

Aus dem Zentrum der Morphologie
(Dr. Senckenbergische Anatomie)
des Klinikums der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. H.-W. Korf)

**OXYTOCIN UND VASOPRESSIN
ALS POTENTIELLE VERHALTENSMODULATOREN
IM GEHIRN VON RATTE UND GRAUMULL,
CRYPTOMYS ANSELLI
EINE EXPERIMENTELLE IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Eva Maria Valesky
aus München

Frankfurt am Main 2004

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. H. A. Oelschläger

Korreferent: Prof. Dr. Dr. E. Siebzehrübl

Tag der mündlichen Prüfung: 15. November 2004

Meinen Eltern in tiefer Dankbarkeit gewidmet

I. EINLEITUNG.....	1
1. NEUROENDOKRINOLOGIE	1
1.1. Historischer Rückblick	1
1.2. Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP).....	1
2. VERHALTEN UND HORMONE	6
3. MONOGAMIE UND EUSOZIALITÄT	9
4. DER GRAUMULL (<i>CRYPTOMYS ANSELLI</i>)	13
5. DIE RATTE (<i>RATTUS RATTUS</i>).....	15
6. FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG	16
II. DER HYPOTHALAMUS.....	19
1. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN	19
2. GLIEDERUNG DES HYPOTHALAMUS	19
3. DAS MAGNOZELLULÄRE UND DAS PARVOZELLULÄRE SYSTEM.....	24
4. TOPOGRAPHIE, STRUKTUR UND FUNKTION DER HYPOTHALAMISCHEN KERNGEBIETE	27
4.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa).....	30
4.2. Nucleus commissuralis anterior (CoA)	32
4.3. Nucleus supraquiasmaticus (SCh)	34
4.4. Nucleus supraopticus (SO)	35
4.5. Akzessorische magnozellular neurosekretorische Neuronen (ACC)	36
4.5. Der Mamillarkörperkomplex („mammillary complex“)	39
III. ZUR IMMUNHISTOCHEMIE	42
IV. MATERIAL UND METHODE.....	46
1. UNTERSUCHTE TIERE	47
2. LABORTECHNISCHER TEIL	50
2.1. Äthernarkose, Thorakotomie, Perfusion, Präparation, Postfixation	50
2.2. Kryoprotektion, Gelatine-Einbettung, Kryotomie	51
2.3. Endogene Peroxidase-Reaktion.....	52
2.4. Testinkubation.....	53
2.5. Primärinkubation	54
2.6. Sekundärinkubation.....	55
2.7. Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex (ABC)-Reaktion	55
2.8. Diaminobenzidin (DAB)- Entwicklung.....	56
2.9. Nissl-Färbung.....	57
3. LICHTMIKROSKOPISCHE AUSWERTUNG, STATISTIK	58
4. ANMERKUNGEN ZUR QUANTITATIVEN AUSWERTUNG	61
V. ERGEBNISSE	62
1. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN	62

2. QUALITATIVE ANALYSEN.....	62
2.1. Oxytocin-immunreaktive Neuronen im Rattengehirn	62
2.2. Oxytocin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn	68
2.3. Vasopressin-immunreaktive Neuronen im Rattengehirn	73
2.4. Vasopressin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn	76
3. QUANTITATIVE ANALYSEN	79
3.1. Oxytocin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn	79
3.2. Vasopressin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn	85
4. QUALITATIVE, SEMIQUANTITATIVE UND TOPOGRAPHISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN RATTE UND GRAUMULL	90
5. PHOTOGRAPHISCHE DOKUMENTATION DER ORIGINALBEFUNDE	93
VI. DISKUSSION.....	141
1. <i>INTERSPEZIFISCHER VERGLEICH DER OXYTOCIN- UND VASOPRESSINERGEN NEURONENPOPULATIONEN BEI RATTE UND GRAUMULL.</i>	141
2. <i>INTRASPEZIFISCHER VERGLEICH DER OXYTOCIN- UND VASOPRESSINERGEN NEURONEN BEIM GRAUMULL</i>	146
3. DIE ERGEBNISSE BEEINFLUSSENDE FAKTOREN	148
3.1. Methodische Faktoren.....	148
3.2. Zur Problematik der Colchicinbehandlung.....	149
3.3. Geschlechtsdimorphismus	150
3.4. Die neuronale Plastizität.....	150
4. OXYTOCIN UND VERHALTEN	151
5. VASOPRESSIN UND VERHALTEN	153
6. SPEZIESUNTERSCHIEDE IN DER VERTEILUNG VON OXYTOCIN- UND VASOPRESSIN- REZEPTOREN	155
7. PAARUNGSSTRATEGIEN UND UMWELTEINFLÜSSE	156
8. ANGEWANDTE ASPEKTE AUS MEDIZINISCHER SICHT	158
9. SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK	159
VII. ZUSAMMENFASSUNG.....	161
VIII. SUMMARY	164
IX. ANHANG	167
1. LISTE SÄMTLICHER ABKÜRZUNGEN.....	167
2. REZEPTE FÜR PUFFER UND ANDERE LÖSUNGEN.....	171
X. LITERATURVERZEICHNIS.....	174
XI. DANKSAGUNG.....	193

I. Einleitung

1. Neuroendokrinologie

1.1. Historischer Rückblick

Die Erkenntnis, daß bestimmte Neuronen im Gehirn Hormone produzieren, gehört inzwischen zum Allgemeingut des biomedizinischen Wissens und hat in den letzten Jahrzehnten zur Entstehung einer neuen, rasant fortschreitenden Disziplin, der Neuroendokrinologie, beigetragen (SCHARRER and SCHARRER 1963; SCHARRER 1979, 1987). Das sekretorische Neuron vereint in sich die Eigenschaften von Drüsen- und Nervenzellen und stellt somit ein Bindeglied zwischen dem Zentralnervensystem und dem endokrinen Apparat dar. Noch bis in die 50er Jahre des vergangenen Jahrhunderts gab es Histologen und Hirnforscher, für die eine sekretorische Tätigkeit von Nervenzellen unvorstellbar war (KÜHNEL 2001). 1949 war es BARGMANN mit Hilfe einer speziellen Färbung gelungen, die „neurosekretorische Bahn des Hundes in ihrer ganzen Länge bis in den Hinterlappen der Hypophyse zu verfolgen“ (BARGMANN 1949). 1950 fügten sich die Erkenntnisse von Bargmann sowie von E. und B. Scharrer, die als Pioniere der Neuroendokrinologie gelten, zu einer gemeinsamen Definition des Phänomens Neurosekretion zusammen. Es folgte eine schnelle und ausgreifende Weiterentwicklung der Neuroendokrinologie; Methoden wie die Immunhistochemie und Molekularbiologie tragen bis heute noch dazu bei, fundamentale Erkenntnisse über die Physiologie sekretorischer Nervenzellen zu erlangen.

1.2. Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP)

Die Hormone Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP; Synonyme: Arginin-Vasopressin, Adiuretin, antidiuretisches Hormon [ADH]) werden in separaten Populationen magnozellularer Neuronen des Hypothalamus synthetisiert. Die zugehörigen Perikaryen liegen im Nucleus paraventricularis hypothalami und im Nucleus supraopticus, von wo aus die Hormone über axonalen Transport in die Neurohypophyse gelangen und dort in den Körperkreislauf ausgeschüttet werden. Eine geringere Anzahl oxytocinerner und vasopressinerner Neuronen, die in die Neurohypophyse projizieren, sind im Nucleus commissuralis anterior

(CoA) lokalisiert; weitere Neuronen liegen in Gruppen zusammen als akzessorische magnozelluläre neurosekretorische Neuronen. Teilweise werden diese Hormone auch in der Peripherie gebildet, wie z.B. im Nebennierenmark und in den Hoden bzw. Ovarien (VOIGT 1996). Oxytocin und Vasopressin sind jeweils Nonapeptide, d.h. sie bestehen aus 9 Aminosäuren. Die chemische Bezeichnung für *Oxytocin* lautet: Cys-Try-Ile-Glu-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly und die für *Vasopressin* Cys-Try-Phe-Glu-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly, d.h. sie unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung lediglich in zwei Aminosäuren. Das Präprohormon besteht in beiden Fällen aus einer Signalsequenz, dem jeweiligen Peptidhormon (OX oder VP) sowie einem größeren Peptid, welches Neurophysin genannt wird (VOIGT 1996) (Abb. 1). Neurophysin I wird zusammen mit Oxytocin und Neurophysin II zusammen mit Vasopressin (Adiuretin) synthetisiert. Das Vasopressin-Präprohormon enthält zusätzlich noch ein Glykoprotein, welches beim Vorläufer des Oxytocinhormons nicht existiert. Eine mögliche eigenständige biologische Bedeutung der Neurophysine und des Glykoproteins sind zur Zeit noch nicht bekannt.

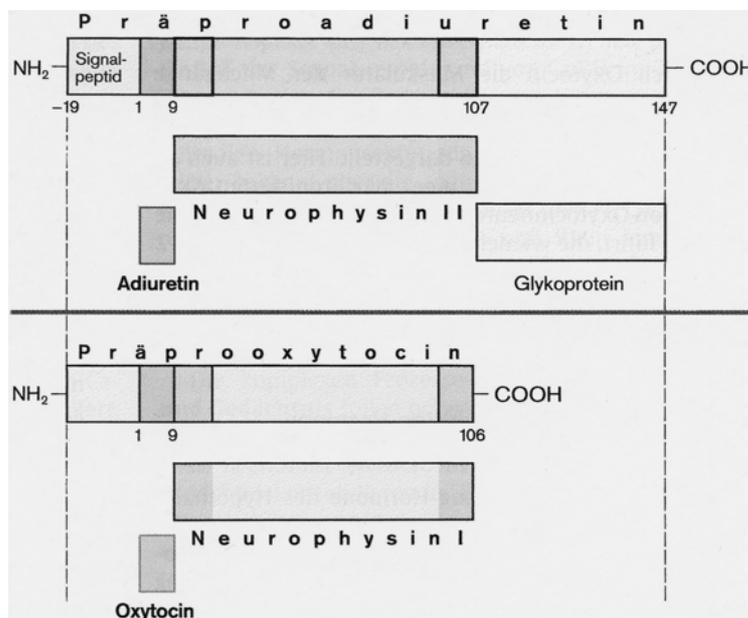


Abb. 1. Struktur von Vasopressin (Adiuretin) und Oxytocin und ihrer Präprohormone. Beide Hormone haben eine starke Strukturähnlichkeit (nur 2 Aminosäuren sind unterschiedlich), und ihre Vorläufermoleküle sind ebenfalls ähnlich aufgebaut. Die aktive Hormonsequenz (1-9) folgt an der aminoterminalen Seite des Präprohormons unmittelbar auf das Signalpeptid. Präpro-oxytocin enthält im Unterschied zu Adiuretin kein Glykoprotein. Abbildung modifiziert nach VOIGT (1996).

In der Evolution der Wirbeltiere (Vertebrata) haben sich Oxytocin und Vasopressin aus einer gemeinsamen Vorstufe, dem Vasotocin entwickelt (VOIGT 1996), das in dieser Form noch bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen vorkommt.

Die Peptidhormone können auf verschiedenen anatomischen Ebenen wirken (BLÄHSE 1982). In der Neurohypophyse und der Pars externa der Eminencia mediana sind die Basallaminae der Kapillaren fenestriert. Die Blut-Hirn-Schranke ist dort unterbrochen. In diesen Kontaktzonen können die Hormone OX und VP in den Blutkreislauf abgegeben werden und ihre Wirkung entfalten. Aufgrund der zahlreichen hypothalamischen und extrahypothalamischen peptidhaltigen Faserendigungen können die Hormone im ZNS ihre Aufgaben als Neuromodulatoren oder Neurotransmitter erfüllen. Die Regulation zentralnervöser Vorgänge durch Oxytocin und Vasopressin beschränkt sich somit nicht auf die Exozytose dieser Hormone an den terminalen Boutons der Neurohypophyse, sondern umfaßt eine zusätzliche Freisetzung entlang der Perikaryen, Axone und Dendriten innerhalb des Hypothalamus (MORRIS and POW 1991). Ein zusätzlicher Wirkmechanismus über die Zerebrospinalflüssigkeit ist durch die ependymnahe und piaie Lokalisation einzelner Neuronen und ihrer Fortsätze sowie durch das Vorkommen der genannten Hormone im Liquor wahrscheinlich.

Zur Funktion von Oxytoxin (OX)

Oxytocin (OX) stimuliert die Kontraktion myoepithelialer Zellen, die für die Milch-Ejektion während der Laktationsphase notwendig ist. Darüber hinaus übernimmt OX bei der Geburt eine bedeutende Rolle. Während des Geburtsvorgangs wird die Oxytocin-Sekretion durch nervale Afferenzen vom Uterus und der Vagina induziert. Oxytocin bewirkt an der glatten Uterusmuskulatur stärkste Kontraktionen („Wehenhormon“). Bei der Ratte konnte gezeigt werden, daß Opiode den Geburtsvorgang inhibieren, indem sie die neurohypophysäre OX-Sekretion reduzieren (RUSSELL ET AL. 1995). Neben der gynäkologischen Bedeutung werden in der Literatur für OX noch weitere Funktionen beschrieben, so die Natriurese (VERBALIS ET AL. 1991) und Antidiurese, Gedächtnisbildung (DEWIED 1983) sowie die Beeinflussung von Paarungsverhalten und mütterlichem Verhalten (WITT 1995). Um die reale Bedeutung von Oxytocin in den jeweiligen Phasen vom Paarungsverhalten bis hin zur Schwangerschaft genauer beurteilen zu können, werden Experimente mit OX-Antagonisten bzw. OX-Antikörpern durchgeführt oder selektive zerebrale Läsionen gesetzt. Zentral ap-

pliziertes OX (Injektion in den dorsalen Vagus-Komplex) erhöht bei der Ratte die Magensäuresekretion und vermindert die Magenmotilität. Diese Effekte verschwinden nach einer Vagotomie (ROGERS and HERMANN 1992). Ob Oxytocin bei weiteren Spezies eine ähnliche Rolle spielt, bleibt noch zu prüfen. Beim Meerschweinchen beispielsweise sprechen die vagalen Neuronen nicht auf OX an (TRIBOLLET ET AL. 1992). Neben der Nahrungsaufnahme hemmt zentral appliziertes Oxytocin auch die Aufnahme von NaCl (VERBALIS ET AL. 1993) und senkt damit effizient die Osmolarität im Serum.

Die Bedeutung von Oxytocin für männliche Individuen ist teilweise noch unklar (YOUNG 1992). Männchen synthetisieren Oxytocin in den gleichen Regionen des Hypothalamus wie die Weibchen. OX kann zusätzlich noch im Hoden bzw. im Ovar sowie im Nebennierenmark produziert werden. Eine Steigerung der Oxytocin-Expression erfolgt bei Hyperosmolarität des Serums sowie durch Stress (YOUNG 1992). OX induziert bei männlichen wie bei weiblichen Ratten die Natriurese und hemmt den „Salzhunger“ (VERBALIS ET AL. 1991). Es gibt Hinweise darauf, daß OX zusätzlich eine Rolle in der Freisetzung von Prolaktin spielt (LUMPKIN ET AL. 1983). Während der Ejakulation kann bei Ratten die pulsatile Freisetzung von Oxytocin nachgewiesen werden. Experimentelle Untersuchungen zeigten, daß Oxytocin den Spermientransport im männlichen reproduktiven System erleichtert sowie die Latenz nach der Ejakulation verkürzt (ARLETTI ET AL. 1992). Ob die Produktion von Oxytocin und/oder die OX-Rezeptorexpression beim männlichen Geschlecht für das Überleben oder die Reproduktion unverzichtbar sind, kann derzeit nicht abschließend beantwortet werden (YOUNG 1996). Ähnlich wenig ist über die entwicklungsgeschichtliche Bedeutung von Oxytocin und seinen Vorläuferstufen bekannt (ALTSTEIN ET AL. 1988). Man weiß lediglich, daß in fetalen Ratten Oxytocin-Rezeptoren früher nachgewiesen werden können als die OX-Expression selbst (TRIBOLLET ET AL. 1989).

Zur Funktion von Vasopressin (VP)

Vasopressin (VP), syn. antidiuretisches Hormon (ADH), fördert in niedrigen Konzentrationen über den Einbau von sog. Aquaporinen in den Sammelrohren der Niere die Wasserrückresorption und reguliert über diesen Mechanismus

den Wasserhaushalt sowie den osmotischen Druck im Blut. Sehr hohe Konzentrationen von Vasopressin führen zu einer Vasokonstriktion. Um eine vasopressorische Wirkung zu erzielen, ist allerdings ungefähr die 40-fache Menge der antidiuretischen Konzentration notwendig. Physiologischerweise werden derartig große Mengen während einer Hypovolämie bzw. Hypotension ausgeschüttet. Weniger bekannt ist die bedeutende Rolle des Vasopressins in der Thermoregulation. Endogen sezerniertes VP wirkt febrilen Entgleisungen entgegen. Zentral injiziertes Vasopressin senkt die Körpertemperatur von Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Katzen und Schafen unabhängig davon, ob eine pyretische Temperaturlage oder eine physiologische basale Körpertemperatur vorliegt (RINAMAN ET AL. 1995).

Bei einer zentralen Störung in der ADH-Produktion oder ADH-Freisetzung (*zentraler Diabetes insipidus*) sinkt aufgrund des ADH-Mangels die Durchlässigkeit der renalen Sammelrohre für Wasser (geringere Rückresorption) und führt beim Menschen zu einem Flüssigkeitsverlust von bis zu 15 l täglich. Beim *nephrogenen Diabetes insipidus* ist der zentrale ADH-Mechanismus zwar intakt, hingegen weisen die Zielstrukturen (Sammelrohre) einen Defekt auf. Trotz hoher ADH-Spiegel bleibt also eine Harnkonzentrierung aus (VOIGT 1996).

Oxytocin und Vasopressin in der zerebrospinalen Flüssigkeit (ZSF)

Unter physiologischen Bedingungen sind OX und VP in der Zerebrospinalflüssigkeit (= Liquor cerebrospinalis, ZSF) in etwas höheren Konzentrationen vorhanden als im Plasma. Die unterschiedlichen OX- und VP-Konzentrationen in Blut und ZSF werden durch die Blut-Liquor-Schranke aufrechterhalten. Als intrazerebraler Zirkulationsweg der Hormone wird angenommen, daß OX und VP in die extrazelluläre Flüssigkeit des Gehirns sezerniert werden und anschließend in die ZSF diffundieren und vice versa (RINAMAN ET AL. 1995). Eine direkte Sekretion der Hormone in den Liquor cerebrospinalis wird diskutiert und ist aufgrund der neuroanatomischen Beobachtungen als sehr wahrscheinlich anzusehen: OX- und VP-immunreaktive (-ir) Fortsätze reichen immer wieder bis an die ependymale Grenze des dritten Ventrikels. Die Funktion von OX in der ZSF bleibt unklar, Vasopressin hingegen scheint eine wichtige Rolle in der Re-

gulation des Blutzufusses zum Plexus choroideus zu spielen und beeinflusst somit die Produktionsrate der ZSF entscheidend (RINAMAN ET AL. 1995).

2. Verhalten und Hormone

(Neuro-)Hormone üben einen starken Einfluß auf das zentrale Nervensystem aus und sind aktivierend und organisierend an der Steuerung von Verhalten und Erleben beteiligt. Neuropeptidsysteme eignen sich aufgrund folgender Eigenschaften besonders gut zur Regulation von Verhaltensweisen (INSEL and YOUNG 2000): *Erstens* sind die meisten Neuropeptide und ihre Rezeptoren in einzelnen neuronalen Bahnen lokalisiert und nicht wie die monoaminergen und GABA-ergen Neurotransmitter diffus im gesamten Vorderhirn verteilt. *Zweitens* wirken Neuropeptide im allgemeinen als Neuromodulatoren, die zwar einen relativ langsamen, aber dafür anhaltenden Effekt auf neuronale Funktionen zeigen. Und *drittens* zeigen Neuropeptidsysteme eine enorme neuronale Plastizität. Darunter versteht man die Veränderlichkeit und das Anpassungsvermögen neuronaler Verbindungen beispielsweise während der Entwicklung oder im Rahmen physiologischer Veränderungen.

Neben den in dieser Arbeit untersuchten Peptidhormone Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP) modulieren auch Glukokortikoide, Mineralokortikoide und Schilddrüsenhormone Verhaltensweisen (MCKINLEY and OLDFIELD 1998). Die wechselseitige Beeinflussung zwischen Hormonen und Verhalten wurde in den vergangenen Jahren am Beispiel von Oxytocin und Vasopressin deutlich: Sozialverhalten, Partnerwahl und Reproduktionsstrategien sind Eigenschaften, die durch Oxytocin und Vasopressin verändert werden können (CARTER 1998, YOUNG ET AL. 2001). Angesichts ihrer Komplexität sind diese Verhaltensweisen wissenschaftlich-neurobiologisch nur schwer zu belegen und schlechter greifbar als einfache neuronale Verschaltungen wie z.B. Reflexbögen. Es wäre vermessenen, diese komplizierten neuronalen Leistungen auf einige wenige Hirnstrukturen zurückzuführen. Die Überlappung der jeweiligen Wirkungsspektren verschiedener Neuropeptide erschwert die grundsätzliche Klärung physiologischer und pathophysiologischer Vorgänge zusätzlich und läßt die Zusammenhänge noch komplexer erscheinen. Vergleichende neurobiologische Studien an nah-

verwandten Spezies können hier helfen, Zusammenhänge zwischen dem zentralen Nervensystem und soziosexuellen Verhaltenweisen aufzuzeigen:

So haben pharmakologische Studien an Wühlmäusen (*Microtus*) gezeigt, daß die Neuropeptide Oxytocin und Vasopressin solche Verhaltensweisen entscheidend beeinflussen können, die mit monogamen Familienstrukturen assoziiert sind. Die Arbeitsgruppe um LARRY J. YOUNG (Emory University, Atlanta, U.S.A.) beschäftigt sich besonders intensiv mit zellulären und neuroendokrinen Mechanismen, welche bei dieser Spezies das Sozial- und Bindungsverhalten zu beeinflussen scheinen. Wühlmäuse (*Microtus*) eignen sich ganz allgemein besonders gut als Tiermodell, um Verhaltensweisen wie die Monogamie bei Säugetieren zu untersuchen, da sie trotz der nahen Verwandtschaft einzelner Spezies untereinander in ihrer sozialen Organisation und im Paarungsverhalten bemerkenswerte artspezifische Unterschiede zeigen. Das Artenspektrum umfaßt die monogamen Präriewühlmäuse (*Microtus ochrogaster*) und Kiefern- wühlmäuse (*Microtus pinetorum*) sowie die promiskuitiv lebenden Wiesenwühl- mäuse (*Microtus pennsylvanicus*) und Bergwühlmäuse (*Microtus montanus*) (CARTER ET AL. 1995).

Zentral injiziertes Vasopressin (VP) steigert v.a. bei männlichen Prärie- wühlmäusen (*Microtus ochrogaster*) das Potential an Aggression gegenüber Eindringlingen; gleichzeitig fördert es ihr Bindungsverhalten gegenüber Familienmitgliedern. Im Gegensatz dazu zeigt die Injektion von Vasopressin bei den promiskuitiv lebenden Bergwühlmäusen keinen Effekt auf das Aggressionspo- tential (YOUNG ET AL 1997). Die durch die Peptidhormone induzierten Verhal- tensweisen variieren also nicht nur mit dem Substrat, sondern auch mit der so- zialen Organisation der Spezies.

Monogam lebende Männchen wie auch Weibchen suchen, nachdem sie verpaart worden sind, immer wieder denselben Partner aus (Partnerpräferenz). Es wird darüber spekuliert, inwieweit die während der ersten Kopulation freige- setzten Hormone Oxytocin und Vasopressin an der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses im Sinne einer endokrinologischen Prägung beteiligt sind (WINS- LOW and INSEL 2004). Zentral injiziertes VP führt bei männlichen Präriewühl- mäusen aber auch ohne vorher stattgehabte Paarung zur Ausbildung eines so- zialen Gedächtnisses mit Partnerpräferenz (WINSLOW ET AL. 1993). Im Gegen- satz dazu zeigen Präriewühlmäuse, wenn sie zwar für einen gewissen Zeitraum

zusammen gehalten wurden, sich aber nicht verpaaren konnten, keine intensive Bindung an den Partner (WILLIAMS ET AL. 1992, INSEL ET AL. 1995).

Experimentelle Folgestudien demonstrierten die geschlechtsspezifischen Wirkungsweisen der Peptidhormone Oxytocin und Vasopressin. Soziosexuelle Verhaltensänderungen männlicher Säugetiere korrelieren eher mit dem VP-Gehalt, wogegen bei weiblichen Säugetieren modulatorische Effekte mit OX erzielt werden (WINSLOW ET AL. 1993). Neuroanatomische Untersuchungen an verschiedenen Spezies zeigen bei Fischen (FORAN and BASS 1998), Amphibien (MOORE ET AL. 2000), Vögeln (KIMURA ET AL. 1999) und Säugetieren (WANG ET AL. 1998), daß vor allem in hypothalamischen Regionen, die mit reproduktivem Verhalten assoziiert sind, männliche Exemplare deutlich mehr Vasopressin (VP) bzw. Vasotocin (VT) exprimieren als Weibchen. Eine mögliche Erklärung für diesen sexuellen Dimorphismus ist die Testosteronsensibilität einiger VP/VT-ergen Neuronen. Männliche monogame Präriewühlmäuse zeigen nach Injektion von Vasopressin eine deutliche Partnerpräferenz, ein VP-Antagonist verhindert trotz Verpaarung dieses Verhalten, während die Gabe von VP bei Weibchen ohne einen Effekt bleibt. Korrespondierend dazu bahnt die Gabe von OX (und hemmt ein OX-Antagonist) die Entwicklung einer Partnerpräferenz bei Weibchen (INSEL and HULIHAN 1995, CUSHING and CARTER 1999b). CHO ET AL. (1999) hingegen zeigten in einer weiteren experimentellen Arbeit an Präriewühlmäusen, daß hohe intrazerebral applizierte Dosen (~100 ng) von Oxytocin und Vasopressin bei beiden Geschlechtern mit vermehrten Sozialkontakten und der Ausbildung einer Partnerpräferenz korrelieren. Daher ist für die Entwicklung sozialer Kontakte wahrscheinlich sowohl bei weiblichen als auch männlichen Individuen das Zusammenspiel *beider* Hormone und ihrer Rezeptoren verantwortlich. Bei weiblichen Ratten führte die Injektion hoher (allerdings unphysiologischer) Dosen an VP zur Ausbildung von mütterlichem Verhalten (PEDERSEN ET AL. 1982).

Im Gegensatz zu den innerhalb einer Art divergierenden und geschlechtsgebundenen Hormoneffekten konnten zwischen Weibchen und Männchen bislang keine Unterschiede in der innerartlichen Rezeptorverteilung beobachtet werden. Vergleicht man hingegen nahe verwandte Arten mit unterschiedlichem soziosexuellem Verhalten miteinander, so bestehen neben den komplementären biologischen Effekten der jeweiligen Peptidhormone zusätzlich auch topo-

graphische Unterschiede in der Rezeptorverteilung (YOUNG 1999). So zeigen die monogam lebenden Präriewühlmäuse (*Microtus ochrogaster*) im Nucleus accumbens und im limbischen Kortex eine hohe Dichte an Oxytocin-Rezeptoren (INSEL and SHAPIRO 1992), wogegen bei den promiskuitiv lebenden Spezies von Wühlmäusen in diesen Hirnregionen keine Rezeptoren nachgewiesen werden konnten. In einer Serie von Experimenten hat die Arbeitsgruppe um L.J. YOUNG hat damit begonnen, molekulare Mechanismen, die hinter dem verhaltensbiologischen Phänomen der Monogamie stehen, zu entschlüsseln. Das Vasopressin-Rezeptor (V_{1a})- Gen sozialer Wühlmäuse (Prärie- und Kiefernwühlmaus) unterscheidet sich von dem entsprechenden Gen solitär lebender Wühlmäuse (Berg- und Wiesenwühlmaus). Die sozial und monogam lebenden Wühlmäuse haben eine spezifische, dem Vasopressin-Rezeptor-Gen (V_{1a}) vorgeschaltete Sequenz. Diese 420 Basenpaare (bp) lange Sequenz fehlt bei den promiskuitiv lebenden Wühlmäusen (YOUNG ET AL 1999, INSEL 2003). In Folgeexperimenten konnte die für den V_{1a} -Rezeptor kodierende Sequenz und die 420 bp lange vorgeschaltete Sequenz der sozial und monogam lebenden Wühlmäuse auf Labormäuse übertragen werden. Nach dem Gentransfer war nicht nur die V_{1a} -Rezeptorverteilung von monogamen Wühlmäusen und diesen transgenen Mäusen identisch, sondern auch das Sozialverhalten der Labormäuse näherte sich dem der sozial lebenden Wühlmäuse an (l.c.).

3. Monogamie und Eusozialität

Jarvis (1981) beschrieb am Beispiel des Nacktmulls (Gattung: *Heterocephalus*) erstmalig das Phänomen der Eusozialität bei Säugetieren. Bis dato war ein ähnliches Sozialgefüge nur in Insektenstaaten wie z.B. bei Hautflüglern (Hymenopteren) bekannt, wo innerhalb einer Kolonie nur ein Weibchen (Königin) die Fortpflanzung besorgt. HAMILTON (1964) hatte versucht, das Sozialgefüge von Bienen, Wespen und Ameisen mit Hilfe ihrer genetischen Verwandtschaft zu erklären. Bei diesen Insekten entwickeln sich die Söhne (D= Drohnen; haploid) aus unbefruchteten Eiern der Königin (Q= Queen); die Töchter (W= Weibchen; diploid) aus den vom Männchen (K= König) befruchteten Eiern der Königin: Diese Haplodiploidie hat zur Folge, daß weibliche Nachkommen untereinander näher miteinander verwandt sind als mit ihrer Mutter, der Königin. Die weibli-

chen Arbeiterinnen erhalten die Hälfte ihres Genoms vom haploiden Vater und die andere Hälfte von der diploiden Mutter. Das bedeutet, daß alle Arbeiterinnen das gesamte (haploide) Genom ihres gemeinsamen Vaters und die Hälfte des Genoms ihrer Mutter tragen (Abb. 2). So erklärt sich, daß in haplodiploiden Organismen die Schwestern miteinander mehr gemeinsames genetisches Material teilen als mit ihrer Mutter. Die Theorie der „Inklusiven Fitness“ besagt, daß oberstes Ziel von Lebewesen die Weitergabe des eigenen genetischen Materials in höchst möglichem Ausmaß ist (HAMILTON 1993, 1994, GETZ ET AL. 2001). Aus genetischer Sicht ist es für die Arbeiterinnen daher von größerem Nutzen sich, um die eigenen Schwestern zu kümmern als selbst Nachkommen zu produzieren.

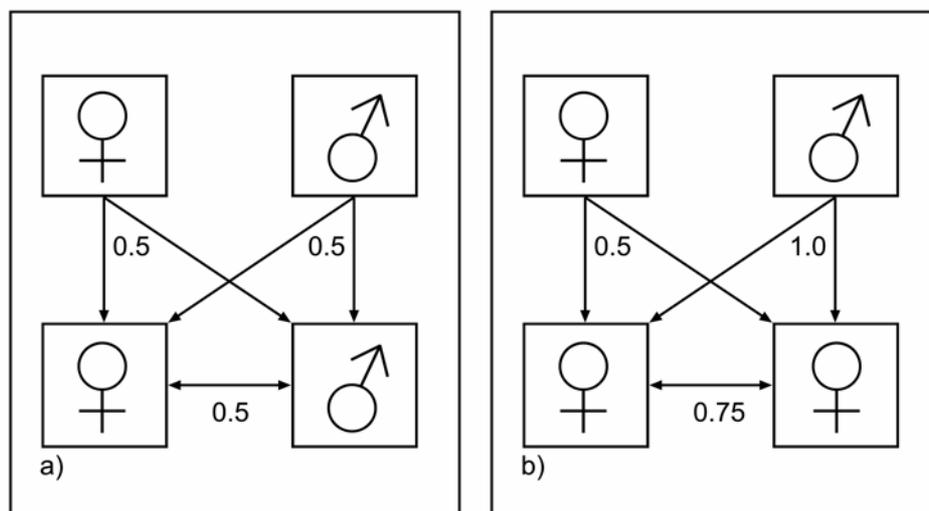


Abb. 2: Erbgang bei diploiden (a) und haploiden Organismen (b). a) In diploiden Organismen überträgt jeder Elternteil ca. 50% seiner genetischen Informationen auf seine gesamte Nachkommenschaft. Im Durchschnitt teilen die Nachkommen untereinander die Hälfte ihres Genoms mit ihren Geschwistern. b) In haplodiploiden Organismen teilen Schwestern untereinander durchschnittlich mehr gemeinsames genetisches Material (ca. 75%) als mit ihrer Mutter (ca. 50%).

Mit Hilfe der Haplodiploidie lassen sich möglicherweise Sozialgefüge wie Insektenstaaten erklären. Eusozialität bei Säugetieren als eine spezielle Form der Monogamie ist mit Hilfe dieser Theorie jedoch nicht begründbar. Eusozialität ist durch die folgenden Kriterien definiert (BURDA ET AL. 2000): a) reproduktiver Altruismus*, der die Aufteilung von Reproduktion und elterlicher Brutpflege umfaßt, letztere als die potentiell vollständige Aufgabe der eigenen Reproduktions-

* selbstlose Denk- und Handlungsweise, die die eigene Fitness erniedrigt und die Fitness anderer erhöht.

aktivität, um anderen Individuen derselben Art (z.B. Geschwistern) zu helfen, b) Überschneiden der adulten Generationen innerhalb der Großfamilie, c) permanente und lebenslange Philopatrie**. Zusätzliche Kriterien wie das Vorhandensein von Kasten, die Größe der Kolonie und der soziale Zusammenhalt sind für die Definition von Eusozialität bei Säugetieren weniger bedeutsam. Gemäß dieser Definition können einige afrikanische Nagerspezies der Familie Bathyergidae (Sandgräber) als eusozial gelten, wie beispielsweise der Nacktmull (*Heterocephalus glaber*) (HONEYCUTT 1992) sowie sambische Graumulle (*Cryptomys ansellii*, *C. mechowi*, *C. damarensis*; BURDA and KAWALIKA 1993).

Die bemerkenswerten Anpassungen subterran lebender sambischer Graumulle sowie ihr außergewöhnliches Sozialverhalten wurden bei *Cryptomys ansellii* von H. BURDA und Mitarbeitern (Universität Essen, Deutschland) im Detail erforscht. Eine Graumullfamilie umfaßt im Schnitt 13 Tiere, wobei ein einziges sich fortpflanzendes Weibchen mit seinem Partner für die gesamte Nachkommenschaft sorgt (BURDA ET AL. 2000). Es werden pro Jahr etwa fünf Jungtiere geboren, die ihr gesamtes Leben bei den Eltern verbringen (lebenslange Philopatrie). Nach ihrem Heranwachsen sammeln sie Futter, graben, verteidigen das Gangsystem, helfen bei der Aufzucht der jüngeren Geschwister und sorgen für ihre Mutter, ohne dabei (normalerweise) selbst zur Reproduktion zu kommen (reproduktiver Altruismus). Die durchschnittliche Lebenserwartung eines Graumulls in der Wildnis ist trotz der im Vergleich mit Ratte und Maus viereinhalbfachen Gestationszeit hoch genug, um sechs Würfe aufzuziehen (Überschneiden der adulten Generationen). Die Evolution der Eusozialität bei Graumullen ist Gegenstand vieler Spekulationen und Hypothesen in der Verhaltensökologie. Man wird dieses besondere soziale Gefüge wohl erst verstehen können, wenn die folgenden grundlegenden Fragen beantwortet sind (BURDA ET AL. 2000): a) Welche äußeren Bedingungen müssen vor der Etablierung eines eusozialen Systems erfüllt sein? b) Warum bleibt die Nachkommenschaft bei der Familie, anstatt sie zu verlassen und sich selbst zu reproduzieren? Ökologische Bedingungen wie Trockenheit und Nahrungsknappheit erklären möglicherweise die Koloniegröße, sie allein reichen allerdings nicht als Begründung für eine eusoziale Lebensgemeinschaft aus (BURDA ET AL. 2000).

** Philopatrie= Heimatliebe, Verbleiben am Geburtsort

Über die Stabilität der o.g. eusozialen Familienstrukturen und die Mechanismen der Fortpflanzungskontrolle gibt es unterschiedliche Vorstellungen. Einerseits wird vermutet, daß das aggressive Verhalten der „Königin“ (reproduktives Weibchen) und der damit induzierte Stress bei der Nachkommenschaft zu einer quasi erzwungenen Sterilität führen kann (sexuelle Suppression; CLARKE ET AL. 2001). Dieser Mechanismus trifft auf den *Cryptomys* nahverwandten Nacktmull zu (Gattung *Heterocephalus*; SHERMAN ET AL. 1992, HONEYCUTT 1992, FAULKES ET AL. 1994). Bei *Cryptomys anelli* gibt es keine Anzeichen einer sexuellen Suppression von Familienmitgliedern durch das reproduktive Weibchen. Hier scheinen weder aggressives Verhalten noch Pheromone des sich fortpflanzenden Weibchens eine Rolle zu spielen (BURDA 1995, BENNETT ET AL. 1996, CLARKE ET AL. 2001). Die beim Graumull zu beobachtende „Inzestvermeidung“ liegt vielmehr in der Fähigkeit der Familienmitglieder begründet, einander individuell zu erkennen (BURDA, pers. Mitt.). Einander fremde Tiere verpaaren sich innerhalb weniger Minuten. Nach dem Tod des dominanten Weibchens besteht der Zusammenhalt der Familie noch bis zu einem Jahr weiter, bevor ihr Zerfall droht. Eine Paarung zwischen einem dominanten Männchen und seinen Töchtern findet selbst in solchen Extremsituationen nicht statt. Ebenso wurden niemals Geschwister bei der Kopulation beobachtet. Tiere innerhalb einer Familie scheinen füreinander sexuell inattraktiv zu sein. Graumulle sind weder in ihrer geschlechtlichen Entwicklung retardiert, noch werden sie durch das sich fortpflanzende Paar in ihrem Reproduktionsverhalten gehemmt. Die Tiere vermehren sich nicht, weil sie außer ihren Familienangehörigen keinen geeigneten Partner haben und somit im Sinne eines „Inzesttabus“ nicht kopulieren (BURDA 1995; COONEY and BENNETT 2000). Das verminderte Körperwachstum non-reproduktiver Tiere wird eher als eine fehlende Stimulation durch einen fremden Partner interpretiert als eine Hemmung der geschlechtlichen Entwicklung, da die Ovarien non-reproduktiver Graumull-Weibchen eine normale folliculäre Entwicklung zeigen. Die Größe der Ovarien sowie die Anzahl der Follikel in den jeweiligen Entwicklungsstadien (Primordial-, Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel) lassen keinen Rückschluß auf den reproduktiven Status eines Tieres zu (WILLINGSTORFER ET AL. 1998). Einziger signifikanter Unterschied zwischen den reproduktiven und non-reproduktiven Tieren ist, daß bei letztgenannten kein Eisprung nachgewiesen werden kann. Ein echtes Corpus luteum

als morphologischer Nachweis einer stattgehabten Ovulation fehlt hier. Der Nachweis zahlreicher nicht-rupturierter, aber luteinierter Follikel in den Ovarien reproduktiver und nicht-reproduktiver Tiere wird als eine taxonomische Besonderheit der Hystricognatha gedeutet (WILLINGSTORFER ET AL. 1998). Das Fehlen der Ovulation bei non-reproduktiven *Cryptomys* wurde anfänglich noch als eine mutmaßliche pheromonale Suppression nahverwandter Familienmitglieder durch das dominante Weibchen interpretiert (BENNETT ET AL. 1996). Inzwischen geht man bei *Cryptomys anelli* von einer durch wiederholte Kopulationen induzierten Ovulation aus und die verhaltensbiologische Theorie der Inzestvermeidung aufgrund der individuellen Wiedererkennung gilt als allgemein akzeptiert (COONEY and BENNETT 2000).

4. Der Graumull (*Cryptomys anelli*)

Einordnung in die biologische Systematik (NOVAK and PARADISO 1983):

Ordnung:	Nagetiere (Rodentia)
Unterordnung:	Stachelschweinverwandte (Hystricognatha)
Familie:	Sandgräber (Bathyergidae)
Gattung:	Graumulle (<i>Cryptomys</i>)
Art:	Anells Graumull (<i>Cryptomys anelli</i>)

Das Verbreitungsgebiet der Graumulle erstreckt sich von den Savannen Westafrikas über Ost- und Zentralafrika bis nach Südafrika. Die Anzahl der Arten innerhalb der Gattung *Cryptomys* ist nicht geklärt. Von verschiedenen Autoren werden 3 bis 49 Arten angegeben (HONEYCUTT ET AL. 1992). Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Graumulle gehören zu der vor kurzem beschriebenen neuen Art *Cryptomys anelli** an (BURDA ET AL. 1999). Der deutsche Name Graumull entstand wahrscheinlich durch die „wörtliche“ Übersetzung der früher verwendeten englischen Bezeichnung Gray's mole-rat (nach dem Namen des Biologen GRAY, der die Gattung beschrieben hat) (BURDA 1994) (Abb. 3).

* In den früheren Arbeiten von BURDA und Mitarbeitern wird diese Art unter der Bezeichnung *Cryptomys hottentotus* geführt.



Abb. 3. Foto aus dem Familienalbum der Graumulle: Graumulle sind nicht grau, sondern eher ocker-braun. Die Augen sind sehr klein, die Schneidezähne hingegen sehr prominent. Foto: Prof. Dr. Hynek Burda, Essen.

Diese subterranean lebenden Tiere besitzen sehr prominente und starke Schneidezähne, welche sie zum Graben in der teilweise sehr trockenen, harten Erde und zur Beschaffung der ausschließlich pflanzlichen Nahrung (Wurzeln, Knollen, Zwiebeln, etc.) einsetzen. Die Körpermasse der erwachsenen reproduktiven Tiere liegt durchschnittlich bei 110g (95-150g) für männliche und bei 75g (65-90g) für weibliche Tiere. Die Kopf-Rumpflänge beträgt 10,5-16,5 cm, die Schwanzlänge 1,2-3,8 cm. Die Fellfarbe ist altersabhängig. Die Säuglinge des sambischen Graumulls sind grau-schwarz, nach der Entwöhnung werden sie braun und alte Tiere sind goldbraun (ocker) gefärbt. Charakteristisch für diese Art ist der individuelle weiße Scheitelfleck (Blesse), dem die Graumulle im Afrikaans den Namen Blesmol verdanken (vgl. NAKAMURA 1999). Die Tragzeit ist mit 98 Tagen für Nagetiere relativ lang (vgl. Maus/Ratte: ~19 Tage). Die Tiere leben so gut wie ausschließlich in einem unterirdischen Gangsystem in bis zu 2m Tiefe, welches sich über einen Radius von mehr als 1000m erstrecken kann und lange, schnurgerade Abschnitte (runway) enthält.

Dieser subterranean Lebensraum erfordert spezifische Anpassungen des Organismus an tägliche Herausforderungen wie die Orientierung und gezielte Fortbewegung. Neben einem offenbar normal entwickelten Geruchssinn besitzen die Tiere ein speziell für niedrige Frequenzen empfindliches Gehör (MARHOLD ET AL. 1997). Graumulle besitzen einen ausgeprägten Magnetsinn, der bei der Wahl des Ortes für den Nestbau in einer bestimmten Polarität zum Erdmagnetfeld deutlich wird (BURDA ET AL. 1990, NĚMEC ET AL. 2001, OELSCHLÄGER

ET AL. 2002). Das Problem der Lokomotion in den engen Gangsystemen (ein trächtiges Weibchen kann sich in ihnen kaum fortbewegen) wurde im Laufe der Evolution durch eine Modifikation der Körperform gelöst: der Körper ist dementsprechend walzenförmig, mit kurzen Beinen, kurzem Fell und Stummelschwanz (Abb. 4). Als Grabwerkzeuge dienen die Vorderbeine und die eindrucksvollen Schneidezähne. Die visuell reizarme Umwelt führte in der Evolution zu einer starken Verkleinerung der Augen (Mikrophthalmie), die aber offenbar wie bei normophthalmen Nagern gebaut sind (NAKAMURA 1999, OELSCHLÄGER ET AL. 2000).



Abb. 4. Der Graumull im unterirdischen Gangsystem. Foto: Prof. Dr. Hynek Burda, Essen.

5. Die Ratte (*Rattus rattus*)

Einordnung in die biologische Systematik (NOVAK and PARADISO 1983):

Ordnung:	Nagetiere (Rodentia)
Unterordnung:	Mäuseverwandte (Myomorpha)
Familie:	Mäuse (Muridae)
Gattung:	Ratten (<i>Rattus</i>)
Art:	Wanderratte (<i>Rattus norvegicus</i>), Laborratte; Hausratten, Heimtierratten (<i>Rattus rattus</i>)

Die Ratte ist nach der Maus das am häufigsten verwendete Versuchstier, sie wird überwiegend in der Medizin, der Ernährungs-, Verhaltens- sowie in der Toxizitätsforschung eingesetzt. Die Laborratte stammt von der Wanderratte (*Rattus norvegicus*) ab. Der erste Rattenstamm für die biomedizinische Forschung wurde vom Wistar Institute in Philadelphia entwickelt. Viele der Inzuchtstämme,

die heute eingesetzt werden, stammen von der Albino-Wistar-Ratte ab. 1995 gab es mehr als 400 genetisch definierte Ratteninzucht-Stämme und etwa 50 Auszucht-Stämme (HAVENAAR et al. 1995). Ratten sind deutlich weniger aggressiv als Mäuse. Daher können je nach Stamm auch männliche Ratten problemlos in Gruppen untergebracht werden. Verschieden alte Gruppen sollten jedoch nicht zusammengesetzt werden, da dies zu einem gesteigerten Aggressionsverhalten führen könnte. Das Gewicht ausgewachsener Männchen beträgt 300-500g, das ausgewachsener Weibchen liegt zwischen 250-300g. Die Tiere sind ab einem Alter von 6 Wochen geschlechtsreif. Die Östrusdauer beträgt 4 Tage. Nach einer Tragzeit von 19 Tagen werden die Jungen blind und nackt geboren. Findet eine Verpaarung während des Postpartum-Östrus statt, können Laktation und Trächtigkeit zusammen auftreten. Für die Zucht werden monogame (ein Männchen mit einem Weibchen) wie auch polygame (ein Männchen mit bis zu sechs Weibchen) Verpaarungsstrategien angewendet. Der in der vorliegenden Arbeit verwendete Auszucht-Rattenstamm, Sprague-Dawley, wurde 1925 von R. Worthington Dawley entwickelt und von der Sprague-Dawley-Farm in USA weitergeführt (seit 1982 Herkunft aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover). Die Sprague-Dawley-Ratte ist eine Albino-Ratte mit schnellem Wachstum und zeichnet sich durch ein hohes Maß an Gelehrigkeit sowie leichte Handhabung aus. Dieser Stamm zeigt ein ausgeprägteres maternales Verhalten als weibliche WISTAR-Ratten; auch töten männliche Sprague-Dawley-Ratten Neugeborene wesentlich seltener als männliche WISTAR (Auskunft lt. Fa. Elevage, Janvier; France).

6. Fragestellung und Zielsetzung

In der aktuellen Literatur wird diskutiert, inwieweit die Neuropeptidhormone Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP) das Verhalten von Säugetieren beeinflussen können. Es wird angenommen, daß diese beiden Hormone im Zentralnervensystem Phänomene wie Sozialverhalten, Partnerwahl, Bindungsverhalten, Aggression etc. modulieren. Der Graumull gilt unter den Säugetieren als Musterbeispiel für eusoziales Verhalten. Eusozialität ist bei Säugetieren extrem selten und gilt v.a. im subterranean Lebensraum als eine Besonderheit, die evolutionsbiologisch noch nicht verstanden ist (BURDA and KAWALIKA 1993). Über die

physiologischen Mechanismen, die monogames und möglicherweise eusoziales Verhalten generieren, ist derzeit wenig bekannt. Dabei wäre aus dem Blickwinkel der Biomedizin bzw. Psychologie eine naturwissenschaftliche Erklärung dieser Phänomene von großem Interesse. Die Bedeutung von Oxytocin und Vasopressin als Paarbindungshormone („Kuschelhormone“) wurde erstmalig bei den Präriewühlmäusen (*Microtus ochrogaster*) nachgewiesen (GETZ and CARTER 1996), die als ein weiteres Beispiel von Monogamie bei Säugetieren betrachtet werden können (BURDA ET AL. 2000) und deren außerordentlich soziales Verhalten fast schon als eusozial bezeichnet werden kann. Die neuroanatomische Untersuchung der Hormone OX und VP im Gehirn des Graumulls mit seiner eusozialen Familienstruktur ist nach den bereits an Präriewühlmäusen erhobenen Befunden von großem wissenschaftlichem Interesse.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, wie sich die beiden Säugetierspezies Ratte und Graumull hinsichtlich der Transmitterverteilung im Gehirn unterscheiden und inwieweit sich diese Unterschiede mit dem jeweiligen Sozialverhalten korrelieren lassen. Der Vergleich von Graumull und Ratte ist vor allem auch deshalb besonders interessant, da die Ratte als „Standardorganismus“ in ihrem Sozialverhalten keinerlei Extremstellung einnimmt. In einem ersten Schritt wurden die topographischen Verhältnisse der für OX und VP immunreaktiven (ir-) Neuronen bei Graumull und Ratte analysiert. Dabei war allerdings nicht beabsichtigt, eine ausführliche formale Gliederung der jeweiligen Nuclei in verschiedene Zellpopulationen zu erreichen. Vielmehr sollte vor allem das unter physiologischen Bedingungen ermittelte Verteilungsmuster der Transmitter im Gehirn dargestellt und biologisch-ethologisch interpretiert werden. Hierbei war von besonderer Bedeutung, inwieweit der individuelle Status der Graumulle innerhalb der Familie (reproduktive Weibchen, zugehörige reproduktive Männchen, adulte non-reproduktive sowie subadulte, juvenile und neonate Tiere) mit Unterschieden in der Verteilung und Quantität der für das (Sozial-)Verhalten bedeutsamen Hormone Oxytocin und Vasopressin im Gehirn korreliert. Ein topographisch-histologischer Unterschied in den Gehirnen der jeweiligen Graumullgruppen würde für die Theorie sprechen, daß es möglicherweise genetisch determinierte Kasten gibt, in die ein neonater Graumull hineingeboren wird (BURDA, pers. Mitt.). Aktuelle verhaltensbiologische Studien wider-

sprechen allerdings dieser Hypothese und gehen nicht von genetisch vorbestimmten Verhaltenweisen innerhalb einer Familie aus (vgl. BURDA ET AL. 2000).

Im folgenden soll für eine erste Orientierung zunächst der Bau des Hypothalamus allgemein besprochen werden; damit wird eine Grundlage bzw. Referenz für die spätere vergleichende Interpretation der hier an Graumull und Ratte erhobenen immunhistochemischen Befunde geschaffen.

II. Der Hypothalamus

1. Allgemeine Bemerkungen

Zusammen mit dem Subthalamus, dem Metathalamus, dem Thalamus und dem Epithalamus bildet der Hypothalamus das Zwischenhirn. Während der Thalamus funktionell mit dem Neokortex eine Einheit bildet, ist der Hypothalamus eng mit dem limbischen System verbunden (BIRBAUMER and SCHMIDT 1996). Seine anatomischen und neurosekretorischen Verbindungen machen den Hypothalamus zur übergeordneten Instanz für das gesamte endokrine und vegetative Nervensystem (TREPPEL 1999). Der Hypothalamus produziert in mehreren Kerngebieten Peptide wie die Nonapeptide Oxytocin und Vasopressin, aber auch Corticotropin-Releasing Hormone (CRH), Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH) und viele andere Neuropeptide wie Luteinisierendes Hormon-Releasing Hormon (LHRH), Enkephalin, Dynorphin, Substance P, Pituitary Adenylcyclase Activating Polypeptide (PACAP), Growth Hormone- Releasing Hormone (GHRF), Calcitonin-Gen Related Peptide (CGRP) etc. (SWAAB 1997).

Die Perikaryen der verschiedenen Kerngruppen (genaueres s.u.) registrieren sogenannte Ist-Werte der unterschiedlichsten homöostatischen Regelkreise (wie Durst, Hunger, Körpertemperatur, etc.) und nicht-homöostatischer Triebe (wie Sexualität, Aggression, etc.) sowie der Aufmerksamkeit und kognitiver Funktionen und vergleichen sie mit korrespondierenden Soll-Werten, um dann über die Hypophyse gegebenenfalls mit einer adäquaten Hormonsekretion zu reagieren (BIRBAUMER and SCHMIDT 1996). Darüber hinaus reguliert der Hypothalamus vegetativ-endokrine Vorgänge und integriert diese (zusammen mit dem limbischen System) zu einem sinnvollen Verhalten (KÜNZLE 1993).

2. Gliederung des Hypothalamus

Der Hypothalamus bildet das ventrale Drittel des Diencephalon. Rostral grenzt der Hypothalamus an die Lamina terminalis. Entlang seiner rostro-kaudalen Ausdehnung wird er dorsal durch den Nucleus reuniens thalami (Re) und die Zona incerta (ZI) begrenzt, lateral durch den Pedunculus cerebri. Die kaudale Grenze kann anhand einer imaginären transversalen (koronalen) Ebene vom

Hinterrand des Mamillarkörpers zur Commissura posterior (epithalamica) definiert werden (vgl. Abb. 5 [Parasagittalschnitt]). Medial reicht der Hypothalamus bis an den dritten Ventrikel (3V) (vgl. Abb. 9-12 [Koronalschnitte]).

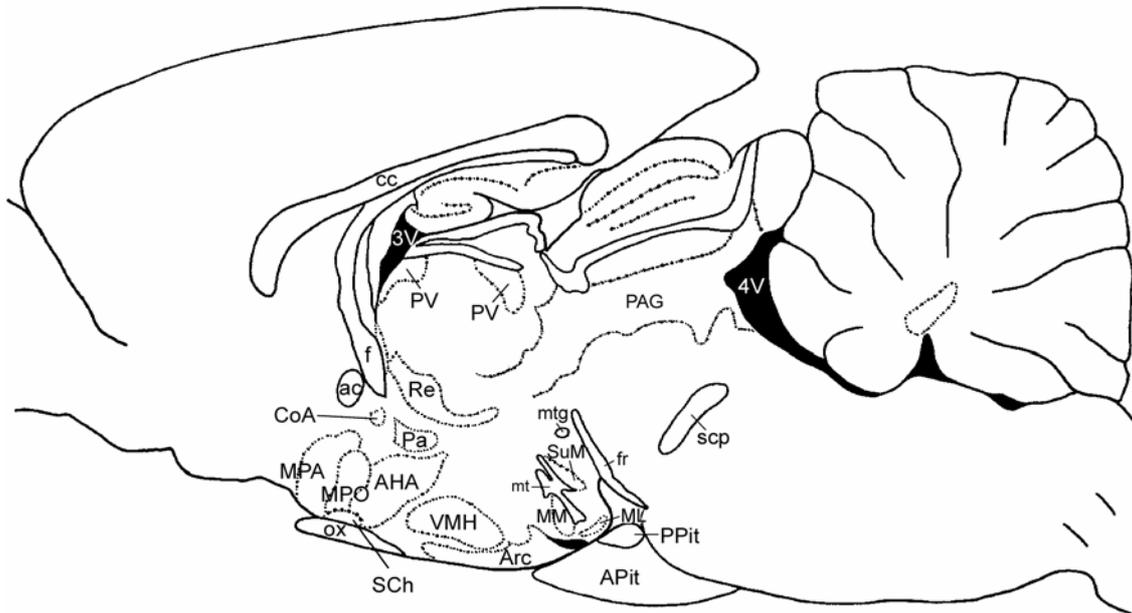


Abb. 5. Übersicht der anatomischen Strukturen (Parasagittalschnitt) im Gehirn der Ratte.

Abkürzungen: 3V, dritter Ventrikel; 4V, vierter Ventrikel; ac, Commissura anterior; AHA, Area hypothalamica anterior; APit, Adenohypophyse; Arc, Nucleus arcuatus; cc, Corpus callosum; CoA, Nucleus commissuralis anterior; f, Fornix; fr, Fasciculus retroflexus; MM, Nucleus mamillaris medialis, pars medialis; ML, Nucleus mamillaris medialis, pars lateralis; MPA, Area praeoptica medialis; MPO, Nucleus praeopticus medialis; mt, Tractus mamillothalamicus; ox, Chiasma opticum; Pa, Nucleus paraventricularis hypothalami; PAG, Substantia grisea centralis (periaqueductal grey); PPit, Neurohypophyse; PV, Nucleus paraventricularis thalami; Re, Nucleus reuniens thalami; SCh, Nucleus supra-chiasmaticus; scp, Pedunculus cerebellaris superior; SuM, Nucleus supra-mamillaris; mtg, Tractus mamillo-tegmentalis; pc, Commissura posterior; VMH, Nucleus ventromedialis hypothalami. Zeichnung modifiziert nach PAXINOS and WATSON (1998).

Der Hypothalamus ist eine sehr heterogene Hirnregion (Abb. 6). Das in dieser Arbeit verwendete Schema seiner Einteilung wird im Detail von SWANSON (1987,1992) beschrieben. Danach erfolgt die klassische Gliederung der Nuclei primär von innen nach außen in drei transversal nebeneinanderliegende Längszonen (*periventriculäre, mediale, laterale Zone*). Entlang der rostro-kaudalen Achse wird nochmals eine Unterteilung in je vier hintereinander gelegene Querregionen (*präoptische, anteriore, tuberale und mamilläre Region*) vorgenommen, wobei die Übergänge zwischen den einzelnen Zonen (bzw. Regionen) und Nuclei fließend sind (Abb. 6).

QUERREGIONEN DES HYPOTHALAMUS (rostral → kaudal)							
R O S T R A L	L Ä N G S Z O N E N (medial → lateral)	lateral	präoptisch LPO	anterior LH ⁽⁵⁾ SO ^{(4)*}	tuberal LH ⁽⁵⁾ TU	mamillär LH ⁽⁵⁾	K A U D A L
		medial	MPA ⁽⁵⁾⁺ MPO ⁽⁵⁾	AH ⁽⁵⁾ AHA ⁽⁵⁾	VMH DMH	PHA MM ⁽⁶⁾ ML ⁽⁶⁾ LM ⁽⁶⁾ SuM ⁽⁶⁾	
		peri- ventrikulär	CoA ⁽²⁾ PePO MnPO OVL	Pa ⁽¹⁾ SCh ⁽³⁾ PeA	Arc	PeP	
3. VENTRIKEL							

Abb. 6. Vereinfachte Aufsicht auf den rechten Hypothalamus mit ausgewählten Areae und Nuclei; Nomenklatur modifiziert nach PAXINOS and WATSON (1998). (1)- (6): Reihenfolge der Besprechung der einzelnen Kerngebiete im Text (s.u.). *Der Nucleus supraopticus (SO) gilt nach PAXINOS (1995) als ein nach lateral verschobener Teilbereich der periventriculären Zone. +Strenggenommen ist die mediale präoptische Region telencephalen Ursprungs (VOOGD ET AL. 1998); da sie aber strukturell und funktionell sehr eng mit dem Hypothalamus verbunden ist, kann sie ihm zugerechnet und mit ihm zusammen besprochen werden. Abkürzungen: AH, Nucleus anterior hypothalami; AHA, Area hypothalamica anterior; Arc, Nucleus arcuatus (syn. Nucleus infundibularis); CoA, Nucleus commissuralis anterior; DMH, Nucleus dorsomedialis hypothalami; LH, Area hypothalamica lateralis; LM, Nucleus mamillaris lateralis; LPO, Area praeoptica lateralis; MM, Nucleus mamillaris medialis, pars medialis; ML, Nucleus mamillaris medialis, pars lateralis; MnPO, Nucleus praeopticus medianus; MPA, Area praeoptica medialis; MPO, Nucleus praeopticus medialis; OVL, Organum vasculosum laminae terminalis; Pa, Nucleus paraventricularis hypothalami; PeA, Nucleus periventricularis anterior; PeP, Nucleus periventricularis posterior; PePO, Nucleus praeopticus periventricularis; PHA, Area hypothalamica posterior; SCh, Nucleus suprachiasmaticus; SO, Nucleus supraopticus; SuM, Nucleus supramamillaris; TU, Nucleus tuberalis; VMH, Nucleus ventromedialis hypothalami.

Allgemein läßt sich festhalten, daß die periventriculären und medialen Längszonen zellreich und nukleär organisiert sind. Die laterale Zone ist hingegen faserreich und retikulär organisiert (KÜNZLE 1993).

Ein großer Teil der hypothalamischen Axone zieht in der Wand des Infundibulums (Hypophysentrichter, in Abb. 5 nicht sichtbar). Ziel dieser Fasern sind im wesentlichen zwei Regionen: Die Eminentia mediana (nicht dargestellt), die am Eingang zum Infundibulum gelegen ist (Tractus tuberoinfundibularis, *hypo-*

thalamo-adenohypophysäres System) sowie die Neurohypophyse (Tractus hypothalamohypophysialis, *hypothalamo-neurohypophysäres System*).

Die diffus verteilten peptidergen Perikaryen des *hypothalamo-adenohypophysären Systems* liegen unmittelbar subependymal in der periventriculären Region des Hypothalamus (Abb. 6). Teilweise finden sich derartige Neuronen auch im Nucleus paraventricularis hypothalami und im Nucleus arcuatus (= infundibularis) (ZILLES und REHKÄMPER 1994). Sie bilden Steuerhormone, die als Releasing-Hormone oder Inhibiting-Hormone in den Axonen bis zur Eminentia mediana absteigen und die Hormonproduktion in der Adenohypophyse aktivieren bzw. hemmen. Die Freisetzung der Steuerhormone unterliegt einer Rhythmik, die über Efferenzen aus dem Nucleus supraopticus als „Zeitgeber“ vermittelt wird (l.c.).

Die magnozellularen Neuronen des *hypothalamo-neurohypophysären Systems* exprimieren die Peptidhormone Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP). Ihre Perikaryen liegen hauptsächlich im Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), im Nucleus supraopticus (SO) und in quantitativ etwas weniger bedeutsamen Populationen der akzessorischen neurosekretorischen magnozellularen Neuronen/Nuclei (ACC, in Abb. 6 nicht dargestellt). Die Axone des hypothalamo-neurohypophysären Systems projizieren über den Tractus hypothalamohypophysialis in die Neurohypophyse, wo die beiden Hormone gespeichert (Herring-Körper) und je nach Bedarf in den Körperkreislauf abgegeben werden. Ein kleiner Teil der Axone des hypothalamo-neurohypophysären Systems endet zusammen mit den Axonen des hypothalamo-adenohypophysären Systems an der Eminentia mediana, um v.a. Vasopressin in den Portalkreislauf abzugeben. OX und VP sind Effektorhormone, d.h. sie werden nach der Freisetzung direkt im Blut wirksam. Eine Stimulation der Hypophyse durch Releasing- und Inhibitinghormone wie beim hypothalamo-adenohypophysären System ist nicht erforderlich. Neben dem oben beschriebenen humoralen Weg der Kommunikation steht der Hypothalamus über zahlreiche neuronale Verbindungen mit dem übrigen Zentralen Nervensystem in Beziehung (BIRBAUMER und SCHMIDT 1996).

Die wichtigsten afferenten und efferenten Fasersysteme des Hypothalamus sind:

- 1) Der *Fornix* verbindet als Teil des Papez-Neuronenkreises (Abb. 7) den Hippocampus mit dem Corpus mamillare.

- 2) Die *Stria terminalis (st)*, welche die Amygdala und den Hypothalamus miteinander verbindet.
- 3) Die *Stria medullaris (sm)*, welche als heterogenes Faserbündel hauptsächlich den präoptischen Hypothalamus mit der Habenula verknüpft. Sie ist Teil der Septum-Amygdala-Hypothalamus-Achse, der eine Bedeutung in der Steuerung vegetativer Vorgänge zugeschrieben wird („viszerales Gehirn“) (ZILLES und REHKÄMPER 1994).
- 4) Das *mediale Vorderhirnbündel (mfb, syn. Fasciculus medialis telencephali)*, welches ein anatomisch schwer faßbares Fasersystem darstellt. Es spielt eine bedeutende Rolle als zentraler Kommunikationsstrang zwischen Anteilen des Vorderhirns (Septum, Hippocampus, Amygdala, Hypothalamus) und dem Mittelhirn.
- 5) Der *Fasciculus longitudinalis dorsalis SCHÜTZ* verbindet den Hypothalamus mit der Formatio reticularis.

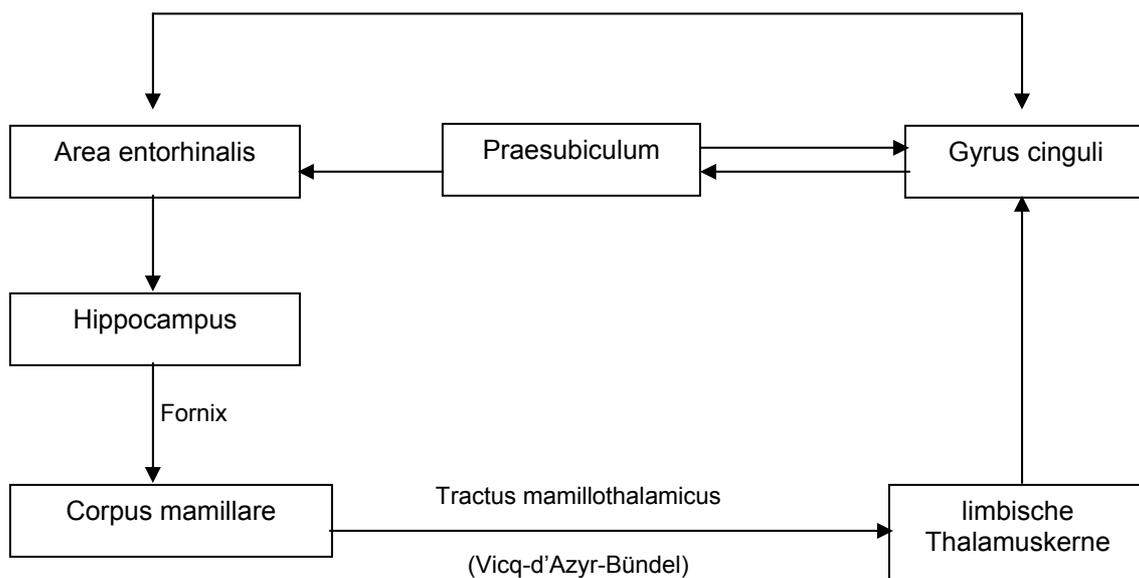


Abb. 7. Papez-Neuronenkreis. Dieser Neuronenkreis zieht vom Hippocampus über den Fornix zum Corpus mamillare, von dort über den Tractus mamillothalamicus (*Vicq-d'Azyr-Bündel*) zum Thalamus (Ncl. anterior) und von dort zum Gyrus cinguli, der über Praesubiculum und Area entorhinalis wiederum zum Hippocampus projiziert. Das Corpus mamillare ist zusätzlich über den Tractus mamillo-tegmentalis und den Pedunculus mamillaris reziprok mit limbischen Kerngebieten in der Formatio reticularis des Mesencephalons (Nucleus tegmentalis dorsalis GUDDEN, Nucleus reticularis tegmenti pontis BECHTEREW) verbunden (nicht abgebildet). Die zusätzlichen Verbindungen der einzelnen Stationen sind zugunsten der Übersichtlichkeit nicht aufgeführt.

Aus den oben genannten Details (1-5) ist ersichtlich, daß ein Großteil der hypothalamischen Afferenzen im limbischen System entspringt sowie im Hirnstamm

(Mittelhirn, *Formatio reticularis*). Dagegen bestehen kaum direkte Verbindungen vom und zum Neokortex (mit Ausnahme des präfrontalen Kortex), desgleichen sind direkte Verbindungen zum spezifischen Thalamus und zu den Basalganglien rar (BIRBAUMER und SCHMIDT 1996).

3. Das magnozelluläre und das parvozelluläre System

Im Nucleus supraopticus und vor allem im Nucleus paraventricularis hypothalami existieren Neuronenpopulationen, die aufgrund der Größe ihrer Perikaryen (\emptyset ca. 20 μ m) als magnozellulär bezeichnet werden. Die Axonterminalen dieser magnozellulären neurosekretorischen Neuronen enden wie bereits beschrieben im Hypophysenhinterlappen (hypothalamo-neurohypophysäres System) und sezernieren dort die Neuropeptide Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP) in den perikapillären Raum. Diese Hormone wirken über die Blutbahn direkt auf die peripheren Zielorgane. Der Nucleus supraopticus besitzt ausschließlich magnozelluläre Neuronen, wogegen der Nucleus paraventricularis hypothalami noch zusätzlich parvozelluläre Neuronenverbände aufweist (ARMSTRONG ET AL. 1980, ARMSTRONG 1995).

Hypothalamische magnozelluläre Neuronen waren in der Vergangenheit Gegenstand zahlreicher morphologischer Untersuchungen, zunächst um den Ursprungsort der neurohypophysären Hormone nachzuweisen, und später, um ihre Rolle in der Regulierung der neurohypophysären Sekretion besser verstehen zu können. Es zeigte sich jedoch, daß die beiden Peptidhormone (OX, VP) auch in solchen Fasern des ZNS vorkommen, die bei Säugetieren keine offensichtlichen neuroendokrinen Funktionen besitzen (SOFRONIEW 1990). Man stellte sich damals die Frage, ob diese Fasern von den klassischen magnozellulären Neuronen stammen, oder ob es noch andere OX- und VP-produzierende Neuronen gibt. Tatsächlich wurde im Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) und im Nucleus suprachiasmaticus (SCh) von nicht mit Colchicin behandelten Tieren eine neue Neuronenpopulation entdeckt, die OX und VP exprimiert, deren Perikaryen allerdings einen deutlich geringeren Durchmesser besitzen als die bisher beschriebenen magnozellulären Neuronen. Im Pa waren unter den parvozellulären Neuronen oxytocinerge sowie vasopressinerge Zellen vorhanden; im SCh ließ sich ausschließlich VP nachweisen (SOFRONIEW 1990).

Für die immunhistochemische Visualisierung weiterer parvozellulärer Perikaryen in anderen oxytocin- und vasopressinergen Regionen wie den Nuclei striatae terminalis (Bettkerne der Stria terminalis) und der medialen Amygdala war eine Behandlung der untersuchten Tiere mit Colchicin notwendig. Parvozelluläre Neuronen enthalten weniger antigenes Material als magnozellanuläre Neuronen und sind deshalb immunhistologisch schwieriger nachzuweisen. Mit Hilfe des Mitosespindelgifts Colchicin, welches über die Inhibition des schnellen Axontransports eine Akkumulation des jeweils produzierten Peptids und somit eine Erhöhung der Antigenität bewirkt, kann somit eine Verstärkung der Neuronenmarkierung erreicht werden. Auf diese invasiven Behandlungen (Schädeltrepanation mit anschließender intrakranieller Injektion in den lateralen Ventrikel), die die Gesundheit der Tiere stark beeinträchtigen und den physiologischen Zustand der Neuronenpopulationen verfälschen könnten, wurde in der vorliegenden Arbeit verzichtet (s. Diskussion).

Die parvozellulären Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami können in Neuronen unterteilt werden, deren Axone zum einen in die äußere Zone der Eminentia mediana (syn. Infundibulum) projizieren und dort Steuerhormone bereitstellen. Die in dieser neurohämalen Zone ins Blut übergetretenen Releasing- bzw. Inhibiting-Faktoren kontrollieren die Freisetzung von Hormonen aus der Adenohypophyse. Zum anderen projizieren parvozelluläre Neuronen über absteigende Faserbahnen v.a. in vegetativ autonome Zentren des Mesencephalon (Ncl. Edinger-Westphal, Substantia grisea centralis), Myelencephalon (Parabrachialregion, Locus coeruleus, Raphekerne, Area postrema, Ncl. tractus solitarii, Vagus-Ambiguus-Komplex) sowie des Rückenmarks (Ncl. intermediolateralis und Lamina I; KÜNZLE 1993).

Parvozelluläre Neuronen exprimieren neben Vasopressin (VP) und Oxytocin (OX) noch weitere Neurotransmitter wie Cholecystokinin (CCK), Substanz P (SP), Neurotensin (NT), Galanin, Enkephalin und den Releasing-Faktor des Wachstumshormons (GHRF). Eine Besonderheit ist die Co-Lokalisation von Neurotransmittern und deren veränderte Expression unter pathophysiologischen Bedingungen: Für primär Corticotropin-Releasing-Hormone (CRH)-haltige parvozelluläre Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami von Ratte und Meerschweinchen ist bekannt, daß sie unter bestimmten pathophysiologischen Zuständen, (z.B. Fieber, Dehydrierung, Adrenalectomie, Stress) neben

CRH zusätzlich Vasopressin exprimieren können, welches unter diesen Bedingungen als Releasing-Faktor für das Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) wirkt (KISS ET AL. 1984).

4. Topographie, Struktur und Funktion der hypothalamischen Kerngebiete

Im Sinne einer optimalen Transparenz und Verständlichkeit dieser Arbeit wird hier jeder der im folgenden Ergebnisteil besprochenen Kernregionen eine Charakteristik vorangestellt. Die dreidimensionale Darstellung (Abb. 8) des Rattengehirns sowie die vier Übersichtszeichnungen der anatomischen Strukturen in Koronalschnitten (Abb. 9-12) sollen helfen, die komplexen topographischen Zusammenhänge von rostral nach kaudal nachzuvollziehen. [Die Reihenfolge der Nuclei orientiert sich am Ergebnisteil.] Die Details gelten primär für das Rattengehirn, die Afferenzen und Efferenzen sowie die Funktion der Strukturen wurden den zitierten Literaturstellen entnommen (ARMSTRONG 1995, SIMERLY 1995, VOOGD ET AL. 1998 etc.).

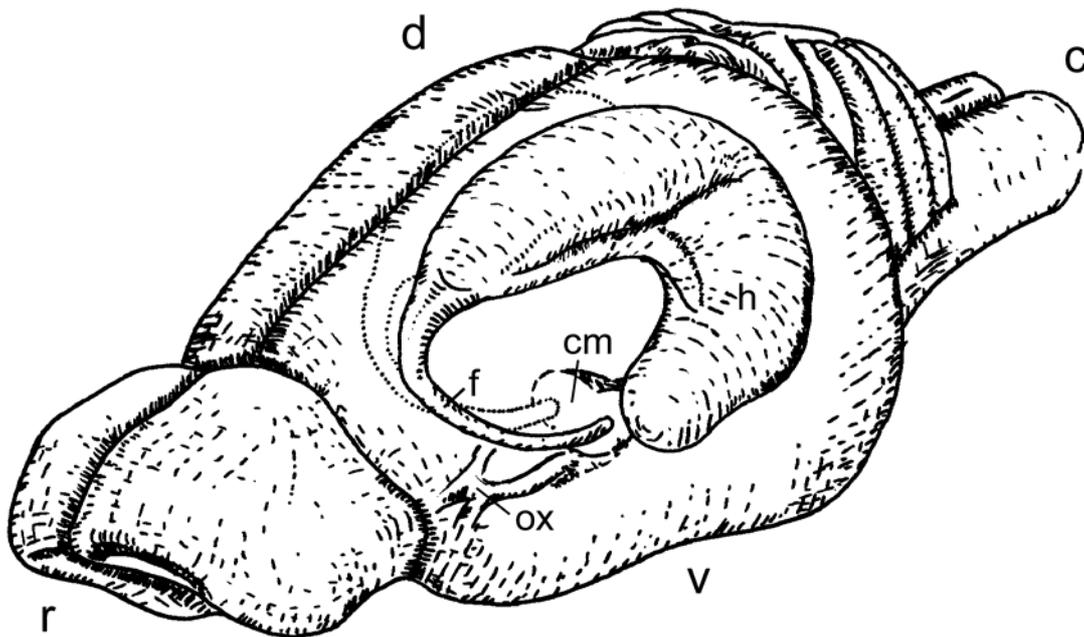


Abb. 8. Dreidimensionale Darstellung eines Rattengehirns mit topographischer Rekonstruktion der Hippocampusformation. Modifiziert nach PAXINOS (1995). Abkürzungen: cm, Corpus mamillare; d, dorsal; f, Fornix; h, Hippocampus; k, kaudal; ox, Chiasma opticum; r, rostral; v, ventral.

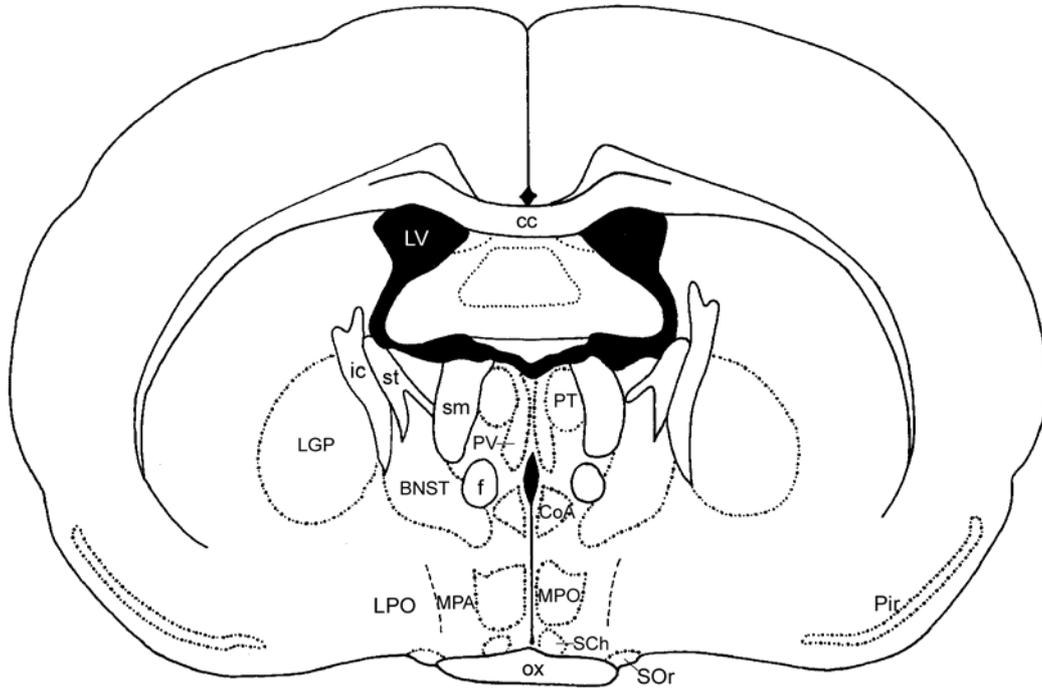


Abb. 9. Rostraler Abschnitt des Hypothalamus; modifiziert nach PAXINOS and WATSON (1998). Abkürzungen s. Abb. 5 sowie Anhang und Text.

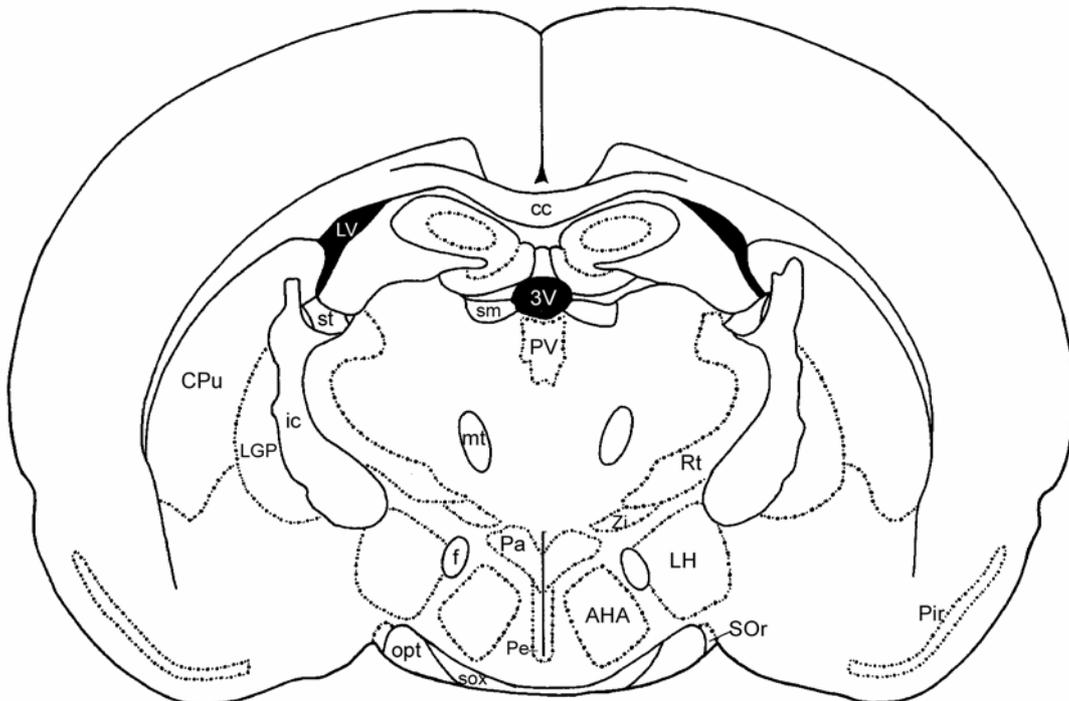


Abb. 10. Mittlerer Abschnitt des Hypothalamus; modifiziert nach PAXINOS and WATSON (1998). Abkürzungen s. Abb. 5 sowie Anhang und Text.

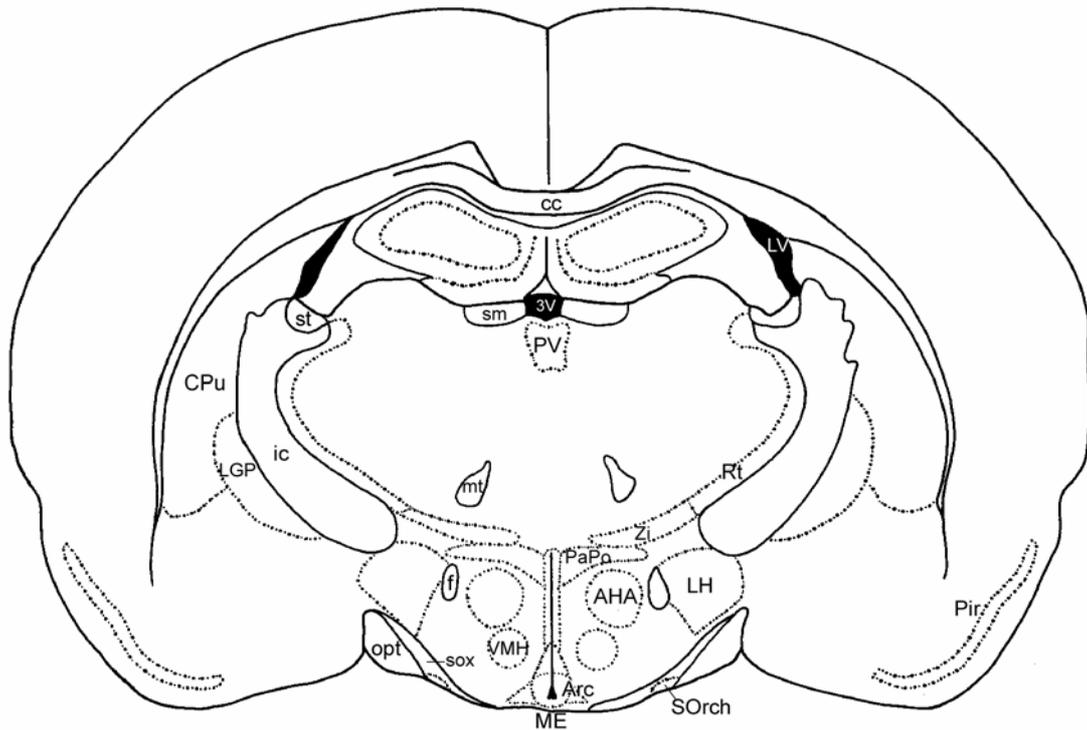


Abb. 11. Kaudaler Abschnitt des Hypothalamus; modifiziert nach PAXINOS and WATSON (1998). Abkürzungen s. Abb. 5 sowie Anhang und Text.

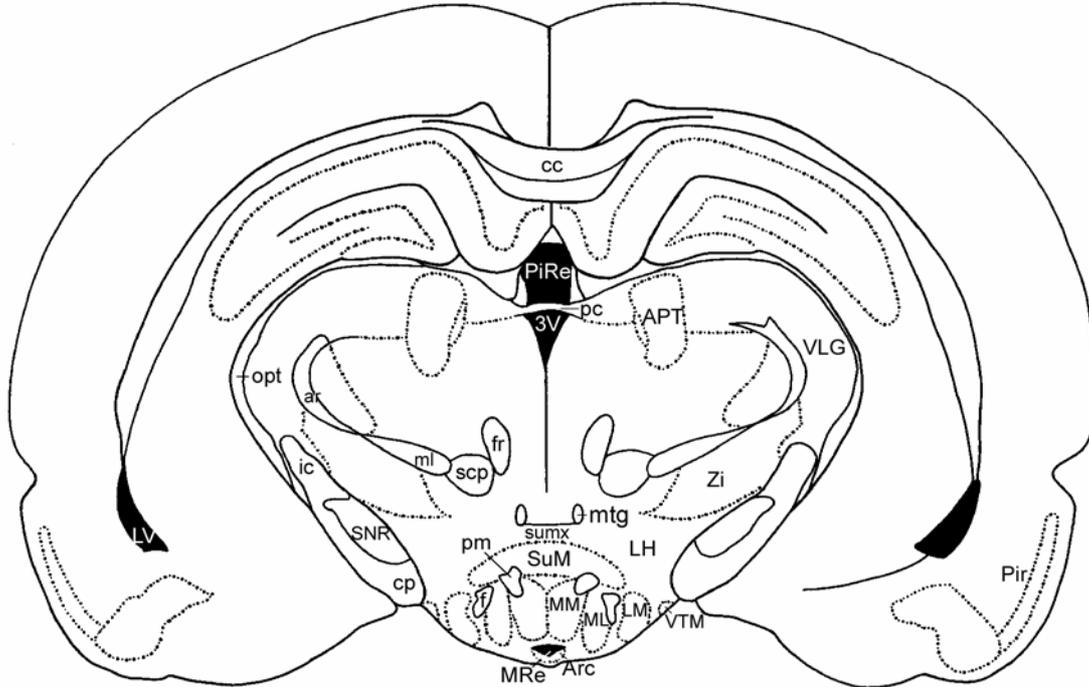


Abb. 12. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare; modifiziert nach PAXINOS and WATSON (1998). Abkürzungen s. Abb. 5 sowie Anhang und Text.

4.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa)

TOPOGRAPHIE. Als Zentralstruktur im vorderen Hypothalamus flankiert der hypothalamische Nucleus paraventricularis hypothalami (s. Abb. 5, 10; Pa) mit seiner charakteristischen Keilform beiderseits die Seitenwände des 3. Ventrikels (3V). Der Kern beginnt rostral etwa in Höhe des Nucleus suprachiasmaticus (SCh), beiderseits des 3. Ventrikels und endet kaudal in Höhe der Eminentia mediana (s. Abb. 11: PaPo; vgl. Abkürzungsverzeichnis S. 167f.). Die Mehrheit der magnozellulären Neuronen, die mit ihren Axonen in die Neurohypophyse projizieren, ist in zwei Teilgebieten lokalisiert: in der rostromedial gelegenen medialen magnozellulären Gruppe (PaMM), die hauptsächlich Oxytocin-Neuronen enthält und in der dorsolateral gelegenen lateralen magnozellulären Gruppe (PaLM), die vornehmlich Vasopressin exprimiert (ARMSTRONG 1995; für Details vgl. Kapitel V. Ergebnisse).

HINTERGRUND. Der Nucleus paraventricularis hypothalami ist ein zytoarchitektonisch komplexes Gebilde, welches verschiedene Peptide exprimiert und damit auch unterschiedlichen Funktionen genügt. In früheren Studien wurde der Kern anhand seiner magnozellulären und parvozellulären Komponenten unterteilt (KRIEG 1932). Später erfolgte die weitere Aufgliederung des magnozellulären Bereichs in einen dorsolateralen (der spätere PaLM-) und einen medioventralen (der spätere PaMM-) Anteil (ARMSTRONG ET AL. 1980). Der Nucleus commissuralis anterior (CoA) der Ratte, von PETERSON (1966) als ein vom Nucleus paraventricularis hypothalami räumlich abgesetzter und eigenständiger Kern definiert, wird von einigen Autoren lediglich als der rostrale Subnucleus des Pa bezeichnet (SWAAB ET AL. 1979). Die in der Literatur bevorzugte Aufteilung des magnozellulären Bereichs in drei und die des parvozellulären Bereichs in fünf Untereinheiten (SWANSON and KUYERS 1980) konnte an unserem Material und mit den hier eingesetzten Methoden nicht nachvollzogen werden. SWANSON and KUYERS (1980) zählen zum Pa neben den o.g. Subnuclei noch zusätzlich den Nucleus *periventricularis* magnocellularis (PeM) und den Nucleus commissuralis anterior (CoA), die gemäß PAXINOS (1995) den akzessorischen magnozellulären Nuclei zuzuordnen sind.

Die vorliegende Arbeit orientiert sich an den Definitionen von PETERSON (1966) und der Einteilung von ARMSTRONG (1980), welche beide in das Stan-

dardwerk von PAXINOS (1995) aufgenommen wurden. Die formale Einteilung der o.g. Untereinheiten anhand verschiedener Zellpopulationen und deren Zuordnung zum magnozellulären bzw. parvozellulären System (was die Hilfe von invasiven experimentellen Methoden voraussetzt) waren bei unserer Untersuchung von Ratten und Graumullen nicht beabsichtigt. Entscheidend für das hier bearbeitete Thema sind die unter physiologischen Bedingungen erzielte Qualität und Quantität der Immunreaktivität von Neuronen, welche bei Ratte und Graumull vergleichend beschrieben und auf ihre mutmaßliche neurobiologische Bedeutung bei diesen Tieren hin ausgewertet und interpretiert werden sollen. Die im folgenden aufgeführten Afferenzen und Efferenzen beziehen sich auf die magnozelluläre Neuronenpopulation (vgl. Kap. II. 3: Das magnozelluläre und das parvozelluläre System)

AFFERENZEN (s. Tabelle 1). An vasopressinergen Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami (pars magnocellularis) sowie des Nucleus supraopticus enden afferente Fasern von den Bettkernen der Stria terminalis, vom Nucleus tuberomammillaris (histaminerg) und von der noradrenergen A1-Zellgruppe der Medulla oblongata, welche ihrerseits kardiovaskuläre Informationen (via den Tractus solitarius) aus den Nuclei der Nervi glossopharyngeus et vagus empfängt (ARMSTRONG 1995).

Oxytocinerge Neuronen beider Kerne (Nucleus paraventricularis hypothalami und Nucleus supraopticus) sind Zielneuronen des parvozellulären Nucleus arcuatus (= infundibularis), des Nucleus dorsomedialis hypothalami und der serotoninergen Raphekerne (aszendierende Fasern des oralen Raphekernkomplexes). Zusätzlich hierzu projiziert der Bulbus olfactorius zu oxytocinergen Neuronen des Nucleus supraopticus (funktionelle Bedeutung für die Milchsekretion und Milchejektion der Brustdrüse).

Vasopressinerge und oxytocinerge Neuronen der beider Kerne erhalten auch Afferenzen aus dem Septum, dem Nucleus praeopticus medialis und von den zirkumventrikulären Organen. Diese osmo- und chemosensiblen Organe registrieren osmotische und hormonelle Veränderungen im Serum und aktivieren z.B. beim Anstieg der Osmolarität die magnozellulären Neuronen der beiden Kerne (via Angiotensin II-haltige Fasern), die mit einer verstärkten Ausschüttung von Vasopressin an ihren neurohypophysären Axonendigungen reagieren.

EFFERENZEN (s. Tabelle 1). Die gemeinsamen Efferenzen der vasopressinergen und oxytocinergen magnozellularen Neuronen beider Kerne ziehen im Tractus hypothalamo-hypophysialis in die Neurohypophyse. Ein kleinerer Teil der Axone endet an der Eminentia mediana, um auch Vasopressin in den Portalkreislauf abzugeben.

FUNKTION. Der Nucleus paraventricularis hypothalami ist als heterogenes Gebilde in vielfältige physiologische Vorgänge involviert. Durch die zentrale Lage, seine zahlreichen neuroaktiven Substanzen (neben Oxytocin und Vasopressin werden auch Dopamin, Enkephalin, Angiotensin II, Neurotensin etc. exprimiert) und durch zahlreiche modulierende Projektionen sowohl in das limbische als auch das autonome System kommt diesem Kern eine große Bedeutung zu. Die magnozellularen Perikaryen produzieren entweder Vasopressin und Neurophysin II (auch zusammen mit Substanz P oder Dynorphin) oder Oxytocin und Neurophysin I (auch gemeinsam mit met-Enkephalin oder Cholecystokinin) (ZILLES 1987).

	magnozelluläres System	
	vasopressinerge Neuronen	oxytocinerge Neuronen
getrennte Afferenzen zu folgenden Kerngebieten:	Ncl. striae terminalis Ncl. tuberomammillaris (Histamin) Medulla oblongata (Noradrenalin)*	Raphekerne (Serotonin) Nucleus arcuatus Ncl. dorsomedialis hypothalami Bulbus olfactorius**
gemeinsame Afferenzen zu folgenden Kerngebieten:	Septum Ncl. praeropticus medialis Organum vasculosum laminae terminalis (OVLT) (Angiotensin 2)*** Subfornikalorgan (Angiotensin 2)***	
gemeinsame Efferenzen zu:	Neurohypophyse, (Eminentia mediana, ME)	

Tabelle 1. Übersicht der oxytocin- und vasopressinergen Faserbahnen im Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), pars magnocellularis. *Zellgruppe A1: kardiovaskuläre Informationen vom N. glossopharyngeus und N. vagus via Tractus solitarius; **Afferenzen ziehen nur zum Nucleus supraopticus, funktionelle Bedeutung für Milchsekretion und -ejektion der Brustdrüse; ***Osmosensible Strukturen, welche die ionale Zusammensetzung des Blutes registrieren.

4.2. Nucleus commissuralis anterior (CoA)

TOPOGRAPHIE. Im vorderen dorsalen Hypothalamus, zwischen Commissura anterior (Abb. 5: ac) und Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), ist bei der Ratte ein Kerngebiet lokalisiert welches nach PETERSON (1966) als Nucleus commissuralis anterior (CoA) bezeichnet wird (Abb. 5, 9). Das rostrale Ende

des CoA befindet sich ventral der Columna fornicis (f), wo der Kern an die mediale präoptische Region (Abb. 5, 6: MPA) wie auch an den Nucleus praeopticus medialis (MPO) grenzt und sich vom Ependym des dritten Ventrikels nach lateral erstreckt. Die Nervenzellen des CoA werden zur akzessorischen magnozellulären neurosekretorischen Neuronenpopulation gezählt; sie sind hier zum Nucleus commissuralis anterior verdichtet und exprimieren fast ausschließlich Oxytocin.

HINTERGRUND. Die komplizierte Nomenklatur des Hypothalamus und seiner Nuclei zeigt sich u.a. am Beispiel des CoA. Neben der Einteilung nach PETERSON gibt es Autoren, die dieses Kerngebiet als einen rostralen Anteil des Nucleus paraventricularis hypothalami bezeichnen (HOU-YU ET AL. 1986). In der vorliegenden Arbeit wurde die Nomenklatur nach PETERSON (1966) und ARMSTRONG (1995) übernommen, da es sich bei dem CoA der Ratte offenbar um ein vom Nucleus paraventricularis hypothalami räumlich abgesetztes Kerngebiet handelt. Die unmittelbar am Ependym des dritten Ventrikels lokalisierten Neuronen des CoA werden von einigen Autoren (HOU-YU ET AL. 1986) auch als die Pars magnocellularis des Nucleus *periventricularis* bezeichnet. Im Ergebnisteil (s.u.) werden die periventrikulär gelegenen Neuronen zum CoA gerechnet. Beim Graumull hingegen scheint ein Nucleus commissuralis anterior nicht zu existieren (s. Ergebnisse).

AFFERENZEN UND EFFERENZEN. Eigene Faserverbindungen des CoA waren in der uns zugänglichen Literatur nicht zu finden. Da diesem Nucleus von den meisten Autoren keine Eigenständigkeit zugeschrieben wird und er funktionell gesehen zu demselben neurosekretorischen System gehört wie der Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), sollten seine Faserverbindungen bei der Ratte weitestgehend denen des Pa entsprechen (MISELIS 1981).

FUNKTION. Die Gruppe der diffus verbreiteten akzessorischen magnozellulären neurosekretorischen Neuronen sowie ihre Nuclei (inklusive des CoA) produziert hauptsächlich OX und VP. Die Axone dieser Neuronen terminieren vornehmlich in der Neurohypophyse. Es ist anzunehmen, daß die Zellen ähnlichen Input erhalten wie die magnozellulären Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) und des Nucleus supraopticus (SO). Ob der CoA neben seiner neurosekretorischen Funktion noch weitere Aufgaben erfüllt, ist bislang nicht geklärt (ARMSTRONG 1995).

4.3. Nucleus suprachiasmaticus (SCh)

TOPOGRAPHIE. Der Nucleus suprachiasmaticus (Abb. 5, 9) ist ein kleinzelliger, unscharf begrenzter ovoider Kern. Er gehört zur anterioren/periventriculären Zone des Hypothalamus (Abb. 6) und liegt rostroventral vom Pa, lateral des 3. Ventrikels und dorsal des Chiasma opticum. Nach lateral grenzt der SCh an die vordere hypothalamische Region (AHA) und nach dorsal an den Nucleus praeopticus medialis (Abb. 9: MPO). Der rostrale Bereich des Nucleus suprachiasmaticus ist im Transversalschnitt dreieckig, weiter kaudal rundet sich der Kern ab (KÜNZLE 1993). In den Übersichtszeichnungen (Abb. 9-11) sind die topographischen Verhältnisse der Nuclei suprachiasmaticus, paraventricularis hypothalami und supraopticus dargestellt.

HINTERGRUND. Der Nucleus suprachiasmaticus besteht aus polymorphen kleinzelligen (parvozellulären) peptidergen Perikaryen, die mit ihren unterschiedlichen Afferenzen und Transmittern die heterogene Struktur des SCh bestimmen; hier lassen sich bereits in unbehandelten Ratten parvozelluläre vasopressinerge Neuronen darstellen (SOFRONIEW 1990).

AFFERENZEN. Neben retinalen Afferenzen erhält der SCh Zuflüsse aus dem supraoptischen Gebiet, dem Nucleus praeopticus medialis, dem Corpus amygdaloideum, dem Subiculum und von den Raphekernen (SIMERLY 1995). Mit den Septumkernen und dem ventralen Teil des Corpus geniculatum laterale ist der SCh reziprok verbunden.

EFFERENZEN. Es bestehen direkte Faserverbindungen zu periventriculären Kernen (Nucleus paraventricularis hypothalami, Nuclei dorsomedialis et ventromedialis hypothalami), zum Mamillarkernkomplex, zum Organum vasculosum der Lamina terminalis (OVLT), ins laterale Septum (über die Stria medullaris thalami) und zum Nucleus habenularis lateralis (SIMERLY 1995).

FUNKTION. Die Besonderheit des Nucleus suprachiasmaticus besteht darin, daß er u.a. über retinohypothalamische Afferenzen Informationen über den tageszeitlichen Hell-Dunkel-Wechsel erhält und bei der Synchronisation zirkadianer und anderer Rhythmen des zentralen neuroendokrinen Systems eine bedeutende Rolle spielt (Zeitgeber). So werden z.B. die Konzentrationen verschiedener Hormone im Blut durch Hell-Dunkel-Impulse über Afferenzen aus dem visuellen System gesteuert (ZILLES 1987). Die visuelle Information „hell“

beispielsweise führt zu einer Hemmung der Melatoninproduktion im Corpus pineale. Die Übertragung des exogen (visuell) und endogen (hormonell) induzierten Rhythmus auf andere neuronale Strukturen erfolgt über rhythmische Entladungen seiner efferenten Fasern (KÜNZLE 1993). Nach experimenteller Zerstörung des Nucleus suprachiasmaticus schlafen, wachen und träumen Tiere weiter, aber in chaotischer, nicht rhythmischer Abfolge. Der Nucleus suprachiasmaticus ist allerdings nur einer der wichtigen endogenen Taktgeber, der für die Etablierung eines Tag-Nacht-Rhythmus notwendig ist.

4.4. Nucleus supraopticus (SO)

TOPOGRAPHIE. Der Nucleus supraopticus der Ratte (Abb. 9) befindet sich ventral des dritten Ventrikels an der Hirnbasis und begleitet den Tractus opticus (opt) über eine Länge von ca. 2500 µm. Mit Blick auf den Tractus opticus wird der Kern in einen rostralen, dorsolateral gelegenen (SO^{r*}) und einen retrochiasmatischen, ventromedial gelegenen Abschnitt (SO^{rch}) unterteilt. Die rostralen Neuronen grenzen an das Organum vasculosum der Lamina terminalis (OVLT) (SOFRONIEW 1990), um sich dann kaudalwärts und lateralwärts kappenartig der Oberfläche des Tractus opticus anzulegen. Der retrochiasmatische Anteil (SO^{rch}) des Kerns imponiert als eine schmale, bandähnliche Struktur; seine Neuronen lassen sich bis in die Region des Tuber cinereum verfolgen.

AFFERENZEN. Der SO erhält seine Afferenzen aus dem Subfornikalorgan und dem Nucleus praeopticus medianus und reguliert über die VP-Sekretion den Wasserhaushalt. Zusätzliche Afferenzen stammen aus dem Nucleus striae terminalis (syn. bed nucleus of stria terminalis, BNST), Nucleus dorsomedialis hypothalamici (DMH), der medialen präoptischen Region (MPA), der rostralen periventriculären Region und dem Organum vasculosum der Lamina terminalis (OVLT). Das diagonale Band [Broca] und das laterale Septum üben einen stark inhibitorischen Einfluß auf die Neuronen des SO aus. Direkte Projektionen aus dem Bulbus olfactorius scheinen während der Schwangerschaft und der Laktation von Bedeutung zu sein (ARMSTRONG 1995).

* Nach PAXINOS (1995) steht die Abkürzung SO für den gesamten Nucleus supraopticus inklusive des rostralen Unterkerns. Um Missverständnissen vorzubeugen, wird in dieser Arbeit für den rostralen Unterkern die Abkürzung SO^r und für den gesamten Nucleus die Abkürzung SO verwendet.

Die EFFERENZEN enden fast exklusiv im Hypophysenhinterlappen (wenige magnozelluläre Zellen projizieren auch ins Infundibulum) und sezernieren hier Oxytocin und Vasopressin.

FUNKTION. Zur Funktion innerhalb des neurohypophysären Systems und zu seiner Verschaltung s. Kap. 4.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa).

4.5. Akzessorische magnozelluläre neurosekretorische Neuronen (ACC)

Etwa ein Drittel der magnozellulären Neuronen befindet sich außerhalb von Pa und SO als sogenannte akzessorische magnozelluläre neurosekretorische Neuronen bzw. Nuclei (ACC) (SOFRONIEW 1983). Aufgrund der Neuronenzahl und -dichte werden der Nucleus commissuralis anterior (CoA) und der Nucleus *periventricularis* magnocellularis (PeM) als akzessorische magnozelluläre neurosekretorische *Nuclei* bezeichnet (ARMSTRONG 1995). Die übrigen akzessorischen Neuronen sind diffus über den gesamten Hypothalamus verstreut und teilweise schwer einem Kerngebiet zuzuordnen. Es folgt nun die Beschreibung sämtlicher Regionen (Areae und Nuclei) außerhalb von Pa, CoA und SO, in denen (akzessorische) oxytocinerge bzw. vasopressinerge Neuronen nachweisbar sind. Neben ihrer neurosekretorischen Funktion weisen diese Regionen und Nuclei noch weitere Besonderheiten auf, welche aus Gründen der Vollständigkeit hier ebenfalls besprochen werden sollen (von rostral nach kaudal).

Area praeoptica medialis (MPA)

TOPOGRAPHIE. Die Area praeoptica medialis (MPA) als primär telenzephalies Gebiet grenzt an den lateralen Rand des Nucleus praeopticus medialis (MPO) und ist strenggenommen nicht nukleär gegliedert. Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Analysen war eine derartig genaue Grenzziehung zwischen MPA und MPO nicht möglich (Kontinuum diffus verteilter antigenhaltiger Neuronen). Außerdem ist die Nomenklatur nicht einheitlich: SIMERLY (1995) trennt die MPA deutlich vom MPO ab, wogegen ZILLES (1987) den MPO als einen Nucleus innerhalb der MPA bezeichnet. Die MPA bildet den rostralen Anteil der medialen hypothalamischen Längszone (Abb. 6) und befindet sich etwa in Höhe der Lamina terminalis zwischen Nucleus supra-chiasmaticus (SCh) bzw. Nucleus supraopticus (SO) und der Commissura anterior (ac) (s. Abb. 5).

AFFERENZEN. Der MPO erhält Zuflüsse aus dem Nucleus amygdalae medialis, dem Nucleus striae terminalis, dem lateralen Septum und aus Hirnstammregionen wie der Area tegmentalis ventralis, dem Nucleus tractus solitarii und dem Nucleus parabrachialis (SIMERLY 1995).

Die EFFERENZEN des MPO sind weitreichend und schließen Regionen ein, welche u.a. limbische, neuroendokrine, autonome und motorische Funktionen modulieren: z.B. ziehen Efferenzen ins Corpus amygdaloideum, im medialen Vorderhirnbündel zu den Septumkernen, zum Tuberculum olfactorium und Nucleus olfactorius anterior, zu den meisten hypothalamischen Kernen und ins Mittelhirn (zentrales Höhlengrau, Area tegmentalis ventralis, Formatio reticularis inklusive Raphekerne) (ZILLES 1987).

FUNKTION. Der Nucleus praeopticus medialis (MPO) als wichtige telencephalo-diencephale Schaltstelle ist völlig in den Hypothalamus integriert. Die mediale präoptische Region (MPA) besitzt weitreichende Verbindungen zwischen Hirnstamm und limbischem System, mit modulierendem Einfluss auf reproduktives und mütterliches Verhalten (SIMERLY 1995, PFAFF ET AL. 1994).

Area hypothalamica anterior (AHA)

TOPOGRAPHIE. Zwischen der Area praeoptica medialis (MPA) und der Area hypothalamica anterior (AHA) läßt sich ebenfalls keine eindeutige Grenze ziehen; entlang der rostro-kaudalen Achse des Gehirns gehen diese beiden Regionen fließend ineinander über (s. Abb. 5-6, 9-11). Die Area hypothalamica anterior (AHA) beginnt definitionsgemäß dort, wo der Nucleus praeopticus medialis (MPO) durch den Nucleus anterior hypothalami (AH) abgelöst wird (Abb. 6). Die quantitative Auswertung dieser Arbeit differenziert nicht zwischen Area hypothalamica anterior (AHA) und Nucleus anterior hypothalami (AH). Ähnlich wie die präoptische Region stellt die AHA eine diffuse Ansammlung von Neuronen dar (SIMERLY 1995).

Nucleus anterior hypothalami (AH)

TOPOGRAPHIE. Der Nucleus anterior hypothalami (in Abb. 10, 11 nicht dargestellt) liegt unscharf begrenzt im Gebiet zwischen Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis hypothalami.

FUNKTION. Er bildet vor allem eine Schaltstelle zwischen Rindenarealen, medialen Hypothalamuskernen und Mittelhirnkernen.

AFFERENZEN. Der AH erhält komplexe Projektionen aus der medialen Zone des Hypothalamus, spärliche Zuflüsse aus der lateralen hypothalamischen Zone und wenig Input aus telencephalen Regionen wie dem Subiculum, dem Nucleus striae terminalis (Abb. 9: BNST) und dem Nucleus septalis lateralis (SIMERLY 1995).

Die meisten EFFERENZEN ziehen zur medialen hypothalamischen Zone, in die Regionen der lateralen hypothalamischen Zone und zum Nucleus paraventricularis thalami.

Area hypothalamica lateralis (LH)

TOPOGRAPHIE. In der Area hypothalamica lateralis (syn. laterale hypothalamische Region) wird der größte Teil des lateralen Randbezirks des Hypothalamus zusammengefaßt (Abb. 6, 10-12); sie erstreckt sich zwischen der Columna fornicis medial und der Capsula interna (ic) lateral. Rostral geht die LH in die Area praeoptica lateralis (LPO) über, kaudal grenzt sie an das Tegmentum (Mittelhirn). Durch die Area hypothalamica lateralis zieht als Fasermasse der Fasciculus medialis telencephali (syn. mediales Vorderhirnbündel). Innerhalb der LH befinden sich dorsal des Tractus opticus mehrere Cluster magnozeller neurosekretorischer Neuronen, die als Nucleus des medialen Vorderhirnbündels (nucleus of medial forebrain bundle; NMFB) zusammengefaßt werden (PETERSON 1966).

Die Nuclei praeopticus lateralis, tuberalis lateralis sowie tuberomamillaris werden gelegentlich als Kerne der lateralen hypothalamischen Region bezeichnet, obwohl sie in diesem primär retikulär organisierten Gebiet keine klaren Grenzen aufweisen (ZILLES 1987).

AFFERENZEN erhält die LH über den Fasciculus medialis telencephali (= medialis Vorderhirnbündel, mfb) aus dem Nucleus tegmentalis dorsalis und dem Nucleus striae diagonalis [Broca], sowie über Fasern aus der basolateralen Kerngruppe des Corpus amygdaloideum (Fibrae amygdalofugales ventrales).

EFFERENZEN der LH ziehen vor allem zum Hippocampus und zum Locus coeruleus.

FUNKTION. Allgemein läßt sich für die gesamte laterale Zone des Hypothalamus festhalten, daß sie an der Verarbeitung sensorischer Informationen (z.B. bei Hunger und Durst) und der Expression von Verhaltensmustern wie Aggression und Reproduktion beteiligt ist (SIMERLY 1995).

4.5. Der Mamillarkörperkomplex („mammillary complex“)

TOPOGRAPHIE. Im kaudalen Abschnitt des Hypothalamus liegt der Mamillarkörperkomplex, bestehend aus den Nuclei mamillares medialis (MM, ML) et lateralis (LM), welche den Mamillarkörper bilden, und dem Nucleus supramamillaris (SuM) (SIMERLY 1995) (vgl. Abb.12).

AFFERENZEN. Seine wichtigsten Afferenzen empfängt der Mamillarkörper via Fornix aus dem Praesubiculum und aus der Area entorhinalis (Papez-Kreis, s. Abb. 7). Zusätzliche limbische Afferenzen ziehen vom Nucleus septalis lateralis und vom Nucleus striae terminalis zum Nucleus mamillaris lateralis (LM), während Fasern vom Nucleus septalis medialis und vom Nucleus striae diagonalis [Broca] eher im Nucleus mamillaris medialis (MM, ML) enden (SIMERLY 1995, VOOGD ET AL. 1998). Dagegen enden nur wenige afferente Faserverbindungen aus dem Hirnstamm im Mamillarkörper. Ausnahmen sind Afferenzen vom Nucleus tegmentalis dorsalis [Gudden], die im LM terminieren und Faserverbindungen vom Nucleus tegmentalis ventralis, die im MM enden.

EFFERENZEN. Als eine besondere efferente Faserverbindung des Mamillarkörpers gilt der Tractus mamillaris principalis (Abb. 12: pm). Dieses kompakte Bündel spaltet sich in den Tractus mamillothalamicus (Abb. 5, 11: mt, Vicq-d'Azyr-Bündel) und den Tractus mamillotegmentalis (Abb. 5: mtg) auf. Der descendierende Tractus mamillotegmentalis enthält Fasern von MM, ML sowie von LM und terminiert im Nucleus tegmentalis dorsalis [Gudden] und im Nucleus reticularis in tegmento pontis [Bechterew] (ZILLES und REHKÄMPER 1994). Der ascendierende Tractus mamillothalamicus zieht zu den Nuclei anteriores thalami. Intrahypothalamische Verbindungen des Mamillarkörpers sind in der medialen Längszone nur schwach ausgeprägt.

FUNKTION. Den Projektionen des Corpus mamillare wird eine wichtige Rolle bei der Gedächtnisbildung sowie die Beeinflussung von Affektverhalten und Sexualität zugeschrieben (TREPPEL 1999). Der Mamillarkörper ist Teil des limbi-

schen Systems, welches vornehmlich aus telenzephalen Gebieten besteht und für das reibungslose Zustandekommen von zahlreichen triebhaften, emotionalen und intellektuellen Leistungen unerlässlich ist. Allerdings sind diese Leistungen derart komplex, daß es vermessen wäre, sie nur einigen wenigen Hirnstrukturen zuzuordnen (TREPEL 1999). Läsionen des Mamillarkörpers (z.B. alkoholtoxische Degeneration) führen beim Menschen neben charakteristischen Verhaltensauffälligkeiten zu massiven Merkfähigkeitsstörungen und Erinnerungslücken.

Nucleus supramamillaris medialis (SuM)

TOPOGRAPHIE. Der Nucleus supramamillaris (Abb. 5, 12: SuM) befindet sich einerseits zwischen dem eigentlichen Mamillarkörper (MM, LM) und der Area hypothalamica posterior (PHA) (SIMERLY 1995), andererseits liegt der Kern kappenartig dem Mamillarkörper auf. Der SuM setzt sich aus einem großzelligen lateralen und einem kleinzelligen medialen Teil zusammen, die ihre AFFERENZEN vom lateralen Septum, vom Nucleus striae terminalis und von der lateralen Längszone des Hypothalamus erhalten. EFFERENZEN projizieren direkt zur Hippocampusformation (Regio entorhinalis und Gyrus dentatus), zu den prämotorischen und insulären Kortexarealen, zur Amygdala und zu den thalamischen Mittellinienkernen.

Nucleus mamillaris medialis (MM, ML)

TOPOGRAPHIE. Der Nucleus mamillaris medialis (Abb. 5, 12) ist an der basalen Hirnfläche gelegen und besteht aus einer Pars medialis (MM) und einer Pars lateralis (ML). Zwischen dem Nucleus mamillaris und dem dorsal gelegenen Nucleus supramamillaris (SuM) befindet sich der Tractus mamillaris principalis (pm). AFFERENZEN und EFFERENZEN s.o.

Nucleus mamillaris lateralis (LM)

TOPOGRAPHIE. Der Nucleus mamillaris lateralis liegt als rundlicher Kern am lateralen Rand des Mamillarkörpers. Seine Neuronen sind typischerweise größer als jene des Nucleus mamillaris medialis (SIMERLY 1995).

Faserverbindungen s.o.

Magnozellige Neuronenpopulationen in den Corpora mamillaria

HINTERGRUND. BLEIER and BYNE (1985) beschreiben im Mamillarkörper drei magnozellige Neuronenpopulationen, die in der Fachliteratur sowie den gängigen Spezialatlanten kaum erwähnt werden. Zu diesen drei Populationen zählen der Nucleus tuberalis magnocellularis (TMC), der Nucleus caudalis magnocellularis (CMC) und der Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis (PCMC).

TOPOGRAPHIE. Von den drei o.g. Nuclei liegt der Nucleus tuberalis magnocellularis (TMC) am weitesten rostral, d.h. rostral des Corpus mamillare. Der Nucleus caudalis magnocellularis (CMC) befindet sich im lateralen Mamillarkörperkomplex. Diese im Querschnitt dicht gepackte Neuronenpopulation dehnt sich kaudalwärts bandförmig entlang der Oberfläche des Mamillarkörpers aus. Kaudal des CMC beginnt der Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis (PCMC).

PROJEKTIONEN UND FUNKTION. Über die Projektionen und Funktionen dieser Neuronenpopulationen ist bislang wenig bekannt. Mit Hilfe der Immunhistochemie und retrograden Tracer-Methoden konnte nachgewiesen werden, daß bei der Ratte viele dieser Neuronen GABA-positiv sind und weiträumig in den Neocortex, das Striatum und die Amygdala projizieren (VINCENT and HÖKFELT 1983).

III. Zur Immunhistochemie

Die Immunhistochemie etablierte sich in den letzten Jahren als eine Standardmethode der Biowissenschaften. Bei diesem Verfahren werden Antigene über die Bindung an spezifische Antikörper topochemisch, d.h. am Ort ihres Vorkommens und Wirkens sichtbar gemacht. Diese Antigen-Antikörper-Reaktion wird in histologischen Schnitten durchgeführt. Die dafür notwendigen Antikörper sind entweder monoklonal und damit gegen nur einen einzigen Epitop gerichtet, oder aber polyklonal, so daß sie gegen eine Vielzahl antigener Epitope desselben Antigens gerichtet sind. Letzteres erhöht auf der einen Seite die Sensitivität des Antikörpers, andererseits verliert derselbe einen Teil seiner Spezifität (STERNBERGER 1986, SWANSON 1988). Zur Gewinnung dieser Antikörper wird die physiologische Abwehrreaktion eines Wirtstieres gegen körperfremdes Material genutzt. Die wiederholte Gabe eines aufgereinigten Antigens führt im Wirtsorganismus zur Stimulation bereits vorhandener immunkompetenter Zellen, die verschiedene Antikörper gegen unterschiedliche Determinanten des verabreichten Antigens produzieren (polyklonale Antikörper). Durch Fortschritte in der Gentechnologie ist es möglich geworden, mit Hilfe von wenigen Arbeitsschritten auch monoklonale Antikörper herzustellen. Zur Antikörperbildung in der Zellkultur gewinnt man immunologisch angeregte B-Lymphozyten aus der Milz und fusioniert sie mit Myelomzellen. Die entstandenen Hybridome behalten einerseits die Fähigkeit zur Antikörperbildung und sind andererseits wie die Myelomzellen unbegrenzt teilungsfähig. Es folgt die Isolation eines Hybridoms, das den gewünschten Antikörper gegen die gesuchte Determinante produziert. Dessen identische Tochterzellen sind alle aus derselben hybriden Zelle hervorgegangen und synthetisieren einen monoklonalen Antikörper.

Um einen im Gewebe gebundenen Antikörper lichtmikroskopisch zu erkennen, sind Marker- und Koppelungssubstanzen notwendig. Neben Fluoreszenzfarbstoffen kommen v.a. Enzyme zur Markierung der Antikörper in Frage (DENK 1989), beispielsweise die Meerrettichperoxidase (s. Abb. 13). Dieses Koppelungsenzym beschleunigt die Reaktion zwischen 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) und Wasserstoffperoxid zu einem braunen, unlöslichen Komplex (STERNBERGER 1986). Durch Hinzufügen von Schwermetallsalzen wie beispielsweise Kobalt-

chlorid und Nickelsulfat kann die Intensität noch verstärkt werden (ADAMS 1981, HSU and SOBAN 1982).

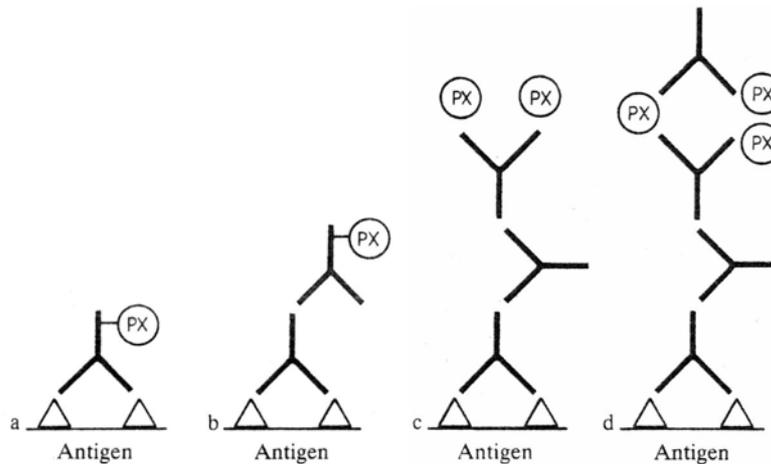


Abb. 13. Methoden der enzymatischen Koppelung von Antikörpern an Antigene. a) Direkte immunenzymatische Methode: Der primäre Antikörper bindet direkt an das Antigen und ist durch ein Enzym (z.B. Meerettichperoxidase, PX) markiert. **b-d) Indirekte enzymatische Methode. b)** Der Enzym-(Meerettichperoxidase)-markierte Sekundärantikörper bindet an die konstante Region eines unkonjugierten (nicht enzymmarkierten) Primärantikörpers. **c)** Unkonjugierter-Antikörper-Enzym-Brücken-Methode: ein brückenbildender (unkonjugierter) Sekundärantikörper verbindet einen gegen ein Enzym (z. B. Meerettichperoxidase) gerichteten Antikörper mit dem Primärantikörper. Die Immunreaktion wird durch die Bindung und den histochemischen Nachweis der Markersubstanz (Meerettichperoxidase) sichtbar. **d)** Enzym-Anti-Enzym-Komplex-Methode: arbeitet nach demselben Prinzip wie c); d.h. es wird ein Enzym-Anti-Enzym-Komplex zugegeben und durch den brückenbildenden Antikörper an den Primärantikörper fixiert. Modifiziert nach DENK (1989).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, Antikörper und Markersubstanzen aneinander zu koppeln (STERNBERGER 1986, DENK 1989). Bei der *direkten* immunhistochemischen Methode wird die Markersubstanz mit dem primären Antikörper verbunden, der gegen das Gewebsantigen gerichtet ist (Abb. 13a). Nachteil des direkten immunhistochemischen Verfahrens ist, daß es die meist sehr kleinen Antigen-Antikörper-Komplexe nicht sichtbar werden läßt. Die Empfindlichkeit wird mit Hilfe der *indirekten* Methode gesteigert, indem ein mit Peroxidase markierter sekundärer Antikörper sich gegen den primären Antikörper richtet (Abb. 13b-d). Im indirekten immunhistochemischen Verfahren bindet jeder primäre Antigen-Antikörper-Komplex eine größere Anzahl markierter, sekundärer Antikörper (BUCHER and WARTENBERG 1989).

Von Nachteil ist, daß mit der Einführung eines weiteren Antikörpersystems die Gefahr unspezifischer Immunreaktionen größer wird. Aus diesem Grund sind Kontrollexperimente notwendig, bei denen man den primären Antikörper z.B. durch immunneutralen Phosphatpuffer ersetzt und nach einem ansonsten

identischen weiteren Prozedere die „Immunreaktion“ des sekundären Antikörpers beurteilt. Zeigt der sekundäre Antikörper (ohne eine vorausgegangene Inkubation der Kontrollschnitte mit dem primären Antikörper) eine Immunreaktion, dann ist diese unspezifisch und die Ergebnisse sind mit größter Skepsis zu betrachten. Darüber hinaus sind für die Evaluation bzw. Sicherung der Spezifität Präabsorptionskontrollen an wenigen Schnitten unentbehrlich, d.h. die Absorption des primären Antikörpers an das entsprechende Antigen (im Überschuß) und ihre identische weitere Analyse auf Oxytocin bzw. Vasopressin parallel zu den übrigen Schnitten.

Eine weitere immunhistochemische Technik zur Visualisierung von Antigen-Antikörper-Komplexen ist die Avidin-Biotin-Komplex (ABC)-Methode. Avidin, ein Glykoprotein, welches in Hühnereiweiß enthalten ist, verfügt als Tetramer über vier Bindungsstellen für das Vitamin Biotin. Diese Methode zeichnet sich durch die extrem hohe Bindungsaffinität zwischen Avidin und Biotin aus.

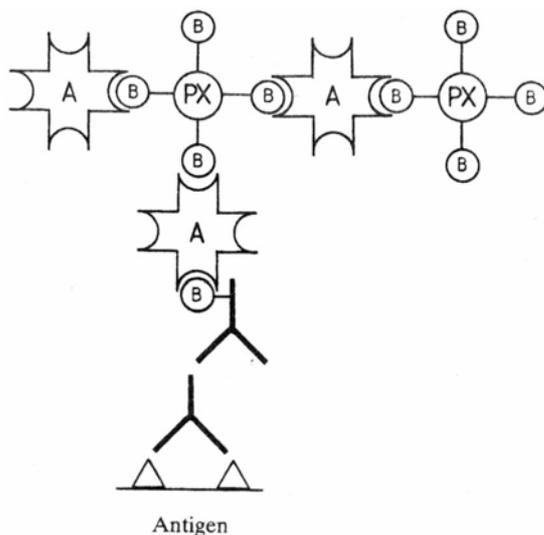


Abb. 14. Bei der **Avidin-Biotin-Komplex (ABC)-Methode** wird ein Avidin(A)-Biotin(B)-Meerrettichperoxidase(PX)-Komplex an einen biotinylierten sekundären (und/oder primären) Antikörper unter Ausnützung der Affinität von Avidin zu Biotin gebunden. Die Peroxidase wird histochemisch nachgewiesen. Da mehrere ABC-Komplexe binden können, kann die Peroxidasekonzentration am Ort des nachzuweisenden Antigens und damit die Sensitivität der Methode gesteigert werden; modifiziert nach DENK (1989).

Avidin vermittelt zwischen dem biotinylierten primären oder sekundären Antikörper und dem jeweiligen biotinylierten Marker (hier z.B. biotinylierte Meerrettichperoxidase) (Abb. 14: PX). Versetzt man die biotinylierte Meerrettichperoxidase mit einem Überschuß an Avidin, entsteht eine gitterähnliche Struktur, die freie Bindungsstellen für Biotin aufweist. Der in Abbildung 14 sekundäre biotinylierte Antikörper bildet somit (über Avidin) das Verbindungsstück zwischen primärem Antikörper und biotinylierter Peroxidase. Die Peroxidase ist die Marker-substanz, die histochemisch nachgewiesen wird und für den späteren Farbaus-

schlag entscheidend ist. Die Sensitivität dieses Verfahrens wird durch die Bindung mehrerer Moleküle Markerenzym (biotinylierte Meerrettichperoxidase) an ein Antigen um ein Vielfaches gesteigert. Nachteil dieser Signalverstärkung ist das vermehrte Risiko unspezifischer Reaktionen. Beispielsweise kann überschüssiger, nicht gebundener sekundärer Antikörper, der durch ungenügendes Waschen nicht entfernt wurde, den Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex binden und das Ergebnis verfälschen. Grundsätzlich muß in der Immunhistochemie die Möglichkeit unspezifischer Wechselwirkungen (z.B. endogene Peroxidase in nach Perfusion verbliebenen Erythrozyten) berücksichtigt werden (PETRUSZ 1983, STERNBERGER 1986). Spezifitätskontrollen, wie sie in der vorliegenden Arbeit zur Qualitätssicherung der immunhistologischen Arbeitsweise durchgeführt wurden, sind daher für die zuverlässige Deutung immunhistochemischer Befunde von größter Wichtigkeit.

IV. Material und Methode

Der experimentelle Abschnitt der vorliegenden Arbeit umfaßt den labortechnischen Teil mit der Fixation und Präparation der Gehirne, der Anfertigung der Hirnschnitte und der Durchführung der immunhistochemischen Verfahren (s. Tabelle 2).

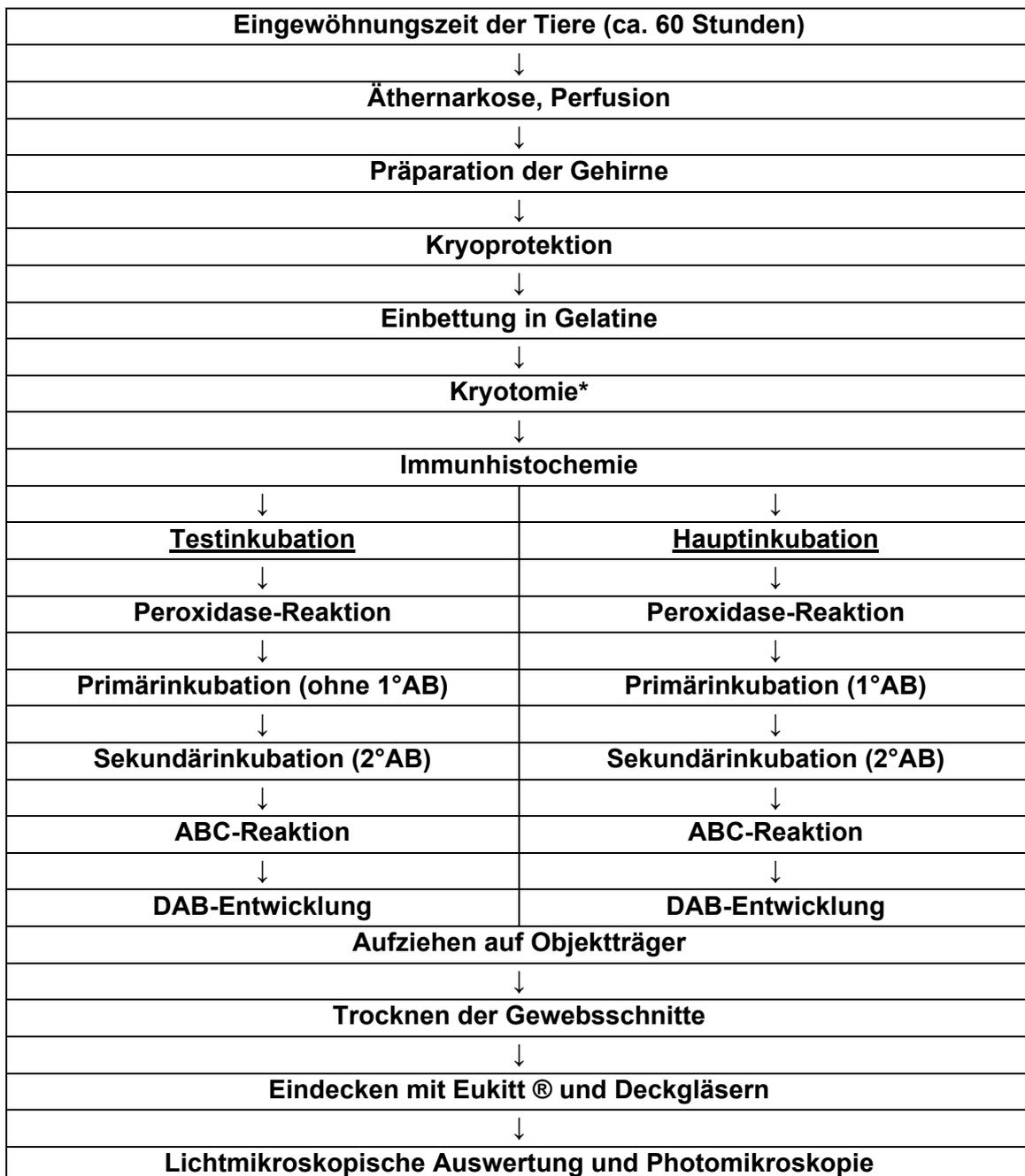


Tabelle 2. Flussdiagramm des Arbeitsablaufs im Labor. 1° AB, primärer Antikörper; 2° AB, sekundärer Antikörper; ABC, Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex; DAB, Diaminobenzidin.

1. Untersuchte Tiere

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Graumulle (*Cryptomys anelli*) gehören einer vor kurzem beschriebenen neuen Art der Gattung *Cryptomys* an (BURDA ET AL. 1999). Die aus der Zucht der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. H. Burda, Abteilung Zoologie der Universität Essen (ehemals auch im Zentrum der Morphologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main beheimatet) bezogenen Graumulle wurden in Lusaka, Sambia gefangen. Die Tiere wurden unter physiologischen Bedingungen bei natürlichen Lichtverhältnissen und Nahrung ad libitum gehalten. Diese Verhältnisse wurden von den Graumulen gut toleriert, die Tiere zeigten keinerlei Anzeichen von Stress und pflanzten sich erfolgreich fort (vgl. BURDA 1989).

Insgesamt wurden vierzehn Graumulle bearbeitet. Die untersuchten reproduktiven Weibchen (C₇ und C₁₁; s. Tabellen 3, 4) waren beide zum Zeitpunkt der Perfusion mit drei bzw. vier Föten trächtig. Dreizehn der vierzehn Tiere waren gesund, das juvenile Tier C₁₃ zeigte einen ca. 1cm³ großen kugelförmigen Tumor im Halsbereich. Im Gegensatz zu ihrer Zwillingschwester C₉ war das Tier C₁₃ in seiner Entwicklung verlangsamt, hatte ein vergleichsweise geringes Körpergewicht (14g gegenüber 26g) und seine Behaarung war unvollständig. Zur besseren topographischen Orientierung an den Schnitten wurden zusätzlich zwei Paraffinschnittserien (C₂₅ und C₂₆) mit Nissl-Färbung, angefertigt am Anatomischen Institut der Universität Nijmegen, Niederlande (Dr. Jan G. Veening und H. Joosten) herangezogen. Parallel zu den Untersuchungen am Graumull wurden vier (♀, 3 ♂) junge erwachsene Auszucht-Ratten (Stamm: Sprague-Dawley) bearbeitet und analysiert, die aus der Zentralen Forschungseinrichtung (ZFE) der Universitätsklinik, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main, bezogen wurden. Die Tiere wurden dort in Makrolonkäfigen (55x 33x 20 cm; Firma Erich Becker & Co GmbH, Castrop-Rauxel, Deutschland) auf staubfreiem Holzgranulat (Altromin-Faser, Brogaarden, Dänemark) und nach Geschlecht getrennt in Kleingruppen, bei Raumtemperatur (22-25°C) und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45-65% gehalten. Ein regelmäßiger zirkadianer Lichtrhythmus (hell 10h/ dunkel 14h) wurde durch Beleuchtung des Raums mit Neonlampen erreicht. Frisches Trinkwasser und Futter in Form von Pellets standen den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Labormulle als neurobiologi-

scher Standardorganismus diene den hier durchgeführten Analysen einerseits als Orientierungshilfe und immunhistochemische Positivkontrolle, andererseits wegen ihres weniger spezialisierten Verhaltens als sog. soziobiologische „Baseline“.

Tabellen 3-5: Listen der untersuchten Exemplare von *Cryptomys anelli* und Sprague-Dawley-Ratten. Fam, Familie; w, Lebenswochen; y, Lebensjahre; * nicht ermittelt.

		Kennung	Geschlecht	Familienstatus	Körpergewicht	Hirngewicht	Geburtsdatum, Alter (ca.)
		Fam1	C ₁ 1-LK-18	weiblich	subadult, nicht-reproduktiv	59g	*
GRAUMULLE	Fam2	C ₂ 1-L-124	männlich	adult, nicht-reproduktiv	87g	*	13.08.1998, 1 y, 6 w
		C ₃ 1-L-121	männlich	subadult, nicht-reproduktiv	80g	*	13.08.1998, 1 y, 22 w
		C ₄ 1-L-122	weiblich	subadult, nicht-reproduktiv	62g	*	13.08.1998, 1 y, 22 w
		C ₅ 1-L-158	männlich	juvenil, nicht-reproduktiv	28g	*	23.11.1999, 9 w
		C ₆ 1-L-100	männlich	adult, nicht-reproduktiv	110g	*	29.11.1997, 2 y, 9 w
		C ₇ 1-L-3	weiblich	adult, reproduktiv, trächtig	120g	*	Dezember 1993, 6 y, 4 w
		C ₈ 1-L-99	männlich	adult, reproduktiv	128g	*	Wildfang Lusa- ka, Afrika August 1997, 2 y, 20 w

Tabelle 3. Die untersuchten Graumulle aus den Familien 1 und 2.

GRAUMULLE	Fam3	Kennung	Geschlecht	Familienstatus	Körpergewicht	Gehirngewicht	Geburtsdatum Alter (ca.)
		C ₉ CKA3-5	weiblich	juvenil, nicht-reproduktiv	26g	0.80g	Oktober 2000, 16 w
C ₁₀ CKA3-2	männlich	adult, reproduktiv	94g	1.26g	1994, 7 y		
C ₁₁ CKA3-1	weiblich	adult, reproduktiv, trächtig	106g	1.10g	1989, 11 y		
C ₁₂ CKA3-4	weiblich	subadult, nicht-reproduktiv	48g	1.07g	April 2000, 40 w		
C ₁₃ CKA3-6	weiblich	juvenil, nicht-reproduktiv	14g	0.73g	Oktober 2000, 16 w		
C ₁₄ CKA3-3	weiblich	adult, nicht-reproduktiv	76g	1.10g	April 1999, 1 y, 40 w		
C ₂₅	weiblich	subadult, nicht-reproduktiv	57g	✱	14.06.1991		
C ₂₆	männlich	subadult, nicht-reproduktiv	52g	✱	21.08.1991		

Tabelle 4. Die untersuchten Graumulle aus Familie 3 und zwei Paraffinschnittserien mit Nissl-Färbungen (C₂₅, C₂₆)

SPRAGUE-DAWLEY-RATTEN	R ₁	weiblich	Soziobiologische Baseline	300g	✱	21.07.1999, 9 w
	R ₂	männlich	Soziobiologische Baseline		✱	08.07.1999, 11 w
	R ₃	männlich	Soziobiologische Baseline		✱	November 1999, 8w
	R ₄	männlich	Soziobiologische Baseline		2.12g	18.12.2000 8 w

Tabelle 5. Die untersuchten Sprague-Dawley-Ratten.

2. Labortechnischer Teil

2.1. Äthernarkose, Thorakotomie, Perfusion, Präparation, Postfixation

Unmittelbar nach der Entnahme der Tiere aus dem Käfig wurden diese in einen luftdichten und lichtundurchlässigen Metallbehälter gegeben. In dem Behältnis befanden sich Zellstoff und ca. 30 ml flüssiger Diäthyläther (*Aether pro narcosi*, C₄H₁₀O, Fischer[®], Otto Fischer GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland). Die Tiere blieben dieser Atmosphäre solange ausgesetzt (ca. 3-5 min), bis sie keine Reflexe mehr zeigten. In diesem Zustand wurden die Tiere rücklings auf einer horizontalen Unterlage fixiert und zusätzlich mit einer „Äthermaske“ aus Plastikfolie versehen. Auf diese Weise wurde gewährleistet, daß die Tiere aus der tiefen Narkose nicht mehr aufwachen konnten.

In rascher Folge wurde die Bauchhaut mit einer Präparierschere inzidiert, eine mediane Laparotomie durchgeführt und das Diaphragma auf beiden Seiten eröffnet (beidseitiger Pneumothorax). Zur weiteren Entlastung wurde der Brustkorb seitlich eingeschnitten und das Herz nach vorsichtiger Eröffnung des Perikards dargestellt. Danach wurde der linke Ventrikel mit einer Flügelkanüle (Venofix[®] Luer Lock 21 G, 0.8 x 20mm, B. Braun, Melsungen, Deutschland) punktiert und das rechte Herzohr mit der Pinzettschere eröffnet. Über die im linken Ventrikel liegende Kanüle wurde das Gefäßbett mit je ca. 200-300ml isotoner Phosphatpuffer-Saline (PBS, 22 °C, pH 7.4) gespült, für jedes Tier mit 500 I.U. Heparin versetzt (Liquemin[®] N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland). Nach der Spülung wurde unverzüglich mit 4%iger Paraformaldehydlösung (PFA, [CH₂O]_n in Aqua bidest, Merck KG, Darmstadt, Deutschland) über die bereits liegende Kanüle perfundiert.

Die Entnahme der Tiere aus dem Käfig erfolgte paarweise, wobei das reproduktive Paar zuletzt bearbeitet wurde, um den Stress innerhalb der Familie möglichst gering zu halten. Alle Graumulle wurden in einem Zeitraum zwischen 8.30 und 10.30 Uhr perfundiert, um tageszeitliche Schwankungen der Vasopressin- und Oxytocin- Produktion zu vermeiden. Desweiteren wurde darauf geachtet, daß die Tiertötungen zur gleichen Jahreszeit erfolgten. Durch die Wahl korrespondierender Zeitfenster sollte eine Beeinflussung der Peptidhormonexpression durch saisonale Unterschiede in biochemischen Parametern und Verhalten vermieden werden.

Im Anschluß an die Perfusion erfolgte die Dekapitation der fixierten Tiere und die vorsichtige Schädeltrepanation mit einer feinen Knochenzange in Höhe des parieto-okzipitalen Übergangs. Die Köpfe wurden daraufhin in 4%iger Paraformaldehydlösung (PFA) über 12 Stunden postfixiert. Die Präparation von Schädel und Gehirn erfolgte mit Hilfe eines Binokulars (Zeiss[®], Germany; Typ STEMI SV8). Beginnend mit der Durchtrennung der zervikalen Wirbelbögen wurde das Gehirn in kranialer Richtung sukzessive behutsam dargestellt. Nach vollständiger Abtragung der Kalvaria war eine gute Übersicht über das äußere Hirnrelief gegeben, anschließend erfolgte über die Durchtrennung der Hirnerven die vorsichtige Ablösung der Hirnbasis von der inneren Schädelbasis.

2.2. Kryoprotektion, Gelatine-Einbettung, Kryotomie

Alle Präparate wurden anschließend in eine 30%ige Sucroslösung (in Phosphatpuffer, PB) transferiert. Nach ca. 48 Stunden waren die Gehirne in der Lösung zum Boden der Gefäße abgesunken, ein Hinweis für die komplette „Verzuckerung“ und somit Kryoprotektion der Gehirne. Diese Präparate konnten nun in Sucrose-Gelatine (30%ige Sucroslösung; 10%ige Gelatine [300 Bloom]-lösung) eingebettet und anschließend in einer Sucrose-Paraformaldehydlösung (30%ige Sucroslösung; 4%ige Paraformaldehydlösung) nochmals für 24 Stunden fixiert werden.

Um die Präparate auf dem Mikrotom-Tisch optimal orientieren zu können, wurden die fixierten Gelatineblöcke unmittelbar vor der Kryotomie mit einem Skalpell getrimmt und zur späteren korrekten Orientierung der Schnitte seitlich an der linken Hemisphäre mit einer longitudinalen Schnittmarkierung versehen. Die Bodenplatte des Rotationsmikrotoms (Typ HM 340, MICROM, Heidelberg) wurde mit destilliertem Wasser bedeckt, mit einem kleinen Rechteck aus Filterpapier versehen und die darauf gesetzten Gelatineblöcke während des Auffrierens mit Tissue-Tec[®] (Miles Inc., Diagnostics Division, Elkhart, IN, USA) armiert. Die Blöcke wurden bei einer Arbeitstemperatur des Gefrieraggregats von -52°C zügig heruntergefroren. Danach wurden von den Gehirnen Transversalschnitte (Koronalebene) mit einer Dicke von $60\ \mu\text{m}$ angefertigt. Die optimale Arbeitstemperatur für den Schneidevorgang lag zwischen -20°C und -30°C . Die Gelatineschnitte wurden vom Mikrotommesser mit einem Marderhaarpinsel abgenommen und fortlaufend in die Vertiefungen einer 18-Loch-Platte (18er wells

mit Klappdeckel und Verschuß, Firma Hühnersdorff, Ludwigsburg, Deutschland) mit 0.1 M Phosphatpuffer (PB) überführt (*free-floating sections*). Am Ende des Schneidevorgangs befand sich in jedem Fach (Vertiefung) eine von rostral nach kaudal gleichmäßig abgestufte Serie von Hirnschnitten. Der Inhalt eines solchen Faches entspricht einem sog. Kompartiment (Abb. 15). Das hinzugegebene Natriumazid (NaN_3 , Ferak Berlin GmbH) ermöglichte, daß die Schnitte bei 4°C bis zur weiteren Bearbeitung sicher gelagert werden konnten.

1 AVP	2 OX	3 Kresylviolett	4 AVP	5 OX	6 Tests
7 AVP	8 OX	9 Kresylviolett	10 AVP	11 OX	12 Tests
13 AVP	14 OX	15 Kresylviolett	16 AVP	17 OX	18 Tests

Abb. 15. Schematische Darstellung der 18-Lochkulturplatte (Aufsicht) mit den Kompartiments 1-18 am Beispiel des Graumulls. Die Schnitte dieses Gehirns wurden fortlaufend in die nummerierten mit Phosphatpuffer gefüllten Fächer gegeben. Insgesamt wurde jeder dritte Schnitt (bei einer Schnittdicke von jeweils 60µm also in Abständen von 180µm) für den Nachweis des Peptidhormons Oxytocin bzw. Vasopressin verwendet, der Rest für Tests und Nissl-gefärbte Routineschnitte. Für annähernd realistische Zahlen der OX- und VP-ir Neuronen im Gehirn des Graumulls müßten die Zahlen Gesamt (Ges, s. S.92) noch verdoppelt werden (2 Hemisphären).

2.3. Endogene Peroxidase-Reaktion

Auch bei korrekter Durchführung der Perfusion mit isotoner Phosphatpuffer-Saline (PBS) können vereinzelt Erythrozyten im zerebrovaskulären System verbleiben, die eine spätere immunhistochemische Auswertung erschweren. Um Färbeartefakte aufgrund der endogenen Peroxidase in diesen Blutzellen zu vermeiden, wurden die Hirnschnitte vor der eigentlichen Primärinkubation über 30 Minuten mit einer 0.3%igen Lösung von H_2O_2 (Fluka Chemie AG, Buchs, Schweiz) inkubiert und daraufhin dreimal für jeweils 10 Minuten mit isotoner PBS gewaschen. Dies führte zu einem vollständigen Abreagieren der endogenen Peroxidase; bei der im Anschluß an die immunhistochemischen Inkubationsschritte stattfindenden Diaminobenzidin (DAB)-Entwicklung wurde demzufolge ausschließlich die Meerrettichperoxidase des ABC-Komplexes nachgewiesen (vgl. Abb. 16).

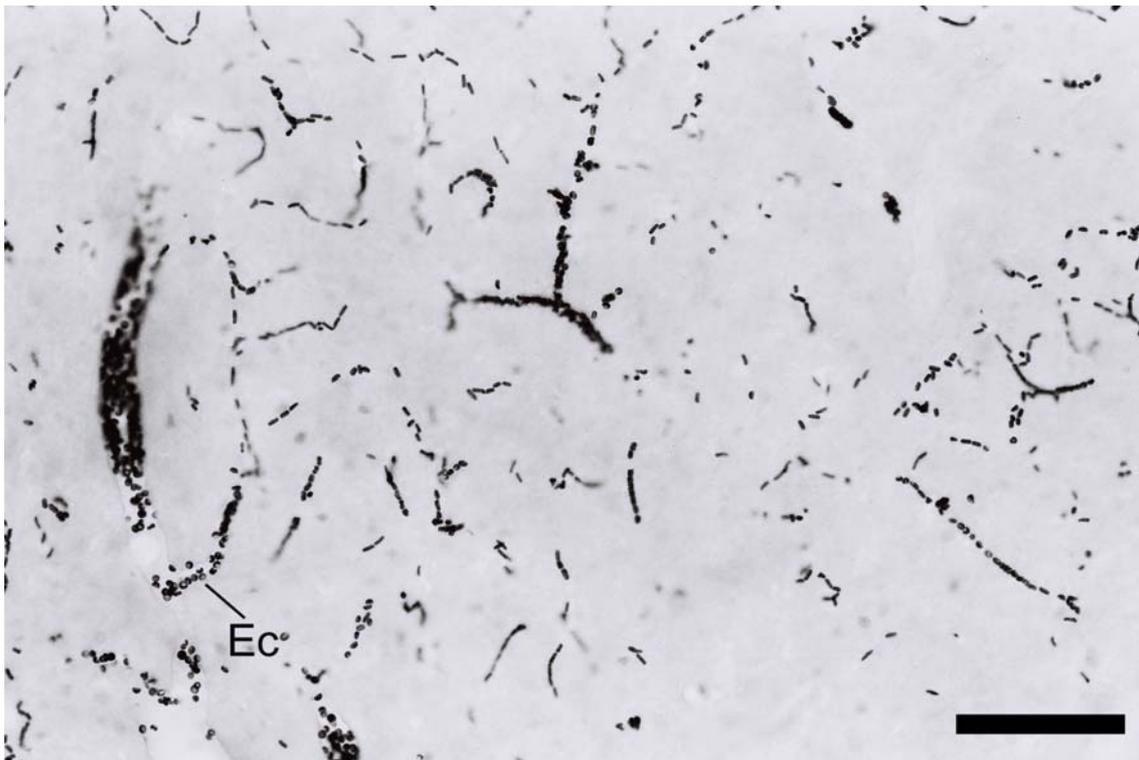


Abb. 16. Darstellung der endogenen Peroxidase in Erythrozyten des neurovaskulären Systems. Ec, Erythrozyten mit durch verbliebene endogene Peroxidase verursachten Färbeartefakten. Maßstab 100µm.

2.4. Testinkubation

Zum Nachweis der Peptidhormone Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP) wurden der polyklonale anti-OX-Antikörper *rabbit anti-Oxytocin* (No. 20068) sowie der polyklonale anti-VP-Antikörper *rabbit anti-Vasopressin* (No. 20069), beide von DiaSorin, Stillwater, MN 55082, USA) verwendet. Nachfolgend werden diese beiden Antikörper als 1° (primäre) Antikörper (AB) bezeichnet. Sie richten sich gegen spezifische Aminosäuresequenzen der Peptidhormone Oxytocin bzw. Vasopressin.

Zur Qualitätskontrolle der Immunreaktionen und um ein „färberisches“ Optimum zu erreichen, wurde an einer kleinen Auswahl von Hirnschnitten mit verschiedenen Konzentrationsstufen eine Reihe von Testinkubationen durchgeführt (s. Abb. 15). Eine optimale Antikörperkonzentration ist notwendig, da sowohl zu hohe als auch zu niedrige Konzentrationsstufen zu einer verminderten Spezifität der Immunreaktion führen. Hierbei wurden die Vorschriften des Laborprotokolls strikt befolgt (Primärinkubation, Sekundärinkubation, ABC-Reaktion, DAB-Entwicklung). Für die vorliegende Arbeit wurden optimale im-

munhistochemische Ergebnisse bei einer anti-OX-Konzentration von 1:12000 und bei einer anti-VP-Konzentration von 1:8000 erreicht.

Kontrollen. Als Indikator für die Qualität der immunhistochemischen Technik und die Spezifität der Antikörper wurde bei wenigen Schnitten die Primärinkubation ohne 1°AB durchgeführt. Diese Schnitte durften nach der Entwicklung in DAB keinerlei Färbung zeigen. Damit konnte eine unbeabsichtigte Kreuzreaktion (falsch-positiv) des Sekundärantikörpers mit Epitopen anderer Gewebeproteine ausgeschlossen werden. Als eine weitere Kontrolle diente die Präabsorption des Antikörpers, d.h. die Zugabe von homologem Oxytocin-Antigen bzw. von Vasopressin-Antigen im Überschuß in die betreffende primäre Inkubationslösung für insgesamt ca. 30 min vor Verwendung der Arbeitslösung. Jedes der Antigene neutralisierte den zugehörigen Primärantikörper (1°AB) komplett, so daß sich nach der DAB-Entwicklung im Hirnparenchym dieser Schnitte keine Immunreaktivität zeigte. Die Kreuzreaktion des anti-VP-Antikörpers mit Oxytocin und des anti-OX-Antikörpers mit Vasopressin wurde durch den Hersteller laut Datasheet (DiaSorin) ausgeschlossen. In Kontrollexperimenten zeigte sich durch Zugabe des komplementären Antigens (z.B. Oxytocin zu anti-VP-AB) dementsprechend keine Abschwächung der Aktivität des primären Antikörpers (anti-VP-AB). Eine Kreuzreaktivität konnte somit ausgeschlossen werden.

2.5. Primärinkubation

Die primären Inkubationslösungen wurden mit in Sapje (holländisch = „Saft“) gelöstem 1°AB in einer Konzentration von 1:12000 (anti-OX) bzw. in einer Konzentration von 1:8000 (anti-VP) hergestellt und die für die Immunreaktion ausgewählten Schnitte darin kompartmentweise inkubiert. Die Kompartments 1, 4, 7, 10, 13 und 16 eines jeden der vierzehn Graumulle reagierten mit anti-VP-Antikörper und die Kompartments 2, 5, 8, 11, 14 und 17 reagierten mit anti-OX-Antikörper (vgl. Abb. 15). Dieser Versuchsaufbau gewährleistete eine gewisse Kontinuität, da jeder dritte Hirnschnitt mit anti-Vasopressin oder anti-Oxytocin gelabelt wurde (Abstand zwischen Hirnschnitt X und X+3 beträgt bei einer Schnittdicke von 60µm ca. 180µm). Dies erleichterte die Rekonstruktion der betreffenden OX- und VP- Neuronenpopulationen. Das der Sapje-Lösung beigefügte nicht-ionische Triton® X-100 erhöhte als Detergens die Permeabilität der Zellmembran. Dadurch waren die zytoplasmatischen Antigene für die Anti-

körper und den Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex leichter zugänglich. Zur Reduktion von zu starkem „Hintergrund“ infolge Labeling von unspezifischen neuronalen und non-neuronalen Strukturen wurde eine wässrige Lösung von Rinderserumalbumin (BSA) als „blocking solution“ eingesetzt. Um konsistente und somit optimal vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurde bei der Planung der Experimente darauf geachtet, daß die betreffenden Schnitte aller vierzehn Individuen von *Cryptomys* und der vier Sprague-Dawley-Ratten mit dem identischen Antikörperserum nicht nur aus derselben Charge (Lot), sondern aus demselben Fläschchen (Vial) von anti-Oxytocin bzw. anti-Vasopressin inkubiert wurden.

In den 6-Lochplatten (Falcon[®], Becton Dickinson Labware, Lincoln Park, USA) mit jeweils ca. 15 frei flottierenden Hirnschnitten (= ein Kompartiment) und 5 ml primärer Inkubationslösung pro Vertiefung wurden pro Platte sechs Kompartments über 15 Stunden bei einer Raumtemperatur von 22°C inkubiert. Die gleichmäßige Verteilung der Lösung wurde durch die Inkubation der Kulturplatten auf einem Schüttler (Typ LS 10, Gerhardt[®], Bonn, Deutschland) gewährleistet.

2.6. Sekundärinkubation

Nach der Primärinkubation und dreimaligem Waschen mit isotoner Phosphatpuffer-Salinelösung (jeweils 10 Minuten) wurden die Schnitte in Sapje-Lösung mit Sekundärantikörper (2°AB) für 90 Minuten bei Raumtemperatur auf dem Schüttler inkubiert. Als sekundärer Antikörper wurde ein biotinyliertes IgG verwendet (biotinylated goat-anti-rabbit IgG (H+L), BA-1000, Lot#0505, Vector Laboratories, Burlingham, CA, USA) und die Arbeitslösung nach Vorschrift und Herstellerempfehlung angefertigt. Anschließend wurden die Schnitte erneut dreimal für jeweils 10 Minuten mit isotoner Phosphatpuffer-Salinelösung gewaschen.

2.7. Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex (ABC)-Reaktion

Die gewaschenen Schnitte wurden nun gemeinsam mit dem in Sapje gelösten Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (Vectastain[®] Elite[®] ABC-Kit, Vector Laboratories Inc., Burlingham, USA) für weitere 120 Minuten bei Raumtemperatur auf

dem Schüttler inkubiert. Die optimale Konzentration der ABC-Arbeitslösung für diesen Reaktionsschritt lag gemäß Herstellerempfehlung und eigenen Testinkubationen bei 1:800.

2.8. Diaminobenzidin (DAB)- Entwicklung

Nach der zweistündigen Inkubation in der ABC-Arbeitslösung wurden die Schnitte erneut nach Protokoll gewaschen. Für alle im Anschluß an die DAB-Entwicklung folgenden Waschgänge wurde nun anstelle von Phosphatpuffer-Salinelösung (PBS) Phosphatpuffer (PB) verwendet. Die Reaktionslösung für die DAB-Entwicklung bestand aus 0.5 mg DAB (3,3'-Diaminobenzidin, Sigma, St. Louis, USA) pro ml Phosphatpuffer (entspricht 0.05%iger DAB-Lösung). Auf 97.25 ml dieser DAB-Lösung kamen zusätzlich 1ml einer 1%igen Nickelsulfatlösung ($\text{Ni}_2[\text{SO}_4]_2$, Riedel-de Haen, Seelze, Deutschland) und 1.25 ml 1%ige Kobaltchloridlösung (CoCl_2 , Sigma[®], St. Louis, USA). Diese Schwermetall-Ionen dienten der optischen Verstärkung der DAB-Entwicklung. Als Startlösung für die DAB-Reaktion wurde eine 3%ige H_2O_2 -Lösung vorbereitet (10ml 30%iges H_2O_2 auf 90ml Aqua bidest). Nach einer sog. DAB-Präinkubation in den 6-Loch-Platten ohne H_2O_2 für ca. eine Minute erfolgte der Start der DAB-Reaktion durch Zugabe von je 33 μl der 3%igen H_2O_2 -Lösung pro Vertiefung bzw. pro Kompartiment. In diesem Bad reagierten die Hirnschnitte für 90 Sekunden unter leichtem Schwenken der Lochplatten. Die optimale Reaktionszeit wurde für beide Antikörper mittels der Testinkubationen bestimmt. Durch Eintauchen der Schnitte in Phosphatpuffer wurde die DAB-Reaktion abgebrochen („Stopp-Bad“). Im Anschluß wurden die Schnitte fünfmal für jeweils 10 Minuten in frischem Phosphatpuffer (PB) gewaschen und auf mit Chromalaun-Gelatine (Kalium-(III)-Sulfat [Chromalaun], Merck, Darmstadt; Gelatine, 60 Bloom, Sigma, St. Louis, USA) beschichtete Objektträger (60 x 76 x 1 mm) aufgezogen. Nachdem die Schnitte staubgeschützt getrocknet waren, wurden sie mit Eukitt[®] (Kindler GmbH & Co., Freiburg, Deutschland) und Deckgläsern versiegelt. Beim Eindecken der Schnitte mußte darauf geachtet werden, daß keine störenden Luftblasen unter das Deckglas gelangten. Um ein etwaiges Nachreagieren und somit ungewolltes Nachdunkeln der Schnitte zu vermeiden, erfolgte das Eindecken der Schnitte umgehend nach der Trocknung. Eukitt[®] ist ein Kunstharz, welches in Xylol gelöst ist und keinen oder höchstens geringen Einfluß auf die

Färbung/ das Labeling von Schnitten hat. Nach dem Eindecken der Schnitte mußten die Objektträger noch mehrere Tage liegen, bis das Eukitt[®] unter Verdunstung des Xylols ausgehärtet war. Danach konnten die histologischen Präparate gereinigt, beschriftet und bearbeitet werden.

2.9. Nissl-Färbung

Zur besseren Orientierung und zur umfassenden und detaillierten Darstellung der verschiedenen Hirnregionen und Kerngebiete wurden einige Schnittpräparate nach der Färbemethode des deutschen Neurologen und Psychiaters Franz Alexander NISSL (1860-1919) gefärbt. NISSL führte diese Färbemethode 1885 ein und entdeckte mit ihr 1894 erstmals die nach ihm benannte Nissl-Substanz (basophile Tigroidschollen) in Ganglienzellen. Im Laufe der Jahre wurde die Nissl-Färbung verschiedentlich variiert und vereinfacht. Heute subsumiert man darunter jene Methoden, die Nervenzellkerne und Tigroidschollen (=gestapeltes endoplasmatisches Retikulum) darstellen. Das Substrat der Färbung sind Ribonukleoproteine und aufgrund der ähnlichen stofflichen Zusammensetzung verhalten sich Nervenzellkerne und Tigroidschollen bei Anwendung geeigneter Farbstoffe identisch. Besonders gute Ergebnisse wurden mit dem basischen Teerfarbstoff (Oxazinfarbstoff) Kresylechtviolett ($C_{17}H_{14}ClN_3O$, Gurr[®] BDH Chemicals Ltd., Poole, England) erzielt. Dabei kommt es im sauren Milieu (pH 4.0) zu einer elektropolaren Anlagerung des basischen Farbstoffes an die sauren Gruppen der Nukleinsäuren und zur Salzbildung. Es werden selektiv Zellkerne und die Nissl-Substanz angefärbt, da nur sie bei einem pH-Wert von 4.0 negative Ladungen aufweisen und nur dort die Salzbildung mit dem basischen Farbstoff erfolgt. Nach der Färbung stellen sich die Zellkerne (v.a. der Nukleolus) und die Nissl-Substanz violett dar, während die Perikaryen ansonsten schwach blau gefärbt werden und das Neuropil (sog. Faserfilz, bestehend aus Dendriten, Axonen und Gliazellfortsätzen) ungefärbt bleibt (DENK 1989).

Für die Nissl-Färbung wurde etwa ein Drittel der in dieser Arbeit angefertigten Schnittpräparate ungefärbt auf vorher beschichtete Objektträger aufgebracht und bei Raumtemperatur staubgeschützt luftgetrocknet. Im ersten Arbeitsgang wurden die Schnitte mittels Äthanol entwässert, bevor in einem zweiten Schritt die eigentliche Kresylviolett-färbung erfolgte. Die Tabelle 6 zeigt das dieser Färbung zugrundeliegende Protokoll.

Lösung	Inkubationszeit	Bemerkung
Dehydratation in aufsteigender Alkoholreihe		
70% Äthanol	48 Stunden	entwässern
96% Äthanol	48 Stunden	
Kresylviolettfröbung		
Aqua bidest.	1 Minute	waschen
Kresylechtviolettlösung, 38°C	20 Minuten	färben
Aqua bidest.	1 Minute	waschen
70% Äthanol mit 0.5% Essigsäure	1 Minute	1. Differenzierung
80% Äthanol	30 Sekunden	waschen
96% Äthanol mit 0.5% Essigsäure	1 Minute	2. Differenzierung
100% Isopropylalkohol	30 Sekunden	waschen
100% Isopropylalkohol	30 Sekunden	waschen
Xylol	5 Minuten	waschen
Xylol	5 Minuten	waschen

Tabelle 6. Protokoll der Kresylechtviolettfröbung

Nach dem 1. sowie 2. Differenzierungsschritt wurde lichtmikroskopisch kontrolliert, wie sich die Fasersysteme (z.B. Corpus callosum) darstellen. Bei der Kresylechtviolettfröbung ist das Präparat zunächst überfärbt und der Farbüberschuß wird erst durch die Differenzierungslösung (hier: Äthanol mit Essigsäure) entfernt. Bei der Differenzierung entfärben sich die Fasermassen schneller als die Perikaryen. Letztere bleiben intensiv gefärbt und heben sich vom weitgehend farblosen Untergrund scharf ab. Hierbei ist jedoch wichtig, die Differenzierungslösung sorgfältig auszuwaschen, da sonst die Gefahr besteht, daß sie über den gewünschten optimalen Differenzierungsgrad hinaus weiter wirkt und die Fröbung unter Umständen zerstört (ROMEIS 1989). Hierfür wurden die Nisslgefärbten Schnittpräparate je zweimal in 100%igem Isopropylalkohol und im Xylol-Bad gewaschen und anschließend mit Eukitt[®] unter Glas eingedeckt (s.o.).

3. Lichtmikroskopische Auswertung, Statistik

Zur lichtmikroskopischen Auswertung und Photodokumentation der Hirnschnitte wurde ein binokulares Photomikroskop mit Beleuchtungsautomatik (Olympus

Photomicrographic Systems, Typ BH2 PM10-AD mit Exposure Control Unit, Tokyo, Japan) verwendet. Die qualitative Auswertung erfolgte bei 40-facher und 100-facher Vergrößerung. Die quantitative Auswertung der immunreaktiven Neuronen erfolgte bei 100-facher Vergrößerung über die gesamte Querschnittsfläche der betreffenden Nuklei.

Für die photographischen Schwarzweiß-Aufnahmen wurde der Film Ilford ISO 50/18° und die Kamera Olympus C-35AD-2 verwendet. Eine Kontraststeigerung wurde durch einen zusätzlichen Blaufilter erreicht. Von den katalogisierten Bildnegativen wurde eine Photo-CD-Rom hergestellt (Auflösung 1200 x 800 dpi, fotogena GmbH, Darmstadt, Deutschland) und die Abbildungen mit dem Bildverarbeitungsprogramm Photoshop Version 6.0 (Adobe Systems®, San Jose, CA, USA) beschriftet und bearbeitet. Eine Bildnachbearbeitung im Sinne einer Kontrastoptimierung oder Aufhellung sowie Retuschierungen wurden nicht vorgenommen, d.h. die in dieser Arbeit vorgestellten Photographien entsprechen exakt Originaldokumenten von Schnittpräparaten.

Zur anschaulichen Präsentation der Originalbefunde wurden als didaktische Hilfen Abbildungen von PAXINOS and WATSON (1998) mit konventionellen Methoden (Entwurfpapier, Tuschestifte etc.) umgezeichnet.

Nach Ermittlung des gesamten quantitativen Datenmaterials aller Versuchstiere wurden die Graumullfamilien „entblindet“ und einer quantitativ-statistischen Analyse unterzogen. Hierfür wurde das mathematisch-statistische Datenverarbeitungsprogramm „BiAS für Windows“, Version 7 (ACKERMANN 2000, s.u.) verwendet.

Die Methodenlehre der Induktiven Statistik wird in parametrische und nicht-parametrische Verfahren unterteilt (ACKERMANN 1995). Erstere setzen in aller Regel eine Gauß-Verteilung (oder syn. Normalverteilung) der Messwerte voraus, letztere dagegen nicht. In der vorliegenden Arbeit wurde für sämtliche statistischen Berechnungen die Verwendung von parametrischen Tests angestrebt. Die notwendigen Voraussetzungen zur Durchführbarkeit solcher parametrischer Verfahren wurde mit dem Test auf Gauß-Verteilung der Stichproben (Kolmogoroff-Smirnoff-Test) geprüft. Je nach Anzahl der Gruppenvariablen wurde entweder der Zwei-Stichproben-T-Test oder die Varianzanalyse verwendet. Konnte der Test auf Gauß-Verteilung nicht erfüllt werden, dann mußten anstelle der parametrischen Tests (Zwei-Stichproben-T-Test bzw. Varianzanalyse)

nicht-parametrische Tests (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test = U-Test bzw. Kruskal-Wallis-Test) durchgeführt werden (ACKERMANN 1995).

In der Statistik setzt man die wissenschaftliche Fragestellung in eine Nullhypothese H_0 um. Für die hier durchgeführten Analysen lautet sie: Zwischen den Tiergruppen bestehen keine Unterschiede in der Transmitterexpression. Bei Pilotversuchen mit kleinen Fallzahlen wie in der vorliegenden Arbeit muß man mit $\alpha = 0.05$ ein relativ großes Risiko eingehen, die Nullhypothese irrtümlich abzulehnen. Konventionellerweise wählt man für $\alpha = 0.05$, 0.01 oder 0.001 . Überschritt der in der statistischen Analyse ermittelte p-Wert die kritische Grenze von $\alpha = 0.05$ (Signifikanzschwelle), so mußte die Nullhypothese H_0 beibehalten werden. Erst wenn $p < \alpha$ war, konnte die Nullhypothese abgelehnt werden. Diese Daten (wenn $p < \alpha$) lassen dann mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0.05 (5%) darauf schließen, daß ein signifikanter Unterschied zwischen den Tiergruppen besteht (ACKERMANN, pers. Mitt.).

Da im Rahmen der hier durchgeführten Analysen mehrere statistische Hypothesen geprüft wurden (Familienvergleich, Geschlechtervergleich, Vergleich zum Reproduktionsstatus, Altersvergleich), geht man bei der Auswertung der gewonnenen Daten auch zwangsläufig mehrfach das Risiko ein, eine Nullhypothese irrtümlich abzulehnen (Irrtumswahrscheinlichkeit). Das Problem des multiplen Testens läßt sich am besten am Würfelmodell veranschaulichen (ACKERMANN 1995). Mit steigender Zahl der Würfelversuche erhöht sich auch die Wahrscheinlichkeit, die Augenzahl sechs zu würfeln. Da es sich in der vorliegenden Untersuchung um eine Studie mit explorativem Charakter handelt (Pilotstudie) und die Fragestellung keinen konfirmatorischen Anspruch erhebt, wurde nach Absprache mit Herrn Dr. H. Ackermann (Institut für Medizinische Informatik, Abteilung Biomathematik, Universitätsklinik der Johann Wolfgang-Goethe Universität, Frankfurt am Main) trotz multipler Tests auf eine Korrektur der Irrtumswahrscheinlichkeit, sog. α -Korrektur, verzichtet. Bei der Interpretation der quantitativ-statistischen Analyse mußte berücksichtigt werden, daß die p-Werte nur anhand von kleinen Fallzahlen ermittelt worden sind und sich somit nur sehr große Unterschiede in der Statistik widerspiegeln würden. Angesichts der äußeren Bedingungen (limitierte Zucht, Besonderheit der Spezies, Kostbarkeit der reproduktiven Tiere) und inhaltlichen Gegebenheiten (Pilotprojekt) stand für diese Arbeit nur eine begrenzte Anzahl von Tieren zur Verfügung. Die

von uns angewandten statistischen Methoden unterstützen daher den explorativen Vergleich der jeweiligen Graumullgruppen hinsichtlich statistischer Auffälligkeiten im Datenmaterial.

4. Anmerkungen zur quantitativen Auswertung

Für die quantitative Auswertung (Zahl der immunmarkierten Perikaryen) wurden in sämtlichen Hirnschnitten jene Areale des Hypothalamus ausgezählt, die mit Hilfe von Atlanten (PAXINOS and WATSON 1998) einem definierten Kerngebiet zugeordnet werden konnten. Die betreffenden, meist bilateral (d. h. in beiden Hemisphären) vorhandenen Nuclei wurden separat in zwei getrennten Durchgängen quantifiziert und die Neuronenzahlen für jeden Schnitt einzeln dokumentiert. Die Summen der markierten Neuronen in den betreffenden Kerngebieten/Arealen eines Tieres wurden erst nach Beendigung der Quantifizierung der Kerngebiete in sämtlichen Tieren ermittelt. Eine Beeinflussung der Zählung durch die bereits ermittelten Daten konnte somit ausgeschlossen werden. Da der Antigengehalt der immunreaktiven Neuronen teilweise sehr unterschiedlich war, was sich in einer unterschiedlich intensiven Markierung widerspiegelte, erschien es uns sinnvoll, eine Unterteilung in Neuronen erster Wahl (1*) und Neuronen zweiter Wahl (2*) vorzunehmen. Die Neuronen 1* zeigten einen hohen Antigengehalt. 2* Neuronen wiesen aus unbekanntem Gründen eine geringere Immunreaktivität auf. Als Ursache hierfür kämen ein anderer Funktionszustand oder eine andere Neuronenpopulation in Frage sowie die Möglichkeit, daß die jeweiligen Perikaryen bei oberflächlicher Lage nur tangential angeschnitten worden sind, was zwangsläufig mit einem geringeren Antigengehalt des Abschnitts einhergeht. Als Kriterien zur Klassifikation der Neuronen 1* galten immunreaktive Axone mit Varikositäten sowie die mindestens mittelbraune Färbung des Zellkörpers und gegebenenfalls der Fortsätze. Ein weniger bedeutendes, flankierendes Kriterium war das Vorhandensein eines immunnegativen, hellen „Kernschattens“. Diese strikte Regelung führte zu einer Erhöhung der Zählgenauigkeit in der Kategorie 1* (3x gezählt), während sich die Neuronen der 2* uneinheitlich darstellten und die Variabilität der Zahlenwerte hier selbst nach mehrfachem Auszählen nicht zufriedenstellend verringert werden konnte. Aus diesem Grund wurden die Neuronen der Kategorie 2* in der quantitativen Analyse vernachlässigt.

V. Ergebnisse

1. Allgemeine Bemerkungen

Die Mehrzahl der immunreaktiven Oxytocin (OX)- und Vasopressin (VP)- Neuronen (Perikaryen) liegt im Hypothalamus als dem basalen Anteil des Zwischenhirns, ventral zu beiden Seiten des dritten Ventrikels (3V) und dorsal und rostral der Hypophyse. Seine rostrale Begrenzung ist die präoptische Region, die strenggenommen zum Telencephalon gehört. Kaudal endet der Hypothalamus am Hinterrand der Corpora mamillaria. Um die Orientierung an den Kerngebieten zu erleichtern, diente der Nucleus paraventricularis hypothalami als didaktisches Zentrum. Die paarig angelegten Nuclei mit ihrer charakteristischen Keilform sowie ihrer Lage und Größe bilden beiderseits des dritten Ventrikels den Mittelpunkt des vorderen Hypothalamus. Alle übrigen immunreaktiven Nuclei wurden in ihrer Lokalisation zum Nucleus paraventricularis hypothalami definiert und beschrieben. Die zugehörigen photographischen Abbildungen befinden sich am Ende des Ergebnisteils (S. 93-140).

2. Qualitative Analysen

2.1. Oxytocin-immunreaktive Neuronen im Rattengehirn

Vier junge erwachsene Sprague-Dawley-Ratten (♀, 3 ♂) wurden parallel zu den Untersuchungen an Graumullen und unter exakt denselben Bedingungen bearbeitet und analysiert, um die Verteilung der Oxytocin-immunreaktiven (OX-ir) Neuronen möglichst realitätsnah protokollieren zu können. OX-ir Neuronen ließen sich im Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), Nucleus commissuralis anterior (CoA), Nucleus supraopticus (SO) und in mehreren akzessorischen Kerngebieten (ACC) nachweisen. Die Mehrzahl der OX-positiven Neuronen waren magnozellular, d.h. die Perikaryen hatten einen Durchmesser (\emptyset) von 20-25 μ m. Die in der Literatur beschriebenen kleinen (parvozellulären) Neuronen (\emptyset 10-15 μ m) entzogen sich weitgehend dem Mechanismus unserer Methodik (s. Kapitel II. 3.). Bei unseren absichtlich unbehandelten Ratten (s. Diskussion) konnten parvozelluläre Neuronen in Teilen des Nucleus paraventricularis hypo-

thalami (Pa) [vasopressinerg und oxytocinerg] und des Nucleus supraiasmaticus (SCh) [vasopressinerg] beobachtet werden (vgl. SOFRONIEW 1990).

2.1.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa)

Neben dem Nucleus supraopticus gilt der Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) als das Hauptursprungsgebiet des hypothalamo-neurohypophysären Systems (vgl. Kapitel II). Die im rostralen Abschnitt des Kerns gelegenen oxytocinergen Neuronen wurden der Pars medialis magnocellularis (PaMM) zugeordnet (vgl. ARMSTRONG 1995). Die Zellen des PaMM gruppieren sich zu einem lockeren dreidimensionalen Neuronennetz, das keilförmig und sich verjüngend unter einem Winkel von etwa 45° von der Wand des dritten Ventrikels nach dorsolateral weist [Abb. 17: Kresylviolett]. Weiter kaudal verdichtet und verbreitert sich dieser Unterkern in lateraler und ventraler Richtung. Im Koronalschnitt mit der größten Ausdehnung des PaMM stehen OX-gelabelte (OX-ir) Zellen dicht und gleichmäßig verteilt nebeneinander [Abb. 18]. Die Zellkörper sind rundlich bis oval und haben einen Längsdurchmesser (a) von 16-22µm und einen Querdurchmesser (b) von 10-16µm. Die Neuronen sind, soweit eine Beurteilung in den Koronalschnitten möglich ist, mehrheitlich bipolar bis tripolar. In weiter kaudal gelegenen Koronalschnitten tritt zwischen der Pars medialis parvocellularis des Pa (medial; PaMP) und Fornix (lateral) eine weitere charakteristische Zellgruppe in Form einer dicht gepackten Kugel auf [Abb. 19: Kresylviolett]. Dieses Gebilde entspricht der Pars lateralis magnocellularis (PaLM) des Nucleus paraventricularis hypothalami (vgl. ARMSTRONG 1995), wobei die markierten Perikaryen vor allem im dorsalen und im ventralen Randbereich des PaLM zu erkennen sind [Abb. 20, 21: OX-ir]. Die übrigen eher zentral gelegenen Perikaryen präsentieren sich als unspezifische, schattenhafte Hintergrundfärbung.

Die Mehrzahl der OX-positiven Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami befindet sich in den beiden bereits erwähnten und einander direkt benachbarten Arealen (PaMM, PaLM), wobei der mediale magnozellularäre Bereich (PaMM) die größere Zahl an OX-ir Neuronen umfaßt. Beide Komponenten (PaLM, PaMM) grenzen nach medial an die Pars medialis parvocellularis des Pa (PaMP), welche bei unseren sämtlich unbehandelten Ratten fast frei von Immunreaktivität war [vgl. Abb. 18, 20: OX-ir]. Vereinzelt gelabelte magnozel-

luläre Zellkörper finden sich in der dorsalen Kappe (PaDC) und dem ventralen Teil (PaV) des Nucleus paraventricularis [Abb. 20: OX-ir]. Diese Neuronen sind ebenfalls magnozellular und unterscheiden sich nicht von denen in PaMM und PaLM. Der rostrale Abschnitt des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaMM, PaLM) grenzt kaudal an dessen Pars posterior [PaPo; Abb. 22: Kresyl]. Anders als der oben beschriebene rostrale Anteil des Nucleus paraventricularis (Pa) erstreckt sich die PaPo als sehr schlanker und weit ausladender Flügel von der Wand des dritten Ventrikels nach lateral bis über den Fornix (f). Die innerhalb der Flügelspitze und lateral davon gelegenen isolierten magnozellulären OX-ir Neuronen entsenden gelabelte Axone bis an die Zona incerta (ZI) [Abb. 23: OX-ir]. Die magnozellulären OX-Neuronen der Pars posterior (PaPo) erscheinen im Koronal- bzw. Transversalschnitt spindelförmig und unterscheiden sich in der transversalen Orientierung ihrer Längsdurchmesser von den übrigen OX-positiven Zellen des Nucleus paraventricularis, welche eher parallel zur rostrokaudalen Achse des Gehirns ausgerichtet sind [Abb. 24: OX-ir]. Die Immunreaktivität der magnozellulären Neuronen ist in der Pars posterior schwächer als in der Pars anterior (PaMM, PaLM). In Höhe von PaMM und PaLM, also um die dorsolateral orientierte Kante des Nucleus paraventricularis herum, entspringt ein breites Band transversal orientierter OX- immunreaktiver Fasern [Abb. 18, 20: nicht beschriftet] und verläuft wie ein gerundetes Zeltdach beiderseits des dritten Ventrikels von dorsal durch die Area hypothalamica lateralis (LH) nach lateral und ventral mehr oder minder in Richtung des Nucleus supraopticus [SO; Abb. 18, 20: OX-ir]. Die Faserschar kreuzt den Tractus opticus und wendet sich schließlich nach medial zur Eminentia mediana, wobei sie sich stark verdichtet [ME; Abb. 32: OX-ir]. In diese Faserstrahlung sind vor allem in der Nähe von Gefäßen zahlreiche OX-positive Perikaryen eingestreut, die zu den akzessorischen neurosekretorischen Neuronen der LH gezählt werden [Abb. 18, 20, 23]. PETERSON (1966) bezeichnete diese Neuronenpopulation aufgrund ihrer topographischen Nähe zum medialen Vorderhirnbündel (mfb) als „Nucleus des medialen Vorderhirnbündels“ (NMFB) [Abb. 25: NMFB nicht beschriftet].

2.1.2. Nucleus commissuralis anterior (CoA)

Bei der Ratte liegen die dicht gepackten OX-ir Neuronen des CoA medial des Fornix und reichen mit ihren Perikaryen und Fortsätzen bis an das Ependym des 3. Ventrikels (3V) heran [Abb. 26: Kresylviolett; Abb. 27, 28: OX-ir]. Diese oxytocinergen Neuronen können in eine mediale, ependymnah gelegene Gruppe entlang des 3. Ventrikels, die von einigen Autoren auch als Pars magnocellularis des Nucleus *periventricularis* (PeM) bezeichnete wird (vgl. Kapitel II. 4.2.) und eine laterale flügelförmige Gruppe unterteilt werden, wobei beide allerdings nur unvollständig voneinander getrennt sind [Abb. 28: OX-ir]. Das Aussehen des CoA erinnert sehr an den weiter kaudal gelegenen, flügelförmigen Nucleus *paraventricularis hypothalami*, dazwischen befindet sich bei der Ratte eine reaktionsarme Region von etwa 150µm Länge.

Die Perikaryen des CoA sind in unseren Schnittserien der Ratte stark OX-positiv. Die Längsdurchmesser (a) betragen 18-26µm, die Querdurchmesser (b) 10-12µm. Lateral des Nucleus commissuralis anterior zeigen sich in der Area *praeoptica lateralis* (LPO) verstreut Oxytocin-immunreaktive Zellen, welche zu den akzessorischen magnozellularen Neuronen (ACC) gezählt werden.

2.1.3. Nucleus suprachiasmaticus (SCh)

Der Nucleus suprachiasmaticus der Ratte hat seine maximale transversale Ausdehnung vor dem rostralen Ende des Nucleus *paraventricularis hypothalami* [Abb. 5: Zeichnung, Abb. 26: Kresyl]. Nach unserem immunhistochemischen Protokoll ließen sich im SCh keine oxytocinergen Neuronen darstellen [Abb. 29].

2.1.4. Nucleus supraopticus (SO)

Der rostrale Teil des SO (SO_r) beginnt mit einzelnen OX-positiven Zellen in Höhe des Nucleus commissuralis anterior und lateral des Chiasma opticum. Medial grenzen diese Neuronen an das Organum Vasculosum Laminae Terminalis (OVL_T) und ihre Dichte nimmt in kaudaler Richtung zu [vgl. von rostral nach kaudal: Abb. 27, Abb. 18 und Abb. 23: OX-ir]. Der Nucleus supraopticus liegt dem Tractus opticus (opt) wie eine langgezogene Kappe auf [Abb. 17: Kresyl; Abb. 30: OX-ir] und begleitet ihn in seinem Verlauf. Das Labeling innerhalb des

Nucleus ist weitgehend gleichförmig, wobei die oxytocinergen Neuronen im dorsalen Bereich der Kappe dichter stehen. Der oxytocinerge retrochiasmatische Teil des Nucleus supraopticus (SO_{rch}) besteht aus einem dünnen Band vereinzelter OX-positiver Zellen, welches sich am Boden des Hypothalamus, teilweise sogar an seiner pialen Oberfläche, nach kaudal erstreckt [Abb. 31: Kresyl; 32, 33: OX-ir]. Dieses dünne Band lässt sich über einzelne Neuronen nach kaudal bis in den Bereich der Eminentia mediana (ME) verfolgen. Die OX-ir Neuronen des Nucleus supraopticus sind bi- bzw. tripolar. Die deutlich immunpositiven Somata haben Längsdurchmesser (a) von 20-26µm und Querdurchmesser (b) von 8-16µm. Die OX-ir Axone des Nucleus supraopticus verlaufen erst nach dorsal, bevor sie in einem weiten Bogen nach medial ziehen, um dann in einer laminären Schicht parallel zur Eminentia mediana mit OX-ir Faserbahnen des Pa zu konfluieren und in die Neurohypophyse terminieren [Abb. 32: OX-ir].

2.1.5. Akzessorische magnozelluläre neurosekretorische Neuronen (ACC)

Die akzessorischen magnozellulären Neuronen sind bei der Ratte als diffuse und schwer zuzuordnende Zellpopulationen über den gesamten Hypothalamus verstreut. Die Beschreibung der Gruppen erfolgt (soweit sinnvoll) von rostral nach kaudal. Die Perikaryen sind mit einem Längsdurchmesser (a) von ca. 20µm und einem Querdurchmesser (b) von ca. 10µm sämtlich magnozellulär und unterscheiden sich in ihrer OX-Antigenität nicht von den Neuronen der Nuclei supraopticus et paraventricularis hypothalami. Bei der Ratte konnte das Antigen Oxytocin in den folgenden Nuclei und Regionen nachgewiesen werden: In Höhe des Nucleus commissuralis anterior (CoA) sind im Bereich des Nucleus striae terminalis (bed nuclei of stria terminalis, BNST) einzelne OX-ir Neuronen vorhanden. An bzw. zwischen den Fasern der Stria terminalis treten einzelne OX-immunreaktive Somata auf, welche teilweise auch am Boden des Seitenventrikels innerhalb des Ependyms liegen. Eine Sekretion dieser Neuronen in den Liquor cerebrospinalis ist aufgrund ihrer topographischen Nähe zum Ventrikel anzunehmen. Weiter kaudal, aber noch in Höhe des Nucleus commissuralis anterior (CoA), finden sich in den Areae praeopticae medialis et lateralis (MPA, LPO) locker verteilte OX-ir Zellen [Abb. 27]. Zwei weitere OX-ir Kerngebiete

sind um den Fornix herum lokalisiert, der rostrale sowie der kaudale perifornikale Nucleus (PETERSON 1966). Die reaktiven Perikaryen des rostralen Nucleus liegen als ein Neuronencluster dorsal des Fornix in Höhe des PaMM [Abb. 18; °: OX-ir]. Jene des kaudalen Nucleus liegen locker gruppiert in Höhe der Pars posterior des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaPo) (nicht dargestellt). Kaudal des Chiasma opticum geht die Area praeoptica lateralis (LPO) in die Area hypothalamica lateralis (LH) über, in welcher kaudalwärts immer wieder verstreute OX-ir Neuronen auftreten [Abb. 18, 20, 23]. Bei der Ratte lassen sich am medialen Vorderhirnbündel zahlreiche OX-immunreaktive Neuronen nachweisen [Abb. 25], die zum Nucleus des medialen Vorderhirnbündels zusammengefaßt werden (PETERSON 1966). Schließlich werden auch jene immunreaktiven Neuronen, welche die Wände des dritten Ventrikels säumen, zu den akzessorischen magnozellulären neurosekretorischen Neuronen gezählt. So erstreckt sich die Pars magnocellularis des Nucleus *periventricularis* (PeM) bei der Ratte über die Areae praeoptica et anterior hypothalami, wobei die OX-Reaktivität unmittelbar medial des Nucleus commissuralis anterior besonders ausgeprägt ist [vgl. Abb. 27, 28]. Immunreaktive Neuronen der Area hypothalamica anterior (AHA) zählen ebenfalls zu den akzessorischen magnozellulären neurosekretorischen Neuronen. Die Nervenzellen bilden hier ein räumliches Netz aus immunpositiven Zellen, welches vor allem um kleine Gefäße herum anzutreffen ist (nicht dargestellt).

2.1.6. Corpus mamillare

Für eine bessere topographische Übersicht sind die Routineschnitte mit Kresylechtviolett färbung [Abb. 34-36] den immunhistochemischen Schnitten [Abb. 37-40: OX-ir] vorangestellt. In den Corpora mamillaria des Rattengehirns lassen sich in Routineschnitten die drei im Kapitel II. bereits erwähnten magnozellulären Nuclei praktisch nachweisen: Nucleus tuberalis magnocellularis [TMC; nicht dargestellt], Nucleus caudalis magnocellularis [CMC; Abb. 34: Kresylviolett], Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis [PCMC; Abb. 36: Kresylviolett]. Die immunhistochemische Färbung der korrespondierenden Hirnschnitte zeigte in den o.g. Nuclei indessen kein spezifisches Oxytocin-Labeling [Abb. 37-40: OX-ir].

2.2. Oxytocin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn

Die Qualität der spezifischen Markierung der OX-immunreaktiven (OX-ir) Neuronen des Graumulls unterscheidet sich nicht von jener der Ratte. Die Zellkörper mit Axon und Dendriten sind durch Diaminobenzidin mittelbraun bis braunschwarz gefärbt. Eine so deutliche Markierung der Fortsätze erlaubt die Annahme, daß das in diesen Neuronen gebildete Oxytocin als Neurotransmitter dienen müßte. Die Mehrheit der OX-ir Neuronen liegt beim Graumull im vorderen Hypothalamus; die Kerngebiete mit dem größten Antigengehalt sind wie bei der Ratte der Nucleus paraventricularis hypothalami und der Nucleus supraopticus. Vereinzelt OX-Labeling fand sich wiederum in den Regionen der akzessorischen magnozellulären neurosekretorischen Neuronen (ACC). Didaktisches Zentrum der folgenden topographischen Beschreibung der OX-ir Strukturen ist wiederum der Nucleus paraventricularis hypothalami. Die Beschreibung aller weiteren Nuclei erfolgt gemäß ihrer Lokalisation zu diesem Kern.

2.2.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa)

Der Nucleus paraventricularis hypothalami [Abb. 41: Kresylviolett] liegt beim Graumull in der Vorderhälfte des Hypothalamus. Er beginnt dorsal des Nucleus suprachiasmaticus und endet kaudal in Höhe der Eminentia mediana (ME). Charakteristisch sind die Keilform der symmetrisch stehenden Kerne sowie ihre paraventriculäre Lage. Im rostralen Abschnitt des Nucleus paraventricularis lassen sich ein dorsaler und ein ventraler OX-immunreaktiver Neuronencluster unterscheiden [Abb. 42, 43: OX-ir]. Der dorsale Unterkern zwischen Fornix und Ventrikel, welcher mit einzelnen Neuronen bis an das Ependym heranreicht, entspricht einem kugelförmigen Haufen dicht gepackter OX-ir Neuronen. Das Labeling der Neuronen ist im medialen Bereich der Kugel stärker ausgeprägt als am lateralen Rand. Größe und Form der Perikaryen sind sehr variabel. Die Längsdurchmesser (a) als auch Querdurchmesser (b) betragen ca. 12-20µm. Das Repertoire der Zellformen umfaßt neben rundlichen Somata ovale bis tropfenähnliche und spindelförmige Perikaryen. Die Beurteilung der Anzahl der Fortsätze ist bei dicht stehenden Neuronen besonders schwierig. Zusätzlich kommt es durch die Schnittführung häufig zu einem artifiziellen Verlust von Fortsätzen, der beispielsweise unipolare Zellen vortäuscht, obwohl tatsächlich

bi- bis tripolare Neuronen vorliegen. Der ventrale Unterkern bildet ein keilförmiges Neuronennetz, welches als Ganzes im spitzen Winkel zur Ventrikelwand schräg nach dorsolateral weist und den Ventrikel entlang seiner dorsoventralen Ausdehnung umsäumt. Die locker gruppierten Neuronen besitzen eher längliche Perikaryen [a) 14-24 μ m und b) 10-14 μ m]. Im rostralen Abschnitt des Nucleus paraventricularis hypothalami ist die dorsale kugelförmige von der ventralen netzförmig organisierten Neuronenpopulation durch einen Bereich geringer Reaktivität getrennt [vgl. Abb. 43: OX-ir]. Die OX-ir Fasern, welche in der kugelförmigen Population des Kerns entspringen, verlaufen dorsal des Fornix nach lateral, während jene der ventralen Population in einem weiten Bogen nach lateroventral in Richtung Hirnbasis und Tractus opticus ziehen, um dann weiter kaudal in der Neurohypophyse zu terminieren. Es scheint fast so, als nähme die zeltförmige Faserbahn der ventralen Population in breiter Front Kontakt mit Fortsätzen von Neuronen des Nucleus supraopticus auf. In kaudaler Richtung verschmelzen die beiden Populationen zu einem einheitlichen Neuroengeflecht; eine morphologisch-topographisch definierte Grenze zwischen dem dorsal gelegenen Kugelhaufen und dem ventralen Netz ist hier nur noch andeutungsweise vorhanden (Abb. 44, 45). Eine Unterteilung des Nucleus paraventricularis anhand der intranukleären Verteilung der OX-Neuronen ist kaum möglich. Die Situation bei der Ratte mit den oben beschriebenen Subnuclei PaMM und PaLM kann auf den Graumull also nicht übertragen werden. In seinem kaudalen Abschnitt ist der Nucleus paraventricularis hypothalami des Graumulls kugelig und nicht so länglich ausgezogen wie die Pars posterior (PaPo) der Ratte [Abb. 46: Kresyl; 47, 48: OX-ir]. Die OX-ir Neuronen sind rundlich und vereinzelt stehen als spindelförmige Bipolaren transversal. Auffällig beim Betrachten der Schnittserien sind die besonders zahlreichen Gefäßanschnitte im Nucleus paraventricularis hypothalami, ein Zeichen für die sehr gute Vaskularisation des Hypothalamus in dieser Region.

2.2.2. Nucleus commissuralis anterior (CoA)

Der Nucleus commissuralis anterior liegt bei der Ratte medial des Fornix und zwischen Commissura anterior (rostral) und Nucleus paraventricularis hypothalami (kaudal). Beim Graumull fällt auf, daß, anders als bei der Ratte, zwischen

Commissura anterior und Nucleus paraventricularis hypothalami keine OX-immunreaktiven Neuronen nachweisbar sind. Offenbar existiert beim Graumull kein rostrales, durch Fasermassen oder Neuropil vom Nucleus paraventricularis hypothalami abgesetztes OX-ir Kerngebiet [Abb. 49] oder es kann zumindest mit der hier verwendeten Methode in dieser Form beim Graumull nicht nachgewiesen werden. Die Frage, ob bei der Ratte in diesem Gebiet ein Mangel an Oxytocin oder gar ein Fehlen der betreffenden Neuronenpopulation vorliegt, kann mit Hilfe von Schnittserien in Kresylechtviolett färbung geklärt werden. Da sich beim Graumull in der Routinefärbung nach Nissl kein dem CoA topographisch oder zytologisch entsprechendes magnozellulareres Areal abgrenzen läßt, kann hier formal von einem Fehlen dieses Nucleus gesprochen werden.

2.2.3. Nucleus suprachiasmaticus (SCh)

Der Nucleus suprachiasmaticus des Graumulls hat seine maximale transversale Ausdehnung in Höhe des flügel förmigen Abschnitts des Nucleus paraventricularis hypothalami [Abb. 50: Kresylviolett]. Der SCh zeigt keinerlei spezifische OX-Immunreaktivität [Abb. 51].

2.2.4. Nucleus supraopticus (SO)

Der Graumull als eine subterran lebende, mikrophthalme Spezies mit einem sehr dünnen Nervus opticus und Chiasma opticum (ox) zeigt einen prominenten OX-ir Nucleus supraopticus. Die Bezeichnung supraopticus impliziert fälschlicherweise eine funktionelle Beziehung des Nucleus zur Sehbahn, während bei diesem Kerngebiet allein die räumliche Nähe zum Chiasma opticum bzw. Tractus opticus namengebend war. Der rostrale Teil des Nucleus supraopticus (SO_r) beginnt wie bei der Ratte an der Hirnbasis ventral des 3. Ventrikels und in Höhe der Commissura anterior (ca) [vgl. von rostral nach kaudal: Abb. 49, 56, 42, 44: OX-ir; Abb. 41: Kresylviolett] und erstreckt sich mit seinem retrochiasmatischen Anteil im Hypothalamus entlang des Tractus opticus bis in Höhe des Nucleus arcuatus [Arc; Abb. 54: OX-ir]. Einzelne OX-immunreaktive Perikaryen und Fasern mit Varikositäten sind bis in die innere Schicht der Eminentia mediana (ME) nachweisbar (nicht dargestellt). In kaudaler Richtung nimmt die Zahl der OX-ir Neuronen des SO_r deutlich zu, so daß die Perikaryen dort dicht zusammengeballt liegen [Abb. 52: OX-ir]. Der Nucleus supraopticus begleitet

sammengeballt liegen [Abb. 52: OX-ir]. Der Nucleus supraopticus begleitet den Tractus opticus von paramedian nach lateral, wobei er sich dem Tractus opticus zuerst flach anschmiegt, während er weiter kaudal eine im Querschnitt dreieckige Form annimmt. Die Perikaryen des rostralen SO sind meist rundlich, die an der Pia mater gelegenen jedoch eher länglich. Die Längsdurchmesser (a) der Perikaryen betragen 16-22 μm , die Querdurchmesser (b) 10-16 μm . Auffällig ist, daß die am oder im Tractus opticus (opt) lokalisierten Perikaryen spindelförmig sind: Sie scheinen sich den am/im Faserbündel gegebenen räumlichen Verhältnissen optimal anzupassen. Der retrochiasmatische Abschnitt des Nucleus supraopticus (SO_{rch}) weicht vom Tractus opticus ab und verläuft als ein oberflächliches und dünnes Zellband [Abb. 53: Kresylviolett; Abb. 54, 55: OX-ir] an der Hirnbasis entlang der Pia mater. Einzelnen Neuronen lassen sich bis in die Region des Mamillarkörpers verfolgen. Die OX-ir Neuronen des retrochiasmatischen Kernabschnitts sind ebenfalls meist rundlich; ihre Längsdurchmesser (a) betragen 18-26 μm , ihre Querdurchmesser (b) 10-16 μm .

2.2.5. Akzessorische magnozellularäre neurosekretorische Neuronen (ACC)

Die Mehrheit dieser Neuronen liegt in den Regionen rostral des Nucleus paraventricularis hypothalami. Die Aufzählung der OX-exprimierenden Neuronenpopulationen erfolgt an dieser Stelle von rostral nach kaudal: sie verteilen sich beim Graumull auf den Nucleus striae terminalis (Bettkerne; BNST), die Area praeoptica medialis (MPA), den rostralen sowie den kaudalen perifornikalen Nucleus, auf die Area hypothalamica anterior (AHA) [Abb. 56, 57: OX-ir] sowie die Area hypothalamica lateralis (LH). Entlang des Nucleus paraventricularis hypothalami sind in der *periventrikulären* Zone immer wieder OX-exprimierende magnozellularäre Perikaryen lokalisiert, die teilweise intra- oder subependymal liegen und deren Fortsätze Kontakt mit dem Liquorraum aufnehmen. Eine Neurosekretion in den Liquor cerebrospinalis ist auch beim Graumull angesichts der topographischen Verhältnisse wahrscheinlich. Die Längsdurchmesser (a) der Perikaryen betragen 18-26 μm , die Querdurchmesser (b) 8-20 μm .

2.2.6. Corpus mamillare

Zur besseren topographischen Orientierung werden der immunhistochemisch anti-OX-gelabelten Schnittserie Routineschnitte mit Kresylechtviolett-Färbung vorangestellt [Abb. 58-61: Kresylviolett]. Bei der Analyse sämtlicher Schnittserien von *Cryptomys* fällt ein ungewöhnliches Oxytocin-Labeling in Kerngebieten der Regio mamillaris auf [Abb. 62-65: OX-ir]. Ein Teil dieser OX-exprimierenden Neuronen erstreckt sich über den medialen Bereich des Nucleus supramamillaris [SuM: Abb. 62-64]. Gemeinsam liegen sie als kappenartiges Gebilde über dem Nucleus mamillaris medialis, partes medialis et lateralis [MM, ML: Abb. 59-61: Kresylviolett] sowie über dem Nucleus mamillaris lateralis (LM). Aber auch im lateralen Mamillarkörperkomplex findet sich eine vergleichbare Markierung. Dieses OX-Labeling läßt sich dem Nucleus caudalis magnocellularis [CMC: Abb. 62-65: OX-ir] und dem Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis (PCMC, nicht dargestellt) zuordnen. Die Perikaryen weichen mit ihrer rundlichen bis tropfenförmigen Gestalt deutlich von den magnozellulären Neuronen des Pa und des SO ab [Abb. 45, 52, 55; 65: OX-ir]. Die Immunreaktivität ist weniger intensiv als bei den oben beschriebenen magnozellulären Neuronen. Das Zytoplasma erscheint granuliert und der Zellkern ist schwach bis nicht gelabelt. Immunreaktive Dendriten und intrinsische Axone mit Varikositäten sind nur andeutungsweise um die Perikaryen im Zentrum und in der Peripherie des Corpus mamillare nachzuweisen; die in dieser Region vereinzelt auftretenden, deutlich varikösen Axone sind wahrscheinlich Teil extrinsischer Projektionen. Die Tropfenform der Zellkörper erweckt den Eindruck, daß es sich um unipolare Neuronen handelt. Zum Teil finden sich auch multipolare Neuronen mit 4-6 sehr dünnen, radiär ausstrahlenden Fortsätzen. Die Längendurchmesser (a) der Perikaryen betragen 14-20µm, die Querdurchmesser (b) 8-20µm. Da die OX-ir Perikaryen in dieser Region des Corpus mamillare infolge einer zu hohen Zelldichte nicht gezählt werden konnten, wurde die Intensität der Markierung anhand einer Skala von 1-3 bestimmt (1: schwach, 2: mittel, 3: stark). Dabei zeigt sich kein Zusammenhang zwischen der generellen Markierung in den Schnitten und dem Geschlecht, dem Alter, der Familienzugehörigkeit oder der sozialen Stufe des Individuums. Bemerkenswert ist jedoch vor allem, daß bei der Ratte in topographisch korrespondierenden Schnitten kein OX-Labeling vorliegt, obwohl in der

Routinefärbung (Kresylechtviolett) die magnozellulären Neuronen des Mamillarkörpers eindeutig nachweisbar sind.

2.3. Vasopressin-immunreaktive Neuronen im Rattengehirn

Das Peptidhormon Vasopressin (VP) kann bei der Ratte in nahezu denselben Regionen nachgewiesen werden wie bereits für Oxytocin beschrieben. Details zur topographischen Anordnung der jeweiligen Kerngebiete und zu ihrer Funktion sind dem Kapitel II „Der Hypothalamus“ zu entnehmen. Die Lokalisation der vasopressinergen Fasern und ihr Verlauf entsprechen den oxytocinergen Projektionen und werden, sofern keine abweichenden Befunde vorliegen, nicht erneut besprochen.

2.3.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa)

Die Vasopressin-immunreaktiven (VP-ir) Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami befinden sich hauptsächlich in der kugelförmigen lateralen magnozellulären Region (PaLM) [Abb. 66, 67: VP-ir]. Letztere liegt etwas dorso-lateral und kaudal des vornehmlich oxytocinergen medialen magnozellulären Bereichs (PaMM). Im PaMM [Abb. 68, 69: VP-ir; vgl. Abb. 18: OX-ir] sind nur vereinzelt VP-ir Neuronen markiert. Die unterschiedliche Verteilung der Transmitter in den beiden Subnuclei, die den Angaben in der Literatur entspricht (ARMSTRONG 1995), gilt als eine Bestätigung für die Qualität unserer immunhistochemischen Methode, aber auch als ein Beweis für die Spezifität der verwendeten Antikörper. Die Pars posterior des Nucleus paraventricularis hypothalami [Abb. 70, 71: PaPo] zeigt ebenfalls vasopressinerge Perikaryen. Die Neuronen des Nucleus paraventricularis weisen Längsdurchmesser (a) von 18-20µm und Querdurchmesser (b) von 8-10 µm auf.

2.3.2. Nucleus commissuralis anterior (CoA)

Der Nucleus commissuralis anterior ist bei den Ratten R₁-R₄ in der Routinefärbung (Kresylechtviolett) zytologisch gut abgrenzbar [Abb. 26: Kresylviolett]. In immunhistochemisch behandelten korrespondierenden Schnitten zeigt sich der CoA lediglich als schattenhafte unspezifische Hintergrundreaktion [Abb. 72, 73: VP-ir] mit 1-4 spezifisch für VP gelabelten Neuronen (nicht abgebildet) und VP-

ir Neuropil. Diese Beobachtung erlaubt die Annahme, daß der Nucleus commissuralis anterior der Ratte kaum Vasopressin exprimiert (vgl. Tabelle 47).

2.3.3. Nucleus suprachiasmaticus (SCh)

Der Nucleus suprachiasmaticus liegt knapp rostral des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) in Höhe des Nucleus commissuralis anterior (CoA) und unmittelbar über dem Chiasma opticum. Die Besonderheit seiner VP-gelabelten Neuronen besteht darin, daß sie nicht magnozellular, sondern parvozellulär sind [Abb. 74: VP-ir]. Im Vergleich zu den intensiv markierten magnozellularen Neuronen des Hypothalamus sind sie nur schwach immunreaktiv [s. Abb. 86: parvozellulär vs. magnozellular, VP-ir, *Cryptomys*]. In vielen immunhistochemischen Studien wird aus diesem Grund eine Vorbehandlung der Tiere mit Colchicin angestrebt. Colchicin hemmt als Mitosespindelgift den axonalen Transport und führt so zu einer erhöhten Antigenität in den Perikaryen (s. Diskussion). Die Längsdurchmesser der Perikaryen (a) betragen 8-10µm, die Querdurchmesser (b) 4-6µm.

2.3.4. Nucleus supraopticus (SO)

Wie die oxytocinergen Neuronen grenzen die rostralen vasopressinergen Neuronen des Nucleus supraopticus bei der Ratte an das Organum vasculosum der Lamina terminalis (OVLT). In kaudaler Richtung nimmt die Zahl der VP-ir Neuronen stark zu, wobei diese eine kappenförmige Ansammlung dicht gepackter Neuronen bilden, die dem Tractus opticus von lateral anliegen [Abb. 75]. An dieser Stelle muß der Tatsache Rechnung getragen werden, daß die quantitative Analyse des rostralen Anteils des Nucleus supraopticus (SO_r) mit Schwierigkeiten verbunden ist. Die Neuronen liegen hier in den 60µm dicken Schnitten sehr dicht und teilweise übereinander, so daß die Diskriminierung der einzelnen VP-ir Perikaryen für den Untersucher eine große und jene der Oxytocin-ir Neuronen immerhin eine Herausforderung darstellt. Die retrochiasmatischen vasopressinergen Neuronen gruppieren sich zu einem schmalen Band, welches entlang der pialen Oberfläche nach kaudal zieht [Abb. 76, 77]. Die Längsdurchmesser (a) der Perikaryen liegen bei 20-24µm und die Querdurchmesser (b) bei 10-12µm.

2.3.5. Akzessorische magnozelluläre neurosekretorische Neuronen (ACC)

Die vasopressinergen akzessorischen magnozellulären Neuronen verteilen sich auf die Region des Nucleus striae terminalis, die rostralen und kaudalen perifornikalen Nuclei, die Area hypothalamica anterior (AHA) mit dem Nucleus circularis (Circ) und die Area hypothalamica lateralis (LH) [Abb. 68: VP-ir]. Insgesamt gesehen sind im Vergleich zu den oxytocinergen Neuronen weniger akzessorische vasopressinerge Neuronen über den Hypothalamus verteilt. In der quantitativen Analyse wurde der Nucleus circularis zur AHA gezählt. Der Nucleus circularis als eine ringförmige Neuronenansammlung befindet sich bei allen untersuchten Ratten in Höhe der Pars medialis magnocellularis des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaMM) und exprimiert exklusiv Vasopressin. Sämtliche Neuronen der akzessorischen Kerngruppe (ACC) sind mit Längsdurchmessern (a) von ca. 20µm und Querdurchmessern (b) von 12-14µm magnozellular.

2.3.6. Corpus mamillare

Wie bereits für den Transmitter Oxytocin beschrieben, ließen sich bei der Ratte die drei magnozellulären Nuclei des Corpus mamillare in der Routinefärbung mit Kresylechtviolett sehr gut darstellen [Abb. 58-61: Kresylviolett]. Immunhistochemisch konnte wie auch schon für Oxytocin in topographisch korrespondierenden Schnitten kein Vasopressin nachgewiesen werden [Abb. 78- 80: VP-ir].

2.4. Vasopressin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn

Das Peptidhormon Vasopressin tritt beim Graumull in denselben Regionen auf wie Oxytocin. Die auffällig kräftig gelabelten Fortsätze der Perikaryen, deren Durchmesser ca. 2µm betragen, sind korkenzieherähnlich gewunden. Sowohl die Oberflächen der Perikaryen als auch der Fortsätze sind bei lichtmikroskopischer Betrachtung rau und irregulär [Abb. 81: VP-ir].

2.4.1. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa)

Die VP-Immunhistochemie zeigt wie schon bei den OX-ir Neuronen des Graumulls eine Unterteilung in eine dorsale kugelförmige Neuronenpopulation und die ventral netzartig gruppierten Neuronen [Abb. 82, 83: VP-ir]. Die VP-Markierung hat ihren Schwerpunkt in der lateralen Hälfte des kugelförmigen Subnucleus. In kaudaler Richtung verschmelzen die Subnuclei zu einem einheitlichen flügelförmigen Gebilde [Abb. 84, 85: VP-ir]. Die Längsdurchmesser (a) der vasopressinergen Neuronen liegen bei 20-24µm und die Querdurchmesser (b) bei 8-12µm.

2.4.2. Nucleus commissuralis anterior (CoA)

Ein Nucleus commissuralis anterior, wie er bei der Ratte beschrieben wurde, konnte beim Graumull mit Hilfe der Routinefärbung (Kresylechtviolett) nicht dargestellt werden. Aus diesem Grund kann bei dieser Spezies weder über die Existenz noch über die potentielle Immunreaktivität eines solchen Kerngebietes eine sichere Aussage getroffen werden.

2.4.3. Nucleus suprachiasmaticus (SCh)

Die topographische Lage des SCh parallel zur rostro-kaudalen Achse beim Graumull unterscheidet sich von der Situation bei der Ratte: Hier ist der SCh rostral des Nucleus paraventricularis hypothalami in Höhe des Nucleus commissuralis anterior gelegen. Dagegen ist der SCh beim Graumull deutlich weiter kaudal lokalisiert. Seine maximale transversale Ausdehnung hat der Kern in Höhe des flügelförmigen Abschnitts des Nucleus paraventricularis hypothalami [Abb. 82: VP-ir] und erstreckt sich nach kaudal bis zu dessen kaudalem

Anteil. Im Nucleus supraiasmaticus lassen sich exklusiv parvozelluläre vasopressinerge Neuronen nachweisen. Dabei zeigt der Graumull vor allem in den ventralen Abschnitten des SCh ein VP-Labeling [Abb. 86]; der dorsale Anteil ist frei von spezifischer Immunreaktivität. Eine Quantifizierung der markierten parvozellulären Neuronen war aus technischen Gründen (zu hohe Packungsdichte der Neuronen) nicht möglich. Interessanterweise variiert die Intensität der Markierung parvozellulärer Neuronen zwischen den jeweiligen Tieren. Eine Korrelation zwischen der Intensität des Labeling und den soziosexuellen Charakteristika der Graumullindividuen scheint allerdings nicht gegeben.

2.4.4. Nucleus supraopticus (SO)

Der rostrale Teil des Nucleus supraopticus (SO_r) präsentiert sich in der Anti-VP-Immunhistochemie als ein Kern mit dicht stehenden magnozellularen Neuronen [Abb. 87]. Im retrochiasmatischen Teil (SO_{rch}) sind ebenfalls zahlreiche VP-ir Neuronen vorhanden [Abb. 88, 89]. Eine Gliederung des Kerns in einzelne Neuronenpopulationen ist nicht zu erkennen.

2.4.5. Akzessorische magnozellular neurosekretorische Neuronen (ACC)

Die Verteilung der akzessorischen neurosekretorischen VP-ir-Neuronen des Graumulls entspricht weitgehend jener der oxytocinergen Neuronen. In Höhe der Commissura anterior befinden sich im Bereich des Nucleus striae terminalis (BNST) VP-ir Neuronen. Einzelne Neuronen liegen in bzw. an den Fasermassen der Stria terminalis und enden mit ihren Axonen am Ependym des Seitenventrikels [Abb. 90, 91: VP-ir]. Es ist erneut auffällig, daß die Perikaryen an oder in Faserbahnen stets sehr schlank sind; sie scheinen den räumlichen Gegebenheiten optimal angepaßt (vgl. Nucleus supraopticus; 2.2.4.). Etwas weiter kaudal, am rostralen Ende des Nucleus paraventricularis hypothalami, befinden sich dorsolateral des Fornix einzelne VP-ir Neuronen (nicht abgebildet). In der Area praeoptica medialis (MPA) und im Nucleus praeopticus medialis (MPO) sowie in der Area praeoptica lateralis (LPO), die sich nach kaudal in die Area hypothalamica lateralis (LH) fortsetzt, und in der Area hypothalamica anterior (AHA) treten vasopressinerge Neuronen auf [Abb. 90, 92: VP-ir]. Da ein detaillierter Atlas des Graumullgehirns noch fehlt, ist die exakte Abgrenzung der AHA

vom ventralen retikulären Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami schwierig [vgl. Abb. 83, 92: VP-ir]. Unter Einbeziehung sämtlicher korrespondierender Schnitte wurde bei allen Graumullen in identischer Höhe die Grenze zum Nucleus paraventricularis hypothalami definiert (nicht abgebildet). Die akzessorischen Neuronen zeigen generell einen vergleichsweise hohen Antigengehalt und sind mit Längsdurchmessern (a) von 22-26 μ m und Querdurchmessern (b) von 12-14 μ m sämtlich magnozellular.

2.4.6. Corpus mamillare

Bei der immunhistochemischen Untersuchung des Graumulls kam in den drei magnozellulären Nuclei des Corpus mamillare (TMC, CMC, PCMC) kein spezifisches Vasopressin-Labeling zustande [Abb. 93, 94].

3. Quantitative Analysen

Zugunsten der Übersichtlichkeit wurde bei der folgenden tabellarischen Zusammenstellung auf die Präsentation von Primärdaten (immunreaktive Neuronenzahl der jeweiligen Hirnhälfte pro Hirnschnitt) verzichtet, die aber bei der Autorin jederzeit eingesehen werden können. Die aufgeführten Durchschnittswerte stellen das arithmetische Mittel aus beiden Hälften der jeweiligen Hirnregion dar.

3.1. Oxytocin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn

3.1.1. Oxytocin-immunreaktive Kerngebiete im Vergleich der Familien

Bei diesem Vergleich wurde *Familie 1* aufgrund der minimalen Fallzahl (singuläres Individuum) ausgeschlossen. Für die *Familien 2* und *3* ergeben sich hinsichtlich der Zahl an OX-ir Neuronen keine signifikanten Unterschiede. Eine Ausnahme stellt der rostrale Teil des Nucleus supraopticus (SO_r) dar. Bei $p < 0.05$ kann hier die Nullhypothese (zwischen den Gruppen bestehen keine Unterschiede) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% abgelehnt werden. Da alle übrigen Nuclei bezüglich der Familienzugehörigkeit keine signifikanten Unterschiede aufweisen (s. u.) scheint es nicht angemessen, diese Abweichung im SO_r als biologisch signifikant zu werten.

Tabellen 7-11. Die Anzahl der oxytocinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumullfamilien 2 und 3 (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten). MW, Mittelwert der Neuronenzahl aus rechter und linker Hemisphäre; p, p-Wert; SD, Standardabweichung; X_{quer} , Mittelwert der Neuronenzahl einer Gruppe.

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X_{quer}	SD
MW	188	199	203	177	202	200	209	197	11
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X_{quer}	SD
MW	164	173	195	193	179	194		183	13
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)								p= 0.166667	

Tabelle 7. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), OXYTOCIN (OX)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	135	161	158	140	199	234	203	176	37
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	126	127	138	167	126	151		139	17
2-Stichproben-t-Test								p = 0.047649	

Tabelle 8. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SOR), OXYTOCIN (OX)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	18	16	12	30	29	16	17	20	7
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	29	26	46	42	24	61		38	14
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)								p = 0.869048	

Tabelle 9. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SORch), OXYTOCIN (OX)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	24	28	22	18	27	22	23	23	3
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	33	24	22	25	28	23		26	4
2-Stichproben-t-Test								p = 0.267352	

Tabelle 10. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), OXYTOCIN (OX)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	4	3	3	3	6	3	4	4	1
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	2	7	21	1	6	8		8	7
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)								p = 0.654762	

Tabelle 11. Ependymal gelegene Neuronen (E), OXYTOCIN (OX)

3.1.2. OX-immunreaktive Kerngebiete im Geschlechtervergleich

Im lichtmikroskopischen Vergleich konnte in allen fünf Hirnregionen zwischen weiblichen und männlichen Graumullen kein signifikanter Unterschied gefunden werden.

Tabellen 12-16. Anzahl der oxytocinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten) im Vergleich der Geschlechter.

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	171	203	200	209	195	193	179	194	187	14
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	188	199	177	202	209	173			191	14
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)									p = 0.583333	

Tabelle 12. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), OXYTOCIN (OX)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	166	158	234	126	138	167	126	151	158	35
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	135	161	140	199	203	127			161	33
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)									p = 0.541667	

Tabelle 13. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SO_r), OXYTOCIN (OX)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	47	12	16	29	46	42	24	61	35	17
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	18	16	30	29	17	26			23	6
2-Stichproben-t-Test									p = 0.130991	

Tabelle 14. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SO_{rch}), OXYTOCIN (OX)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	43	22	22	33	22	25	28	23	27	7
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	24	28	18	27	23	24			24	4
2-Stichproben-t-Test									p = 0.344892	

Tabelle 15. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), OXYTOCIN (OX)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	5	3	3	2	21	1	6	8	6	6
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	4	3	3	6	4	7			5	2
2-Stichproben-t-Test									p = 0.511999	

Tabelle 16. Ependymal gelegene Neuronen (E), OXYTOCIN (OX)

3.1.3. OX-immunreaktive Kerngebiete in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus der Tiere

In einem nächsten Schritt erfolgte die Gegenüberstellung von reproduktiven verpaarten Tieren mit non-reproduktiven Individuen. Es sei nochmals erwähnt, daß beide reproduktiven Weibchen (C₇ u. C₁₁) zum Zeitpunkt der Perfusion trächtig waren. In sämtlichen untersuchten Hirnregionen der Graumulle zeigen sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabellen 17-21. Anzahl der oxytocinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten) gemäß ihrem Reproduktionsstatus. NR, Non-Reproduktiv, R, Reproduktiv.

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	200	209	173	195							194	15
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	171	188	199	203	177	202	164	193	179	194	187	14
2-Stichproben-t-Test											p= 0.399615	

Tabelle 17. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), OXYTOCIN (OX)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	234	203	127	138							176	51
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	166	135	161	158	140	199	126	167	126	151	153	22
2-Stichproben-t-Test											p= 0.459141	

Tabelle 18. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SO_r), OXYTOCIN (OX)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	16	17	26	46							26	14
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	47	18	16	12	30	29	29	42	24	61	31	15
2-Stichproben-t-Test											p= 0.615524	

Tabelle 19. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SO_{rch}), OXYTOCIN (OX)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	22	23	24	22							23	1
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	43	24	28	22	18	27	33	25	28	23	27	7
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)											p= 0.775000	

Tabelle 20. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), OXYTOCIN (OX)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	3	4	7	21							9	8
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	5	4	3	3	3	6	2	1	6	8	4	2
2-Stichproben-t-Test											p= 0.351458	

Tabelle 21. Ependymal gelegene Neuronen (E), OXYTOCIN (OX)

3.1.4. OX-immunreaktive Kerngebiete im Altersvergleich

Hier erfolgt eine Einteilung der Graumulle in drei Kategorien. *Gruppe 1* umfaßt die adulten Tiere. In dieser Gruppe befinden sich alle reproduktiven Tiere und solche Individuen, die sich theoretisch (wenn isoliert und mit einem fremden Partner verpaart) reproduzieren könnten (BURDA 2002; pers. Mitt.). *Gruppe 2* wird von subadulten (pubertären) Tieren gebildet. Als Richtwerte für subadulte Tiere gelten: Weibchen wiegen ca. 60g, Männchen um die 80g, und beide Geschlechter sind ca. 60 Wochen alt. Zu *Gruppe 3* gehören die juvenilen Tiere. Als juvenil werden die Graumulle bis zu ihrer Entwöhnung von der Muttermilch bezeichnet. Sie haben ein Gewicht von ca. 30g; weibliche juvenile Tiere sind maximal 12 Wochen, männliche 20 Wochen alt. Die OX-ir Kerngebiete zeigen bei den Altersgruppen keinerlei Hinweise auf signifikante Unterschiede in der Quantität der OX-Expression (Zahl der OX-ir Zellen).

Tabellen 22-25. Die Anzahl oxytocinerner Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten) im Altersvergleich. 1, adult; 2, subadult; 3, juvenil; vs., versus.

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	188	202	200	209	173	195	194	194	12
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	171	199	203	193				192	14
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	177	164	179					173	8
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.925748	
	1 vs. 3							p = 0.074183	
	2 vs. 3							p = 0.179824	

Tabelle 22. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), OXYTOCIN (OX)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	135	199	234	203	127	138	151	170	42
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	166	161	158	167				163	4
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	140	126	126					131	8
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.945180	
	1 vs. 3							p = 0.238288	
	2 vs. 3							p = 0.425680	

Tabelle 23. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SOr), OXYTOCIN (OX)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	18	29	16	17	26	46	61	30	17
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	47	16	12	42				29	18
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	30	29	24					28	3
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.992863	
	1 vs. 3							p = 0.968141	
	2 vs. 3							p = 0.991333	

Tabelle 24. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SO_{rch}), OXYTOCIN (OX)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	24	27	22	23	24	22	23	24	2
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	43	28	22	25				30	9
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	18	33	28					26	8
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.325652	
	1 vs. 3							p = 0.803772	
	2 vs. 3							p = 0.791300	

Tabelle 25. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), OXYTOCIN (OX)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	4	6	3	4	7	21	8	8	6
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	5	3	3	1				3	2
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	3	2	6					4	2
Kruskal-Wallis-Test	1 vs. 2							p= 0.150486	
	1 vs. 3							p= 0.290546	
	2 vs. 3							p= 0.773215	

Tabelle 26. Ependymal gelegene Neuronen (E), OXYTOCIN (OX)

3.2. Vasopressin-immunreaktive Neuronen im Graumullgehirn

3.2.1. Vasopressin-immunreaktive Kerngebiete im Vergleich der Familien

Die beiden Familien (2, 3) zeigen in der neuronalen Vasopressin-Expression keine signifikanten quantitativen Unterschiede.

Tabelle 27–30. Anzahl der vasopressinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten) im Vergleich der Familien.

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	204	184	177	176	169	163	180	179	13
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	153	172	165	171	160	198		170	16
2-Stichproben-t-Test								p = 0.270973	

Tabelle 27. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), Vasopressin (VP)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	234	171	216	218	199	240	201	211	23
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	176	221	188	210	163	236		199	28
2-Stichproben-t-Test								p = 0.406718	

Tabelle 28. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SO_r), Vasopressin (VP)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	85	61	63	62	98	66	85	74	15
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	74	87	112	94	83	99		92	13
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)								p = 0.809524	

Tabelle 29. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SO_rch), Vasopressin (VP)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	39	68	43	75	63	63	41	56	15
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	58	64	43	59	60	60		57	7
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)								p = 0.464286	

Tabelle 30. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), Vasopressin (VP)

Familie 2	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	X _{quer}	SD
MW	2	0	1	4	3	2	2	2	1
Familie 3	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄		X _{quer}	SD
MW	3	3	7	3	1	6		4	2
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)								p = 0.761905	

Tabelle 31. Ependymal gelegene Neuronen (E), Vasopressin (VP)

3.2.2. VP-immunreaktive Kerngebiete im Geschlechtervergleich

Die statistische Auswertung der Graumulle im Geschlechtervergleich zeigt keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Vasopressinexpression.

Tabellen 32-36. Anzahl der vasopressinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten) im Geschlechtervergleich.

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	171	177	163	153	165	171	160	198	170	14
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	204	184	176	169	180	172			181	13
2-Stichproben-t-Test									p = 0.145578	

Tabelle 32. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), Vasopressin (VP)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	184	216	240	176	188	210	163	236	201	28
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	234	171	218	199	201	221			207	22
2-Stichproben-t-Test									p = 0.689798	

Tabelle 33. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SO_r), Vasopressin (VP)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	80	63	66	74	112	94	83	99	84	17
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	85	61	62	98	85	87			80	15
Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (U-Test)									p = 0.437500	

Tabelle 34. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SO_rch), Vasopressin (VP)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	78	43	63	58	43	59	60	60	58	11
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	39	68	75	63	41	64			58	15
2-Stichproben-t-Test									p = 0.962499	

Tabelle 35. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), Vasopressin (VP)

weiblich	C ₁	C ₄	C ₇	C ₉	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	1	1	2	3	7	3	1	6	3	2
männlich	C ₂	C ₃	C ₅	C ₆	C ₈	C ₁₀			X _{quer}	SD
MW	2	0	4	3	2	3			2	1
2-Stichproben-t-Test									p = 0.545868	

Tabelle 36. Ependymal gelegene Neuronen (E), Vasopressin (VP)

3.2.3. VP-immunreaktive Kerngebiete in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus der Tiere

Die Vasopressinexpression zeigt keinerlei Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus der Tiere, d.h. es bestehen zwischen reproduktiven und non-reproduktiven Tieren weder signifikante Unterschiede noch lassen sich Trends oder Tendenzen vermuten. Interessanterweise zeigen in der quantitativen Analyse selbst die trächtigen Weibchen gegenüber anderen Individuen keine Abweichung in der Expression von Vasopressin (Induktion oder Inhibition) auf.

Tabellen 37- 41. Anzahl der vasopressinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle (jeweils als arithmetisches Mittel beider Seiten) bezogen auf den Reproduktionsstatus. NR, Non-Reproduktiv; R, Reproduktiv.

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	163	180	172	165							170	8
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	171	204	184	177	176	169	153	171	160	198	176	16
2-Stichproben-t-Test											p= 0.465433	

Tabelle 37. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), Vasopressin (VP)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	240	201	221	188							213	23
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	184	234	171	216	218	199	176	210	163	236	201	26
2-Stichproben-t-Test											p = 0.447217	

Tabelle 38. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SOr), Vasopressin (VP)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	66	85	87	112							88	19
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	80	85	61	63	62	98	74	94	83	99	80	15
2-Stichproben-t-Test											p = 0.431887	

Tabelle 39. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SOrch), Vasopressin (VP)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	63	41	64	43							53	13
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	78	39	68	43	75	63	58	59	60	60	60	12
2-Stichproben-t-Test											p= 0.320622	

Tabelle 40. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), Vasopressin (VP)

R	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁							X _{quer}	SD
MW	2	2	3	7							4	2
NR	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₉	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	1	2	0	1	4	3	3	3	1	6	2	2
2-Stichproben-t-Test											p=0.357975	

Tabelle 41. Ependymal gelegene Neuronen (E), Vasopressin (VP)

3.2.4. VP-immunreaktive Kerngebiete im Altersvergleich

In den verschiedenen Alters- bzw. Entwicklungsstufen der Graumulle lassen sich hinsichtlich der Vasopressin-Produktion (Zellzahl) keine signifikanten Unterschiede feststellen.

Tabellen 42-46. Anzahl der vasopressinergen Neuronen in hypothalamischen Kerngebieten der Graumulle im Altersvergleich. 1, adult; 2, subadult; 3, juvenil.

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	204	169	163	180	172	165	198	179	16
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	171	184	177	171				176	6
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	176	153	160					163	12
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.940093	
	1 vs. 3							p = 0.278227	
	2 vs. 3							p = 0.484714	

Tabelle 42. Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa), Vasopressin (VP)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	234	199	240	201	221	188	236	217	21
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	184	171	216	210				195	21
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	218	176	163					186	29
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.344456	
	1 vs. 3							p = 0.179814	
	2 vs. 3							p = 0.859284	

Tabelle 43. Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SOr), Vasopressin (VP)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	85	98	66	85	87	112	99	90	15
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	80	61	63	94				75	16
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	62	74	83					73	11
Varianzanalyse	1 vs. 2							p= 0.249688	
	1 vs. 3							p= 0.253009	
	2 vs. 3							p= 0.990457	

Tabelle 44. Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil (SO_{rch}), Vasopressin (VP)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	39	63	63	41	64	43	60	60	12
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	78	68	43	59				62	15
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	75	58	60					64	9
Varianzanalyse	1 vs. 2							p = 0.542607	
	1 vs. 3							p = 0.450765	
	2 vs. 3							p = 0.969345	

Tabelle 45. Akzessorische neurosekretorische Neuronen (ACC), Vasopressin (VP)

1) adult	C ₂	C ₆	C ₇	C ₈	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₄	X _{quer}	SD
MW	2	3	2	2	3	7	6	4	2
2) subadult	C ₁	C ₃	C ₄	C ₁₂				X _{quer}	SD
MW	1	0	1	3				1	1
3) juvenil	C ₅	C ₉	C ₁₃					X _{quer}	SD
MW	4	3	1					3	2
Kruskal-Wallis-Test	1 vs. 2							p= 0.159728	
	1 vs. 3							p= 0.406756	
	2 vs. 3							p= 0.732972	

Tabelle 46. Ependymal gelegene Neuronen (E), Vasopressin (VP)

4. Qualitative, semiquantitative und topographische Unterschiede zwischen Ratte und Graumull

Der Vergleich von Ratte und Graumull im Hinblick auf die Neuropeptide Oxytocin und Vasopressin und die sie exprimierenden Neuronen wird durch folgende Gegebenheiten kompliziert: Neben der unterschiedlichen Körpergröße von Ratte und Graumull (für Hirn- und Körpergewichte s. Material und Methoden) wurden bei den Ratten R₁-R₄ statt jeweils 6 Kompartments pro Transmitter wie bei den Graumullen teilweise nur 6 Kompartments untersucht (R₁, R₂: 3 Kompartments, R₃: 6 Kompartments, R₄: 4 Kompartments). Daher ist pro Ratte überwiegend nicht dieselbe Menge an Schnitten pro Gehirn ausgewertet worden wie bei den Graumullen. Somit ist die Vergleichbarkeit der Daten von Graumull und Ratte, aber auch innerhalb der Ratten eingeschränkt. Aussagen über mögliche Unterschiede zwischen Ratten und Graumullen haben somit eher qualitativen bis semiquantitativen Charakter und erfassen lediglich sehr deutliche Abweichungen, was unserem Skeptizismus hinsichtlich solchen Daten aber entgegenkommt.

Bei der Gegenüberstellung Ratte/Graumull waren folgende Abweichungen nicht allein mit Größenunterschieden oder zu geringen Mengen an auswertbarem Material zu erklären: Bei der Ratte befindet sich rostral des Nucleus paraventricularis hypothalami und medial des Fornix der Nucleus commissuralis anterior (CoA), der in unseren immunhistochemischen Schnitten beinahe ausschließlich OX exprimierte. Der Graumull hingegen weist keine rostrale, vom Nucleus paraventricularis hypothalami abgesetzte oxytocinerge Neuronenpopulation auf [s. Abb. 49: OX-ir]. Dabei liefert uns das Tiermodell Ratte neben diesem Befund auch ein für seine Interpretation wichtiges Argument: Der von uns verwendete OX- Antikörper erweist sich im Vergleich unserer Daten mit jenen der Literatur als spezifisch. In benachbarten Schnitten, die mit Anti-Vasopressin markiert wurden, finden sich pro Ratte nur ca. 1-4 immunreaktive VP-Neuronen. Damit wird die Annahme bestätigt, daß der Vasopressin-Antikörper keine Kreuzreaktion mit dem Antigen Oxytocin zeigt und der Oxytocin-Antikörper die Neuronen im CoA spezifisch markiert. Ein weiterer deutlich erkennbarer Unterschied zwischen Ratte und Graumull zeigt sich in den OX-immunreaktiven Neuronen der akzessorischen magnozellularären Neuronenpopulation (ACC) (vgl.

Tabellen 47, 48). So exprimiert die Ratte in diesen Regionen (verglichen mit dem Graumull) ein Vielfaches an oxytocinergen Neuronen (Faktor 7-10). Bei beiden Spezies sind die oxytocinergen akzessorischen magnozellularen Neuronen auf den Nucleus striae terminalis (BNST), die rostrale und kaudale perforatorische Gruppe, die Areae praeopticae medialis et lateralis (MPA, LPO) sowie auf die Area hypothalamica lateralis (LH) verteilt.

Bei der *Ratte* entfällt die Mehrheit der oxytocinergen akzessorischen Neuronen auf die LH. Obwohl bei den Individuen R₁ und R₂ nur jeder 6. Schnitt auf den jeweiligen Transmitter hin inkubiert wurde (drei Kompartments pro Transmitter), fanden sich pro Seite im arithmetischen Mittel in der LH von Tier R₁ ca. 82 und bei Tier R₂ ca. 40 OX-ir Neuronen. Bei dem Tier R₃ wurde wie bei sämtlichen Graumullen jeder 3. Schnitt mit dem jeweiligen Transmitter inkubiert (sechs Kompartments pro Transmitter). In der lateralen hypothalamischen Region wurden bei diesem Tier pro Seite durchschnittlich ca. 158 OX-ir Neuronen gezählt. Das Tier R₄, bei welchem zahlenmäßig $\frac{2}{3}$ der Kompartments von R₃ mit Anti-Oxytocin reagiert wurden (vier Kompartments pro Transmitter), weist im Durchschnitt 118 OX-ir Neuronen pro Seite auf (diese Werte sind reine Nettozahlen, wurden also nicht hochgerechnet, vgl. Tabelle 48). Dagegen entfallen beim *Graumull* nur etwa 7-10 OX-ir Neuronen auf die Area hypothalamica lateralis (LH). Trotz der oben erwähnten strukturellen Schwierigkeiten (d.h. unterschiedliche Menge an inkubierten Schnitten pro Tier) spricht eine solche Abweichung dafür, daß Ratte und Graumull in der Zahl der OX-exprimierenden Neuronen der akzessorischen neurosekretorischen Gruppe (ACC), insbesondere aber der LH deutlich voneinander abweichen. Eine sehr interessante Entdeckung im interspezifischen Vergleich wurde bereits im Abschnitt 2.2.6. erwähnt. Unsere Experimente ergaben bei sämtlichen Graumullen ein ungewöhnliches OX-Labeling in der Region des Mamillarkörperkomplexes, genauer gesagt im Nucleus caudalis magnocellularis und im Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis. Dieses Labeling konnte nur im Corpus mamillare des Graumulls und exklusiv für den Transmitter Oxytocin nachgewiesen werden. In den mamillären magnozellularen Neuronenpopulationen des Rattengehirns ergab sich weder für Oxytocin noch für Vasopressin eine spezifische Immunreaktion.

Tier	Oxytocin							Vasopressin						
	Pa	SO _r	SO _{rch}	ACC	CoA	E	Σ	Pa	SO _r	SO _{rch}	ACC	CoA	E	Σ
R1	184	143	58	118	87	45	635	62	95	67	33	2	0	259
R2	103	162	25	109	72	20	491	43	93	61	40	0	0	237
R3	239	227	104	272	145	38	1025	98	182	170	79	1	3	533
R4	157	89	48	179	91	17	581	139	155	96	70	0	1	461
R1*	368	286	116	236	174	90	1270	124	190	134	66	4	0	518
R2*	206	324	50	218	144	40	982	86	186	122	80	0	0	474
R3*	239	227	104	272	145	38	1025	98	182	170	79	1	3	533
R4*	236	136	72	268	137	26	872	209	233	144	105	0	2	692

Tabelle 47. Übersicht der Anzahl markierter Neuronen pro Hirnhälfte von 4 Schnittserien der Ratte. Obere Hälfte: Es ist zu beachten, daß bei den Tieren R1-4 für die Auswertung eine unterschiedliche Anzahl an Hirnschnitten (Kompartments) zur Verfügung stand. *In der unteren Hälfte der Tabelle wurde eine Hochrechnung der immunreaktiven Neuronen (pro Hirnhälfte) auf imaginäre 6 Kompartments eines jeden Tieres vorgenommen (R1: x2, R2: x2, R3: x1, R4: x1.5), um die Summe der transmitter-exprimierenden Zellen mit denen des Graumulls annähernd vergleichen zu können. Eine Hochrechnung der ir-Neuronen (pro Hirnhälfte) für ein komplettes Gehirn (=18 Kompartments) wurde aufgrund der zu geringen Anzahl an Kompartments nicht durchgeführt.

Tier	Fam	Sex	Status	Alter	Oxytocin							Vasopressin						
					Pa	SO _r	SO _{rch}	ACC	E	Σ	Ges	Pa	SO _r	SO _{rch}	ACC	E	Σ	Ges
C ₁	1	♀	NR	SA	171	166	47	43	5	432	1296	171	184	80	78	1	514	1542
C ₂	2	♂	NR	A	188	135	18	24	4	369	1107	204	234	85	39	2	564	1692
C ₃	2	♂	NR	SA	199	161	16	28	3	407	1221	184	171	61	68	0	484	1452
C ₄	2	♀	NR	SA	203	158	12	22	3	398	1194	177	216	63	43	1	500	1500
C ₅	2	♂	NR	J	177	140	30	18	3	368	1104	176	218	62	75	4	535	1605
C ₆	2	♂	NR	A	202	199	29	27	6	463	1389	169	199	98	63	3	532	1596
C ₇	2	♀	R	A	200	234	16	22	3	475	1425	163	240	66	63	2	534	1602
C ₈	2	♂	R	A	209	203	17	23	4	456	1368	180	201	85	41	2	509	1527
C ₉	3	♀	NR	J	164	126	29	33	2	354	1062	153	176	74	58	3	464	1392
C ₁₀	3	♂	R	A	173	127	26	24	7	357	1071	172	221	87	64	3	547	1641
C ₁₁	3	♀	R	A	195	138	46	22	21	422	1266	165	188	112	43	7	515	1545
C ₁₂	3	♀	NR	SA	193	167	42	25	1	428	1284	171	210	94	59	3	537	1611
C ₁₃	3	♀	NR	J	179	126	24	28	6	363	1089	160	163	83	60	1	467	1401
C ₁₄	3	♀	NR	A	194	151	61	23	8	437	1311	198	236	99	60	6	599	1797
∅					189	159	30	26	5	409	1227	175	204	82	58	3	522	1565

Tabelle 48: Übersicht über die untersuchten Graumulle, die analysierten Hirnareale sowie die Zahl der hier lokalisierten oxytocin- und vasopressinergen Neuronen pro Hirnhälfte. In dieser Analyse entspricht die ermittelte Zahl der Neuronen nur etwa einem Drittel der absoluten Neuronenzahl pro Hirnhälfte; nur jeder dritte Schnitt wurde mit den betreffenden Antikörpern gegen OX und VP inkubiert (s. S.52). ♀, weiblich; ♂, männlich; ∅, Mittelwerte der Neuronenzahlen der untersuchten Nuclei; Σ, Summe der immunreaktiven Neuronen pro Hirnhälfte aus 6 Kompartments; das entspricht bei insgesamt 18 Kompartments pro Gehirn etwa einem Drittel der absoluten Neuronenzahl; A, adult; ACC, akzessorische neurosekretorische magnozelluläre Neuronen; E, ependymale Neuronen; Fam, Familie; Ges, hoch gerechnete Neuronenzahl für eine Hirnhälfte; J, juvenil; NR, non-reproduktiv; Pa, Nucleus paraventricularis hypothalami; R, reproduktiv; SA, subadult; SO_r, Nucleus supraopticus, rostraler Teil; SO_{rch}, Nucleus supraopticus, retrochiasmatischer Teil.

5. Photographische Dokumentation der Originalbefunde

- 5.1. Ratte (*Sprague-Dawley*): Kresylviolett-Routineschnitte und OX-Immunhistochemie (Abb. 17-40).
- 5.2. Graumull (*Cryptomys anelli*): Kresylviolett-Routineschnitte und OX-Immunhistochemie (Abb. 41-65).
- 5.3. Ratte (*Sprague-Dawley*): VP-Immunhistochemie (Abb. 66-80).
- 5.4. Graumull (*Cryptomys anelli*): VP-Immunhistochemie (Abb. 81-94).

Abkürzungen der im Atlas dargestellten Hirnstrukturen:

3V	dritter Ventrikel
AHA	Area hypothalamica anterior
APit	Adenohypophyse
Arc	Nucleus arcuatus
BNST	Nucleus striae terminalis
CMC	Nucleus caudalis magnocellularis
Circ	Nucleus circularis
CoA	Nucleus commissuralis anterior
cp	Pedunculus cerebri
D3V	dritter Ventrikel, dorsaler Teil
E	ependymal gelegene Neuronen
f	Fornix
GT	Ganglion trigeminale
ic	Capsula interna
LH	Area hypothalamica lateralis
LM	Nucleus mamillaris lateralis
LPO	Area praeoptica lateralis
LV	Seitenventrikel
ME	Eminentia mediana
mfb	mediales Vorderhirnbündel
ML	Nucleus mamillaris medialis, pars lateralis
ml	Lemniscus medialis
MM	Nucleus mamillaris medialis, pars medialis
MMn	Nucleus mamillaris medialis, pars mediana
MMp	Nucleus mamillaris medialis, pars posterior
mp	Pedunculus mamillaris
MPA	Area praeoptica medialis
MPO	Nucleus praeopticus medialis
MRe	Recessus mamillaris, 3V
mt	Tractus mamillothalamicus
mtg	Tractus mamillo tegmentalis
opt	Tractus opticus
ox	Chiasma opticum
Pa	Nucleus paraventricularis hypothalami
PCMC	Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis
PHA	Area hypothalamica posterior
PaDC	Nucleus paraventricularis, dorsale Kappe
PaLM	Nucleus paraventricularis, pars lateralis magnocellularis
PaMM	Nucleus paraventricularis, pars medialis magnocellularis
PaMP	Nucleus paraventricularis, pars medialis parvocellularis
PaPo	Nucleus paraventricularis, pars posterior
PaV	Nucleus paraventricularis, pars ventralis
PeM	Nucleus <i>periventricularis</i> magnocellularis
PF	Nucleus parafascicularis thalami
Pit	Hypophyse
pm	Tractus mamillaris principalis
PPit	Neurohypophyse
PVA	Nucleus paraventricularis thalami
Rt	Nucleus reticularis thalami
SCh	Nucleus suprachiasmaticus
scp	Pedunculus cerebellaris superior
sm	Stria medullaris
SN	Substantia nigra
SOr	Nucleus supraopticus, pars rostralis
SOrch	Nucleus supraopticus, pars retrochiasmatica
st	Stria terminalis
SuM	Nucleus supramamillaris
sumx	Decussatio supramamillaris
VMH	Nucleus ventromedialis hypothalami
Zi	Zona incerta

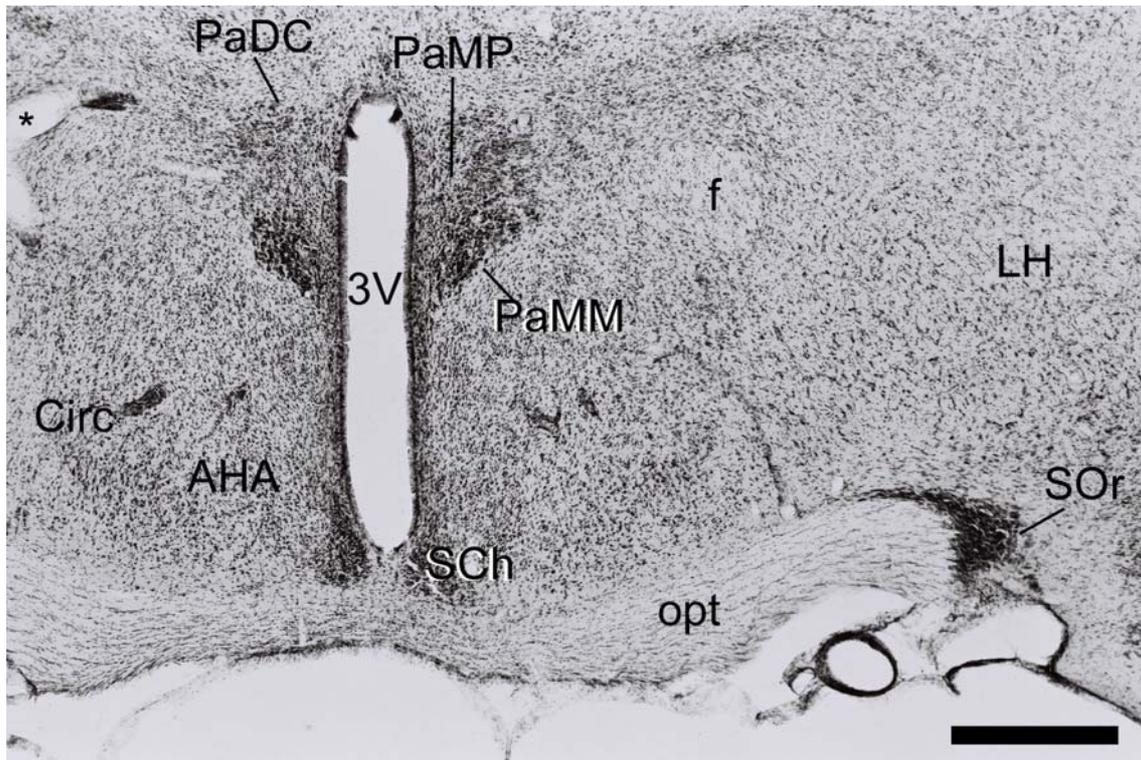


Abb. 17. Koronalschnitt durch den mittleren Hypothalamus der Ratte mit dem Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) als didaktisches Zentrum für die gesamte Region. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

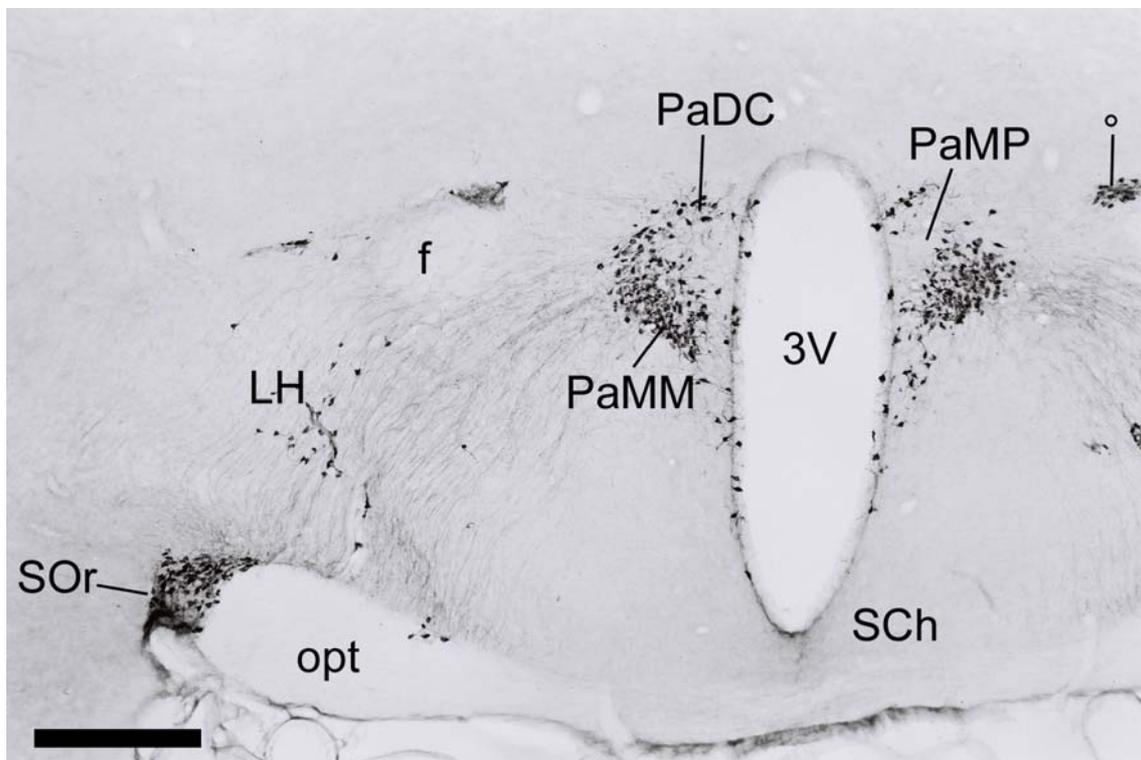


Abb. 18. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte. OX-Immunhistochemie. °, rostraler perifornikaler Nucleus. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

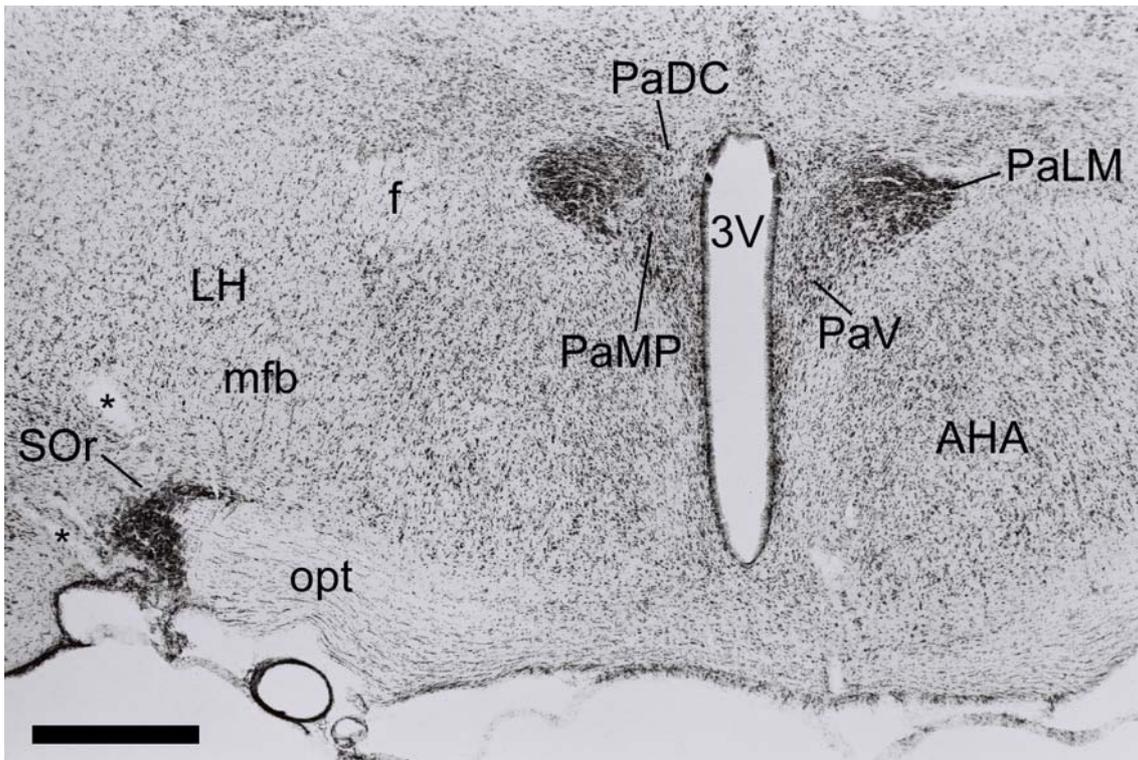


Abb. 19. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

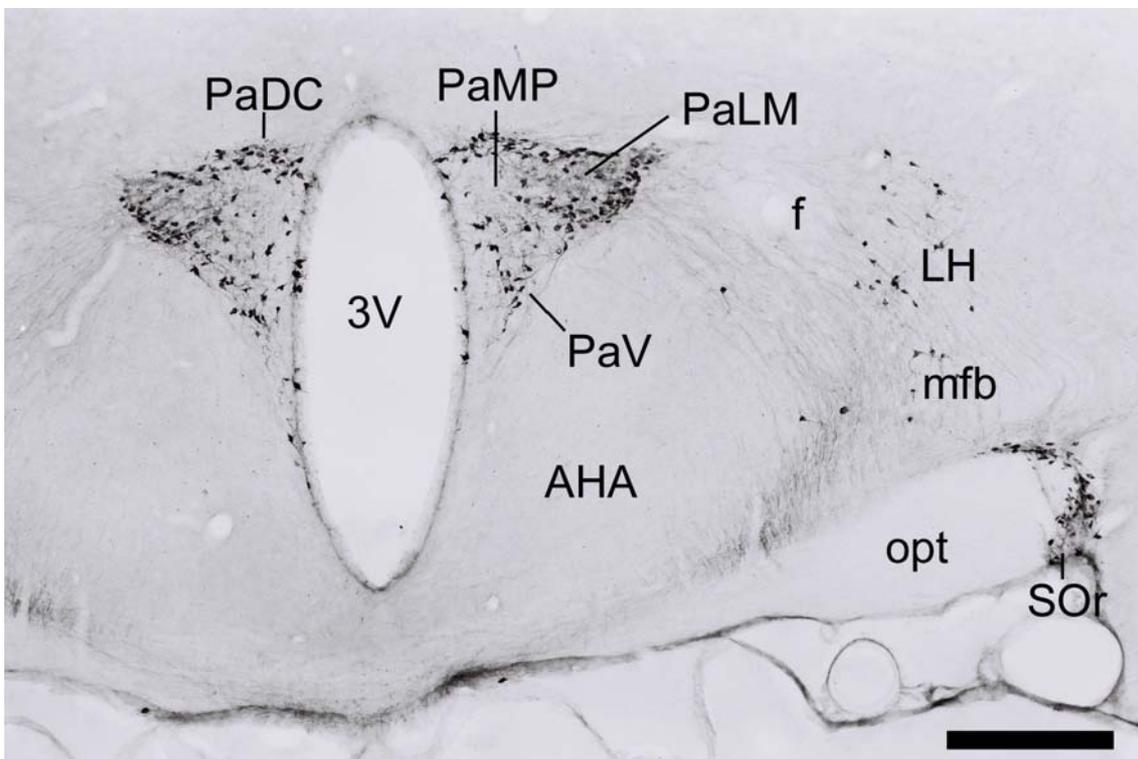


Abb. 20. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte. OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

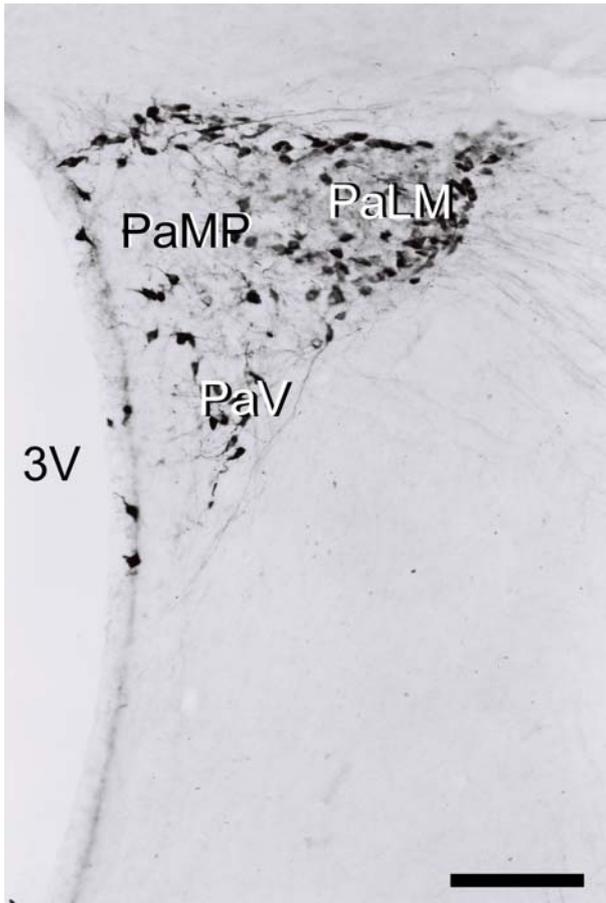


Abb. 21.
Koronschnitt durch den Nucleus pa-
raventricularis hypothalami (Pa) der
Ratte. OX-Immunhistochemie. Detail von
Abb. 20. Vergrößerung 100x. Maßstab:
200 µm.

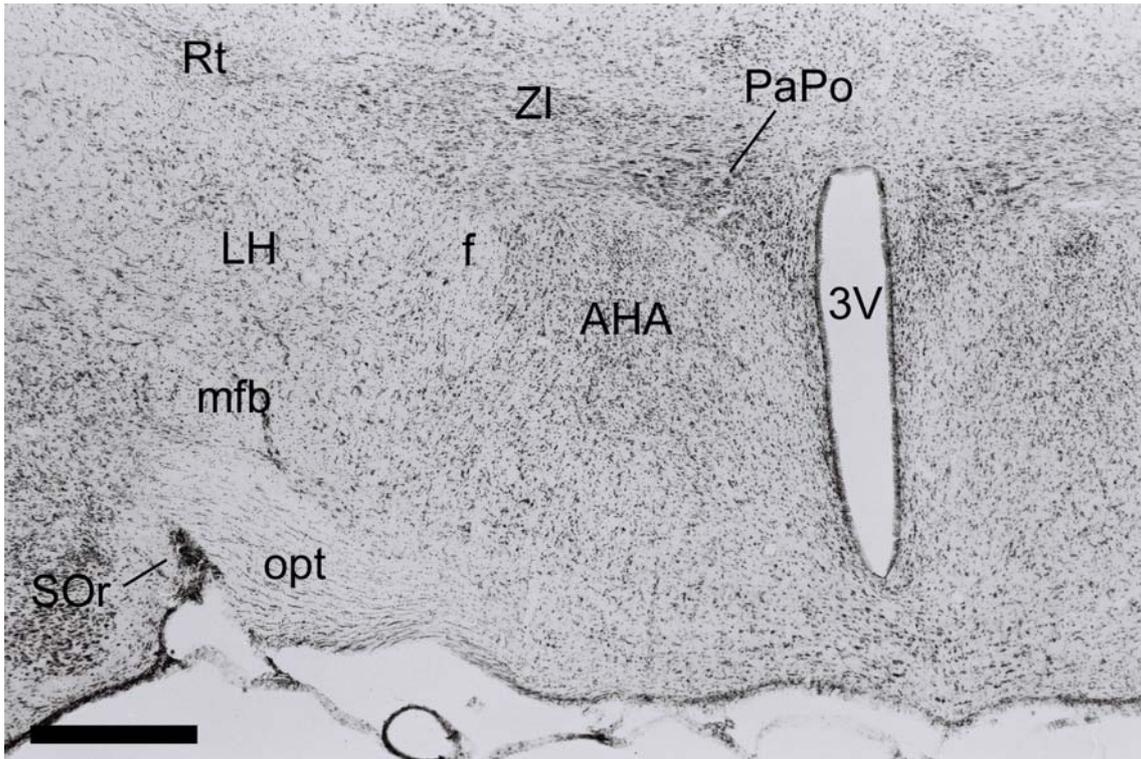


Abb. 22. Koronalschnitt durch den kaudalen Anteil des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaPo) der Ratte. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

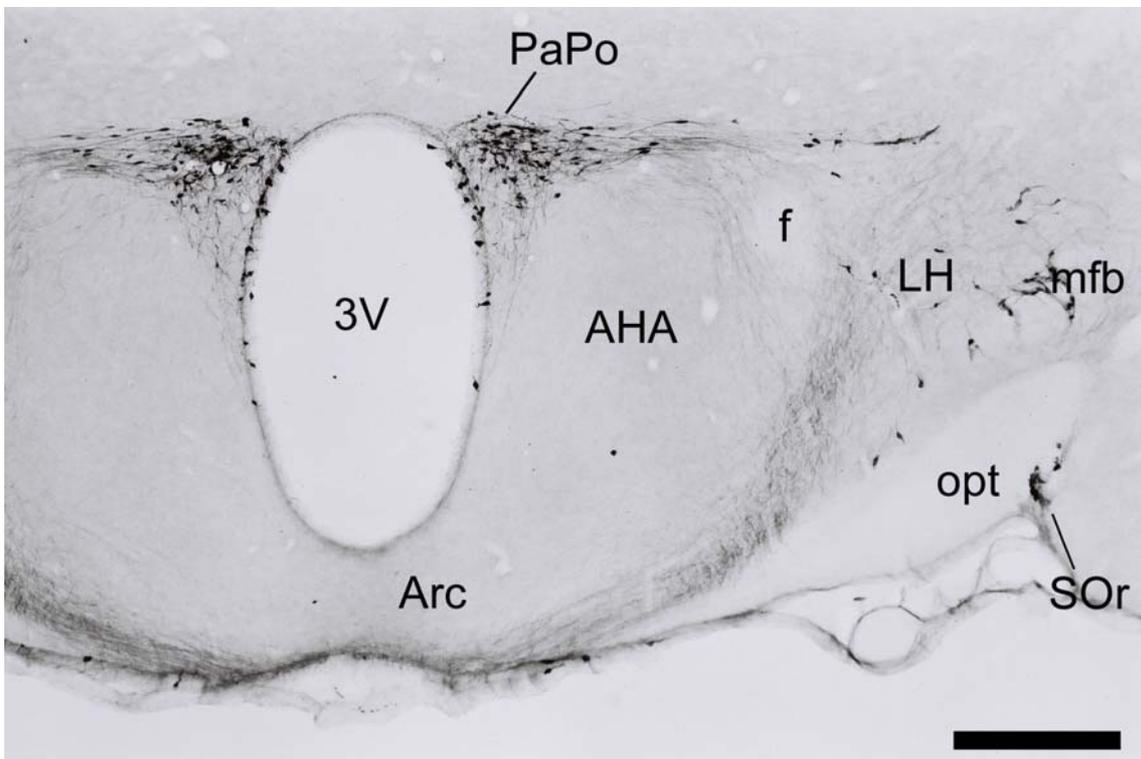


Abb. 23. Koronalschnitt durch den kaudalen Anteil des Nucleus paraventricularis hypothalami der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

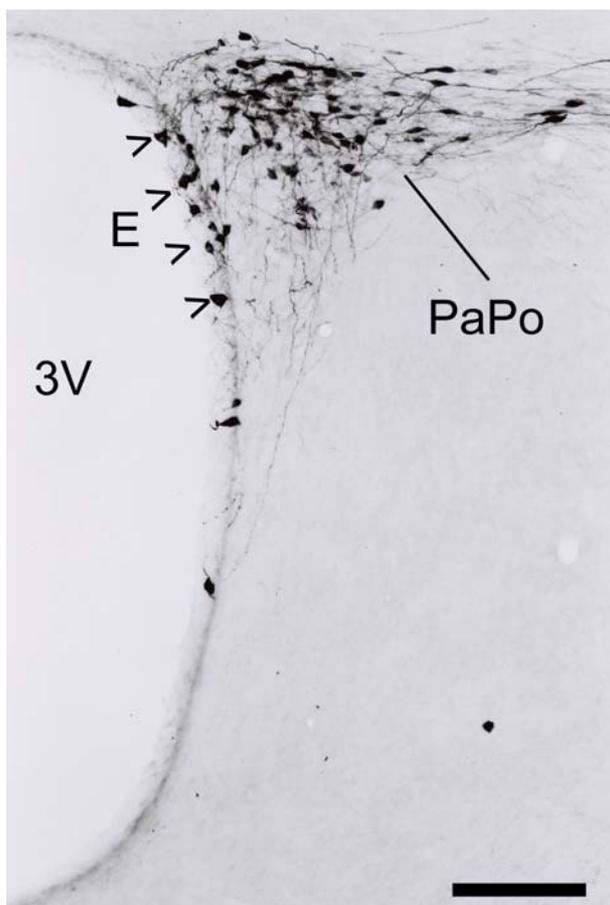


Abb. 24. Koronalschnitt durch den kaudalen Anteil des Nucleus paraventricularis hypothalami der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 23. E, ependymal gelegene Neuronen; Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μm .

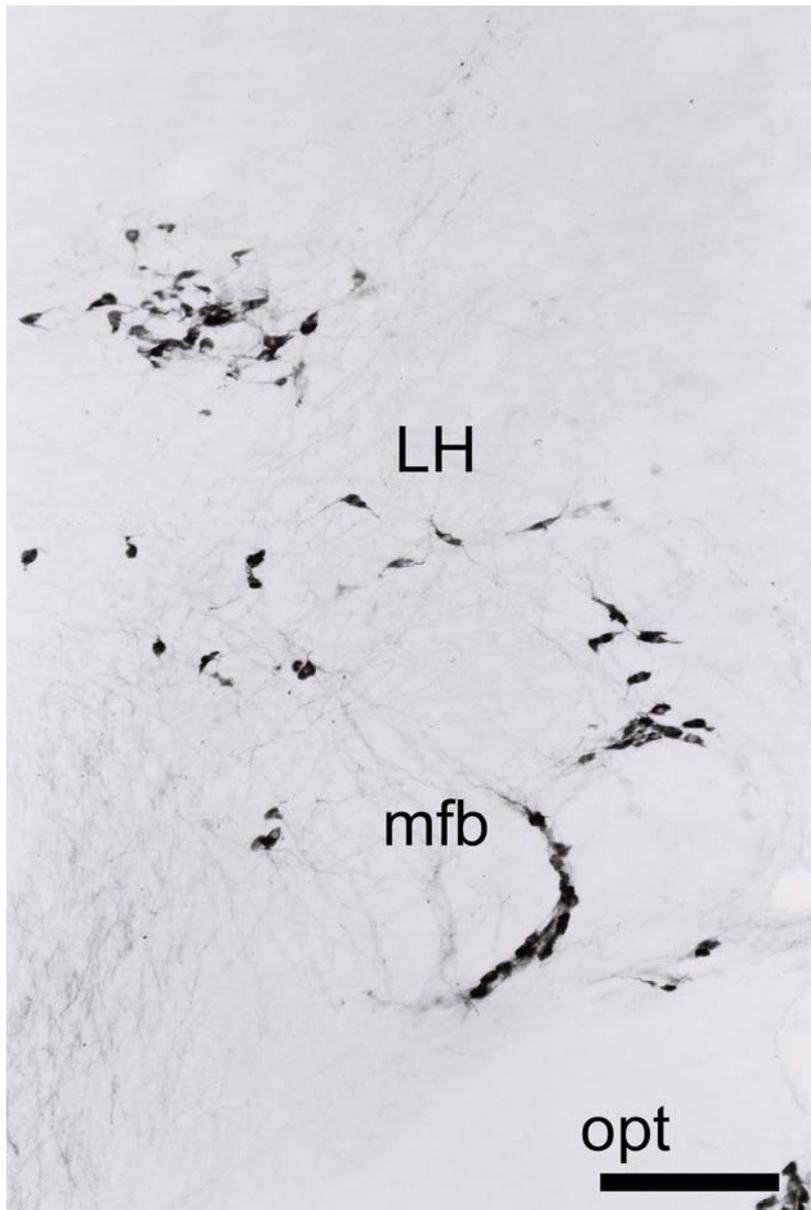


Abb. 25. Koronarschnitt durch den lateralen Hypothalamus der Ratte.

Oxytocin- Immunhistochemie. Die Abbildung zeigt OX-ir Neuronen im lateralen Hypothalamus auf Höhe des medialen Vorderhirnbündels (mfb). PETERSON (1966) bezeichnet diese OX-Neuronen als Nucleus des medialen Vorderhirnbündels.

Vergrößerung 100x.
Maßstab: 200 µm.

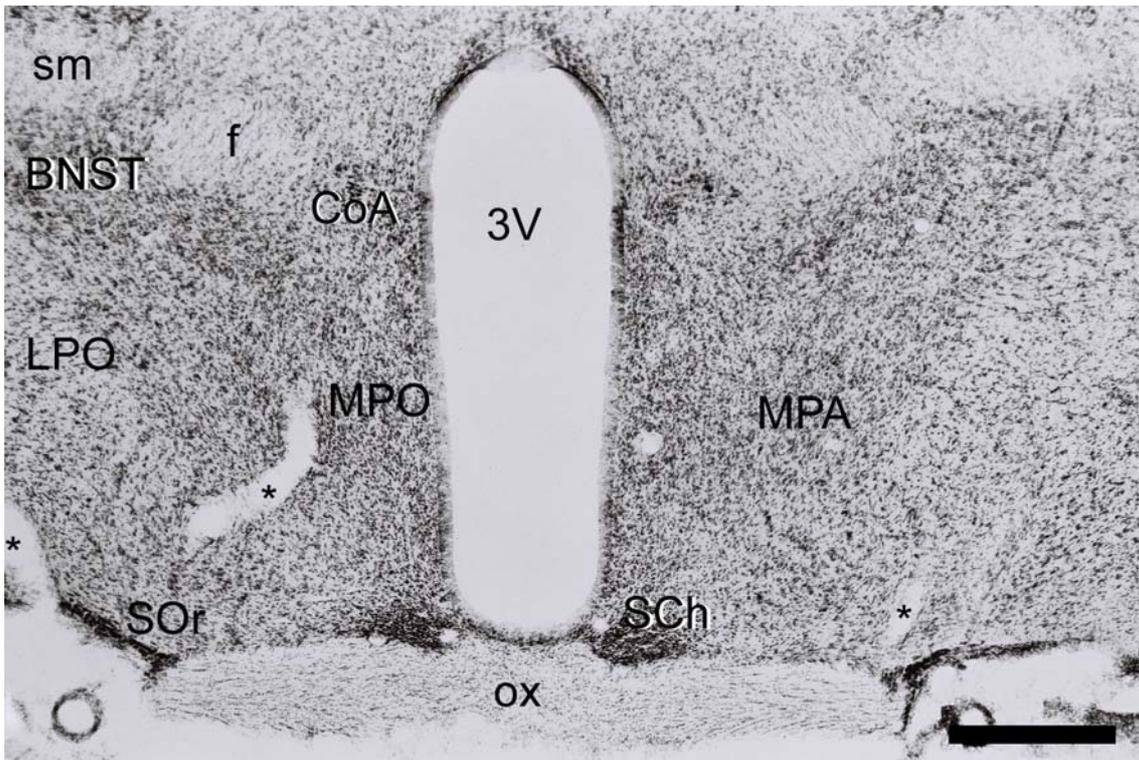


Abb. 26. Koronalschnitt durch den vorderen Abschnitt des Hypothalamus mit dem Nucleus commissuralis anterior (CoA) der Ratte. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 μ m. *, Gefäßanschnitte.

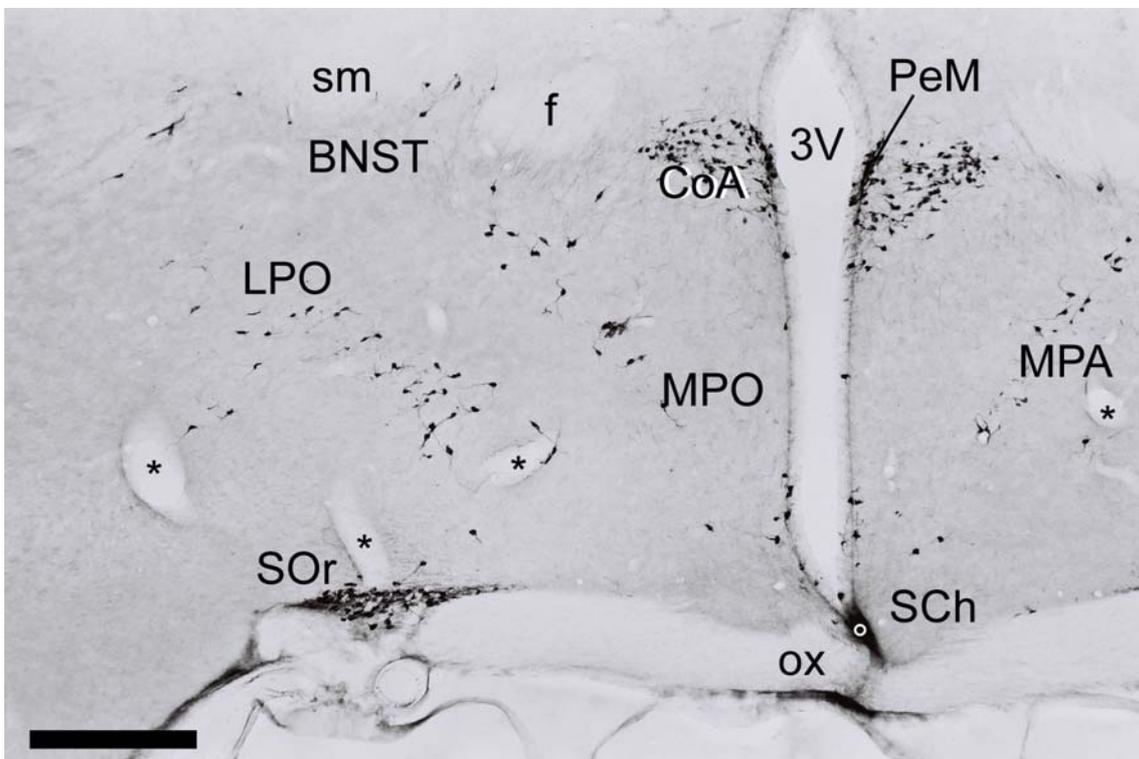


Abb. 27. Koronalschnitt durch den Nucleus commissuralis anterior (CoA) der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. °, Überlagerungsartefakt. Maßstab: 500 μ m.

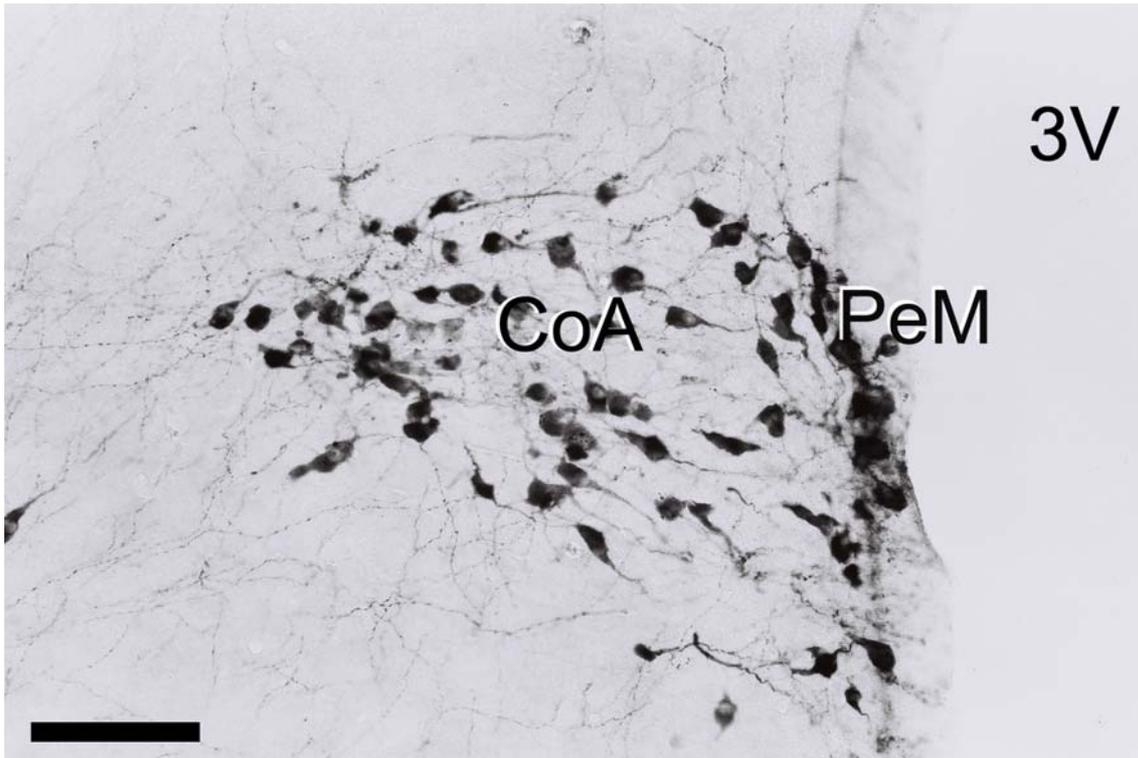


Abb. 28. Koronarschnitt durch den Nucleus commissuralis anterior (CoA) der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 27. Vergrößerung 200x. Maßstab: 100 µm.

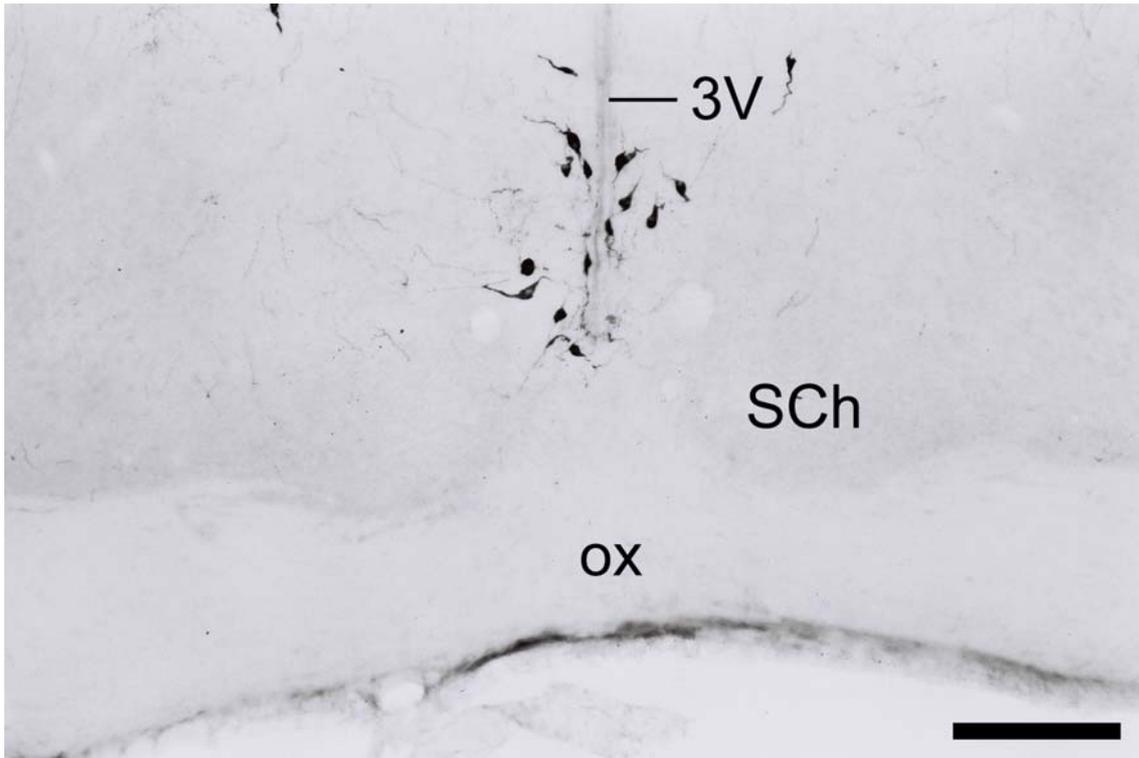


Abb. 29. Koronalschnitt durch den Nucleus suprachiasmaticus der Ratte. OX-Immunhistochemie. ox= Chiasma opticum, OX= Oxytocin. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

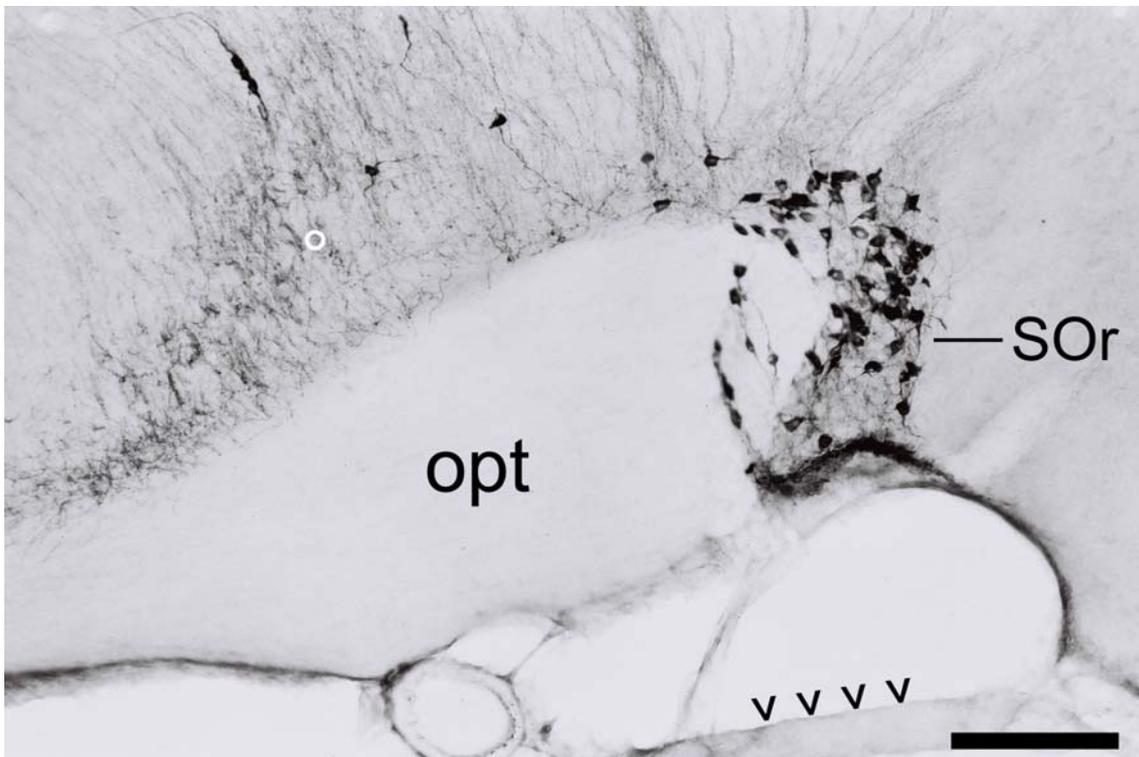


Abb. 30. Koronalschnitt durch den Nucleus supraopticus der Ratte, rostraler Teil. OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 100x. ^ ^ ^, Hirnhäute; °, OX-ir Fasern. Maßstab: 200 µm.

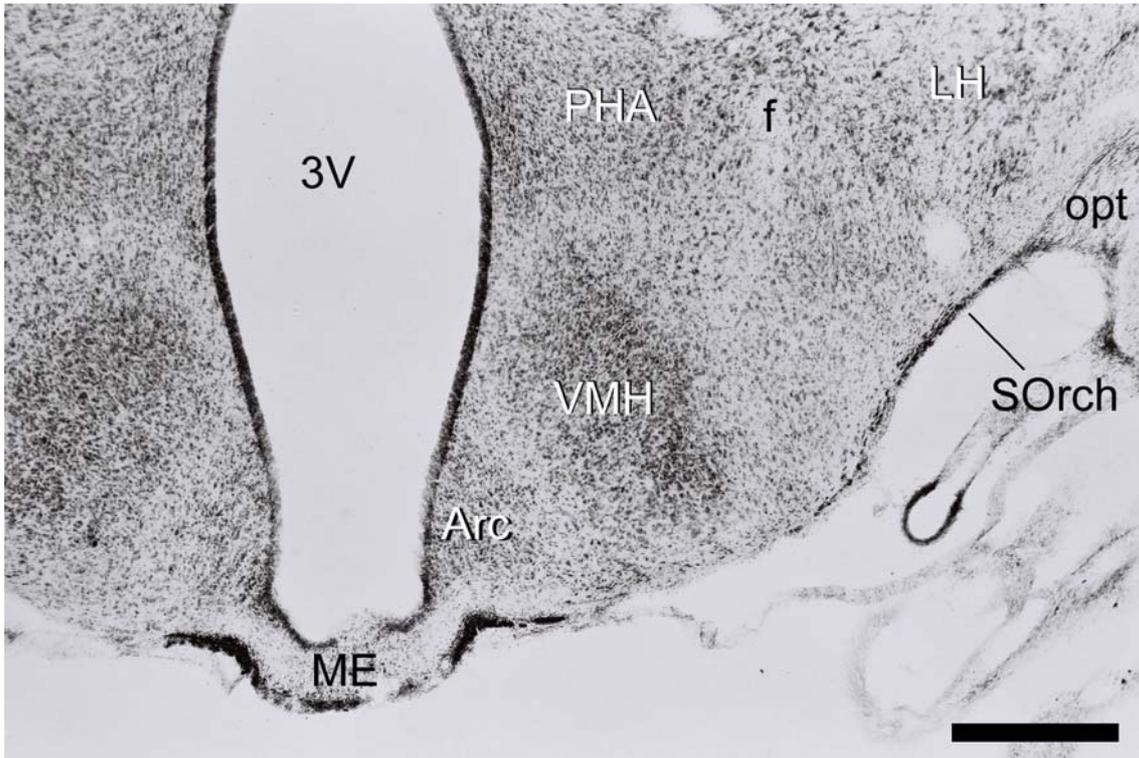


Abb. 31. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus der Ratte. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

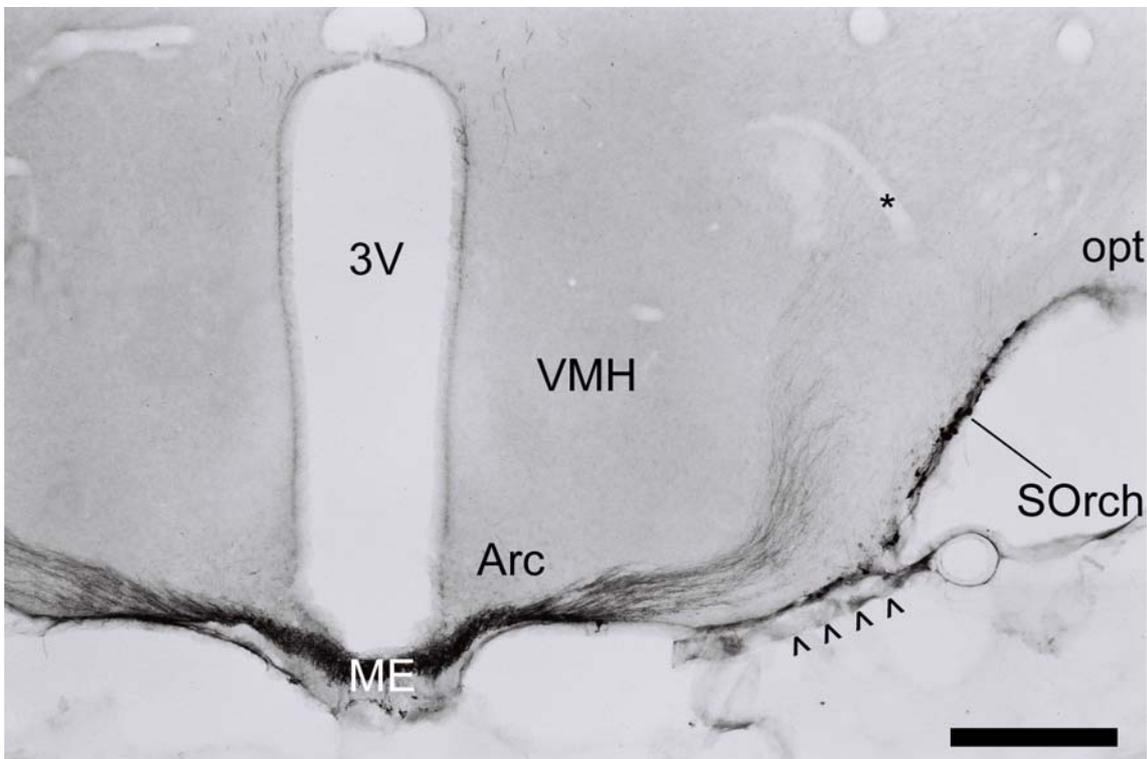


Abb. 32. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm. ^^ ^^, Hirnhäute.

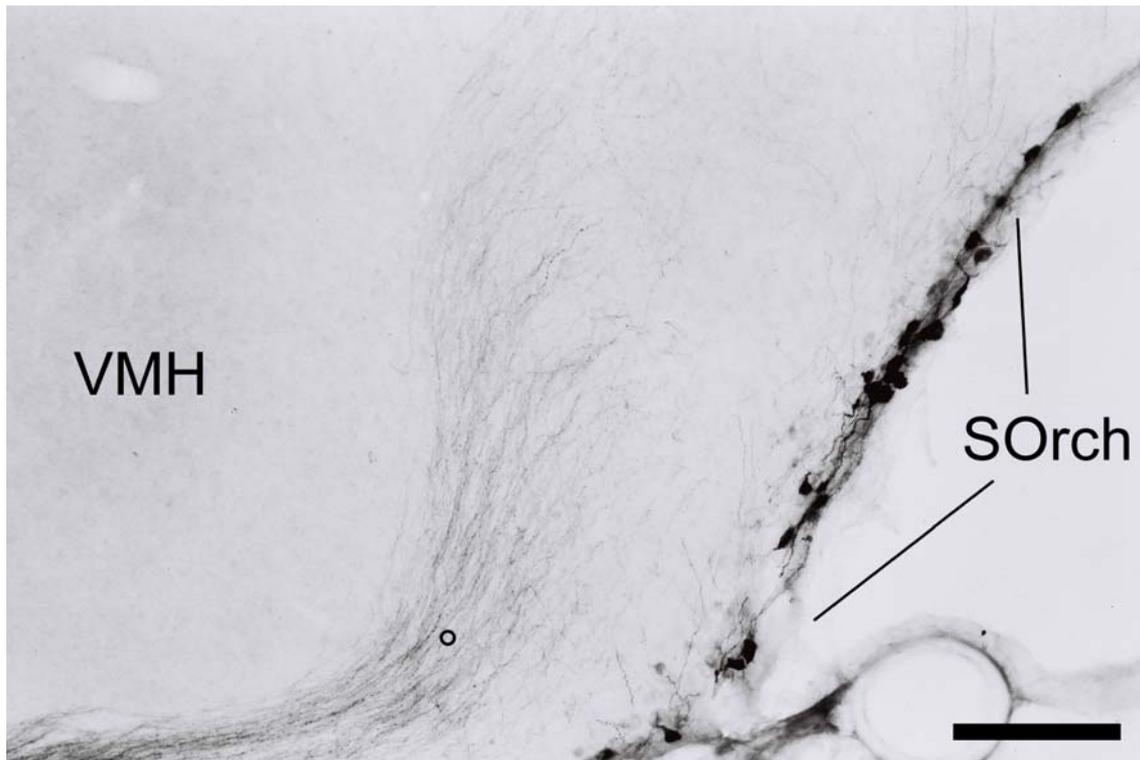


Abb. 33. Koronarschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 32. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μm . °, OX-ir Fasern.

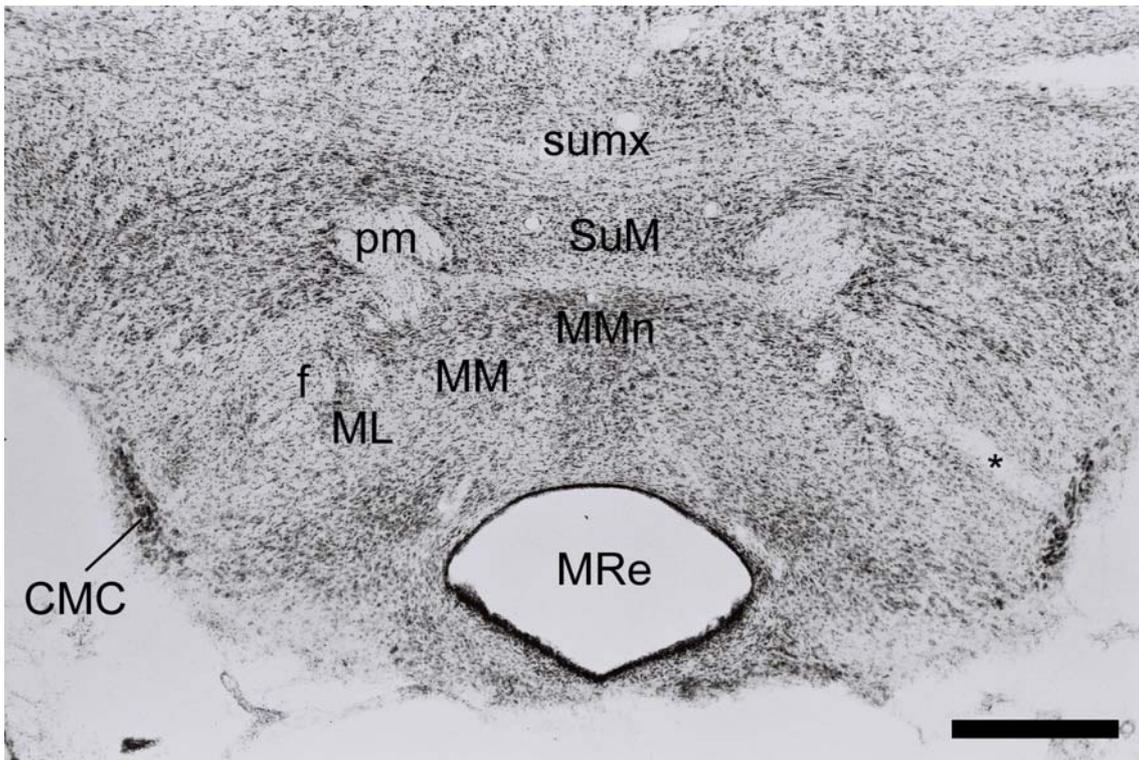


Abb. 34. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Mamillarkörpers der Ratte. Nissl-Färbung. *, Gefäßanschnitte. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

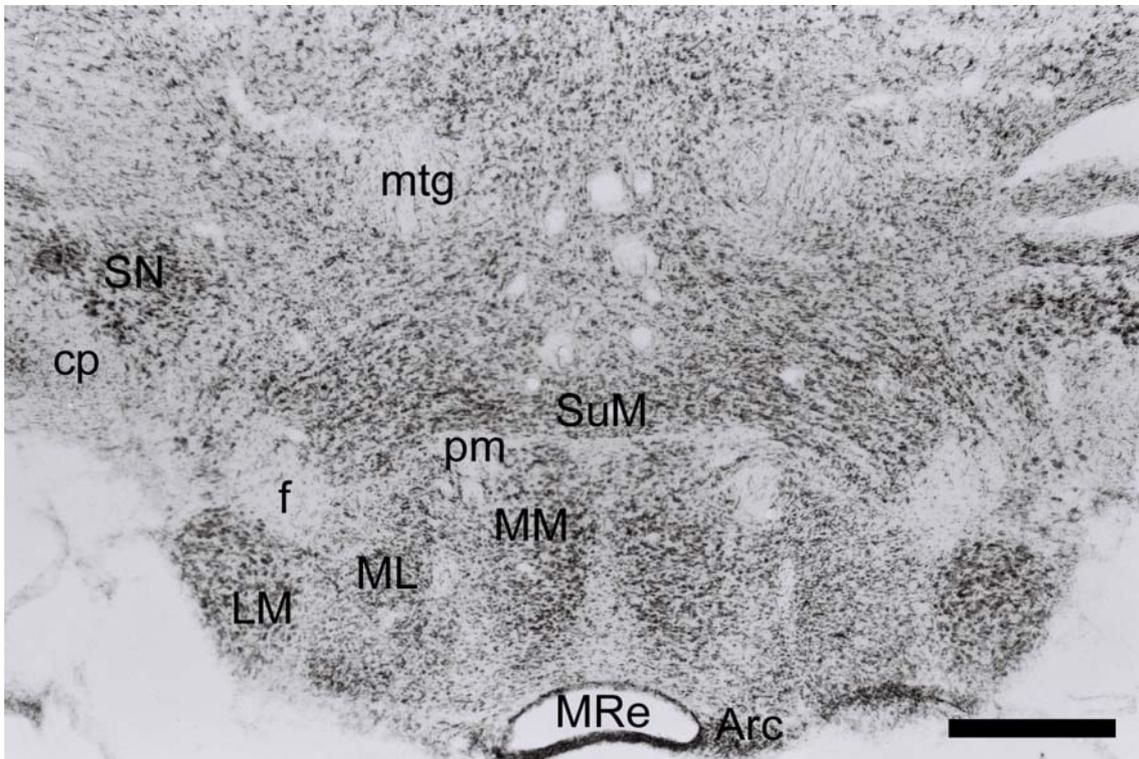


Abb. 35. Koronalschnitt durch den mittleren Teil des Mamillarkörpers der Ratte. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

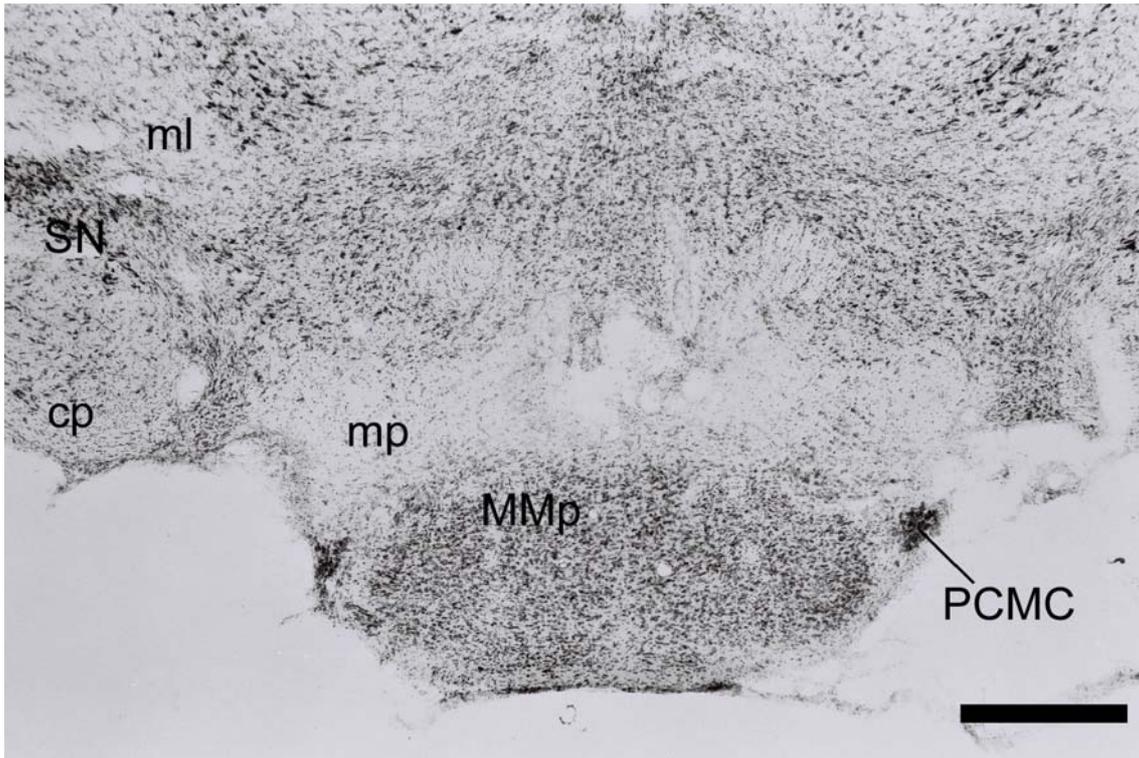


Abb. 36. Koronalschnitt durch den kaudalen Teil des Mamillarkörpers der Ratte. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

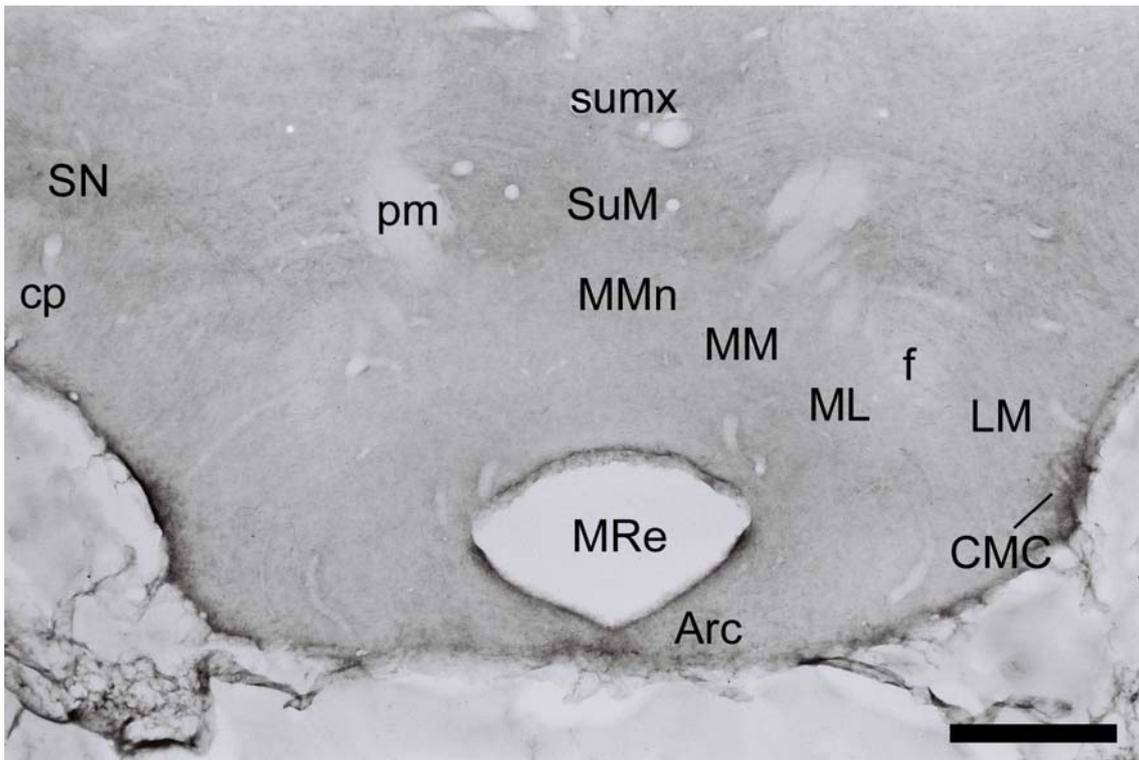


Abb. 37. Koronalschnitt durch den rostralen Mamillarkörper der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

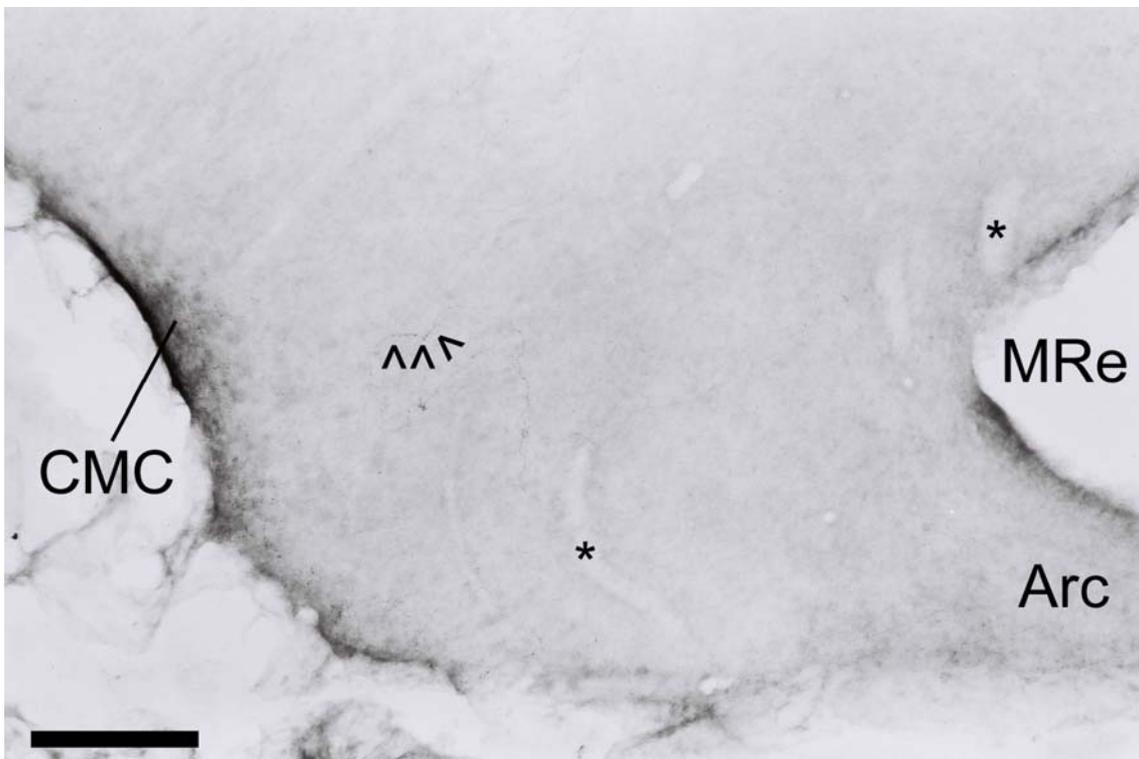


Abb. 38. Koronalschnitt durch den rostralen Mamillarkörper der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Detail der linken Seite von Abb. 37. *, Gefäßanschnitte; ^^^, OX-ir Fasern. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.



Abb. 39. Koronalschnitt durch den rostralen Mamillarkörper der Ratte. Oxytocin-Immunhistochemie. Detail der rechten Seite von Abb. 37. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.



Abb. 40. Koronalschnitt durch den linken rostralen Teil des Mamillarkörpers der Ratte (anderes Tier). Oxytocin-Immunhistochemie. *, Gefäßanschnitte; ^^, OX-ir Fasern. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

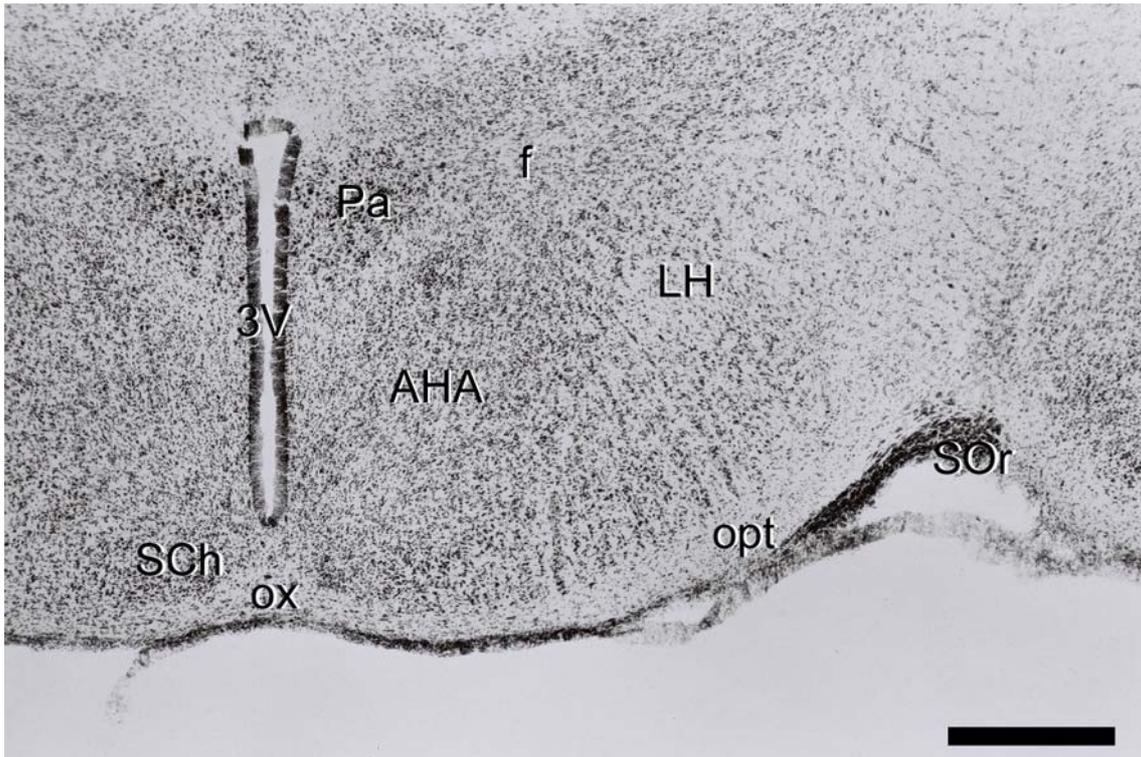


Abb. 41. Koronalschnitt durch den rostralen Abschnitt des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) beim Graumull. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

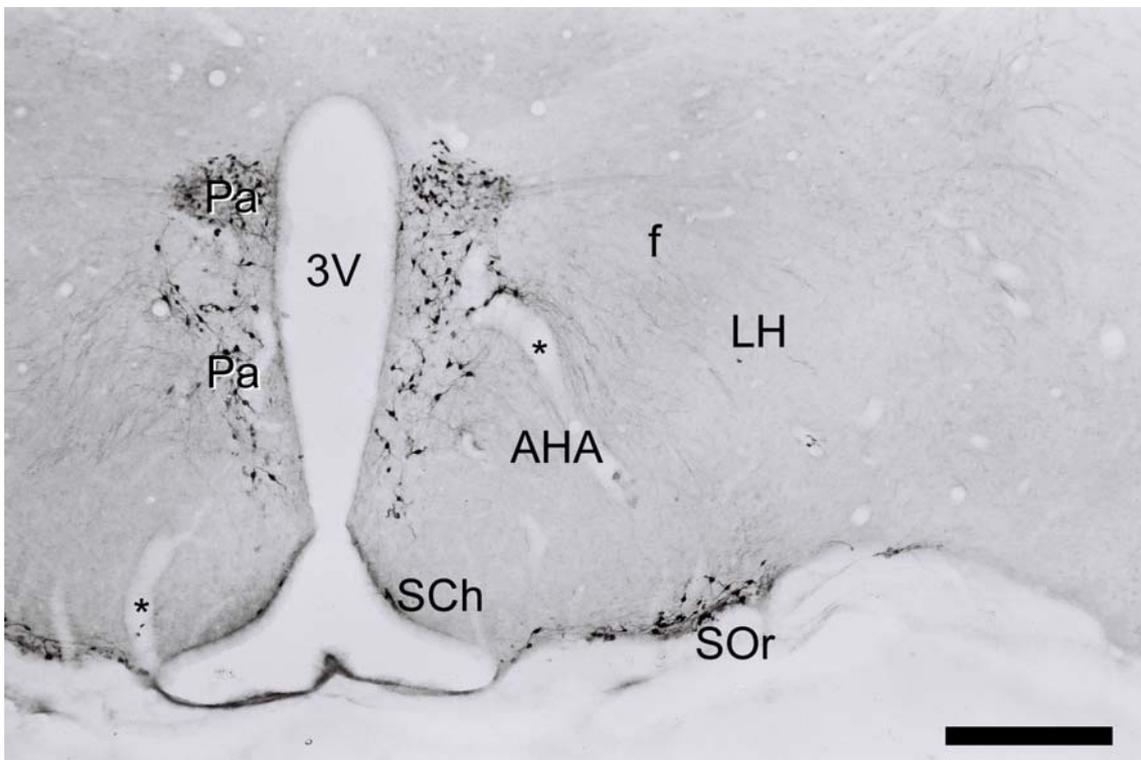


Abb. 42. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

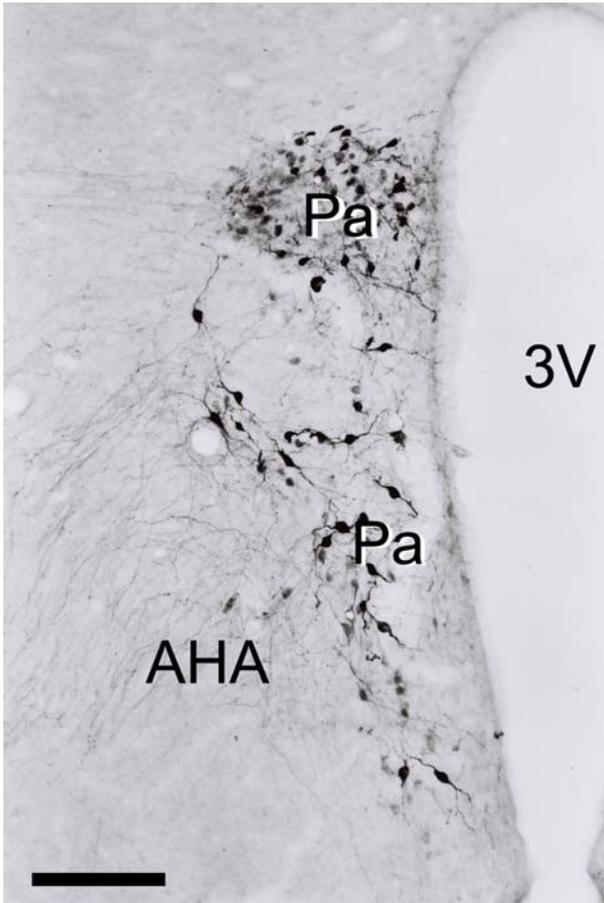


Abb. 43. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Detail von Abb. 42. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μ m.

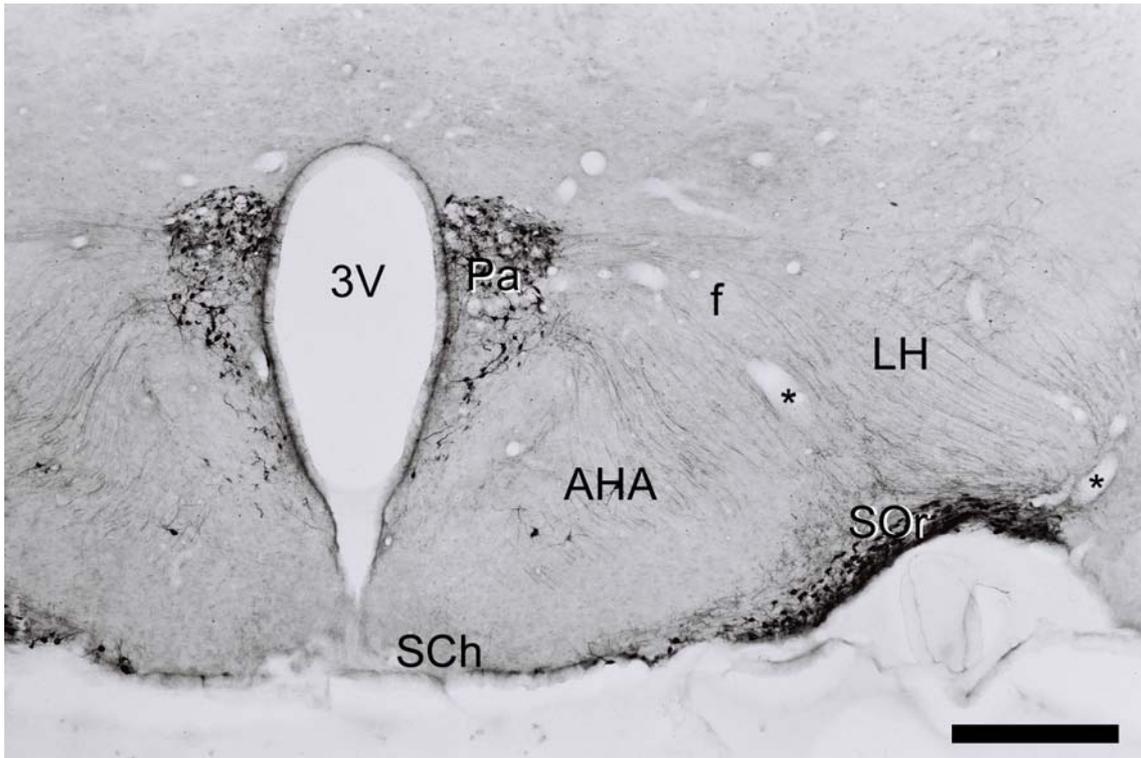


Abb. 44. Koronalschnitt durch den mittleren Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

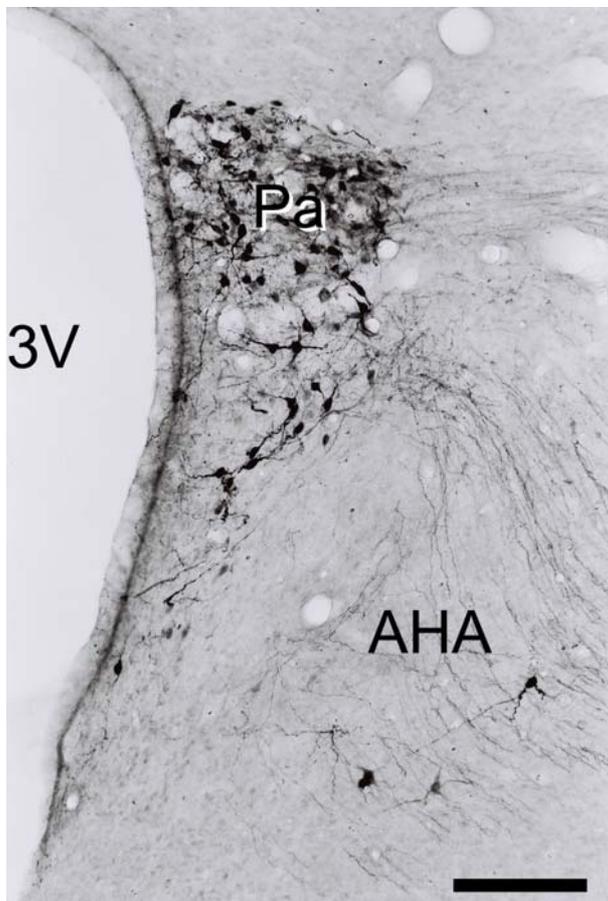


Abb. 45. Koronalschnitt durch den mittleren Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Detail von Abb. 44. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

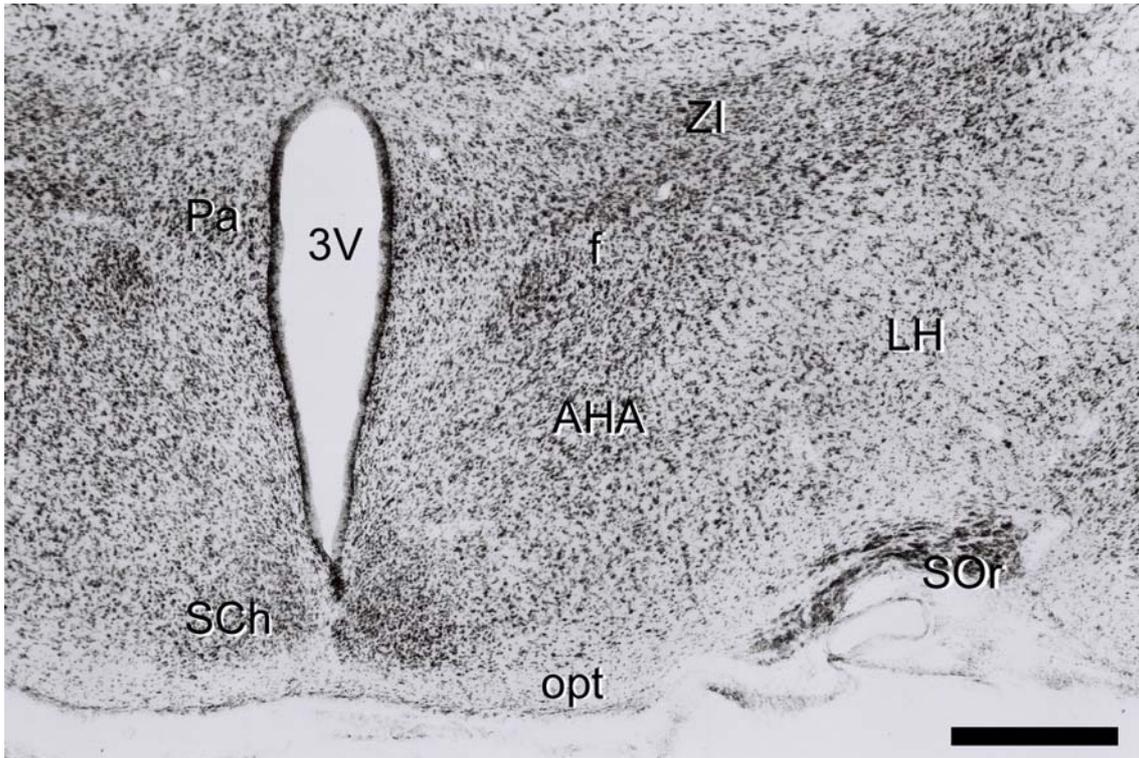


Abb. 46. Koronarschnitt durch den posterioren Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) beim Graumull. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

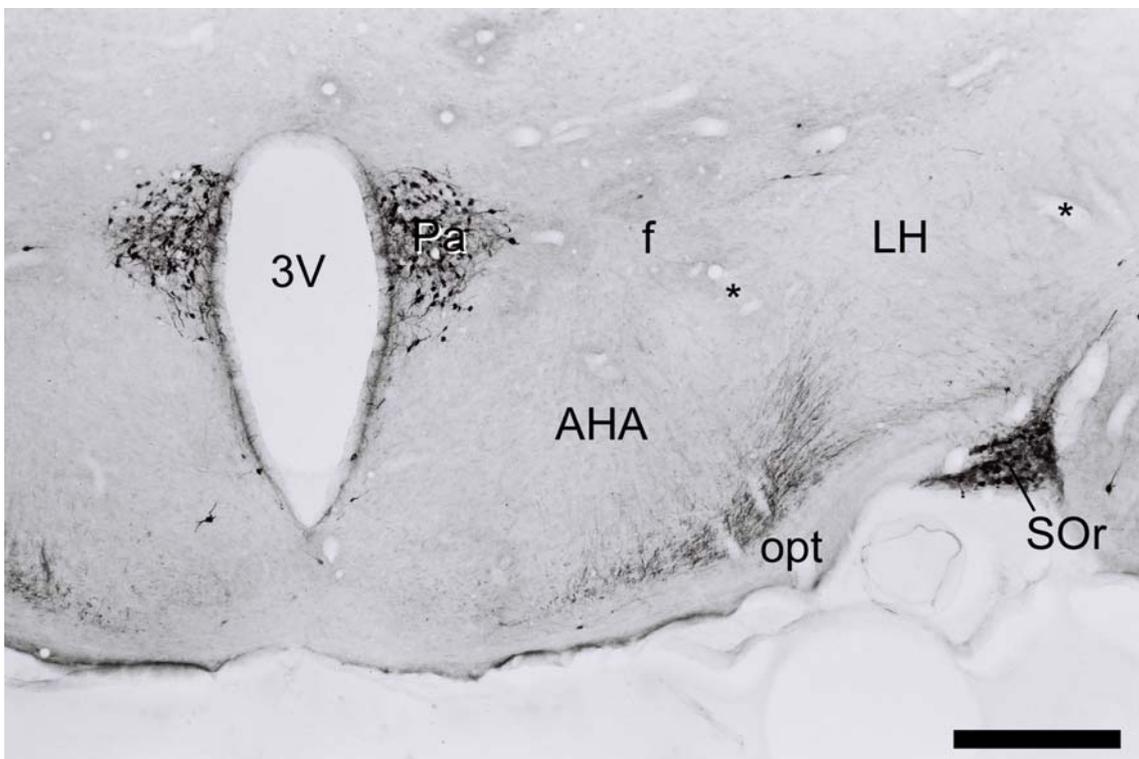


Abb. 47. Koronarschnitt durch den posterioren Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) beim Graumull. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

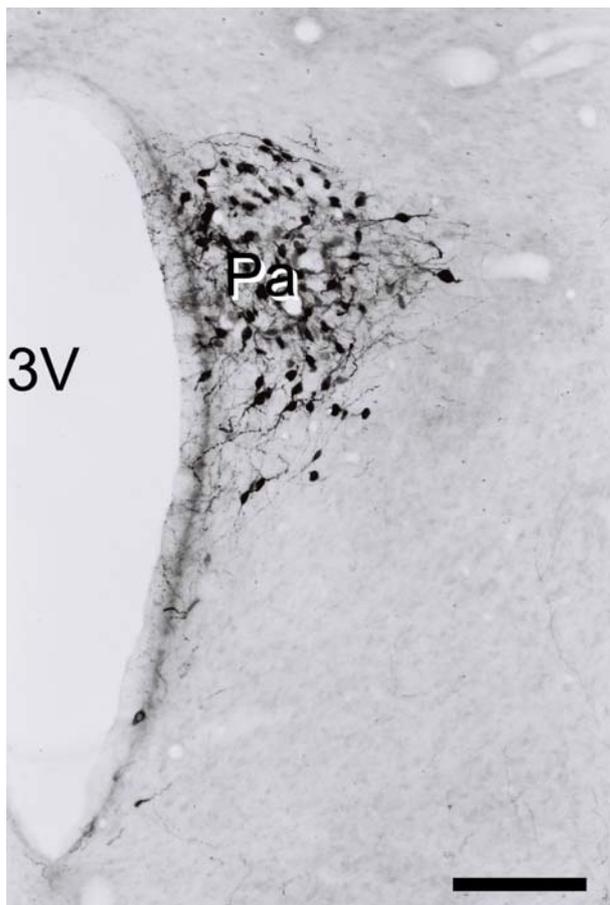


Abb. 48.
Koronschnitt durch den Nucleus para-ventricularis hypothalami (Pa) beim Graumull. Oxytocin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 47. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

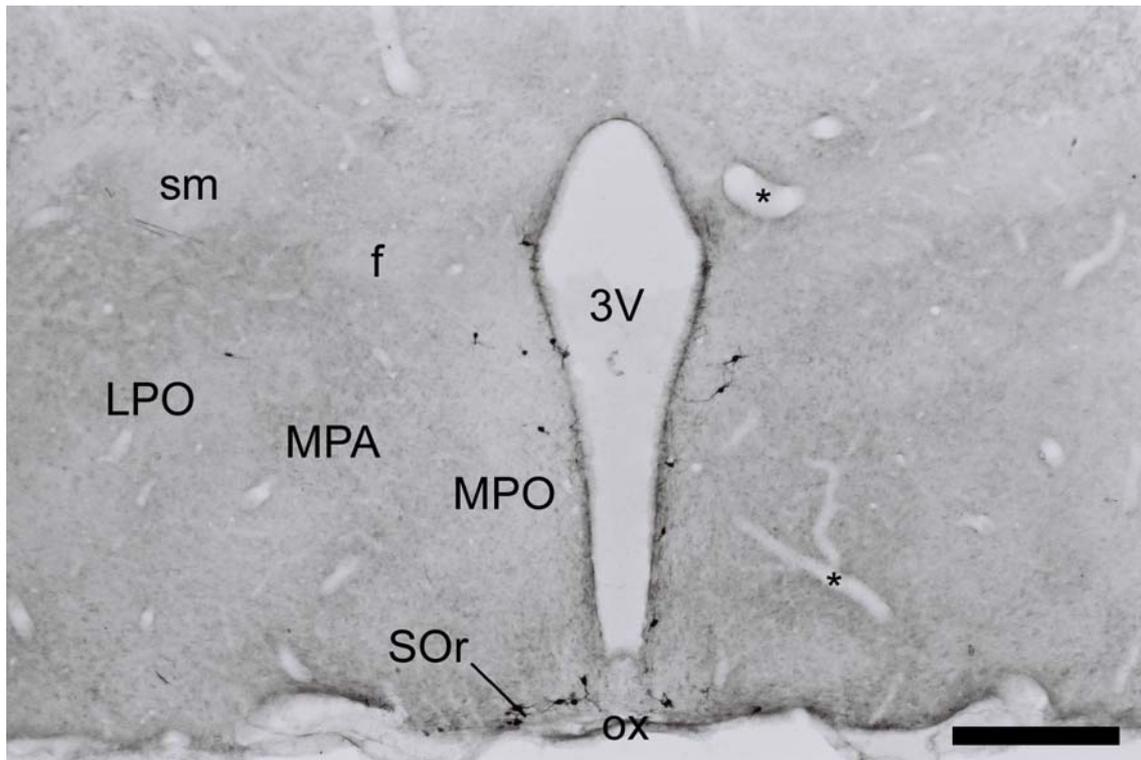


Abb. 49. Koronalschnitt durch den rostralen Hypothalamus beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Im Vergleich zur Ratte ist in dieser Transversalebene kein Nucleus commissuralis anterior (CoA) nachzuweisen. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm

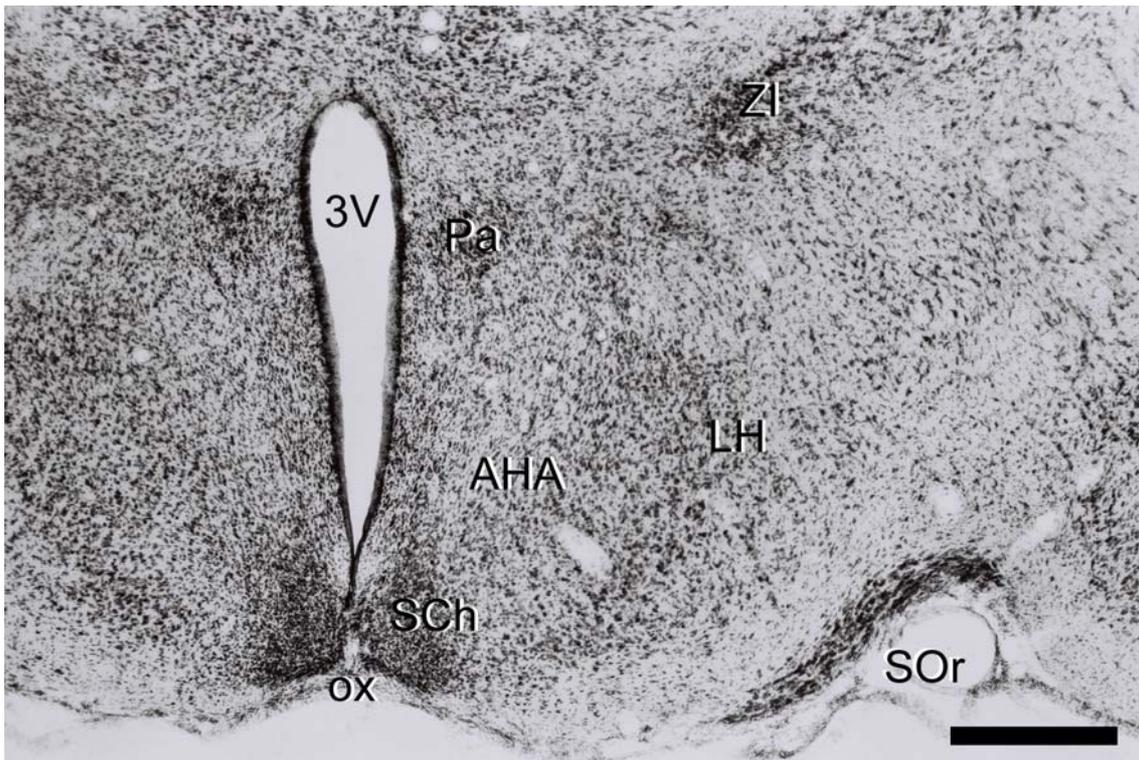


Abb. 50. Koronalschnitt durch den Nucleus suprachiasmaticus (SCh) beim Graumull. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

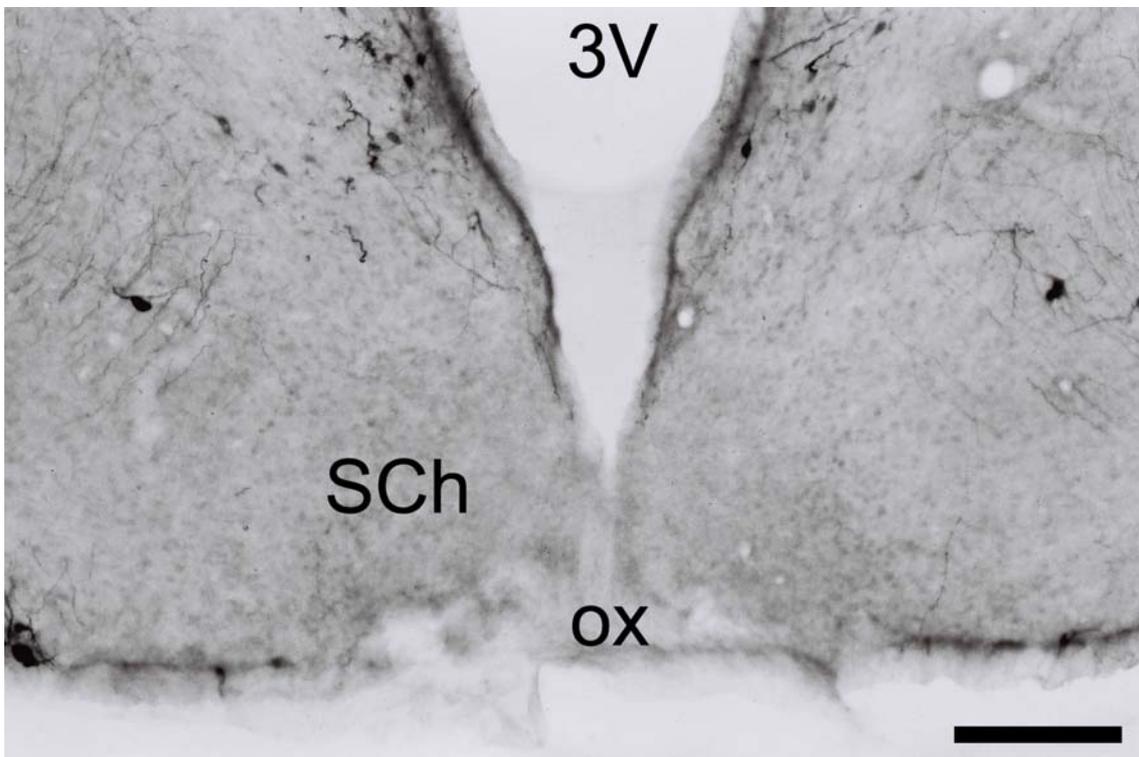


Abb. 51. Koronalschnitt durch den Nucleus suprachiasmaticus (SCh) beim Graumull (Detailaufnahme). OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200µm.

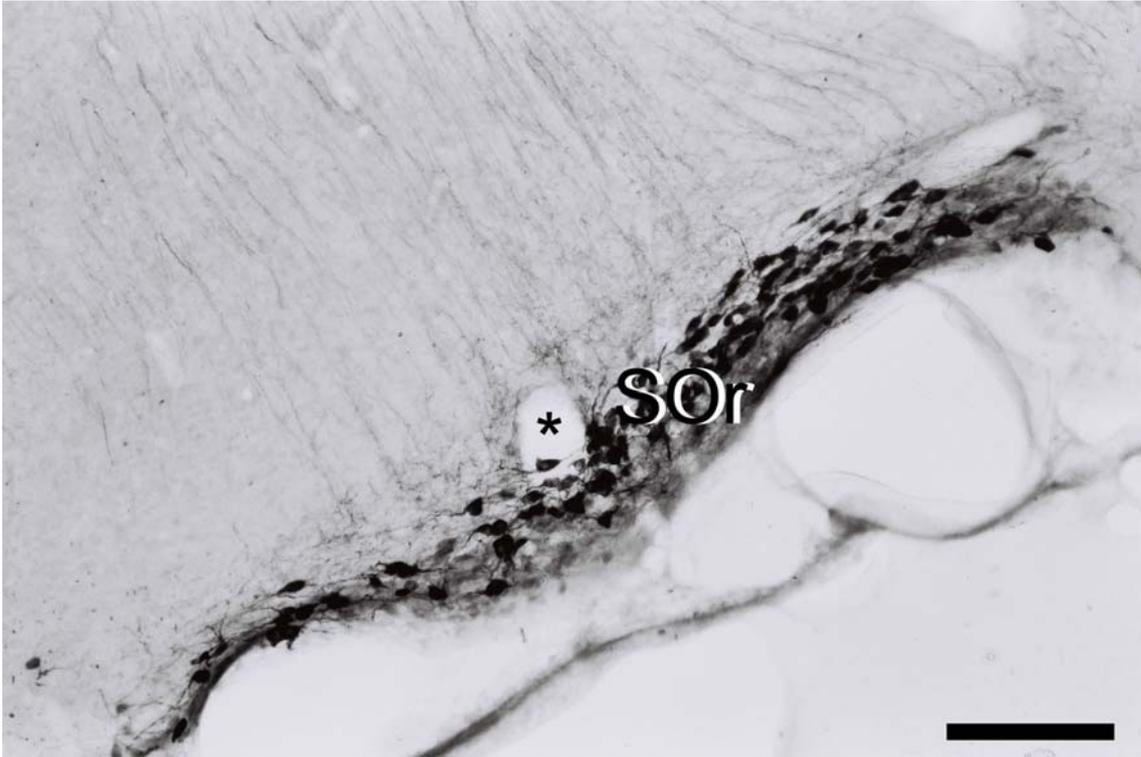


Abb. 52. Koronalschnitt durch den Nucleus supraopticus, rostraler Teil (SO_r) beim Graumull (Detailaufnahme). OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

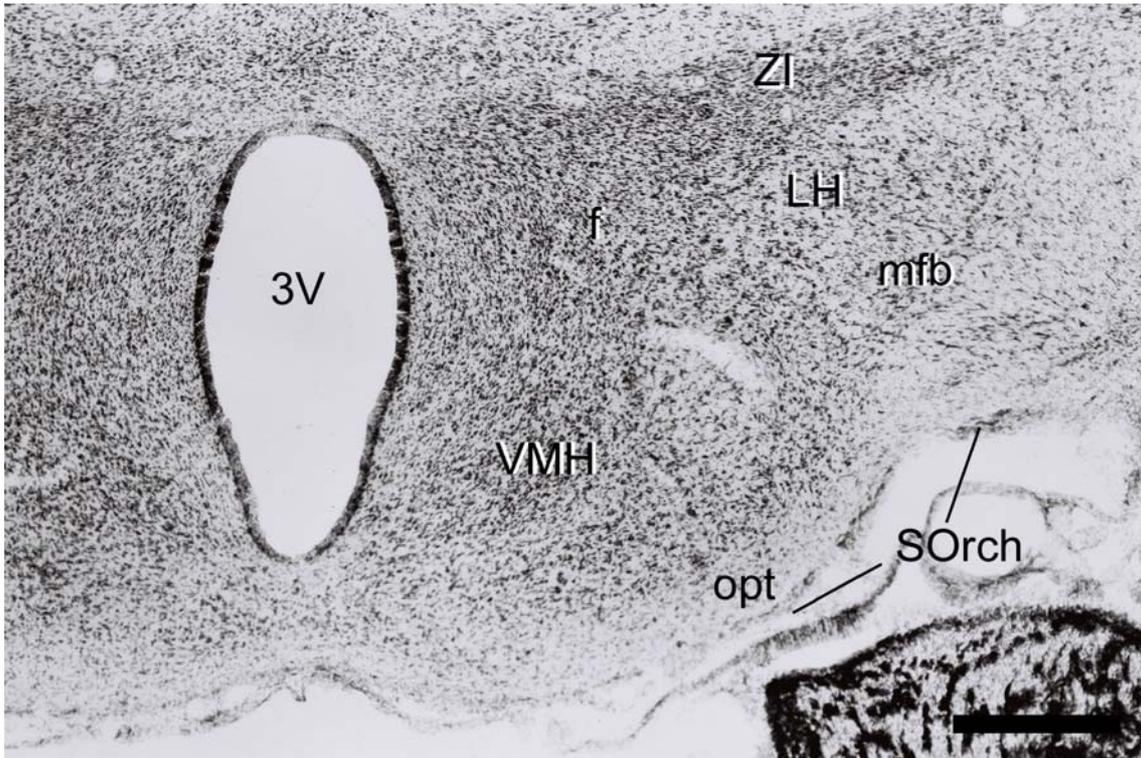


Abb. 53. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus beim Graumull. Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

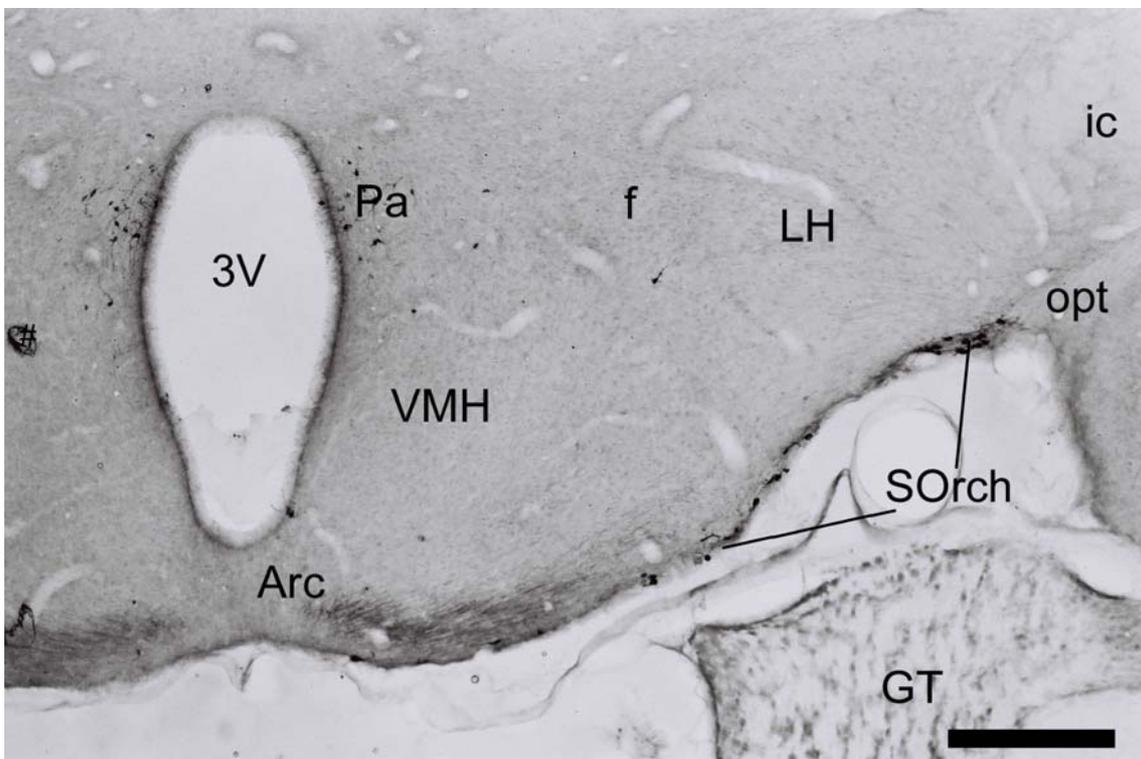


Abb. 54. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

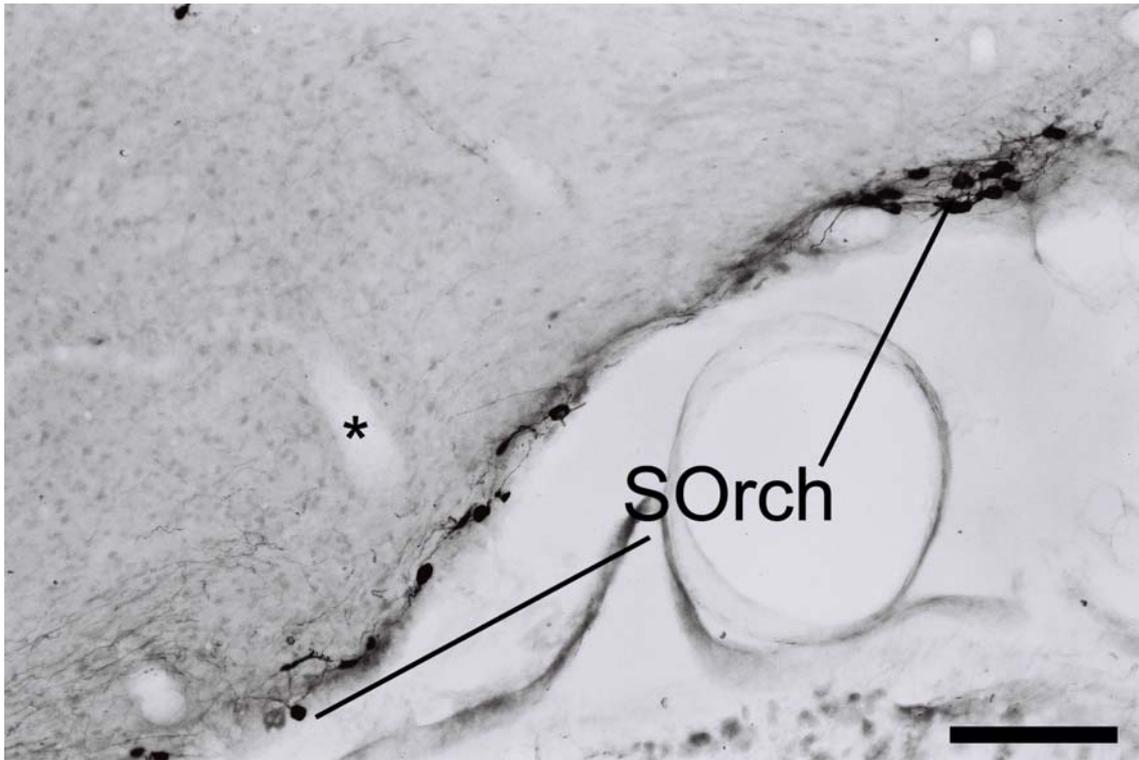


Abb. 55. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Detail von Abb. 54. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μ m.

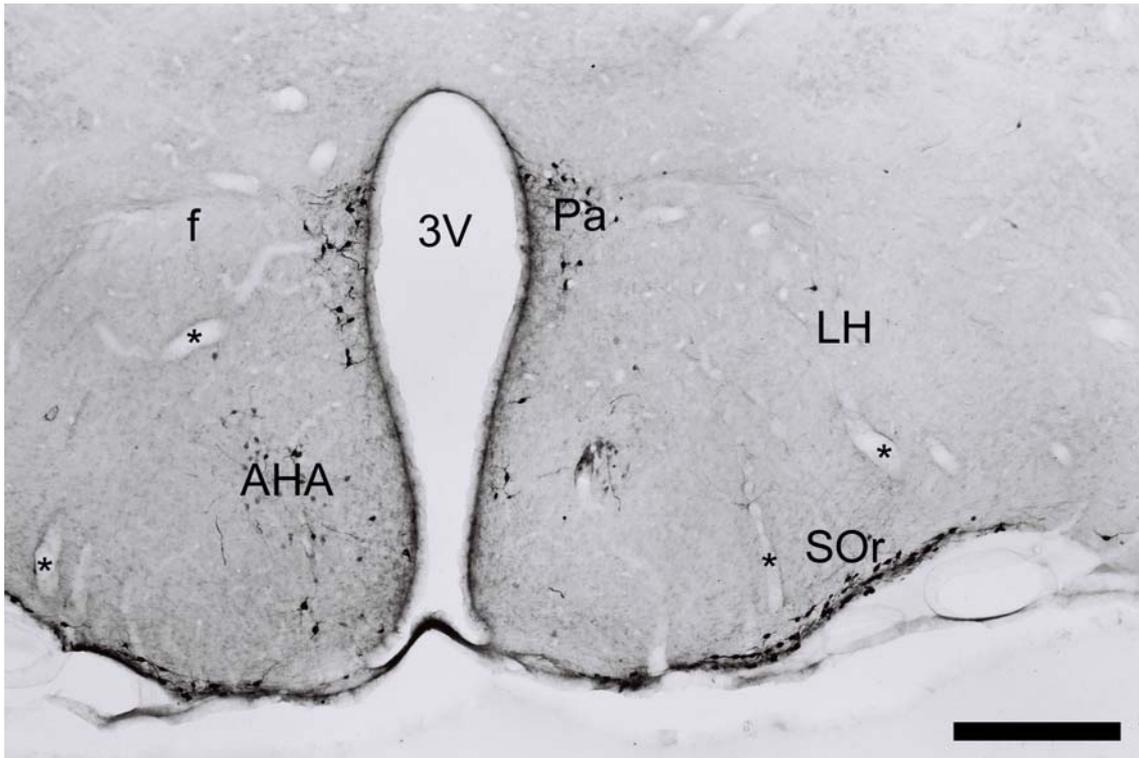


Abb. 56. Koronalschnitt durch die vordere hypothalamische Region zur Demonstration der akzessorischen Neuronenpopulation beim Graumull. OX-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

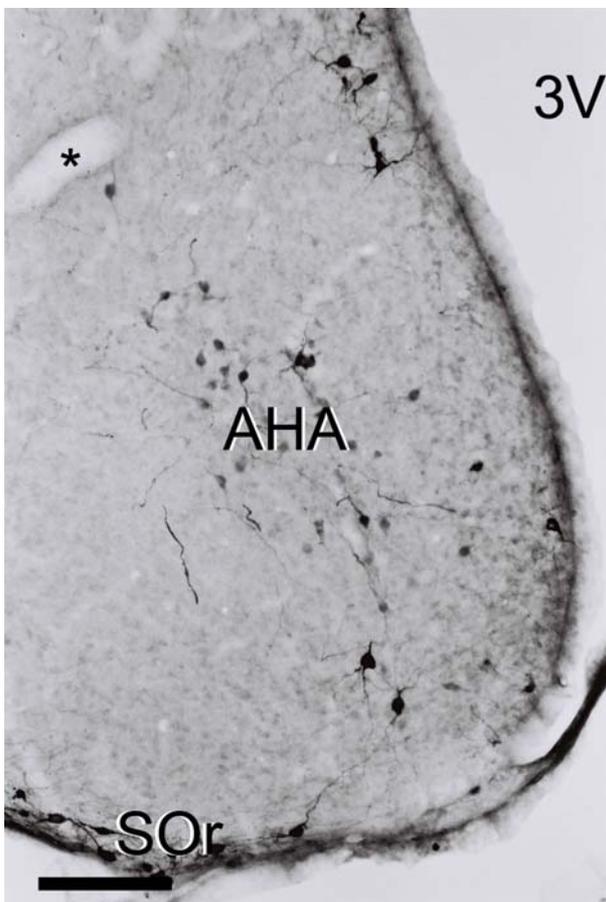


Abb. 57. Koronalschnitt durch die vordere hypothalamische Region beim Graumull OX-Immunhistochemie. Detail von Abb. 56. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.



Abb. 58. Koronarschnitt durch das Corpus mamillare beim Graumull. Nissl-Färbung. Vergrößerung 10x. Maßstab: 2000µm.

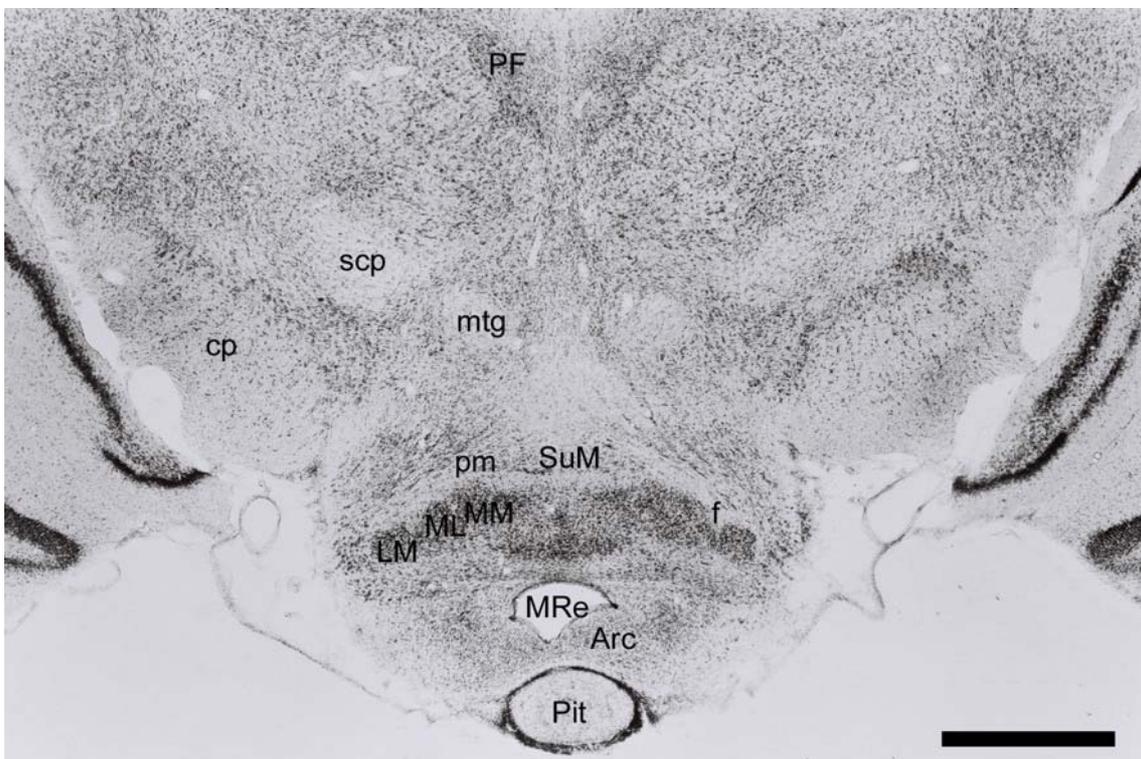


Abb. 59. Koronarschnitt durch das Corpus mamillare beim Graumull. Nissl-Färbung. Detail von Abb. 58. Vergrößerung 20x. Maßstab: 1000 µm.

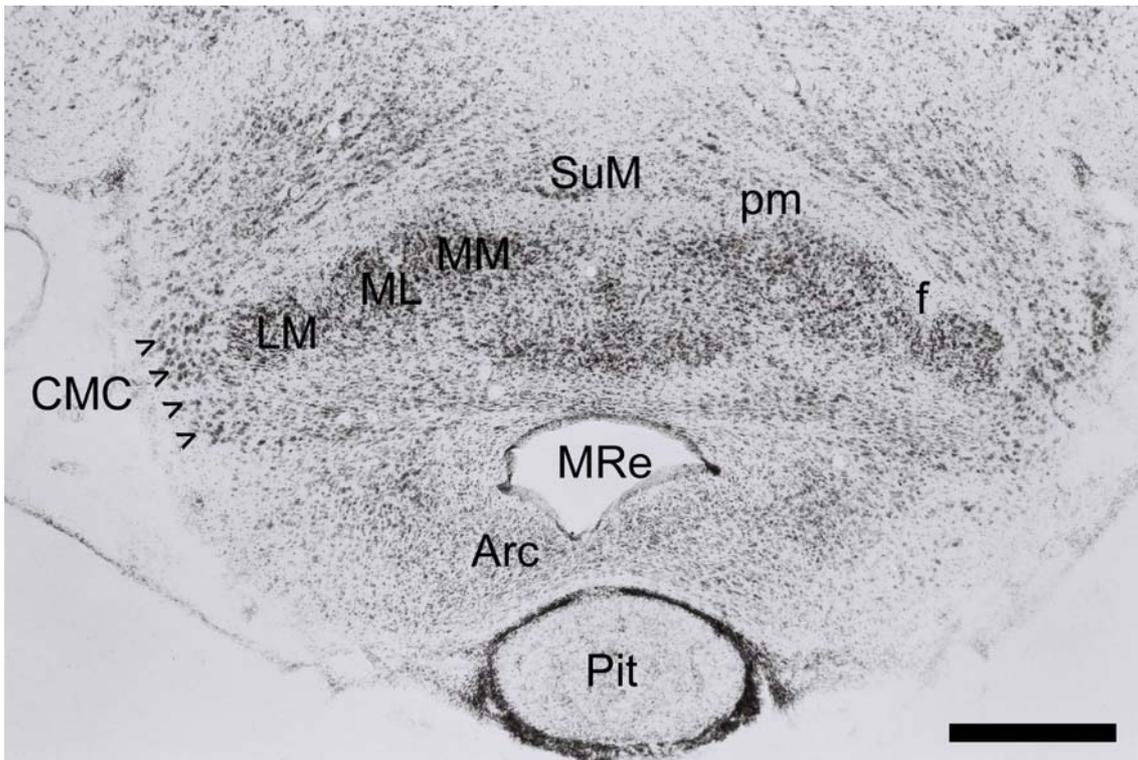


Abb. 60. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare beim Graumull. Nissl-Färbung. Detail von Abb. 59. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

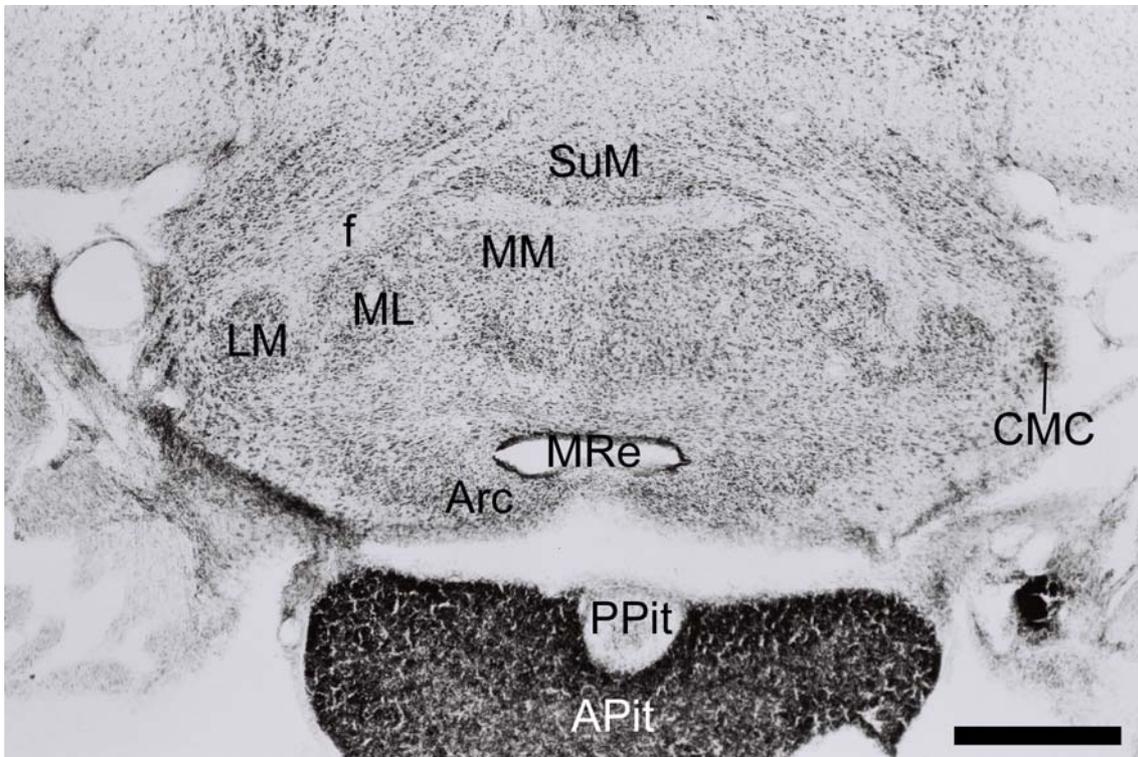


Abb. 61. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare beim Graumull (anderes Tier als in Abb. 60). Nissl-Färbung. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

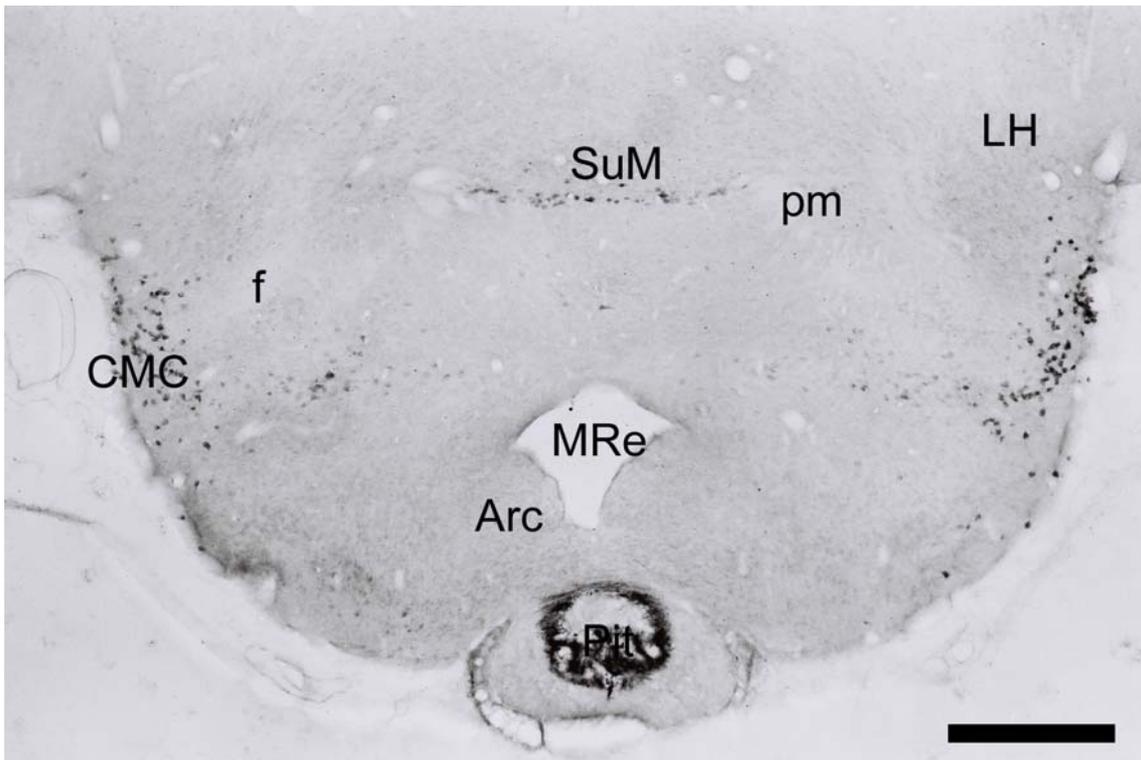


Abb. 62. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare, rostraler Teil beim Graumull. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 μ m.

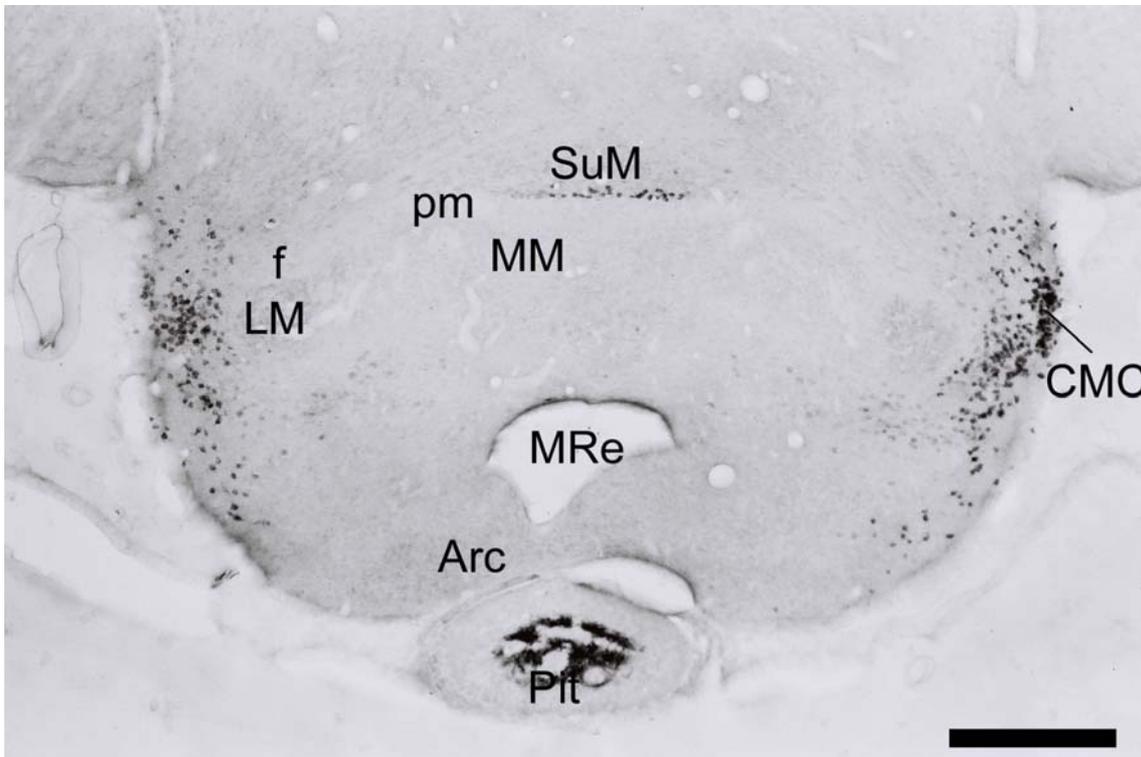


Abb. 63. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare, mittlerer Teil beim Graumull. Oxytocin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 μ m.

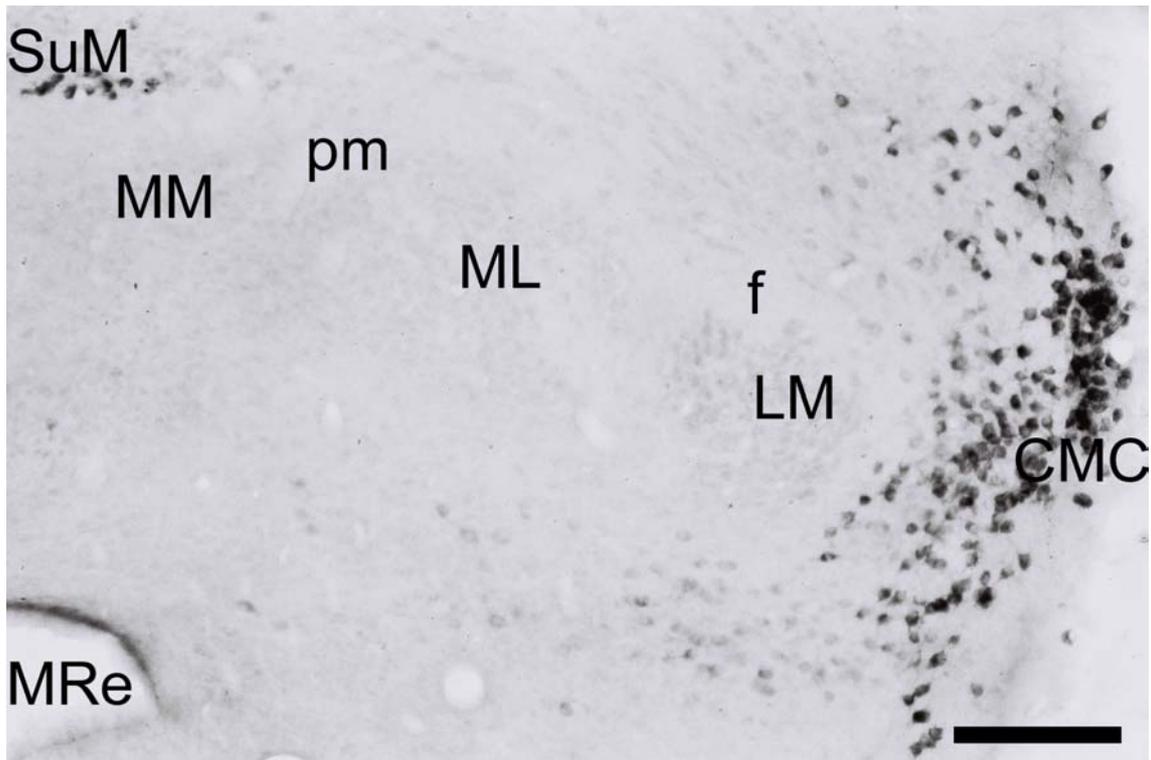


Abb. 64. Koronalschnitt durch den mittleren Teil des Corpus mamillare beim Graumull (rechtes Detail von Abb. 63). **Oxytocin-Immunhistochemie.** Detail von Abb. 63. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μ m.

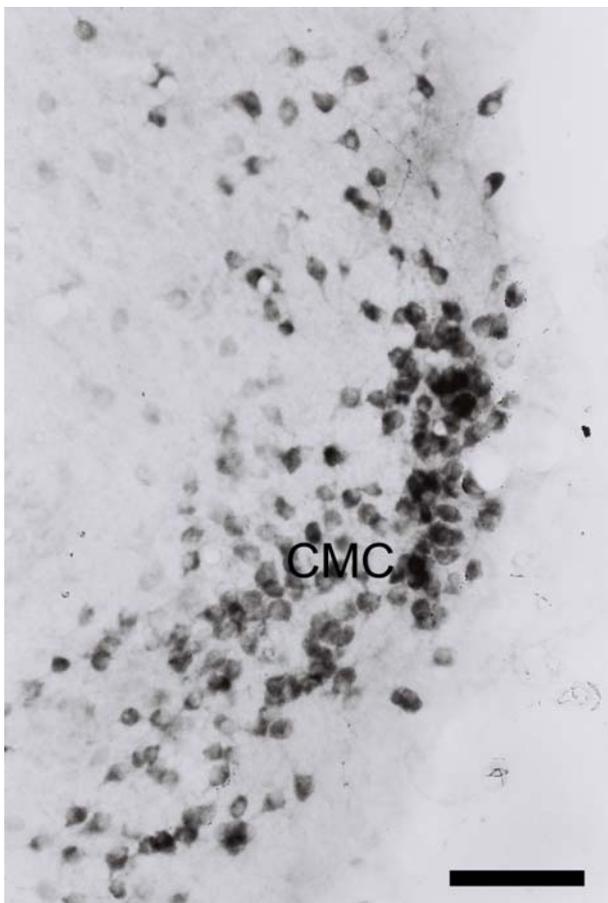


Abb. 65. Koronalschnitt durch den mittleren Teil des Corpus mamillare beim Graumull. **Oxytocin-Immunhistochemie.** Detail von Abb. 64. Vergrößerung 200x. Maßstab: 100 μ m.

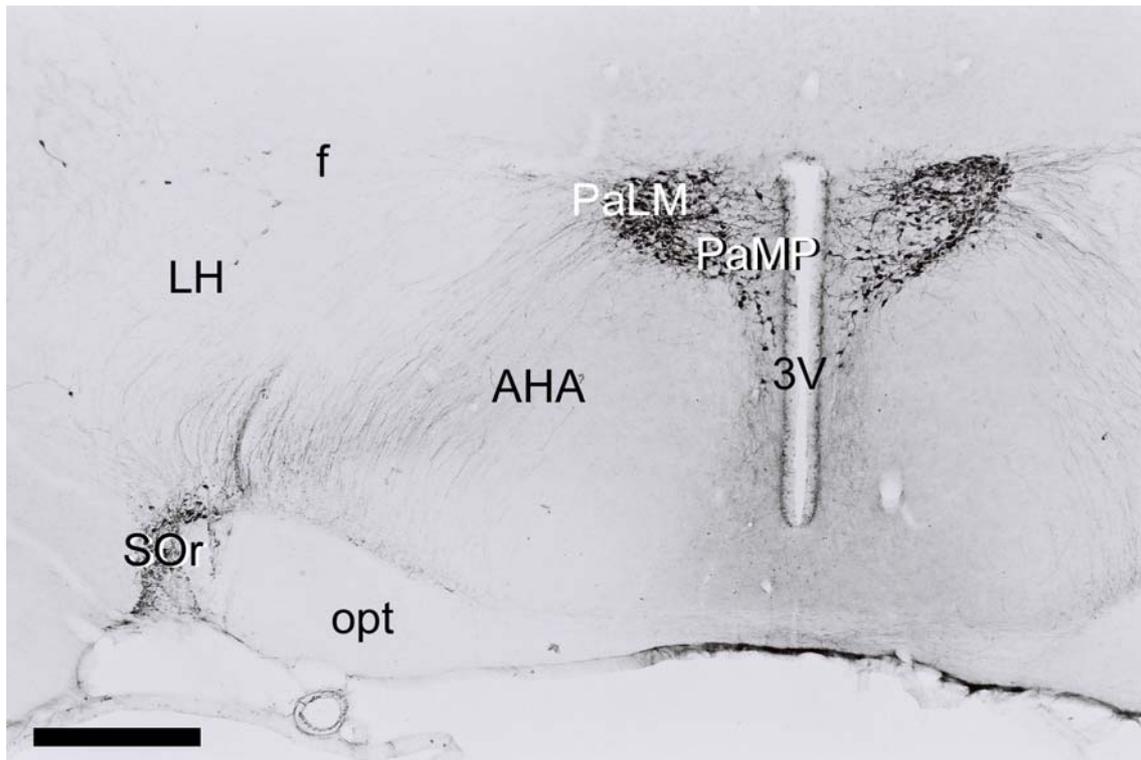


Abb. 66. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte. VP-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

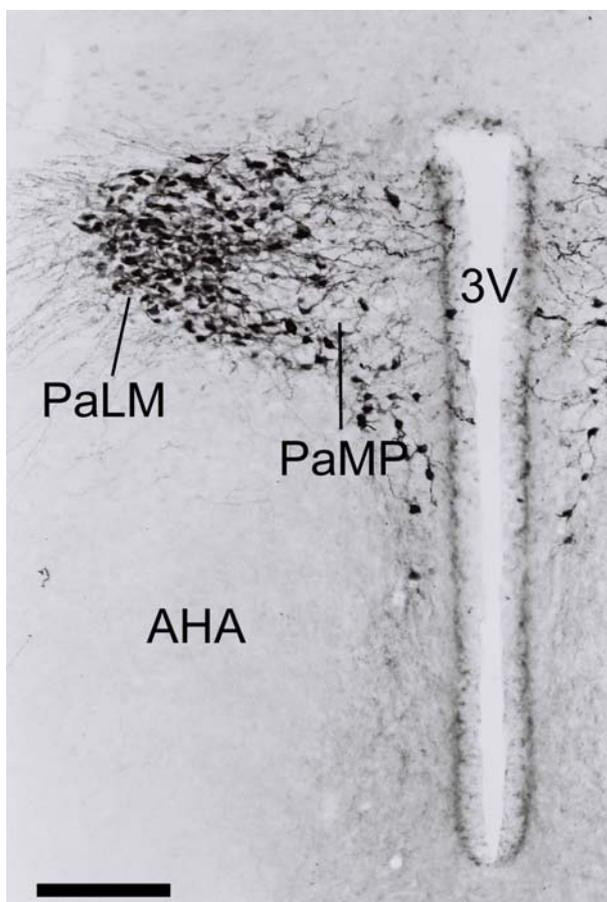


Abb. 67. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 66. Vergrößerung 100x. Maßstab 200 µm.

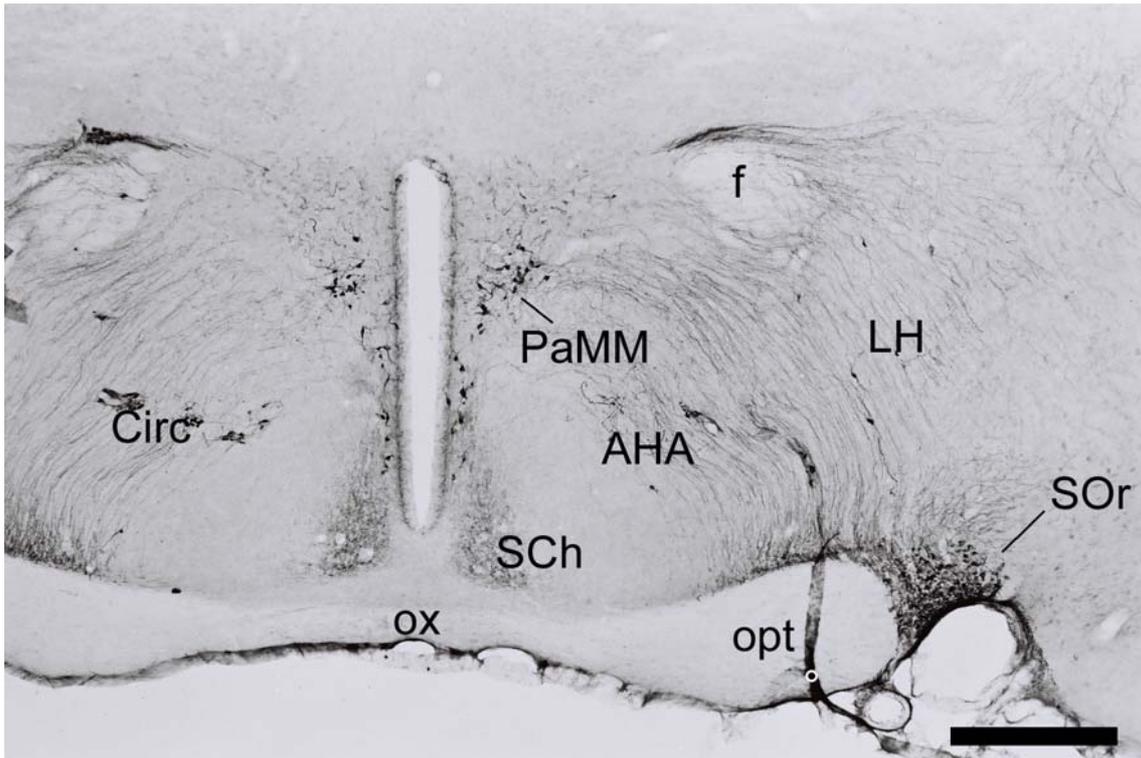


Abb. 68. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte. VP-Immunhistochemie. °, Artefakt durch Meningen. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

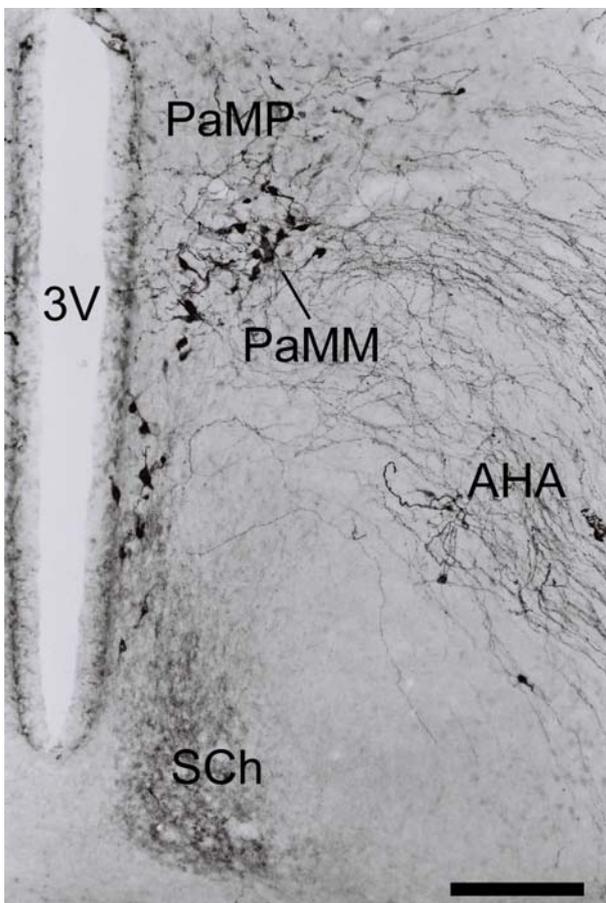


Abb. 69. Koronalschnitt durch den Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) der Ratte. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 68. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

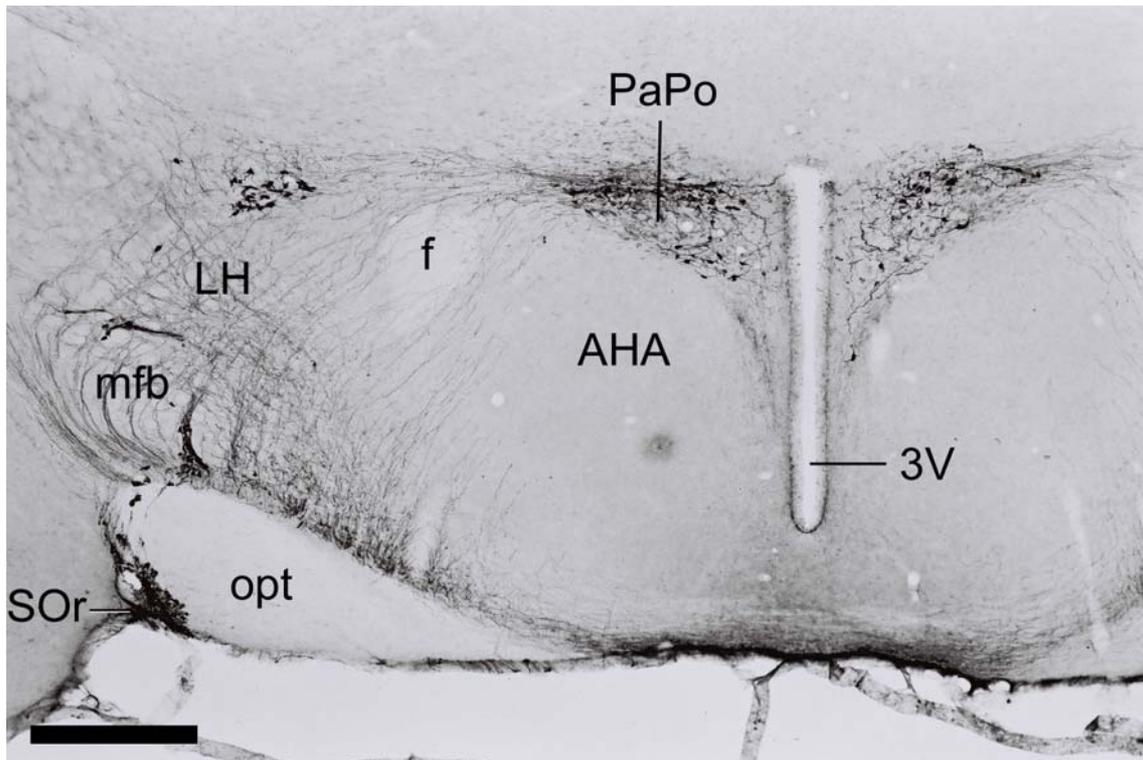


Abb. 70. Koronalschnitt durch den kaudalen Anteil des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaPo) der Ratte. Vasopressin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 μ m.

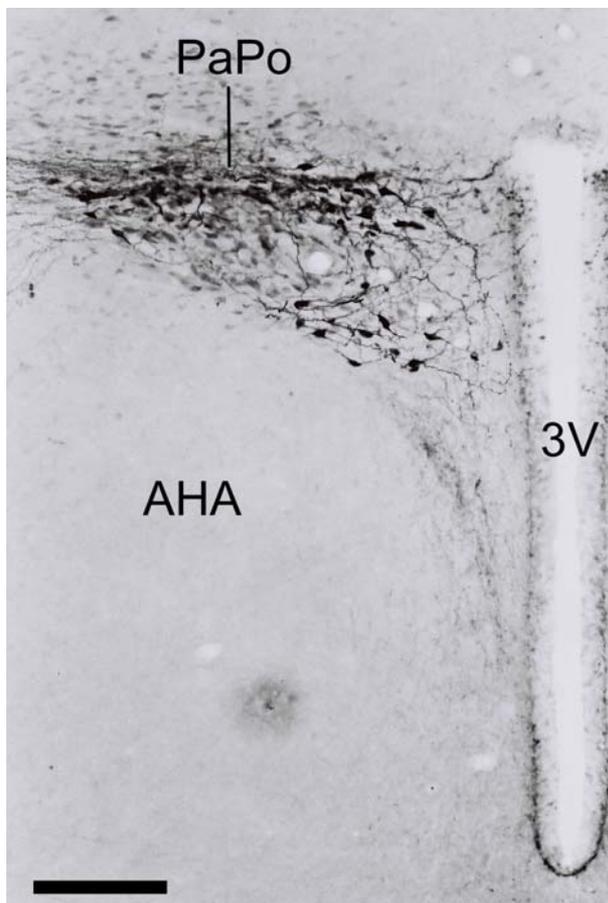


Abb. 71. Koronalschnitt durch den kaudalen Anteil des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaPo) der Ratte. Vasopressin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 70. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μ m.

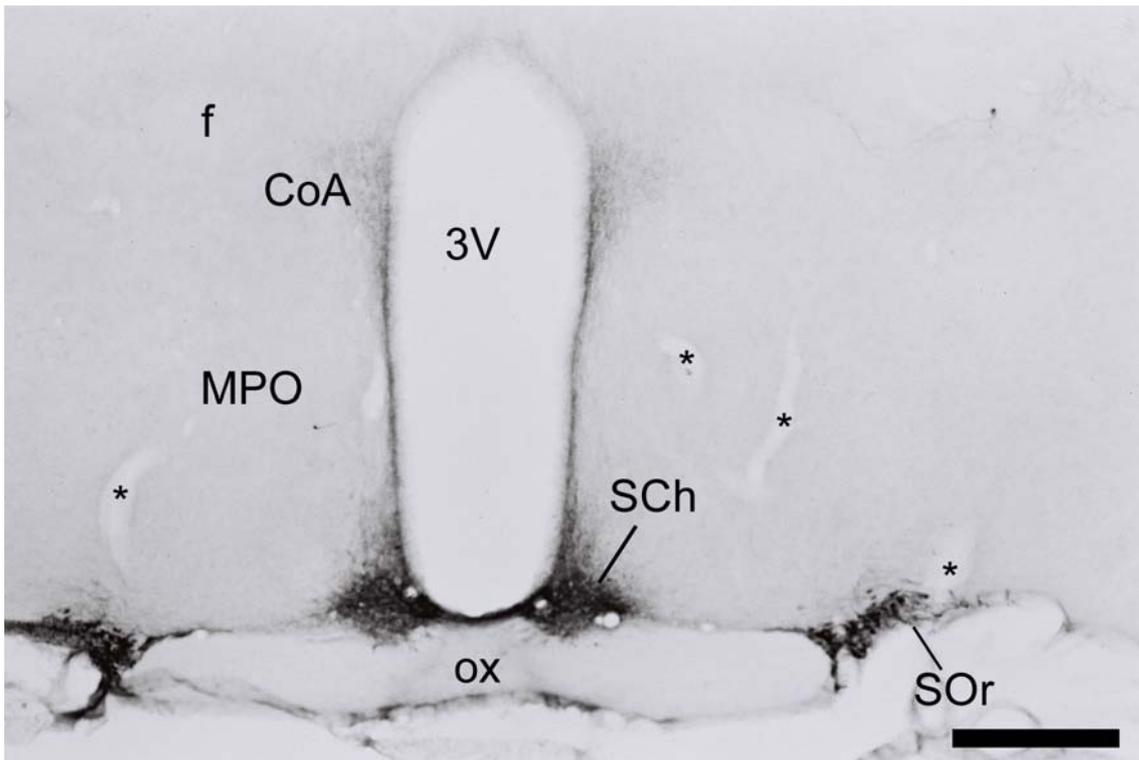


Abb. 72. Koronalschnitt durch den Nucleus commissuralis anterior (CoA) der Ratte. Vasopressin-Immunhistochemie. *, Gefäßanschnitte. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

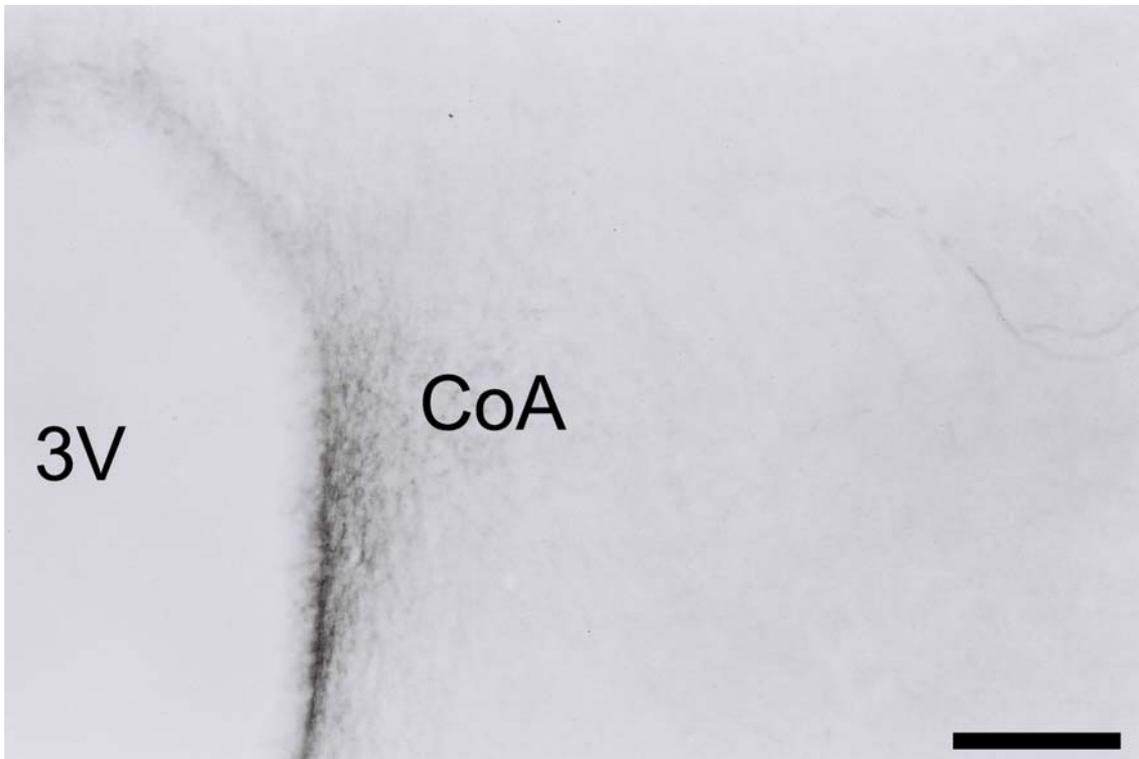


Abb. 73. Koronalschnitt durch den Nucleus commissuralis anterior (CoA) der Ratte. Vasopressin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 72. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

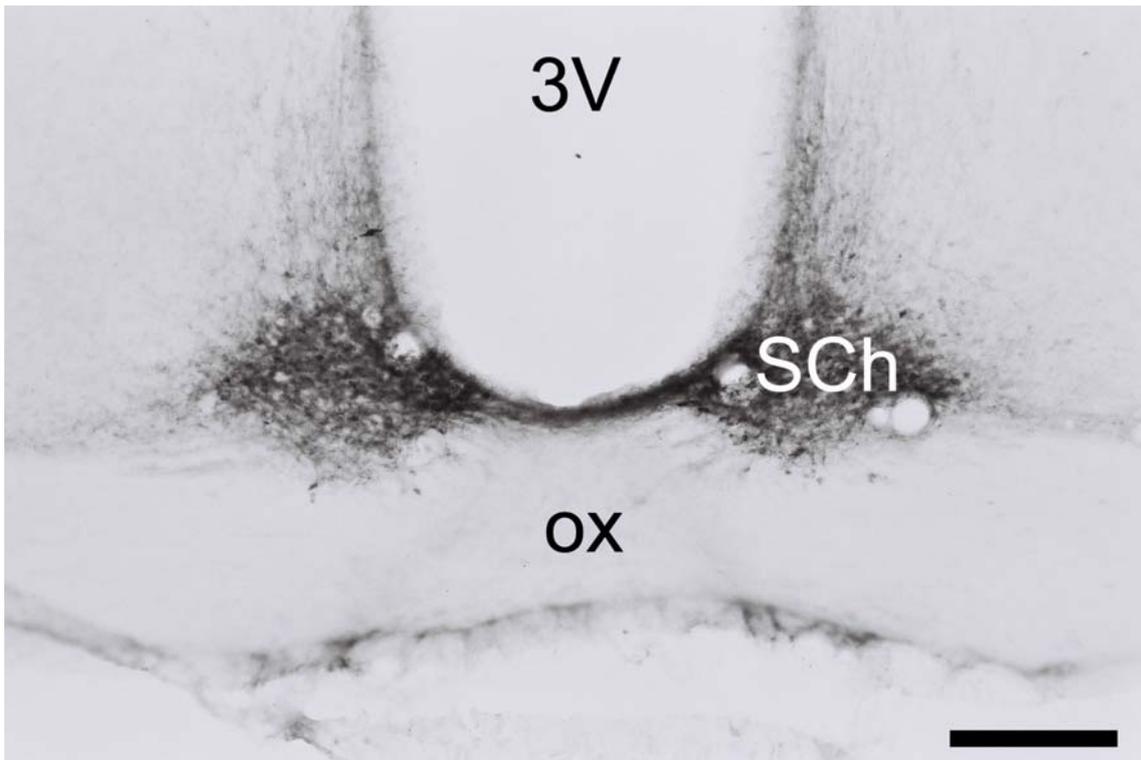


Abb. 74. Koronalschnitt durch den Nucleus suprachiasmaticus der Ratte. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 72. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

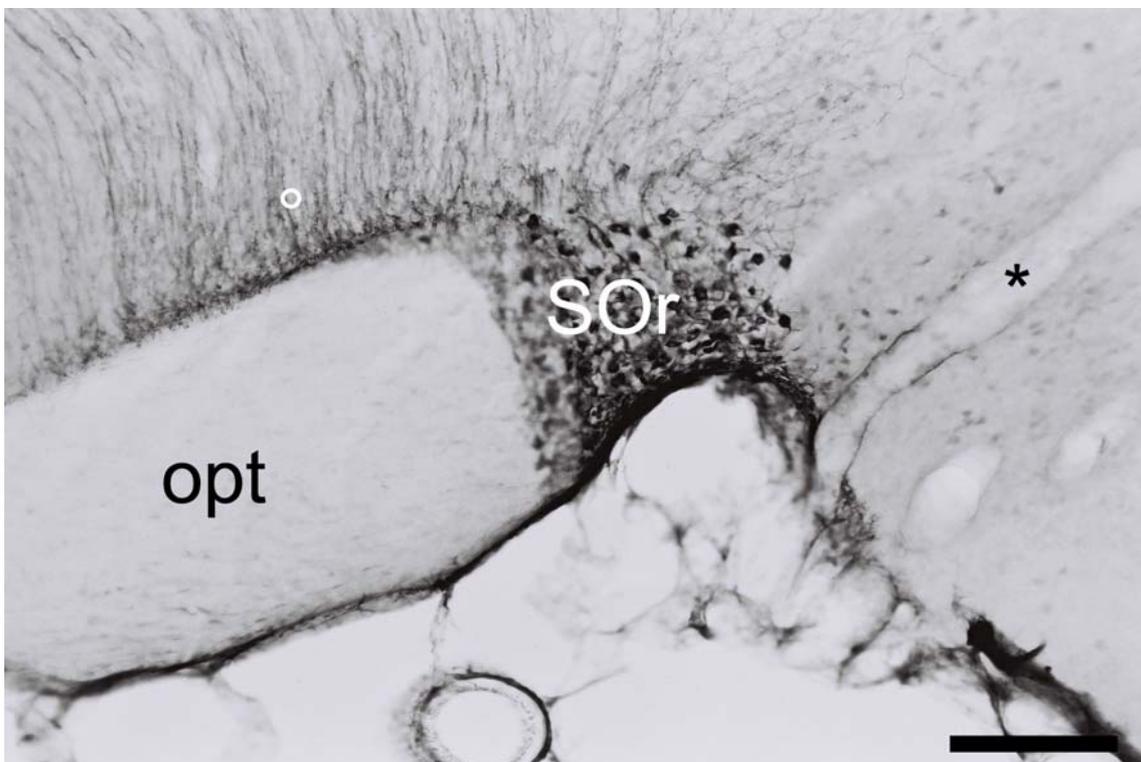


Abb. 75. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Nucleus supraopticus der Ratte. VP-Immunhistochemie. *, Gefäßanschnitt; ^ ^ ^, Hirnhäute; °, VP-ir Fasern. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

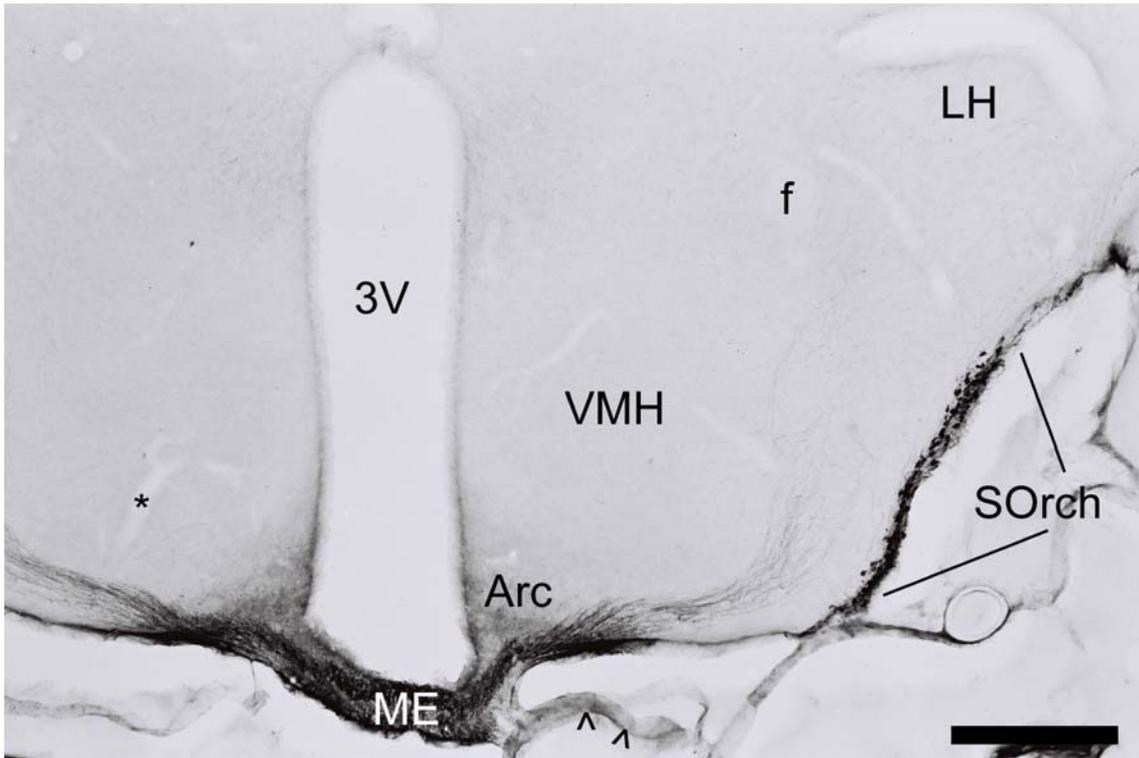


Abb. 76. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus (SOrch) der Ratte. VP-Immunhistochemie. ^^, Hirnhäute, *, Gefäßanschnitt. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.



Abb. 77. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus (SOrch) der Ratte. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 76. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

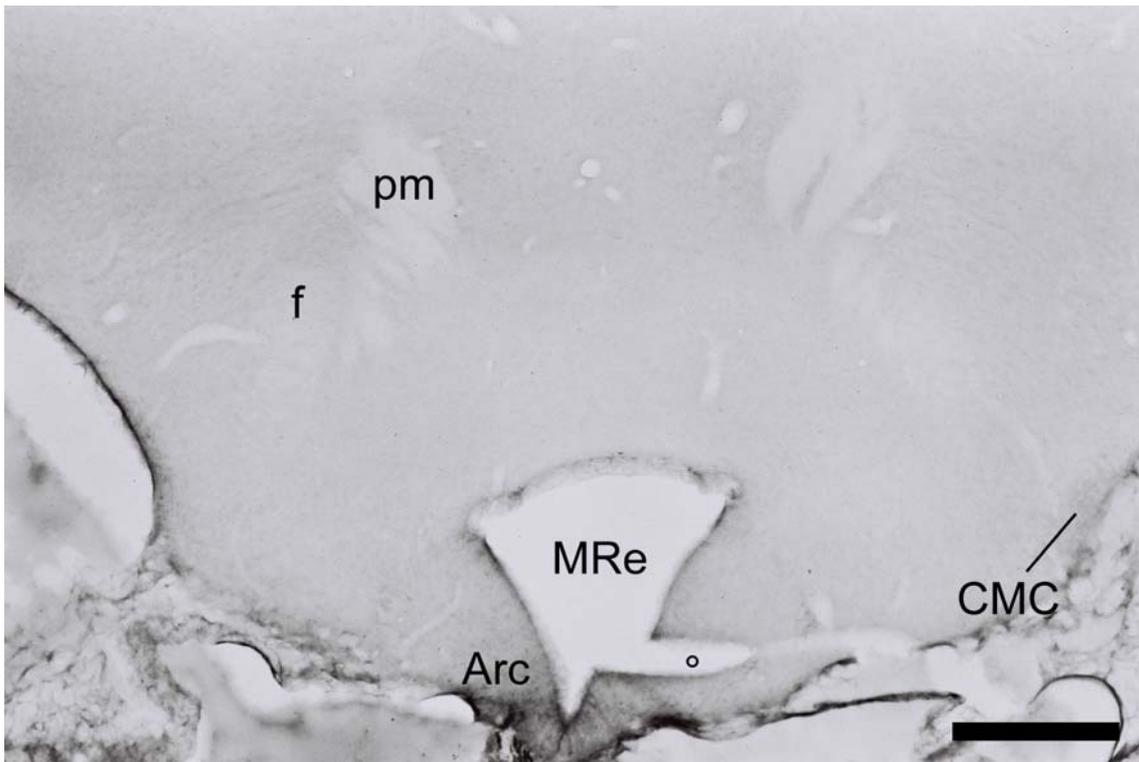


Abb. 78. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Mamillarkörpers bei der Ratte. Vasopressin-Immunhistochemie. °, Artefakt. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

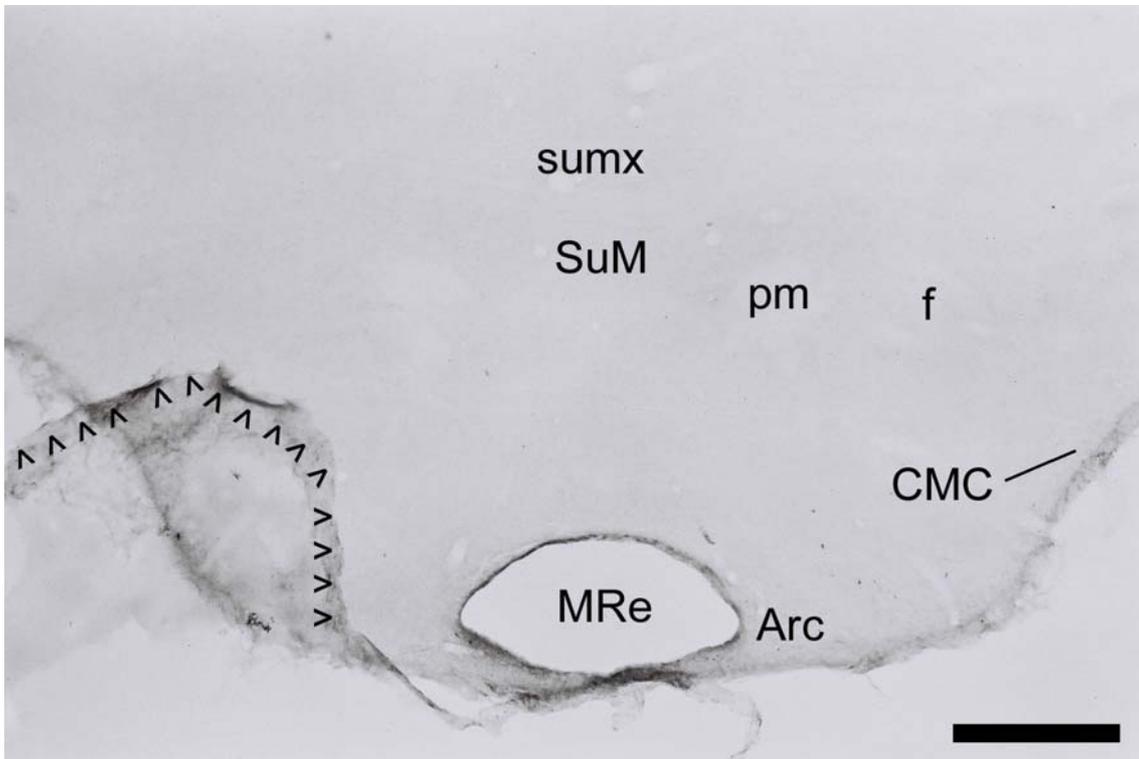


Abb. 79. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Mamillarkörpers bei der Ratte (anderes Tier als Abb. 78). Vasopressin-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.



Abb. 80. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Mamillarkörpers bei der Ratte. Vasopressin-Immunhistochemie. Detail von Abb. 78. 100x Vergrößerung. *, Gefäßanschnitt. Maßstab: 200 μ m.

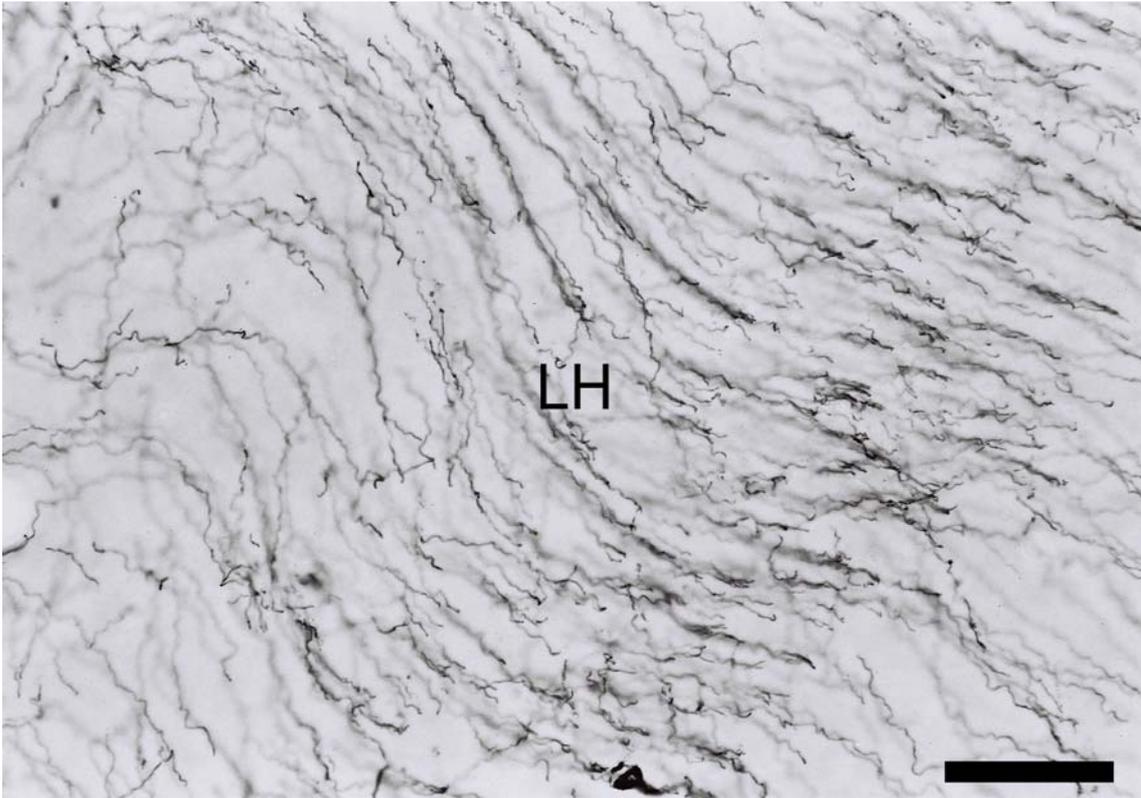


Abb. 81. Koronalschnitt durch den lateralen Hypothalamus (LH) beim Graumull zur Demonstration der korkenzieherartig gewundenen immunreaktiven Fasern. VP-Immunhistochemie. Vergrößerung 200x. Maßstab: 100 µm.

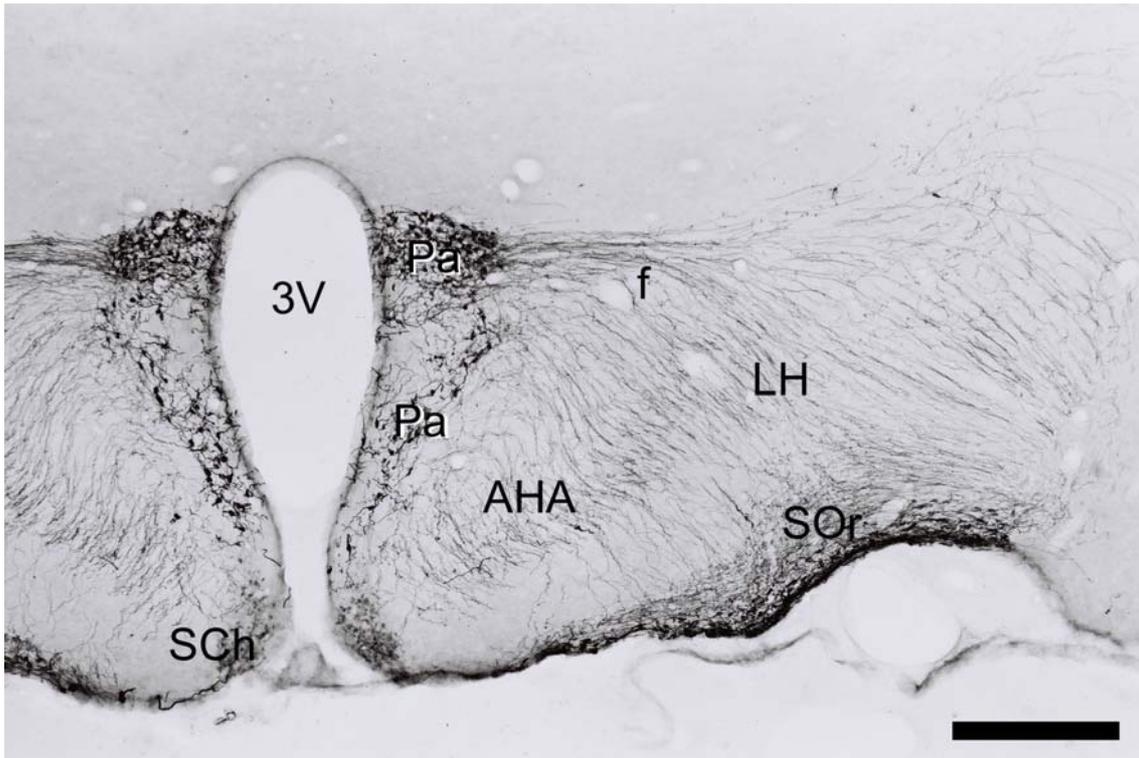


Abb. 82. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

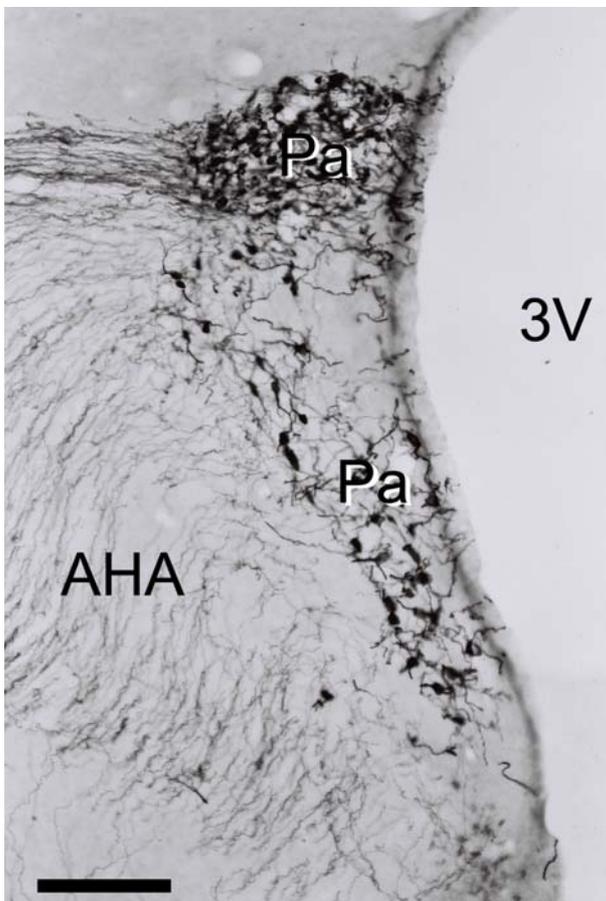


Abb. 83. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 82. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

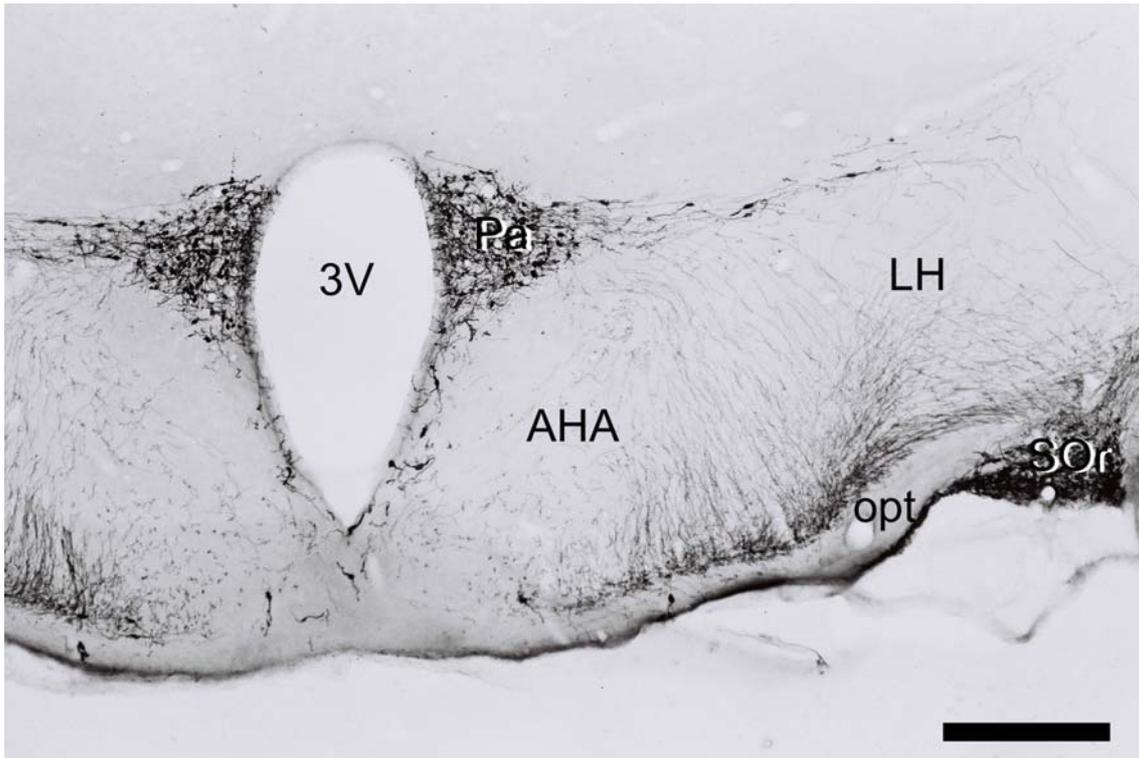


Abb. 84. Koronalschnitt durch den kaudalen Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

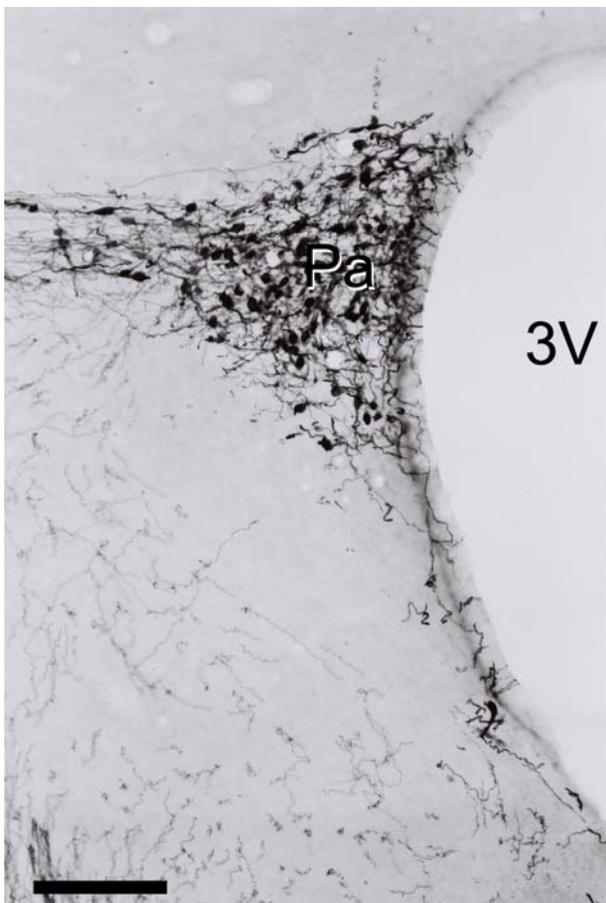


Abb. 85. Koronalschnitt durch den kaudalen Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 84. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

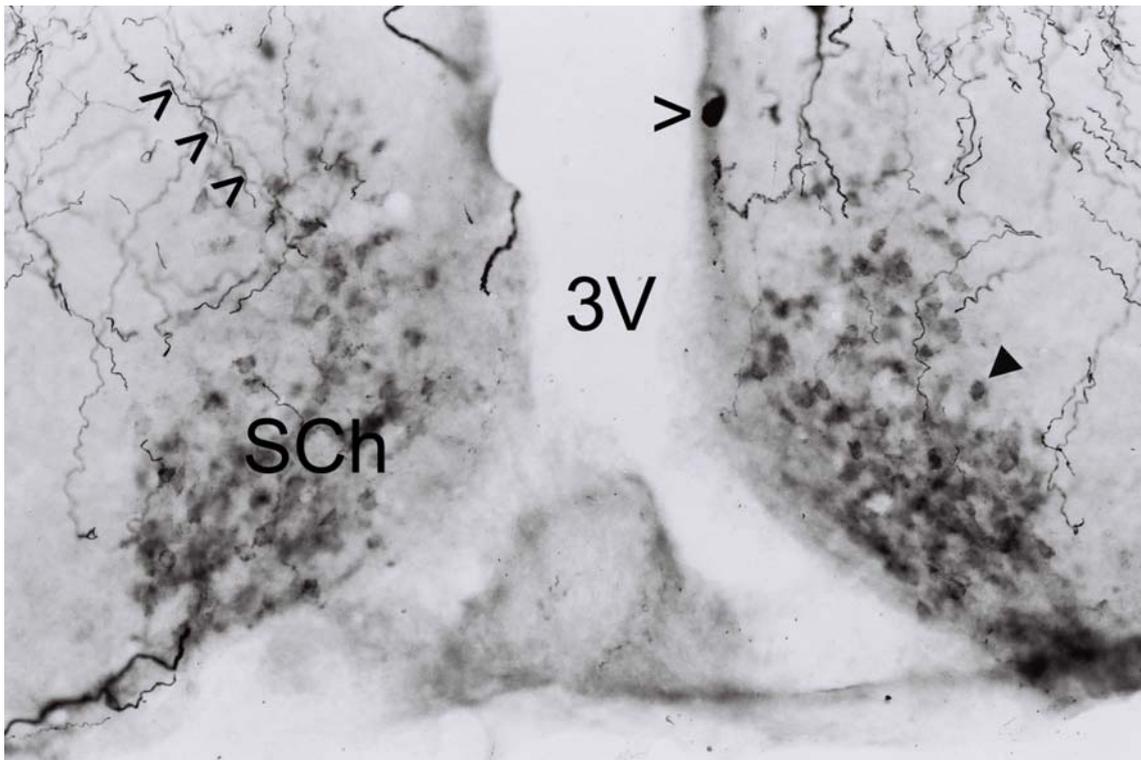


Abb. 86. Koronalschnitt durch den Nucleus supra-chiasmaticus (Sch) beim Graumull. VP-Immunhistochemie. ^ ^ ^ = VP-ir Fasern, ^ = magnozellularäres Neuron, ▶ = parvozelluläres Neuron. Vergrößerung 200x. Maßstab: 100 µm.

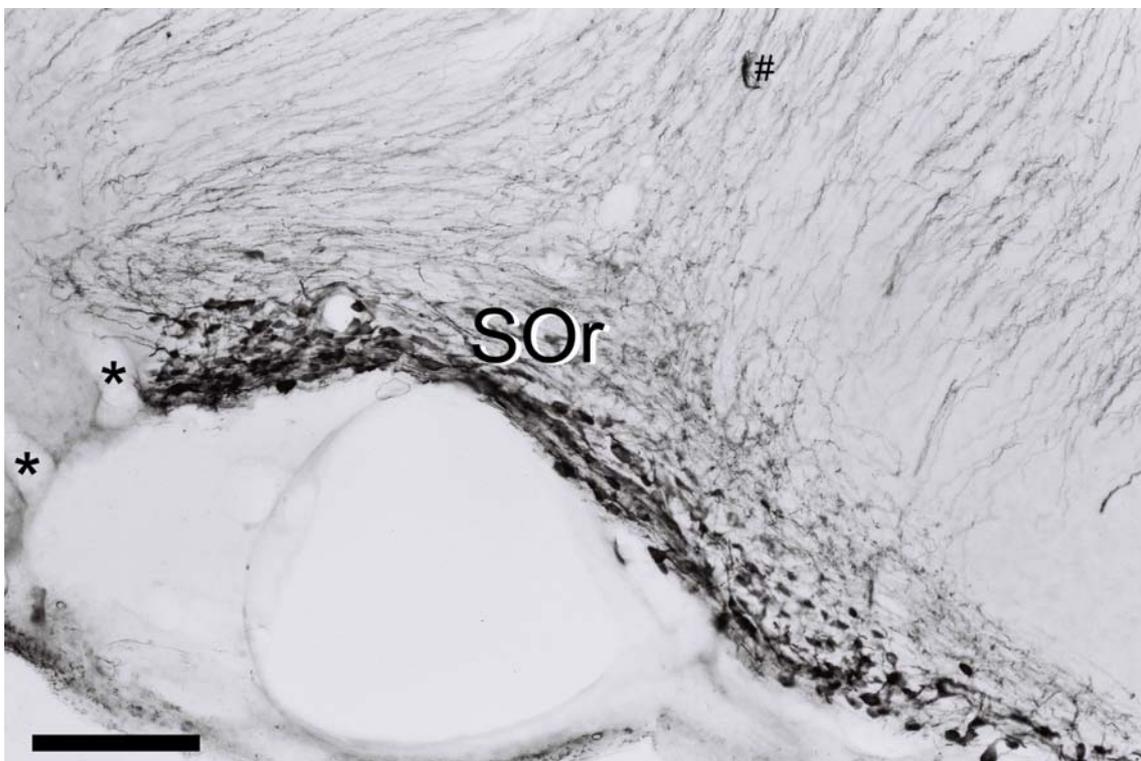


Abb. 87. Koronalschnitt durch den rostralen Teil des Nucleus supraopticus (SOOr) beim Graumull. VP-Immunhistochemie. *, Gefäßanschnitt; #, Artefakt. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

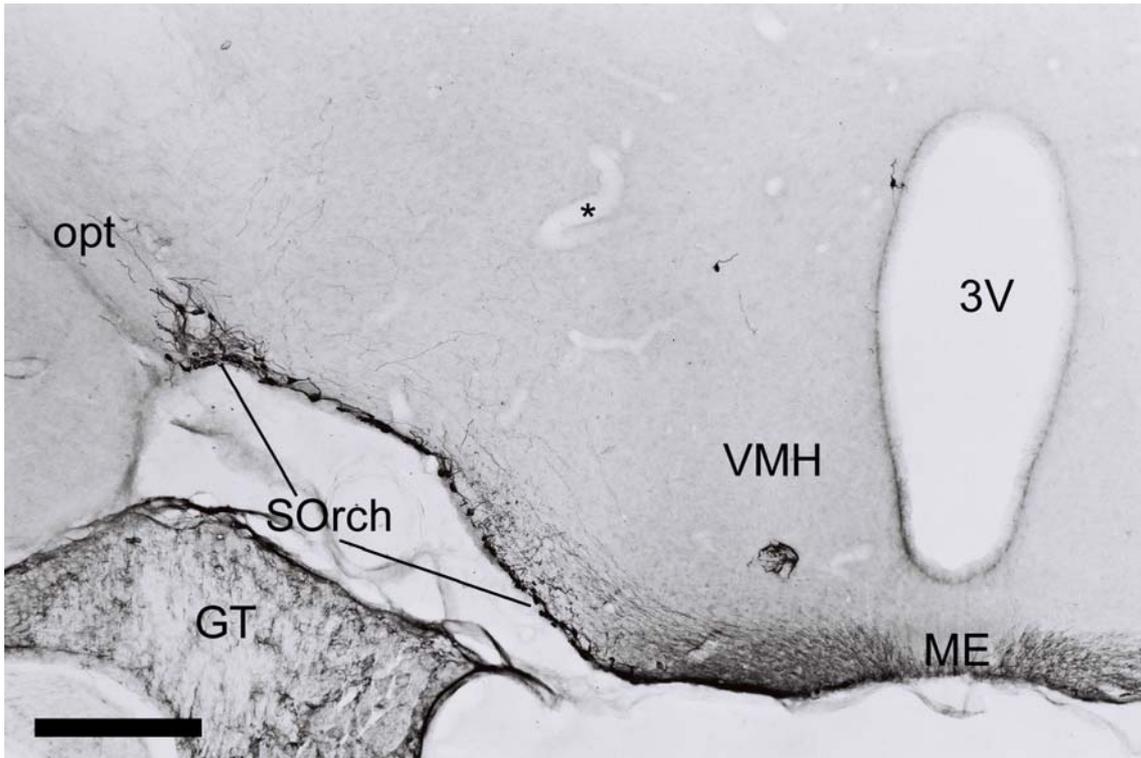


Abb. 88. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus (SOrch) beim Graumull. VP-Immunhistochemie. *, Gefäßanschnitte. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 µm.

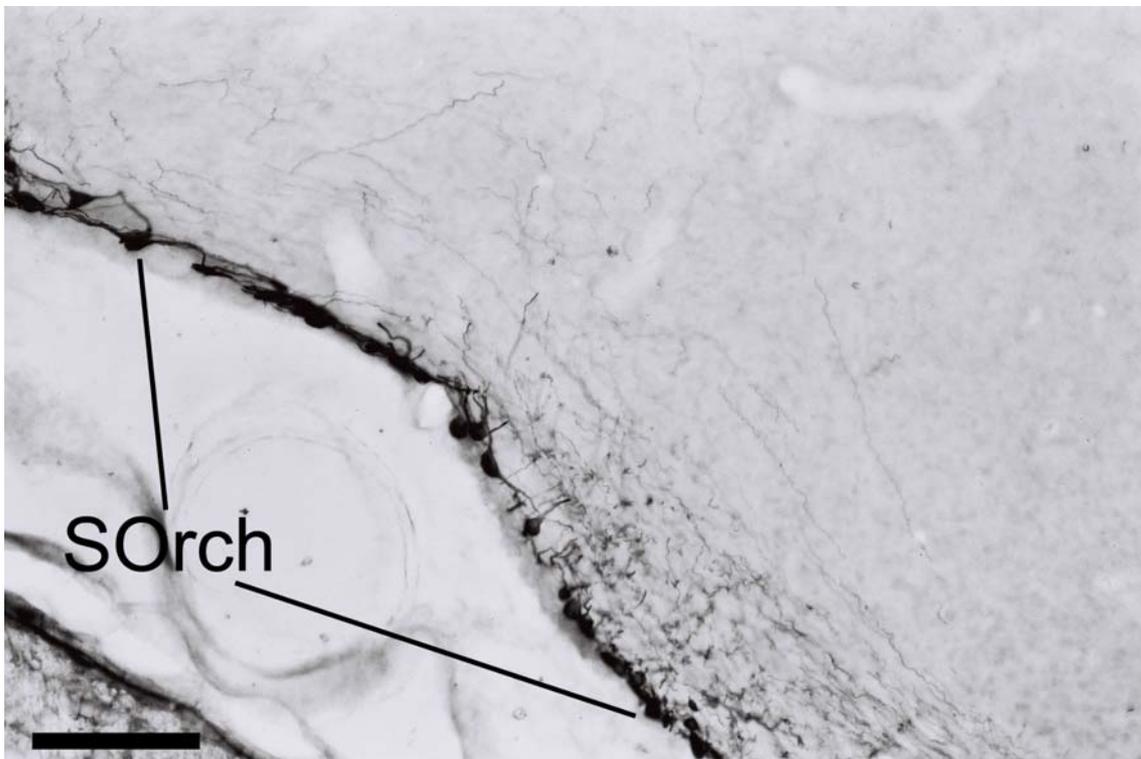


Abb. 89. Koronalschnitt durch den retrochiasmatischen Teil des Nucleus supraopticus (SOrch) beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 88. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 µm.

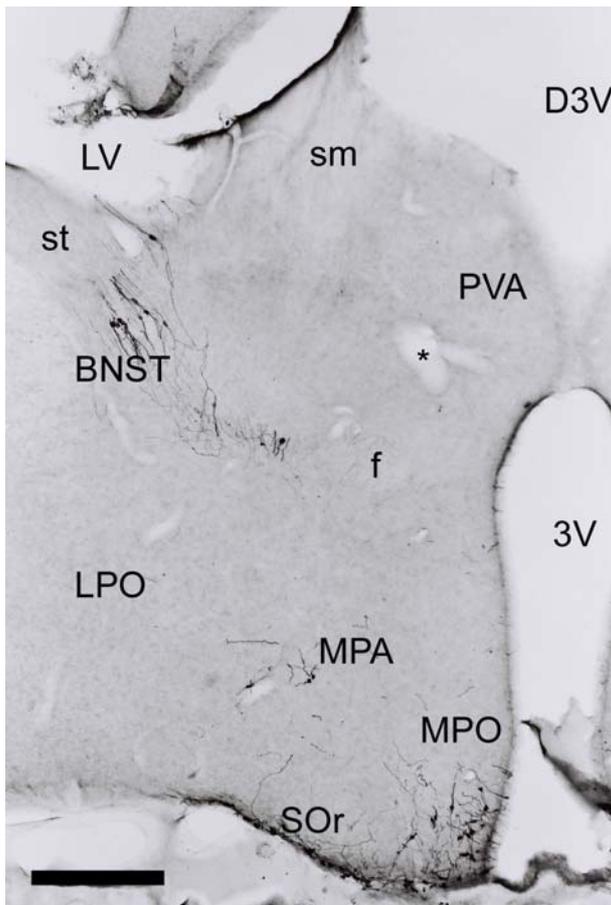


Abb. 90. Koronalschnitt durch die prä-optische Region des Hypothalamus beim Graumull zur Demonstration der akzessorischen Neuronenpopulation (ACC). **VP-Immunhistochemie.** Vergrößerung 40x. *, Gefäßanschnitt. Maßstab: 500 μ m.

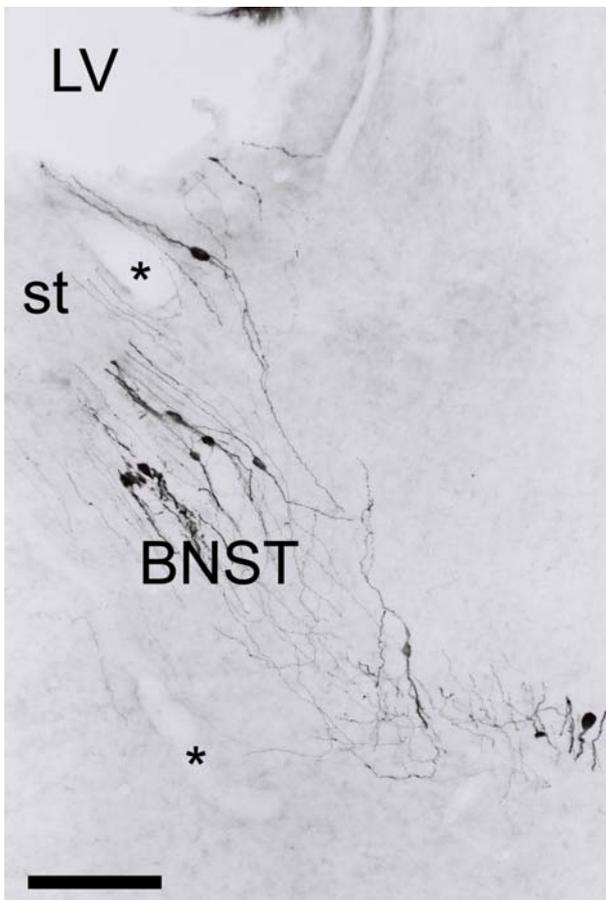


Abb. 91. Koronalschnitt durch die prä-optische Region des Hypothalamus beim Graumull VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 90. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μ m.

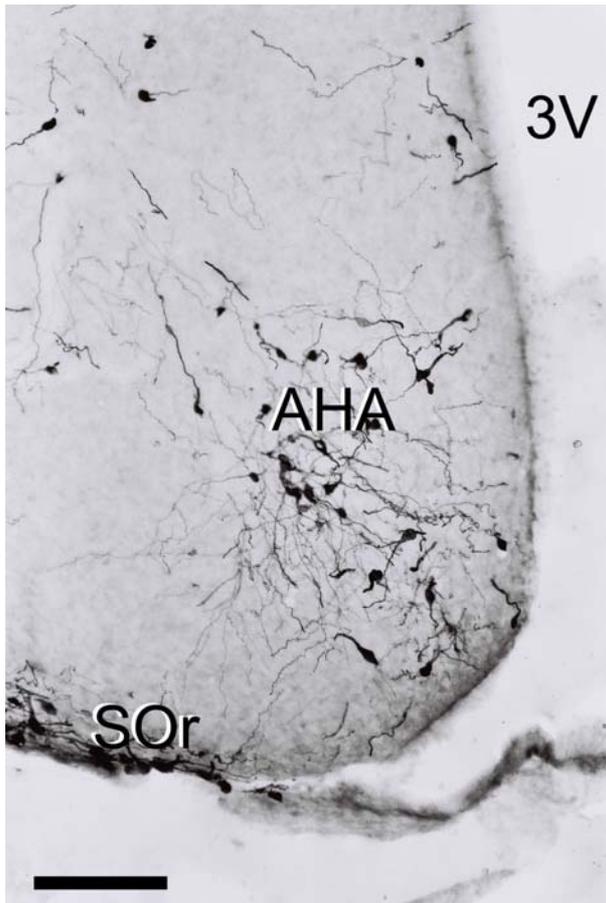


Abb. 92. Koronalschnitt durch die vordere hypothalamische Region beim Graumull zur Demonstration der akzessorischen Neuronenpopulation (ACC). Vasopressin-Immunhistochemie. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μ m.

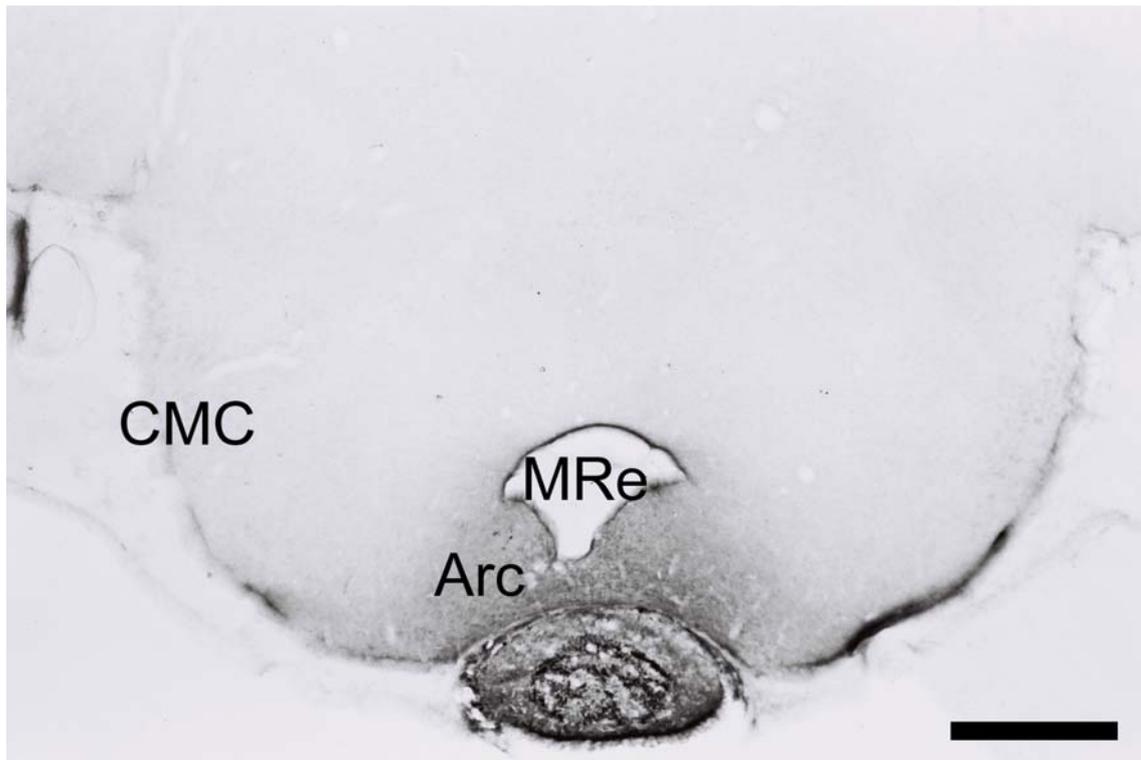


Abb. 93. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare, rostraler Teil beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Vergrößerung 40x. Maßstab: 500 μm .

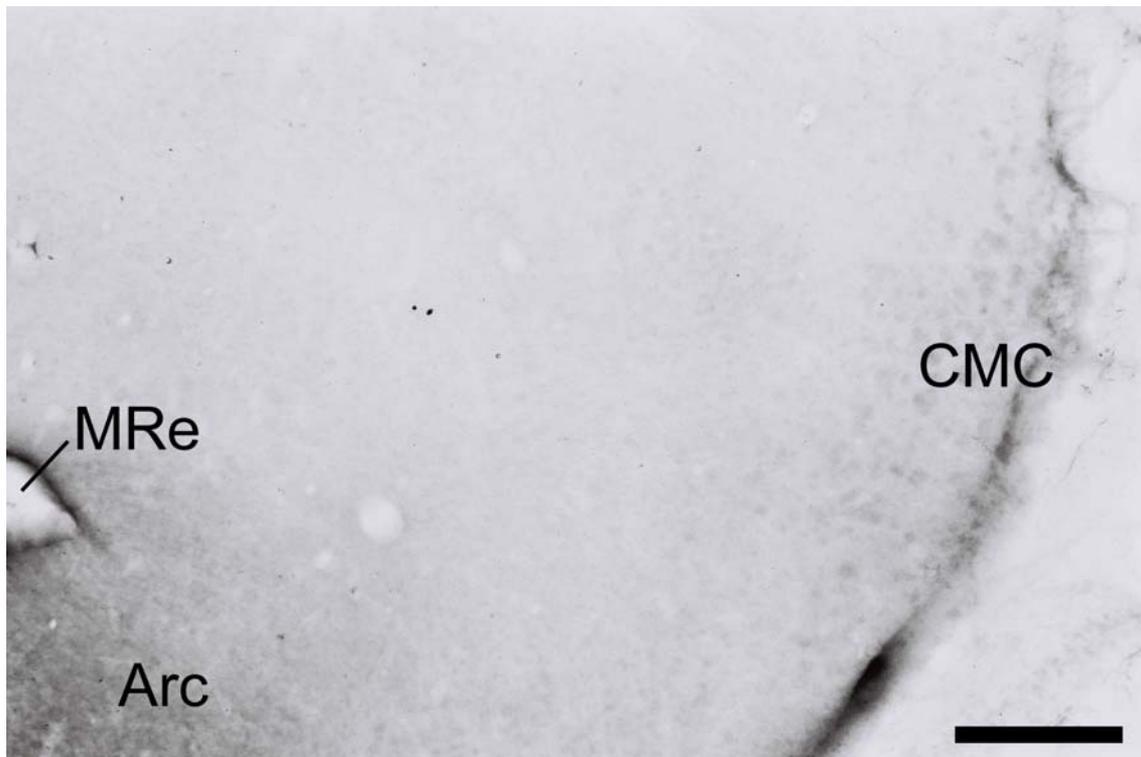


Abb. 94. Koronalschnitt durch das Corpus mamillare, rostraler Teil beim Graumull. VP-Immunhistochemie. Detail von Abb. 93. Vergrößerung 100x. Maßstab: 200 μm .

VI. Diskussion

1. *Interspezifischer Vergleich der oxytocin- und vasopressinergen Neuronenpopulationen bei Ratte und Graumull.*

Allgemeines. In die vorliegende Arbeit wurden neben den vierzehn Graumullen vier Exemplare der Laborratte (Sprague-Dawley) einbezogen, da diese Spezies als ein Standardorganismus der experimentellen Neurobiologie im Gegensatz zum Graumull gut untersucht ist. Eigene Befunde an der Ratte verbesserten demzufolge die Ausgangslage für die Untersuchungen am Graumull; gleichzeitig gestatteten sie (in Grenzen) die Validierung der in der Literatur bisher publizierten Ergebnisse. Grundlegende Voraussetzung für den *interspezifischen* Vergleich der beiden Nagetierspezies war die *intraspezifische* Konsistenz der morphologisch-topographischen Befunde sowohl in den Routineschnitten als auch in den immunhistochemisch markierten Schnitten: sowohl innerhalb der Ratten als auch innerhalb der Graumulle traten keine wesentlichen Unterschiede auf (s.u.). Die detaillierte *intraspezifische* Analyse der Graumulle folgt im Abschnitt VI.2.

Zur Methodik. Die vorliegenden Befunde zur Topographie bzw. Verteilung der oxytocinergen und vasopressinergen Neuronen im Gehirn von Ratte und Graumull wurden einerseits auf der Grundlage des Standardwerkes von PAXINOS (1995; Ratte) erhoben, andererseits im Vergleich mit zusätzlichen (Paraffin-) Schnittserien des Graumulls (Kresylechtviolett) unserer Arbeitsgruppe. Die Ergebnisse an der Ratte stimmen mit der einschlägigen Literatur (RHODES ET AL. 1981, PAXINOS 1995) gut überein (Positivkontrolle) und berechtigen zu der Annahme, daß die immunhistochemische Markierung als braunschwarzes, intrazelluläres Labeling sowohl bei der Ratte als auch beim Graumull für beide Transmitter spezifisch ist. Die sehr dunklen Zellen und ihre Fortsätze sind von der blaß hellbraunen „Färbung“ des übrigen Hirngewebes (Hintergrund) eindeutig zu unterscheiden. Eine gewisse schwache Tingierung des Hintergrundes ist im übrigen für die topographische Zuordnung und die Identifikation der gelabelten Neuronenpopulationen von Vorteil. Im immunreaktiven, meist sehr dunkel markierten und teilweise granuliert erscheinenden Zytoplasma einiger Perikaryen ist ein heller, immun-negativer „Schatten“ des Zellkerns vorhanden. Im Ge-

gensatz dazu haben manche Neuronen ein so intensives Labeling, daß der Kernschatten stark überlagert ist. Über die Fragen, ob es sich hierbei vielleicht um verschiedene Neuronenpopulationen handelt, ob die unterschiedlich starke Markierung Ausdruck der momentanen Syntheseaktivität der Neuronen ist oder ob manche dieser Perikaryen lediglich tangential angeschnitten wurden, kann an dieser Stelle nur spekuliert werden. Die Schwierigkeiten im *interspezifischen* quantitativen Vergleich zwischen Ratte und Graumull wurden bereits im Ergebnisteil (S. 91) besprochen, und angesichts dieser Probleme werden in der folgenden Diskussion vor allem Unterschiede mit qualitativem Charakter berücksichtigt.

Die Ergebnisse. Bei der Durchmusterung der Schnittserien der *Rattengehirne* von rostral nach kaudal fiel auf, daß der in der Literatur als distinkter Kern gewertete Nucleus commissuralis anterior (CoA) bei unseren Ratten ebenfalls selektiv oxytocinerg ist (PETERSON 1966, HOU-YU ET AL. 1986, ARMSTRONG 1994). In korrespondierenden, mit anti-Vasopressin markierten Schnitten wurde pro Ratte im CoA nur eine sehr geringe VP-Immunreaktivität (0-4 VP-Neuronen und etwas Neuropil) ermittelt, was mit den Angaben in der Literatur übereinstimmt. Dieser Befund liefert noch einen weiteren wichtigen Hinweis: Der von uns verwendete OX-Antikörper erwies sich bei den Reihen-Inkubationen als eindeutig spezifisch (vgl. Material und Methode); eine Kreuzreaktion des Vasopressin-Antikörpers mit dem Antigen Oxytocin konnte also ausgeschlossen werden. Beim *Graumull* dagegen läßt sich ein Nucleus commissuralis anterior (CoA) weder über die Topographie der Region noch anhand der Morphologie der Neuronen bzw. ihrer Verschaltung nachweisen; hier ist weder in Routine-schnitten noch in immunhistochemisch gelabelten Schnitten ein dem Nucleus commissuralis anterior der Ratte entsprechendes Kerngebiet zu finden. Eine mögliche einfache Erklärung dieser Beobachtung könnte in der Annahme bestehen, daß das Blastem des Nucleus commissuralis anterior der Ratte in der Ontogenese durch einwachsende Fasermassen vom kaudal angrenzenden Hauptteil des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa) abgetrennt wurde. Infolge fehlender Informationen über die Spezifität der Projektionen des CoA der Ratte scheint eine Wertung desselben als eigenständiger Kern fraglich; möglicherweise entspricht der CoA funktionell wie auch strukturell dem rostralen Teil des Nucleus paraventricularis hypothalami (Pa). Daß diese Unterschiede zwi-

schen Ratte und Graumull auf methodische Aspekte zurückzuführen sind, konnte ausgeschlossen werden, da im Nucleus commissuralis anterior der Ratte mit *identischem* Antikörper erfolgreich OX-ir Neuronen detektiert worden sind. Auch die Körpergröße/ Hirngröße dürfte hier keine allzu große Rolle spielen. Das Meerschweinchen, ein weiterer Nager, dessen Hirngewicht eher dem der Ratte entspricht, weist keinen Nucleus commissuralis anterior auf (SOFRONIEW 1983). Unsere Befunde spiegeln daher eher einen strukturellen Unterschied im oxytocinergen System von Ratte und Graumull wider.

Bei Betrachtung der hier bearbeiteten Kerngebiete bestätigt sich der Verdacht auf weitere morphologische Unterschiede zwischen den beiden Spezies. So erschweren topographische Unterschiede der Strukturen des Zwischenhirns, welche vermutlich artspezifisch und nicht etwa nur größenbedingt sind, beim Graumull die Abgrenzung von Kerngebieten. Dagegen weisen die Nuclei und Subnuclei im Hypothalamus der Ratte deutlichere Grenzen auf: Beispielsweise läßt sich der Nucleus paraventricularis hypothalami der Ratte in der Routinefärbung (Kresylechtviolett) und in der Immunhistochemie in deckungsgleiche Subnuclei aufteilen. In Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur (ARMSTRONG 1995) exprimierte bei unseren Ratten die Pars medialis magnocellularis des Nucleus paraventricularis hypothalami (PaMM) vorwiegend Oxytocin und die Pars lateralis magnocellularis (PaLM) hauptsächlich Vasopressin. Beim Graumull dagegen ließen sich mit unserer Methodik weder einzelne Subnuclei abgrenzen noch ein damit vergleichbares transmitterspezifisches Expressionsmuster wie bei der Ratte nachweisen. Daraus folgt, daß neuroanatomische Verhältnisse der Ratte nicht ohne eine vorherige detaillierte Analyse auf andere Spezies „übertragen“ werden können.

Das Verteilungsmuster (qualitative Analyse) der akzessorischen magnozellularären neurosekretorischen Neuronen (ACC) im oxytocinergen System des Graumulls entspricht weitgehend dem der Ratte. Die quantitative Analyse zeigt, obwohl für eine Ratte weniger Hirnschnitte ausgewertet werden konnten als für einen Graumull, daß die Anzahl der OX-ir Neuronen bei den Ratten (unkorrigiert und korrigiert) im Durchschnitt deutlich über jener der Graumulle liegt (vgl. Tab. 47, 48). Im Rahmen der detaillierten Analyse konnte diese Abweichung auf ein stärkeres Labeling in der Area hypothalamica lateralis (LH) der Ratte und dem dort lokalisierten Nucleus des medialen Vorderhirnbündels (PETERSON 1966)

zurückgeführt werden: Die Ratte besitzt im lateralen Hypothalamus um den Faktor 7 mehr oxytocinerge Neuronen als der Graumull. Im Nucleus paraventricularis hypothalami hingegen weist die Ratte nur etwa doppelt so viele Neuronen auf wie der Graumull (vgl. Tab. 47, 48). Eine solche Differenz in der Zahl der Neuronen um den Faktor 7 läßt sich weder mit der unterschiedlichen Körpergröße von Ratte und Graumull noch mit den o.g. methodischen Schwierigkeiten erklären.

Ein bedeutendes Einzelergebnis der vorliegenden Arbeit ist die erstmalige Beschreibung einer beim Graumull exklusiv und konsistent auftretenden Oxytocin-Expression im Corpus mamillare. Da in der Literatur über Säugetiere eine oder mehrere hier lokalisierte OX-ir Neuronenpopulationen bislang unbekannt waren und ein Atlas über das Graumullgehirn noch fehlt, stellte die Zuordnung dieser Neuronen zu definierten Kerngebieten eine besondere Herausforderung dar. Bei beiden Spezies (Ratte und Graumull) lassen sich die zytologisch auffälligen Perikaryen anhand von Routinefärbungen in topographisch korrespondierenden Arealen nachweisen. Neuroanatomisch gesehen gehören diese magnozellularen Neuronen dem Nucleus tuberalis magnocellularis (TMC), dem Nucleus caudalis magnocellularis (CMC) und dem Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis (PCMC) an (BLEIER and BYNE 1985). Die drei Nuclei können, da sie laut Literatur bisher weder zytologische noch physiologische Unterschiede zeigen, vorläufig als eine funktionelle Einheit betrachtet werden. Die Ratte zeigte dagegen weder in unseren Untersuchungen noch in der einschlägigen Literatur eine vergleichbare oxytocinerge Markierung. Auch intensive Literaturrecherchen ergaben bei anderen Säugetieren keinerlei Hinweise auf die Existenz einer OX-Expression in dieser Region. Immunhistochemische Experimente an Ratten hatten bisher lediglich gezeigt, daß die magnozellularen Neuronen von TMC, CMC und PCMC γ -Aminobuttersäure (GABA) und das für die GABA-Synthese notwendige Enzym, die Glutamat-Decarboxylase, exprimieren (VINCENT and HÖKFELT 1983). Retrograde Tracerstudien an dieser Neuronenpopulation lieferten den morphologischen Beweis für eine direkte GABAerge Verbindung zwischen den magnozellularen Neuronen der Mamillarregion und der Hirnrinde, d.h. den Nachweis eines weitreichenden Inputs in verschiedene Regionen des Neokortex (VINCENT and HÖKFELT 1983). Eine direkte Verbindung zwischen Hypothalamus und Neocortex ohne Beteiligung des sonst zwischen-

geschalteten Thalamus war bis dahin noch nicht bekannt gewesen. Zur Untermauerung unserer Ergebnisse, und um mögliche Kreuzreaktionen mit dem strukturell sehr ähnlichen Vasopressin auszuschließen, wurden korrespondierende Hirnschnitte der betreffenden Region auf VP getestet. Bei der Markierung mit Anti-Vasopressin war bei Ratte und Graumull der gesamte Mamillarkörper frei von Immunreaktivität, so daß eine Kreuzreaktion des Vasopressin-Antikörpers mit Oxytocin erneut ausgeschlossen ist. Diese „neue“ oxytocinerge Neuronenpopulation (N) unterscheidet sich morphologisch und in ihrer Immunreaktivität von den übrigen magnozellulären OX-ir Neuronen im Nucleus paraventricularis hypothalami und im Nucleus supraopticus. Die Durchmesser der Perikaryen in N sind kleiner; das Zytoplasma ist zwar spezifisch, aber deutlich schwächer gelabelt. Es zeigen sich nur sehr diskret immunreaktive Dendriten, die z.T. sternförmig um die zugehörigen Perikaryen stehen. Möglicherweise kommt der verminderte Antigengehalt dieser Neuronenpopulation gerade in den dünnen Dendriten optisch besonders zum Tragen und die Sensitivität der Methode reicht gerade noch aus, um sie zu erahnen. Dies spielt insofern eine Rolle, da die hier angewandte Methode gut geeignet ist, die jeweiligen Antigene unter physiologischen Bedingungen zu detektieren. Um genaue Aussagen über die intrazelluläre Quantität eines Antigens zu treffen, sind der Immunhistochemie andere Methoden vorzuziehen.

In vielen Studien wird die experimentelle Vorbehandlung der zu untersuchenden Tiere mit Colchicin proklamiert, um die „Sensitivität der Immunhistochemie zu erhöhen“ (VINCENT and HÖKFELT 1983), in Wahrheit wird jedoch nur die Menge des Antigens im Neuron erhöht. Maxime dieser Arbeit war es, eine Verfälschung der Ergebnisse infolge unphysiologischer Parameter zu vermeiden, weshalb wir bewußt auf dieses Verfahren verzichteten (s. S.149).

Zur Verhaltensbiologie. Lebensäußerungen wie das Sozialverhalten und das Reproduktionsverhalten bzw. monogame Familienstrukturen und Eusozialität sind intellektuell gesehen sehr anspruchsvolle und schwer zu durchschauende Phänomene. Die Suche nach einem morphologisch-anatomischen Korrelat, welches als eine Art „Zentrum“ solches Verhalten generiert, ist mit größten Schwierigkeiten behaftet. Die hier erstmals beschriebene Existenz einer oxytocinergen, spezies-spezifischen Neuronenpopulation in der Mamillarregion eines eusozialen Säugetieres kann immerhin als ein weiterer potentieller Baustein im

Verständnis von Monogamie und Sozialverhalten gelten. Eine Besonderheit dieser OX-ir Neuronen könnte darin bestehen, daß sie, anders als die übrigen magnozellulären Neuronen des Hypothalamus, nicht in die Neurohypophyse, sondern (wie die GABAergen Neuronen dieser Nuclei) diffus aber exklusiv ins Telencephalon projizieren, um möglicherweise emotionale und andere limbische sowie viszerale Informationen auf kortikale Strukturen zu übertragen (vgl. VINCENT and HÖKFELT 1983).

Von großem Interesse für zukünftige Untersuchungen wären der Nachweis oxytocinergere mamillärer Projektionen in den Neocortex des Graumulls, analog zu den GABA-ergen Neuronen der Ratte (VINCENT and HÖKFELT 1983), sowie einer möglichen Koexpression von GABA und OX in den magnozellulären Neuronen des Mamillarkörpers.

2. Intraspezifischer Vergleich der oxytocin- und vasopressinergen Neuronen beim Graumull

Die qualitativen und quantitativen Analysen der oxytocinergen sowie der vasopressinergen Neuronen in vierzehn Graumullgehirnen zeigten keine signifikanten Unterschiede. Die Werte für die Neuronen pro Hirnareal waren geradezu erstaunlich konstant, was angesichts der stark unterschiedlichen Körpergröße der einzelnen Graumulle, ihrer Zugehörigkeit zu verschiedenen Familien sowie zu unterschiedlichen hierarchisch/sozialen Niveaus nicht erwartet werden konnte. Daher muß wohl davon ausgegangen werden, daß das oxytocinerge und das vasopressinerge System formal gesehen bereits postnatal topographisch sowie quantitativ voll entwickelt sind. Eine postnatale Proliferation von Neuronen, welche ohnehin als eher unwahrscheinlich gilt (Ausnahme: Hippocampus), findet demnach nicht statt.

Ein juveniles Tier, das noch von der Mutter gesäugt wurde, entsprach in der Verteilung der Transmitter und in der Anzahl immunreaktiver Neuronen ausgewachsenen reproduktiven Tieren, die bei unserer Untersuchung mitunter zehn Jahre alt waren und ein Vielfaches an Gewicht aufwiesen (s. Tab. 3, 4). Auch die reproduktiven Weibchen, welche zum Zeitpunkt der Perfusion beide trächtig waren und somit soziosexuell eine Sonderstellung einnahmen, zeigten weder für den Transmitter Oxytocin noch für Vasopressin eine von den übrigen Grau-

mullen abweichende Expression. Das Fehlen von qualitativen und quantitativen Unterschieden innerhalb der Graumulle untermauert insgesamt die verhaltensbiologische Prämisse, daß bei dieser Spezies weder eine genetisch determinierte lebenslange Persistenz der Individuen in sog. Kasten noch eine durch Pheromone oder die Aggressivität der „Königin“ erzwungene sexuelle Suppression (wie beim Nacktmull, *Heterocephalus glaber*) besteht. Die „Inzestvermeidung“ bei jenen adulten Graumullen, die zwar potentiell fertil, aber trotzdem non-reproduktiv sind, liegt somit nicht in strukturellen Veränderungen des OX/VPergen Systems begründet, sondern ist vielmehr durch die Fähigkeit der individuellen Wiedererkennung zu erklären (COONEY and BENNETT 2000; BURDA, pers. Mitt.). Diese Tiere hatten bis dato lediglich keine Gelegenheit (kein Glück), einen geeigneten Partner von außerhalb zu finden, so daß (wie auch bei Menschenfamilien) ältere, potentiell reproduktionsfähige Kinder bei ihren Eltern bleiben und sich um jüngere Geschwister kümmern. Ihre eigene Reproduktion tritt bei diesen Graumullen in den Hintergrund, weil der Bruder für die Schwester sexuell nicht attraktiv ist und vice versa („Inzest-Tabu“) und darüber hinaus kein anderer Partner zur Verfügung steht (BURDA 1995). Verhaltensbiologische Experimente belegen diese Theorie: Nimmt man beispielsweise ein adultes Männchen aus seinem Familienverband heraus und versucht, es mit seiner Schwester separat zu verpaaren, so gelingt dies aufgrund der individuellen Wiedererkennung nicht. Nimmt man allerdings anstelle der Schwester ein dem Männchen unbekanntes Weibchen, so kopulieren die Tiere (außerhalb der Familienstruktur) innerhalb kürzester Zeit (CLARKE ET AL. 2001, BURDA, pers. Mitt.).

In der Literatur wird derzeit viel über die verhaltens- und neurophysiologischen Grundlagen dieser speziellen Gedächtnisform spekuliert. Das Phänomen der individuellen Wiedererkennung setzt die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses voraus und beruht auf der Fähigkeit von Tieren, unbekannte Artgenossen intensiver zu erforschen als ihnen bereits bekannte (POPIK and VAN REE 1998): Wiederholte Kontakte mit dem noch unbekanntem Tier sind hier förderlich. Experimente konnten zeigen, daß die zentrale Gabe von Vasopressin die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses erleichtert, wogegen die Oxytocinapplikation je nach Dosis entweder hemmenden oder fördernden Einfluß haben kann (FERGUSON ET AL. 2000).

Transgene Mäuse, denen das Gen zur Oxytocinsynthese fehlt, sind außerstande, ein soziales Gedächtnis wie der Wildtyp zu entwickeln. Eine Behandlung der Oxytocin-Knock-out (OX -/-)-Mäuse mit Oxytocin ermöglicht diesen die Ausbildung ihres sozialen Gedächtnisses, während die Gabe eines OX-Antagonisten bei Wildtyp-(OX +/+)-Mäusen einen amnesieähnlichen Effekt erzielt. Diese Erkenntnisse lassen vermuten, daß zur Ausprägung von sozialen Gedächtnisformen eine definierte Dosis an Oxytocin erforderlich ist. Folgestudien zeigten, daß vor allem die OX-Expression und die anschließende Rezeptoraktivierung in der medialen Amygdala einen fördernden Einfluß auf die individuelle Erkennung hat (FERGUSON ET AL. 2001). Bei Stimulation im Verhaltensexperiment im Sinne einer forcierten Verpaarung kam es bei Wildtyp-Mäusen in der medialen Amygdala zu einer spezifischen Steigerung des c-Fos-Proteins*, eines Onkoproteins, welches als Marker für die Aktivität von Neuronen genutzt wird (s.a. NAKAMURA 1999, OELSCHLÄGER ET AL. 2000, NĚMEC ET AL. 2001, OELSCHLÄGER ET AL. 2002). Die OX-Knock-out-Mäuse hingegen weisen einen dramatischen Anstieg der c-fos-Expression im somatosensorischen Kortex und im Hippocampus auf, was in diesem Zusammenhang möglicherweise als eine kompensatorische Verarbeitung von sozialen Reizen in alternativen Zentren zu verstehen ist (FERGUSON ET AL. 2001).

3. Die Ergebnisse beeinflussende Faktoren

Die immunhistochemischen Markierungen können durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden:

3.1. Methodische Faktoren

Sämtliche Experimente wurden unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Die Perfusionen erfolgten in ähnlichen jahreszeitlichen sowie tageszeitlichen Zeitfenstern. Mögliche Störgrößen wie beispielsweise das Dursten der Tiere, welches mit einer übermäßigen Produktion an antidiuretischem Hormon (ADH= Vasopressin) einhergeht, galt es zu vermeiden. So hatten die Ratten wie

* Eine Erhöhung des Onkoproteins c-Fos beruht gewöhnlich darauf, daß es aufgrund eines adäquaten Reizes zu einer Aktivierung und zur Induktion der c-fos-Expression im Zellkern kommt und das nachfolgend synthetisierte c-Fos-Protein dort kumuliert.

sonst Futter und Wasser ad libitum, die Graumulle ihr gewohntes wasserreiches Futter (Kartoffeln, Karotten, Äpfel; sie trinken nicht). Im übrigen wurde sehr darauf geachtet, daß die Tiere während und nach der Eingewöhnung im Institut keinen externen Stressoren ausgesetzt waren. Um die Graumullindividuen quantitativ korrekt miteinander vergleichen zu können, war es auch zwingend notwendig, sämtliche Inkubationsreihen mit demselben Antikörperserum durchzuführen. Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe zeigten mehrfach, daß Antikörperseren aus verschiedenen Fläschchen (vials) desselben Herstellers mit identischer Lot-Nummer bei identischem immunhistochemischem Protokoll trotzdem unterschiedlich intensive Markierungen ergeben können.

3.2. Zur Problematik der Colchicinbehandlung

Viele Autoren wählen für ihre immunhistochemischen Projekte eine Behandlung der Versuchstiere mit Colchicin, einem Mitosespindelgift. Dieses hat zum Ziel, die Antigenität der Zellen kumulativ zu steigern, d.h. Colchicin soll ermöglichen, selbst Neuronen mit einer diskreten (schwachen) Antigenproduktion zu detektieren (ALONSO 1988). Diese Steigerung der Antigenität macht man sich beispielsweise bei der Darstellung parvozellulärer hypothalamischer oxytocinerger sowie vasopressinerner Neuronen zu Nutze, die ohne eine Colchicinvorbehandlung kaum sichtbar gemacht werden können* (SOFRONIEW 1983).

In dieser Arbeit wurde aus mehreren Gründen auf die Behandlung mit Colchicin verzichtet. Entscheidend für die Planung der Untersuchung war, daß bei physiologisch intakten und ungestörten Tieren potentiell vorhandene Unterschiede in der Verteilung der Neuropeptide nachgewiesen werden sollten. Eine derart belastende Behandlung wie die intrazerebrale Injektion von Colchicin 24-48h vor Tötung der Tiere wäre für die Qualität der Ergebnisse mit Sicherheit nachteilig gewesen. Nicht nur der Eingriff stellt eine extreme Stresssituation dar (Narkose, Manipulation, fragliche zerebrale Läsionen), deren Einfluß auf das peptiderge System nicht abgeschätzt werden kann, sondern auch der Colchicineffekt selbst verändert das physiologische Bild nachhaltig. Colchicin als Mito-

* Ausnahmen sind die parvozellulären Oxytocin (OX)- und Vasopressin (VP)-ergen Neuronen des Nucleus paraventricularis hypothalami und die parvozellulären VP-ergen Neuronen des Nucleus supra-chiasmaticus, die teilweise auch ohne eine Colchicinvorbehandlung immunhistochemisch dargestellt werden können.

sespindelgift hemmt die Polymerisation von Tubulin zu Mikrotubulin und verhindert den anterograden axonalen Transport (KARROW and LANG 1999). Dies führt zu einem unphysiologisch hohen Anstieg des Neuropeptidgehalts in den Perikaryen. Gleichzeitig entsteht in den Axonen (und den Dendriten) ein entsprechender relativer Mangel. Dieser relative Mangel an Neuropeptiden in den Faserbahnen bedingt zwangsläufig auch eine Mangelsituation in den Zielgebieten. Es läßt sich darüber spekulieren, ob diese unnatürliche Stoffwechsellage eine Aktivierung von positiven bzw. eine Hemmung von negativen feed-back-Mechanismen zur Folge hat, doch dürfte in jedem Fall eine physiologische Verteilung der Transmitter nicht mehr sicher gewährleistet sein.

3.3. Geschlechtsdimorphismus

Strukturelle geschlechtsspezifische Unterschiede sind auf fast jeder Ebene des Säugetier-Gehirns anzutreffen (DEVRIES 1990, DEVRIES and BOYLE 1998). Beispielsweise zeigt bei Wühlmäusen die Quantität vasopressinerner *Fasern* im lateralen Septum einen signifikanten Geschlechtsdimorphismus (BAMSHAD ET AL. 1993, 1994; WANG ET AL. 1996), dasselbe gilt für die vasopressinergen Neuronen im Nucleus striae terminalis und in der Amygdala der Ratte (AL-SHAMMA and DEVRIES 1996). Daher käme auch beim Graumull eine geschlechtsabhängige Verteilung der Peptidhormone prinzipiell in Betracht. Der lichtmikroskopische Vergleich immunmarkierter zerebraler Strukturen bei beiden Geschlechtern ergab bei unseren Graumullen allerdings keine geschlechtsspezifischen Auffälligkeiten. Um gesicherte Aussagen zur Situation bei der Ratte treffen zu können, war die Zahl der hier untersuchten Tiere allerdings zu gering. Die Frage nach möglichen geschlechtsabhängigen Unterschieden auf der Ebene der Ultrastruktur kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß auch bei trächtigen Weibchen, trotz deren endokrinologischer Sonderstellung, keine lichtmikroskopische Abweichung in der OX/VP-Expression erkennbar war.

3.4. Die neuronale Plastizität

Dieses Phänomen gilt als eine zerebrale Antwort auf markante Änderungen der Lebensverhältnisse von Säugetieren. So bleibt die Fähigkeit zur Reorganisation

synaptischer Verbindungen prinzipiell auch im adulten Nervensystem erhalten. Die natürliche Plastizität der Synapsen wird beispielsweise durch endogene Faktoren wie saisonale Schwankungen von Sexualhormonen sowie durch Langzeit-Anpassungen der neuronalen Aktivität, etwa nach dem Verlust eines Sinnesorgans, beeinflusst. Läsionen im Bereich von Afferenzen und Efferenzen sowie die dauerhafte Applikation von zerebral wirksamen Medikamenten oder Hormonen verändern die neuronale Plastizität künstlich. Daher besteht sowohl für das vasopressinerge als auch für das oxytocinerge System die Möglichkeit der Modulation durch endogene und/oder exogene Einflüsse. Unter Dehydratation, bei Trächtigkeit sowie während der Geburt und der Laktationszeit zeigen Säugetiere morphologische Veränderungen in der Ultrastruktur magnozellularer hypothalamischer Neuronen. Die Perikaryen und ihre Dendriten vergrößern sich (DYBALL and GARTEN 1988), im Gegenzug ziehen sich Gliazellen zurück, um eine vermehrte Kontaktaufnahme und die Bildung axo-somatischer Synapsen mit umliegenden neuronalen Strukturen zu erleichtern (THEODOSIS and POULAIN 1992). Veränderungen dieser Art treten erst mit einer Latenz von etwa vierzehn Tagen auf und nach Absetzen des Stimulus gehen sie nur langsam wieder zurück. In unserem Fall waren streßbedingte Abweichungen von den physiologischen Verhältnissen bzw. Modulationen im oxytocinergen sowie im vasopressinergen System der Ratten und Graumulle angesichts der standardisierten artgerechten Haltungsbedingungen eher unwahrscheinlich. Die Ratten wurden einzeln gehalten und die etablierte Familienstruktur der Graumulle, ein für eusoziale Säugetiere besonders wichtiges Faktum, bis zum Zeitpunkt ihrer Tötung beibehalten.

4. Oxytocin und Verhalten

Untersuchungen an männlichen Rattengehirnen demonstrieren, daß emotionaler Stress zu einer signifikanten Steigerung der Oxytocin-Konzentration im Nucleus supraopticus und im ventrolateralen Teil des Hypothalamus sowie im mediolateralen Septum führt (EBNER ET AL. 2000). Die Oxytocin-Blutplasmaspiegel hingegen bleiben davon unbeeinflusst (ENGELMANN ET AL. 1999). Die Freisetzung von Oxytocin wird, je nachdem, ob periphere oder zentrale Effekte erwünscht sind, unterschiedlich reguliert. Während die Zusammenhänge noch

nicht bis ins Detail geklärt sind, wird vermutet, daß die topographischen und zeitlichen Sekretionsmuster des Hypothalamus auf unterschiedlichen zentralen Ebenen von neuronalen Schaltkreisen kontrolliert werden, um so eine der Situation angemessene Peptidantwort zu gewährleisten (ENGELMANN ET AL. 1999, EBNER ET AL. 2000).

Oxytocin, oft auch als „Liebeshormon“ bezeichnet, wird in weiblichen Präriewühlmäusen vor allem während der Paarung freigesetzt und führt zu zentralen Veränderungen, die das Weibchen an seinen Partner binden (YOUNG ET AL. 1998; CUSHING and CARTER 1999a; CARTER 2003). Darüber hinaus ist die Sekretion von Oxytocin bei einem Muttertier unter der Geburt an der Initiation des mütterlichen Verhaltens beteiligt, insbesondere dann, wenn der Lebensraum harsch und fürsorglichem Brutpflegeverhalten nicht förderlich ist (KENDRICK 2000, INSEL ET AL. 2001). Neurobiologisch gesehen spielt bei der Ausprägung von mütterlichem Verhalten die Gesamtmenge an sezerniertem Oxytocin eine entscheidende Rolle und neuroanatomisches Korrelat sind (ultra-) strukturelle Veränderungen im Nucleus paraventricularis hypothalami (GIOVENARDI ET AL. 1997). Iatrogene Läsionen dieses Nucleus (intra-hypothalamische Säureinjektion) oder eine plötzliche Reduktion der Gesamtmenge des sezernierten Oxytocins durch applizierte Antagonisten verstärken bei Rattenmüttern aggressives Verhalten. Allerdings sind diese Verhaltensweisen nur für ca. fünf Tage post partum provozierbar, wenn physiologischerweise ohnehin schon ein hohes Aggressivitätspotential besteht. Rattenweibchen, die sich in einer Phase niedriger Aggressivität befinden (achtzehn Tage post partum), zeigen auf die iatrogene Schädigung des Nucleus paraventricularis hypothalami keine derartigen Effekte (GIOVENARDI ET AL. 1998).

Ob sich dieses Modell auch auf menschliche Verhaltensweisen übertragen läßt und möglicherweise die Unfähigkeit einer Mutter, eine emotionale Bindung zu ihrem Kind aufzubauen, erklären kann, soll an dieser Stelle nicht bewertet werden. Derzeit ist kein genetischer Defekt bekannt, weder im Oxytocin-Gen noch im Oxytocin-Rezeptorgen, dem eines der oben beschriebenen Fehlverhalten zu Grunde liegen könnte.

Experimentell-genetische Studien zeigen, daß männliche Mäuse mit iatrogen inaktiviertem Oxytocin-Gen kein soziales Gedächtnis ausbilden, d.h. sie erkennen einen ihnen bereits „bekannten“ Artgenossen nicht wieder (FERGUSON

ET AL. 2000). Zusätzlich sind diese gendefekten Mäuse gegenüber eindringenden Artgenossen aggressiver als Mäuse mit intaktem Genom (WINSLOW ET AL. 2000) (vgl. Kapitel VI.2.). Ob und welches soziale Fehlverhalten als genetisch determiniert gelten darf und ob die Übertragung einer solchen „Sprachregelung“ auf den Menschen sinnvoll ist, die eine wissenschaftlich verbrämte Verabschiedung von der Verantwortung für das eigene Verhalten anderen gegenüber mit sich bringen würde, kann an dieser Stelle nicht beurteilt werden.

Monogame Säugetiere wie beispielsweise Präriewühlmäuse (*Microtus ochrogaster*), die sich lebenslang physisch wie geographisch an ihren Partner binden, zeigen im Vergleich mit nicht-monogam lebenden Bergwühlmäusen (*Microtus montanus*) und unabhängig vom Geschlecht in limbischen und hypothalamischen Regionen eine vermehrte Anzahl von OX-Rezeptoren. Phänotypisch gesehen ist das innerartliche Aggressionspotential der Präriewühlmäuse deutlich niedriger als jenes der Bergwühlmäuse.

Das Peptidhormon Oxytocin scheint, vereinfacht dargestellt, an der Ausbildung sozialer Kontakte mitbeteiligt zu sein (CARTER 2003). Eine zusätzliche Stimulation der betreffenden Hirnstrukturen kommt wahrscheinlich durch die Kooperation von Oxytocin mit opioiden Peptiden (v.a. β -Endorphinen) zustande, deren Konzentrationen bei Ausbildung sozialer Bindungen in den Belohnungszentren des ZNS ansteigen (BIRBAUMER and SCHMIDT 1996). In der Tat modulieren auch endogene Opioide bindungsbezogenes Verhalten. Beispielsweise werden bei Affen während der Körperpflege β -Endorphine ausgeschüttet (KEVERNE ET AL. 1989); ein ähnliches Phänomen beobachtet man bei Mutter-Kind-Beziehungen (NELSON and PANKSEPP 1998). Es wird angenommen, daß die Vermittlung von Sozialverhalten eng mit der Expression endogener „belohnender“ Opioide verknüpft ist (YOUNG ET AL. 2001).

5. Vasopressin und Verhalten

Vasopressin hat neben seinen peripheren Wirkungen wie der Aufrechterhaltung von Blutvolumen und -osmolarität noch zentrale Effekte wie die Stimulation der ACTH-Sekretion und die Modulation von Verhaltensweisen. Einige Wirkungen des Vasopressins, vor allem jene, die das Verhalten von Säugetieren beeinflussen, sind den Effekten des Oxytocins entgegengesetzt. So provozieren bei

männlichen Ratten Vasopressin-Injektionen in das laterale Septum oder in die Amygdala aggressives Verhalten (KOOLHAAS ET AL. 1998). Am Beispiel des Goldhamsters (FERRIS 2000) konnte gezeigt werden, daß die Ausprägung von aggressivem Verhalten an die Interaktion zwischen dem vasopressinergen und dem serotoninergen System geknüpft ist. Vasopressin wird während aggressivem Verhalten vermehrt freigesetzt und entfaltet seine Wirkung über den V_{1a} -Rezeptor; Serotonin dagegen dämpft über den 5-HT_{1A} -Rezeptor die Effekte des Vasopressins (FERRIS 2000). In ähnlicher Weise zeigen endokrinologisch-psychologische Untersuchungen von Menschen mit Aggressions- und Persönlichkeitsstörungen eine Aktivitätsminderung im zerebralen Serotoninsystem, was möglicherweise als ein Kriterium bei der wissenschaftlichen Erklärung pathologisch erhöhter Aggressionspotentiale gelten kann (COCCARO ET AL. 1998).

Obwohl weibliche Präriewühlmäuse deutlich weniger aggressiv sind als männliche Individuen, zeigen die Weibchen nach Applikation von Vasopressin vermehrt aggressives Verhalten, was durch die Gabe eines V_{1a} -Rezeptorantagonisten aufgehoben wird (STRIBLEY and CARTER 1999). Bei der männlichen Präriewühlmaus führt Vasopressin nach der Kopulation neben einer Steigerung der Aggressivität gegenüber Eindringlingen zu einer intensiven Bindung an seine Partnerin (WANG ET AL. 1998), weshalb Vasopressin oft auch als „Eifersuchtshormon“ bezeichnet wird. Möglicherweise besteht hier ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Aggressionspotential und den Konzentrationen von Vasopressin und dem vermehrt zirkulierenden Testosteron (RUSSELL 2002), da die Vasopressin-Expression unter anderem von männlichen Sexualsteroiden abhängig ist (DE VRIES and MILLER 1998). Es ist dennoch erstaunlich, daß zwei auf den ersten Blick gegensätzliche Verhaltensweisen wie die vehemente Vertreibung von Eindringlingen und intensives Paarbindungsverhalten über ein und dasselbe Hormon generiert werden (RUSSELL 2002, WINSLOW and INSEL 2004).

An dieser Stelle muß jedoch betont werden, daß neurobiologische Untersuchungen zur Modulation von Sozialverhalten oftmals an einer einzelnen Tierart erfolgen und daß die Effekte der Transmitter daher im artspezifischen Kontext gesehen werden sollten. Beispielsweise steigert Vasopressin die Aggressivität von männlichen monogam lebenden Präriewühlmäusen untereinander und fördert gleichzeitig das gegengeschlechtliche Bindungsverhalten (s.o.), wogegen

Vasopressin bei promiskuitiv lebenden männlichen Bergwühlmäusen keinerlei Beeinflussung des Verhaltens zeigt (YOUNG ET AL. 1997). Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß Vasopressin zwar einen Einfluß auf die Regulation von soziosexuellem Verhalten hat, dieser allerdings von der sozialen Organisation (monogam versus promiskuitiv) der jeweiligen Spezies abhängt.

6. Speziesunterschiede in der Verteilung von Oxytocin- und Vasopressin-Rezeptoren

Die zentralen Effekte von Oxytocin und Vasopressin werden über G-Protein-assoziierte Rezeptoren vermittelt. Es ist bislang nur ein einziger Oxytocin-Rezeptor (OX-R) bekannt, der zentral (Gehirn) und peripher (Uterus, Brustdrüse) vorkommt. Beim Vasopressin-Rezeptor unterscheidet man drei strukturell und pharmakologisch divergierende Subtypen (V_{1a} -R, V_{1b} -R, V_2 -R). Der V_{1a} - und der V_{1b} -Rezeptor werden im ZNS exprimiert, wobei der Großteil der verhaltensmodulatorischen Effekte dem V_{1a} -Rezeptor zugeschrieben werden (YOUNG ET AL. 1997). Vergleichend-neuroanatomische Studien ergaben deutliche Speziesunterschiede im Verteilungsmuster von OX-R und V_{1a} -Rezeptoren (INSEL and SHAPIRO 1992). Die monogam lebenden Präriewühlmäuse (*Microtus ochrogaster*) und Kiefernwühlmäuse (*Microtus pinetorum*) zeigen eine ähnliche Verteilung der OX- und V_{1a} -Rezeptoren, die sich von jener der promiskuitiv lebenden Bergwühlmäuse (*Microtus montanus*) und Wiesenwühlmäuse (*Microtus pennsylvanicus*) trotz des nahen Verwandtschaftsgrades deutlich unterscheiden. Solche Unterschiede in der Verteilung und Dichte der OX- und V_{1a} -Rezeptoren bei den einzelnen Spezies sind eine plausible Erklärung für die verschiedenen Hormoneffekte. Möglicherweise korreliert das topographische Vorkommen der Rezeptoren mit der sozialen Organisation einer Spezies (INSEL ET AL. 1994, YOUNG 1999). Unterschiede im Verteilungsmuster der Rezeptoren bei nahverwandten Spezies wiederum sind wahrscheinlich auf Mutationen in regulatorischen Elementen des kodierenden Rezeptorgens zurückzuführen. Allerdings ist die Beziehung zwischen der topographischen Rezeptorverteilung und dem Sozialverhalten nicht zwingend (YOUNG 1999). Offenbar sind die Zusammenhänge sehr komplex, da Untersuchungen gezeigt haben, daß nicht nur die Rezeptorverteilung zwischen den Spezies variiert, sondern zusätzlich auch die

Regulation der Rezeptorexpression durch geschlechtsspezifische Sexualsteroiden moduliert wird (CARTER 2003). Bei weiblichen Ratten beispielsweise induziert ein hoher Östrogenspiegel die Up-Regulation von OX-R im Nucleus ventromedialis (VMN; JOHNSON ET AL. 1991). In weiblichen Präriewühlmäusen, deren Östrus durch Pheromone induziert wird und bei welchen es erst nach der Kopulation zur Ovulation kommt, beeinflusst Östrogen die OX-R-Bildung im VMN nicht (WITT ET AL. 1991). Da beim Graumull über die Vorgänge beim Östrus kaum etwas bekannt ist und die Ovulation höchstwahrscheinlich durch wiederholte Kopulationen provoziert/induziert wird (WILLINGSTORFER ET AL. 1998), kann über die Anwendung der oben beschriebenen Beobachtungen auf diese Spezies nur spekuliert werden.

7. Paarungsstrategien und Umwelteinflüsse

Ökologische Faktoren wie das Klima, die Größe des Lebensraums und die Verfügbarkeit von Ressourcen sollen das Paarungsverhalten regulativ beeinflussen (FAULKES ET AL. 1997). Physiologische Mechanismen, die verschiedene Paarungsstrategien erklären, konnten jedoch bislang noch nicht nachgewiesen werden. Die Arbeitsgruppe um Bruce S. Cushing (CUSHING ET AL. 2000) untersuchte an zwei Populationen von Präriewühlmäusen (*Microtus ochrogaster*) in Kansas (KS) bzw. Illinois (IL), inwieweit die Neuropeptidhormone Oxytocin und Vasopressin an der Regulation von Paarungsstrategien beteiligt sind. Der Lebensraum der beiden Populationen unterscheidet sich deutlich: In Kansas (KS) ist es trockener und die Ressourcen sind wesentlich limitierter als in Illinois (IL). Diese beiden Populationen eignen sich somit hervorragend als Modell, um mögliche physiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt, Verhalten und endokrinologischen Faktoren zu erkennen. Präriewühlmäuse zeigen allgemein ein gehobenes Niveau an Sozialverhalten mit Monogamie und biparentaler Versorgung der Nachkommenschaft. Ein wirklich hohes Maß an Sozialität wird jedoch nur bei der Population IL angetroffen (BOONSTRA ET AL. 1993, ROBERTS ET AL. 1998, CUSHING ET AL. 2001); die Population KS hingegen zeigt anstelle der monogamen Verhaltensweisen polygame Züge sowie ein höheres Aggressionspotential (GAINES ET AL. 1985). Die Annahme, daß ein harsches Klima und die damit verbundene Ressourcenknappheit monogame Familienstrukturen för-

dern, scheint damit widerlegt. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde stattdessen die Hypothese aufgestellt, daß das Hormon Vasopressin, welches bei Wassermangel vermehrt ausgeschüttet wird, als eine Art von „Umwelt-Indikator“ die potentiellen Bedingungen für die Nachkommenschaft und somit die Wahrscheinlichkeit einer „erfolgreichen“ Reproduktion vorhersagen hilft (CUSHING ET AL. 2001) und der Faktor „Trockenheit des Lebensraums“ die intraspezifisch divergierenden Familienstrategien erklären könnte (ROBERTS ET AL. 1998). Das würde bedeuten, je höher die Vasopressin-Expression, desto trockener ist der Lebensraum und desto schlechter sind die Lebensbedingungen für die Nachkommenschaft, d.h. umso mehr Reproduktionsversuche müssen, egal mit welchem Partner, unternommen werden, um ausreichend Nachwuchs zu zeugen. Diese Hypothese scheint, rein formal gesehen, auf den Graumull nicht zuzutreffen, da er zwar in Trockengebieten lebt, nicht trinkt, dabei aber ähnliche Zahlen an VP-ergen Neuronen aufweist wie die Ratte (s. Tab. 47, 48). Er nutzt demnach eine alternative Strategie (Eusozialität), um eine möglichst optimale Anpassung an trockene (xerobiotische) Lebensräume zu erzielen.

Vergleicht man in diesem Zusammenhang *verschiedene Spezies* bezüglich der OX- und VP-Rezeptoren, so zeigt sich, daß zwischen Präriewühlmäusen (*Microtus ochrogaster*, monogam lebend) und Bergwühlmäusen (*Microtus montanus*, polygam lebend) ein signifikanter Unterschied im Verteilungsmuster der OX- bzw. VP-Rezeptoren besteht (INSEL ET AL. 1994, YOUNG 1999). Dagegen weisen die beiden oben genannten Populationen (IL, KS) der Präriewühlmaus (*Microtus ochrogaster*) hierin keine intraspezifischen Unterschiede auf, obwohl sie sich in der Strategie ihres Sozialverhaltens unterscheiden (CUSHING ET AL. 2001).

Die wahren Zusammenhänge zwischen ökologischen Faktoren und dem Paarungs- sowie Sozialverhalten sind bislang nicht eindeutig geklärt; so besetzt beispielsweise die Baumwollratte (*Sigmodon hispidus*) eine ähnliche ökologische Nische wie die Population IL von *Microtus ochrogaster* und lebt trotzdem polygam (BOONSTRA ET AL. 1993). Möglicherweise spielen hier weitere, vielleicht sogar noch unbekannte Faktoren eine Rolle. Auch gibt es inzwischen Hinweise darauf, daß die Ausprägung von sozialen Familienstrukturen eher phylogenetisch, d.h. durch Verwandtschaft, als ökologisch bedingt ist (PORGES 2001).

Umweltbedingungen sind also möglicherweise weniger am Auftreten monogamer Verhaltensweisen beteiligt als bisher angenommen (Burda, pers. Mitt.).

8. Angewandte Aspekte aus medizinischer Sicht

Erkenntnisse aus dem Bereich der neuro- und verhaltensbiologischen Grundlagenforschung sind aus medizinischer Sicht vor allem für neue therapeutische Ansätze bei Menschen mit neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen von großem Interesse. Hier existieren viele Spekulationen über Zusammenhänge zwischen Veränderungen im zentralen Oxytocin- bzw. Vasopressin-System und der Psychopathologie von Patienten. Im Liquor cerebrospinalis von Patienten mit Schizophrenie, Anorexie, Fettleibigkeit, Depression, Alkoholismus, Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson können von der Norm abweichende Konzentrationen an Vasopressin und/oder Oxytocin beobachtet werden (FRANK ET AL. 2000, SILVA ET AL. 2002); die funktionelle Bedeutung dieser Abweichungen ist allerdings bislang noch ungeklärt (MAZUREK ET AL. 1987, DEMITRACK ET AL. 1989, LEGROS ET AL. 1993). Auch die biologischen Korrelate des Autismus, einer frühkindlichen Fehlentwicklung, die durch Kontaktstörungen, selbst verursachte Isolation von der Umwelt und zwanghaftes Verhalten gekennzeichnet ist, sind bislang wenig verstanden. In Tierstudien konnte immerhin demonstriert werden, daß die Nonapeptide Vasopressin und Oxytocin das spezifische Sozialverhalten, die Kommunikation und Paarungsrituale essentiell beeinflussen (INSEL ET AL. 1999, FERGUSON ET AL. 2002): Beispielsweise zeigen Studien, daß juvenile Oxytocin-Knockout (OX-KO)-Mäuse im Vergleich zum Wildtyp deutlich weniger Kontaktlaute von sich geben, wenn sie von ihren Müttern getrennt werden. Adulte OX-KO-Mäuse zeigen sich deutlich aggressiver und weniger ängstlich als ihre Kontrollgruppe. Diese Zusammenhänge lassen daran denken, daß an der Ausprägung des Autismus möglicherweise strukturelle und/oder physiologische Veränderungen im zentralen Oxytocin- und/oder Vasopressin-System beteiligt sein könnten. Man geht heute davon aus, daß dem Autismus u.a. ein genetischer Defekt zugrunde liegt: Mutationen im Bereich der Peptide und/oder deren Rezeptoren könnten eventuell Veränderungen im Wirkungsgefüge von Oxytocin und Vasopressin bedingen (INSEL ET AL. 1999) und wären dann mit

Abnormalitäten im emotionalen Verhalten assoziiert (WINSLOW ET AL. 2000, BALES ET AL. 2004, YAMAMOTO ET AL. 2004).

Während die Autismus-Hypothese mit den daraus scheinbar zwingend resultierenden Therapiemöglichkeiten in der Literatur kontrovers diskutiert wird, sollten entsprechende Hinweise aus der Grundlagenforschung konsequent für klinische Studien und neue pharmakologische bzw. neurobiologische Ansätze zur Therapie solcher neuropsychiatrischen Erkrankungen genutzt werden (INSEL ET AL. 1999, YOUNG 2002).

9. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die oben erwähnten Studien belegen die Bedeutung von Neuropeptiden für das Sozialverhalten von Säugetieren. Mutationen in den Regulatorregionen des OX- bzw. des VP-Rezeptorgens bedingen Veränderungen im Expressionsmuster der *Rezeptoren*, die bei der Entwicklung von Variationen im Sozialverhalten von Bedeutung sein könnten.

Die in der vorliegenden Arbeit intraspezifisch am Graumull ermittelten Ergebnisse beziehen sich lediglich auf die Expression der *Peptide* Oxytocin und Vasopressin. Dabei waren innerhalb der Graumulle weder qualitative noch quantitative Unterschiede offenkundig. Die Hypothese, daß eusoziales Verhalten und die damit verbundene Inzestvermeidung weder durch hormonelle Suppression noch durch genetisch determinierte Kasten bedingt sind, sondern vielmehr auf dem Phänomen der sozialen Wiedererkennung basieren, wird durch das Fehlen von neuroanatomisch-immunohistochemischen Unterschieden untermauert. Im Gegensatz dazu könnte beim Graumull ein prinzipiell bei allen Familienmitgliedern gleichartig entwickeltes Oxytocin/Vasopressin-System vermutet werden, welches die individuelle Erkennung der Tiere untereinander und damit die Eusozialität als Lebensform ermöglicht.

Aussichtsreiche Folgeuntersuchungen sollten an solitär lebenden Sandgräbern (*Georhynchus*, *Heliophobius*), aber auch an den durch ihre Königin supprimierten Nacktmullen (*Heterocephalus*) durchgeführt werden, um zu erfahren, inwieweit sich dort intraspezifische morphologisch/immunohistochemische Unterschiede nachweisen lassen. Im interspezifischen Vergleich wäre interessant zu wissen, inwieweit sich die erstmals beim Graumull beschriebene oxyto-

cinerge Neuronenpopulation im Corpus mamillare auch bei anderen potentiell eusozialen Tieren (Präriewühlmaus, *Microtus ochrogaster*) nachweisen läßt. Ein ausschließliches Auftreten dieser Oxytocinexpression im Mamillarkörper bei eusozialen Säugetieren wäre, neben der Bestätigung unserer Ergebnisse an einer anderen (potentiell) eusozialen Spezies, ein interessanter Hinweis auf die mögliche Bedeutung dieser Neuronen für das Sozialverhalten insgesamt.

VII. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Expression der Nonapeptide Oxytocin und Vasopressin im Zentralnervensystem der Ratte, *Rattus rattus* und des afrikanischen Graumulls, *Cryptomys anselli*, mit immunhistochemischen Methoden untersucht. Bei Säugetieren allgemein werden Oxytocin (OX) und Vasopressin (VP) in separaten Populationen magnozellularer Neuronen des Hypothalamus synthetisiert (Nucleus paraventricularis hypothalami, Nucleus supraopticus und die weitverstreuten akzessorischen magnozellularen neurosekretorischen Zellen). Über axonalen Transport gelangen die Hormone hauptsächlich in die Neurohypophyse und werden von dort in das Blutgefäßsystem ausgeschüttet. Neben allgemein bekannten peripheren Wirkungen wie beispielsweise der Uteruskontraktion (Oxytocin), der Milchejektion (Oxytocin) und der Homöostase des Wasserhaushalts (Vasopressin) werden den beiden Hormonen auch wichtige zentrale Effekte wie die Beeinflussung von Sozialverhalten, Partnerwahl, Aggression etc. zugeschrieben, wobei sie als hypothalamische Neurotransmitter fungieren.

Als ein subterranes, eusoziales Säugetier zeigt der Graumull eine ungewöhnliche (eusoziale) Familienstruktur: Die Tiere leben in großen Familien, wobei ein einziges Weibchen mit seinem Partner für die gesamte Nachkommenschaft sorgt. Die Jungtiere verweilen ihr gesamtes Leben bei den Eltern, meist ohne selbst zur Reproduktion zu kommen, und kümmern sich u.a. um ihre jüngeren Geschwister. Verhaltensbiologische Analysen konnten zeigen, daß im Gegensatz zum Nacktmull (*Heterocephalus glaber*) bei *Cryptomys anselli* weder Pheromone noch dominant-aggressives Verhalten der „Königin“ zu einer sexuellen Suppression der Nachkommen führen.

Parallel zum Graumull wird die Ratte als ein in der Neurobiologie und Verhaltensphysiologie gut erforschter „Standardorganismus“ immunhistochemisch untersucht. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich zuerst mit der Frage, ob und inwieweit bei Ratten und Graumullen die jeweilige soziale Organisation mit dem Muster der Transmitterexpression von Oxytocin und Vasopressin korreliert. Desweiteren ist von besonderem Interesse, ob sich die einzelnen Angehörigen der Graumull-Familien mit ihrem jeweiligen individuellen sozialen Status auch

bezüglich der Verteilung und Quantität der beiden Transmitter unterscheiden. Auf dieser Grundlage wurden insgesamt vierzehn Graumulle und vier Ratten auf die Oxytocin- und Vasopressin-Expression im Zentralnervensystem hin untersucht.

Die vorgestellten immunhistochemischen Befunde an der Ratte und am Graumull entsprechen prinzipiell der in der Literatur beschriebenen Expression von Oxytocin und Vasopressin im Nucleus paraventricularis hypothalami, im Nucleus supraopticus sowie in den weit verbreiteten akzessorischen magnozellularen neurosekretorischen Neuronen im Hypothalamus anderer Säugetiere. Bei *Cryptomys* ergab weder die qualitative noch die quantitative *intraspezifische* Analyse der immunreaktiven OX- und VP- Neuronen signifikante Unterschiede zwischen Individuen unterschiedlicher sozialer Stellung. Dagegen weist der Graumull im Vergleich mit der Ratte und anderen daraufhin bearbeiteten Säugern bisher nicht bekannte qualitative Unterschiede im oxytocinergen System auf, wobei unsere Befunde an der Ratte weitgehend mit der vorhandenen Literatur übereinstimmen: Eine magnozellige Neuronen-population im Corpus mamillare, welche auch in der Routinefärbung (Kresylechtviolett) erkennbar ist, zeigt bei den Graumullen eine Oxytocin-Expression, nicht aber bei den Ratten. In der Literatur ist für diese Neuronenpopulation bis dato nur die Expression von GABA beschrieben worden, nicht aber ihr oxytocinerge Charakter. Darüber hinaus ist eine bei der Ratte auffällige Gruppe akzessorischer magnozelliger und oxytocinerge Neuronen, der Nucleus commissuralis anterior der Ratte, beim Graumull weder in der Routinefärbung noch immunhistochemisch nachweisbar. Als ein weiterer Unterschied ist die Expression von Oxytocin in der Area hypothalamica lateralis bei der Ratte sehr viel dichter als beim Graumull, ein Merkmal von potentiell qualitativem Charakter.

Der *interspezifische* Vergleich (Ratte-Graumull) ergab also eine potentiell neue Population Oxytocin-exprimierender Neuronen für den Graumull, nicht aber für die Ratte. Es wäre denkbar, daß über diese neu entdeckte oxytocinerge, aber nicht vasopressinerge Expression/Population mamillärer Neuronen innerhalb des limbischen Systems Projektionen in den Neokortex das Sozialverhalten der Graumulle beeinflussen können. In der Zukunft gilt es zu prüfen, ob diese Neuronenpopulation mit ihrer Oxytocin-Expression auch in anderen

Säugetieren inklusive anderen eusozialen Spezies vorkommt. Das Fehlen des Nucleus commissuralis anterior (CoA) beim Graumull beruht hingegen wahrscheinlich nur auf strukturellen Unterschieden zwischen den Gehirnen von Ratten und Graumullen.

Die hier vorgelegten Analysen lassen vermuten, daß innerhalb der eusozialen Graumulle weder das Geschlecht noch der Reproduktionsstatus oder das Alter eines Tieres nennenswerten Einfluß auf die topographische Verteilung und die Zahl der Oxytocin und Vasopressin exprimierenden Neuronen hat. Dieser Befund scheint die Hypothese zu stützen, daß non-reproduktive Graumulle weder durch genetische Faktoren noch durch dominantes Verhalten der Königin oder durch Pheromone hormonell supprimiert sind. Die Inzestvermeidung dürfte vielmehr auf dem Phänomen der individuellen Wiedererkennung der Tiere untereinander beruhen und auf der Tatsache, daß Familienangehörige (mit Ausnahme der besonderen Beziehung zwischen den beiden reproduktiven Tieren) füreinander sexuell unattraktiv sind. Am Ende dieser Arbeit stehen Überlegungen zur funktionellen und klinischen Bedeutung von Oxytocin und Vasopressin im Hinblick auf neurobiologische und verhaltensbiologische Störungen sowie zu dem Problem, daß am Tiermodell gewonnene Daten und Schlussfolgerungen nur mit großer Vorsicht auf die Situation beim Menschen übertragen werden sollten.

VIII. Summary

This thesis analyses the expression of oxytocin (OX) and vasopressin (VP) nonapeptide hormones in the brains of rats (*Rattus rattus*) and African or common mole-rats (Ansell's mole-rat, *Cryptomys ansellii*) using immunohistochemical methods. In mammals, generally, oxytocin and vasopressin are synthesized in different populations of magnocellular hypothalamic neurosecretory cells, the perikarya of which are located in the paraventricular nucleus, the supraoptic nucleus and the widespread accessory magnocellular neurosecretory cells. Via axonal transport these neuropeptides are mainly transferred to the posterior lobe of the pituitary where they are released into the circulatory system. Apart from more "classical" peripheral functional implications (e.g., oxytocin facilitating child delivery and maternal breastfeeding behaviour vs. vasopressin regulating blood volume and salt concentration), these peptides play an important role as hypothalamic neurotransmitters by modulating social behaviour, partner preference, aggression etc..

Common mole-rats (*Cryptomys*) are subterranean and eusocial and thus show an exceptional family structure. These animals live in large families, each consisting of a single breeding pair and non-reproductive offspring. The young animals remain in the parental nest for their whole life and most of them never reproduce but, among other things, take care of their younger siblings. Behavioural studies show that, in contrast to the situation in the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*), neither pheromones nor aggressive behaviour of the "queen" are responsible in African mole-rats for the sexual suppression of their offspring.

In parallel to common mole-rats, the laboratory rat (*Sprague-Dawley*) is investigated immunohistochemically as a well-known reference animal in neurobiological and behavioural research. This thesis primarily deals with the question whether and to what extent the mode of social organisation in rats and mole-rats correlates with the expression pattern/topography of OX and VP as transmitters in hypothalamic neuron populations. Special attention is given to the comparison of individuals among different *Cryptomys* families and to the question whether the single members of mole-rat families with their individual

social rank also differ in the distribution and quantity of the two transmitters. As a whole, we analysed brains of fourteen common mole-rats (*Cryptomys anselli*) and four rats (*Sprague-Dawley*).

The results of our immunohistochemical studies, in principle, correspond with the expression of oxytocin and vasopressin in the hypothalamic paraventricular nucleus, the supraoptic nucleus, and in the widespread accessory magnocellular neurosecretory neurons throughout the hypothalamus reported in the literature on other mammals. In *Cryptomys* neither the qualitative nor the quantitative *intraspecific* analysis of immunoreactive OX and VP neurons reveal any significant differences among individuals of different social rank. Comparison between mole-rats and rats (and other mammals investigated so far), however, demonstrate qualitative differences, with our findings in the rat being largely consistent with the extant literature: A population of magnocellular neurons located in the mammillary complex which were also detected in cresyl violet, shows oxytocin expression in *Cryptomys* but not in rat. In the literature, these neurons are known to synthesize GABA, but their oxytocinergic character has never been demonstrated before. Moreover, one prominent group of accessory magnocellular neurons, the anterior commissural nucleus in the rat, being composed of oxytocinergic neurons, is not present in *Cryptomys* (neither in cresyl violet nor in OX- or VP-labelled sections). As an additional difference between the two rodent species, the lateral hypothalamic area showed a much higher concentration of oxytocinergic neurons in rat than in mole-rats, a feature of potentially qualitative significance.

Interspecific comparison (*Rattus*, *Cryptomys*) thus revealed a potentially new population of oxytocin-immunoreactive neurons in the mammillary complex exclusively for *Cryptomys anselli*. It seems possible that this “new” oxytocinergic (but not vasopressinergic) expression/population of mammillary neurons, being part of the limbic system, are able to modulate social behaviour in *Cryptomys* via projections into the neocortex. Further studies will have to prove the consistency of our results in other mammals including eusocial species. The absence of the anterior commissural nucleus (CoA) in *Cryptomys* is probably based on mere structural differences between the brains of rats and mole-rats.

The analyses presented here suggest that in eusocial mole-rats (*Cryptomys anselli*) neither sex, reproductive state nor the age of an animal has a significant

influence on the topographical distribution and number of oxytocinergic and vasopressinergic neurons. Our results seem to confirm the hypothesis that, in *Cryptomys anselli*, non-reproductive family members are neither suppressed by genetic factors nor by dominant, aggressive behaviour of the reproductive female or by pheromones. Incest avoidance in eusocial common mole-rats more likely is caused by individual recognition and by the fact that family members (with the exception of the special bond between the reproductive animals) are sexually unattractive for each other. Finally, this thesis presents some reflections on the functional and clinical significance of oxytocin and vasopressin with regard to neurobiological and behavioural disorders and the problem that only with great care data and interpretations can be transferred from the animal model to the human.

IX. Anhang

1. Liste sämtlicher Abkürzungen

★	Gefäßanschnitte
3V	Ventriculus tertius
4V	Ventriculus quartus
ABC	<u>A</u> vidin- <u>B</u> iotin- <u>P</u> eroxidase- <u>C</u> omplex
ac	Commissura anterior
ADH	Antidiuretisches Hormon (=Vasopressin)
AHA	Area hypothalamica anterior
APit	Adenohypophyse
APT	Nucleus pretectalis anterior
ar	Radiatio acustica
Arc	Nucleus arcuatus (syn. Nucleus infundibularis)
BNST	Nucleus striae terminalis (bed nucleus of stria terminalis)
BSA	bovines Serumalbumin
cc	Corpus callosum
cm	Corpus mamillare
CMC	Nucleus caudalis magnocellularis
Circ	Nucleus circularis
CoA	Nucleus commissuralis anterior
CoCl ₂	Cobaltchlorid
cp	Pedunculus cerebri
CPu	Striatum (engl.: caudoputamen)
D3V	Ventriculus tertius, pars dorsalis
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DMH	Nucleus dorsomedialis hypothalami
E	ependymal gelegene, magnozellige Neuronen
f	Fornix
fr	Fasciculus retroflexus
GT	Ganglion trigeminale
h	Hippocampus
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid

ic	Capsula interna
KH_2PO_4	Kaliumdihydrogenphosphat
LGP	Globus pallidus lateralis
LH	Area hypothalamica lateralis (lateraler Hypothalamus)
LM	Nucleus mamillaris lateralis
LPO	Area praeoptica lateralis
LS	Nucleus septalis lateralis
LV	Ventriculus lateralis
ME	Eminentia mediana (syn. Infundibulum)
mfb	mediales Vorderhirnbündel, medial forebrain bundle
ml	Lemniscus medialis
ML	Nucleus mamillaris medialis, pars lateralis
MM	Nucleus mamillaris medialis, pars medialis
MMn	Nucleus mamillaris medialis, pars mediana
MMp	Nucleus mamillaris medialis, pars posterior
MnPO	Nucleus praeopticus medianus
mp	Pedunculus mamillaris
MPA	Area praeoptica medialis
MPO	Nucleus praeopticus medialis
MRe	Recessus mamillaris, 3V
mt	Tractus mamillothalamicus
mtg	Tractus mamillotegmentalis
Na_2HPO_4	Natriumhydrogenphosphat
NaN_3	Natriumazid
OVLT	Organum vasculosum laminae terminalis
OX	Oxytocin
ox	Chiasma optimum
opt	Tractus opticus
Pa	Nucleus paraventricularis hypothalami
PaDC	Nucleus paraventricularis, dorsale Kappe
PAG	Substantia grisea centralis
PaLM	Nucleus paraventricularis, pars lateralis magnocellularis
PaMM	Nucleus paraventricularis, pars medialis magnocellularis
PaMP	Nucleus paraventricularis, pars medialis parvocellularis

PaPo	Nucleus paraventricularis, pars posterior
PaV	Nucleus paraventricularis, pars ventralis
pc	Commissura posterior
PCMC	Nucleus caudalis postmamillaris magnocellularis
Pe	Nucleus periventricularis hypothalami
PeA	Nucleus periventricularis anterior (hypothalami)
PeP	Nucleus periventricularis posterior (hypothalami)
PePO	Nucleus praeopticus periventricularis
PF	Nucleus parafascicularis thalami
PFA	Paraformaldehyd
PHA	Area hypothalamica posterior
Pir	Cortex piriformis
PiRe	Recessus pinealis
Pit	Hypophyse
pm	Tractus mamillaris principalis
PPit	Neurohypophyse
PT	Nucleus parataenialis thalami
PVA	Nucleus paraventricularis thalami
PX	Peroxidase
Re	Nucleus reuniens thalami
Rt	Nucleus reticularis thalami
SCh	Nucleus suprachiasmaticus
scp	Pedunculus cerebellaris superior
sm	Stria medullaris
SN	Substantia nigra
SNC	Substantia nigra, pars compacta
SNR	Substantia nigra, pars reticularis
SO	Nucleus supraopticus
SOr	Nucleus supraopticus, pars rostralis
SOrch	Nucleus supraopticus, pars retrochiasmatica
sox	Decussatio supraoptica
st	Stria terminalis
SuM	Nucleus supramamillaris
sumx	Decussatio supramamillaria

TMC	Nucleus tuberalis magnocellularis
TU	Nucleus tuberalis
VGL	Corpus geniculatum laterale, ventraler Anteil
VMH	Nucleus ventromedialis hypothalami
VP	Vasopressin
VTM	Nucleus tuberomamillaris ventralis
Zi	Zona incerta

2. Rezepte für Puffer und andere Lösungen

a.) Allgemeine Histologie

Puffer:

0.1 M Phosphat-Puffer (PB), pH 7.3

(1) Na ₂ HPO ₄ (Merck, Darmstadt)	23.12g
(2) KH ₂ PO ₄ (Riedel-de Haen, Seelze)	4.32g
(3) Aqua bidest	2L

→ rühren, bis vollständig gelöst

Lagerung: 4°C

Fixantien:

4%ige Paraformaldehyd-Lösung (PFA)

(1) Paraformaldehyd (Merck, Darmstadt)	40g
(2) 0.1 M PB	1L

→ unter Rühren erhitzen, bis die Lösung klar wird, frisch filtrieren

Lagerung: 4°C

Paraformaldehyd-Sucrose-Lösung (PFA-Sucrose-Lösung) 30%

(1) PFA-Lösung	1L
(2) D-(+)-Sucrose (Merck, Darmstadt)	300g

→ PFA-Lösung erhitzen und Sucrose unter Rühren lösen

Lagerung: 4°C

Kryoprotektion:

Sucrose-Phosphatpuffer (PB-Sucrose)

(1) D-(+)-Sucrose (Merck, Darmstadt)	300g
(2) 1%ige NaN ₃ -Lösung (Ferak, Berlin)	1ml
(3) 0.1 M PB	1L

→ rühren, bis vollständig gelöst

Lagerung: 4°C

Einbettungsmittel:

Sucrose-Gelatine

- | | |
|--|-------|
| (1) Gelatine (aus Schweinehaut, Typ A,
300 Bloom, Sigma, St.Louis, USA) | 10g |
| (2) Aqua bidest | 100ml |
| (3) Gelatine aufstreuen, quellen und absinken lassen, erhitzen | |
| (4) versetzen mit | |
| D-(+)-Sucrose (Merck, Darmstadt) | 30g |
| 1%ige NaN ₃ -Lösung (Ferak, Berlin) | 1ml |

Lagerung: 4°C

Chromalaun-Gelatine-Lösung (zur Beschichtung von Objektträgern):

- | | |
|---|------|
| (1) Gelatine (60 Bloom, Sigma, St. Louis) | 5g |
| (2) Kaliumchrom-(III)-sulfat (Chromalaun)
(Merck, Darmstadt) | 0.5g |
| (3) Aqua bidest | 1L |
| (4) unter Rühren erhitzen | |
| (5) Lösung filtrieren | |
| (6) vorgereinigte Objektträger eintauchen | |
| (7) staubfrei trocknen lassen | |

Lagerung: Raumtemperatur

Färbelösung:

Kresylechtviolettlösung (Nissl-Färbung)

- | | |
|---|-------|
| (1) Kresylechtviolett | 5g |
| (2) 1 M Natriumacetat-Lösung
(Merck, Darmstadt) | 60ml |
| (3) 1M Essigsäure (Roth, Karlsruhe) | 340ml |
| (4) Aqua bidest | 600ml |
| (5) etwa eine Woche lang rühren | |
| (6) filtrieren | |
| (7) vor Gebrauch nochmals etwa 2 Tage lang rühren, filtrieren,
vor Licht schützen. | |

Lagerung: 4°C

b.) ImmunhistochemieVerdünnungslösung für die Antikörper und den Avidin-Biotin-Komplex (ABC):

0.1% BSA, 0.5% Triton-X-100 in 0.1 M PB (Sapje)

- | | |
|---|-------|
| (1) Rinderserumalbumin (BSA, Sigma, St. Louis, USA) | 0.2g |
| (2) Triton-X-100 (Sigma, St.Louis) | 1ml |
| (3) 0.1 M PB | 200ml |
- Rühren bis sich die Schlieren von Triton-X-100 lösen

DAB-(3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid)-Lösung:

1%ige DAB-Stammlösung

- | | |
|--|-------|
| (1) 3,3'-Diaminobenzidin (Sigma, St. Louis, USA) | 1g |
| (2) Aqua bidest | 100ml |
- (3) unter Rühren (und evtl. Heizen) lösen
(4) filtrieren
(5) aliquotieren, evtl. einfrieren

DAB-Inkubationslösung

- | | |
|---|--------|
| (1) 1%ige DAB-Lösung | 5ml |
| (2) 1%ige $(\text{NH}_4)_2\text{Ni}(\text{SO}_4)_2$ -Lösung | 1ml |
| (3) 1%ige CoCl_2 -Lösung (Sigma, St. Louis, USA) | 1.25ml |
- (4) mit 0.1M PB zu 100ml ergänzen
(5) Filtrieren und sofort verbrauchen

X. Literaturverzeichnis

* indirekte Zitate

Ackermann, H. (1995). *Biometrie*, 2. Auflage. Epsilon-Verlag, Hochheim- Darmstadt.

Ackermann, H. (2000). *BiAS*, Version 7. Epsilon-Verlag, Hochheim-Darmstadt.

Adams, J. C. (1981). Heavy metal intensification of DAB-based HRP reaction product. *J. Histochem. Cytochem.* **29**, 775.

Alonso, G. (1988). Effects of colchicine on the intraneuronal transport of secretory material prior to the axon: a morphofunctional study in hypothalamic neurosecretory neurons of the rat. *Brain Res.* **453**, 191-203.

Al-Shamma, H. A. and DeVries, G. J. (1996). Neurogenesis of the sexually dimorphic vasopressin cells of the bed nucleus of stria terminalis and amygdala of rats. *J. Neurobiol.* **29**, 91-98.

Altstein, M., Withnall M. H., House, S., Key, S., and Gainer, H. (1988). An immunohistochemical analysis of oxytocin and vasopressin prohormone processing in vivo. *Peptides* **9**, 87-105

Arletti, R., Benellil, A., and Bertolini, A. (1992). Oxytocin involvement in male and female sexual behavior. *In Oxytocin in Maternal, Sexual, and Social Behaviors* (C. A. Pederson, J. D. Caldwell, G. F. Jirikowski and T. R. Insel, eds.), Ann. N.Y. Acad. Sci., New York, Vol. 652, pp.180-193.

Armstrong, W. E. (1995). Hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei. *In The Rat Nervous System*, (G. Paxinos, ed.), Second Edition, Academic Press, San Diego, pp. 377-390.

-
- Armstrong, W. E., Warach, S., Hatton, G. I., and McNeill, T. H. (1980). Subnuclei in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: a cytoarchitectural, horseradish peroxidase and immunocytochemical analysis. *Neuroscience* **5**, 1931-1958.
- Bales, K. L., Kim, J. A., Lewis-Reese, A. D., and Carter, C. S. (2004). Both oxytocin and vasopressin may influence alloparental behavior in male prairie voles. *Horm. Behav.* **45**, 354-361.
- Bamshad, M., Novak, M. A. and DeVries, G. J. (1993). Sex and species differences in the vasopressin innervation of sexually naive and parental prairie voles, *Microtus ochrogaster* and meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *J. Neuroendocrinol.*, **5**, 247-255.
- Bamshad, M., Novak, M. A. and DeVries, G. J. (1994). Cohabitation alters vasopressin innervation and paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiol. Behav.* **56**, 751-758.
- Bargmann, W. (1949)*. Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. *Z. Zellforsch.* **34**, 610-634 [nach Kühnel 2001].
- Bennett, N. C., Faulkes, C. G., and Molteno A. J. (1996). Reproductive suppression in subordinate, non-breeding female Damaraland mole-rats: two components to a lifetime of socially induced infertility. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **263**, 1599-1603.
- Blähser, S. (1982)*. Vasotocin and mesotocin systems in birds. *In Neurosecretion: Molecules, Cells, Systems.* (D. S. Farner and K. Lederis, eds.), Plenum Publishing Corporation, New York, pp. 71-77 [nach Pries 1995].
- Bleier, R. and Byne, W. (1985). Septum and hypothalamus. *In The Rat Nervous System*, (G. Paxinos, ed.). Vol. 1, Academic Press, Australia, pp. 87-118.

-
- Birbaumer, N. und Schmidt, R. (1996). Funktionen des Zentralnervensystems und Verhalten. In Biologische Psychologie (N. Birbaumer und R. Schmidt, eds.), 3. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 453-727.
- Boonstra, R., Gilbert, B. S., and Krebs, C. J. (1993). Mating systems and sexual dimorphism in mass in microtines. *J. Mamm.* **74**, 224-229.
- Bucher, O. und Wartenberg, H. (eds.) (1989). Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 11. vollständig überarbeitete Auflage, Verlag Hans Huber, Bern, Stuttgart, Toronto, pp.18-22.
- Burda, H. (1989). Reproductive biology (behaviour, breeding, and postnatal development) in subterranean mole-rats, *Cryptomys hottentotus* (Bathyergidae). *Z. Säugetierk.* **54**, 360-376.
- Burda, H. (1990): Constraints of pregnancy and evolution of sociality in mole-rats with special preference to reproductive and social patterns in *Cryptomys hottentotus* (Bathyergidae, Rodentia). *Z. zool. Syst. Evot.-forsch.* **28**, 26-39.
- Burda, H. (1994). Eine perfekte Familie im Untergrund. Auf der Suche nach der Erklärung für die Eusozialität der Mulle. *Forschung Frankfurt* **3**, 17-27.
- Burda, H. (1995). Individual recognition and incest avoidance in eusocial common mole-rats rather than reproductive suppression by parents. *Experientia* **51**, 411-413.
- Burda, H. and Kawalika, M. (1993). Evolution of eusociality in the bathyergidae. The case of the giant mole rats (*Cryptomys mechowii*). *Naturwissenschaften* **80**, 235-237.

-
- Burda, H., Honeycutt, L., Begall, S., Locker-Grütjen, O., and Scharff, A. (2000). Are naked and common mole-rats eusocial and if so, why? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **47**, 293-303.
- Burda, H., Marhold, S., Westenberger, T., Wiltshko, R., and Wiltshko, W. (1990). Magnetic compass orientation in the subterranean rodent *Cryptomys hottentotus* (Bathyergidae). *Experientia* **46**, 528-530.
- Burda, H., Zima, J., Scharff, A., Macholàn, M., and Kawalika, M. (1999). The karyotypes of *Cryptomys anelli* sp. nova and *Cryptomys kafuensis* sp. nova: new species of common mole-rat from Zambia (Rodentia, Bathyergidae). *Z. Säugetierkunde* **64**, 36-50.
- Carter, C. S. (1998). Neuroendocrine perspectives on social attachment and love. *Psychoneuroendocrinology* **23**, 779-818.
- Carter, C. S. (2003). Developmental consequences of oxytocin. *Physiol. Behav.* **79**, 383-397.
- Carter, C. S., DeVries, A. C., and Getz, L. L. (1995). Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **19**, 303-314.
- Cho, M. M., DeVries, A. C., Williams, J. R., and Carter, C. S. (1999). The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behav. Neurosci.* **113**, 1071-1079.
- Clarke, F. M., Miethé, G. H., and Bennett N. C. (2001): Reproductive suppression in female Damaraland mole-rats *Cryptomys damarensis*: Dominant control or self-restraint? *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **268**, 899-909.

-
- Coccaro, E. F., Kavoussi, R. J., Hauger, R. L., Cooper, T. B., and Ferris, C. F. (1998). Cerebrospinal fluid vasopressin levels. Correlates with aggression and serotonin function in personality-disordered subjects. *Arch. General Psychiat.* **55**, 708-714.
- Cooney, R. and Bennett, N. C. (2000). Inbreeding avoidance and reproductive skew in a cooperative mammal. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **267**, 801-806.
- Cushing, B. S. and Carter, C. S. (1999a). Prior exposure to oxytocin mimics the effects of social contact and facilitates sexual behaviour in females. *J. Neuroendocrinol.* **11**, 765-769.
- Cushing, B. S. and Carter, C. S. (1999b). Peripheral pulses of oxytocin increase partner preferences in female, but not in male, prairie voles. *Horm. Behav.* **37**, 49-56.
- Cushing, B. S., Martin, J. O., Young, L. J., and Carter, C. S. (2001). The effects of peptides on partner preference formation are predicted by habitat in prairie voles. *Horm. Behav.* **39**, 48-58.
- Demitrack, M. A., Lesem, M. D., Brandt, H. A., Pigott, T. A., Jimerson, D. C., Altamus, M., and Gold, P. W. (1989). Neurohypophyseal dysfunction: implications for the pathophysiology of eating disorders. *Psychopharmacol. Bull.* **25**, 439-443.
- Denk, H. (1989). Immunhistochemische Färbemethoden. In Romeis Mikroskopische Technik. (P. Böck, ed.), Urban & Schwarzenberg, München, pp. 252-261.
- DeVries, G. J. (1990). Sex differences in neurotransmitter systems. *J. Neuroendocrinol.* **2**, 1-13.

-
- DeVries, G. J. and Boyle, P. A. (1998). Double duty for sex differences in the brain. *Behav. Brain Res.* **92**, 205-213.
- DeVries, G. J. and Miller, M. A. (1998). Anatomy and function of extrahypothalamic vasopressin systems in the brain. *Progr. Brain Res.* **199**, 3-20.
- DeWied, D. (1983): Central actions of neurohypophysial hormones. *Prog. Brain Res.* **60**, 155-167.
- Dyball, R. E. J. and Garten, L. L. (1988). Stimulus-related changes in the dendrites of magnocellular neurons. *Brain Res. Bull.* **20**, 675-680.
- Ebner, K., Wotjak, C. T., Landgraf, R., and Engelmann, M. (2000). A single social defeat experience selectively stimulates the release of oxytocin, but not vasopressin, within the septal brain areas of male rats. *Brain Res.* **872**, 87-92.
- Engelmann, M., Ebner, K., Landgraf, R., Holsboer, F., and Wotjak, C.T. (1999). Emotional stress triggers intrahypothalamic but not peripheral release of oxytocin in male rats (abstract). *J. Neuroendocrinol.* **11**, 867-872.
- Faulkes, C. G., Bennett, N. C., Bruford, M. W., O'Brien, H. P., Aguilar, G. H., and Jarvis, J. U. M. (1997). Ecological constraints drive social evolution in the African mole-rats. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **264**, 1619-1627.
- Faulkes, C. G., Trowell, S. N., Jarvis, J. U. M., and Bennett, N. C. (1994). Investigation of numbers and motility of spermatozoa in reproductively active and socially suppressed males of two eusocial African mole-rats, the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*) and the Damaraland mole-rat (*Cryptomys damarensis*). *J. Reprod. Fert.* **100**, 411-416.
- Ferguson, J. N., Young, L. J., and Insel, T. R. (2002). The neuroendocrine basis of social recognition. *Front. Neuroendocrinol.* **23**, 200-224.

-
- Ferguson, J. N., Aldag, J. M., Insel, T. R., and Young L. J. (2001). Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. *J. Neurosci.* **21**, 8278-8285.
- Ferguson, J. N., Young, L. J., Hearn, E. F., Matzuk, M. M., Insel, T. R., and Winslow, J. T. (2000). Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nat. Genet.* **25**, 284-288.
- Ferris, C. F. (2000). Adolescent stress and neuronal plasticity in hamsters: a vasopressin-serotonin model of inappropriate aggressive behaviour. *Exp. Physiol.* **85S**: 85S-90S.
- Foran, C. and Bass, A. H. (1998)*. Preoptic AVT immunoreactive neurons of a teleost fish with alternative reproductive tactics. *Gen. Comp. Endocrinol.* **111**, 271-281 [nach Insel and Young 2000].
- Frank, G. K., Walter, H. K., Altemus, M., and Greeno, C. G. (2000). CSF oxytocin and vasopressin levels after recovery from bulimia nervosa and anorexia nervosa, bulimic subtype. *Biol. Psychiatry* **48**, 315-318.
- Froehlich, J. C. (1997): Opioid peptides. *Neurotransmitt. Rev.* **21**, 132-136.
- Gaines, M. S., Fugate, C. L., Johnson, M. L., Johnson, D. C., Hisey, J. R., and Quadagno, D. M. (1985). Manipulation of aggressive behavior in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*) implanted with testosterone in silastic tubing. *Can. J. Zool.* **63**, 2525-2528.
- Getz, L. L. and Carter, C. S. (1996). Prairie vole partnerships. *Am. Sci.* **84**, 56-62.
- Getz, W. M., Page, R. E. Jr., and Starks, P.T. (2001). A tribute to William Donald Hamilton (1936 – 2000). *Ann. Zool. Fenn.* **38**, 187-189.

-
- Giovenardi, M., Padoin, M. J., Cadore, L. P., and Lucion, A. B. (1997). Hypothalamic paraventricular nucleus, oxytocin, and maternal aggression in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* Vol. 805, 606-609.
- Giovenardi, M., Padoin, M. J., Cadore, L. P., and Lucion, A. B. (1998). Hypothalamic paraventricular nucleus modulates maternal aggression in rats: effects of ibotenic acid lesions and oxytocin antisense. *Physiol. Behav.* **63**, 351-359.
- Hamilton, W. D. (1963)*. The evolution of altruistic behavior. *Amer. Nat.* **97**, 354-356 [nach Getz et al. 2001].
- Hamilton, W. D. (1964)*. The genetical evolution of social behavior I and II. *J. Theoret. Biol.* **7**, 1-16 and 17-52 [nach Getz et al. 2001].
- Havenaar, R., Meijer J. C., Morton, D. B., Ritskes-Hoitinga, J., and Zwart, P. (1995). Biologie, Zucht und Haltung von Versuchstieren. In *Grundlagen der Versuchstierkunde* (L. F. M. van Zutphen, V. Baumans and A. C. Beynen, eds.), 1. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, pp. 19-69.
- Honeycutt, R. L. (1992): Naked mole-rats. *Am. Sci.* **80**, 43-53.
- Hou-Yu, A., Lamme, A. T., Zimmermann, E. A., and Silverman, A. J. (1986). Comparative distribution of vasopressin and oxytocin neurons in rat brain using a double-label procedure. *Neuroendocrinology* **44**, 235-246.
- Hsu, S. M. and Sorban, E. (1982). Color modification of diaminobenzidine (DAB) precipitation by metallic ions and its application for double immunohistochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* **30**, 1079-1082.
- Insel, T. R. (2003). Is social attachment an addictive disorder? *Physiol. Behav.* **79**, 351-357.

-
- Insel, T. R. and Hulihan, T. J. (1995). A gender specific mechanism for pair bonding: oxytocin and partner preference formation in monogamous voles. *Behav. Neurosci.* **109**, 782-789.
- Insel, T. R. and Shapiro, L. E. (1992). Oxytocin receptor distribution reflects social organization in monogamous and polygamous voles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 5981-5985.
- Insel, T. R. and Young, L. J. (2000). Neuropeptides and the evolution of social behavior. *Curr. Opin. Neurobiol.* **10**, 784-789.
- Insel, T. R., Gingrich, B. S., and Young, L. J. (2001). Oxytocin: who needs it? *Prog. Brain Res.* **133**, 59-66.
- Insel, T. R., O' Brien, D. J., and Leckman, J. F. (1999). Oxytocin, vasopressin, and autism: is there a connection? *Biol. Psychiatr.* **45**, 145-157.
- Insel, T. R., Preston, S., and Winslow, J. T. (1995). Mating in the monogamous male: behavioral consequences. *Physiol. Behav.* **57**, 615-627.
- Insel, T. R., Wang, Z.-X., and Ferris, C. F. (1994). Patterns of brain vasopressin receptor distribution associated with social organisation in microtine rodents. *J. Neurosci.* **14**, 5381-5392.
- Jarvis, J. U. M. (1981). Eusociality in a mammal: Cooperative breeding in naked mole rat colonies. *Science* **212**, 571-573.
- Johnson, A. E., Coirini, H., Insel, T. R. and McEwen, B. S. (1991). The regulation of oxytocin receptor binding in the ventromedial hypothalamic nucleus by testosterone and its metabolites (abstract). *Endocrinology* **128**, 891-896.
- Karrow, T. und Lang, R. (eds.) (1999). Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Druckerei F. Hansen, Bergisch Gladbach.

-
- Kendrick, K. M. (2000). Oxytocin, motherhood and bonding. *Exp. Physiol.* **85S**, 111S-124S.
- Keverne, E., Martensz, N., and Tuite, B. (1989)*. β -endorphine concentrations in CSF of monkeys are influenced by grooming relationships. *Psychoneuroendocrinology* 14, 155-161 [nach Young et al. 2001].
- Kimura, T., Okanoya, K., and Wada, M. (1999). Effect of testosterone on the distribution of vasotocin immunoreactivity in the brain of the zebra finch, *Taeniopygia guttata castanotis* (abstract). *Life Sci.* **65**, 1663-1670.
- Kiss, J. Z. (1988). Dynamism of chemoarchitecture in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Res. Bull.* **20**, 699-707.
- Kiss, J. Z., Mezey, E., and Skirboll, L. (1984). Corticotropin-releasing factor-immunoreactive neurons of the paraventricular nucleus become vasopressin positive after adrenalectomy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 1854-1858.
- Koolhaas, J. M., Everts, H., DeRuiter, A. J. H., DeBoer, S. F., and Bohus, B. (1998). Coping with stress in rats and mice: Differential peptidergic modulation of the amygdala-lateral septum complex. *Prog. Brain Res.* **119**, 437-448.
- Krieg, W. J. S. (1932)*. The hypothalamus of the albino rat. *J. Comp. Neurol.* **55**, 19-89 [nach Simerly 1995].
- Kühnel, W. (2001). Vom „tropfigen Material“ in Nervenzellen zur Neurosekretion - eine kurze Historie der Neuroendokrinologie. *FOCUS MUL* **18**, 211-216.
- Künzle, H. (1993): Aufbau und Verbindungen des Zwischenhirns. *In Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen / Benninghoff.* (D. Drenckhahn, W. Zenker, eds.), Band 2, 15. völlig überarbeitete Auflage, Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, pp. 544-571.

-
- Legros, J.-J., Anseau, M., and Timsit-Berthier, M. (1993). Neurohypophyseal peptides and psychiatric diseases. *Regul. Pept.* **45**, 133–138.
- Leonhard, H., Krisch, B., und Zilles, K. (1987). Graue und weiße Substanz des Zwischenhirns. In „Anatomie des Menschen. Lehrbuch und Atlas.“ Band 3. Nervensystem. Sinnesorgane. (H. Leonhardt, G. Töndury, K. Zilles, eds.) Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, pp. 381–472.
- Marhold, S., Wiltshko, W., and Burda, H. (1997). A magnetic polarity compass for direction finding in a subterranean mammal. *Naturwissenschaften* **84**, 421-423.
- Mazurek, M. F., Beal, M. F., Bird, E. D., and Martin, J. B. (1987). Oxytocin in Alzheimer's disease - postmortem brain levels. *Neurology* **37**, 1001–1003.
- McKinley, M. J. and Oldfield, B. J. (1998). The brain as an endocrine target for peptide hormones. *TEM* **9**, 349-354.
- Miselis, R. (1981). Efferent projections of the subfornical organ of the rat: A circumventricular organ within a neural network subserving water balance. *Brain Res.* **230**, 1-23.
- Moore, F. L., Richardson, C., and Lowry, C. A. (2000). Sexual dimorphism in numbers of vasotocin-immunoreactive neurons in brain areas associated with reproductive behaviors in the roughskin newt. *Gen. Comp. Endocrinol.* **117**, 281-298.
- Morris, J. F. and Pow, D. V. (1991). Widespread release of peptides in the central nervous system: quantification of tannic acid-captured exocytoses. *Anat. Rec.* **231**, 437–445

-
- Nakamura, M. (1999): Expression von c-fos im visuellen System des afrikanischen Graumulls, *Cryptomys anelli*. Eine experimentelle immunhistochemische Untersuchung. 186 S. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main.
- Nelson, E. E. and Panksepp, J. (1998): Brain substrates of infant-mother attachment: Contributions of opioids, oxytocin, and norepinephrine. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **22**, 437-452.
- Němec, P., Altmann, J., Marhold, S., Burda, H., and Oelschläger, H. H. A. (2001). Neuroanatomy of magnetoreception: the superior colliculus involved in magnetic orientation in a mammal. *Science* **294**, 366-368.
- Novak, R. M. and Paradiso, J. L. (1983). Rodentia *In* Walker's Mammals of the World. 4th Edition. The Johnson Hopkins University Press, 569-769.
- Oelschläger, H. H. A. and Northcutt, R. G. (1992). Immunocytochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in the nervus terminalis and brain of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J. Comp. Neurol.* **315**, 344-363.
- Oelschläger, H. H. A., Nakamura, M., Herzog, M., and Burda, H. (2000). Visual system labeled by c-Fos immunohistochemistry after light exposure in the "blind" subterranean Zambian mole-rat (*Cryptomys anelli*). *Brain Behav. Evol.* **55**. 209-220.
- Oelschläger, H. H. A. and Oelschläger, J. (2002). Brain *In* Encyclopedia of Marine Mammals, (W. F. Perrin, B. Würsig, J. G. M. Thewissen, eds.), Academic Press, 133-158.
- Oelschläger, H. H. A., Burda, H., and Němec, P. (2002). Kompass im Kopf. *Gehirn und Geist* **3/2003**, 88-89.

-
- Paxinos, G. (ed.) (1995). *The Rat Nervous System*. Academic Press, San Diego.
- Paxinos, G. and Watson, C. (eds.) (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, San Diego.
- Pedersen, C. A., Ascher, A., Monroe, Y. L., and Prange, A. J. Jr. (1982). Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science* **216**, 648-649.
- Peterson, R. P. (1966). Magnocellular neurosecretory centers in the rat hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* **128**, 181-190.
- Petrusz, P. (1983). Essential requirements for the validity of immunocytochemical staining procedures. *J. Histochem. Cytochem.* **31**, 177-179.
- Pfaff, D. W., Schwartz-Giblin, S., McCarthy, M. M., and Kow, L.-M. (1994)*. Cellular und molecular mechanisms of female reproductive behaviors. *In The Physiology of Reproduction*, (E. Knobil and J. Neill, eds.), Vol. 2, Raven Press, New York, pp.107-220 [nach Simerly 1995].
- Popik, P. and van Ree, J. M. (1998). Neurohypophyseal peptides and social recognition in rats. *Prog. Brain Res.* **119**, 415-436.
- Porges, S. W. (2001). The polyvagal theory: phylogenetic substrates of a social nervous system. *Int. J. Psychophysiol.* **42**, 123-146.
- Pries, C. (1995): Arginin-Vasotocin und Neuropeptid Y im Nucleus paraventricularis des Haushahns, *Gallus domesticus*. Eine licht- und elektronenmikroskopische immunhistochemische Studie. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades im Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

-
- Rhodes, C. H., Morrell, J. I., and Pfaff, D. W. (1981): Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus: distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin and vasopressin. *J. Comp. Neurol.* **198**, 45-64.
- Rinaman, L., Sherman, T. S., and Stricker, E. M. (1995). Vasopressin and oxytocin in the central nervous system. *In* Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress. (F. E. Bloom and D. J. Kupfer, eds.), Raven Press, New York, pp. 531-542.
- Russell, J. A. (2002). Neuroendocrinology with feeling. *J. Neuroendocrinol.* **14**, 1-3.
- Russell, J. A., Leng, G., and Bicknell, R. J. (1995). Opioid tolerance and dependence in the magnocellular oxytocin system: a physiological mechanism? *Experimental Physiology* **80**, 307-340.
- Roberts, R. L., Williams, J. R., Wang, A. K., and Carter, C. S. (1998). Cooperative breeding and monogamy in prairie voles: influences of the sire and geographic variation. *Anim. Behav.* **55**, 1131-1140; nach Cushing et al (2001).
- Rogers, R. C. and Hermann, G. E. (1992)*. Central regulation of brainstem gastric vago-vagal control circuits. *In* "Neuroanatomy and physiology of abdominal vagal afferents," (S. Ritter, R. C. Ritter, C. D. Barnes, eds.) Boca Raton, FL. CRC Press, pp. 99–114 [nach Rinaman et al. 1995].
- Scharrer, B. (1979)*. Neurosecretion and neuroendocrinology in historical perspective. *Horm. Prot. Pept.* **7**, 279-292 [nach Kühnel 2001].
- Scharrer, B. (1987)* Neurosecretion: beginnings and new directions in neuropeptide research. *Ann. Rev. Neurosci.* **10**, 1-17 [nach Kühnel 2001].

-
- Scharrer, E., and Scharrer, B. (eds.) (1963)*. Neuroendocrinology. Columbia Univ. Press, New York, pp. 1-289 [nach Kühnel 2001].
- Sherman, P. W., Jarvis, J. U. M., and Braude, S. H. (1992)*: Naked mole-rats. *Sci. Am.* **267**, 72-78 [nach Burda et al. 2000].
- Silva, S. M., Madeira, M. D., Ruela, C., and Paula-Barbosa, M. M. (2002). Prolonged alcohol intake leads to irreversible loss of vasopressin and oxytocin neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res.* **925**, 76-88.
- Simerly, R. B. (1995). Anatomical substrates of hypothalamic integration. *In* The Rat Nervous System. (G. Paxinos, ed.), Academic Press, San Diego, pp. 353-372.
- Sofroniew, M. V. (1983): Morphology of vasopressin and oxytocin neurones and their central and vascular projections. *Prog. Brain. Res.* **60**, 101-114.
- Sofroniew, M. V. (1990): Immunohistochemische Darstellung der Verteilung von Vasopressin und Oxytocin im Zentralnervensystem der Ratte. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.
- Sternberger, L. A. (1986): Immunocytochemistry. John Wiley and Sons, New York.
- Stribley, J. M., and Carter, C. S. (1999). Developmental exposure to vasopressin increases aggression in adult prairie voles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 12601-12604.
- Swaab, D. F. (1997)*. Neurobiology and neuropathology of the human hypothalamus. *In* Handbook of Chemical Neuroanatomy. The Primate Nervous System (Part I). (F. E. Bloom and T. Hökfelt, eds.). Elsevier, Amsterdam, pp. 39-137 [nach Swaab 1999].

-
- Swaab, D. F. (1999). Hypothalamic peptides in human brain diseases. *TEM* **10**, 236-244.
- Swaab, D. F., Pool, C. W., and Nijveldt, F. (1979)*. Immunofluorescence of vasopressin and oxytocin in the rat hypothalamo-neurohypophysial system. *J. Neurol. Transm.* **36**, 195-215 [nach Armstrong 1995].
- Swanson, L. W. (1987). The hypothalamus. *In Handbook of Chemical Neuroanatomy*, (A. Björklund, T. Hökfelt, and L. W. Swanson, eds.), Vol. 5, Elsevier, Amsterdam, pp. 1-124.
- Swanson, L. W. (1992). *Brain Maps: Structure of the Rat Brain*. Elsevier, New York.
- Swanson, L. W., and Kuypers A. G. J. M. (1980). The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organisation of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double labeling method. *J. Comp. Neurol.* **194**, 555-570.
- Swanson, P. E. (1988). Foundations of immunohistochemistry. A practical review. *Am. J. Clin. Pathol.* **90**, 333-339.
- Theodosis, D. T., and Poulain, D. A. (1992)*. Neuronal-glia and synaptic remodelling in the hypothalamus in response to physiological stimuli. Functional anatomy of the neuroendocrine hypothalamus. *Wiley, Chichester, Ciba Foundation Symposium* **168**, pp. 209-232 [nach Pries 1995].
- Trepel, M. (1999). *Neuroanatomie: Struktur und Funktion*, Urban & Fischer, München, Jena, pp. 161-179.
- Tribollet, E., Dubois-Dauphin, M., and Dreifuss, J. J. (1992). Oxytocin receptors in the central nervous system. Distribution, development, and species differences. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **652**, 29–38.

-
- Tribollet, E., Charpak, S., Schmidt, A., Dubois-Dauphin, M., and Dreifuss, J. (1989). Appearance and transient expression of oxytocin receptors in fetal, infant, and peripubertal rat brain studied by autoradiography and electrophysiology; (abstract). *J. Neurosci.* **9**, 1764-1773.
- Verbalis, J. G., Mangrone, M. P., and Stricker, E. M. (1991). Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations (abstract). *Endocrinology* **128**, 1317-1322.
- Verbalis, J. G., Blackburn, R. E., Olson, B. R., and Stricker, E. M. (1993)*. Central oxytocin inhibition of food and salt ingestion: a mechanism for intake regulation of solute homeostasis. *Regul. Pept.* **45**, 149–154.
- Voigt, K. (1996). Endokrines System. *In* Lehrbuch der Physiologie. Hrsg. (R. Klinke und S. Silbernagel, eds.) Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, pp. 435-484.
- Voogd, J., Nieuwenhuys, R., van Dongen, P. A. M., and Ten Donkelaar, H. J. (1998). Mammals. *In* The central nervous system of vertebrates, Vol. 3, (R. Nieuwenhuys, H. J. Ten Donkelaar and C. Nicholson, eds.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 1637-2041.
- Vincent, S. R. and Hökfelt, T. (1983). Hypothalamic γ -aminobutyric acid neurons project to the neocortex. *Science* **220**, 1309-1311.
- Wang, Z., Young, L. J., DeVries, G. J., and Insel, T. R. (1998). Voles and vasopressin: a review of molecular, cellular, and behavioral studies of pair bonding and paternal behaviors. *Progr. Brain Res.* **119**, 483-499.
- Wang, Z., Zhou, L., Hulihan, T. J., Insel T. R. (1996). Immunoreactivity of central vasopressin and oxytocin pathways in microtine rodents: a quantitative comparative study. *J. Comp. Neurol.* **366**, 726-737.

-
- Williams, J., Catania, K., and Carter, C. (1992)*. Development of partner preferences in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*): the role of social and sexual experiences. *Horm. Behav.* **26**, 339-349 [nach Insel and Young 2000].
- Willingstorfer, W. J., Burda, H., and Winckler, J. (1998). Ovarian growth and folliculogenesis in breeding and nonbreeding females of a social rodent, the Zambian common mole-rat, *Cryptomys* sp. *J. Morphol.* **237**, 33-41.
- Winslow, J. T., and Insel, T. R. (2004). Neuroendocrine basis of social recognition. *Curr. Opin. Neurobiol.* **14**, 248-253.
- Winslow, J. T., Hastings, N., Carter, C. S., Harbaugh, C. R., and Insel, T. R. (1993). A role for central vasopressin in pair bonding in monogamous prairie voles. *Nature* **365**, 545-548.
- Winslow, J. T., Hearn, E. F., Ferguson, J. N., Young, L. J., Matzuk, M. M., and Insel, T. R. (2000). Infant vocalization, adult aggression, and fear behavior of an oxytocin null mutant mouse; (abstract). *Horm. Behav.* **37**, 145-155.
- Witt, D. M. (1995). Oxytocin and rodent sociosexual responses: from behavior to gene expression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **19**, 315-324.
- Witt, D. M., Carter, C. S., and Insel, T. R. (1991). Oxytocin receptor binding in female prairie voles: Endogenous and exogenous oestradiol stimulation. *J. Neuroendocrinol.* **3**, 155-161.
- Yamamoto, Y., Cushing, B. S., Kramer, K. M., Epperson, P. D., Hoffman, G. E., and Carter, C. S. (2004). Neonatal manipulations of Oxytocin alter expression of Oxytocin and Vasopressin immunoreactive cells in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in a gender-specific manner. *Neurosci.* **125**, 947-955.

-
- Young, L. J. (1999). Oxytocin and vasopressin receptors and species-typical social behaviors. *Horm. Behav.* **36**, 212-221.
- Young, L. J., Wang, Z., and Insel, T. J. (1998). Neuroendocrine base of monogamy. *TINS* **21**, 71-75.
- Young, L. J. (2002). The neurobiology of social recognition, approach, and avoidance. *Biol. Psychiatry* **51**, 18-26.
- Young, L. J., Lim, M. M., Gingrich, B., and Insel, T. R. (2001): Cellular mechanisms of social attachment. *Horm. Behav.* **40**, 133-138.
- Young, L. J., Winslow, J. T., Nilsen, R., Insel, T. R. (1997). Species differences in V1a receptor gene expression in monogamous and nonmonogamous voles: behavioral consequences. *Behav. Neurosci.* **111**, 599-605.
- Young, L.J., Nilsen, R., Waymire, K.G., MacGregor, G.R., and Insel, T.R. (1999). Increased affiliative response to vasopressin in mice expressing the vasopressin receptor from a monogamous vole. *Nature* **400**, 766-768.
- Young, W. S. (1996). Oxytocin and its Role in Reproduction and Behavior. <http://www.mammary.nih.gov/reviews/development/Young001/>
- Zilles, K. und Rehkämper, G. (1994). Neuroendokrines System. *In Funktionelle Neuroanatomie, Lehrbuch und Atlas*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 343-351.

XI. Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. H. A. Oelschläger für die Überlassung eines faszinierenden Themas, die Einarbeitung in die immunhistologischen Verfahren, für seine stetige Bereitschaft zur kritischen Diskussion, die kontinuierliche Unterstützung bei der schriftlichen Abfassung der vorliegenden Arbeit sowie für die über die Belange dieser Arbeit hinausgehende Förderung.

Herrn Professor Dr. H. Burda (Essen) bin ich für die Bereitstellung der Graumulle (*Cryptomys anselli*) aus seiner Zucht sowie für hilfreiche Anregungen und wichtige Informationen über diese außergewöhnlichen Tiere sehr verbunden.

Herrn Dr. Pavel Němec (Biologisches Institut, Karlsuniversität, Prag) danke ich für die sorgfältige Einarbeitung in die immunhistochemische Methodik, die kritischen Diskussionen und seine Hilfe bei der Lösung fachlicher Fragestellungen und Probleme.

Herrn Dr. rer. med. Dipl.-Math. H. Ackermann (Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Zentrum der Medizinischen Informatik, Abteilung Biomathematik) danke ich für seine prompte Unterstützung bei der Ausfertigung des statistischen Teils dieser Arbeit.

Herrn Dipl.-Biol. Lars Sv. Kossatz möchte ich für die freundschaftliche Hilfe bei Formatierungs- sowie Layoutproblemen danken.

Mein ganz persönlicher und herzlicher Dank gilt meinem ehemaligen Kommilitonen, Mitdoktoranden und langjährigen Freund Sanjai M. Shah für seine tatkräftige und wertvolle Unterstützung während des experimentellen Teils und die unersetzlichen Gespräche in allen Phasen der vorliegenden Arbeit.

Jan H. Stähler, Judith Käller und Wiebke Geisel möchte ich für ihre Geduld und die freundschaftliche Unterstützung während der Abfassung dieser Arbeit danken.

Besonders herzlicher Dank gebührt meinen Eltern, die mir ein sorgenfreies Studium der Medizin ermöglichten. Ohne ihr Verständnis sowie ihre bedingungslose und nachhaltige Förderung wäre eine Fertigstellung dieser Arbeit in der vorliegenden Form kaum möglich gewesen.

Lebenslauf

Eva Maria Valesky

Stegstrasse 54
60594 Frankfurt

Geburtsdatum: 25. März 1977
Geburtsort: München
Familienstand: ledig
Konfession: römisch-katholisch

Vater: Prof. Dr. Anton Valesky
Mutter: Helga Valesky, geb. Engel
Geschwister: Maria Valesky

Schulbildung:

1983-1985 Klosterhofschule Grund- und Hauptschule in Lübeck

1986-1987 Erich Kästner-Schule in Hanau

1987-1996 Franziskanergymnasium Kreuzburg in Großkrotzenburg

07.1996 Abitur (Gesamtnote 1,4) mit den Leistungskursen: Englisch, Biologie; weitere Prüfungsfächer: Geschichte, Kunst

Studium:

10.1996 Beginn des Studiums der Medizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main.

07.1997 Krankenpflegepraktikum an den Städtischen Kliniken in Offenbach am Main, Abteilung Innere Medizin.

03.1998 Krankenpflegepraktikum an den Städtischen Kliniken in Offenbach am Main, Abteilung Innere Medizin.

09.1998 Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
(Note: 2,0)

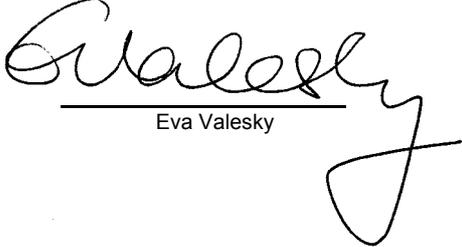
03.1999 Famulatur im Fachbereich Abdominalchirurgie im Klinikum Großhadern, Ludwig Maximilians-Universität, München.
Chefarzt Prof. Dr. med. Dr. h.c. F. W. Schildberg.

08.1999	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (1. Staatsexamen) (Note: 2)
09.1999	Laborpraktikantin im Zentrum der Morphologie (Dr. Senckenbergische Anatomie), Frankfurt am Main. Arbeitsgruppe Prof. Dr. H.A. Oelschläger.
10.1999	Beginn der Dissertation bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. H.A. Oelschläger, Zentrum der Morphologie, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main.
02.2000	Famulatur im Fachbereich Anästhesie und Intensivmedizin im Landeskrankenhaus Feldkirch, Österreich. Chefarzt Doz. Dr. med. R. Germann.
08.2000	Auslandsfamulatur im Emergency Department Wollongong, New South Wales, Australien. Direktor Dr. Andrew Bezzina.
09.2000	Praxisfamulatur im Fachbereich Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Klinikum der Stadt Hanau (Lehrkrankenhaus der Johann Wolfgang Goethe-Universität), Dr. med. R. Wiener und Dr. med. D. Oldenburg.
09.2001	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (2. Staatsexamen) (Note: 1,67)
10.2001 – 04.2002	Forschungssemester im Zentrum der Morphologie (Dr. Senckenbergische Anatomie), Frankfurt am Main. Arbeitsgruppe Prof. Dr. H. A. Oelschläger.
04.2002 – 03.2003	Praktisches Jahr Dermatologie-Tertial: Zentrum der Dermatologie und Venerologie (ZDV), Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main. Innere Medizin-Tertial: Kantonsspital Luzern, Schweiz. Chirurgie-Tertial: Zentrum der Chirurgie (ZChir), Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main.
05.2003	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (3. Staatsexamen) (Note: 1) und Abschluß des Medizinstudiums an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main mit der Gesamtnote <i>sehr gut</i> (1,49).

08.2003

Beginn der Tätigkeit als Ärztin im Praktikum im Zentrum der Dermatologie und Venerologie (ZDV), Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main (Prof. Dr. med. R. Kaufmann).

Frankfurt am Main, den 5. Juli 2004


Eva Valesky

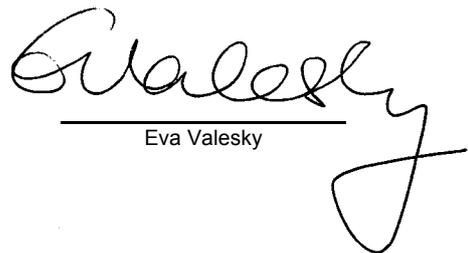
Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

**OXYTOCIN UND VASOPRESSIN
ALS POTENTIELLE VERHALTENSMODULATOREN
IM GEHIRN VON RATTE UND GRAUMULL,
CRYPTOMYS ANSELLI
EINE EXPERIMENTELLE IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG**

im Zentrum der Morphologie (Institut für Anatomie III der Dr. Senckenbergischen Anatomie) der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. A. Oelschläger und mit dessen Unterstützung ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät bzw. Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 5. Juli 2004


Eva Valesky