

Der Einfluss der Epiphyse auf die Lokomotionsaktivität bei Ratten¹

Pineal influence on locomotion in rats

Ch. Krapp²

Anatomisches Institut der Universität, Saarstr. 19, D-65 Mainz (Bundesrepublik Deutschland, BRD),
18. November 1976

Summary. After pinealectomy adult hypoactive rats show an increased exploratory behavior, whereas adult hyperactive rats show no significant behavioral change. These data are discussed in relation to brain serotonin content.

In die Diskussion über die Beeinflussung tierischen Verhaltens durch im Gehirn ablaufende neurochemische Prozesse muss die Epiphyse mit einbezogen werden, da gerade sie einen hohen Gehalt an biogenen Aminen aufweist³. Vergleicht man das Verhalten unbehandelter und pinealektomierter Ratten in ihrer gewohnten Umgebung, so lässt sich kein Unterschied feststellen. In fremder Umgebung zeigen jedoch schon unbehandelte Ratten abweichende Verhaltensweisen: man kann emotive von nicht-emotiven Tieren unterscheiden⁴⁻⁶. Die Emotivität wird durch das Erkundungsverhalten, die Häufigkeit von Urinieren und Defäkation innerhalb einer gewissen Zeitspanne in einer für das Versuchstier fremden Umgebung bestimmt. Hierzu dient der Open-Field Test⁷. Die motorische Aktivität ist der Parameter für das Erkundungsverhalten und ist eine der 3 Komponenten, die die Emotivität ausmachen. Lebhaftes Erkundungsinteresse, mehrmaliges Absetzen von Kotballen und Urinieren im Open-Field ist für die Mehrzahl der Ratten charakteristisch und wird als nicht-emotives Verhalten bezeichnet. Gehemmtes Erkundungsinteresse, Laufunlust im Open-Field, fehlende oder übertrieben starke Defäkation sind charakteristisch für emotives Verhalten. Die biochemischen Grundlagen für die Emotivität der Ratten sind nicht völlig klar. Bekannt ist jedoch, dass die Gehirne emotiver und nicht-emotiver Ratten unterschiedliche Indol- und Catecholamingehalte aufweisen. Da diese bioaktiven Amine gerade in der Epiphyse reichlich vorhanden sind, soll untersucht werden, ob bei adulten Ratten eine oder mehrere Teilkomponenten der Emotivität durch Ausschaltung der epiphysären Indol- und Catecholamine mittels Pinealektomie beeinflusst werden können. Um auch die Reaktion nicht-emotiver Tiere auf Pinealektomie beobachten zu können, wurde ein psychogenetisch nicht selektierter Stamm verwendet. Da die Werte in der Tabelle für Defäkation und Urinieren bei den beiden Gruppen von Kontrolltieren keine signifikanten Unterschiede zeigen, werden im folgenden die emotiven als hypoaktive, die nicht-emotiven als hyperaktive Tiere bezeichnet.

Material und Methodik. Adulte männliche und weibliche Wistar-Ratten, Körpermittel 200–300 g, wurden in 2

Gruppen, jedoch jede Ratte einzeln, im Open-Field geprüft. Die Anlage besteht aus einem runden, innen weiss beschichteten Metallzylinder von 1 m Durchmesser. Die Beleuchtung erfolgt von oben her mit einer 160 W-Lampe. Der Boden des Gefäßes ist in 75 Quadranten eingeteilt. Die Testzeit betrug pro Tier je Tag 3 Minuten. Die Testzeiten wurden strikt eingehalten, um dem 24-Stunden-Rhythmus der Epiphyse Rechnung zu tragen. Gruppe 1 (Testzeit Montag, Dienstag, Mittwoch, 09.00–10.00 h) bestand aus 17 hypoaktiven und 21 hyperaktiven Tieren. Gruppe 2 (Testzeit Donnerstag, Freitag, Samstag, 09.00–10.00 h) bestand aus 9 hypoaktiven und 17 hyperaktiven Tieren. Hypoaktive Wistar-Ratten durchliefen weniger als 10 Quadranten, hyperaktive mehr als 10. Von den hypo- und den hyperaktiven Ratten wurden je 9 pinealektomiert, je 8 scheinoperiert, je 8 blieben als Kontrolltiere unbehobelt. 1, 2 und 3 Wochen nach Pinealektomie und Scheinoperation wurden alle Tiere zu ihren jeweiligen Testzeiten im Open-Field getestet.

Resultate und Diskussion. Die Tests 2 und 3 Wochen nach Operation erbrachten das übereinstimmende Ergebnis, dass alle ursprünglich hypoaktiven Tiere nur nach Pinealektomie ein erhöhtes Erkundungsinteresse zeigten (Tabelle). Die motorische Aktivität ist doppelt so hoch. Die Häufigkeit von Defäkation und Urinieren hatte sich dagegen nicht geändert. Das Verhalten von pinealektomierten hyperaktiven, von scheinoperierten und von

- 1 Durchgeführt im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogrammes Neuroendokrinologie (Vo 135/4).
- 2 Frau Dr D. Freund, Mainz, danke ich für die Erlaubnis zur Benutzung der Open-Field Anlage, Frau H. Untiedt für technische Hilfe bei der Pinealektomie.
- 3 P. H. Sampson, in: Frontiers of Pineal Physiology. P. The Massachusetts Institute of Technology. Ed. M. D. Altschule. London 1975.
- 4 C. S. Hall, J. comp. Psych. Baltimore 18, 385 (1934).
- 5 J. Denimal, F. Bernet and M. Colache, C. r. soc. Biol. 163, 1570 (1970).
- 6 J. Denimal, C. r. soc. Biol. 164, 2538 (1970).
- 7 D. K. Candland and Z. M. Nagy, Ann. N. Y. Acad. Sci. 159, 831 (1969).

Einfluss der Pinealektomie auf das Verhalten hypoaktiver und hyperaktiver Ratten im Open-Field

| | | Motor. Aktivität* | Defäkation** | Urinieren** |
|--------------------|-------------------------|-------------------|---------------|-------------|
| Hypoaktive Ratten | Kontrolltiere (8) | 3.8 ± 0.67 | 2.9 ± 1.5 | 1.0 ± 0 |
| | Scheinpinealektomie (8) | 3.5 ± 1.76 NS | 3.1 ± 1.1 NS | 1.0 ± 0 NS |
| | Pinealektomie (9) | 8.4 ± 0.83 0.05 | 3.1 ± 0.98 NS | 1.0 ± 0 NS |
| Hyperaktive Ratten | Kontrolltiere (8) | 12.7 ± 3.59 | 4.3 ± 1.4 | 1.0 ± 0 |
| | Scheinpinealektomie (8) | 10.2 ± 1.55 NS | 4.7 ± 0.9 NS | 1.0 ± 0 NS |
| | Pinealektomie (9) | 11.3 ± 2.11 NS | 3.9 ± 1.1 NS | 1.0 ± 0 NS |

Anzahl der Tiere; Mittelwerte ± SD, Student's t-Test; NS, nicht signifikant; * Anzahl durchlaufener Quadrate im Open-Field;
** Häufigkeit/3 min.

Kontrolltieren änderte sich nicht. Der Test 1 Woche nach Operation ergab, dass alle operierten Tiere hypoaktiv waren. Dieser Befund wird auf die noch unvollständige Verheilung der Operationswunde zurückgeführt. Die Ergebnisse des Open-Field-Tests sind unabhängig von den Testtagen.

Nach der hier vorliegenden Untersuchung ändert sich bei adulten Wistar-Ratten nach Pinealektomie nur das Erkundungsinteresse ursprünglich hypoaktiver Tiere. Somit wird hier nur eine der 3 Komponenten, die die Emotivität ausmachen, durch die Pinealektomie beeinflusst. Das Erkundungsinteresse (motorische Aktivität) wird erhöht. Ähnliche Befunde erhoben Reiss⁸ und Sampson und Bigelow⁹ an in der Jugend pinealektomierten Ratten, wobei diese Ratten nach Pinealektomie alle ein höheres Erkundungsinteresse zeigten als scheinoperierte und Kontrolltiere. Hierbei ist zu beachten, dass die Testsituation (Grösse und Konstruktion des Open-Field, Beleuchtung, Umfeld) Einfluss auf das Testergebnis haben. Ausserdem reagiert jede Ratten-Species anders auf die Testsituation. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass Verhaltensforscher als Ursache für späteres emotives oder nicht-emotives Verhalten fehlende oder stark ausgeprägte stimulierende Einflüsse in den ersten 3 Lebenswochen der Ratte sehen^{10, 11}. Die Emotivität der Ratte ist im Open-Field nicht mit absoluter Sicherheit zu bestimmen, da auch Gewöhnungseffekte eine grosse Rolle spielen^{7, 12}. Biochemisch hängt die Emotivität der Ratte vom Gehalt des Gehirns an Indol- und Catecholaminen ab¹³⁻¹⁵. Vom Indolamin Serotonin, das in den Pinealzellen eine sehr hohe Konzentration besitzt^{16, 17}, ist bekannt, dass es über das Zentralnervensystem die motorische Aktivität der Ratte beeinflusst und einen sedierenden Effekt ausübt^{8, 18}. Das erhöhte Erkundungsinteresse pinealektomierter hypoaktiver Ratten lässt sich durch den verminderten Serotoningehalt des Gehirns und den Wegfall der sedierenden Wirkung erklären. Das nach Pinealektomie unveränderte Erkundungsinteresse hyper-

aktiver Ratten könnte an einem vor der Operation niedrigeren Serotoningehalt in den Epiphysen dieser Tiere liegen. Diese Vermutung wird gestützt durch die Beobachtung von Reiss⁸, der bei motorisch sehr aktiven Ratten eine niedrigere Pinealzelldichte fand, was an einen niedrigeren Serotoningehalt in der Epiphyse denken lässt. Da sich die Häufigkeit von Urinieren und Defäkation nach Pinealektomie nicht ändert, darf vermutet werden, dass diese Komponenten der Emotivität, zumindest bei der Wistar-Ratte, nicht von der Epiphyse gesteuert werden. Um näheren Aufschluss über die Tätigkeit der Catecholamine im Komplex «Emotivität» bei der psychogenetisch nicht selektierten Ratte zu erhalten, wäre es interessant, die Konzentration im Gehirn vor und nach Pinealektomie zu bestimmen. Nach dem jetzigen Stand der Kenntnis scheint die Epiphyse nur eine Teilkomponente der Emotivität, nämlich die Lokomotionsaktivität zu beeinflussen.

- 8 M. Reiss, M. B. Sideman and E. S. Plichta, *J. Endocr.* 37, 475 (1967).
- 9 P. H. Sampson and L. Bigelow: *Physiol. Behav.* 7, 713 (1971).
- 10 M. S. Halliday, *Symp. zool. Soc. London* 18, 45 (1966).
- 11 Z. Tobach and T. C. Schneirla, in: *Roots of Behavior*. Ed. E. L. Bliss, Harper, New York 1962.
- 12 S. A. Barnett, *The Rat. A Study in Behavior*. XIV. Ed. S. A. Barnett Rev. Univ. of Chicago Press, 1975.
- 13 H. S. Sudak and J. W. Maas, *Science* 146, 418 (1964).
- 14 O. Benesova and V. Benes, *Symp. on Basic Mechanism of Learning and Memory* Marianske Lazne, October 1970, Summ. in *Activ. Nerv. Super. (Praha)* 13, 2. 1971.
- 15 G. D. Ellison and D. E. Bresler, *Psychopharmacologia* (Berl.) 34, 275 (1974).
- 16 R. J. Wurtman, J. Axelrod and D. E. Kelly, *The Pineal*. Academic Press, London and New York 1968.
- 17 R. J. Reiter, M. K. Vaughan, G. M. Vaughan, S. Sorrentino and R. Donofrio, in: *Frontiers of Pineal Physiology*. P. The Massachusetts Institute of Technology. Ed. M. D. Altschule. London 1975.
- 18 A. R. Greene and D. G. Grahame-Smith, *Nature* 262, 594 (1976).

The physical state of alkali ions in a Halobacterium: Some NMR results

H. T. Edzes¹, M. Ginzburg^{2, 3}, B. Z. Ginzburg^{2, 3} and H. J. C. Berendsen

*Laboratory of Physical Chemistry, University of Groningen, Zernikelaan, Groningen (The Netherlands),
23 November 1976*

Summary. Nuclear magnetic relaxation measurements of the ions Na⁺, Rb⁺ and Cs⁺ in a Halobacterium sp. are described. The results support a theoretical model which involves the binding of intracellular alkali ions.

Members of the genus Halobacterium grow in media of high salinity, typically 3.5 M NaCl. They have a very high intracellular ion content of about 4 M K⁺ and 1.5 M Na⁺. Even in a virtually non-metabolizing state the bacteria possess a remarkable ability to retain potassium, indicative of some kind of specific binding of K⁺ ions⁴⁻⁶. It has been postulated that the K⁺ specificity may partly result from preferential hydration of K⁺ over Na⁺ in water of restricted mobility^{7, 8}. Nuclear magnetic resonance (NMR) can give information on the dynamics of the ions. We here present pulsed NMR relaxation measurements⁹ of the ions Na⁺, Rb⁺ and Cs⁺. Rb⁺ and Cs⁺ are used as probes for the K⁺ ions because they can be observed much more easily with NMR than K⁺. The measurements indicate that the fluctuating molecular environment of the ions comprises motions which occur at a rate slower than 10⁸ sec⁻¹. This holds in particular

for the intracellular ions, which substantiates some kind of binding of these ions.

Material and methods. A Halobacterium sp. from the Dead Sea was studied. The growth conditions and the method of ionic analysis are described elsewhere¹⁰. The bacteria were concentrated by centrifugation into pellets of about 1 g. The extracellular space accounts for about 60% of the total pellet volume. A small amount of RbCl or CsCl was added to the growth medium of some samples; at least half of the intracellular K⁺ was thereby replaced by Rb⁺ or Cs⁺. The transverse nuclear magnetic relaxation rate R₂⁹ was measured at room temperature with a home-made pulsed NMR spectrometer system¹¹ at a NMR frequency $\omega_0/2\pi$ of 14 MHz. For ²³Na and ¹³³Cs the customary Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence^{9, 12} was used, whereas R₂ of ³⁷Rb was determined from the rapidly decaying signal after a single pulse. The observed