

Die funktionelle Rolle oktopaminerger Neurone während der Lokomotion bei Wanderheuschrecken

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. rer. nat.
Eingereicht im Fachbereich
Chemie, Pharmazie, Biologie
an der Freien Universität Berlin
-Neurobiologie-

Vorgelegt von
Tim Mentel
aus Berlin

Berlin, Januar 2003

| | |
|------------------------------|-------------------------|
| Dissertation eingereicht am: | 14.01.2003 |
| Erster Gutachter: | Prof. Dr. H. J. Pflüger |
| Zweiter Gutachter: | Dr. U. Müller |
| Tag der Disputation: | 25.04.2003 |

| | | |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 2. | Material und Methoden | 14 |
| 2.1. | Versuchstiere..... | 14 |
| 2.2. | Elektrophysiologie..... | 14 |
| 2.2.1. | Chronische extrazelluläre Ableitungen..... | 14 |
| 2.2.2. | Implantation der Elektroden..... | 18 |
| 2.2.2.1. | Implantation der Elektroden an Hauptnerven von <i>Locusta migratoria</i> | 18 |
| 2.2.2.2. | Implantation der Hakenelektrode an N3A3b..... | 19 |
| 2.2.2.3. | Implantation der Hakenelektroden in der Larve von <i>Manduca sexta</i> | 21 |
| 2.2.3. | Intrazelluläre Ableitungen und Identifizierung von DUM Zellen in einem rhythmischen Präparat..... | 24 |
| 2.3. | Stimulationsexperimente zur Untersuchung der Wirkung von DUM Neuronen auf den Muskelstoffwechsel..... | 27 |
| 2.3.1. | Bestimmungen des Fruktose 2,6-Bisphosphatgehalts im Flugmuskel M119 nach antidromer Stimulation der DUM Neurone..... | 27 |
| 2.3.2. | Bestimmung der PKA-Aktivität im Flugmuskel M119 nach antidromer Stimulation der DUM Neurone..... | 29 |
| 2.3.3. | Bestimmung der PKA-Aktivität nach Applikation des cAMP-Donors 8Bromo-cAMP ohne antidrome Stimulation der DUM Neurone..... | 30 |
| 2.3.4. | Bestimmung der PKA-Aktivität nach Applikation des PKA-Inhibitors KT5720 nach antidromer Stimulation der DUM Neurone..... | 31 |
| 2.3.5. | Bestimmung der Fruktose 2,6-Bisphosphatgehalts nach Applikation des PKA-Inhibitors KT5720 nach antidromer Stimulation der DUM Neurone..... | 31 |
| 2.4. | Stimulationsexperimente zur Ermittlung des Einflusses von neuronaler Aktivität auf das erneute Auswachsen persistierender Motoneurone während der Larvalentwicklung von <i>Manduca sexta</i> | 31 |
| 2.4.1. | Ableiten der motorischen Muster in vivo..... | 31 |

| | | |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.2. | Stimulation der Motoneurone MN1-5 über antidrome Reizung an Nerv 1..... | 33 |
| 2.4.3. | Anterograde Färbungen von Motoneuronen in Nerv 1 und Anfärbung Muskelzellkernen in <i>Manduca sexta</i> | 33 |
| 2.5. | Konfokale Mikroskopie..... | 34 |
| 2.6. | Lösungen und Chemikalien..... | 35 |
| 3. | Ergebnisse | 36 |
| 3.1. | Die Aktivität von DUM Neuronen während des Laufens..... | 36 |
| 3.2. | Aktivität von DUM Neuronen während eines nicht pharmakologisch induzierten motorischen Musters im isolierten Mesothorakalganglion..... | 51 |
| 3.2.1. | Aktivität von DUM Zellen, die keine Beinmuskulatur innervieren, während des nicht pharmakologisch induzierten Rhythmus..... | 57 |
| 3.2.2. | Aktivität von DUM Zellen, die Beinmuskulatur innervieren, während des nicht pharmakologisch induzierten Rhythmus..... | 68 |
| 3.3. | Stimulationsexperimente zur Untersuchung der Wirkung von DUM Neuronen auf den Energiestoffwechsel des Muskels..... | 73 |
| 3.3.1. | Bestimmungen des Fruktose 2,6-Bisphosphat Gehalts im Flugmuskel M119 nach antidromer Stimulation der DUM Neurone..... | 73 |
| 3.3.2. | Bestimmung der PKA-Aktivität im Flugmuskel M119 nach antidromer Stimulation der DUM Neurone..... | 76 |
| 3.3.3. | Pharmakologische Beeinflussung der PKA-Aktivität in M119..... | 76 |
| 3.3.4. | DUM Neuron vermittelte Erhöhungen des F2,6BP Gehalts in M119 erfordern erhöhte PKA-Aktivität..... | 79 |
| 3.4. | Stimulationsexperimente zur Ermittlung des Einflusses von neuronaler Aktivität auf das Auswachsen persistierender Motoneurone während der Larvalentwicklung von <i>Manduca sexta</i> | 81 |
| 3.4.1. | Ermittlung der neuronalen Aktivität identifizierter Motoneurone durch chronische Implantation extrazellulärer Hakenelektroden..... | 81 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.4.2. Identifikation von Motoeinheiten in chronischen extrazellulären Ableitungen..... | 88 |
| 3.4.3. Quantifizierung entwicklungsspezifischer Änderungen der motorischen Aktivität..... | 90 |
| 3.4.4. Antidrome Stimulation von MN1-5..... | 93 |
| 4. Diskussion | 103 |
| 4.1. Die Aktivität von DUM Neuronen während des Laufens..... | 103 |
| 4.2. Die Aktivität von DUM Neuronen unterschiedlichen Typs während eines nicht pharmakologisch induzierten Rhythmus..... | 106 |
| 4.2.1. Mögliche Funktion einer differenziellen Aktivierung von DUM Neuronen beim Laufen..... | 112 |
| 4.3. Stimulationsexperimente zur Untersuchung der Wirkung von DUM Neuronen aus den Energiestoffwechsel des Muskels..... | 115 |
| 4.4. Stimulationsexperimente zur Ermittlung des Einflusses neuronaler Aktivität auf das Auswachsen persistierender Motoneurone während der Larvalentwicklung von <i>Manduca sexta</i> | 125 |
| 4.4.1. Neuronale Aktivität und Verhalten..... | 126 |
| 4.4.2. Verminderte motorische Aktivität ist für die strukturellen Veränderungen von Mototerminalen von funktioneller Bedeutung..... | 128 |
| 5. Zusammenfassung | 131 |
| 6. Summary | 133 |
| 7. Literatur | 135 |
| 8. Anhang | 151 |
| 8.1. Curriculum vitae..... | 151 |
| 8.2. Curriculum vitae (engl.)..... | 152 |
| 8.3. Danksagung..... | 153 |
| 8.4. Erklärung..... | 154 |