

**Die Entwicklung motorischer Systeme
und ihre Anpassung
an veränderte Gravitationsbedingungen
beim Krallenfrosch (*Xenopus laevis*)**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
von der Fakultät für Chemie und Biowissenschaften
der Universität Karlsruhe (TH)
angenommene

DISSERTATION

von

Sybille Böser

aus

Essen

2003

**Die Entwicklung motorischer Systeme und ihre Anpassung an veränderte
Gravitationsbedingungen beim Krallenfrosch (*Xenopus laevis*)**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
von der Fakultät für Chemie und Biowissenschaften
der Universität Karlsruhe (TH)
angenommene

DISSERTATION

von
Diplom-Biologin
Sybille Böser
aus
Essen

Dekan: Prof. Dr. M. Metzler

1. Gutachter: Prof. Dr. E. Horn

2. Gutachter: Prof. Dr. N. Rieder

Tag der mündlichen Prüfung: 19.02.2003

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Grundlagen zum fiktiven Schwimmen.....	2
1.2	Grundlagen zur kompensatorischen Augenbewegung.....	3
1.3	Fragestellungen dieser Arbeit.....	5
2	Material und Methoden	6
2.1	Versuchstiere und ihre Haltung.....	6
2.2	Hypergravitationsbehandlung.....	6
2.3	Mikrogravitationsbehandlung.....	7
2.4	Elektrophysiologische Untersuchung des fiktiven Schwimmens.....	10
2.4.1	Silberfärbung zur Lokalisation der ventralen Rückenmarkswurzeln.....	10
2.4.2	Vorbehandlung der Tiere.....	10
2.4.3	Messprozedur.....	11
2.4.4	Datenbearbeitung.....	13
2.5	Verhaltensexperiment zum vestibulookularen Reflex.....	15
2.5.1	Vorbehandlung der Tiere.....	15
2.5.2	Messprozedur.....	15
2.5.3	Datenbearbeitung.....	15
2.6	Statistik.....	16
2.7	Tierversuchsgenehmigung.....	17
3	Ergebnisse	18
3.1	Darstellung der ventralen Wurzeln mittels Silberfärbung.....	18
3.2	Entwicklung der Parameter des fiktiven Schwimmens.....	18
3.2.1	Elektrodenplazierung in der rostralen Körperhälfte.....	19
3.2.2	Elektrodenplazierung 10 und 14 Myotome postotisch.....	21
3.2.3	Vergleich der Entwicklung des fiktiven Schwimmens in verschiedenen Ableitbereichen.....	23
3.3	Hypergravitationsexperimente.....	24
3.3.1	Einfluss von Hypergravitation auf das fiktive Schwimmen in Versuchsgruppen unterschiedlichen Alters.....	24
3.3.2	Einfluss von Hypergravitation auf den rVOR.....	27
3.3.3	Korrelation der Ergebnisse von rVOR und fiktivem Schwimmen nach Entwicklung unter Hypergravitation.....	27
3.4	Mikrogravitationsexperiment.....	28
3.4.1	Einfluss von Mikrogravitation auf das fiktive Schwimmen und den rVOR.....	28

Inhaltsverzeichnis

3.4.2	Einfluss von Mikrogravitation auf das fiktive Schwimmen und den rVOR bei Tieren mit mikrogravitationsbedingter Körperkrümmung.....	31
3.4.3	Korrelation der Ergebnisse von rVOR und fiktivem Schwimmen nach Entwicklung unter Mikrogravitation	32
3.5	Hyper- und Mikrogravitationseffekt auf Versuchsgruppen gleichen Alters.....	33
4	Diskussion.....	35
4.1	Einfluss veränderter Gravitationsbedingungen während der frühen Entwicklung auf den rVOR bei <i>Xenopus laevis</i>	35
4.1.1	Einfluss von Mikrogravitation	35
4.1.2	Einfluss von Hypergravitation	37
4.2	Kontrolle und Modulation des Schwimmmusters: Entwicklung und Pharmakologie der spinalen Afferenzen.....	37
4.2.1	Raphespinalen Projektionen.....	38
4.2.2	Reticulospinalen Projektionen.....	40
4.2.3	Absteigende katecholaminerge Bahnen.....	41
4.2.4	Rostrocaudale Gradienten.....	41
4.3	Sensorische Systeme zur Wahrnehmung von veränderten Gravitationsbedingungen und ihr Einfluss auf das Schwimmmuster	43
4.4	Zentren zur Koordination von motorischer Aktivität.....	45
4.5	Wirkung veränderter Gravitationsbedingungen auf zellulärer Ebene.....	47
4.6	Perspektiven.....	48
5	Zusammenfassung.....	49
6	Literaturverzeichnis	51
7	Anhang.....	59
7.1	Abkürzungen	59
7.2	Geräte	59
7.3	Verbrauchsmaterial.....	60
7.4	Chemikalien.....	60
7.4.1	Silberfärbung modifiziert nach Brown und Cajal.....	60
7.4.2	Ringer.....	61
7.4.3	Kulturmedium für <i>Euglena</i>	61
7.5	Software	61
7.5.1	Auswertprogramm für Spike 2	62

1 Einleitung

Die Ontogenese eines Organismus ist einerseits von genetischen Faktoren vorbestimmt, andererseits spielen auch Umwelteinflüsse eine erhebliche Rolle. Ein Beispiel hierfür ist die neuronale Plastizität, die zum Teil die gesamte Lebensdauer anhält, wie im Falle der kortikalen Karten der Haut bei Nagern (Wall 1988). Es gibt aber auch Entwicklungsprozesse, die durch ungünstige externe Einflüsse erheblich gestört werden können. Dies wurde besonders eindrucksvoll am visuellen System der Katze demonstriert. Durch Reizentzug während einer sensiblen Phase entsteht hier eine irreversible Schädigung im visuellen System (Wiesel und Hubel 1963, Hubel und Wiesel 1970, Wiesel 1982). Auch andere sensorische Systeme, wie das auditorische und das gustatorische der Ratte, lassen sich derart beeinflussen (Coleman et al. 1982, Oakley 1993).

Modifikationen auf der Ebene der Sensorik äußern sich in den nachfolgenden zentralen Gebieten und bis in die Motorik hinein. Der somatosensorische Cortex ändert seine Struktur, wenn die sensorischen Vibrissen an der Schnauze der Maus geschädigt werden (van der Loos und Woolsey 1973). Wenn Ratten sich unter Schwerelosigkeit entwickelt haben oder ihnen, zwecks Schwerelosigkeitssimulation, die Belastung durch den Körper von den Hinterbeinen genommen wird, ändert sich der Fußgelenkwinkel und das Bewegungsmuster, da die Reizung der an einer Haltungskontrolle beteiligten Druckrezeptoren ausbleibt (Walton 1998, Walton et al. 1992). Fällt ein sensorisches System aus, gibt es Wechselwirkungen mit anderen sensorischen Systemen, womit eine teilweise Kompensation des Ausfalls erreicht werden kann. Es ist z.B. allgemein bekannt, dass Blinde besser hören, was sich auch experimentell belegen lässt (Niemeyer und Starlinger 1981). Es gibt Hinweise darauf, dass neuronale Plastizität auf zentraler Ebene moduliert werden kann. So vermindert ein Katecholaminantagonist die Plastizität des somatosensorischen Cortex der Katze (Bear und Singer 1986). Eine Änderung auf der sensorischen Ebene kann also vielfältige Wechselwirkungen im ZNS erzeugen.

Der Einfluss eines Reizes auf die Entwicklung eines Organismus lässt sich sowohl durch zentrale oder periphere Läsionen im Nervensystem als auch durch Deprivation (= Entzug) des adäquaten Reizes untersuchen; des weiteren lassen sich auch Experimente mit verstärktem Reiz durchführen. Im Falle des Vestibularsystems von

Xenopus laevis ist bekannt, dass eine Läsion in der frühen Lebensphase zu Änderungen auf der motorischen Ebene führt. Nach Hemilabyrinthektomie lässt sich eine Asymmetrie in der normalen Augenstellung und eine Abschwächung des vestibulookularen Reflexes (VOR) beobachten. Auch vollführen die Tiere rotatorische Schwimmbewegungen. Diese Störungen werden im Laufe der weiteren Entwicklung teilweise oder ganz auf zentraler Ebene kompensiert (Rayer und Horn 1986, Horn et al. 1986, Horn 1981). Auch durch Reizdeprivation während einer Entwicklung unter Schwerelosigkeit im Weltall und durch Reizverstärkung während der Entwicklung unter Hypergravitation in einer Zentrifuge wird die Stärke des VOR während einer seitlichen Körperrollung verändert (Sebastian et al. 1995, Sebastian et al. 1996). Dies gilt ebenfalls für das Schwimmverhalten und für die Ausbildung des Schwimmapparates. So ist die Schwanzschlagfrequenz nach Entwicklung unter Schwerelosigkeit kurzzeitig erniedrigt (Fejtek et al. 1998) und es kann zu einer Schwanzverkrümmung kommen (Snetkova et al. 1995). Während des Aufenthalts im All machen Kaulquappen auffällige Bewegungen wie Loopings und Spiralen (Wassersug et al. 1991). Es wird vermutet, dass diese durch Schwerelosigkeit hervorgerufenen Bewegungsmuster bei Fischen vestibularen Ursprungs sind (Anken und Rahmann 1998).

1.1 Grundlagen zum fiktiven Schwimmen

Stereotype, rhythmische Bewegungen, wie Laufen, Kriechen und Fliegen werden von zentralen Oszillatoren generiert. Die Anpassung an die Gegebenheiten der Umwelt erfolgt durch sensorische Afferenzen. Diese sind jedoch nicht an der Erzeugung des Grundrhythmus beteiligt (Wendler 1978, Sqalli-Houssaini et al. 1993). Der Schwanzschlag der Kaulquappe wird durch einen Halb-Center-Oszillator generiert (Dale 1995). Zwei Zentren, die sich gegenseitig abwechselnd inhibieren, erzeugen eine rhythmische, rechts und links in den Schwanzsegmenten alternierende Kontraktion der Myotome (Abb. 2). Ableitungen an den ventralen Wurzeln des Rückenmarks beim gelähmten Tier (fiktives Schwimmen) zeigen auch hier, dass z.B. die Wahrnehmung der Muskelkontraktionen durch Propriozeptoren nicht notwendig ist, um den Rhythmus zu erzeugen (Kahn und Roberts 1982a, Kahn et al. 1982). Bei Säugern kann Stimulierung des Hirnstamms fiktive Lokomotion auslösen und aufrecht erhalten. Daraus kann geschlossen werden, dass das Rückenmark tonische Excitation braucht, um Lokomotion zu produzieren (Roberts & Alford 1986).

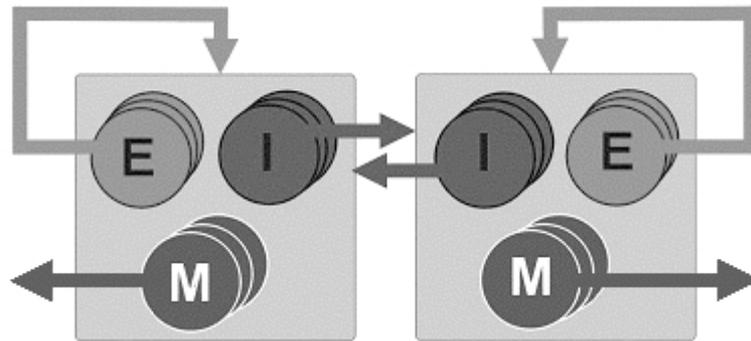


Abb. 2: Organisation des Halb-Center-Oszillators. Zwei Halbzentren inhibieren sich gegenseitig durch glycinerge Interneurone (I), so dass jeweils nur eine Seite aktiv sein kann und über die Motoneurone (M) die zugehörigen Myotome (Muskel) kontrahiert. Excitatorische Interneurone (E) erregen über einen Feedback-Mechanismus das jeweils aktive Halbzentrum. Nach einer automatischen Ermüdung des aktiven Halbzenters kann die andere Seite aktiv werden.

Die Verbindung zwischen den Hirnstammzentren und den motorischen Zentren im Rückenmark wird über die absteigenden Bahnen, z.B. die vestibulo-, reticulo- und raphespinalen Projektionen, hergestellt (Nordlander et al. 1985). Die reticulospinalen Projektionen vermitteln beim Neunauge das Auslösen, die Gleichgewichtskontrolle und die Richtung des Schwimmens (Deliagina et al. 1992 und 2000). Es gibt auch noradrenerge Projektionen in das Rückenmark aus dem Mesencephalon (Sanchez-Camacho et al. 2002). Bezüglich der aufsteigenden Bahnen seien hier die spinocerebellaren Projektionen erwähnt (van der Linden et al. 1988). Des Weiteren sind bei Amphibien auch Projektionen des Cerebellums auf den vestibulospinalen Trakt bekannt (van der Linden und ten Donkelaar 1990).

1.2 Grundlagen zur kompensatorischen Augenbewegung

Bei Körperdrehungen vollführen die Augen der Kaulquappen eine kompensatorische Gegenbewegung. Dieses Verhalten wird als vestibulookularer Reflex (VOR) bezeichnet und tritt auch bei höheren Vertebraten auf (Precht 1979, Dieringer 1995). Da die kürzesten Latenzen vestibular erzeugter postsynaptischer Potentiale in den okulomotorischen Nerven 2,5 bis 3 ms betragen, geht man von einem disynaptischen Reflex aus (Abb. 1). Die Haarsinneszellen der Macula utriculi übermitteln eine Lageänderung ihrer Statolithen über den Nervus statoacusticus (N.VIII) an die Vestibularkerne im Hirnstamm. Die Erregung zeigt wegen der Rezeptoreigenschaften einen phasisch-tonischen Verlauf. Die Neurone der Vestibularkerne projizieren auf die ebenfalls im Hirnstamm liegenden okulomotorischen Nuclei, wo die Motoneurone

der extraokularen Augenmuskeln liegen. Diese Augenmuskeln werden über den Nervus okulomotorius (N.III), den Nervus trochlearis (N.IV) und den Nervus abducens (N.VI) gesteuert (Precht 1976, Cohen 1974).

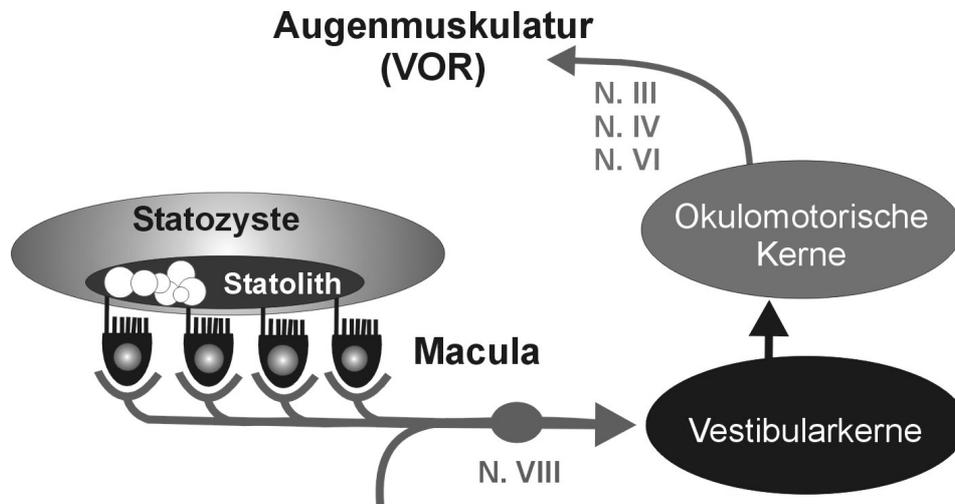


Abb. 1: Der vestibulookuläre Reflexbogen des rVOR. Die Rezeptoren (Haarsinneszellen) liegen in der Macula utriculi und sind über den Nervus statoacusticus mit den Vestibularkernen verbunden. Von dort ziehen Axone zu den okulomotorischen Nuclei, wo sich die Motoneurone für die Augenmuskulatur befinden.

Auch die Reizung der Haarsinneszellen der Cupulae in den Ampullen an der Bogengangbasis kann einen VOR auslösen. Diese Rezeptoren reagieren mit einem phasischen Erregungsverlauf auf Drehbeschleunigungen. Entsprechend der unterschiedlichen sensorischen Komponenten lässt sich das Reflexgeschehen unterteilen: Der statische, rollinduzierte VOR (rVOR) geht auf den tonischen Erregungsanteil der Rezeptoren in der Macula utriculi während einer seitlichen Rollung um die Körperachse zurück. Den durch die Rezeptoren in den Ampullen ausgelösten Reflex bezeichnet man hingegen als dynamischen VOR (Sebastian et al. 1995). Die Vestibularkerne sind Gebiete multimodaler Konvergenz. Sie erhalten z.B. optische Afferenzen, Signale aus den contralateralen Vestibularkernen sowie aus dem Cerebellum (Precht 1979, Hillman 1976). Entwickeln sich die Tiere in Dunkelheit, so hat das einen Einfluss auf die Ausbildung des rVOR. Der rVOR tritt bereits kurz nach dem Schlüpfen auf, somit sind die involvierten Komponenten funktionstüchtig (Sebastian et al. 1996, Sebastian 1994). Auch das Auge bildet die retinotectalen Projektionen zu diesem Zeitpunkt aus (Zhang et al. 1998).

1.3 Fragestellungen dieser Arbeit

Es ist bekannt, dass eine Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen bei Kaulquappen Effekte auf den rVOR (Horn et al. 1995, Sebastian et al. 1996, Horn und Sebastian 1996, Sebastian und Horn 1998) und das Schwimmverhalten (Fejtek et al. 1998) hat. Daher kann ein Vergleich zwischen den beiden motorischen Systemen, die gemeinsame sensorische Afferenzen erhalten, mittels physiologischer Methoden nützlich sein. Denn Veränderungen sollten in ihrem Ausmaß und ihrem zeitlichen Ablauf umso ähnlicher sein, je länger die gemeinsame Verarbeitungstrecke der Information ist. Aus dieser Überlegung ergaben sich folgende Fragestellungen:

- Wie sieht das fiktiven Schwimmen nach einer Entwicklung unter normalen Gravitationsbedingungen aus?
- Hat eine Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen einen Einfluss auf das Schwimmmuster?
- Führt eine Reizänderung durch deren Vermittlung auf unterschiedliche motorische Systeme der Kaulquappe dort zu koordinierten Entwicklungsverläufen?
- Gibt es einen Zusammenhang der motorischen Äußerungen unterschiedlicher Systeme, der unabhängig von Umgebungseinflüssen auftritt?

Befunde dieser Arbeit wurden während verschiedener Tagungen vorgestellt (Böser und Horn 2002a,b; Horn und Böser 2002; Böser et al. 2002).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und ihre Haltung

Die Experimente wurden mit den Kaulquappen des afrikanischen Krallenfroschs *Xenopus laevis* durchgeführt. Zum Erhalt der befruchteten Eier wurde adulten Exemplaren HCG (10 000 IU; Weibchen 0,5 ml, Männchen 0,1 ml) injiziert. Die Ausbeute an befruchteten Eiern lässt sich erheblich verbessern, wenn die Männchen bereits einen Tag vorher 0,1 ml HCG verabreicht bekommen. Die Untersuchung des fiktiven Schwimmens während der frühen Entwicklung der Kaulquappen fand an Larven statt, die bei 20°C Lufttemperatur in 20 l Aquarien aufwuchsen. Die Aquarien wurden mit einem Sprudelstein belüftet. Als Futter wurden Brennessel- und Hefepulver verabreicht. Die Stadienbestimmung erfolgte anhand der Kriterien von Nieuwkoop und Faber (Nieuwkoop und Faber 1967). Da es zwischen Stadium 46 und 47 eine Durchmischung der externen Kriterien gibt, wurde eine weitere Unterteilung vorgenommen: Stadium 46,4 entspricht Kaulquappen, deren Körpergröße wie im Stadium 46 aber deren Darmwindung wie im Stadium 47 ausgebildet ist; Stadium 46,6 entspricht Kaulquappen, welche die Körpergröße von Stadium 47 besitzen, aber in ihrer Darmentwicklung verspätet sind. Die verwendeten Gelege stammten im Fall der Hypergravitationsexperimente und Entwicklungskennlinien von 2 bis 3 Elternpaaren gleicher Herkunft. Für den Mikrogravitationsansatz wurde das Gelege eines Elternpaares verwendet.

2.2 Hypergravitationsbehandlung

Die Entwicklung unter Hypergravitation erfolgte in einer Zentrifuge. Bei der Drehung ergibt sich eine, von Radius und Drehzahl abhängige, künstliche Schwerkraft, die sich aus der vorhandenen Erdanziehungskraft und der Radialbeschleunigung über den Satz von Pythagoras ($a^2+b^2=c^2$) errechnen lässt. Bedingt durch die Ausrichtung der Haltungscontainer in der Zentrifuge wirkte die erzeugte Hypergravitation nicht senkrecht auf die Container mit den Versuchstieren. Daher wurden die Behälter mit den 1g-Kontrollen in einem schrägen Winkel aufgestellt, so dass der Schwerkraftvektor beide Containergruppen im gleichen Winkel durchdrang.

Wie die Kontrolltiere wurden auch die Versuchstiere während der Behandlungszeit zu fünft in petriPERM-Schälchen unter Dunkelheit bei 20°C Lufttemperatur gehalten. Die Schälchen haben bei einem Durchmesser von 5,5 cm und einer Höhe von 1,5

cm ein Volumen von 25 ml. Eine Deckwand ist mit einer luftdurchlässigen Membran ausgestattet. Das Wasser (2 Tage lang durchlüftetes Leitungswasser) wurde vor dem Einsetzen der Tiere 10 min lang mit medizinischem Sauerstoff begast. Außerdem wurden jedem Behälter noch 1 ml *Euglena*-Kultur als Futter und ein Stück Aktivkohle zur Entgiftung beigegeben. Dann wurden die Schälchen mit einem Gemisch aus Vaseline und Bienenwachs (1:1) abgedichtet.

In vorhergehenden Hypergravitationsexperimenten mit *Xenopus laevis* und dem Fisch *Oreochromis mossambicus* hatte sich eine dreifach erhöhte Erdanziehung (3g) als wirksam auf den rVOR erwiesen, wohingegen bei Fischlarven 2,0 und 2,5g unwirksam waren (Horn et al. 1994, Horn und Sebastian 1996, Sebastian et al. 1995 und 1998). Somit wurde auch in diesen Experimenten mit einer 3g-Zentrifugation gearbeitet. Hypergravitationsexperimente wurden mit Tieren in drei verschiedenen Altersstufen durchgeführt (Tab. 1). Die Untersuchungen von rVOR und Schwimmuster begannen 2 bis 4 Stunden nach Ende der 3g-Behandlung (Abb. 3).

Tab. 1: Versuchsgruppen im Überblick (Stadieneinteilung und Entwicklungsstand nach Nieuwkoop und Faber 1967 und van Mier et al. 1989)

	Alter bei Beginn von 3g oder μ g	Entwicklungsstand
3g-Experiment 1	Stadium 12-19	Neuralanlagenbildung
3g-Experiment 2	Stadium 11-17	Neuralanlagenbildung
3g-Experiment 3	Stadium 24-27	erste Aktivität in den spinalen Motoneuronen
3g-Experiment 4	Stadium 37-41	geschlüpft, freischwimmend
μ g-Experiment 1	Stadium 26-27	erste Aktivität in den spinalen Motoneuronen

2.3 Mikrogravitationsbehandlung

Die Gravitation außer Kraft zu setzen ist auf der Erde nur für sehr kurze Zeiträume möglich. So z.B. bei Parabelflügen oder in Falltürmen. Neuerdings wird für Zellkulturen auch die RPM (Random Positioning Machine) verwendet, bei der es sich um einen dreidimensionalen Klinostaten handelt. Hierbei wird ein Container so bewegt, dass die mittlere Länge des wirksamen Schwerkraftvektors in bezug auf den Inhalt 0 beträgt. Diese Versuchsbedingungen sind als Schwerelosigkeitssimulation jedoch ungeeignet für Objekte mit Eigenbewegung, wie Kaulquappen. Die Deprivation des adäquaten Reizes für den Schwere Sinn über einen längeren Zeitraum lässt sich daher nur mit Hilfe von Raumtransportern, Satelliten oder einem Aufenthalt auf der Internationalen Raumstation (ISS) erreichen. Eine z.Z. vorhandene

Möglichkeit sind die sogenannten Soyuz-Taxi-Flüge zur ISS. Sie dienen nicht nur der Versorgung der Besatzung und dem Auswechseln der Soyuz-Rettungskapsel, sondern sie bieten auch eine Gelegenheit zu mehrtägigen Weltraumexperimenten. Jährlich finden regelmäßig zwei solcher Flüge statt, die in zunehmendem Maße von Wissenschaftlern zum Experimentieren genutzt werden.

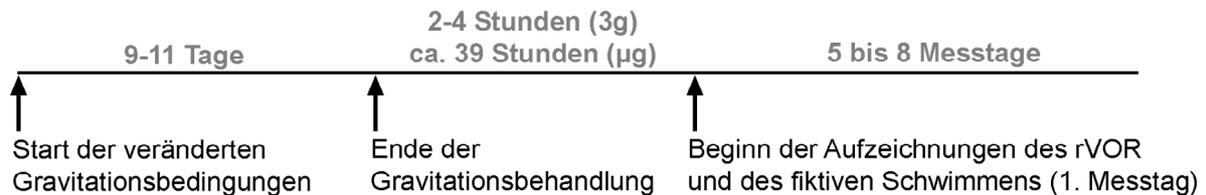


Abb. 3: Zeitverlauf während der Experimente mit veränderten Gravitationsbedingungen.

Vollständige Schwerelosigkeit ist auch im Weltraum kaum erreichbar, da durch das Vorhandensein von Masse überall eine minimale, jedoch messbare Anziehungskraft besteht. Bei den genutzten Flughöhen von 300 bis 500 km ist ein Rest an Erdanziehungskraft vorhanden. Auch Bewegungen der Mannschaft und Korrekturzündungen der Triebwerke erzeugen Beschleunigung. Man spricht daher unter diesen Bedingungen von Mikrogravitation und nicht von Schwerelosigkeit. Mikrogravitation schwankt aufgrund der verschiedenen genannten Faktoren zwischen $10^{-2}g$ und $10^{-6}g$.

Die annähernd 10-tägige Entwicklung unter Mikrogravitation erfolgte bei dem Soyuz-Taxi-Flug Andromède zur ISS im Oktober 2001. Während des Fluges wurden die Tiere in weltraumtauglicher Transport-Hardware aufgezogen. Diese bestand aus für die Mission SMM-06 (1997) entwickelten Miniaquarien (Horn und Sebastian 1999), welche mit einer luftdurchlässigen Biofolie verschlossen sind und ein Volumen von 42 ml besitzen. Die Aquarien wurden während der Mission in einem luftdurchlässigen Biorack Typ 1 Container (Abb. 4) und einem Inkubator (Abb. 5) aufbewahrt. Die zugehörige 1g-Gruppe wurde am russischen Kontrollzentrum in Korolev in einem Inkubator unter entsprechenden Bedingungen gehalten (Dunkelheit, 20°C Lufttemperatur). Das Aquarienwasser (Evian) wurde vor dem Einsetzen der Tiere 10 Minuten mit medizinischem Sauerstoff begast. Außerdem wurden jedem Behälter noch 3 ml *Euglena*-Kultur als Futter für die 12 Larven und 2 Stück Aktivkohle zur Entgiftung beigegeben. Die Tiere waren bei Beginn der Schwerelosigkeit im Stadium

26 und 27 (Tab. 1). Die Aufnahmen des rVOR und des Schwimmmusters begannen ca. 39 Stunden nach Ende der Schwerelosigkeit (Abb. 3).

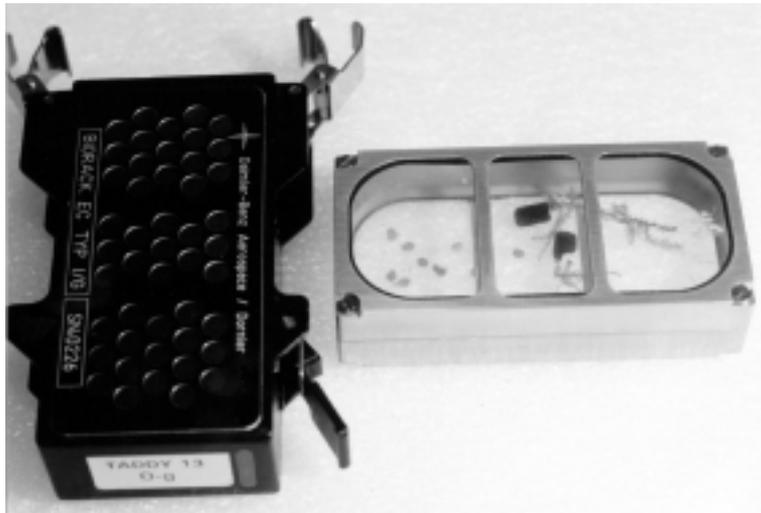


Abb. 4: Links ein Biorack Typ 1 Container, der als Standardbehälter für unterschiedliche Weltraumexperimente verwendet werden kann. Für den Transport der Kaulquappen wurde er mit Belüftungsbohrungen versehen, die Öffnungen sind nach innen mit einem wasserabweisenden, aber luftdurchlässigen Material (Goretex) abgedichtet. Rechts ein Miniaquarium mit frühen *Xenopus* Stadien und Aktivkohle, passend entwickelt für den Typ 1 Container (Abbildung aus Horn und Sebastian 1999).



Abb. 5: Der Aquarius-Inkubator CTA (Conteneur du Transport Aller) für den Transport von Weltraumexperimenten in einer Soyuz-Kapsel. Der Rücktransport fand mit der modifizierten Form CTR (Conteneur du Transport Retour) statt.

2.4 Elektrophysiologische Untersuchung des fiktiven Schwimmens

2.4.1 Silberfärbung zur Lokalisation der ventralen Rückenmarkswurzeln

Bei jungen Stadien ist es durchaus möglich mit entsprechender seitlicher Beleuchtung die ventralen Wurzeln zwischen den Myotomen zu erkennen. Somit ist das Aufsetzen der Elektroden einfach. Bei den älteren Tieren ist das nicht der Fall und es gelang anfangs nicht, die Nerven zu treffen. Zur besseren Orientierung wurden einige Silberfärbungen des Nervensystems im Stadium 46 angefertigt. Die Präparate sollten Aufschluss über die Erreichbarkeit der Fasern bei älteren Stadien geben. Die Methodik zur Färbung befindet sich im Anhang unter 7.4.1. Leider ist es bei Kaulquappen nicht möglich eine Färbung des spinalen Nervensystems mit Vitalfarbstoffen wie Methylenblau durchzuführen (Brown 1946 und eigene Beobachtung). Deshalb wurde die aufwendigere Silberfärbung gewählt.

2.4.2 Vorbehandlung der Tiere

Die extrazellulären Messungen an der ventralen Wurzel fanden bei gelähmten Kaulquappen statt. Hierzu wurde zunächst die Rückenflosse mit einer scharfen Insektennadel beschädigt, damit das Schlangengift α -Bungarotoxin eindringen konnte. Zuvor wurden die Tiere mit 0,01% MS-222-Lösung immobilisiert. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte die Stadienbestimmung nach den Kriterien von Nieuwkoop und Faber (Nieuwkoop und Faber 1967). Die Kaulquappen wurden nach Beschädigung der Flosse bis zum Erwachen in Ringer gewaschen und dann in 1 ml α -Bungarotoxin (10^{-5} mit Ringer verdünnt) überführt. Im Stadium 46/47 beträgt die Inkubationszeit 35 Minuten. Das Schlangengift α -Bungarotoxin, ein Protein, bindet spezifisch und fast irreversibel an der α -Untereinheit des Acetylcholin-Rezeptors und verhindert so ein Öffnen seines Kanals (Voet und Voet 1992).

Die gelähmte Kaulquappe wurde in frischem Ringer auf einem Sylgard-Bettchen mit einer Vertiefung für den Kopf auf die rechte Seite gelegt und mit 2 Klammern fixiert. Im Messbereich wurde vorsichtig die Haut von den Myotomen gezogen. Zur Ableitung der Nervenaktivität wurden aus Glaskapillaren mit einem Puller Elektroden gezogen und die Spitze bei einem Innendurchmesser von etwa 50 μ m abgebrochen. Die mit Ringer gefüllten Elektroden wurden auf den intermyotomalen Spalt gesetzt und das Gewebe angesaugt. Das otische Vesikel, aus dem sich das Vestibularsystem entwickelt, ist in den Präparaten gut erkennbar und wird daher von

Wissenschaftlern, die mit dieser Methode arbeiten, als Orientierungshilfe beim Aufsetzen der Elektroden verwendet. Die rostrale Elektrode wurde bei den Messungen nach einer Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen 10 Myotome hinter dem otischen Vesikel plaziert, die caudale Elektrode 4 Myotome dahinter. Diese Plazierung erwies sich bei diesen Versuchstieren aus anatomischen Gründen als vorteilhaft, da sie sich im Stadium 46 bis 47 befanden und sich bei diesem Alter dort keine größeren Blutgefäße befinden. Außerdem ist diese Stelle noch sehr kopfnah. Im caudalen Bereich gestaltet sich die Präparation schwieriger, weil sich der Kaulquappenschwanz von rostral nach caudal verjüngt.

2.4.3 Messprozedur

In dem durch Forschungsgruppen in England, z.B. der Gruppe von Alan Roberts an der Universität Bristol, sehr gut untersuchten Stadium 37/38 kann fiktives Schwimmen auch durch eine vom Pinealorgan des Tieres wahrgenommene Verdunklung initiiert werden. Die Aktivität lässt sich durch das Ziehen am Schleimfaden der Zementdrüse, mit dem sich die Tiere an die Wasseroberfläche und Gefäßwände hängen, abbrechen (Jamieson und Roberts 2000). Bei älteren Tieren wird fiktives Schwimmen nur noch durch Berührung ausgelöst, deren Wahrnehmung vermutlich über die mechanosensitiven Rohon-Beard-Zellen stattfindet (Clarke et al. 1984). Deshalb wurden die Kaulquappen in den hier durchgeführten Experimenten an der Schwanzspitze mit einem Mausebarthaar stimuliert, um fiktives Schwimmen auszulösen.

Zwischen den einzelnen Messungen lagen wenige Minuten. Falls die Tiere auf die Stimulation statt mit Schwimmen mit „Struggling“, einer heftigen synchronen Entladung (Kahn und Roberts 1982b), reagierten, wurde bis zur nächsten Stimulation 15 bis 30 Minuten gewartet. Pro Tier wurden 3 bis 5 Schwimmemisoden aufgezeichnet. Die Aufnahmen wurden mit einem Oszilloskop (Tektronix 5111 A) verstärkt und gefiltert und mit einem DAT-Recorder (Sony PC 204 Ax, Aufnahmezeitrate 20 kHz) aufgezeichnet. Um die Analyse mit dem Auswertprogramm Spike 2 zu ermöglichen, wurden die Aufnahmen digitalisiert (A/D-Wandler CED 1401 plus). Zur Beseitigung von Störsignalen wurde eine Differenzialableitung durchgeführt (Abb.6). Außerdem war der elektrophysiologische Arbeitsplatz (Abb. 7) von einem Faraday-Käfig umgeben. Weitere Angaben zu den verwendeten Geräten finden sich im Anhang unter 7.2.

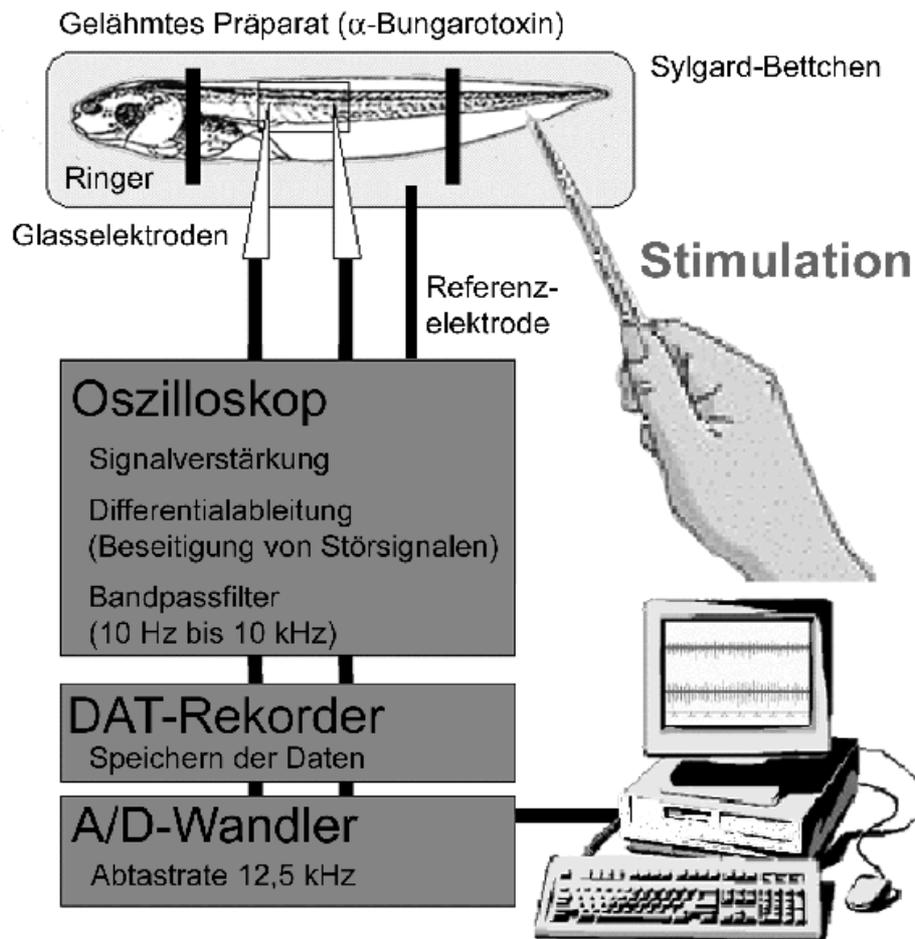


Abb. 6: Schematischer Überblick des Versuchsaufbaus zur Ableitung des fiktiven Schwimmens. Nähere Erläuterungen finden sich im Text unter 2.5.2. Ein Foto des Arbeitsplatzes ist in Abb. 7 zu sehen.

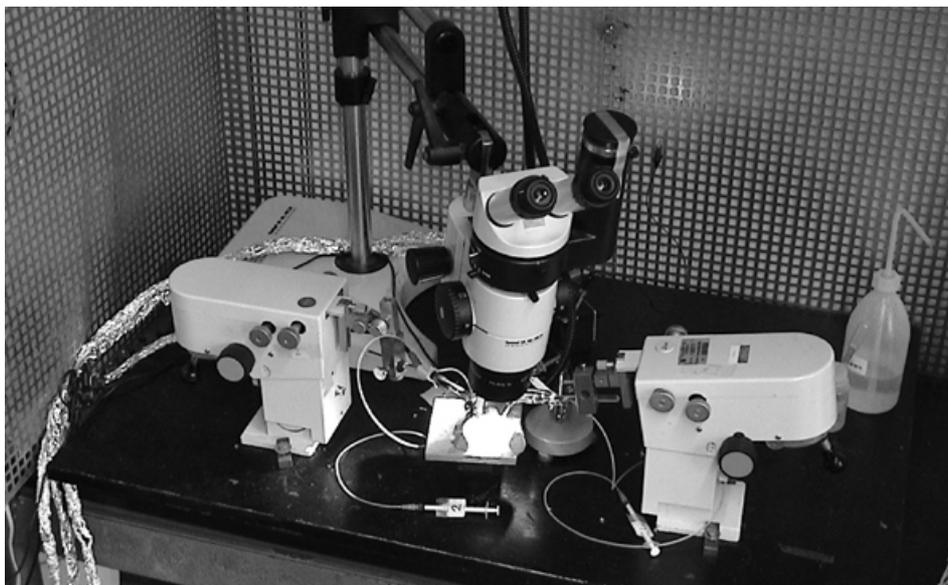


Abb.7: Arbeitsplatz zur extrazellulären Ableitung mit Präparat-Beleuchtung, Binokular, Mikromanipulatoren für die Elektrodenplatzierung und einem Faraday-Käfig zur Abschirmung von Störsignalen. Drei Kabel führen zum Oszilloskop: Die beiden Kabel der rostralen und der caudalen Ableitelektrode und das Kabel der Referenzelektrode für die Differentialableitung.

2.4.4 Datenbearbeitung

Zur Datenauswertung wurden die ersten drei Äußerungen fiktiven Schwimmens (Episoden) herangezogen. Für die Bestimmung der Episodenlänge wurden nur Zeiträume von Schwimmaktivität verwendet, die an beiden Elektroden gemessen werden konnten. blieb die Aktivität an einer der beiden Elektroden aus, wurde das als der Endpunkt des fiktiven Schwimmens gewertet. Gelegentlich zu Beginn einer Episode auftretendes „Struggling“ wurde nicht zu den Episoden gerechnet. Die Episoden setzen sich aus rhythmisch auftretenden Entladungen (Bursts) zusammen. Ausgewertet wurden neben der Episodenlänge noch die Burstdauer, die Zykluslänge und die Verzögerung (Delay) im Auftreten der Bursts zwischen der rostralen und caudalen Elektrode (Abb. 8).

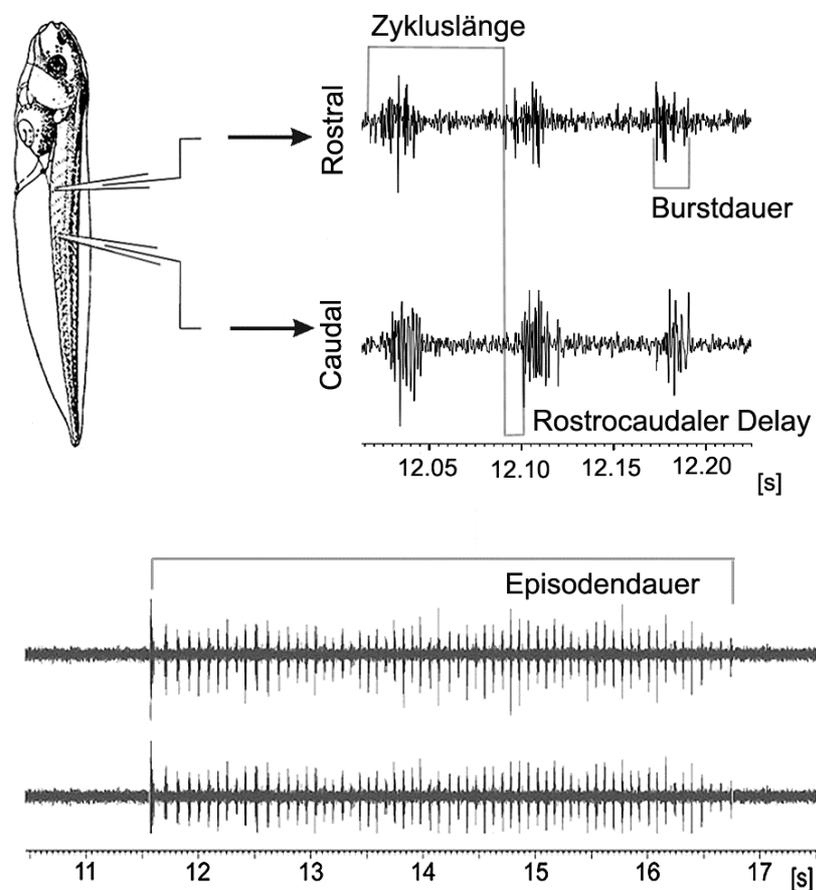


Abb. 8: Ableitung 10 und 14 Myotome postotisch an den ventralen Wurzeln einer Kaulquappe im Stadium 46 mit Darstellung der Parameter Zykluslänge, Burstdauer, rostrocaudaler Delay und Episodendauer.

Für die Messungen zur Bestimmung der Entwicklungskennlinien wurden die Zyklen 1 bis 10 einer Episode von Hand ausgewertet. Die Experimente, bei denen sich die Tiere zuvor unter veränderten Gravitationsbedingungen entwickelt hatten, wurden, bis auf eine Ausnahme, mit einem Auswertprogramm (Skript unter 7.5.1) analysiert.

Hier wurden die Zyklen 5 bis 16 einer Episode ausgewertet. Das Auswertprogramm basiert auf zwei horizontalen Begrenzungen je Kanal, bei deren Überschreitung in einem Ergebniskanal ein Ereignis abgebildet wird. Die den Bursts entsprechenden Ereignisanhäufungen wurden zusammengefasst und geglättet. Die Anfangs- und Endzeit der Bursts wurde danach automatisch aufgelistet und konnte in Dateneingabefelder einer passenden Exceldatei kopiert werden (Abb. 9). Dort wurden mit Hilfe von Tabellenkalkulationen die benötigten Parameter errechnet.

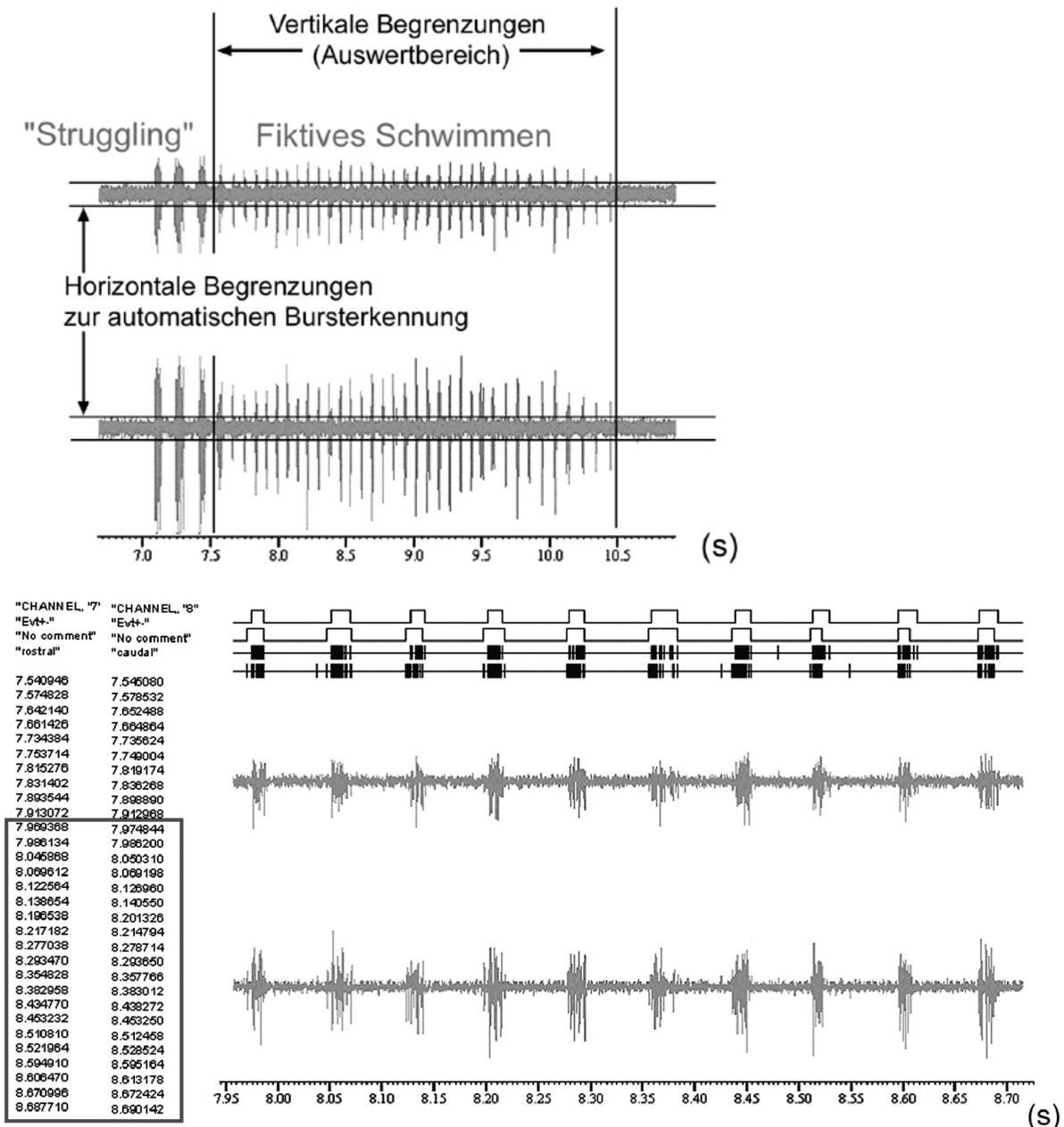


Abb. 9: Vereinfachte Darstellung der Funktionsweise des verwendeten Auswertprogramms. Durch das Setzen von vertikalen Begrenzungen wird der Auswertbereich festgelegt. Das Überschreiten der horizontalen Begrenzungen ergab in einem Ergebniskanal ein Ereignis. Die Ereignisanhäufungen wurden anschließend automatisch zu Bursts zusammengefasst. Ihre Anfangs- und Endzeit wurde in einer Textdatei angegeben.

2.5 Verhaltensexperiment zum vestibulookularen Reflex

2.5.1 Vorbehandlung der Tiere

Vor dem Einsetzen in die vollautomatische Messapparatur (Abb. 10) wurden die Tiere 1-2 Minuten in eine 0,01% MS-222-Lösung gegeben, um sie ruhigzustellen. Sie wurden dann mit eng am Körper anliegenden Insektennadeln auf einem Korkbettchen in der Beobachtungskammer fixiert. Die Kammer wurde mit Wasser gefüllt und in die Messapparatur gesetzt.

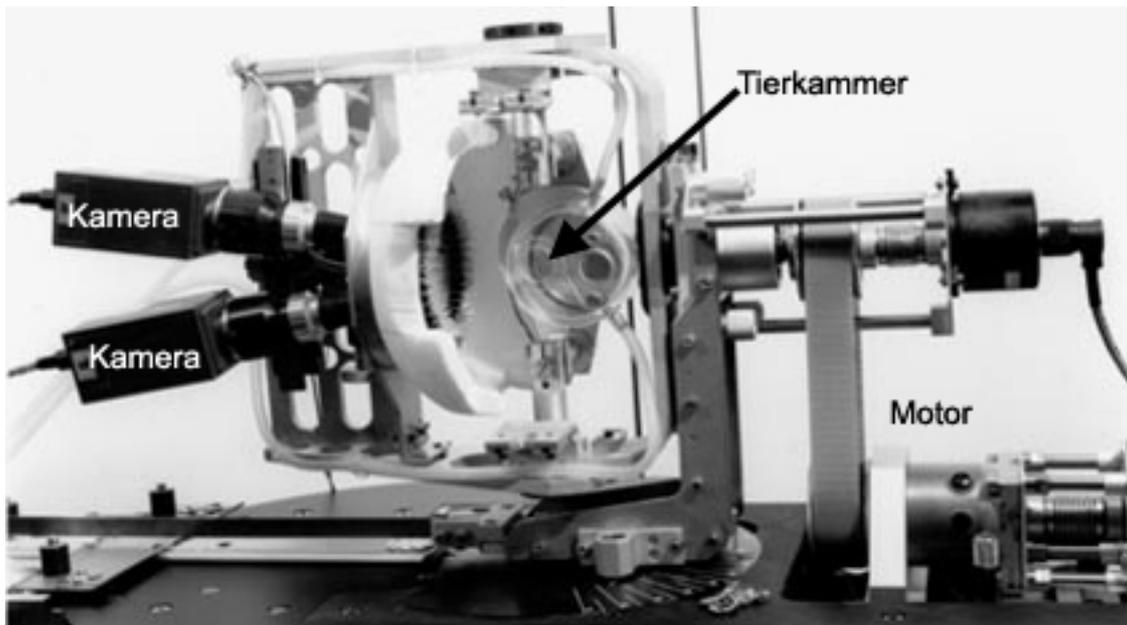


Abb. 10: Messapparatur zur automatischen Erfassung des rVOR (modifiziert nach Sebastian 1994).

2.5.2 Messprozedur

Die beiden Kameras lieferten Frontalaufnahmen der Kaulquappen während einer lateralen 360° Drehung im Uhrzeigersinn. Die Drehung erfolgte in 15° Schritten, der Übergang von einer Lage in die nächste dauerte 0,5 Sekunden. Die jeweilige Position wurde 7,5 Minuten lang beibehalten. Die Videoaufzeichnung (25 Bilder/Sekunde) erfolgte während der kompletten Messung, beide Vorgänge waren durch ein Computerprogramm gesteuert, die einzelnen Bilder waren nummeriert. Die genauen Angaben zu den Geräten finden sich im Anhang unter 7.2.

2.5.3 Datenbearbeitung

Die kompensatorische Gegenbewegung der Augen bei einer seitlichen Lageänderung der Larven lässt sich an der Ausrichtung des Augenbecherrandes

feststellen. Da sich die Kamera mit der Beobachtungskammer mitdrehte, konnte der Winkel der Augenbecherrandausrichtung in Bezug zur dorsoventralen Körperachse des Tieres ermittelt werden (Abb. 11 links). Ausgewertet wurde jeweils das Bild, das 1 Sekunde vor dem nächsten Reizsprung lag. Hierzu wurde ein Bildauswertungsprogramm verwendet (Bioscan OPTIMAS), das mit Hilfe eines Makros die Daten und zugehörigen Schaubilder lieferte (siehe Sebastian et al. 1996). Alle 25 Messergebnisse der 15° Schritte wurden sowohl für das rechte als auch für das linke Auge eines Tieres gegen den zugehörigen Reizwinkel aufgetragen. Es entstand die für den rVOR charakteristische sinusähnliche Reiz-Reaktions-Linie (Abb. 11 rechts). Die Amplitude der Kurve (= Winkel zwischen den maximalen Augenausrichtungen nach ventral und nach dorsal) dient der quantitativen Beschreibung der rVOR-Stärke. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert der rVOR-Amplituden von rechtem und linkem Auge dargestellt.

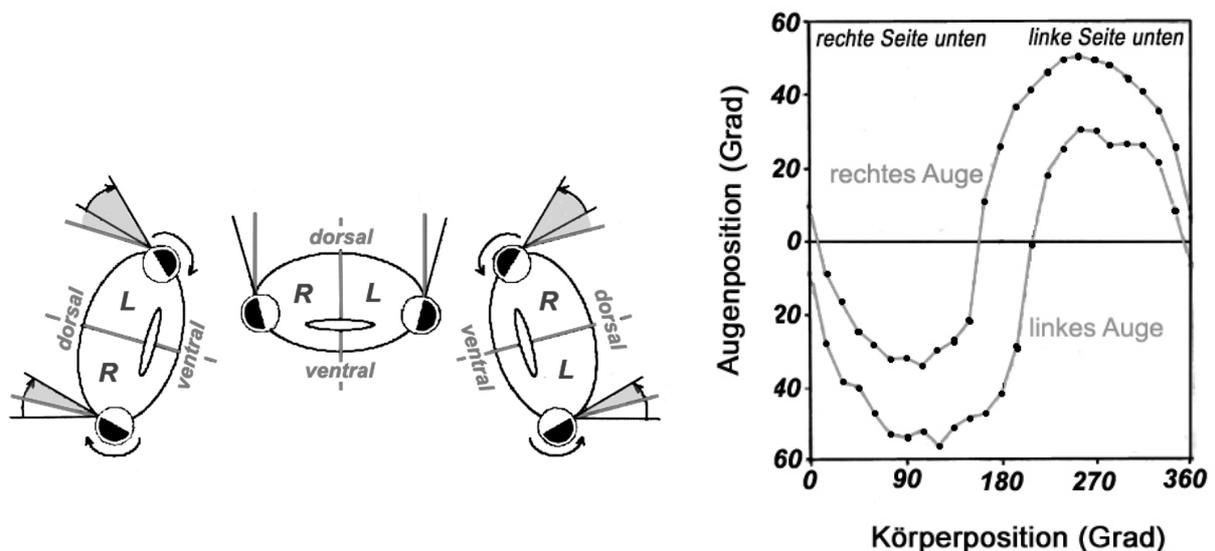


Abb.11: Links die Augenstellungsänderung in Bezug zur Ausgangsstellung (Pfeil) und in Bezug zur dorsoventralen Achse des Tieres (grauer Winkel). Rechts die graphische Darstellung der Augenpositionsänderung während einer seitlichen 360° Körperrollung (modifiziert nach Sebastian 1994).

2.6 Statistik

Da es nicht nachweisbar war, ob die Daten einer Gaußschen Normalverteilung folgen, wurde der nichtparametrische U-Test nach Wilcoxon, Mann und Withney (Sachs 1997) verwendet. Es wurde der zweiseitige Test gewählt, weil nicht vorhersehbar war, in welche Richtung die Effekte wiesen. Verteilungsunterschiede, bei denen die Irrtumswahrscheinlichkeit $p=0,05$ oder kleiner war, wurden als signifikant betrachtet. Darüber hinaus wurde bis maximal $p=0,1$ angenommen, dass

die Datenverteilung tendenziell einen Unterschied aufweist (Trend). In den Abbildungen werden außerdem die Mittelwerte der Einzeldaten mit dem Standardfehler des Mittelwertes verwendet. Für die Datenkorrelationen wurde ebenfalls $p=0,05$ als Signifikanzniveau genommen (Sachs 1997). Bei den Ergebnissen in Kapitel 3.5 gab es starke Unterschiede in den Kontrollgruppen. Da für eine Varianzanalyse eine Normalverteilung vorliegen muss, wurde hier stattdessen der U-Test zwischen den beiden Kontrollgruppen durchgeführt.

2.7 Tierversuchsgenehmigung

Eine Genehmigung für die vorliegenden Tierversuche wurde unter der Nummer 657 (Ulm) vom Regierungspräsidium Tübingen erteilt. Die hier durchgeführten Tierversuche stehen im Einklang mit dem z.Z. gültigen Tierschutzgesetz Deutschlands in seiner Form vom 25. Mai 1998 (BGB1.IS.1105, 1818). Die erste Versuchsgenehmigung wurde am 3. März 1999 erteilt. Eine Verlängerung erfolgte am 20. Februar 2002.

3 Ergebnisse

3.1 Darstellung der ventralen Wurzeln mittels Silberfärbung

Bei den frühen Stadien ist es durchaus möglich bei entsprechender seitlicher Beleuchtung die ventralen Wurzeln zwischen den Myotomen zu erkennen. Somit ist das Aufsetzen der Elektroden einfach. Bei den älteren Tieren gab die Färbung Aufschluss über die Erreichbarkeit der Fasern. Sie sind verhältnismäßig fein, verlaufen geschwungen und sind nicht mehr so stark exponiert wie bei den jungen Tieren. Daher ist es unter Umständen recht schwierig, sie zu treffen (siehe Abb. 12).

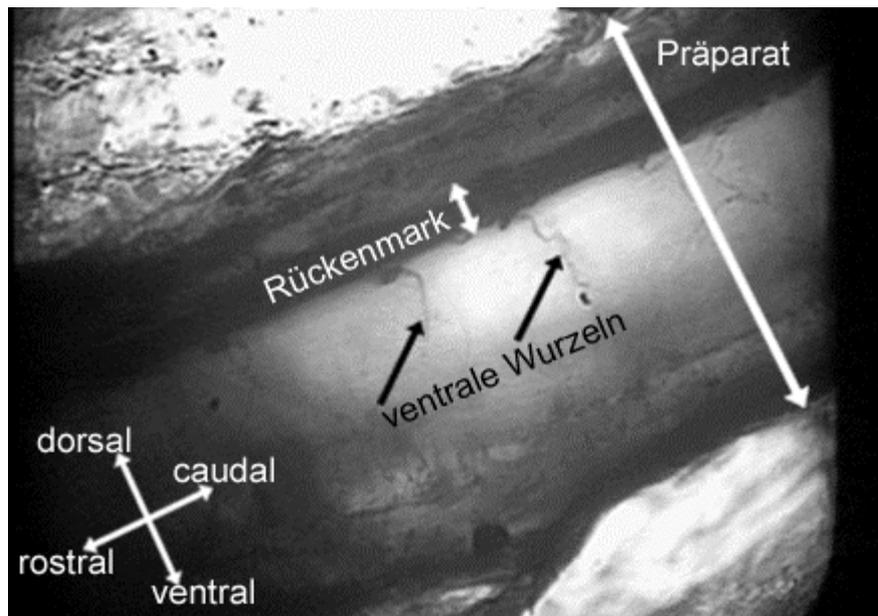


Abb. 12: Silberfärbung in einer *Xenopus*-Larve Stadium 46. Es handelt sich um den mittleren Bereich des Schwanzes. Im oberen Bereich sieht man das Rückenmark, von dem die ventralen Wurzeln der einzelnen Segmente entspringen.

3.2 Entwicklung der Parameter des fiktiven Schwimmens

Das Modell „fiktives Schwimmen“ dient bei den meisten Experimenten der Erforschung des Schwimmmusters und seiner Steuerung. Viele der momentan aktiven Forschungsgruppen haben ihren Sitz in Großbritannien und können aufgrund der dort herrschenden Tierschutzbedingungen nur bis zum Stadium 42 ableiten. Meistens verwenden sie das Stadium 37/38. Die weitere Entwicklung der Mustereigenschaften wurde bisher nicht untersucht. Die in dieser Studie verwendeten Versuchstiere sind nach Ablauf der 9- bis 11-tägigen Exposition in veränderten Gravitationsbedingungen im Stadium 46 bis 47. Um die Ableitmethode an den ventralen Wurzeln für dieses Alter zu modifizieren und um Informationen über den Entwicklungsgang der Parameter Episodendauer, Zykluslänge, Burstdauer und

rostrocaudaler Delay zu erhalten, wurden Ableitungen im Stadienbereich 37/38 bis 47 durchgeführt. Nach diesem Alter gab es methodische Schwierigkeiten. Es kam gelegentlich zum Herzstillstand während der Lähmung mit α -Bungarotoxin. Außerdem sank der Kopf der Tiere nicht mehr ab, sondern schwamm auf, was die Präparation erschwerte. Des Weiteren reagierten die Kaulquappen bei Stimulation im Normalfall mit „Struggling“ (siehe 2.4.3) oder gar nicht, nur selten zeigten sie das Schwimmmuster. Daher enden die Entwicklungskurven mit dem Stadium 47.

Die Segmentreifung findet bei Kaulquappen von rostral nach caudal statt. Im Stadium 40 sind die ersten 10 Spinalnerven gut entwickelt (Nieuwkoop und Faber 1967). Im Stadium 37/38 ist es möglich, an den ventralen Wurzeln der ersten 26 Segmente abzuleiten (van Mier et al. 1989). Zusätzlich lässt sich ein Einwachsen der supraspinalen Bahnen beobachten. Werden am 17. Segment Backfills mit HRP (Horse Radish Peroxidase) vorgenommen, so nimmt die Anzahl der gefärbten Somata im Hirnstamm und Mesencephalon mindestens bis Stadium 46 zu (Nordlander et al. 1985). Daher wurde der Ableitbereich im ersten Experiment (3.2.1) möglichst rostral gehalten, soweit es anatomisch durchführbar war. Ab Stadium 45 war es aufgrund des Kopfdurchmessers und mehrerer großer Blutgefäße schwierig, oberhalb des 10. Segments zu präparieren. Im zweiten Experiment (3.2.2) wurden die Elektroden konstant 10 und 14 Myotome nach der otischen Kapsel positioniert. Dies war auch die Platzierung bei den Messungen nach Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen.

3.2.1 Elektrodenplatzierung in der rostralen Körperhälfte

Die Elektrodenplatzierung war hier in der rostralen Körperhälfte. Der Abstand zwischen rostraler und caudaler Elektrode betrug stets 4 Myotome. Genaue Angaben über die Ableitstellen können Abb. 13 entnommen werden. Die Myotome in diesem Bereich waren bereits vollständig entwickelt, so dass sich der Elektrodenabstand bei den älteren Stadien kaum änderte. Es ergab sich ein Anstieg der Beträge für die Burstdauer und die Zykluslänge mit zunehmendem Alter, während die Episodendauer abnahm. Der rostrocaudale Delay änderte sich hingegen kaum. In Abb. 14 sind diese Ergebnisse durch Ableitungen einzelner Kaulquappen im Stadium 37/38 und im Stadium 46 dargestellt. In Abb. 15 ist der Entwicklungsgang der Parameter bei je 5 Tieren pro Stadium zu sehen.

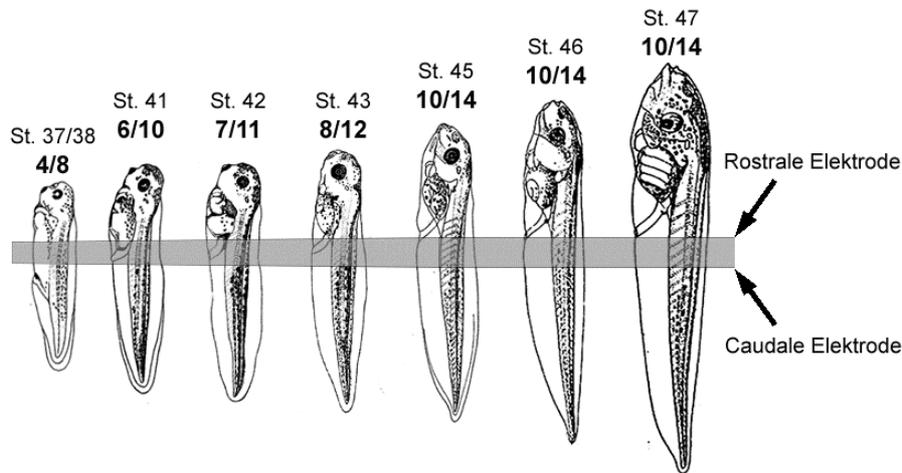


Abb. 13: Elektrodenplatzierung im Überblick. Unter der Stadienbezeichnung befindet sich die genaue Angabe der Elektrodenplatzierung (rostrale/caudale Myotomzahl nach der otischen Kapsel). Der Elektrodenabstand betrug jeweils 4 Myotome. Die Abbildung wurde anhand von Übersichtszeichnungen und einer Größenmessung pro Stadium erstellt (Stadiendarstellung aus Nieuwkoop und Faber 1967).

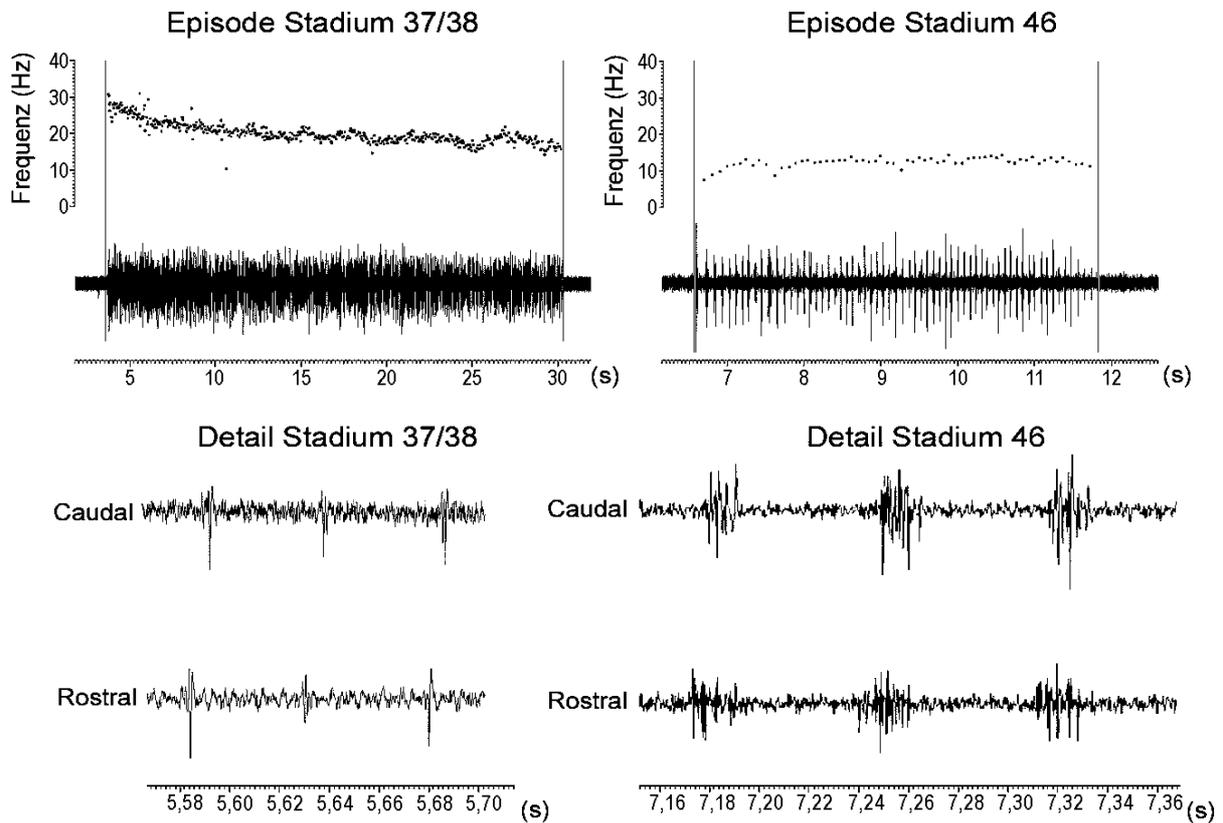


Abb. 14: Fiktives Schwimmen bei Kaulquappen unterschiedlichen Alters. Im Stadium 37/38 zeichnete sich das Schwimmmuster durch langandauernde Episoden aus (links oben). Die rhythmisch erscheinenden Bursts traten am Episodenanfang mit einer höheren Frequenz auf als gegen Ende. Im Stadium 46 waren die Episoden kürzer (rechts oben). Die Frequenz der Bursts, also der Kehrwert der Zykluslänge, lag hier niedriger und änderte sich zum Ende der Episode hin kaum. Die Detailansicht zeigt, dass die Bursts bei den jüngeren Tieren wesentlich kürzer waren als bei den älteren. Der rostrocaudale Delay bleibt in etwa gleich groß. Die Ableitstellen für Stadium 37/38 lagen 4 und 8 Myotome postotisch, für Stadium 46 10 und 14 Myotome postotisch. Der Elektrodenabstand war also jeweils 4 Myotome.

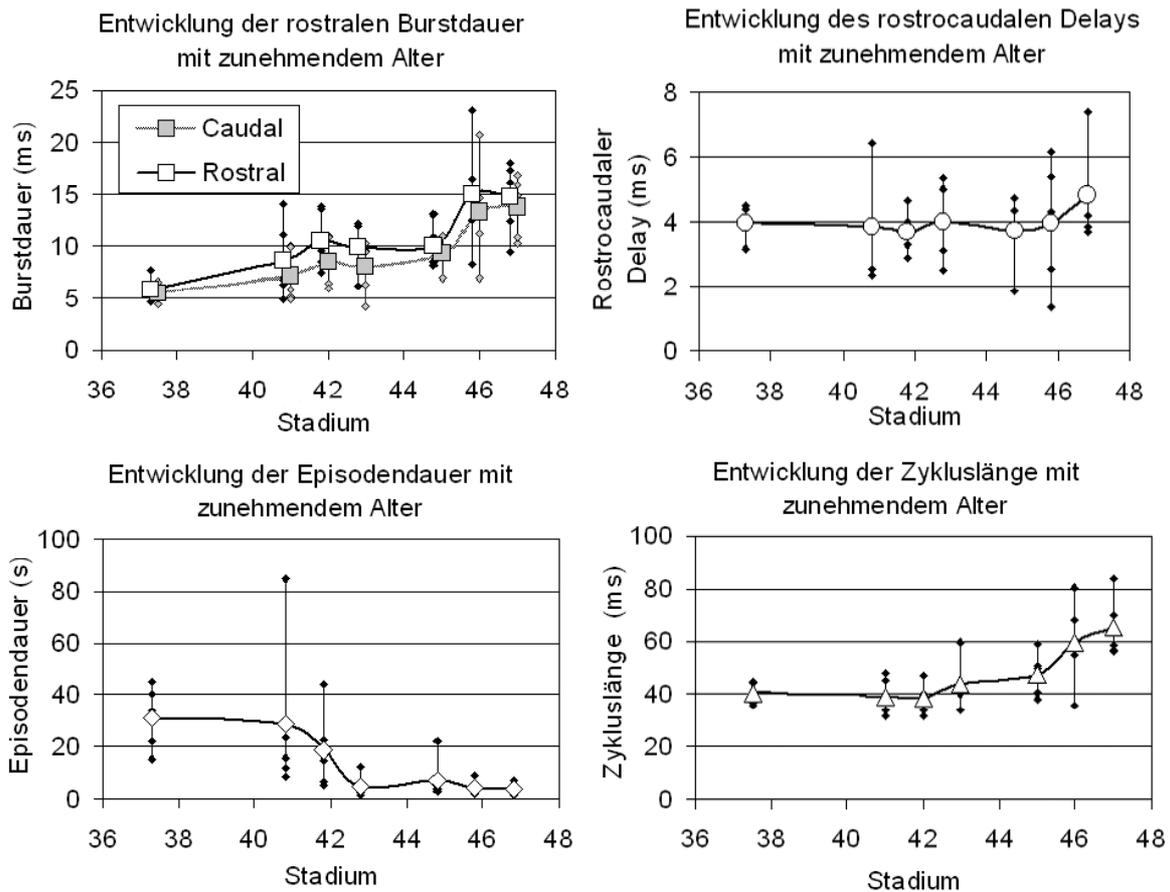


Abb. 15: Entwicklungsgang der untersuchten Parameter in der rostralen Körperhälfte ($n=5$ je Stadium, Einzeldaten und Mittelwerte). Die vertikalen Linien verbinden jeweils den kleinsten und größten Wert. Burstdauer und Zykluslänge (Mittelwert von rostraler und caudaler Ableitung) nehmen zu während die Episodendauer abnimmt. Der rostrocaudale Delay ändert seinen Betrag kaum. Im Vergleich zeigen die Daten zwischen Stadium 37/38 und Stadium 47 einen signifikanten Unterschied ($p=0,01$) mit Ausnahme des rostrocaudalen Delays.

3.2.2 Elektrodenplatzierung 10 und 14 Myotome postotisch

Die Elektrodenplatzierung in diesem Versuch war, wie in den Experimenten mit veränderten Gravitationsbedingungen, 10 Myotome nach der otischen Kapsel für die rostrale Elektrode und 14 Myotome postotisch für die caudale Elektrode. Der Elektrodenabstand betrug also immer 4 Myotome. Die Segmente in diesem Bereich nahmen bis zum Stadium 43 an Größe zu (Abb. 16). Pro Entwicklungsstadium wurde an 5 Tieren abgeleitet. Es ergab sich ein Anstieg der Beträge für die Burstdauer, den rostrocaudalen Delay und die Zykluslänge mit zunehmendem Alter, während die Episodendauer abnahm (Abb. 17).

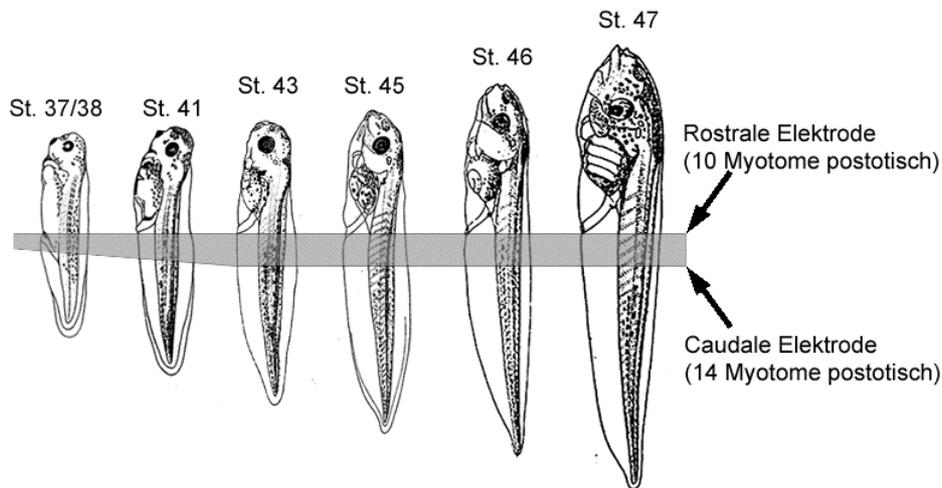


Abb. 16: Elektrodenplatzierung und –abstand im Überblick. Während sich die Myotome an dieser Stelle im Stadium 37/38 und 41 noch entwickelten, blieb ihr Abstand danach bis zum Stadium 47 einigermaßen konstant. Die Abbildung wurde anhand von Übersichtszeichnungen und einer Größenmessung pro Stadium erstellt (Stadiendarstellung aus Nieuwkoop und Faber 1967).

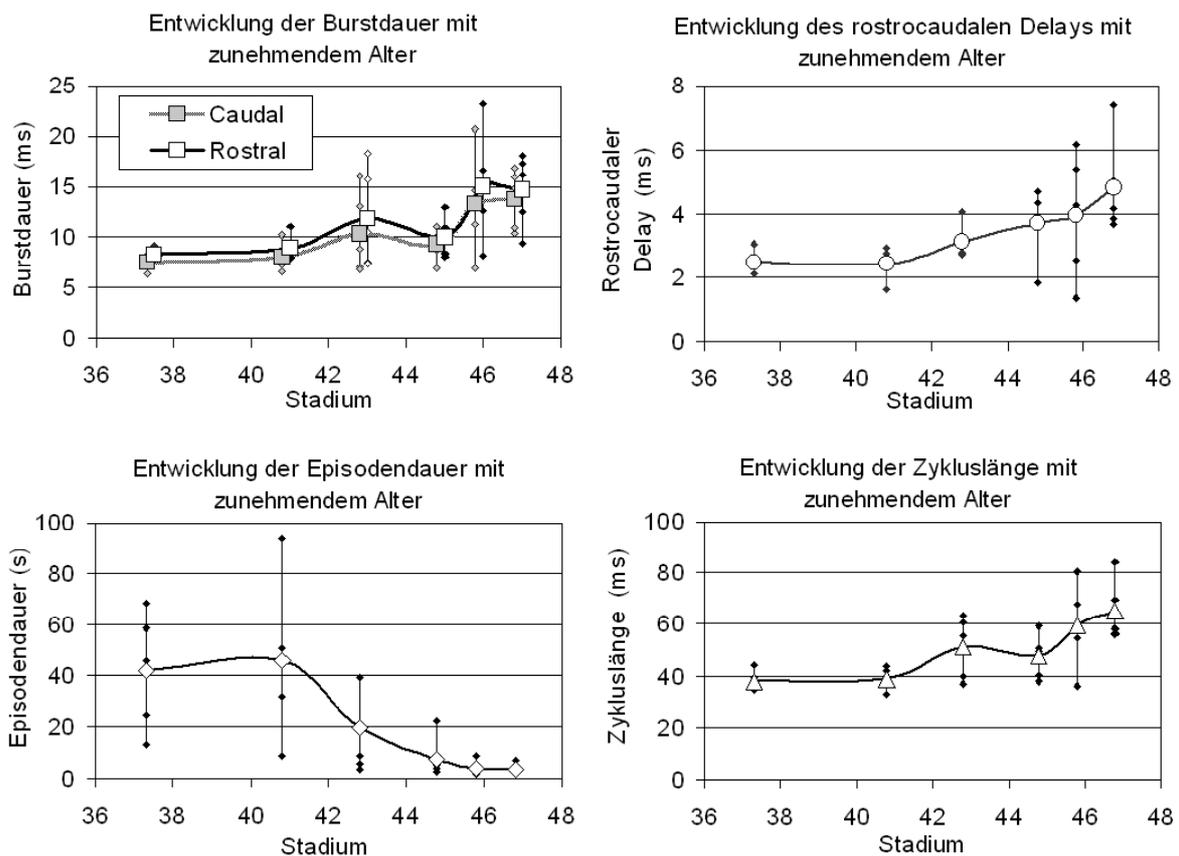


Abb. 17: Entwicklungsgang der untersuchten Parameter bei einer Elektrodenplatzierung 10 und 14 Myotome postotisch ($n=5$ je Stadium, Einzeldaten und Mittelwerte). Die vertikalen Linien verbinden jeweils den kleinsten und größten Wert. Burstdauer, rostrocaudaler Delay und Zykluslänge (Mittelwert von rostraler und caudaler Ableitung) nahmen zu, während die Episodendauer abnahm. Oft zeigten die höheren Beträge eine stärkere Variabilität. Die Werte der Stadien 45, 46 und 47 sind in dieser Abbildung und Abb. 15 identisch.

Vergleicht man die vier Parameter zwischen Stadium 37/38 und Stadium 47 so zeigen alle einen signifikanten Unterschied ($p=0,01$). Die rostrale Burstdauer verdoppelte sich annähernd von 8,3 ms auf 14,7 ms. Der rostrocaudale Delay erhöhte sich von 2,5 ms auf 4,8 ms. Die Zykluslänge stieg von 38 ms auf 65 ms an, was einer Verkleinerung der Frequenz der Burstfolge von 26 Hz auf 15 Hz entspricht. Bei der Episodendauer kam es zu einer Verkürzung von mehr als 90%. Während fiktives Schwimmen beim Stadium 37/38 im Schnitt 42 s lang dauerte, reduzierte sich dies auf 3,6 s im Stadium 47.

3.2.3 Vergleich der Entwicklung des fiktiven Schwimmens in verschiedenen Ableitbereichen

Bei den Parametern der verschiedenen Ableitbereiche ließen sich Unterschiede feststellen. Der Delay lag bei der Elektrodenplatzierung im rostralen Bereich, wo die Segmente schon weitgehend ausgereift waren und kein Größenwachstum mehr stattfand, durch alle Stadien hinweg gleichbleibend bei etwa 4 ms. Er nahm erst im Stadium 47 zu. Bei einer Ableitung an den Segmenten 10 und 14 lag der Betrag des rostrocaudalen Delays bei jungen Tieren niedriger (Abb.18 links). Auch der Elektrodenabstand war bei dieser Platzierung für die ersten beiden untersuchten Stadien geringer. Bis zum Stadium 43 nahmen die vier zwischen den Elektroden liegenden Segmente an Größe zu. Danach blieben sie in etwa gleich groß (Abb. 16). Der rostrocaudale Delay war also in ausgereiften Segmenten fast konstant, während er in Segmenten mit Größenwachstum zunahm.

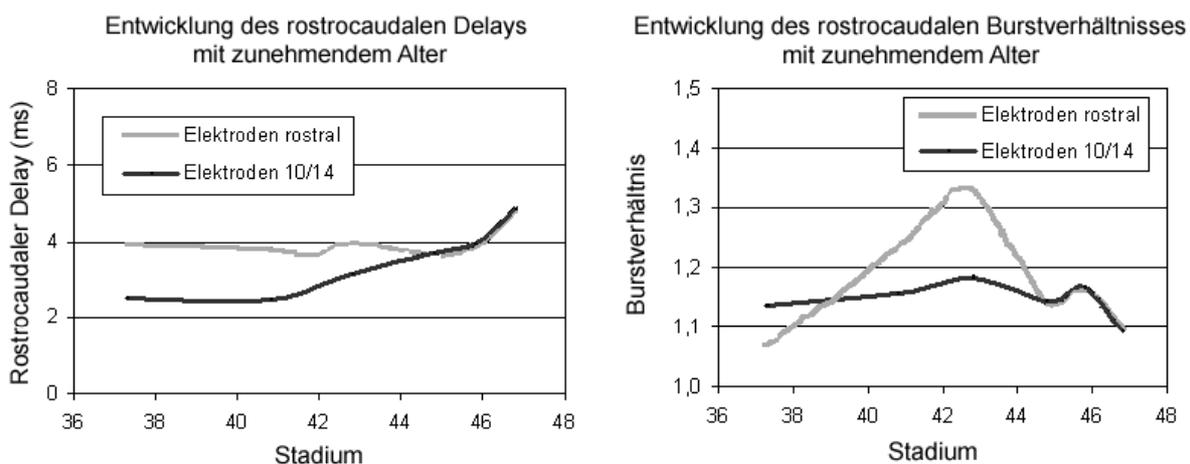


Abb. 18: Links die Entwicklung des rostrocaudalen Delays bei möglichst rostral gehaltenen Ableitungen und konstant am 10. und 14. Segment. Rechts das Verhältnis der Burstdauer bei möglichst rostral gehaltenen Ableitungen und konstant am 10. und 14. Segment. Der Elektrodenabstand betrug bei allen Messungen 4 Myotome.

Das Verhältnis von rostraler und caudaler Burstdauer zeigte ebenfalls Unterschiede im Entwicklungsverlauf zwischen den beiden Ableitbereichen. Im rostralen Bereich nahm die Burstdauer an der vorderen Elektrode zunächst stärker zu, was sich in einem Ansteigen des Quotienten zwischen rostralem und caudalem Wert äußert. Später in der Entwicklung stieg auch der caudale Wert und der Quotient verkleinert sich wieder. Wurde konstant am 10. und 14. Segment abgeleitet, änderte sich der Quotient kaum. Die Zunahme der Burstdauer verlief hier also rostral und caudal gleichmäßig (Abb. 18 rechts).

3.3 Hypergravitationsexperimente

3.3.1 Einfluss von Hypergravitation auf das fiktive Schwimmen in Versuchsgruppen unterschiedlichen Alters

Im Rahmen dieser Studie wurden Hypergravitationsexperimente mit drei Versuchsgruppen unterschiedlichen Alters durchgeführt. Der Altersbereich wurde ausgewählt mit Blick auf die Entstehung motorischer Aktivität. Für die jüngste Gruppe, welche zu Beginn von 3g Stadium 11 bis 19 erreicht hatte, wurden die Daten zweier Ansätze (Ansatz 1: Stadium 12 bis 19, Ansatz 2: Stadium 11 bis 17) verwendet. Während diesem Entwicklungsabschnitt findet die Bildung der Neuralanlage statt (Nieuwkoop und Faber 1967). Die mittlere Gruppe befand sich zu Beginn der Hypergravitation in den Stadien 24 bis 27. Dieses Alter ist dadurch gekennzeichnet, dass sich erstmals neuronale Aktivität an den ventralen Wurzeln messen lässt (van Mier et al. 1989). Die älteste Gruppe, Stadium 37 bis 41, war in der Lage frei zu schwimmen. Nach Ende der Hypergravitationsbehandlung hatten die Kaulquappen aller drei Gruppen Stadium 46 bis 47 erreicht. Die Auswertung der ältesten Gruppe erfolgte von Hand, die anderen Gruppen wurden mit dem Auswertprogramm (siehe 2.4.4) evaluiert. Die Hypergravitationsexposition hatte in keinem der drei Experimente Auswirkung auf die Episodendauer, die Zykluslänge und den rostrocaudalen Delay, wohl aber auf die Burstdauer.

In der jüngsten Versuchsgruppe ließen sich für die ersten 5 Messtage sowohl 10 Myotome als auch 14 Myotome postotisch signifikant höhere Beträge feststellen. Dieser Effekt ist in Abb. 19 durch Originalableitungen aus beiden Versuchsgruppen dargestellt. Die Verteilung der Werte war an beiden Ableitstellen in etwa gleich, die caudalen Beträge waren allerdings niedriger (rostral: $p < 0,01$; Mittelwert 3g: 21,0 ms

und 1g: 15,9 ms; caudal: $p=0,01$; Mittelwert 3g: 17,4 ms und 1g: 12,9 ms). Ein Versuchstier von den insgesamt 34 Tieren wurde in der Auswertung nicht berücksichtigt, da die Burstdauer ungewöhnlich niedrig lag (Mittelwert rostral: 7,08 ms; caudal: 5,28 ms) und nicht, wie normalerweise, rostral und caudal korrelierte. Der Mittelwert des Korrelationskoeffizienten des gesamten Ansatzes lag bei 0,55. Der Korrelationskoeffizient des ausgeschlossenen Versuchstiers betrug 0,00.

Einzelbeispiele fiktiven Schwimmens nach Entwicklung unter 3g und 1g

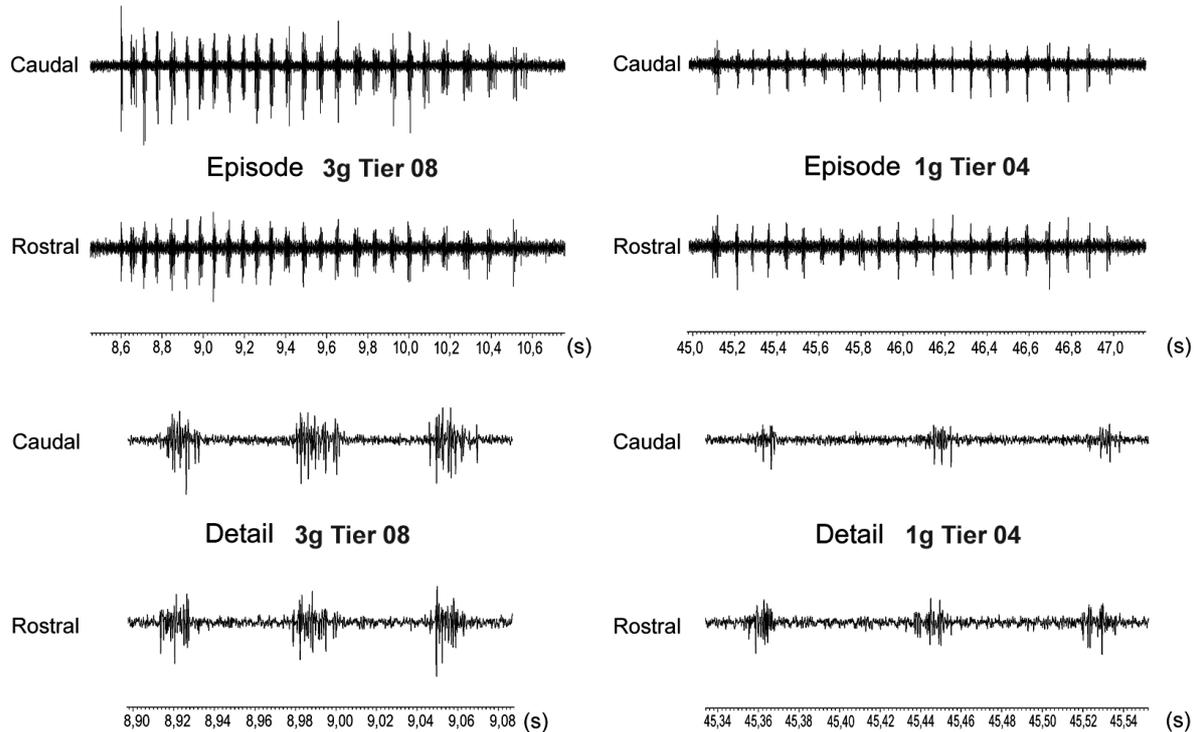


Abb. 19: Fiktives Schwimmen nach Entwicklung unter Hypergravitation. Links ein Tier aus der 3g-Versuchsgruppe, rechts ein Tier aus der 1g-Kontrollgruppe. Die Versuchstiere hatten zu Beginn der veränderten Gravitationsbedingungen das Stadium 11 bis 17 erreicht. Die Ableitungen stammen vom 1. Messtag. Beide Larven befanden sich zum Zeitpunkt der Messung im Stadium 46,4 (siehe 2.1). Die Bursts der Kaulquappe aus der 3g-Gruppe dauern annähernd doppelt so lange an wie die Bursts des Kontrolltiers. Episodendauer, Zykluslänge und rostrocaudaler Delay unterscheiden sich hingegen kaum. Die Zeitauflösung der Einzeldarstellungen ist für 3g und 1g identisch.

In der mittleren Gruppe war im 10. Segment keine signifikante, aber eine tendenzielle Erhöhung der Burstdauer zu sehen ($p<0,1$; Mittelwert 3g: 22,5 ms und 1g: 19,0 ms). 4 Segmente weiter caudal war eine solche Tendenz nicht erkennbar (Mittelwert 3g: 20,4 ms und 1g: 17,5). In der ältesten Gruppe lag der Betrag der Kontrollgruppe über dem der Versuchsgruppe. Hier ließen sich nicht einmal tendenzielle Unterschiede erkennen. Die Beträge waren allerdings erstaunlich hoch (Mittelwert rostral 3g: 29,9

ms und 1g: 34,5 ms; Mittelwert caudal 3g: 26,1 ms und 1g: 32,8 ms). Eine graphische Darstellung der Ergebnisse findet sich in Abb. 20. Die caudalen Beträge der Burstdauer lagen in allen Versuchsgruppen niedriger als die rostralen. Bei der jüngsten Versuchsgruppe ließ sich im Verlauf der Messtage 1 bis 8 feststellen, dass sich die Werte der Kontrollgruppe denen der Versuchsgruppe annäherten (Abb. 21). Etwas ähnliches war in den beiden anderen Gruppen, von denen nur 5 bzw. 6 Messtage existieren, nicht zu sehen.

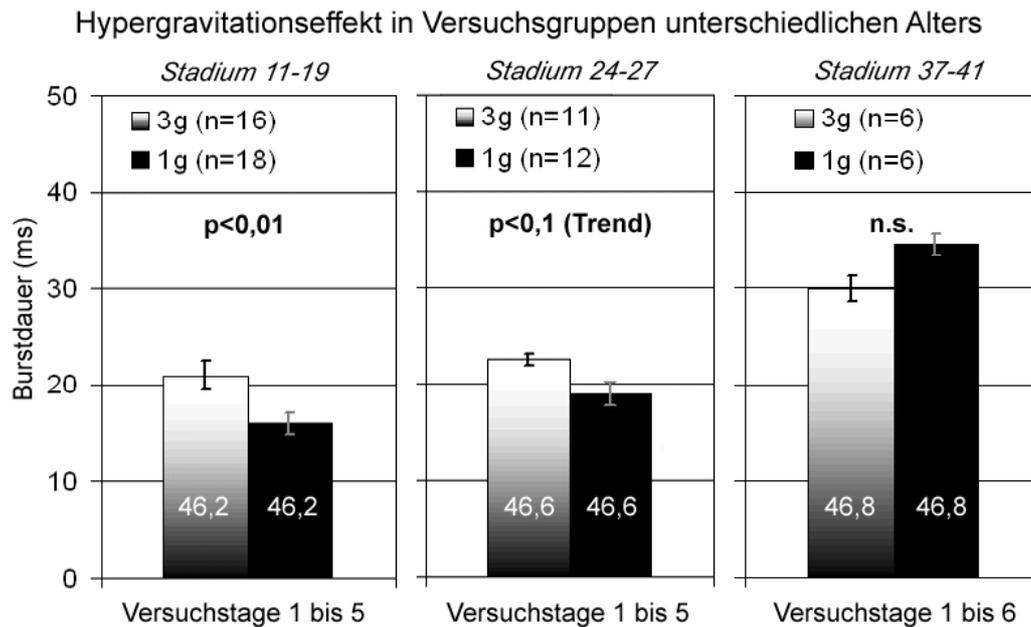


Abb. 20: Hypergravitationsexperimente mit Versuchsgruppen unterschiedlichen Alters. Die Abbildung zeigt die Ergebnisse an der rostralen Elektrode (10 Myotome postotisch, Mittelwerte mit Standardfehler). Bei den jungen Tieren ließ sich 10 Myotome postotisch ein signifikanter Effekt feststellen ($p < 0,01$). In der nächst älteren Gruppe war nur eine Tendenz zu beobachten ($p < 0,1$), mit weiter zunehmendem Alter blieb der Effekt aus. In den Balken ist das durchschnittliche Alter in den Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Messung angegeben.

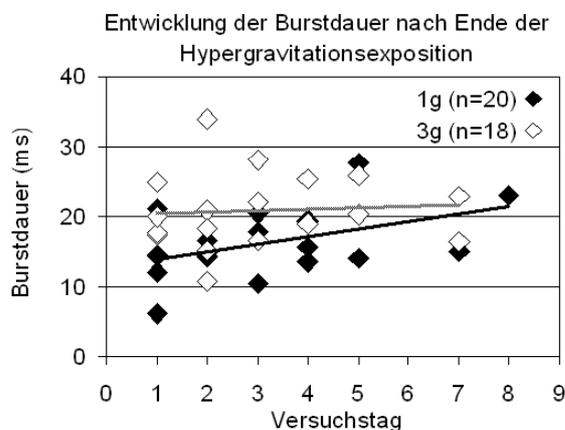


Abb. 21: Burstdauer im Verlauf der Messtage 1 bis 8 in der jüngsten Versuchsgruppe, welche bei Beginn der 3g-Exposition das Stadium 11 bis 19 erreicht hatte. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe näherten sich denen der Versuchsgruppe. An den Versuchstagen 7 und 8 waren die Kaulquappen im Stadium 47. Davor hatten die Larven beim Zeitpunkt der Messung das Stadium 46 erreicht.

3.3.2 Einfluss von Hypergravitation auf den rVOR

Ergebnisse bezüglich des rVOR wurden in dieser Studie nur für die Altersgruppen Stadium 11 bis 17 und 24 bis 27 bestimmt. Im Fall der Tiere, die zu Beginn von Hypergravitation das Stadium 11 bis 17 erreicht hatten, ließ sich kein Effekt auf die rVOR-Amplitude feststellen. Bei der älteren Versuchgruppe konnte eine Verringerung der rVOR-Amplitude nach einer Entwicklung unter Hypergravitation beobachtet werden. In Abb. 22 ist dies anhand der Befunde einzelner Versuchstiere dargestellt. Der Effekt ist signifikant ($p < 0,01$), wenn man sämtliche Daten der 5 Messtage vergleicht (Abb. 23). In beiden Altersgruppen wurde jeweils ein Tier von insgesamt je 23 nicht in die Statistik mit einbezogen, da kein Reflexgeschehen auftrat.

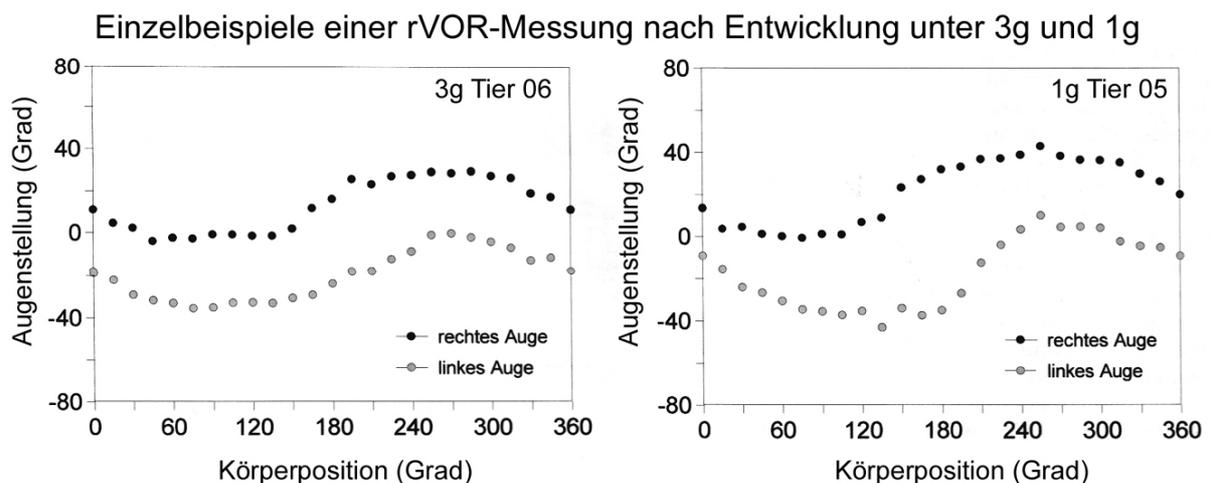


Abb. 22: rVOR-Amplitude nach Entwicklung unter Hypergravitation. Links ein Tier aus der 3g-Versuchsgruppe, rechts daneben ein Tier aus der 1g-Kontrollgruppe. Die Versuchstiere hatten zu Beginn der veränderten Gravitationsbedingungen das Stadium 24 bis 27 erreicht. Beide Reflexmessungen stammen vom 1. Messtag. Die Larven befanden sich zum Zeitpunkt der Messung im Stadium 46,4 (siehe 2.1). Der sinusförmige Verlauf der Reflexkennlinien bleibt nach einer Entwicklung unter 3g erhalten. Die Reflexstärke kann zwischen rechtem und linkem Auge durchaus verschieden sein. Verwendet wird der Mittelwert beider Ergebnisse.

3.3.3 Korrelation der Ergebnisse von rVOR und fiktivem Schwimmen nach Entwicklung unter Hypergravitation

Auf Korrelationen zwischen rVOR-Amplitude und Parametern des Schwimmmusters wurden die Altersgruppen Stadium 11 bis 17 und 24 bis 27 untersucht. Bei der jüngeren Versuchgruppe zeigten sich keine signifikanten Korrelationen der rVOR-Amplitude mit den Parametern des fiktiven Schwimmens. Die Tiere, die zu Beginn von Hypergravitation das Stadium 24 bis 27 erreicht hatten, wiesen lediglich eine signifikante Korrelation (Korrelationskoeffizient $-0,61$; $p < 0,05$) zwischen der rVOR-

Amplitude und dem rostrocaudalen Delay in der 3g-Gruppe auf. Dies ist der Fall, wenn die 11 Daten aller 5 Messtage betrachtet werden. In der zugehörigen Kontrollgruppe war das nicht zu beobachten. Die restlichen Parameter des Schwimmusters (Episodendauer, Burstdauer und Zykluslänge) waren von der rVOR-Amplitude unabhängig.

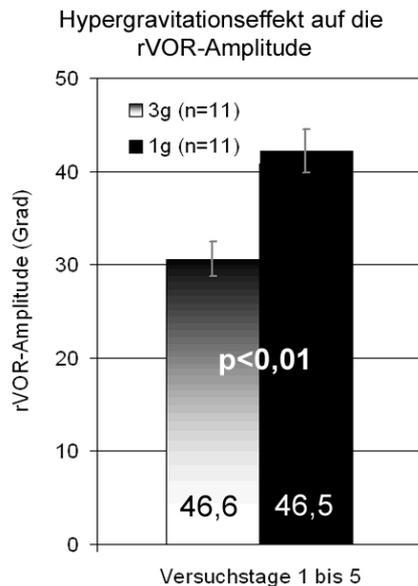


Abb. 23: rVOR-Amplitude nach Entwicklung unter Hypergravitation (Mittelwerte mit ihrem Standardfehler). Die Versuchstiere hatten zu Beginn der veränderten Gravitationsbedingungen das Stadium 24 bis 27 erreicht. Der Betrag der Amplitude ist nach einer Entwicklung unter Hypergravitation signifikant verringert ($p < 0,01$). In den Balken ist der Mittelwert des Alters der Versuchstiere zum Zeitpunkt der Messung angegeben.

3.4 Mikrogravitationsexperiment

3.4.1 Einfluss von Mikrogravitation auf das fiktive Schwimmen und den rVOR

Bei Eintritt in die Schwerelosigkeit waren die Kaulquappen im Stadium 26 und 27. Nach dem Ende der μ g-Exposition hatten sie Stadium 46 bis 47 erreicht. Im anschließenden Experiment ließen sich für einen kurzen Zeitraum von 2 Tagen eine Abnahme der rVOR-Amplitude ($p < 0,01$) und eine Änderung von drei Parametern des fiktiven Schwimmens beobachten. Gegenüber den 1g Kontrollen nahm die Episodendauer signifikant zu ($p = 0,05$) und der rostrocaudale Delay signifikant ab ($p = 0,05$). Auch die rostrale Burstdauer verringerte sich, aber nur tendenziell ($p < 0,1$). Bei der Zykluslänge traten keine Unterschiede auf. Diese Effekte lassen sich auch an einzelnen Versuchstieren beobachten. In Abb. 24 sind repräsentative rVOR-Messungen aus der μ g- und 1g-Gruppe vom ersten Versuchstag dargestellt. Einzelne Episoden fiktiven Schwimmens aus den beiden Gruppen werden in Abb. 25 gezeigt. An den Versuchstagen 3 bis 6 konnten keine Unterschiede mehr gefunden werden und die Versuchsgruppe hatte ihre Mittelwerte denen der 1g-Kontrollgruppe angenähert. Anders verhielt es sich bei der Episodendauer. Hier näherten sich die Werte der Kontrollgruppe an die der Versuchsgruppe an (Abb. 26).

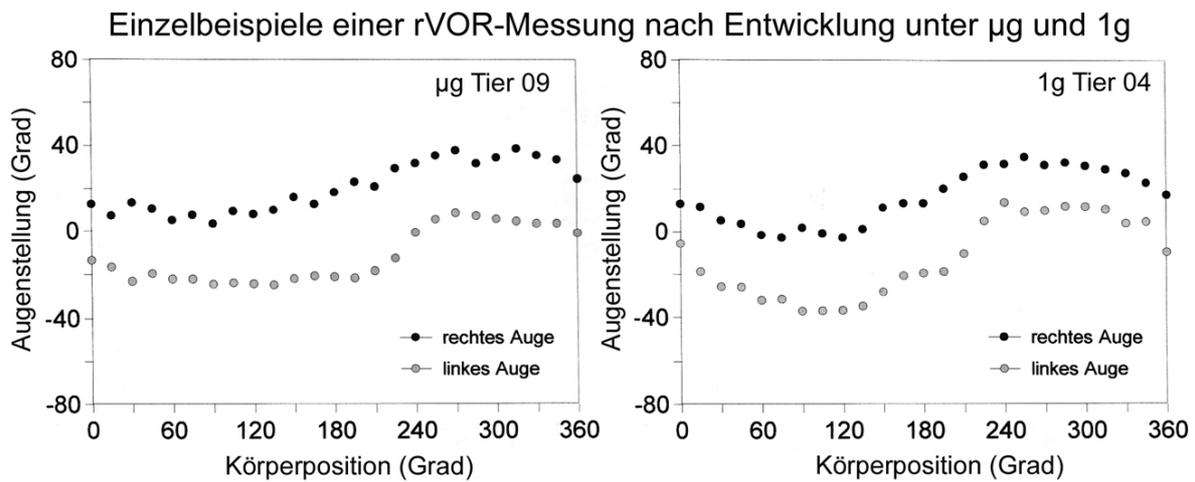


Abb. 24: rVOR-Amplitude nach Entwicklung unter Mikrogravitation. Links ein Tier aus der μg -Versuchsgruppe, rechts ein Tier aus der 1g -Kontrollgruppe. Die Versuchstiere hatten zu Beginn der veränderten Gravitationsbedingungen das Stadium 26 und 27 erreicht. Beide Reflexmessungen stammen vom 1. Messtag. Die Larven befanden sich zum Zeitpunkt der Messung im Stadium 46 (siehe 2.1). Der sinusförmige Verlauf der Reflexkennlinien bleibt auch nach einer Entwicklung unter μg erhalten. Rechtes und linkes Auge können sich in ihrer Reflexstärke unterscheiden. Verwendet wird der Mittelwert beider Ergebnisse.

Einzelbeispiele fiktiven Schwimmens nach Entwicklung unter μg und 1g

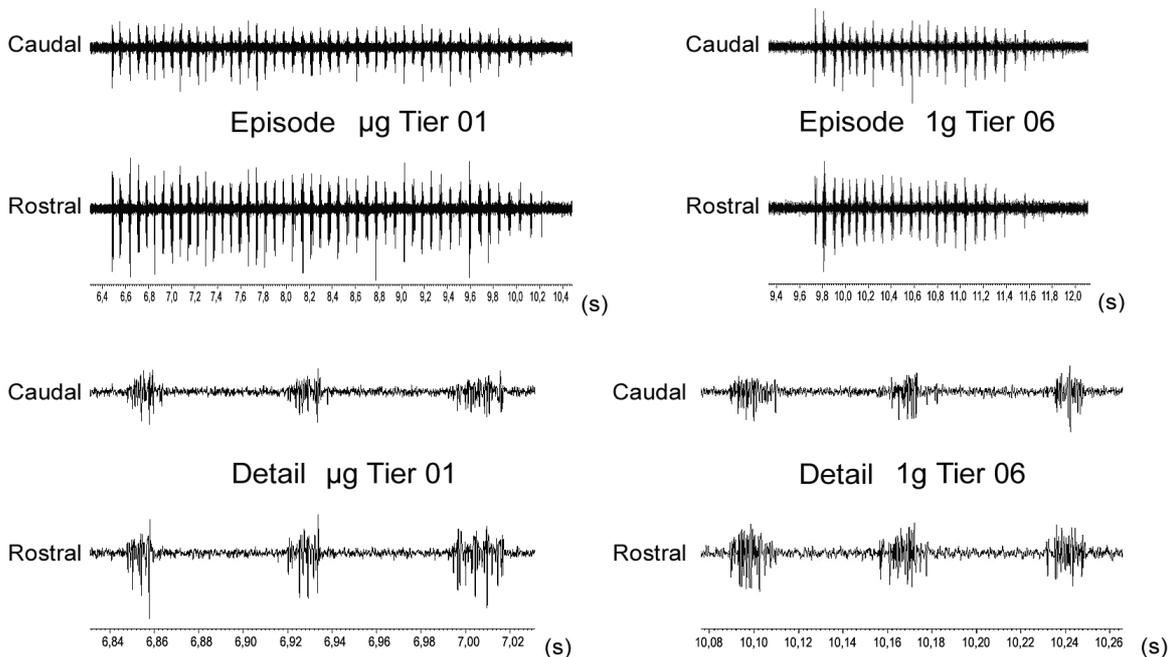


Abb. 25: Fiktives Schwimmen nach Entwicklung unter Mikrogravitation. Links ein Tier aus der μg -Versuchsgruppe, rechts ein Tier aus der 1g -Kontrollgruppe. Die Versuchstiere hatten zu Beginn der veränderten Gravitationsbedingungen das Stadium 26 und 27 erreicht. Die Ableitungen stammen vom 1. Messtag. Beide Larven befanden sich zum Zeitpunkt der Messung im Stadium 46 (siehe 2.1). Die Episode der Kaulquappe aus der μg -Gruppe dauert länger an als die des Kontrolltiers. Burstdauer und Zykluslänge unterscheiden sich kaum. Bei genauer Betrachtung kann man einen leichten Unterschied beim rostrocaudalen Delay erkennen. Die Zeitaufösung der Einzeldarstellungen ist für μg und 1g identisch.

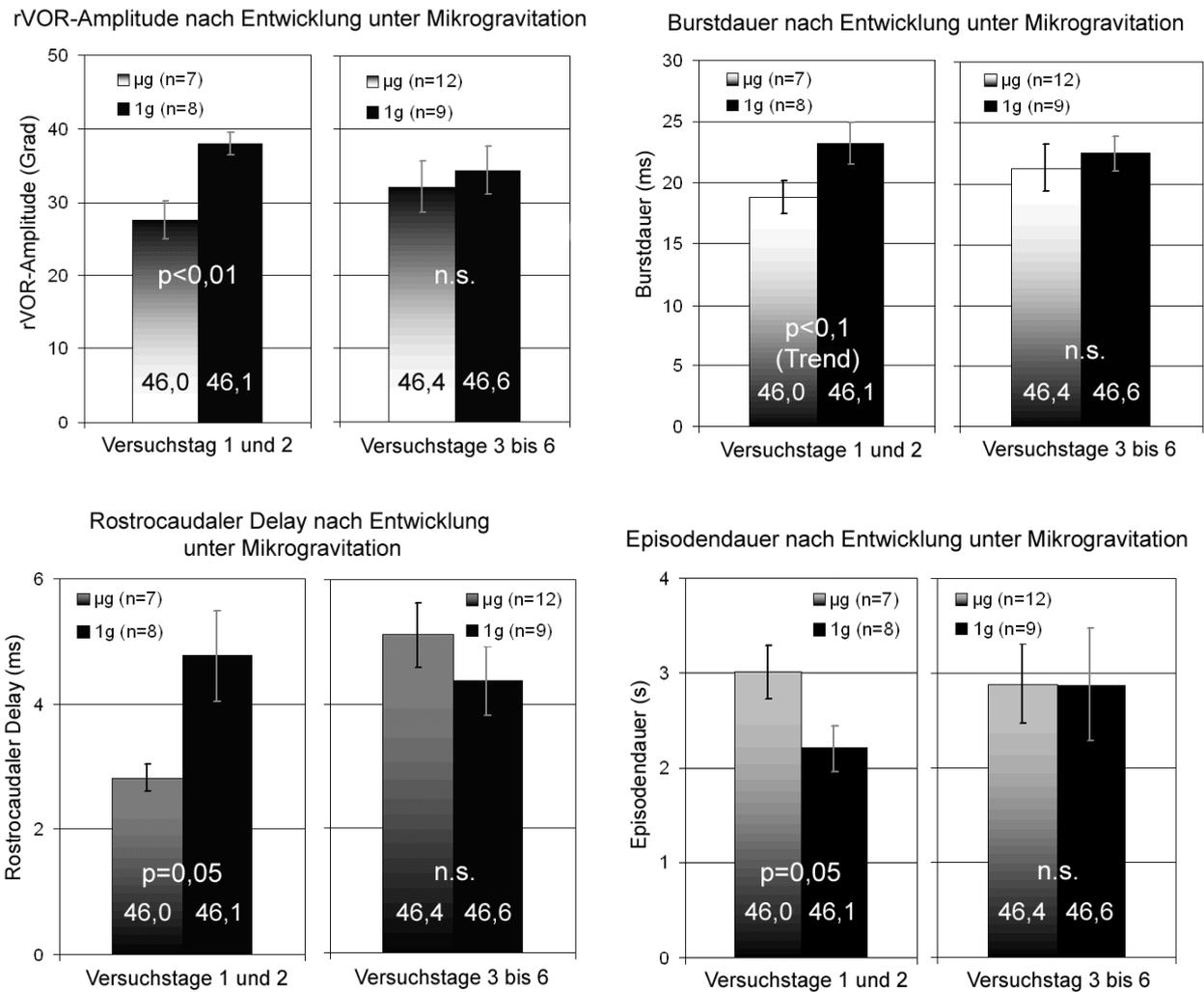


Abb. 26: Mikrogravitationseffekt auf rVOR-Amplitude, rostrale Burstdauer, rostrocaudalen Delay und Episodendauer (Mittelwerte mit ihrem Standardfehler). Bei der Zykluslänge ließen sich keine Unterschiede beobachten. In den Balken ist das durchschnittliche Alter der Versuchstiere zum Zeitpunkt der Messung angegeben. Zu Beginn der Mikrogravitationsbehandlung waren die Kaulquappen im Stadium 26 und 27. Die genauen Beträge der Mittelwerte sind in Tab. 2 aufgelistet.

Tab. 2: Übersicht der Mittelwerte der einzelnen Versuchsgruppen, siehe auch Abb. 26.

Versuchsgruppe	rVOR-Amplitude (Grad)	Rostrale Burstdauer (ms)	Rostrocaudaler Delay (ms)	Episodendauer (s)
µg Tag 1 und 2	27,6	18,8	2,81	3,01
1g Tag 1 und 2	37,9	23,2	4,77	2,21
µg Tag 3 bis 6	32,2	21,3	5,10	2,89
1g Tag 3 bis 6	34,4	22,5	4,36	2,88

3.4.2 Einfluss von Mikrogravitation auf das fiktive Schwimmen und den rVOR bei Tieren mit mikrogravitationsbedingter Körperkrümmung

Einige der Versuchstiere aus diesem Experiment zeigten nach Entwicklung unter Mikrogravitation eine Körperkrümmung. Diese Missbildung tritt bei einer Entwicklung unter μg in großer Zahl auf. So zeigten nach der SMM-06 Mission 60% der Kaulquappen diese Auffälligkeit. Die Missbildungen sind reversibel und verschwinden unter 1g-Bedingungen (Sebastian und Horn 1998). In diesem Experiment zeigten die Tiere mit gekrümmtem Körper eine nichtsignifikante Tendenz zu einer Verringerung der rostralen Burstdauer. Der caudale Wert und die anderen Parameter des fiktiven Schwimmens waren nicht betroffen. Nur die rVOR-Amplitude war in den gekrümmten Tieren aus der μg -Gruppe signifikant verringert (Abb. 27). Diese Ergebnisse beziehen sich auf die ersten drei Messtage, da nach diesem Zeitraum keine gekrümmten Tiere mehr vorhanden waren. Die Anzahl der missgebildeten Tiere betrug 5, die Kontrollgruppe umfasste 11 Tiere.

rVOR-Amplitude und Burstdauer in Tieren mit mikrogravitationsbedingter Körperkrümmung

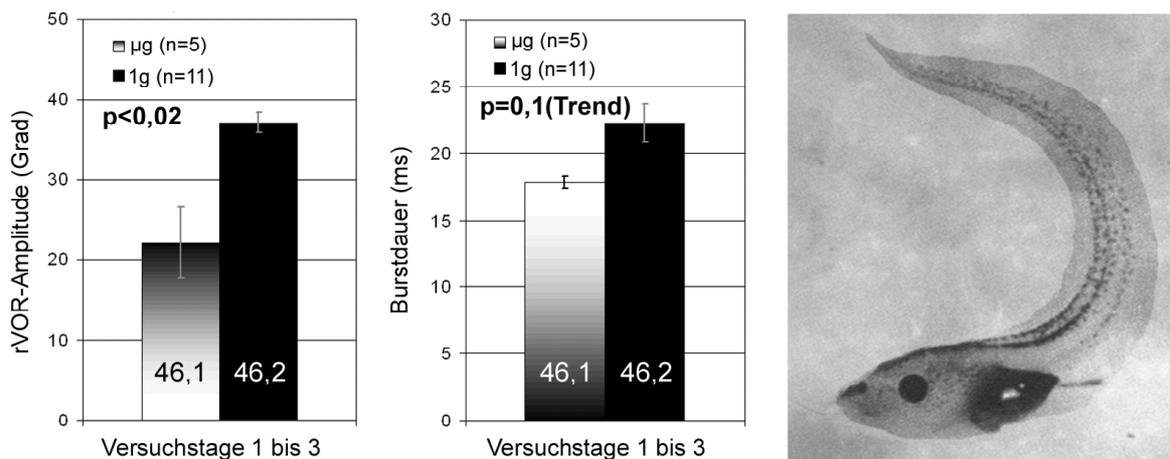


Abb. 27: Ausprägung des μg -Effekts bei Larven mit Körperkrümmung (Mittelwerte mit ihrem Standardfehler). In den Balken ist der Mittelwert des Alters der Versuchstiere zum Zeitpunkt der Messungen angegeben. Zu Beginn der Mikrogravitationsbehandlung waren die Kaulquappen im Stadium 26 und 27. Es waren nur Effekte bei rostraler Burstdauer und rVOR-Amplitude zu beobachten. Rechts die Abbildung eines gekrümmten Tieres (modifiziert nach Neubert et al. 1994).

Betrachtete man die normalentwickelten Kaulquappen über diesen Zeitraum (Anzahl der Tiere in der Mikrogravitationsgruppe ist 6, in der Kontrollgruppe 11), so waren lediglich Unterschiede bei der Episodendauer ($p < 0,1$; Trend) und der rVOR-Amplitude ($p < 0,05$) erkennbar. Die normalentwickelten Tiere der ersten beiden

Versuchstage zeigten lediglich Unterschiede in der rVOR -Amplitude ($p=0,02$; Anzahl der Tiere in der Mikrogravitationsgruppe ist 3, in der Kontrollgruppe 11).

3.4.3 Korrelation der Ergebnisse von rVOR und fiktivem Schwimmen nach Entwicklung unter Mikrogravitation

Wurde die Abhängigkeit der Daten aus dem okulomotorischen Verhaltensexperiment von den Ergebnissen der Messung des fiktiven Schwimmens betrachtet, so ergaben sich häufiger als bei dem 3g-Experiment signifikante Korrelationen zwischen den Parametern. Dies war entweder in der μg -Gruppe (bei Burstdauer und rostrocaudalem Delay) oder in der Kontrollgruppe (bei Episodendauer) der Fall, nie jedoch für einen Parameter in beiden Versuchsgruppen (Abb. 28). Für die Zykluslänge ergaben sich keine signifikanten Korrelationen. Wurden nur die Daten einzelner Versuchstage, z.B. die der ersten beiden Messtage, an denen die Mikrogravitationseffekte beobachtet werden konnten, korreliert, traten keine signifikanten Abhängigkeiten auf. Auch die Daten der Tiere mit Körperkrümmung zeigten keine Korrelationen.

Korrelationen zwischen rVOR-Amplitude und Parametern des Schwimmusters

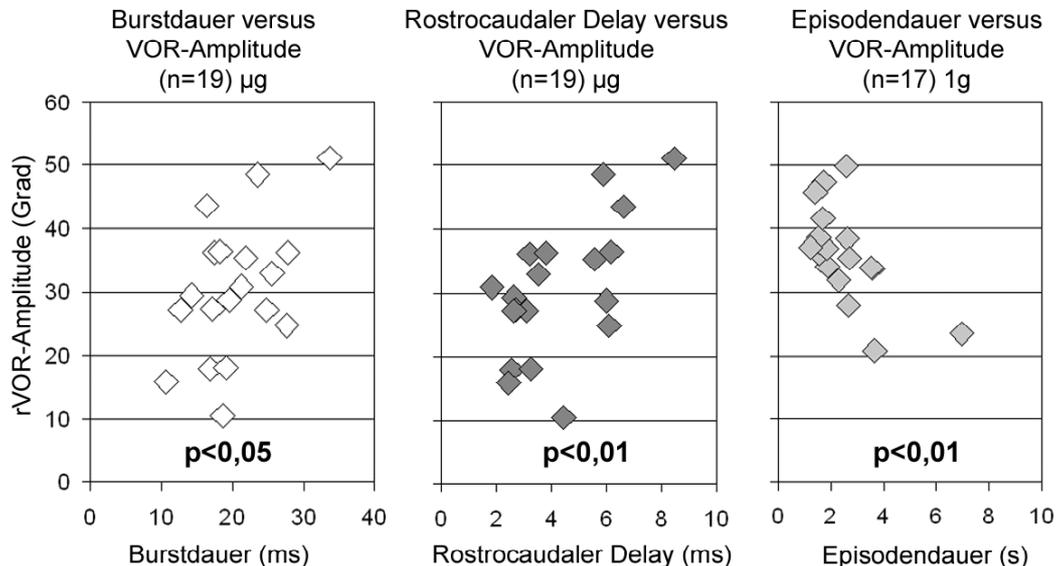


Abb. 28: Abhängigkeit der Ergebnisse der Ableitungen an den ventralen Wurzeln von den Augenreflexmessungen. Im Fall der Burstdauer und des rostrocaudalen Delays traten signifikante Korrelationen in der μg -Gruppe auf, im Fall der Episodendauer in der Kontrollgruppe. Zu Beginn der μg -Exposition lag das Alter beider Gruppen im Bereich Stadium 26 und 27. Zum Zeitpunkt der Messung befanden sich die Larven zwischen Stadium 46 und 47. Die Korrelationen sind nur dann signifikant, wenn die Daten der gesamten 5 Messtage verwendet werden.

3.5 Hyper- und Mikrogravitationseffekt auf Versuchsgruppen gleichen Alters

Vergleicht man die Auswirkung von Hypergravitation und Mikrogravitation auf Kaulquappen, die zu Beginn der Exposition in etwa gleich alt waren (3g-Experiment: Stadium 24 bis 27; μ g-Experiment: Stadium 26 und 27), so fällt zunächst einmal auf, dass sich Mikrogravitation auf alle Parameter außer Zykluslänge und caudale Burstdauer signifikant auswirkte, während durch Hypergravitation nur die rostrale Burstdauer verändert wurde. Der Effekt auf die Burstdauer war sowohl im μ g-Experiment als auch im 3g-Experiment nicht signifikant ($p < 0,1$). Der Mikrogravitationseffekt hielt sich 2 Tage und verschwand danach. Der Hypergravitationseffekt ließ sich aus den Daten von 5 Messtagen erkennen. Die Burstdauer ist nach Mikrogravitation verringert und nach Hypergravitation erhöht (Abb. 29).

Da sich die Kontrollgruppen beider Experimente stark in ihrem Mittelwert unterschieden, wurde ein U-Test durchgeführt. Es ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$). Daher werden in Abb. 29 nicht nur die absoluten Versuchsergebnisse gezeigt (Abb. 29 links), sondern auch eine bezüglich der Kontrollgruppen normierte Darstellung (Abb. 29 rechts). Der U-Test wurde an Stelle einer Varianzanalyse angewendet, weil nicht bekannt ist, ob die Daten normalverteilt sind. Nach dieser Normierung ist der Unterschied zwischen der 3g- und der μ g-Versuchsgruppe stärker ($p < 0,01$) als vor der Normierung ($p < 0,05$).

Nicht nur bei der Burstdauer ließen sich sowohl im μ g- als auch im 3g-Experiment Unterschiede beobachten. Auch die rVOR-Amplitude war in beiden Experimenten verändert. Der Mikrogravitationseffekt ähnelte dem Hypergravitationseffekt. Es war in beiden Fällen eine signifikante Verringerung der Amplitude ($p < 0,01$) vorhanden (Abb. 30). Der Effekt trat in der μ g-Gruppe nur an den ersten beiden Messtagen auf, während der Hypergravitationseffekt 5 Tage lang zu beobachten war. Signifikante Korrelationen zwischen rVOR-Amplitude und den Parametern des fiktiven Schwimmens gab es nur bezüglich des rostrocaudalen Delays nach μ g ($p < 0,01$) und nach 3g ($p < 0,05$). Allerdings waren die Werte nach Hypergravitation negativ korreliert (-0,61) und nach Mikrogravitation positiv korreliert (0,60).

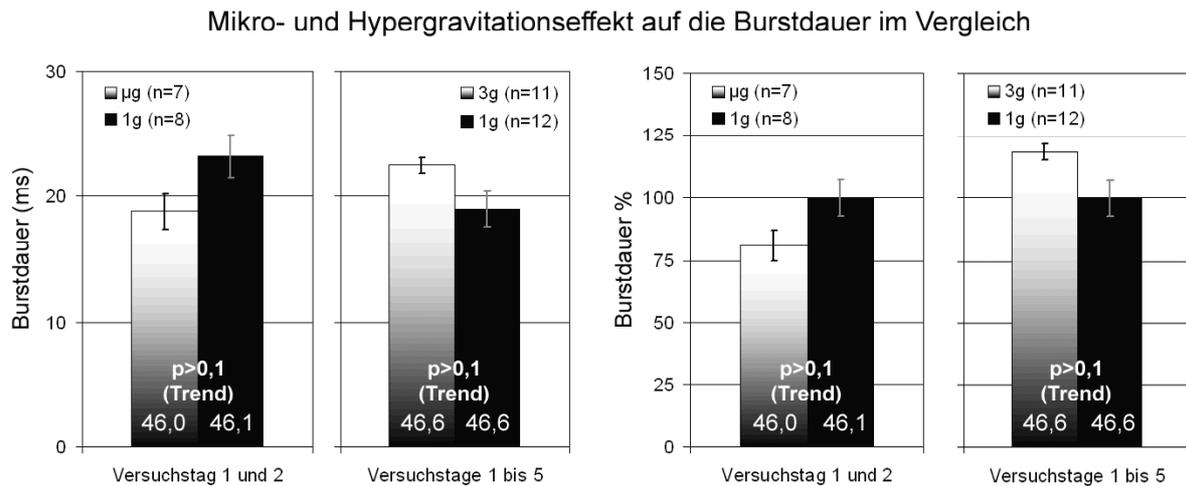


Abb. 29: Vergleich von Mikro- und Hypergravitationswirkung auf die Burstdauer in Versuchsgruppen gleichen Alters. Links die realen Mittelwerte mit ihrem Standardfehler, rechts die gleichen Daten mit einer Normierung der Kontrollgruppen auf 100%. Zu Beginn des Experiments lag das Alter beider Gruppen im Bereich Stadium 24 bis 27. In den Balken ist der Mittelwert des Alters der Versuchstiere zum Zeitpunkt der Messung angegeben. Nach μg ist die Burstdauer bezüglich der Kontrollgruppe erniedrigt, nach 3g erhöht. Die Unterschiede in den Kontrollgruppen bei den absoluten Werten (links) können sich aus der natürlichen Variabilität der Daten ergeben. Durch die Normierung verstärkt sich der Unterschied zwischen der μg - und der 3g-Versuchsgruppe.

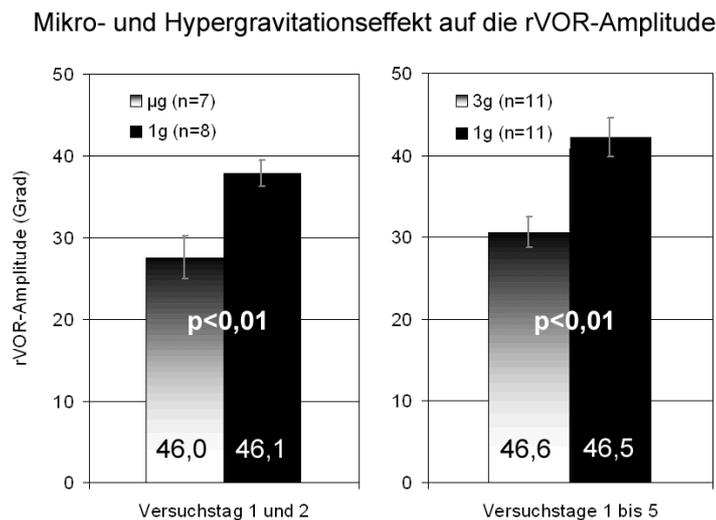


Abb. 30: Vergleich von Mikro- und Hypergravitationswirkung auf die rVOR-Amplitude in Versuchsgruppen gleichen Alters (Mittelwerte mit ihrem Standardfehler). Der Betrag der rVOR-Amplitude war sowohl nach μg (links) als auch nach 3g (rechts) signifikant verringert ($p<0,01$). Innerhalb der Balken ist der Mittelwert des Alters der Versuchstiere in den Versuchsgruppen angegeben. Zu Beginn des Experiments lag das Alter beider Gruppen zwischen Stadium 24 und 27.

4 Diskussion

Ziel der Arbeit war es herauszufinden, ob durch ein sensorisches System, dessen Reizung verschiedene motorische Reaktionen beeinflusst, nach einer Reizdeprivation gleichartige und somit korrelierte Änderungen bei diesen motorischen Reaktionen ausgelöst werden. Das Vestibularsystem der Kaulquappe wurde gewählt, da seine schweresensitive Komponente sowohl die Stellreaktion der Augen (rollungsinduzierter vestibulookularer Reflex, rVOR) auslöst als auch die Lokomotion beeinflusst (Rayer und Horn 1986, Horn et al. 1986, Horn 1981, Sebastian et al. 1995, Wassersug et al. 1991, Anken und Rahmann 1998). Die nachfolgende Diskussion beleuchtet daher zunächst getrennt für jedes der beiden motorischen Systeme die Empfindlichkeit gegenüber veränderten Schwerebedingungen, um dann anschließend nach Formen gemeinsamer Verarbeitungsprinzipien zu fragen.

4.1 Einfluss veränderter Gravitationsbedingungen während der frühen Entwicklung auf den rVOR bei *Xenopus laevis*

Sensorisches Epithel im Vestibularsystem von *Xenopus* ist zwar ab Stadium 33/34 erkennbar, die Macula utriculi kann jedoch erst ab Stadium 43 klar unterschieden werden (Nieuwkoop und Faber 1967). Der rVOR tritt bereits bei Tieren des Stadiums 41 auf, somit sind die involvierten Komponenten funktionstüchtig. Die maximale Augenauslenkung (rVOR-Amplitude) steigert sich mit zunehmendem Alter in der frühen Entwicklung, wie Abb. 31 entnommen werden kann (Sebastian et al. 1996, Sebastian 1994). Die bei den hier vorliegenden Untersuchungen eingesetzten Kaulquappen befanden sich demnach in einem Lebensalter in dem die Stärke des rVORs noch keine Sättigung erreicht hatte. Deshalb waren Änderungen der Reflexstärke zu höheren oder niedrigeren Werten nach einer Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen denkbar.

4.1.1 Einfluss von Mikrogravitation

Durch Reizdeprivation während einer Entwicklung unter Schwerelosigkeit im Weltall wird die Charakteristik der kompensatorischen Augendrehung von *Xenopus* während einer seitlichen Körperrollung verändert. Bei jungen Tieren ist der Betrag der rVOR-Amplitude verringert, wie während der D-2 Mission 1993 (Beginn der Mikrogravitation im Stadium 33 bis 36, Sebastian et al. 1996) und der Mission SMM-06 im Jahre 1997

(Alter bei Beginn von μg : Stadium 24 bis 28, Sebastian und Horn 1998) beobachtet werden konnte. Es wird angenommen, dass die rVOR-Entwicklung bei fehlender vestibularer Stimulation verzögert stattfindet und dadurch im Vergleich zu 1g-Kontrolltieren trotz gleichen Alters in geringerem Maße ausgebildet ist (Sebastian 1994, Sebastian et al. 1996, Sebastian und Horn 1998). Ähnliche Resultate ergaben sich auch in der vorliegenden Studie (Alter bei Beginn von μg : Stadium 26 bis 27). Jedoch trat der Effekt kürzer auf. Nach der SMM-06-Mission waren die μg -Daten über einen Zeitraum von mehr als 10 Tagen signifikant niedriger als die der Bodenkontrollen ($p < 0,01$ für die ersten 4 Tage, $p < 0,001$ für die Tage 8 und 9, $p < 0,02$ für die Tage 10 und 11; Sebastian und Horn 1998). Nach der Andromède-Mission war der Effekt nur für die ersten beiden Messtage signifikant ($p < 0,01$) und verschwand danach, also in etwa 3,5 Tage nach μg -Ende (siehe 3.4.1, Abb. 26). Auch waren die Tiere diesmal jünger als nach der Mission SMM-06 und es gab weniger Exemplare mit Körperkrümmung. Diese Tiere haben normalerweise einen erheblich niedrigeren rVOR. Die Unterschiede können darauf zurückgehen, dass die Embryos in diesem Versuch vor dem Beginn der Mikrogravitation bei ca. 16°C gekühlt wurden, während es bei der SMM-06-Mission eine Umgebungstemperatur von 20 bis 22°C gab.

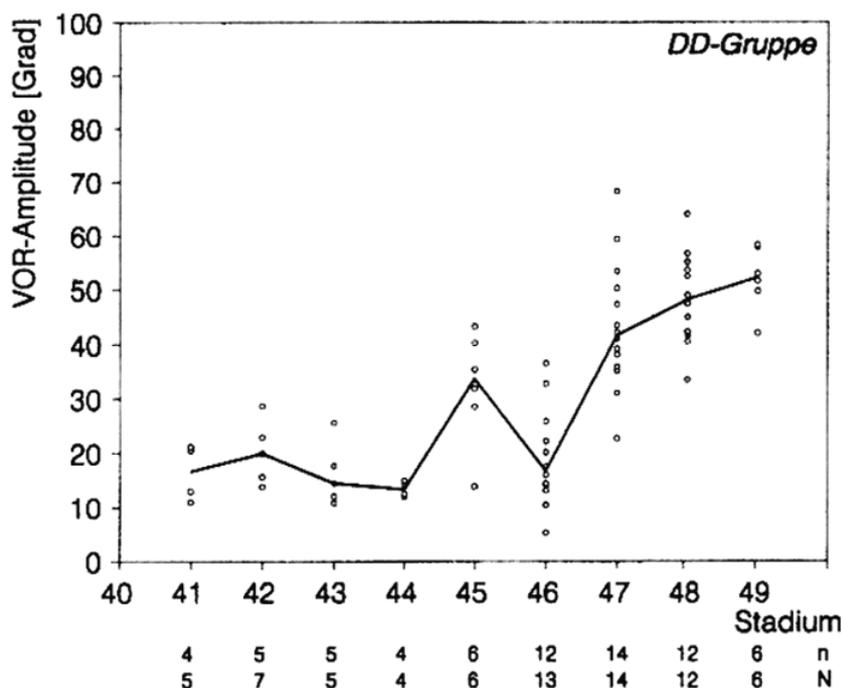


Abb. 31: Früher Entwicklungsgang der rVOR-Amplitude bei Tieren, die sich unter Dauerdunkel (DD) entwickelt haben. N ist die Anzahl der gemessenen Tiere, n ist die Anzahl der Tiere, die einen Reflex zeigten (Sebastian 1994).

4.1.2 Einfluss von Hypergravitation

Auch durch Reizverstärkung während der Entwicklung unter Hypergravitation in einer Zentrifuge wird der rVOR verändert (Horn und Sebastian 1996, Sebastian et al. 1998). Hypergravitation (3g) führt bei jungen Tieren, wie Mikrogravitation, ebenfalls zu einer Verminderung der rVOR-Amplitude. Ein Grund hierfür kann eine Anpassung des vestibulären Aktivierungsniveaus an Hypergravitation sein, so dass bei Rückkehr in normale 1g-Schwerebedingungen ein Roll-Reiz eine geringere Erregung und so eine kleinere Reaktion hervorruft. Ergebnisse bezüglich des rVOR wurden in dieser Studie für die Altersgruppe Stadium 11 bis 17 und 24 bis 27 bestimmt (siehe 3.3.2). Im Fall der Tiere, die zu Beginn von Hypergravitation das Stadium 11 bis 17 erreicht hatten ließ sich kein Effekt auf die rVOR-Amplitude feststellen. Es ist bekannt, dass sich bei Tieren, die zu Beginn von Hypergravitation das Alter 17 bis 22 haben, eine signifikante Verringerung der rVOR-Amplitude feststellen lässt. Sind Kaulquappen bei 3g-Beginn im Stadium 6 bis 9 ergibt sich kein Unterschied (Horn und Sebastian 1996). Man kann also annehmen, dass ein 3g-Effekt im hier untersuchten, dazwischenliegenden Alter nur schwach ausgeprägt ist. Die älteren Versuchstiere, welche bei Eintritt in Hypergravitationsverhältnisse im Stadium 24 bis 27 waren, zeigten einen klaren Unterschied, der mindestens 5 Tage andauerte (3.3.2, Abb. 23). Die rVOR-Amplitude war in der 3g-Gruppe gegenüber den 1g-Kontrolltieren signifikant niedriger ($p < 0,01$). Die Ergebnisse dieser Studie gliedern sich somit nahtlos in die bereits bekannten 3g-Effekte auf den rVOR ein (vgl. Horn und Sebastian 1996).

4.2 Kontrolle und Modulation des Schwimmusters: Entwicklung und Pharmakologie der spinalen Afferenzen

Die Versuchstiere wurden in einem Alter verwendet, in dem sich das Nervensystem noch stark entwickelt. Somit ist von Interesse, inwieweit die beim Schwimmen involvierten Komponenten vorhanden und funktionstüchtig sind. Extrazelluläre Ableitungen von neuronaler Aktivität in den ventralen Wurzeln sind bei *Xenopus* bereits im Stadium 25 möglich. Im Stadium 27 lässt sich ein deutliches rhythmisches Entladungsmuster erkennen, das rechts und links im selben Segment alternierend auftritt (van Mier et al. 1989). Das Schwimmuster gewinnt mit steigendem Alter der Tiere an Komplexität. Ableitungen an der ventralen Wurzel während der postembryonalen Entwicklung bis zum Stadium 42 zeigen eine Variabilitätszunahme der Zykluslänge und eine Verlängerung der Burstdauer. Letztere beträgt im Stadium

37/38 im 4. Segment 5 bis 7 ms und im Stadium 42 bis zu 20 ms (Sillar et al. 1991). Der in dieser Studie gemessene Betrag im Stadium 42 war erheblich kleiner (7. Myotom: 10,6 ms und 11. Myotom: 8,5 ms), was an der Elektrodenplatzierung liegen kann. Während der weiteren Entwicklung der Kaulquappen bis zum Stadium 47 ließ sich eine zusätzliche Steigerung der Burstdauer beobachten, auch Zykluslänge und rostrocaudaler Delay nahmen zu. Im Gegensatz dazu nahm die Episodendauer ab (siehe 3.2.2, Abb. 17).

Das Schwimmmuster der Kaulquappe wird durch einen Halb-Center-Oszillator generiert (Dale 1995) und kann durch Applikation verschiedener Pharmaka moduliert werden (Sillar et al. 1992b, Reith & Sillar 1999, Fischer et al. 2001). Zu den spinalen Afferenzen zählen neben den dorsalen Rückenmarkswurzeln die absteigenden Bahnen. Werden am 17. Segment Backfills mit HRP (Horse Radish Peroxidase) vorgenommen, nimmt die Anzahl und Verschiedenartigkeit der gefärbten Somata im Hirnstamm von Stadium 30 bis mindestens Stadium 46 zu. Die supraspinale Innervierung des Rückenmarks entwickelt sich von rostral nach caudal. So können z.B. vestibulospinale Projektionen durch HRP-Backfills ab Stadium 39 markiert werden, im Stadium 41 reichen sie bis in das 20. Segment (Nordlander et al. 1985). Bei *Xenopus* weit besser untersucht als die vestibulospinalen Projektionen sind die raphespinalen, die reticulospinalen und die absteigenden, katecholaminergen Bahnen. Diese drei Projektionen werden im folgenden genauer betrachtet, wobei ihr möglicher Beitrag zu den altersbedingten Parameteränderungen des fiktiven Schwimmens und zu den Auswirkungen veränderter Gravitationsbedingungen auf das Schwimmmuster diskutiert wird.

4.2.1 Raphespinalen Projektionen

Die Applikation des Neuromodulators 5HT (5-Hydroxytryptamin, Serotonin) kann die Burstdauer erhöhen. Dieses Phänomen weist den raphespinalen Projektionen eine tragende Rolle bei der Modulation der Burstdauer zu. Dieser Effekt ist mit rostrocaudaler Progression von Stadium 37/38 bis 42 zu beobachten (Sillar et al. 1992b). Als Wirkungsmechanismus von 5HT wird eine verminderte Glycinfreisetzung im Oszillator angenommen, was die reziproke Inhibition der Halbzentren herabsetzt (McDearmid et al. 1997). Bei frisch geschlüpften Embryonen produzieren die einzelnen Motoneurone im Rückenmark nur einen Impuls pro Zyklus, während bei den Larven durch künstliche Depolarisation mehrere Impulse generiert werden.

Diese Änderung in den Membraneigenschaften könnte die Ursache für den Anstieg der Burstdauer sein (Sillar et al. 1992a). Eine Zunahme der Burstdauer von rostral nach caudal konnte in dieser Studie bestätigt werden, allerdings nur im kopfnahen Bereich des Schwanzes (siehe 3.2.3, Abb. 18 rechts).

Immunocytochemische Färbungen bei frisch geschlüpften Kaulquappen von *Rana temporaria* zeigen, dass bei dieser Froschgattung in diesem Alter bereits das gesamte Rückenmark durch raphespinalen Axone innerviert wird. Auch lassen sich hier durch 5HT-Applikation sämtliche Parameter des fiktiven Schwimmens modulieren: Burstdauer, Zykluslänge und rostrocaudaler Delay steigen, während die Episodendauer sinkt (Woolston et al. 1994). Dies entspricht der Musteränderung des im Rahmen dieser Studie gemessenen Entwicklungsganges bei *Xenopus* (3.2.2, Abb. 17). Somit besteht die Möglichkeit, dass die Reifung des Schwimmusters bei *Xenopus* alleine auf die Entwicklung des raphespinalen Systems zurückgeht. Allerdings bestehen zwischen den unterschiedlichen Versuchstieren Differenzen in der Bewegungskontrolle, was die Vergleichbarkeit einschränkt. *Rana* moduliert die Schwimgeschwindigkeit durch die Schwanzschlagfrequenz, während *Xenopus* bei niedrigen Geschwindigkeiten durch eine Vergrößerung der Bewegungswelle beschleunigt und erst ab höheren Geschwindigkeiten die Schwanzschlagfrequenz steigert (von Seckendorff Hoff und Wassersug 1986).

Die erhöhte Burstdauer nach 3g-Exposition mag ihre Ursache in einer schnelleren Entwicklung der raphespinalen Projektionen unter Hypergravitation haben, da sich in der postexperimentellen Periode die Werte der Kontrollgruppe dem Level der Versuchsgruppe annäherten und nicht umgekehrt (Abb. 21). Der Hypergravitationseffekt trat in dem Versuchsansatz mit den jüngsten Tieren am deutlichsten zu Tage, was ein Hinweis auf eine Plastizitätsabnahme mit zunehmendem Alter sein kann (3.3.1, Abb. 20). Interessant ist in diesem Zusammenhang der entgegengesetzte Effekt von Mikro- und Hypergravitation in den Versuchsgruppen gleichen Alters (3.5, Abb. 29). Der Befund wird als gegensätzliche Wirkung von 3g und μ g-Exposition auf die Burstdauer gewertet, auch wenn es sich im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen nur um einen tendenziellen Unterschied ($p > 0,1$) handelt. Der gegensätzliche Effekt könnte darauf hinweisen, dass fehlende vestibuläre Aktivität (μ g-Exposition) eine Entwicklungsverzögerung auslöst, während erhöhte vestibuläre Aktivität (3g-Exposition) die Entwicklung der raphespinalen

Projektionen vorantreibt. Der Unterschied zwischen den Kontrollgruppen ($p < 0,05$) kann dadurch zustande kommen, dass die Versuchstiere beider Ansätze zwar von Eltern gleicher Herkunft, aber nicht von identischen Elternpaaren abstammen.

4.2.2 Reticulospinale Projektionen

Die Axone der reticulospinalen Projektionen erreichen das Rückenmark, wenn erste Schwimmbewegungen auftreten (van Mier 1988). Beim Neunauge *Lampetra fluviatilis* ist das reticulospinale System zuständig für die Initiation von Lokomotion, die Lenkung und die Gleichgewichtskontrolle, wie am intakten Tier mit implantierten Elektroden gezeigt werden konnte (Deliagina et al. 2000). Pharmakologische Untersuchungen der GABAergen reticulospinalen Projektionen vom mittleren Teil der Medulla oblongata (zusammen mit den spinalen GABAergen Neuronen) zeigen eine Wirkung auf das fiktive Schwimmen: Der GABA_A-Rezeptorblocker Bicucullin führt im Stadium 42 zu kurzen Schwimmemisoden mit einer Verkürzung von Zykluslänge und rostrocaudalem Delay bei einer Verlängerung der Burstdauer. Der allosterische GABA-Agonist Pregnan erzeugt ebenfalls kurze Episoden, aber mit verringerter Burstdauer, während Zykluslänge und rostrocaudaler Delay erhöht sind. Es gibt Hinweise darauf, dass GABA an der Termination der lokomotorischen Aktivität beteiligt ist (Reith & Sillar 1999).

Die reticulospinalen Bahnen könnten an den alterabhängigen Änderungen von Episodendauer, Zykluslänge und rostrocaudalem Delay beteiligt sein (3.2.2, Abb.17). Da das pharmakologische Experiment mit den isoliert betrachteten reticulospinalen Projektionen bei *Xenopus* keine Ergebnisse entsprechend des in dieser Studie gemessenen Entwicklungsgangs der Burstdauer hervorruft, ist aber nur ein partieller Beitrag denkbar. Auch die hier präsentierten Mikrogravitationseffekte auf die Episodendauer und den rostrocaudalen Delay (3.4.1, Abb. 26) könnten auf Änderungen im GABAergen reticulospinalen System zurückgehen. Gestützt wird solch eine Annahme durch die Beobachtung eines gravitationsinduzierten Effekts auf die Morphologie der Mauthnerzellen. Diese sehr gut untersuchten reticulospinalen Neurone sind bei Kaulquappen paarig vorhanden (van Mier 1988). Sie haben Kommandofunktion beim Fluchtreflex, innervieren monosynaptisch die axiale Muskulatur und kontrollieren Schwanzschläge in beide Richtungen. Mauthnerzellen können ab Stadium 32 identifiziert werden (ten Donkelaar & de Boer-van Huizen 1982). Die Mauthnerzellen erhalten Afferenzen vom Vestibularsystem und reagieren

sensibel auf veränderte Gravitationsbedingungen: Das endoplasmatische Reticulum und seine Zisternen im subsynaptischen Bereich proliferieren unter Hypergravitation stärker (Moshkov et al. 1992).

4.2.3 Absteigende katecholaminerge Bahnen

Homolog zum Locus coeruleus bei höheren Vertebraten existieren bei Kaulquappen noradrenerge Gebiete im Hirnstamm (Sanchez-Camacho et al. 2002). Der Neuromodulator NA (Noradrenalin) spielt eine wichtige Rolle bei der Modulation des lokomotorischen Musters. Als Wirkungsmechanismus wird eine Erhöhung der Glycinfreisetzung im Halb-Center-Oszillator angenommen, wodurch sich die antagonistische Inhibition und damit die Zykluslänge erhöht (McDermid 1997). Bei NA-Applikation lassen sich im Stadium 42 außerdem eine Abnahme des rostrocaudalen Delays und der Episodendauer beobachten (Fischer et al. 2001). Supraspinale katecholaminerge Projektionen zum Rückenmark können bei *Xenopus* erstmals im Stadium 40/41 angefärbt werden (Sanchez-Camacho et al. 2002). Die Modulation des Schwimmmusters über die katecholaminergen Bahnen könnte sich alterabhängig ändern und so Auswirkungen auf Zykluslänge und Episodendauer haben. Dies erklärt jedoch nicht den in dieser Studie gemessenen Entwicklungsgang der Burstdauer und des rostrocaudalen Delays (3.2.2, Abb. 17). Da das pharmakologische Experiment mit den isoliert betrachteten katecholaminergen Projektionen keine vollständige Parallelität zu dem in dieser Studie gemessenen Entwicklungsgang zeigt, ist bestenfalls ein partieller Beitrag der katecholaminergen Bahnen zur Reifung des Schwimmmusters denkbar. Der hier präsentierte Mikrogravitationseffekt auf die Episodendauer (3.4.1, Abb. 26) könnte auf Änderungen in den katecholaminergen Projektionen zurückgehen.

4.2.4 Rostrocaudale Gradienten

Nicht nur die supraspinalen Afferenzen zeigen rostrocaudale Unterschiede während der frühen Entwicklung von *Xenopus* (Nordlander et al. 1985). Auch die Segmentbildung findet von rostral nach caudal statt. Während der Embryonalentwicklung und auch später werden fortlaufend neue myotomale Kompartimente vom caudalen Mesoderm gebildet. Zwischen Stadium 17 und 40 werden 0,9 Myotomen pro Stunde produziert (van Mier et al. 1989). Ab dem Stadium 43 ist die Histogenese der Myotome beendet (Nieuwkoop und Faber 1967). Im Kaulquappenschwanz gibt es also rostrocaudale Gradienten. Diese können für die

Bewegungskontrolle von Bedeutung sein. So kann die longitudinale Abnahme in der Zahl der prämotorischen Interneurone eine Erklärung für die Koordination der motorischen Aktivität in den Schwanzsegmenten bei *Xenopus*-Embryos liefern (Roberts und Tunstall 1994).

Die Charakteristik des Schwimmverhaltens bei freischwimmenden *Xenopus*-Larven wechselt in der frühen Entwicklung von einer eher plumpen Bewegung mit einer Welle, die den kompletten Schwanz gleichmäßig durchläuft (Kahn et al. 1982), zu der eines "kartesischen Tauchers" mit feineren Bewegungen. Während die jungen Tiere absinken, wenn sie sich nicht bewegen, erfahren die älteren Tiere einen Auftrieb gegen den sie aktiv mit sich verkleinernden Schwanzspitzenbewegungen anschwimmen (Abb. 32). Die posterioren Myotome grenzen eng aneinander und könnten elektrisch gekoppelt sein (Nishikawa et al. 1985). Der Auftrieb entsteht durch das Anfüllen der Lungen mit Luft (Wassersug und Souza 1990, von Seckendorff Hoff und Wassersug 1986). Lungengebrauch bei *Xenopus* ist im frühen Leben nicht notwendig, die Tiere fangen aber kurz nach dem Schlüpfen damit an, Luft zu holen (Pronych und Wassersug 1994). Ab dem mittleren bis späten Stadium 47 sinken narkotisierte Tiere nicht mehr ab (eigene Beobachtung).

Die Schwimmtechnik der älteren Kaulquappen benötigt einen unterschiedlichen Modus im rostralen und caudalen Schwanzbereich. Dies kann eine Erklärung für die rostrocaudalen Unterschiede auf physiologischer Ebene liefern. Zunächst ist auffällig, dass in allen Experimenten der vorliegenden Studie der Betrag der rostralen Burstdauer größer war als der caudale Wert. Außerdem gab es zwischen den beiden gemessenen Entwicklungsgängen folgende Unterschiede: Im kopfnahen Ableitbereich ließ sich eine entwicklungsabhängige Erhöhung der Burstdauer beobachten, die zunächst an der rostralen Elektrode messbar war und erst einige Stadien später an der caudalen Ableitstelle auftrat. Dies äußerte sich in einem zwischenzeitlichen Anstieg des Quotienten zwischen rostraler und caudaler Burstdauer (3.2.3, Abb. 18 rechts). Dieses Phänomen ist bereits bekannt (Sillar et al. 1992b) und wird unter 4.2.1 genauer erklärt. Weiter caudal konnte dies in der vorliegenden Studie allerdings nicht nachgewiesen werden (3.2.3, Abb. 18 rechts), was ein Hinweis auf eine andersartige Entwicklung der neuronalen Ansteuerung der caudalen Segmente sein kann. Auch bezüglich des rostrocaudalen Delays gibt es Unterschiede zwischen dem kopfnahen Ableitbereich und dem 10. und 14. Myotom

(siehe 3.2.3, Abb. 18 links). Im kopfnahen Bereich beträgt er bei sämtlichen Stadien um die 4 ms. Dieser Wert deckt sich mit den Literaturangaben, wonach die rostrocaudale Verzögerung 1 bis 2 ms pro Myotom dauert (Sillar et al. 1991). Zwischen dem 10. und 14. Myotom, wo Größenwachstum der Myotome stattfindet, liegt er im Stadium 37/38 bei 2,5 ms und erhöht sich mit zunehmendem Alter (siehe 3.2.3, Abb. 18 links).

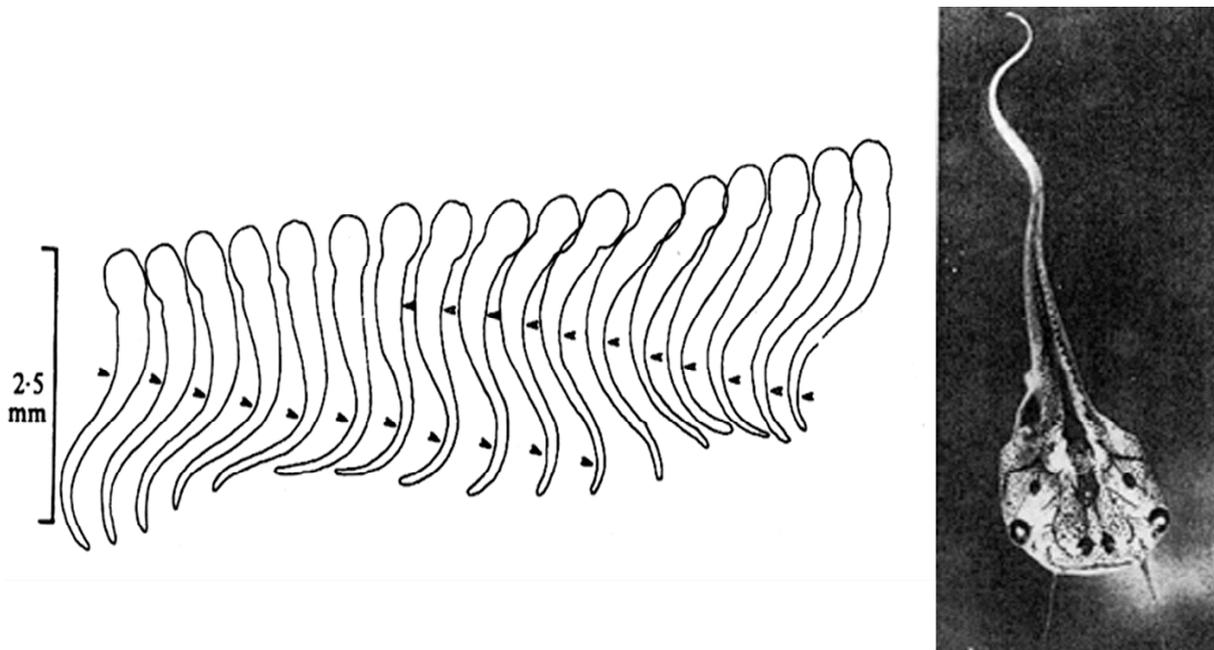


Abb. 32: Die Schwimmbewegung von jungen und alten *Xenopus*-Kaulquappen. Links die Bewegung einer Kaulquappe in Stadium 37/38 entnommen von Videoaufnahmen (Kahn et al. 1982), rechts ein älteres Tier (entsprechen den externen Kriterien vermutlich im Stadium 53, Abbildung aus von Seckendorff Hoff und Wassersug 1986). Man achte auf die grobe Bewegungswelle bei den jüngeren Tieren, welche den Schwanz gleichmäßig durchläuft (links), während sich die Welle bei älteren Kaulquappen zur Schwanzspitze verjüngt (rechts). Außerdem steht das ältere Tier schräg im Wasser, da es aktiv gegen seinen Auftrieb anschwimmt.

4.3 Sensorische Systeme zur Wahrnehmung von veränderten Gravitationsbedingungen und ihr Einfluss auf das Schwimmuster

Bezüglich der sensorischen Systeme, die für eine Auswirkung veränderter Gravitationsbedingungen auf die Schwimmbewegung verantwortlich sein könnten, bieten sich neben dem Vestibularsystem auch propriorezeptive Systeme an, da zur Bewegung unter veränderten Gravitationsbedingungen unterschiedlich viel Kraft aufgewendet werden muss. Es ist allerdings unklar, ob *Xenopus* in dem hier untersuchten Entwicklungszeitraum zur Propriozeption fähig ist. Fische und Amphibien haben keine Muskelspindeln in der axialen Muskulatur (Barker 1974). Während der Metamorphose, im Stadium 57, können bei *Xenopus* Muskelspindeln

gefunden werden und zwar in den Zehenmuskeln (Shinmori et al. 1988). Ob es andere, muskelspindelähnliche Rezeptoren in der Schwanzmuskulatur gibt, ist nicht bekannt. Allerdings existieren beim Katzenhai subkutan Streckrezeptoren außerhalb des Muskels, diese können Bewegungsinformationen liefern (Roberts 1969).

Auch das Seitenlinienorgan könnte indirekt, über die Wahrnehmung von Strömung, Bewegungsinformation liefern. Bei *Xenopus*-Kaulquappen reagiert es phasisch-tonisch auf Vibration und Wasserfluss. Bei den Rezeptoren handelt es sich um Haarsinneszellen (Shelton 1971). Im Stadium 41 sind alle lateralen Linien zu individuellen Sinnesorganen differenziert (Nieuwkoop und Faber 1967). Der Hirnstamm von Larven und adulten *Xenopus*-Exemplaren erhält Afferenzen über den anterioren und posterioren Seitenliniennerven. Da es efferente Nerven gibt, die das Seitenlinienorgan während Bewegung inhibieren (Russel 1976), kann man aber davon ausgehen, dass es keinen Beitrag zur Strömungswahrnehmung während dem Schwimmen leistet. Muskuläre und neuronale Aktivität ist übrigens nicht notwendig für eine normale Entwicklung des Schwimmmusters: Bei einer Entwicklung unter Blockierung der Natriumkanäle mittels Lidocain lassen sich bis zum Stadium 45 keine Veränderungen der Parameter Zykluslänge, Burstdauer und Episodenlänge feststellen (Haverkamp 1986).

Trotzdem lassen sich aus den hier gewonnenen Versuchsergebnissen indirekt Hinweise auf die Existenz von Propriozeption ableiten: Hochgeschwindigkeits-Filmaufnahmen von freischwimmenden Kaulquappen zeigen, dass Mikrogravitationsexposition kurzfristig eine Verringerung der Schwanzschlagfrequenz zur Folge hat (Fejtek et al. 1998). Der Schwanzschlagfrequenz beim intakten Tier entspricht im Modell des fiktiven Schwimmens die Burstfrequenz, also der Kehrwert der Zykluslänge (Kahn and Roberts 1982a). Diese war gemäß der hier vorgelegten Studie nicht verändert (3.4.1). Der Grund hierfür kann am Versuchsmodell liegen: Die Tiere sind während der Ableitung gelähmt, es findet also keine Bewegung und damit keine Wahrnehmung derselben statt. Daher könnten die Mikrogravitationseffekte beim freischwimmenden Tier propriozeptive Ursachen haben. Bei *Rana catesbeiana* oder *Rana clamitans* kann übrigens durch Stimulation der dorsalen Wurzeln die Zykluslänge variiert werden (Stehower und Farel 1981). Nach Durchtrennen der dorsalen Wurzeln bleibt der rostrocaudale Delay aus (Stehower

und Farel 1980). Dies stützt die Annahme, dass es im Kaulquappenschwanz Rezeptoren gibt, die Informationen über die Schwimmbewegung liefern.

4.4 Zentren zur Koordination von motorischer Aktivität

Sowohl die rVOR-Amplitude (Abb. 31) als auch drei der vier Parameter des fiktiven Schwimmens (Burstdauer, Zykluslänge und rostrocaudaler Delay) nahmen im Betrag während der frühen Entwicklung zu, während die Episodendauer abnahm (3.2.2, Abb. 17). Daher könnte man geneigt sein, eine gemeinsame Entwicklung der rVOR-Amplitude mit den lokomotorischen Parametern anzunehmen, obwohl es sich um räumlich voneinander entfernte motorische Ereignisse handelt. Falls dies so wäre, würde eine generelle Datenkorrelation in sämtlichen Versuchsgruppen bestehen, da die Versuchstiere gemäß ihres Entwicklungsstandes immer voneinander abhängige Parameter bei unterschiedlichen Werten liefern (Abb. 33). Dies war aber nicht der Fall. Es gibt also keine determinierte Abhängigkeit zwischen der rVOR-Amplitude und den Parametern des fiktiven Schwimmens. Allerdings treten nach einer Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen Korrelationen zwischen den Ergebnissen beider motorischer Systeme auf (3.3.3, 3.4.3, Abb. 28).

Mikrogravitation beeinflusst sowohl das okulomotorische als auch auf das lokomotorische System der Kaulquappen. Auch liefert die vorliegende Studie Hinweise über einen Zusammenhang dieser Effekte. Die Korrelationen der rVOR-Amplitude mit der rostralen Burstdauer und dem rostrocaudalen Delay in der μ g-Versuchsgruppe nach Mikrogravitationsende (Abb. 28) lassen sich mit einer koordinierten Rückanpassung erklären. Nach Hypergravitation trat ebenfalls eine Korrelation von rVOR-Amplitude und rostrocaudalem Delay auf (3.3.3 und 3.5).

Bei der Episodendauer traten signifikante Abhängigkeiten von der rVOR-Amplitude in der Kontrollgruppe auf. Da bei der Episodendauer in der postexperimentellen Phase eine Mittelwertsänderung in der Kontrollgruppe stattfand (3.4.1, Abb. 26 rechts unten), während der Wert in der Versuchsgruppe gleich blieb, könnte man annehmen, dass es eine Überlagerung eines eventuell vorhandenen Mikrogravitationseffekts gab, welche gegensätzlich zu demselben verlief und sich deshalb nur in der Kontrollgruppe manifestierte. Dies könnte z.B. durch eine Vitalitätszunahme der Tiere aufgrund der besseren Futtersituation entstehen und

auch eine Korrelation zwischen der rVOR-Amplitude und den lokomotorischen Parametern erzeugen.

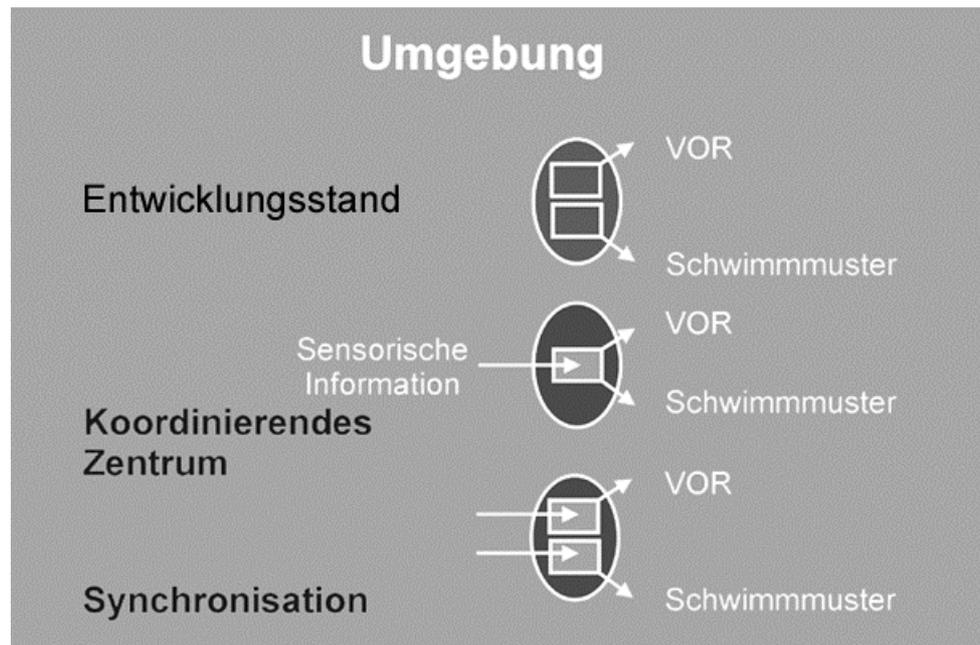


Abb. 33: Mögliche Ursachen für die Korrelation der Parameter von rVOR und fiktivem Schwimmen. Wären organismusinterne Eigenschaften, z.B. der Entwicklungsstand, dafür verantwortlich, gäbe es eine generelle Abhängigkeit der motorischen Äußerungen in jedem Tier zu jeder Zeit. Ist dies nicht der Fall, kann man davon ausgehen, dass die beobachteten Korrelationen umgebungsabhängig sind. Die Koordinierung der motorischen Äußerungen kann entweder über ein gemeinsames Zentrum, z.B. das Vestibularsystem oder das Cerebellum, oder aber durch eine Synchronisation unabhängiger Systeme stattfinden. Eine Synchronisation könnte auch durch Gravitationseffekte auf rein zellulärer Ebene stattfinden (siehe 4.5).

Eine Koordinierung in der Anpassung von Augenbewegung und Schwimmmuster an die Umgebung war in dieser Studie also zu beobachten. Die Ursache könnte in der vestibulären Information liegen, die nicht nur das okulomotorische, sondern, über die absteigenden Bahnen, auch das lokomotorische System erreicht. Es könnte auch ein koordinierendes Zentrum auf zentraler Ebene existieren. Eine Koordinierung der beiden motorischen Systeme hat vielleicht aber auch unspezifische Ursachen (Abb. 33). Hierauf wird unter 4.5 näher eingegangen. Für die Existenz eines koordinierenden Zentrums auf zentraler Ebene spricht, dass bei Larven von *Rana catesbeiana* im isolierten ZNS die Aktivität in den okulomotorischen Nerven und die Bursts des fiktiven Schwimmens phasengekoppelt sind (Stehouwer 1987).

Das Cerebellum ist bekannt als sensomotorische Steuerzentrale, die eng mit dem Hirnstamm verknüpft ist und vestibuläre, visuelle und somatische Afferenzen erhält

(Llinás 1976, Nieuwenhuys und Opdam 1976). Es wäre also ein guter Kandidat für ein zentral gelegenes, koordinierendes Zentrum. Bei *Xenopus* zeigen sich bereits im Stadium 42 die Corpora cerebelli und erste Fasern in der cerebellaren Kommissur. Ab Stadium 46 kann weiße Substanz im Cerebellum unterschieden werden. Sie vermehrt sich während der weiteren Entwicklung, außerdem beginnt in diesem Alter die Differenzierung der Purkinjezellen (Nieuwkoop und Faber 1967). Diese Efferenzen projizieren inhibitorisch auf die Vestibularkerne. Es gibt Hinweise darauf, dass das vestibulocerebellare System in adulten Fröschen nicht nur das vestibulospinale sondern auch das vestibulookulomotorische System reguliert (Nieuwenhuys und Opdam 1976). Spinocerebellare Projektionen können bei *Xenopus* ab Stadium 44 angefärbt werden (van der Linden et al. 1988), vestibulocerebellare Projektionen allerdings erst ab Stadium 48 (van der Linden und ten Donkelaar 1987). Spätestens im Stadium 49 scheint eine Verbindung der efferenten Purkinjezellen mit dem vestibulospinalen Trakt zu existieren (van der Linden und ten Donkelaar 1990). Es ist also fraglich, ob die notwendigen Komponenten bei den in dieser Studie verwendeten Tieren bereits vorhanden sind.

Geht man von der Existenz eines koordinierenden Zentrums aus, können die Ergebnisse bei Kaulquappen mit Körperkrümmung (3.4.2, Abb. 22) auf eine Störung in dieser Verbindung hinweisen. Hier gab es keinen Mikrogravitationseffekt auf Episodenlänge und rostrocaudalem Delay, was erstaunlich ist, da der optische Eindruck eine starke Veränderung des lokomotorischen Apparates liefert. Das Fehlen von Korrelationen zwischen rVOR- und Schwimmmuster-Parametern in diesen Tieren kann ein Hinweis auf ein Fehlen der vestibulären Eingänge auf das lokomotorische System sein, die sich in einer Herabsetzung des Muskeltonus äußert, aber nicht in der Ausdauer oder intersegmentalen Koordination der Tiere.

4.5 Wirkung veränderter Gravitationsbedingungen auf zellulärer Ebene

In den letzten Jahre häufen sich die Hinweise, dass veränderte Gravitationsbedingungen auch global auf zellulärer Ebene wirken. Einzeller, Tumorzellen, Lymphozyten, Myozyten, Osteoblasten und Neurone in Zellkultur zeigen Änderungen, z.B. bei Mitose, Apoptose und Synaptogenese, wenn der Schwerkraftvektor nicht konstant in eine Richtung weist oder nicht vorhanden ist (Gruener und Hoeger 1990, Cogoli 1993, Sarkar et al. 2000, Clejan et al. 2001). Die modifizierte Schwerkraft scheint sich in der Struktur des Zytoskeletts zu

manifestieren und könnte den Stofftransport beeinflussen (Sarkar et al. 2000, Todd 1989). Auch Hypergravitation erzeugt Effekte auf zellulärer Ebene (Tschopp und Cogoli 1983). Die Korrelationen zwischen rVOR und Schwimmmuster könnten also auf generelle zelluläre Veränderungen zurückgehen, die sich nach Ende der artifiziellen Gravitationsbedingungen normalisieren und so die okulomotorischen und lokomotorischen Parameter synchronisieren (Abb. 33).

4.6 Perspektiven

Die Ergebnisse dieser Studie werfen neue Fragen auf. So gibt es Hinweise darauf, dass sich bei einer Entwicklung unter μg die Reifung des Schwimmmusters verzögert und unter 3g beschleunigt (4.2). Da eine Ursache hierfür auf der Ebene der absteigenden Bahnen zu suchen ist, bieten sich unterschiedliche Versuchsansätze an. Zum einen könnte man nach einer Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen mit HRP-Backfills die Innervierung des Rückenmarks durch die supraspinalen Projektionen darstellen und diese Befunde mit dem Schwimmmuster der einzelnen Versuchstiere vergleichen. Auch wäre es interessant zu probieren, ob sich gravitationsinduzierte Änderungen des fiktiven Schwimmens pharmakologisch beseitigen lassen.

Durch Läsionsexperimente kann der vestibuläre Einfluss auf das Schwimmmuster näher betrachtet werden. Eine Bilabyrinthektomie könnte einen ähnlichen Effekt auf das fiktive Schwimmen haben wie Mikrogravitation. Da Korrelationen zwischen dem Schwimmmuster und dem rVOR in dieser Studie nur während der Rückanpassung an 1g auftraten, kann eine Bilyabyrinthektomie die hier gewählte Methode allerdings nicht ersetzen. Im Gegensatz zu einer temporären μg -Exposition, bei welcher die sensomotorischen Systeme intakt bleiben, führt die Bilabyrinthektomie zu einer permanenten und totalen Deprivation. Die sensorische Komponente ist entfernt und der Zustand des Tieres ist nicht mehr regenerierbar. Eventuell lassen sich aber direkt nach dem Eingriff korrelierte Reaktionen auf das völlige Ausbleiben der vestibulären Rezeptoraktivität in beiden motorischen Systemen beobachten. Dieser Ansatz stellt ein eigenständiges Vorhaben dar, das die Ergebnisse dieser Studie ergänzen kann. Auch eine Hemilabyrinthektomie kann interessante Befunde liefern. Dieses Experiment könnte Aufschluss über die Ansteuerung des Oszillators geben. Eine Asymmetrie in der vestibulären Wahrnehmung könnte sich in einer Asymmetrie des Schwimmmusters innerhalb eines Segmentes äußern.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war die Erforschung der Wirkung veränderter Gravitationsbedingungen auf die Entwicklung zweier motorischer Systeme mit vestibulären Afferenzen.

Hierzu wurden extrazelluläre Ableitungen an den ventralen Rückenmarkswurzeln bei gelähmten Kaulquappen (fiktives Schwimmen) und Verhaltensuntersuchungen des rollungsinduzierten vestibulookularen Reflexes (rVOR) verwendet. Die Experimente wurden an Kaulquappen von *Xenopus laevis* durchgeführt, nachdem sie sich mehrere Tage unter Mikro- oder Hypergravitation entwickelt hatten. Außerdem wurde der normale Entwicklungsgang der Parameter des fiktiven Schwimmens bis zum Alter der gravitationsbehandelten Versuchstiere gemessen, der Entwicklungsgang des rVOR war bereits bekannt.

Die Studie führte zu folgenden Ergebnissen:

1. Während der frühen Entwicklung von *Xenopus* unter Erdbedingungen änderten sich die Parameter des fiktiven Schwimmens. Die Burstdauer, die Zykluslänge und der rostrocaudale Delay nahmen zu, während die Episodendauer abnahm.
2. Sowohl Mikrogravitation als auch Hypergravitation wirkte sich auf das lokomotorische Muster aus.
3. Hypergravitation bewirkte eine Zunahme der Burstdauer, wobei die neuronale Plastizität mit steigendem Alter abnahm.
4. Mikrogravitation bewirkte in entgegengesetzter Weise eine Abnahme der Burstdauer. Nach einer Entwicklung unter Mikrogravitation waren auch eine Verminderung des rostrocaudalen Delays und eine Erhöhung der Episodendauer zu beobachten. Die Änderungen dieser drei Parameter entsprechen dem Schwimmuster jüngerer Tiere. Die Zykluslänge war durch Mikrogravitation nicht beeinflusst.
5. Veränderte Gravitationsbedingungen beeinflussten die Entwicklung des rVOR. Sowohl Mikro- als auch Hypergravitation führte zu einer Verkleinerung der rVOR-Amplitude. Dies deckt sich mit den Ergebnissen vorangegangener Studien.

6. Nach einer Entwicklung unter veränderten Gravitationsbedingungen waren in der postexperimentellen Phase signifikante Korrelationen zwischen der rVOR-Amplitude und einigen Parametern des Schwimmmusters zu sehen.
7. Generelle Korrelationen, die unabhängig von einer Umgebungsänderung waren, konnten zwischen der rVOR-Amplitude und den Parametern des fiktiven Schwimmens nicht beobachtet werden.

Daraus lassen sich folgende Hypothesen ableiten:

1. Es ist wahrscheinlich, dass veränderte Gravitationsbedingungen über das Vestibularsystem auf die Reifung des lokomotorischen Musters wirken.
2. Der Effekt modifizierter Gravitationsbedingungen auf das Schwimmmuster kann auf Änderungen in den absteigenden Bahnen zurückgeführt werden, die sich in diesem Zeitraum von rostral nach caudal entwickeln.
3. Es gibt bei Umgebungsänderung eine gemeinsame Anpassung des okulomotorischen und des lokomotorischen Systems. Dies kann ein Hinweis auf die Existenz eines koordinierenden Zentrums sein.

6 Literaturverzeichnis

- Anken RH, Rahmann H (1998):** On inappropriately used neuronal circuits as a possible basis of the "loop-swimming" behavior of fish under reduced gravity: a theoretical study. *Adv Space Res* 22(2), 277-280
- Barker D (1974):** The morphology of muscle receptors. In: Hunt CC (Hrsg.): *Handbook of Sensory Physiology III/2*, Springer-Verlag New York, 2-190
- Bear MF, Singer W (1986):** Modulation of visual cortical plasticity by acetylcholine and noradrenaline. *Nature* 320, 172-176
- Böser S, Horn E (2002a):** Hypergravity exposure affects ventral root activity in tadpoles (*Xenopus laevis*), ESA SP (in press), ESA-Symposium Stockholm, 2002
- Böser S, Horn E (2002b):** Hypergravity exposure affects ventral root activity in tadpoles (*Xenopus laevis*), Poster 207.2 at the 3rd Forum of European Neuroscience Paris 2002
- Böser S, Dournon C, Gualandris-Parisot L, Horn E (2002):** Ventral root recordings during fictive swimming in tadpoles (*Xenopus laevis*) with microgravity or hypergravity experience. *ASGSB Bull* 16(1), 31
- Brown ME (1946):** The histology of the tadpole tail during metamorphosis, with special reference to the nervous system. *Am J Anat* 78, 79-113
- Clarke JD, Hayes BP, Hunt SP, Roberts A (1984):** Sensory physiology, anatomy and immunohistochemistry of Rohon-Beard neurons in embryos of *Xenopus laevis*. *J Physiol* 348, 511-525
- Clejan S, O'Connor K, Rosensweig N (2001):** Tri-dimensional prostate cell cultures in simulated microgravity and induced changes in lipid second messengers and signal transduction. *J Cell Mol Med* 5(1), 60-73
- Cogoli A (1993):** The effect of hypogravity and hypergravity on cells of the immune system. *J Leuk Biol* 54, 259-268
- Cohen B (1974):** The vestibulo-ocular reflex arc. In: Kornhuber HH (Hrsg.): *Handbook of Sensory Physiology VI/1*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 477-540
- Coleman J, Blatchley BJ, Williams JE (1982):** Development of the dorsal and ventral cochlear nuclei in rat and effects of acoustic deprivation. *Devl Brain Res* 4, 119-123

- Dale N (1995):** Experimentally derived model for the locomotor pattern generator in the *Xenopus* embryo. J Physiol 489, 489-510
- Deliagina TG, Orlovsky GN, Grillner S, Wallen P (1992):** Vestibular control of swimming in lamprey. II. Characteristics of spatial sensitivity of reticulospinal neurons. Exp Brain Res 90, 489-498
- Deliagina TG, Zelenin PV, Fagerstedt P, Grillner S, Orlovsky GN (2000):** Activity of reticulospinal neurons during locomotion in the freely behaving lamprey. J Neurophysiol 83 (2), 853-863
- Dieringer N (1995):** Vestibular compensation: Neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates. Prog Neurobiol 46, 97-129
- Fejtek M, Souza K, Neff A, Wassersug R (1998):** Swimming kinematics and respiratory behavior of *Xenopus laevis* larvae raised in altered gravity. J Exp Biol 201, 1917-1926
- Fischer H, Merrywest SD, Sillar KT (2001):** Adrenoreceptor-mediated modulation of the spinal locomotor pattern during swimming in *Xenopus laevis* tadpoles. Eur J Neurosci 13, 977-986
- Gruener R, Hoeger G (1990):** Vector-free gravity disrupts synapse formation in cell culture. Am J Physiol 258, C 489-494
- Haverkamp LJ (1986):** Anatomical and physiological development of the *Xenopus* embryonic motor system in the absence of neuronal activity. J Neurosci 6, 1338-1348
- Hillman DE (1976):** Morphology of peripheral and central vestibular systems. In: Llinás R, Precht W (Hrsg.): Frog Neurobiology, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 452-480
- Horn E (1981):** An ontogenetic approach to vestibular compensation mechanisms. In: Flohr H, Precht W (Hsg.): Lesion-induced neuronal plasticity in sensorimotor systems, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 173-183
- Horn E, Sebastian C (1996):** A hypergravity related sensitive period during the early development of the roll induced vestibuloocular reflex in the Southern Clawed Toad (*Xenopus laevis*). Neurosci Lett 216, 25-28
- Horn E, Sebastian C (1999):** A comparison of normal vestibulo-ocular reflex development under gravity and in absence of gravity, ESA SP-1222, 127-138

- Horn E, Böser S (2002):** Effects of gravity deprivation on the development of vestibuloocular reflex and fictive swimming in lower vertebrates (*Xenopus laevis*, *Oreochromis mossambicus*). J Vest Res 11, 320
- Horn E, Mack R, Lang HG (1986):** The development of the static vestibulo-ocular reflex in the Southern Clawed Toad, *Xenopus laevis*. II. Animals with acute vestibular lesions. J Comp Physiol 159, 887-895
- Horn E, Sebastian C, Eßeling K, Rahmann H, Slenzka K, Neubert J, Briegleb W, Schatz A (1994):** Effects of a transient change of the gravitational force on the development of the static vestibulo-ocular reflex in a fish. ESA SP-366, 383-386
- Horn E, Sebastian C, Eßeling K (1995):** The static vestibuloocular reflex in lower vertebrates after a transient gravity deprivation during an early period of life. Naturwissenschaften 82, 289-291
- Hubel DH, Wiesel TN (1970):** The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. J Physiol 206, 419-436
- Jamieson D, Roberts A (2000):** Responses of young *Xenopus laevis* tadpoles to light dimming: Possible roles for the pineal eye. J Exp Biol 203, 1857-1867
- Kahn JA, Roberts A (1982a):** The central nervous origin of the swimming motor pattern in embryos of *Xenopus laevis*. J Exp Biol 99,185-196
- Kahn JA, Roberts A (1982b):** The neuromuscular basis of rhythmic struggling movements in embryos of *Xenopus laevis*. J Exp Biol 99,197-205
- Kahn JA, Roberts A, Kashin SM (1982):** The neuromuscular basis of swimming movements in embryos of the amphibian *Xenopus laevis*. J Exp Biol 99, 175-184
- Llinás R (1976):** Cerebellar Physiology. In: Llinás R, Precht W (Hrsg.): Frog Neurobiology, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 892-923
- McDearmid JR, Scrymgeour-Wedderburn JF, Sillar KT (1997):** Aminergic modulation auf glycine release in a spinal network controlling swimming in *Xenopus laevis*. J Physiol 503 (PT1), 111-117
- Moshkov DA, Savel'eva LN, Tiras NR, Kalistratova EN (1992):** The structur of the reticulum of Mathner's neurons in tadpoles of the clawed toad grown under increased gravitational force. Tsitologija 34 (5), 50-54
- Neubert J, Briegleb W, Schatz A, Bromeis B, Linke-Hommes A, Rahmann H, Slenzka K, Horn E, Eßeling K, Sebastian C (1994):** Spacelab Mission D-2 experiment STATEX "Gravity Perception and Neuronal Plasticity".

- Comparative investigations of near weightlessness effects on the development and function of the gravity perceiving system of two water-living vertebrates (*Xenopus laevis* Daudin, *Oreochromis mossambicus*). ESA SP-366, 77-81
- Niemeyer W, Starlinger L (1981):** Do blind hear better? Investigations on auditory processing in congenital or early acquired blindness. II. Central functions. *Audiology* 20 (6), 510-515
- Nieuwenhuys R, Opdam P (1976):** Structure of the Brain Stem. In: Llinás R, Precht W (Hrsg.): *Frog Neurobiology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 811-855
- Nishikawa K, Hoff K, Wassersug RJ (1985):** Functional considerations of anatomical variation in the spinal cord and axial musculature of anuran larvae. *Anat Rec* 211, 139A
- Nieuwkoop PD, Faber J (1967):** Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). North Holland, Amsterdam
- Nordlander RH, Baden ST, Ryba TMJ (1985):** Development of early brainstem projections to the tail spinal cord of *Xenopus*. *J Comp Neurol* 231: 519-529
- Oakley B (1993):** The gustatory competence of the lingual epithelium requires neonatal innervation. *Devel Brain Res* 72, 259-264
- Precht W (1976):** Physiology of the peripheral and central vestibular Systems. In: Llinás R, Precht W (Hrsg.): *Frog Neurobiology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 481-512
- Precht W (1979):** Vestibular mechanisms. *Ann Rev Neurosci* 2, 265-289
- Pronych S, Wassersug R (1994):** Lung use and development in *Xenopus laevis* tadpoles. *Can J Zool* 72, 738-743
- Rayer B, Horn E (1986):** The development of the static vestibulo-ocular reflex in the Southern Clawed Toad, *Xenopus laevis*. III. Chronic hemilabyrinthectomized tadpoles. *J Comp Physiol* 151, 487-498
- Reith CA, Sillar KT (1999):** Development and role of GABA_A receptor mediated synaptic potentials during swimming in postembryonic *Xenopus laevis* tadpoles. *J Neurophysiol* 82 (6), 3175-3187
- Roberts A, Alford ST (1986):** Descending projections and excitation during fictive swimming in *Xenopus* embryos: Neuroanatomy and lesion experiments. *J Comp Neurol* 250, 253-261

- Roberts A, Tunstall MJ (1994):** Longitudinal gradients in the spinal cord of *Xenopus* embryos and their possible role in coordinating swimming. Eur J Morphol 32 (2-4), 176-184
- Roberts BL (1969):** The response of a proprioceptor to the undulatory movements of dogfish. J Exp Biol 51, 775-785
- Romeis B (1989):** Mikroskopische Technik, Urban & Schwarzenberg, 17. Auflage
- Russel IJ (1976):** Amphibian lateral line receptors. In: Llinás R, Precht W (Hrsg.): Frog Neurobiology, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 513-550
- Sachs L (1997):** Angewandte Statistik. 8. Auflage. Springer, Berlin Heidelberg New York
- Sanchez-Camacho C, Martin O, Ten Donkelaar HJ, Gonzalez A (2002):** Descending supraspinal pathways in amphibians: III. Development of descending projections to the spinal cord in *Xenopus laevis* with emphasis on the catecholaminergic inputs. J Comp Neurol 446(1), 11-24
- Sarkar D, Nagaya T, Koga K, Nomura Y, Gruener R, Seo H (2000):** Culture in vector-averaged gravity under clinostat rotation results in apoptosis of osteoblastic ROS 17/2.8 cells. J Bone Miner Res. 15(3), 489-498
- Scrymgeour-Wedderburn JF, Reith CA, Sillar KT (1997):** Voltage oscillations in *Xenopus* spinal cord neurons: developmental onset and development on co-activation of NMDA and 5HT receptors. Eur J. Neurosci (9)7, 1473-1482
- Sebastian C (1994):** Einfluss von Reizentzug und Reizverstärkung auf die frühe Entwicklung des statischen vestibulo-okularen Reflexes von niederen Vertebraten. Dissertation, Fakultät für Bio- und Geowissenschaften, Universität Karlsruhe
- Sebastian C, Horn E (1998):** The minimum duration of microgravity experience during space flight which affects the development of the roll induced vestibuloocular reflex in an amphibian. Neurosci Lett 253, 171-174
- Sebastian C, Horn E, Eßeling K, Neubert J (1995):** Readaptation of the vestibuloocular reflex to 1g-condition in immature lower vertebrates (*Xenopus laevis*) after micro- or hypergravity exposure. Acta Astronautica 36, 487-503
- Sebastian C, Eßeling K, Horn E (1996):** Altered gravitational experience during early periods of life affects the static vestibulo-ocular reflex of tadpoles of the Southern Clawed Toad, *Xenopus laevis* Daudin. Exp Brain Res 112, 213-222

- Sebastian C, Pfau K, Horn E (1998):** An age-dependent sensitivity of the roll-induced vestibuloocular reflex to hypergravity exposure of several days in an amphibian. *Acta Astronautica* 42, 419-430
- Shelton PMJ (1971):** The structure and function of the lateral line system in larval *Xenopus laevis*. *J Exp Zool* 178, 211-232
- Shinmori H, Desaki J, Uehara Y (1988):** Ultrastructural identification of the primitive muscle spindle in the *Xenopus laevis* larvae. *Anat Embryol* 177 (5), 381-387
- Sillar T, Wedderburn JFS, Simmers AJ (1991):** The development of swimming rhythmicity in post-embryonic *Xenopus laevis*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 246, 147-153
- Sillar KT, Simmers AJ, Wedderburn JF (1992a):** The postembryonic development of cell properties and synaptic drive underlying locomotor rhythm generation in *Xenopus* larvae. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 249, 65-70
- Sillar KT, Wedderburn JF, Simmers AJ (1992b):** Modulation of swimming rhythmicity by 5-hydroxytryptamine during post-embryonic development in *Xenopus laevis*. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 250 (1328), 107-114
- Snetkova E, Chelnaya N, Serova L, Saveliev S, Cherdanzova E, Pronych S, Wassersug RJ (1995):** The effects of space flight on *Xenopus laevis* larval development. *J Exp Zool* 273, 21-32
- Sqalli-Houssaini Y, Cazalets JR, Clarac F (1993):** Oscillatory properties of the central pattern generator for locomotion in neonatal rats. *J Neurophysiol* 70 (2), 803-813
- Stehower DJ (1987):** Compensatory eye movements produced during fictive swimming of a deafferented, reduced preparation in vitro. *Brain Res* 410, 264-268
- Stehouwer DJ, Farel PB (1980):** Central and peripheral controls of swimming in anuran larvae. *Brain Res* 195, 323-335
- Stehouwer DJ, Farel PB (1981):** Sensory interactions with a central motor program in anuran larvae. *Brain Res* 218, 131-140
- ten Donkelaar HJ, de Boer-van Huizen R (1982):** Observations on the development of descending pathways from the brainstem to the spinal cord in the clawed toad *Xenopus laevis*. *Anat Embryol* 163, 461-473
- Todd P (1989):** Gravity-dependent phenomena at the scale of the single cell. *ASGSB Bull* 2, 95-113

- Tschopp A, Cogoli A (1983):** Hypergravity promotes cell proliferation. *Experientia* 39/12, 1323-1329
- van der Linden JA, ten Donkelaar HJ (1987):** Observations on the development of cerebellar afferents in *Xenopus laevis*. *Anat Embryol* 176 (4), 431-439
- van der Linden JA, ten Donkelaar HJ (1990):** Morphological evidence for a monosynaptic connection between cerebellar Purkinje cells and vestibulospinal tract neurons in the larval clawed toad, *Xenopus laevis*. *Neurosci Lett* 112 (2-3), 121-126
- van der Linden JA, ten Donkelaar HJ, de Boer-van Huizen R (1988):** Development of spinocerebellar afferents in the clawed toad, *Xenopus laevis*. *J Comp Neurol* 277 (1), 41-52
- van der Loos H, Woolsey TA (1973):** Somatosensory cortex: Structural alterations following early injury to sense organs. *Science* 179, 395-398
- van Mier P (1988):** Reticulospinal neurons, locomotor control and the development of tailswimming in *Xenopus*. *Acta Biol Hung* 39 (2-3), 161-177
- van Mier P, Armstrong J, Roberts A (1989):** Development of early swimming in *Xenopus laevis* embryos: Myotomal musculatur, its innervation and activation. *Neurosci* 32 (1), 113-126
- von Seckendorff Hoff K, Wassersug RJ (1986):** The kinematics of swimming in larvae of the clawed frog, *Xenopus laevis*. *J Exp Biol* 122, 1-12
- Voet D, Voet JG (1992):** Biochemie, VCH Weinheim, 1. Auflage, S.1188
- Wendler G (1978):** Lokomotion: Das Ergebnis zentral-peripherer Interaktion. *Verh Dtsch Zool Ges, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart*, 80-96
- Wall TJ (1988):** Variable organization in cortical maps of the skin as an indication of the lifelong adaptive capacities of circuits in the mammalian brain. *TINS* 11, 549-557
- Walton KD (1998):** Postnatal development under conditions of simulated weightlessness and space flight. *Brain Res Rev* 28, 25-31
- Walton KD, Liebermann D, Llinás A, Begin M, Llinás RR (1992):** Identification of a critical period for motor development in neonatal rats. *Neurosci* 51, 763-767
- Wassersug RJ, Souza KA (1990):** The bronchial diverticula of *Xenopus* larvae. *Naturwissenschaft* 77, 443-445
- Wassersug RJ, Pronych S, Souza KA (1991):** Studying the effects of microgravity on lower vertebrate development and behavior: A progress report. *Proceedings: Spacebound '91, ESA SB 91-001*, 146-150

-
- Wiesel TN (1982):** Postnatal development of the visual cortex and the influence of environment. *Nature* 299, 583-591
- Wiesel TN, Hubel DH (1963):** Effects of visual deprivation on morphology and physiology of cells in the cats lateral geniculate body. *J Neurophysiol* 26, 979-993
- Woolston AM, Wedderburn JFS, Sillar KT (1994):** Descending serotonergic spinal projections and modulation of locomotor rhythmicity in *Rana temporaria* embryos. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 255, 73-79
- Zhang LI, Tao HW, Holt CE, Harris WA, Poo M (1998):** A critical window for cooperation and competition among developing retinotectal synapses. *Nature* 359, 37-44

7 Anhang

7.1 Abkürzungen

CTA	Container du Transport Aller
CTR	Container du Transport Retour
DAT	Digital Audio Tape
DD	Dauerdunkel
E	Excitatorisches Interneuron
GABA	γ -Aminobuttersäure
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
HRP	Horse Radish Peroxidase
5HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
I	Inhibitorisches Interneuron
ISS	International Space Station
M	Motoneuron
NA	Noradrenalin
RPM	Random Positioning Machine
rVOR	rollungsinduzierter, statischer VOR
VOR	Vestibulookularer Reflex
ZNS	Zentrales Nervensystem

7.2 Geräte

Zentrifuge (Mikro Rapid, Hettich, Tuttlingen)

Miniaquarien (Dornier, heute Astrium GMBH)

Biorack Type 1 Container (Dornier, heute Astrium GMBH)

CTA/CTR Inkubator (COMAT)

Videorecorder (U-matic SP VCR VO-9600 P, Sony)

Videomonitor (HF 1400 Color, Mitsubishi)

Framecodegenerator (FCG 700 Sony)

CCD-Kameras (VS 450, Stemmer, München)

Kamerasteuerung (Camera Controller, Stemmer, München)

Video Screensplitter (VM-11E, Hama Kramer, Israel)

Motorsteuerung (Servotex, Grasellenbach)

Funktionsgenerator (Toellner)

Rechner Datenaufzeichnung VOR (368, Stemmer München)

Elektroden-Puller (Model 700 D, David Kopf Instruments, Tujunga CA, USA)
Haltevorrichtung für Elektroden mit Ansaugvorrichtung (Eigenbau)
Mikromanipulatoren (Leica 11 6631)
Mikroskop (Zeiss Axiophot)
Binokular (Wild, Heerbrugg, Schweiz)
A/D-Wandler (CED 1401 plus, Cambridge Electronics, GB)
Oszilloskop (Tektroniks 5111 A)
DAT-Recorder (Sony PC 204 Ax)
Beleuchtung (OLYMPUS Europe Highlight 3000)
Rechner (Pentium 90 PC, 80 MB RAM, 8GB)
Drucker (Epson Stylus Color 850)

7.3 Verbrauchsmaterial

DAT-Bänder (Sony)
Elektroden Glas (GB 100F-10, AD 1 mm, ID 0,8 mm, Science Products, Hofheim)
Aktivkohle (Fluka)
Vaseline (Aldrich)
Bienenwachs (Wasserfuhr)
petriPERM-Schälchen (In Vitro Systems & Services, Osterode)
bioFOLIE 25 (In Vitro Systems & Services, Osterode)
Insektennadeln (Meier, München)
Videobänder (U-matic KSP 60, Sony)
Evian (Mineralwasser, Frankreich)
Sylgard/Elastosil (Wacker)

7.4 Chemikalien

HCG (Sigma)
MS 222 (Sigma)
 α -Bungarotoxin (Sigma)

7.4.1 Silberfärbung modifiziert nach Brown und Cajal

Für die Silberfärbung wurden zwei Methoden vereinigt (Brown 1946, Romeis 1989).

1. Fixierung: 50ml 70% Ethanol + 2 Tropfen NH_3 konzentriert, 17 Stunden
2. Fixierung: 100ml 90% Ethanol + 3 Tropfen NH_3 konzentriert, 8 Stunden

Imprägnieren:	1-1,5% AgNO ₃ -Lösung für 7 Tage bei 30-35 °C, im Dunklen
Spülen:	1 Minute in Aqua dest.
Reduzieren:	95ml Aqua dest. mit 1-2% Hydrochinon + 5ml neutrales Formol für 24 Stunden
Spülen:	% Minuten Aqua dest.
Dehydrieren:	Ethanol 50%, 70%, 95%, 2x100%, Aufbewahrung in Methylsalicylat

Ethanol absolut (Merck), AgNO₃ (Sigma), Hydrochinon (Fluka), Formol (Merck), Methylsalicylat (Fluka), NH₃ (Fluka)

7.4.2 Ringer

(Scrymgeour-Wedderburn et al. 1997), pH 7,4

115 mMol/l	NaCl (Sigma)
2,5 mMol/l	KCl (Sigma)
4 mMol/l	CaCl ₂ (Sigma)
1 mMol/l	MgCl ₂ (Sigma)
2,4 mMol/l	NaHCO ₃ (Sigma)
10 mMol/l	HEPES (Sigma)

7.4.3 Kulturmedium für *Euglena*

Euglena spirogyra, *Euglena gracilis*, *Euglena viridis* (SCHUBZ Lüneburg)

1 g/l	Meat Extract (Fluka)
2 g/l	Yeast Extract (Fluka)
2 g/l	Bacto Trypton (Fluka)
0,69 g/l	NaOAc wasserfrei (Fluka)
0,01 g/l	Ca ₂ Cl x 2 H ₂ O (Fluka)

7.5 Software

Windows 95 und 2000 (Microsoft)

Excel 97 und 2000 (Microsoft)

Word 97 und 2000 (Microsoft)

Spike 2 (Cambridge Electronic Design)

Optimas (Bioscan)

Photoshop (Adobe)

Corel Draw 8 (Corel)

7.5.1 Auswertprogramm für Spike 2

'THIS SCRIPT IS ABLE TO EXTRACT EVENT DATA FROM A WAVEFORM CHANNEL AND TO FORM BURSTS WITH ACCUMULATED EVENTS.

'START AND END TIME OF THE REVISED BURSTS CAN BE TRANSFORMED INTO A TEXT FILE.

'THIS SCRIPT WAS CREATED TO ANALYSE VENTRAL ROOT RECORDINGS FROM TADPOLES.

'BE CAREFUL WITH VERTICAL CURSORS: IT IS IMPOSSIBLE TO CHANGE THE SELECTED TIME

'INTERVALL DURING THE ANALYSIS PROCEDURE, EVEN THOUGH THE CURSORS CAN BE DRAGGED.

```
var sTime;var eTime;                                     'variables for running the script
```

```
var v8%;var maxT;
```

```
var firstT;var ok%;
```

```
var title$;var minI;
```

```
var minD;var mChan%;
```

```
var nChan%;var sel%;
```

```
var raw%;var titleraw$;
```

```
var revised%;var titlerevised$;
```

```
var leni%;var elvis%;
```

```
var gustav%;var wave%;
```

```
var evnt%;var salvador%;
```

```
var herrmann%;var klarabella%;
```

```
var esperanza%;var carl%;
```

```
var ella%;var titleevnt$;
```

```
var setcutoff1;var setcutoff2;
```

```
var mem%;var murx%;
```

```
var mem101%;var mem102%;
```

```
var time:=-1;var last:=-1;
```

```
var exp%;var hiCurs%;
```

```
var loCurs%;
```

```
View(App(3)).WindowVisible(0);
```

'hide script window

```
v8%:=FileOpen("",0,3);
```

'open file and optimise view

```
if v8%>0 then
```

```
WindowVisible(3);
```

```
ToolbarVisible(1);
```

```
WindowTitle$("Recording$");
```

```
XRange(0, MaxTime());
```

```
Optimise(-1);
```

```
Cursorset(2);
```

```
Interact ("Select analysis area",1023);
```

'place vertical cursors to define analysis area

```
CursorRenumber();
```

```
sTime:=Cursor(1);
```

```
eTime:=Cursor(2);
```

```
ToolbarSet(1,"Quit",Quit%);
```

```
ToolbarSet(2,"Make bursts",MakeBursts%);
```

'create toolbar and inactivate not us efual buttons

```
ToolbarSet(3,"Choose channel",ChannelSelect%);
```

```
ToolbarSet(4,"Get Events",GetEvents%);
```

```

Toolbarset(5,"Write to text file",WriteDown%);
Toolbarenable(1,1);
Toolbarenable(2,0);
Toolbarenable(3,0);
Toolbarenable(4,1);
Toolbarenable(5,0);
Toolbar("",1023);
endif;
halt;

```

```

func Quit%()                                'leave the script
return 0;
end;

func WriteDown%()                            'save start and end time of revised bursts as a text file
var v5%;
var v7%;
v5%:=ViewFind("Recording$");
WindowVisible(3);
salvador%:=Query("Really write down?");
docase
case salvador%=1 then
DlgCreate("Write down");
DlgChan(1,"Choose export channel",4);        'select channel for export
ok%:=DlgShow(exp%);
if ok%=1 then
ExportChanFormat(4,1,1);                    'export data
ExportChanList(sTime,eTime,exp%);
ella%:=FileSaveAs("",1);
if ella%=0 then
carl%:=FileOpen("",1);
if carl%>0 then
WindowTitle$("Text file$");
v7%:=ViewFind("Text file$");                'arrange original and text result window
v5%:=ViewFind("Recording$");
FrontView(v7%);
Window(77.371,-1.67015,99.3344,99.1649);
FrontView(v5%);
Window(0.166389,-1.25261,77.5374,99.1649);
Toolbarenable(1,1);                          'inactivate not useful buttons of the toolbar
Toolbarenable(2,0);
Toolbarenable(3,1);
Toolbarenable(4,1);
Toolbarenable(5,1);
else ThinkOver%();
endif;
else ThinkOver%();
endif;
else ThinkOver%();
endif;
case salvador%=0 then ThinkOver%();

```

```

endcase;
return 1;
end;

func ThinkOver%()
Toolbarenable(1,1);           'inactivate not useful buttons of the toolbar
Toolbarenable(2,0);
Toolbarenable(3,1);
Toolbarenable(4,1);
Toolbarenable(5,1);
return;
end;

func PosCurs%()               'makes sure that high cursor is above low cursor
if HCursor(hiCurs%)<HCursor(loCurs%) then
murx%:=hiCurs%;
hiCurs%:=loCurs%;
loCurs%:=murx%
endif;
end;

func GetEvents%()            'extract events from a waveform channel
var v5%;
v5%:=ViewFind("Recording$");
WindowVisible(3);
klarabella%:=Query("Do you really want events?");
docase
case klarabella%=1 then
DlgCreate("Channel selection");           'Choose channel to write events down
DlgChan(1,"Choose waveform channel",1);
DlgChan(2,"Write events to channel",128+2+4);
DlgString(3,"Title of result channel for e vents",127);
ok%:=DlgShow(wave%,evnt%,titleevnt$);
if ok%=1 then
ChanHide(-1);
ChanShow(wave%);
XRange(sTime,eTime);
hiCurs%:=HCursorNew(wave%,0.05);        'set horizontal cursor for upper level
loCurs%:=HCursorNew(wave%,-0.05);      'set horizontal cursor for lower level
Interact("Place horizontal cursor at cut-off level",1023);
PosCurs%();
setcutoff1:=HCursor(hiCurs%);
setcutoff2:=HCursor(loCurs%);
mem101%:=MemChan(2);
MemImport(mem101%,wave%,sTime,eTime,2,0,setCutOff1);           'save upward events
mem102%:=MemChan(2);
MemImport(mem102%,wave%,sTime,eTime,3,0,setCutOff2);           'save downward events
MemSave(mem102%,30,2,0);
mem% := mem101%;
time := NextTime(30,sTime-0.1);       'merge upward and downward events on one result channel
while (time > 0) do
MemSetItem(mem%, 0, time);

```

```

    time := NextTime(30, time);
    wend;
MemSave(mem101%,evnt%,2,0);
ChanTitle$(evnt%,titleevnt$);
HCursorDelete(1);
HCursorDelete(2);
DrawMode(evnt%,2);
DrawMode(mem101%,2);
DrawMode(mem102%,2);
ChanDelete(30);
Chanshow(-1);
Interact("Check Event Quality",127);           'check event quality
esperanza%:=Query("Delete Memory Buffers?");
    if esperanza%=1 then
        ChanDelete(mem101%);
        ChanDelete(mem102%);
    endif;
XRange(sTime,eTime);
Toolbarenable(1,1);                           'inactivate not useful buttons of the toolbar
Toolbarenable(2,0);
Toolbarenable(3,1);
Toolbarenable(4,1);
Toolbarenable(5,0);
else ThinkOver%();
endif;
case klarabella%=0 then
ThinkOver%();
endcase;
return 1;
end;

func ChannelSelect%()                          'Choose origin and result channels to create bursts
var v5%;
v5%:=ViewFind("Recording$");
WindowVisible(3);
herrmann%:=Query("Really select a Channel?");
docase
case herrmann%=1 then
DlgCreate("Channel selection");
DlgChan(1,"Choose channel",2);
DlgChan(2,"Write raw bursts to channel",128+2+4);
DlgString(3,"Title of result channel for raw bursts",127);
DlgChan(4,"Write revised bursts to channel",128+2+4);
DlgString(5,"Title of result channel for revised bursts",127);
ok%:=DlgShow(sel%,raw%,titleraw$,revised%,titlerevised$);
if ok%=1 then
Toolbarenable(1,1);                           'inactivate not useful buttons of the toolbar
Toolbarenable(2,1);
Toolbarenable(3,1);
Toolbarenable(4,0);
Toolbarenable(5,0);
else ThinkOver%();

```

```

endif;
case herrmann%=0 then ThinkOver%;
endcase
return 1;
end;

func MakeBursts%()                                     'make raw bursts
gustav%:=Query("Do you really want to make bursts?");
docase
case gustav%=1 then
DlgCreate("Burst Forming");                             'select parameters for burst forming
DlgReal(1,"Max. time between error events",0.005,0.1);
DlgReal(2,"Max. time between burst events",0.001,0.1);
ok%:=DlgShow(maxT,firstT);
if ok%=1 then
MemChan(3);
Burstmake(101,sel%,sTime,eTime,maxT,firstT,2);
MemSave(101,raw%,4,0);
ChanTitle$(raw%,titleraw$);
ChanDelete(101,0);
Chanshow(-1);
Interact("Check Burst Quality",1023);                   'check burst quality
Toolbarenable(1,1);                                     'inactivate not useful buttons of the toolbar
Toolbarenable(2,1);
Toolbarenable(3,1);
Toolbarenable(4,0);
Toolbarenable(5,0);
else ThinkOver%;
endif;
leni%:=query("Revise bursts?");
if leni%=1 then ReviseBursts();
endif;
endcase;
return 1;
end;

proc ReviseBursts()                                     'start burst revise
repeat
DlgCreate("Enter Parameters for Burst Revise");         'select parameters for burst
revise
DlgReal(1,"Minimum intervall between bursts",0.002,0.1);
DlgReal(2,"Minimum duration of bursts",0.0001,0.02);
ok%:=DlgShow(minI,minD);
if ok%=0 then MakeBursts%();
endif;
mChan%:=MemChan(4);
BurstMake(mChan%,sel%,sTime,eTime,maxT,firstT,2);
BurstRevise(mChan%,mChan%,sTime,eTime,minI,minD);
MemSave(mChan%,revised%,4,0);
ChanTitle$(revised%,titlerevised$);
ChanDelete(101,0);
Chanshow(-1);

```

```
Interact("Check Burst Quality",1023);                                'check burst quality
elvis%:=query("Revise again?");
until elvis%=0;
Toolbarenable(1,1);                                                'inactivate not useful buttons of the toolbar
Toolbarenable(2,0);
Toolbarenable(3,1);
Toolbarenable(4,1);
Toolbarenable(5,1);
return;
end;
```

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe, alle verwendeten Hilfsmittel angegeben habe und die Zitate gekennzeichnet habe.

Ulm, Dezember 2002

Danksagung

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit möchte ich folgenden Personen danken:

Herrn Professor Dr. Eberhard Horn für die ausgezeichnete Betreuung, die anregenden Diskussionen, die guten Arbeitsbedingungen in angenehmer Atmosphäre und die Persönlichkeitsformung,

Herrn Professor Dr. Alan Roberts und seinem Laborteam von der Universität Bristol für die Möglichkeit, die Ableitungen an den ventralen Wurzeln zu erlernen, für die Hintergrundinformationen und für die vielen, schönen Pflanzenableger,

Herrn Professor Dr. Norbert Rieder in seiner Funktion als Betreuer an der Universität Karlsruhe,

Herrn Dr. Michel Viso und Herrn Didier Chaput von der französischen Weltraumbehörde CNES für die Betreuung des Weltraumprojekts und die interessante Zeit in Russland und Frankreich,

Frau Dr. Bärbel Herrnberger vom Uniklinikum Ulm für die schnelle und kompakte Erläuterung des Grundwissens in Computerprogrammierung,

Den früheren und den neuen Mitarbeitern in der Forschungsgruppe Gravitationsphysiologie für die Zusammenarbeit und das gute Betriebsklima,

Der Abteilung Neurobiologie der Universität Ulm für die vielen, kleinen Hilfestellungen,

Dem Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt für die Finanzierung des Projekts,

Meiner Familie und meinen Freunden in Karlsruhe und Ulm für die Geduld und den sozialen Beistand.

Lebenslauf

Personalien

geboren am 9. Februar 1968 in Essen
wohnhaf in Ulm

Eltern

Gretel Böser, geb. Ulrich, Einzelhandelskauffrau und
Hausfrau
Otmar Böser, Maschinenbau Dipl.-Ing.

Schulbildung

09/1974-07/1978

Grundschule Bartholomäusschule in Marl

08/1978-11/1981

Geschwister-Scholl-Gymnasium in Marl

11/1981-07/1986

Fichte-Gymnasium in Karlsruhe

08/1986-05/1988

Max-Planck-Gymnasium in Karlsruhe, Abschluss
Abitur

Beruflicher Werdegang

06/1988-08/1989

diverse Tätigkeiten und USA-Aufenthalt

09/1989-03/1992

Studium der Malerei an der Staatlichen Akademie
der Bildenden Künste in Karlsruhe

04/1992-09/1992

Studium der Chemie an der Universität Karlsruhe

10/1992-04/1998

Studium der Biologie an der Universität Karlsruhe

05/1998-05/1999

Diplomarbeit am Uniklinikum Ulm, Abteilung
Neurologie

06/1999-12/1999

Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin an der
Universität Ulm, Abteilung Neurobiologie

seit 01/2000

Wissenschaftliche Angestellte in der Abteilung
Neurobiologie an der Universität Ulm und
Durchführung von Experimenten zur Dissertation
unter Leitung von Professor Dr. E. Horn