York London, pp 235-261
- Inui A (1999) Feeding and body-weight regulation by hypothalamic neuropeptides – mediation of the actions of leptin. *Trends Neurisci* 22: 62-67
- Inui A (1999) Neuropeptide Y feeding receptors: are multiple subtypes involved. *Trends Pharmacol Sci* 20: 43-46
- Joyce JN (1991) Differential responses of striatal dopamine and muscarinic cholinergic receptor subtypes to the loss of dopamine. *Exp Neurol* 113: 277-290
- Kalra SP, Fuentes M, Fournier A, Parker SL, Crowley WR (1992) Involvement of the Y-1 receptor subtype in the regulation of luteinizing hormone secretion by neuropeptide Y in rats. *Endocrinology* 130: 3323-3330
- Kelly RE, Dinner M, Turner LS, Haik B, Abramson DH, Daines P (1993) Succinylcholine increases intraocular pressure in the human eye with the extraocular muscles detached. *Anesthesiology* 79(5): 948-52
- Kozicz T, Lázár G (1994) The origin of tectal NPY immunopositive fibers in the frog. *Brain Res* 635: 345-348
- Kramer SG, (1976) Dopamin in retinal neurotransmission. In: Bonting SL (ed) *Transmitters in the visual process*. Pergamon Press, Oxford, pp 165-197
- Kuffler SG (1952) Neurons in the retina: Organization, inhibition and excitation problems. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 17: 281-292
- Kuhn P (2003), Quantitative Untersuchungen über die visuelle Steuerung des Beutefangs der Chinesischen Rotbauchunke *Bombina orientalis*

während der Ontogenese. Dissertation, Fachbereich Biologie/Chemie, Univ. Kassel

- Larhammar D (1996) Evolution of neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide. *Regul Pept* 62: 1-11
- Lázár G (1969) Efferent pathways of the optic tectum in frog. *Act Biol Acad Sci Hung* 20: 171-183
- Lázár G (1979) Organization of the frog visual system. In: Lissak R (ed) *Recent developments of biology in Hungary Vol 8*. Akademiai Kiado, Budapest, pp 9-50
- Lázár G (1984) Structure and connections of the frog optic tectum. In: Vanegas H (ed.) *Comparative neurology of the optic tectum*. Plenum Press, New York London, pp 185-210
- Lázár G (1989) Cellular architecture and connectivity of the frog's optic tectum and pretectum. In: Ewert J-P, Arbib MA (eds) *Visuomotor coordination: amphibians, comparisons, models, and robots*. Plenum Press, New York London, pp 175-199
- Lázár G (2001) Peptides in frog brain areas processing visual information. *Microsc Res Tech* 54(4): 201-219
- Lázár G , Tóth P, Csank G, Kicliter E (1983) Morphology and location of tectal projection neurons in frogs: a study with HRP and cobalt-filling. *J Comp Neurol* 215: 108-120
- Lázár G, Maderdrut JL, Trasti SL, Liposits Z, Tóth P, Kozciz T, Merchenthaler I (1993) Distribution of proneuropeptide Y-derived peptides in the brain of *Rana esculenta* and *Xenopus laevis*. *J Comp Neurol* 327: 551-571
- Lettvin JY, Maturana HR, McCulloch WS, Pitts WH (1959) What the frog's eye tells the frog's brain. *Proc Inst Radio Engin* 47: 1940-1951
- Lettvin JY, Maturana HR, McCulloch WS, Pitts WH (1961) Two remarks on the visual system of the frog. In: Rosenblith WA (ed) *Sensory communication*. MIT Press, Cambridge Mass, pp 757-776
- Lofthus TM, Jaworsky DE, Frehywot GL, Townsend CA, Ronnett GV, Lane MD, Kuhajda FP (2000) Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors. *Science* 288: 5229-5234
- Löscher W, Ungemach FR, Kroker R (1997) *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Parey Verlag Berlin, pp 48-49
- Lundberg JM, Pernow J, Fried G, Angaard A (1987) Neuropeptide Y and noradrenaline mechanisms in relation to reserpine induced impairment of

- sympathetic neurotransmission in the cat spleen. *Acta Physiol Scand* 131: 1-10
- Matsumoto N (1989) Morphological and physiological studies of tectal and pretectal neurons in the frog. In: Ewert J-P, Arbib MA (eds) *Visuomotor coordination: amphibians, comparisons, models, and robots*. Plenum Press, New York London, pp 201-222
- Matsumoto N, Schwippert WW, Ewert J-P (1986) Intracellular activity of morphologically identified neurons of the grass frog's optic tectum in response to moving configurational visual stimuli. *J Comp Physiol A* 159: 721-739
- Matsumoto N, Schwippert WW, Beneke TW, Ewert J-P (1991) Forebrain-mediated control of visually guided prey-catching in toads: investigation of striato-pretectal connections with intracellular recording/labeling methods. *Behav Processes* 25: 27-40
- Maturana HR, Lettvin JY, McCulloch WS, Pitts WH (1960) Anatomy and physiology of vision in the frog (*Rana pipiens*). *J Gen Physiol* 43: 129-176
- Maturi MF, Greene R, Speir E, Burrus C, Dorsey LM, Markle DR, Maxwell M, Schmidt W, Goldstein SR, Patterson RE (1989) Neuropeptide Y. A peptide found in human coronary arteries constricts primarily small coronary arteries to produce myocardial ischemia in dogs. *J Clin Invest* 83: 1217-1224
- McCulloch J, Savaki HE, McCulloch MC, Jehle J, Sokoloff L (1982) The distribution of alterations in energy metabolism in the rat brain produced by apomorphine. *Brain Res* 243: 67-80
- McKay DM, Shaw C, Halton DW, Thim L, Buchanan KD (1992) The primary structure and tissue distribution of an amphibian neuropeptide Y. *Reg Pept* 37: 143-153
- Miller AL, Kiney C (1981) Metabolism of (14)C-Fluorodesoxyglucose by rat brain in vivo. *Life Sci* 28: 2071-2076
- Neary TJ (1980) Hypothalamic afferents in ranid frogs. *Anat Rec* 196: 135A
- Neary TJ, Northcutt RG (1983) Nuclear organization of the bullfrog diencephalon. *J Comp Neurol* 213: 262-278
- Neary TJ, Wilczynski W (1977b) Ascending thalamic projections from the obex region in ranid frogs. *Brain Res* 138: 529-533
- Neary TJ, Wilczynski W (1979) Anterior and posterior thalamic afferents in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Soc Neurosci Abstr* 5: 144

- Neary TJ, Wilczynski W (1980) Descending inputs to the optic tectum in ranid frogs. Soc Neurosci Abstr 6: 629
- Nelson T, Kaufmann EE, Sokoloff L (1984) 2 Deoxyglucose incorporation into rat brain glycogen during measurement of local cerebral glucose utilization by the 2-Deoxyglucose method. J Neurochem 43: 949-956
- Nuedo R, Masterton RB (1986) Stimulation induced [<sup>14</sup>C]2-desoxyglucose labeling of synaptic activity in the central auditory system. J Comp Neurol 245: 553-565
- Potter HD (1969) Struktural characteristics of cell and fiber populations in the optic tectum of the frog (*Rana catesbeiana*). J Comp Neurol 136: 203-232
- Potter HD (1972) Terminal arborizations of retino-tectal axons in the bullfrog. J Comp Neurol 144: 269-283
- Reperant J, Vesselkin NP, Ermakova TV, Rustamov EK, Rio J-P, Palatnikov GK, Peyrichoux J, Kasimov RV (1982) The retinofugal pathways in a primitive actinopterygian, the chondrosteian *Acipenser güldenstädti*. An experimental study using degeneration, radioautographic and HRP methods. Brain Res 251: 1-23
- Roček Z (2000) Mesozoic anurans. In: Heatwole H (ed) Amphibian biology, Vol 4. Paleontology. Surrey Beatty, Chipping Norton, Australia, pp 1295-1331
- Roček Z, Rage JC (2000) Tertiary Anura of Europe, Africa, Asia, North America and Australia. In: Heatwole H (ed) Amphibian biology, Vol 4. Paleontology. Surrey Beatty, Chipping Norton, Australia, pp. 1332-1387
- Roth G, Grunwald W, Dicke U (2003) Morphology, axonal projection pattern, and responses to optic nerve stimulation of thalamic neurons in the fire-bellied toad *Bombina orientalis*. J Comp Neurol 461: 91-110
- Röttgen A (1999) Über den Einfluss von Neuropharmaka auf die visuelle Ansprechbarkeit in der retino-tectalen Projektion der Agakröte. Dissertation, Univ Kassel
- Rubinson K (1968) Projections of the tectum opticum of the frog. Brain Behav Evol 1: 529-561
- Ryan AF, Sharp FR (1982) Localization of (3H)2-deoxyglucose at the cellular level using freeze-dried tissue and dry-looped emulsion. Brain Res 252: 177-180
- Sachs L (1992) Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York

- Sanchiz B (1998) Encyclopedia of paleoherpetology. Part 4. Salientia, Pfeil, München
- Satou M, Ewert J-P (1985) The antidromic activation of tectal neurons by electrical stimuli applied to the caudal medulla oblongata in the toad *Bufo bufo* L. *J Comp Physiol A* 157: 739-748
- Scalia F (1976) The optic pathway of the frog: nuclear organization and connections. In: Llinás R, Precht W (eds) *Frog neurobiology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 386-406
- Scalia F, Gregory K (1970) Retinofugal projections in the frog: location of the postsynaptic neurons. *Brain Behav Evol* 3: 16-29
- Scalia F, Fite K (1974) A retinotopic analysis of the central connections of the optic nerve in the frog. *J Comp Neurol* 158: 455-478
- Schappmann A, Stryker MP (1980) Relationship between discharge frequency and glucose utilisation in visual cortex of cat and kitten. *Soc Neurosci Abstr* 6: 314
- Schwippert WW, Ewert J-P (1995) Effect of neuropeptide-Y on tectal field potentials in the toad. *Brain Res* 669: 150-152
- Schwippert WW, Röttgen A, Ewert J-P (1998) Neuropeptide Y (NPY) or fragment NPY13-36, but not NPY18-36, inhibit retino-tectal transfer in cane toads *Bufo marinus*. *Neurosci Lett* 253: 33-36
- Schwippert WW, Beneke TW, Ewert J-P (1995) Pretecto-tectal influences II. How retinal and pretectal inputs to the toad's tectum interact: a study of electrically evoked field potentials. *J Comp Physiol A* 176: 181-192
- Silva AP, Xapelli S, Pinheiro PS, Ferreira R, Lourenço J, Cristóvão A, Grouzmann E, Cavadas C, Oliveira CR, Malva JO (2005). Up-regulation of neuropeptide Y and glutamate release through neuropeptide Y receptors in the hippocampus of kainate-induced epileptic rats. *J Neurochem* 93: 163
- Singman EL, Scalia F (1990) Quantitative study of the tectally projecting retinal ganglion cells in the adult frog: I. The size of the contralateral and ipsilateral projections. *J Comp Neurol* 302: 792-809
- Soderberg C, Pieribone VA, Dahlstrand J, Brodin L, Larhammar D (1993) Neuropeptide role of both peptide YY and neuropeptide Y in vertebrates suggested by abundant expression of their mRNAs in a cyclostome brain. *J Neurosci Res* 37: 633-640
- Sokoloff L, Reivich M, Kennedy C, DesRosiers MH, Patlak CS, Pettigrew KD, Sakurada O, Shinohara M (1977) The (<sup>14</sup>C)-deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure

- and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J Neurochem* 28: 897-916
- Sokoloff L (1984) Modeling metabolic processes in the brain in vivo. *Ann Neurol Suppl* 15: 1-11
- Sokoloff L (1992) Imaging techniques in studies of neuronal functions. In: Gonzales-Lima F, Finkenstädt Th, Scheich H (eds) *Advances in metabolic mapping techniques for brain imaging of behavioral and learning functions. Part 1, NATO ASI Series: Series D Behavioural and social science Vol 68*: pp 1-31
- Sols A, Crane RK (1954) Substrate specificity of brain hexokinase. *J Biol Chem* 210: 581-595
- Székely G (1973) Anatomy and synaptology of the optic tectum. In: Autrum H, Jung R, Loewenstein WR, MacKay DM, Teuber HL (eds) *Handbook of sensory physiology VII/3, Central processing of visual information, Part B. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York*, pp 1-26
- Székely G, Lázár G (1976) Cellular and synaptic architecture of the optic tectum. In: Llinás R, Precht W (eds) *Frog neurobiology. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York*, pp 407-434
- Székely G, Setalo G, Lázár G (1973) Fine structure of the frog's optic tectum: optic fiber termination layers. *J Hirnforsch* 13: 189-225
- Tatemoto K (1982) Neuropeptide Y: Complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 5485-5489
- Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V (1982) Neuropeptide Y – a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature* 296(5858): 659-660
- Theurich M, Müller CM, Scheich H (1984) 2-deoxyglucose accumulation parallels extracellularly recorded spike activity in the avian auditory neostriatum. *Brain Res* 322: 157-161
- Trachtenberg MC, Ingle D (1974) Thalamo-tectal projections in the frog. *Brain Res* 79: 419-430
- Tuinhof R, Laurent FYSC, Ebbers RGE, Smeets WJAJ, van Riel MCHM, Roubos EW (1993) Immunocytochemistry and in situ hybridization of neuropeptide Y in the hypothalamus of *Xenopus laevis* in relation to background adaptation. *Neurosci* 55: 667-675
- Vezzani A, Civenni G, Rizzi M, Monno A, Messali S, Samanin R (1994). Enhanced neuropeptide Y release in the hippocampus is associated with chronic seizure susceptibility in kainic acid treated rats. *Brain Res* 660: 138-143



- Vezzani A, Sperk G, Colmers WF (1999) Neuropeptide Y: Emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends in Neuroscience* 22: 25-30
- Wahlstedt C, Hakanson R (1986) Effects of neuropeptide Y (NPY) at the sympathetic neuroeffector junction. Can pre- and postjunctional receptors be distinguished? *Med Biol* 64: 85-88
- Weerasuryia A, Ewert J-P (1983) Afferents of some dorsal retino-recipient areas of the brain of *Bufo bufo*. *Soc Neurosci Abstr* 9: 536
- Wietersheim A v, Ewert J-P (1978) Neurons of the toad's (*Bufo bufo* L) visual system sensitive to moving configurational stimuli: a statistical analysis. *J Comp Physiol* 126: 35-42
- Wilczynski W (1981) Afferents to the midbrain auditory center in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. Ph D Thesis, University of Michigan
- Wilczynski W, Northcutt RG (1977) Afferents to the optic tectum of the leopard frog: an HRP study. *J Comp Neurol* 173: 219-229
- Wilczynski W, Northcutt RG (1983b) Connections of the bullfrog striatum: efferent projections. *J Comp Neurol* 214: 333-343
- Wynne B, Delius JD (1995) Sensitization to apomorphine in pigeons : unaffected by latent inhibition but still due to classical conditioning. *Psychopharmacol* 119: 414-420
- Wynne B, Delius JD (1996) Frontal forebrain lesions: effects on the foraging and apomorphine pecking of pigeons. *Physiol and Behav* 59: 757-762
- Wye-Dvorak J, Straznicky C (1991) Retinal distribution of ganglion cells which project to the ipsilateral optic tectum in *Bufo marinus*. *Brain Res* 555: 313-318
- Young WG, Deutsch JA (1980) Effects of blood glucose levels on (<sup>14</sup>C)-2-deoxyglucose uptake in rat brain tissue. *Neurosci Lett* 20: 89-93

## 8 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Laminäre Schichtung des Tectum opticum bei Amphibien (nach Székely & Lázár 1976). Darstellung der einzelnen tectalen Schichten (nummeriert von 1-9 am linken Rand), sowie die in den Schichten befindlichen Neuronentypen, nummeriert von 1-10 in der Abb.) 1,2 = große birnenförmige Zellen, 3 = pyramidale Zellen, 4 = ganglionäre Zellen, 5, 6 = kleine birnenförmige Zellen, 7 = bipolare Neuronen, 8 = Sternzellen, 9 = amakrine Zellen, 10 = optische Endigungen 11
- Abbildung 2: *Bombina orientalis* (Chinesische Rotbauchunke) 14
- Abbildung 3: *Bufo marinus* (Agakröte) 17
- Abbildung 4: Strukturformel Succinylcholin 20
- Abbildung 5: Strukturformel  $\beta$ -D-Glukose und  $\beta$ -2-D-Desoxiglukose 22
- Abbildung 6: Versuchsarena mit Attrappenwechselautomatik (nach Ewert & Burghagen), a: Glaszylinder mit Abdeckung, b: Attrappenarme u. – halterungen (Abdeckung fehlt), c: Schaltelement für Attrappenhalterungen, d: Steuerelement für Richtungswechsel, e: Beleuchtung, ringförmige Abgrenzung fehlt zwecks Darstellung 23
- Abbildung 7: Versuchsarena mit *Bombina orientalis* mit ringförmiger Abgrenzung 24
- Abbildung 8: *Bombina orientalis* am Glaszylinderrand, orientiertes Zuwenden auf Beute-Attrappe 1 25
- Abbildung 9: Strukturformel Apomorphin 34
- Abbildung 10: Strukturformel Dopamin 35
- Abbildung 11: Querschnitte durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*; (A) zeigt einen histologischen Schnitt (Klüver-Barrera-Färbung) mit schematischer Kennzeichnung der anatomischen Strukturen. (B) zeigt eine neuroanatomisch entsprechende  $^{14}\text{C}$ -2DG-Autoradiographie. (a) und (b) stellen Ausschnittsvergrößerungen vom Tectum opticum aus (A) und (B) dar. 40
- Abbildung 12: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Querschnitt durch das mediale Mesencephalon. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten pharmakologisch unbehandelten Rotbauchunke. 42
- Abbildung 13: Histogramm des unter Abbildung 12 dargestellten Querschnittes des Mesencephalon. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften. 42

- Abbildung 14: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke unter dem Einfluss von unilateral appliziertem NPY in einer Konzentration von  $10^{-4}$  mol/l. 43
- Abbildung 15: Histogramm des unter Abbildung 14 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bombina orientalis*, nach unilateraler NPY-Applikation auf die tectale Oberfläche. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften. 43
- Abbildung 16: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke unter dem Einfluss von Apomorphin in einer Dosierung von 50 mg/kg KG. 45
- Abbildung 17: Histogramm des unter Abbildung 16 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bombina orientalis*, nach systemischer Apomorphin- Gabe. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften. 45
- Abbildung 18: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten chinesischen Rotbauchunke unter dem Einfluss von Apomorphin in einer Dosierung von 50 mg/kg KG und unilateral appliziertem NPY in einer Dosierung von  $10^{-4}$  mol/l. 46
- Abbildung 19: Histogramm des unter Abbildung 18 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bombina orientalis*, nach systemischer Apomorphin Applikation und unilateraler NPY Applikation. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften. 46
- Abbildung 20: Gegenüberstellung jeweils einer tectalen Hälfte verschiedener Versuchstiere: a = unbehandelte Rotbauchunke, b = Rotbauchunke nach systemischer APO-Applikation, c = Rotbauchunke nach unilateraler NPY- Applikation, d = Rotbauchunke nach Gabe von APO und NPY 48
- Abbildung 21: Querschnitt durch das mediale Mesencephalon von *Bombina orientalis*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen visuell stimulierten pharmakologisch unbehandelten Rotbauchunke unter dem Einfluss eines unilateral aufgetragenen Agarose-Gelkissens. 49
- Abbildung 22:  $^{14}\text{C}$ -2DG-Aufnahme einer visuell stimulierten Unke unter dem Einfluss des Muskelrelaxans Succinyl-Asta® (2%ig) in einer Dosierung von 60 mg/kg KG 50

- Abbildung 23: Querschnitt durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen und Beleuchtungswechsel visuell stimulierten Agakröte unter dem Einfluss von unilateral appliziertem NPY in einer Dosierung von  $10^{-4}$  mol/l. 52
- Abbildung 24: Histogramm des unter Abbildung 23 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*, nach unilateraler NPY-Applikation auf die tectale Oberfläche. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften. 52
- Abbildung 25: Querschnitt durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*. Zerebrale Aktivitäten einer mit Beute-Attrappen und Beleuchtungswechsel visuell stimulierten Agakröte unter dem Einfluss von Apomorphin in einer Dosierung von 40 mg/kg KG und unilateral appliziertem NPY in einer Dosierung von  $10^{-4}$  mol/l. 53
- Abbildung 26: Histogramm des unter Abbildung 18 dargestellten Querschnittes durch das Mesencephalon von *Bufo marinus*, nach systemischer Apomorphin Applikation und unilateraler NPY Applikation. Demonstriert wird die lokale  $^{14}\text{C}$ -2DG Aufnahme [ $\mu\text{Ci}$ ] gemessen an 6 horizontal, im Abstand von jeweils  $15\mu\text{m}$ , geführten virtuellen Linien (SEC\_ 1-6) durch beide tectalen Hälften. 53
- Abbildung 27a: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum. Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere ( $n = 12$ ) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel Unke1-12) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum. 56
- Abbildung 27b: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum ( $n = 12$ ). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 24a. 56
- Abbildung 27c: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken und rechten Tectum opticum ( $n = 12$ ). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 27a. 57
- Abbildung 28a: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 12$ ). Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum. 58
- Abbildung 28b: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler ( $n = 12$ ). Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum. 58

- Abbildung 28c: Gruppe 1 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 12). Quelle der Messdaten sind beide tectalen Hälften. 59
- Abbildung 29a: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum, nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die tectale Oberfläche. Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert ( $\text{Mittel}_{\text{Unke1-5}}$ ) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum. 61
- Abbildung 29b: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum, nach lokaler Applikation von NPY ( $10^{-4}$  mol/l) auf die linke tectale Oberfläche. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 29a. 61
- Abbildung 29c: Vergleich der Mittelwerte ( $\text{Mittel}_{\text{Unke1-5}}$ ) aus Abb. 29a und 29b, die durchschnittlichen Strahlungsintensitäten vom linken Tectum opticum nach Applikation von NPY (blaue Messkurve) liegen deutlich unter denen des rechten unbehandelten Tectum opticum (rote Messkurve). 62
- Abbildung 30a: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum. 63
- Abbildung 30b: Gruppe 2 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum. 63
- Abbildung 31a: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach systemischer Applikation von APO (50 mg/kg KG). Der durchschnittliche  $^{14}\text{C}$ -2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert ( $\text{Mittel}_{\text{Unke1-5}}$ ) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum. 65
- Abbildung 31b: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach systemischer Applikation von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 31a. 65
- Abbildung 31c: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den  $^{14}\text{C}$ -2DG-Metabolismus des linken und rechten Tectum opticum nach systemischer Applikation von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 31a. 66

- Abbildung 32: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Mittelwerte beider tectalen Hälften von unbehandelten *Bombina orientalis* (n = 12; roter Kurvenverlauf) und mit APO behandelten *Bombina orientalis* (n = 5; grüner Kurvenverlauf). 66
- Abbildung 33a: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach systemischer Applikation von APO. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum. 67
- Abbildung 33b: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach systemischer Applikation von APO. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum. 67
- Abbildung 33c: Gruppe 3 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach systemischer Applikation von APO. Quelle der Messdaten sind beide tectalen Hälften. 68
- Abbildung 34a: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY (10<sup>-4</sup> mol/l) auf die linke tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Der durchschnittliche <sup>14</sup>C-2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (MittelUnke1-5) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum. 69
- Abbildung 34b: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY (10<sup>-4</sup> mol/l) auf die linke tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 34a. 69
- Abbildung 34c: Vergleich der Mittelwerte aus Abb. 34a und 34b, die durchschnittlichen Strahlungsintensitäten vom linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY und systemischer Gabe von APO (orange Messkurve) liegen deutlich unter denen des rechten nur unter dem Einfluss von APO stehenden Tectum opticum (grüne Messkurve). 70
- Abbildung 35a: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche und systemischer APO Gabe. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum. 71
- Abbildung 35b: Gruppe 4 (*Bombina orientalis*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach unilateraler

- Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche und systemischer APO Gabe. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum. 71
- Abbildung 36a: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum, nach lokaler Applikation von NPY (10<sup>-4</sup> mol/l) auf die linke tectale Oberfläche. Der durchschnittliche <sup>14</sup>C-2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel<sub>Kröte1-5</sub>) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum 73
- Abbildung 36b: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum, nach lokaler Applikation von NPY (10<sup>-4</sup> mol/l) auf die linke tectale Oberfläche. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 36a. 73
- Abbildung 37a: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das linke Tectum opticum. 75
- Abbildung 37b: Gruppe 2 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach unilateraler Applikation von NPY auf die linke tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das rechte unbehandelte Tectum opticum. 75
- Abbildung 38a: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des rechten Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY (10<sup>-4</sup> mol/l) auf die rechte tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Der durchschnittliche <sup>14</sup>C-2DG-Gebrauch der Einzeltiere (n = 5) wird farbig dargestellt. Der sich daraus ergebende Mittelwert (Mittel<sub>Kröte1-5</sub>) wird durch die schwarze Linie gekennzeichnet. Die Messwertbestimmungen erfolgten vom dorsalen zum ventralen Tectum opticum. 77
- Abbildung 38b: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Einfluss visueller Reizgabe auf den <sup>14</sup>C-2DG-Metabolismus des linken Tectum opticum nach lokaler Applikation von NPY (10<sup>-4</sup> mol/l) auf die rechte tectale Oberfläche und systemischer Gabe von APO (50 mg/kg KG). Weitere Erläuterungen siehe Abb. 38a. 77
- Abbildung 39a: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach systemischer Apo-Gabe und nach unilateraler Applikation von NPY auf die rechte tectale Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das rechte Tectum opticum. 78
- Abbildung 39b: Gruppe 4 (*Bufo marinus*): Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Standardfehler (n = 5) nach systemischer Apo-Gabe und unilateraler Applikation von NPY auf die rechte tectale

Oberfläche. Quelle der Messdaten ist das linke unbehandelte Tectum opticum. 78

Abbildung 40: Verglichen werden die Mittelwerte der Versuchsgruppen 2 und 4. Blau: Gruppe 2 (*Bufo marinus*) nach unilateraler NPY-Applikation; Rot: Gruppe 2 (*Bufo marinus*) unbehandelte tectale Hälfte; Orange: Gruppe 4 (*Bufo marinus*) nach systemischer APO-Gabe und unilateraler NPY-Applikation; Grün: Gruppe 4 (*Bufo marinus*) nach systemischer APO-Gabe 79



## 9 Anhang

### 9.1 Abkürzungsverzeichnis

A	anteriorer dorsaler thalamischer Nucleus
Ach	Acetylcholin
APO	Apomorphin
Cp	Corpus geniculatum thalamicum
DA	Dopamin
DMT	Dimethyltryptamin
ERF	Excitatorisches rezeptives Feld
IST	Nucleus isthmi
KG	Körpergewicht
Lpd	lateraler posterodorsaler praetectaler Thalamus
Lpv	lateraler posteroventraler praetectaler Thalamus
NB	Neuropil Bellonci
NPY	Neuropeptid Y
NPY-ir	NPY-immunreaktiv
P	posteriorer praetectaler thalamischer Nucleus
PO	praeoptische Region
PP	pankreatisches Polypeptid
PYY	Peptid YY
TO	Tectum opticum
dTO	dorsales Tectum opticum
mTO	mediales Tectum opticum
vTO	ventrales Tectum opticum
sTO	Schnappzone des ventrolateralen Tectum opticum
TS	Torus semicircularis
dTeg	anterodorsaler Teil des Tegmentum
vTeg	anteroventraler Teil des Tegmentum

## 9.2 Physiologische Blutersatzlösung (Ringerlösung) für Unken und Kröten

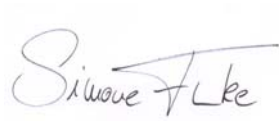
### Rezept

6.50g	NaCl
0.14g	KCl
0.12g	CaCl <sub>2</sub>
0.20g	NaHCO <sub>3</sub>
0.01g	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
2.00g	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> *H <sub>2</sub> O

Die angegebenen Mengen wurden eingewogen und mit Aqua dest. auf 1000ml aufgefüllt. Der ph-Wert der Lösung wurde auf ph 7.0 eingestellt

### 9.3 Erklärung

“Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und andere als die in der Dissertation angegebenen Hilfsmittel nicht benutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder unveröffentlichten Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Kein Teil dieser Arbeit ist in einem anderen Promotions- oder Habilitationsverfahren verwendet worden.“

A handwritten signature in black ink that reads "Simone Funke". The signature is written in a cursive style with a long horizontal stroke extending from the end of the name.

Simone Funke

Gut Escheberg, November 2005

## 9.4 Curriculum Vitae

### Persönliche Daten

Simone Funke

Gut Escheberg 12  
D-34289 Zierenberg

geboren am 15.12.1969 in Warburg/Westfalen  
Familienstand: verheiratet mit Dipl.-Ing. Markus Funke  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### Berufliche Bildung

#### **Schulbildung**

08/76-07/80 Grundschule in Warburg  
09/80-05/89 Gymnasium Marianum in Warburg  
Abschluss: Abitur

#### **Berufsausbildung und berufliche Erfahrung**

03/90-03/92 Ausbildung zur Medizinisch-Technischen-Assistentin (MTA)  
in der Lehranstalt für Medizinisch-Technische-Assistenten in  
Frankfurt am Main/Höchst  
Abschluss: Staatsexamen  
04/92-09/93 Anstellung als MTA in der Abteilung Mikrobiologie der  
Laborgemeinschaft Drs. med. Hess, Schonard und Kruse in  
Kassel  
10/93-10/95 Studium der Humanmedizin an der Georg-August-  
Universität Göttingen  
04/96-06/00 Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen  
Hochschule Hannover  
08/00 Approbation als Veterinärmedizinerin  
07/00-11/00 Hospitanz in der Groß- und Kleintierpraxis Blume,  
Volkmarsen  
12/00-12/05 Anstellung als wissenschaftliche Mitarbeiterin in der  
Abteilung Neurobiologie, FB 18 Naturwissenschaften der  
Universität Kassel, Leiter: Prof. Dr. J.-P. Ewert. Ziel:  
Promotion Dr. rer. nat.

#### **Sonstige Tätigkeiten**

Studienbegleitend  
bis 09/97 Tätigkeit als MTA in der Laborgemeinschaft Hess, Abt.  
Mikrobiologie  
03/01-03/03  
und seit 01/04 Nebenbeschäftigung als Tierärztin in der Kleintierpraxis  
Oster, Warburg