

Die circadiane Ausscheidung von
Kokzidienoozysten beim Haussperling
(*Passer domesticus*) unter Veränderung
des Melatoninspiegels

Experimentelle Untersuchungen am Modell eines
Wirt-Parasit-Systems

Heidi Brandlmeier



Abbildung 1

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der
Technischen Universität München, Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. H. Wagner, Ph. D. (Melbourne))

Die circadiane Ausscheidung von Kokzidienoozysten beim Haussperling (*Passer domesticus*) unter Veränderung des Melatoninspiegels

Experimentelle Untersuchungen am Modell eines Wirt- Parasit-Systems

Heidi Brandlmeier

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. R. Disko

2. Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. H. Wagner, Ph. D. (Melbourne)

Die Dissertation wurde am 20.04.2006 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 19.07.2006 angenommen.

*Gewidmet Herrn Prof. Dr. Rüdiger Disko
und
Herrn Prof. Dr. Eberhard Gwinner*

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	11
1.1. Überblick	11
1.2. Melatonin	13
1.3. Die circadiane Rhythmik	18
1.3.1. Das circadiane System der Vögel	23
1.3.2. Das circadiane System des Menschen	27
1.4. Kokzidien	29
1.4.1. Definition und Epidemiologie	29
1.4.2. Lebenszyklus	31
1.4.3. Die Kokzidiose und ihre Bedeutung	33
1.5. Fragestellung	35
2. Material und Methoden	37
2.1. Versuchstiere und Haltung	37
2.2. Registrierung	40
2.3. Kokzidienausscheidung	42
2.4. Pinealektomie	45
2.5. Melatoninimplantate	45
2.6. Versuchsdurchführung:	46
2.6.1. Pinealektomierte Spatzen	46
2.6.2. Melatoninimplantierte Spatzen:	48
2.7. Auswertung	52
3. Ergebnisse	56
3.1. Pinealektomierte Spatzen	56
3.1.1. Versuchsabschnitt I: LD 12:12 (10 lux:0,5 lux)	60
3.1.2. Versuchsabschnitt II: Lldim (0,4lux)	61
3.1.3. Versuchsabschnitt III: LD 12:12 (10 lux :0,5 lux)	63
3.1.4. Versuchsabschnitt IV: LD 12:12 (500 lux:0,5lux)	64
3.2. Spatzen mit Melatoninimplantaten	71

3.2.1. Versuch 2: Verlängerung der Lichtperiode.....	71
3.2.2. Versuch 3: Verkürzung der Dunkelperiode.....	87
4. Diskussion	100
4.1. Allgemeines	100
4.2. Pinealektomierte Spatzen	102
4.3. Spatzen mit Melatoninimplantaten.....	109
5. Zusammenfassung.....	114
6. Literaturverzeichnis.....	117
7. Abbildungsverzeichnis	126
8. Tabellenverzeichnis	<i>Fehler! Textmarke nicht definiert.</i>
9. Lebenslauf.....	130
10. Dank	132

Glossar:

Amplitude:	Unterschied zwischen Maximum und Mittelwert, oder Minimum und Mittelwert in einer sinusoidalen Oszillation
Biologischer Rhythmus:	Syn.: endogener/ autonomer/ selbst-erregter Rhythmus/ Oszillator; innere Uhr;
Circa-Rhythmen:	Klassifizierung von Rhythmen, die fähig sind, unter konstanten Bedingungen frei zulaufen, und zwar mit einer Periode von ungefähr der Länge, wie die des Umweltzeitgebers, mit dem sie normalerweise synchronisiert sind. Sie sind durch diese Umweltzeitgeber synchronisierbar. Man unterscheidet circadiane, circatidale, circalunare, circaannuale Rhythmen.
Desynchronisation:	Steady-state, in dem verschiedene Rhythmen mit verschiedenen Perioden laufen. Dabei unterscheidet man den Verlust der Synchronisation zwischen endogenem Rhythmus und Zeitgeber (=externe Desynchronisation) vom Verlust der Synchronisation zwischen zwei Rhythmen innerhalb eines Organismus (= interne Desynchronisation)
Endogener Rhythmus:	Selbst-erhaltender Rhythmus, der innerhalb eines Organismus durch einen „endogenen Oszillator/ eine endogene innere Uhr“ entsteht
Entrainment:	Zustand, in dem ein endogen generierter sich selbst-erhaltender Rhythmus synchron mit einem anderen Rhythmus (z.B. einem externen Zeitgeber) mit einer gleichen Periode und einem temporär gleichen Phasenverhältnis läuft (Syn: Synchronisation)
Exogener Rhythmus:	Rhythmus der durch einen Umweltrhythmus in einem Organismus generiert wird ohne dass eine Innere Uhr existiert
Freilauf:	Periode eines endogenen Oszillators in Abwesenheit eines Zeitgebers

Maskierung:	Syn. „Masking“, „noise“, passiver Effekt. Stimuli die die Aktivität direkt beeinflussen ohne die Phase des circadianen Systems zu synchronisieren oder zu verschieben
Mitnahmebereich:	Syn "range of entrainment“ Bereich der Periodenlängen, in dem ein autonomer Oszillator von einem Zeitgeber synchronisiert werden kann
Oszillator:	Rhythmus generierender Mechanismus, der durch ein Rückkopplungssystem, das Selbsterhaltung garantiert, charakterisiert ist
Periode:	Zeit, nach der eine definierte Phase einer Oszillation erneut auftritt
Phase:	momentaner Status einer Oszillation innerhalb einer Periode, die durch den aktuellen Wert der Variable definiert wird (gleicher Zeitpunkt in einer Oszillation innerhalb einer Periode)
Phasenlage:	Syn.: Phasenbeziehung; Beziehung zweier korrespondierender Phasen von zwei Oszillationen; beschrieben durch den Phasenwinkelunterschied zwischen verschiedenen Rhythmen. Unterschieden werden dabei Phasenvorschub (Phase advance, Antizipation) und Phasenverspätung (Phase Delay). Stabile Phasenlage: Zustand, in dem die Phasenwinkeldifferenz zwischen zwei Rhythmen über mehrere Zyklen den gleichen Betrag aufweist (z. B. bei Synchronisation)
Phasenwechsel:	Syn.: Phaseshift; einmalige Veränderung der Phasenlage eines Rhythmus auf der Zeitachse
Phasenwinkel:	Abszissenwert (= Zeitskala) der mit einem Punkt der Kurve (= Phase einer Oszillation) korrespondiert; er wird in Winkelgeraden, oder wenn die Länge der Periode bekannt ist, in Zeiteinheiten angegeben
Phasenwinkeldifferenz Ψ:	Differenz zwischen zwei korrespondierenden Phasenwinkel in verschiedenen Oszillationen; dabei unterscheidet man: <ul style="list-style-type: none"> - Externe Differenz: zwischen einem biologischen Rhythmus und einem Zeitgeber

- **Interne Differenz:** zwischen verschiedenen biologischen Rhythmen innerhalb eines Organismus

Schrittmacher: funktionelle Einheit eines endogenen Oszillators, die fähig ist, einen Rhythmus selbst zu erhalten und zu synchronisieren

Steady-state: Zustand eines Rhythmus, während welchem alle Parameter nur zufälligen Fluktuationen unterliegen

Transients: temporäre Übergangsstadien (Übergangszyklen) bis zum erneuten Erreichen einer stabilen Phasenlage

Zeitgeber: Zumeist externe Periodizität mit dem Vermögen einen endogen generierten biologischen Rhythmus zu synchronisieren

Abkürzungsverzeichnis:

A	Aktivitätsdauer
Abb.	Abbildung
Abschn.	Abschnitt
arrh./ arryth.	arrhythmisch
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
c	Oozystenausscheidung
ca.	circa
DD	Dauerdunkel
d.h.	das heißt
Ed., Eds.	Editor, Editoren
etc.	et cetera
et al.	und andere
Fr	Fressaktivität
g	Gramm
H	Hüpfaktivität
h	Stunde
Hrsg.	Herausgeber
i.v.	intravenös
LD	Licht/ Dunkel
LD _b (bright)	helles Licht (500 Lux)
LL _d (dim)	Dauerdämmerlicht (0,4 Lux)
lx	lux
o.ä.	oder ähnliches
Ψ	Phasenwinkeldifferenz
s.	siehe
SCN	Nucleus suprachiasmaticus
sog.	sogenannt
Syn.	Synonym
τ	natürliche Periodenlänge eines endogenen Oszillators im „Freilauf“
T	Periodenlänge eines Umweltzeitgebers
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
usw.	und so weiter
Vers.	Versuch
vgl.	vergleiche
v.a.	vor allem
Wdh.	Wiederholung
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

1. Einleitung

1.1.Überblick

Bereits vor mehr als 200 Jahren hat der Arzt Christoph Wilhelm Hufeland geschrieben: „*Die 24-stündige Periode, welche durch die regelmäßige Umdrehung unseres Erdkörpers auch allen seinen Bewohnern mitgeteilt wird, zeichnet sich besonders in der physischen Oeconomie des Menschen aus. In allen Krankheiten äussert sich diese regelmäßige Periode und alle anderen so wunderbar pünktlichen Termine in unserer physischen Geschichte werden im Grunde durch diese einzelne 24-stündige Periode bestimmt*“ (Hufeland 1797). Dieses Zitat besitzt auch gegenwärtig noch weitgehend seine Gültigkeit. So weiß man heute, dass alle Lebewesen vom Einzeller bis zum Menschen und alle Organisationsebenen vom subzellulären Niveau bis zu Organsystemen rhythmischen Phänomenen unterliegen. Diese können je nach Länge der Periode klassifiziert werden. Es existieren neben circannualen (jährlichen) oder lunaren (28 Tage) auch semi-lunare (13-14 Tage) und tagesperiodische Rhythmen. Letztere werden auch circadiane Rhythmen genannt, da es in Isolationsexperimenten mit Menschen, d.h. unter Ausschluss jeglicher zeitlicher Information wie Tageslicht, Geräuschen oder sozialen Kontakten zu einer individuell unterschiedlichen Verlängerung der Periodendauer auf etwa 25 Stunden der Teilnehmer gekommen war [Siffre, M et al., 1966, S. 915].

Verantwortlich hierfür ist eine Innere Uhr, die sich über Millionen von Jahren in allen Lebewesen bemerkenswert exakt entwickelt hat und die nun in ihrem eigenen Rhythmus eine Vielzahl von biologischen Vorgängen in Organismen reguliert. Äußere Lebensbedingungen, wie z.B. der Wechsel von Licht und Dunkel, oder die sich mit den Jahreszeiten verändernde Tageslänge und Außentemperatur, synchronisieren dabei den inneren Takt mit dem äußeren 24-Stunden-Tag. Beeinflusst durch diese Umweltfaktoren entstehen so Biorhythmen, die es allen lebenden Organismen erlauben, sich leichter an wechselnde Umweltbedingungen, sowie an die wechselnden Jahreszeiten anzupassen und damit besser zu überleben.

Einen wichtigen Bestandteil dieser Inneren Uhr stellt das Hormon Melatonin dar. Dieses wird beim Menschen v.a. in der Epiphyse gebildet. Die Bildung von Melatonin wird durch auf der Netzhaut empfangene Lichtreize gehemmt, so dass die Melatoninsynthese einem typischen Tag-Nacht-Rhythmus mit einem ausgeprägten Nachtgipfel unterliegt. Als ein primäres Signal des circadianen Rhythmus reguliert und beeinflusst es zahlreiche physiologische Funktionen wie z.B. den Schlaf-Wach-Rhythmus, die Körpertemperatur und das Reproduktionsverhalten bei Mensch und Tier. Daraus ergibt sich auch seine Verwendung als exogen zugeführtes Hormon. So wird es bei Störungen der Zeitstruktur, sei es durch Schichtarbeit oder auch bei den durch Zeitverschiebungen bei Fernreisen entstandenen „jet lag“ eingesetzt [Haimov, I. et al., 1999, S. 229]. Auch bei schweren Schlafstörungen und Winterdepressionen kommt es zum Einsatz. Des weiteren soll es als Radikalfänger der Zellalterung entgegenwirken und die Immunantwort stärken [Defrance, R. et al., 1998, S. 142]. In

einigen Ländern der Welt (z.B. USA) kann es sogar als „nutritional supplement“ käuflich erworben werden [DeFrance, R. et al., 1998, S. 142].

Neben all diesen Einflüssen auf den Organismus der Vertebraten synchronisiert es auch die Rhythmen anderer Lebewesen. So wurde bei *Plasmodium chabaudi* nachgewiesen, dass Melatonin ein verantwortliches Molekül für die Synchronizität der Plasmodienentwicklung, dem parasitären Erreger der Malariaerkrankung, darstellt. Es soll eine Kaskade von Ereignissen triggern, die letztlich zu einer Freisetzung von Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern der Plasmodien führen. Diese Erhöhung des zytosolischen Ca-spiegels wird als wichtiges Signal für weitere Ereignisse die Synchronizität des Plasmodienzyklus betreffend, gesehen [Hotta, C. T. et al., 2000, S. 466]. So läuft in vivo die Entwicklung der einzelnen intra,- und extrazellulären Phasen und der Befall neuer roter Blutkörperchen durch Plasmodien stark synchron ab und beträgt je nach Art immer ein Vielfaches von 24 Stunden. Dieses gleichzeitige Auftreten von Billionen von Parasiten könnte eine wirkungsvolle evolutionäre Strategie des Parasiten sein, dem Abwehrmechanismus des Wirtes zu entkommen.

Diese Arbeit soll dazu beitragen, weitere Erkenntnisse über die Interaktion circadianer Rhythmen in einer Wirt-Parasit-Beziehung unter Berücksichtigung des Hormons Melatonin zu gewinnen.

1.2. Melatonin

Melatonin ist ein körpereigenes Hormon, das 1958 von Aaron Lerner einem amerikanischen Hautarzt entdeckt wurde. Der Name entstand aus „melas“ = griechisch für schwarz und „-tonus“ von der Eigenschaft des „Pinealisfaktors“ Melatonin die Pigmentierung der Haut von Amphibien zur Aggregation von Melanin anzuregen [Lerner, A. et al., 1959, S. 1821]. Als endogener Zeitgeber spielt es in der circadianen Rhythmik aller Lebewesen eine wichtige Rolle. Beim Menschen findet die Melatoninproduktion hauptsächlich in der Epiphyse statt. Weitere extrapineale Bildungsstätten sind die Retina, wo das Hormon wohl nur eine Bedeutung als Gewebshormon besitzt, die Ziliarkörper und Zellen des Gastrointestinaltraktes [Martin, X. D., 1992, S. 3480]. Bei Tieren (wie Amphibien, Reptilien und Vögeln) wird Melatonin auch in der Harderschen Drüse (Nickhautdrüse) und den enterochromaffinen Zellen des Intestinums gebildet [Gwinner, E. et al., 2000, S. 557]. Neue Studien zeigten weiterhin, dass bei Wirbeltieren wohl alle Zellen mit Photozeptor-Eigenschaften gleichzeitig rhythmische Melatoninproduzenten sind [Tosini, G. et al., 1998, S. 1105].

Ausgangspunkt der Melatoninsynthese ist die Aminosäure L-Tryptophan, die aus dem Blut in der Zirbeldrüse von Pinealozyten aufgenommen wird. Im Zytoplasma erfolgt durch die Tryptophanhydroxylase die Umwandlung zu 5-Hydroxytryptophan, das wiederum durch eine Decarboxylase, die den Cofaktor Pyridoxalphosphat benötigt, zu Serotonin umgewandelt wird. So findet sich auch die höchste Serotoninkonzentration des menschlichen Gewebes in der Epiphyse. Durch eine Arylalkylamin-N-Acetyltransferase, das reaktionsgeschwindigkeitsbestimmende Enzym der Melatoninsynthese entsteht dann N-Acetylserotonin (NAT), auch Normelatonin genannt. Dieses wird durch die Hydroxyindol-O-Methyltransferase (HIOMT) im letzten Schritt der Synthese zu Melatonin umgewandelt [Axelrod, J et al., 1960, S. 1312; Reiter, R. J., 1981, S. 223]

Beeinflusst wird die Aktivität der Enzyme v.a. durch Licht und das Neuropeptid Y, aber auch durch Katecholamine (z.B. Stress, Fasten etc.). Der Abbau von Melatonin zum Hauptmetaboliten

6-Sulphatoxymelatonin findet hauptsächlich in der Leber statt, bevor dieser dann über die Nieren ausgeschieden wird [Stokkan, K. A. et al., 1991, S. 66].

Melatonin ist im menschlichem Plasma, Speichel und Urin mit einer kurzen Halbwertszeit von 30 Sekunden bis ca. 6 Minuten nach i.v. Injektion nachweisbar. Als hydrophober Stoff kann es nach der Produktion relativ leicht durch passive Diffusion die Zellmembran passieren. Es bindet in bestimmten Zellen an membrangebundene, als auch zytosolische und evtl. auch im Zellkern befindliche Rezeptoren [Acuna-Castroviejo, D. et al., 1994, S. 100]. Deren Dichte unterliegt einem der Melatoninproduktion gerade entgegengesetzten circadianen Rhythmus mit der höchsten Rezeptoranzahl während des späten subjektiven Tages [Morgan, P. J. et al., 1988, S. 75].

Nach Bindung an die Rezeptoren kommt es daraufhin über einen G-Protein-abhängigen Komplex zur Hemmung der zytosolischen cAMP-Bildung, was zusammengefasst hauptsächlich zu einer Abnahme der Proteinsynthese führt [Cassone, V. M. et al., 1987, S. 29].

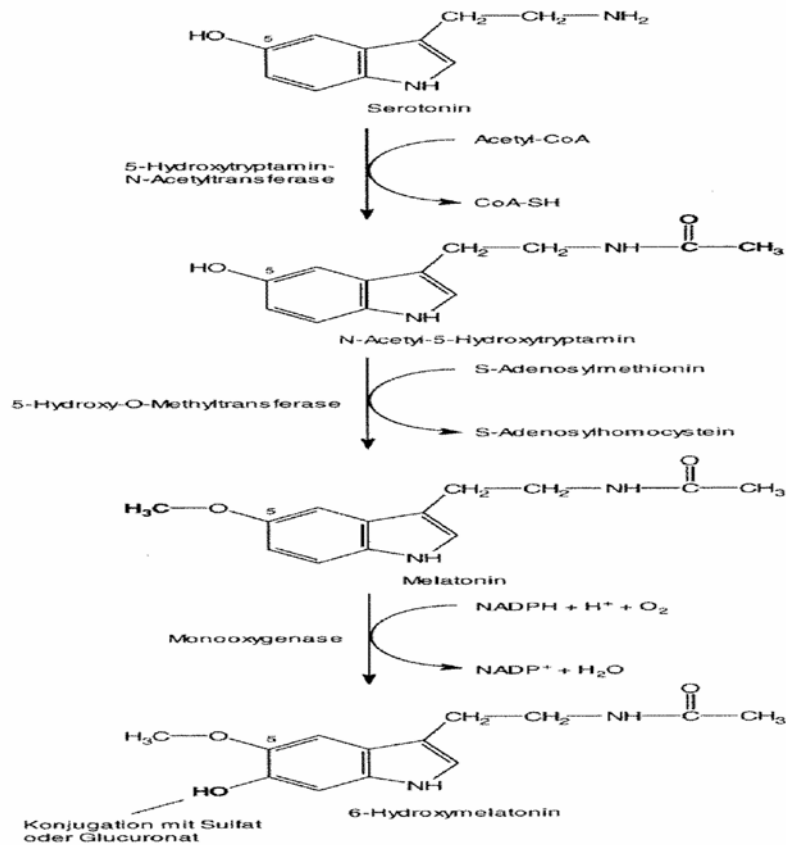


Abbildung 2: Die Synthese des Melatonins [Berg, J. M. et al., 2003, S. 568]

Die Produktion und Sekretion des Hormons steht unter der Kontrolle des circadianen Schrittmachers Nucleus suprachiasmaticus (SCN), der unter anderem über sympathische (noradrenerge) postganglionäre Fasern, die ursprünglich aus dem Ganglion cervicale superior entspringen, die Zirbeldrüse innerviert und die Drüse über den augenblicklichen Helligkeitswert der Umwelt informiert [Gwinner, E. et al., 2000, S. 557]. Hierfür erhält der SCN, der im Hypothalamus anterior gelegen ist, über den retino-thalamischen Trakt je nach Lichtbedingungen, Afferenzen aus der Netzhaut. Während der Hellphase sind bestimmte Photorezeptoren der Netzhaut in einem hyperpolarisierten Zustand, so dass die Neurone des SCN nicht erregt werden [Gwinner, E. et al., 2000, S. 557; Morgan, P. J. et al., 1988, S. 75]. Somit bewirkt diese circadian – noradrenerge Innervation der Drüse circadian – rhythmische Aktivitätsänderungen diverser Enzyme des Pinealozyten und beeinflusst damit die Melatoninproduktion. Zusätzlich scheint die Epiphyse auch über extraretinal gelegene Photorezeptoren ein Lichtsignal aufnehmen zu können [Cassone, V. M. et al., 1984, S. 539].

Ab etwa 200-400 Lux (Licht einer Leuchtstofflampe) beginnt die Melatoninsekretion abzusinken und ab etwa 600 Lux beginnt die maximale Unterdrückung (übliches Tageslicht kann Werte bis 10000 Lux erreichen). Blaues Licht (509nm) senkt beim Menschen die Melatoninplasmawerte am meisten [Brainard, G. C. et al., 1984, S. 333].

Aus den genannten Gründen erfolgt die Sekretion v.a. Nachts und der Maximalwert des Melatoninspiegels wird ca. 5 Stunden nach Anbruch der Dunkelheit erreicht (vgl. Abb.2). Allerdings wird mit dem Älterwerden auch eine Veränderung der Melatoninsekretion beobachtet. So kommt es zu einer Verschiebung des Melatoninhöchstwertes hin zu früheren Zeiten (sog. Phase advance) und zur Dämpfung bis hin zum Verschwinden seines circadianen Rhythmus [Touitou, Y. et al., 1981, S. 467].

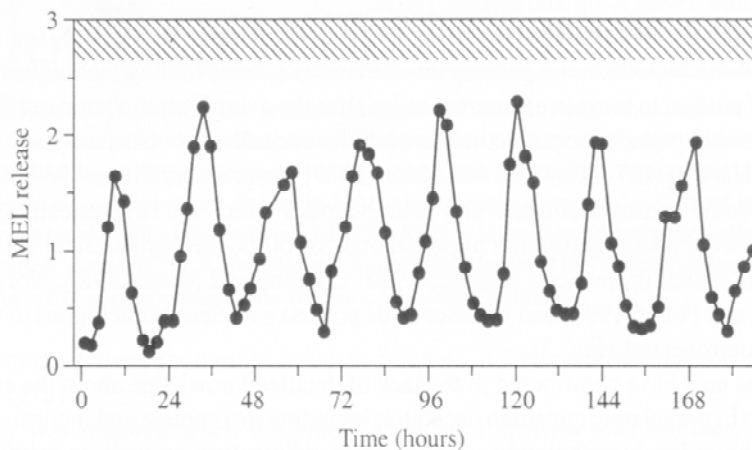


Abbildung 3: Darstellung des circadianen Rhythmus der *in vitro*-Sekretion von Melatonin aus einem isolierten Pinealorgan eines Haussperlings in Kultur. Die Melatoninsekretion besteht über 8 Zyklen in kontinuierlicher Dunkelheit mit großer Amplitude (nach Brandstätter 2002, S. 147)

Als circadianes Hormon spielt Melatonin bei einer Vielzahl physiologischer Vorgänge eine Rolle. Anbei möchte ich eine kurze Übersicht über die wichtigsten, medizinisch nachgewiesenen Funktionen des Hormons beim Menschen geben:

Schlaf-, Wachrhythmus:

Melatonin besitzt hypnotische d.h. schlaffördernde Eigenschaften. Es erhöht die Schlaffeffizienz und verkürzt die sleep latency (= Zeit bis zum Einschlafen). Als Pharmakon verkürzt es die frühen Schlafphasen und verlängert den REM-Schlaf [Defrance, R. et al., 1998, S. 142]

Körpertemperatur:

Es besteht ein umgekehrt proportionales Verhältnis zwischen der Melatoninsekretion und der Körpertemperatur, d.h. tagsüber liegt die Körpertemperatur aufgrund verringerter Melatoninsekretion um ca. 0,5 Grad Celcius höher als nachts [Cagnacci, A. et al., 1997, S. 509]

Immunsystem:

Melatonin besitzt eine stimulierende Wirkung auf das Immunsystem. Unter seinem Einfluss produzieren T-Helfer-Zellen mehr Interleukin 2 und Interleukin 4. Außerdem könnte Melatonin einen Teil der das Immunsystem hemmenden Effekte des Stresses kompensieren, da es unter Stress vermehrt ausgeschüttet wird. Es erhöht die toxische Wirkung von natürlichen Killer-Zellen und hebt die immunsuppressiven Effekte des Kortisols wieder auf [Bubenik, G. A. et al., 1998, S. 195]

Hormonhaushalt:

Melatonin hemmt die STH-Produktion beim Menschen, hat jedoch keinen Einfluss auf Prolaktin, LH und FSH. Bei Tieren wird allerdings auch eine Hemmung von Prolaktin, LH, FSH, TSH, T3,T4 und Somatostatin durch Melatonin beschrieben. Somit kann Melatonin als ein Inhibitor des endokrinen Systems angesehen werden [Walker, R. F. et al., 1982, S. 37; Walker, R. F., 1982, S. 167]

Sexuelle Entwicklung und Reproduktion:

Melatonin hemmt die geschlechtliche Differenzierung vor der Geburt, sowie in höheren Dosen die Fruchtbarkeit bei ausgewachsenen Organismen.

Einfluss auf Körperzellen:

Melatonin soll eine antiproliferative Wirkung besitzen. Es wird auch als ein „Radikalfänger“ des Menschen bezeichnet. Seine Wirkung ist sowohl im Fettgewebe als auch in wässriger Umgebung nachgewiesen. Die Schutzwirkung gegen Radikale zeigt sich allerdings erst bei relativ hohen Blutkonzentrationen [Sofic, E. et al., 2005, S. 125]

Psyche:

Melatonin wird eine mögliche Rolle bei der Entwicklung von Depressionen und seasonal affective disorders (SAD) zugeschrieben [Danilenko, K. V. et al., 1994, S. 137]

Außerdem scheint Melatonin unter anderem auch Effekte auf andere psychiatrische Erkrankungen, Altern [Defrance, R. et al., 1998, S. 142], Entstehung von Tumoren (z.B. Mamma-Karzinom, Prostata-Karzinom) oder Autoimmunerkrankungen zu haben [Bartsch, C. et al., 1985, S. 121]. Allerdings steht hinter den meisten dieser Hypothesen nur ein geringer pharmakologischer Hintergrund. Es braucht sicher weitere Studien um dies zu verifizieren.

Anwendung als Pharmakon findet das Hormon v.a. bei Schlafstörungen unterschiedlicher Genese und chronobiologischen Störungen wie beim „Jet-Lag-Syndrom“. Auch bei der Desynchronisation des endogenen Schlaf-Wachzyklus bei Blinden, Alten und hirngeschädigten Menschen kommt es zum Einsatz. Ebenso bei Schlafstörungen, die den circadianen Rhythmus (= CRSD = circadian Rhythm sleep disorders) betreffen, einschließlich delayed sleep phase syndrom (= DSPS), das ein

Ungleichgewicht zwischen dem gewöhnlichen täglichen Zeitplan, den die Umwelt des Einzelnen fordert und seinem oder ihrem circadianen Schlaf-Wach Muster, beinhaltet [DeFrance, R. et al., 1998, S. 142].

Da bislang keine Daten zu Melatoningaben über einen längeren Zeitraum existieren, kann über Langzeitwirkung und Nebenwirkungen derzeit nur spekuliert werden.

Gesichert jedenfalls ist, dass die rhythmische Sekretion von Melatonin im circadianen System der Vertebraten einen „internen Zeitgeber“ darstellt, der für die Erhaltung eines präzisen circadianen Rhythmus des Organismus eine bedeutende Rolle spielt.

1.3. Die circadiane Rhythmik

Die endogene Steuerung tagesrhythmischer Lebensvorgänge wurde bereits im 18. Jahrhundert von dem französischen Astronomen Jean Jacques d'Ortous de Mairan entdeckt. Er untersuchte die Blattbewegung bei Mimosen und stellte fest, dass die Blätter auch im abgedunkelten Raum ihrer tagesperiodischen Bewegung folgten [Moore-Ede, M. C. et al., 1982, S. 252]. Die Tatsache, dass die Pflanze für diesen Rhythmus keinen Licht-Dunkel-Wechsel brauchte und somit die periodischen Änderungen auch unter Konstantbedingungen stattfanden, wurde später für viele, andere physiologische Prozesse gefunden und gilt heute als ein zentrales Kriterium für die innere Uhr.

Hundert Jahre später untersuchte De Candolle diese rhythmischen Blattbewegungen der Mimosen im Freilauf genauer. Er fand heraus, dass die Periodenlänge nicht wie erwartet 24 h, sondern stattdessen 22 h betrug [Moore-Ede, M. C. et al., 1982, S. 256]. Damit lieferte er den zweifelsfreien Beweis, dass diese Oszillation nicht von tagesperiodischen Umweltfaktoren gesteuert sein kann, da dies eine Periodenlänge von 24 h zur Folge hätte, sondern, dass dieser Mechanismus tatsächlich von einer Inneren Uhr gesteuert wird. Diese Abweichung vom 24 h-Rhythmus unter Freilauf-Bedingungen beobachtete man später sehr oft, dabei liegt die Periodenlänge meist zwischen 22 und 26 h. Aus diesem Grund prägte F. Halberg auch den Begriff einer "circadianen Uhr", also einer Uhr mit einer Periodenlänge von circa einem Tag [Halberg, F et al., 1965, S. 1259].

Wieder etwa 100 Jahre später wurde von dem deutschen Botaniker Bünning und anderen Wissenschaftlern gezeigt, dass die Periodenlänge eine erblich festgelegte Größe ist. Kreuzt man zwei Pflanzen, eine mit einer Periodenlänge von 22 h und eine mit einer Periodenlänge von 25 h, so erhält man eine intermediäre Periodenlänge [Bünning, E., 1935, S. 411].

Gegenwärtig geht man davon aus, dass die meisten Lebewesen, vom Einzeller bis zum Menschen eine tagesperiodische, circadiane Innere Uhr besitzen. Diesen für die Entstehung, Erhaltung und Kontrolle des täglichen physiologischen Rhythmus und somit auch des Verhaltens verantwortlichen biologischen Uhren sind theoretische Mechanismen oder Eigenschaften gemeinsam (vgl. Abb.4) :

- Eigenschaft des Rhythmus (regelmässig/unregelmässig)
- Veränderbare Amplitude (hier Pegeländerung absolut oder relativ) und Amplitudenverlauf (gedämpfte / ungedämpfte Schwingung)
- Schwingungsdauer oder Periode (τ) nahe bei 24 Stunden
- Phasenlage zu einem zeitlichen Startpunkt
- Synchronisierbarkeit
- Selbsterhaltung: d.h. ein Weiterschwingen auch bei Ausfall von externen synchronisierenden Einflüssen

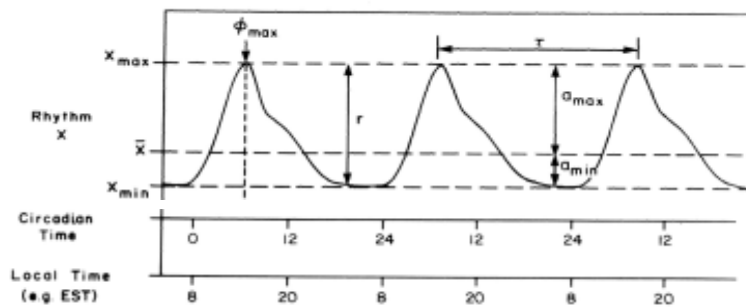


Abbildung 4: Rhythmus einer biologischen Variablen x

Parameter eines biologischen Rhythmus:

\bar{x} : Mittelwert

x_{\max} , x_{\min} : Maximal und Minimalwert

r : Oszillationsbereich („range“)

τ : Periodenlänge (Dauer einer Oszillation)

a_{\max} , a_{\min} : Amplitude (max., min.)

Ψ : Referenzphase (z.B. Maximum) (verändert nach [Wild, T., 2004, S. 14])

Dabei besteht diese circadiane Uhr wohl aus voneinander abhängigen, interagierenden oszillierenden Einheiten, die durch interne Synchronisation, d.h. zeitliche Koordination einer Vielzahl an individuellen Oszillatoren auch ohne äußere Zeitgeber fähig sind, einen circadianen Rhythmus zu erzeugen.

Je nach Art scheinen diese Oszillatoren unterschiedlichst lokalisiert zu sein und auch unterschiedlich wichtige Rollen zu spielen [Takahashi, J. S. et al., 1982, S. 1104; Cassone, V. M. et al., 1993, S. S73]. Seit Beginn der 90er Jahre erhärtet sich die Theorie, dass die Oszillationen auf einer Modulation der Aktivität bestimmter Gene beruht. So wurden bei der Taufliege *Drosophila melanogaster* die Uhren-Gene *period* (*per*) und *timeless* (*tim*) sowie *clock* und *cycle* entdeckt, die jeweils zusammen wirken. Sie betreffen die Periodenlänge des Aktivitätsrhythmus bzw. des Schlüpfrythmus. Die Proteine der Gene *clock* und *cycle* bilden ein Dimer, das den aktivierenden Transkriptionsfaktorkomplex darstellt, und die Proteine von *per* und *tim* bilden ein Dimer, das die Aktivoren ihrer eigenen Expression inhibiert. Wie bei anderen Modellorganismen sind Phosphorylierung und eine zeitabhängige Lokalisierung im Zytosol bzw. im Zellkern Voraussetzung für den geregelten Ablauf des negativen Rückkoppelungskreises. Da die bei *Drosophila* gewonnenen Ergebnisse größtenteils auch bei anderen Modellorganismen, wie *Neurospora* oder die Maus zutreffen, nimmt man an, dass den molekularen Mechanismen aller zellulärer Uhren vieles gemeinsam ist, obwohl der Nachweis für den monophyletischen Ursprung der "Inneren Uhr" derzeit fehlt. Bei allen untersuchten Modellorganismen finden sich positive wie negative steuernde Faktoren und Regelschleifen (loops) die eine Proteinsynthese mit

Transkription und Translation (und ziemlich sicher Proteinaktivierung) beinhalten. Die Periodendauer ergibt sich unter anderem aus der Zeit, die die Syntheseprozesse benötigen, um einen bestimmten Spiegel an positiv oder negativ wirkenden Eiweißen zu bilden [Subramanian, P. et al., 2003, S. 797].

Die geschilderten Ergebnisse lassen das molekulare Uhrwerk als eine einfache, sich selbstregulierende Rückkopplungsschleife auf der Ebene der Genexpression erscheinen, die im Laufe der Evolution, zumindest im Tierreich, konserviert wurde. Es gibt allerdings Hinweise, dass dieses Modell zu einfach konzipiert ist. So können bei bestimmten Organismen, wie bei der Meeresalge *Gonyaulax* beschrieben, mehrere Oszillatoren in einer einzelnen Zelle das tageszeitliche Programm kontrollieren. Weiterhin konnten Yoo et al. bei Mäusen nachweisen, dass zwar jede periphere Zelle, unabhängig von einem übergeordneten Oszillator, zu rhythmischen selbsterhaltenden circadianen Oszillationen über eine gewisse Zeit fähig ist, diese sich jedoch nach Verlust übergeordneter Oszillatoren in ihrem Phasenverhalten zwischen einzelnen Gewebsarten, als auch zwischen verschiedenen Tieren, unterscheiden [Yoo, S. H. et al., 2004, S. 5339]. Somit muß die circadiane Uhr als ein komplexes, ausgewogenes System angesehen werden, das sowohl auf intrazellulärer, zellulärer, als auch einer den Gesamtorganismus betreffenden Ebene, zu einer internen Synchronisation fähig ist.

Neben dieser inneren Synchronisation beeinflussen jedoch auch exogene Einflüsse die Innere Uhr und stimmen so ihren endogenen = eigenen Rhythmus mit der Umwelt ab. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von Zeitgeber oder Schrittmacher, da diese Einflüsse das Vermögen besitzen, einen endogen generierten biologischen Rhythmus mit ihrer eigenen Periodizität an einen anderen Rhythmus zu koppeln. Dies wird auch Entrainment genannt, da der endogene Rhythmus synchron mit einem anderen Rhythmus mit gleicher Periode und einem temporär gleichen Phasenverhältnis läuft (vgl. Abb. 5) [Aschoff, J., 1981, S. p.81].

Man kann sich dies wie ein sich in seinem eigenen Rhythmus schwingendes Pendel vorstellen. Hängt man ein zweites Pendel daneben, pendeln beide Uhren nach einer gewissen Zeit exakt synchron. Offensichtlich müssen sich die Uhren beeinflusst und synchronisiert haben, z.B. über die Luftkoppelung [Huygens, C., 1658, S. 175]. Genauso wird die Innere Uhr von Organismen von externen Einflüssen synchronisiert, wobei allerdings anzumerken ist, dass die Innere Uhr von Organismen wohl keinerlei Beeinflussung der Umwelt bewirkt.

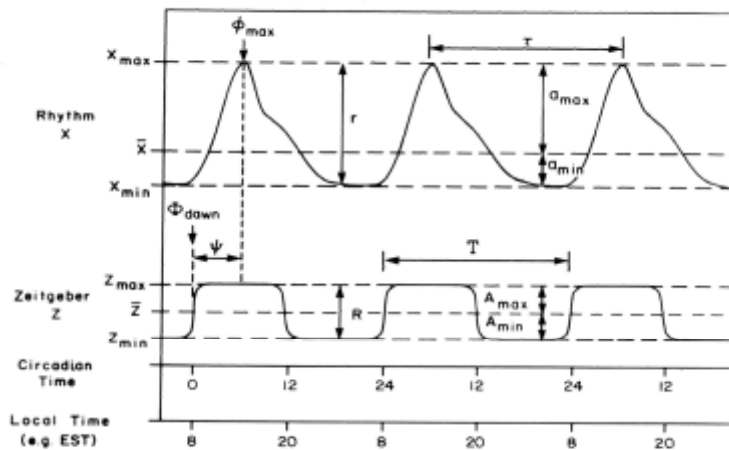


Abbildung 5: Zyklus eines Umweltzeitgebers

Der Rhythmus einer Variablen x wird durch einen äußeren Zeitgeber Z angepasst („entrained“). Dies führt zu einer Veränderung der Periodenlänge (τ) zu (T) und zu einer Veränderung der Phasenlage (vgl. Text)

Z -max, Z -min: Maximal- und Minimalwert
 R : Oszillationsbereich
 T ; τ : Periodenlänge
 A -max, A -min: Amplitude (max., min.)
 Ψ (ϕ): Referenzphase (z.B. Tagesanbruch)
 (verändert nach [Wild, T., 2004, S. 14])

Einer dieser Zeitgeber ist das Licht. So passt sich der biologische Schrittmacher dem natürlichen Hell-Dunkelzyklus an bzw. kann auf experimentelle Phasenverschiebungen eines Hell-Dunkel-Regimes reagieren. Im letzteren Fall entstehen dadurch allerdings einige kurze Zyklen, in denen sich die Aktivität des Rhythmus allmählich in seine neue stabile Position verschiebt. Diese zeitlich vorübergehenden oder auch transienten Zyklen halten so lange an, bis wieder eine konstante Phasenbeziehung zwischen dem exogenen und dem endogenen Rhythmus erreicht wird und diese somit resynchronisiert sind. Je nach Zeitpunkt des Auftretens der Phasenverschiebung des Lichtes kommt es dabei zu unterschiedlichen Auswirkungen auf den circadianen Rhythmus [Stepien, J. M. et al., 2001, S. 234]. So führt Licht, das während des Beginns der subjektiven Nacht auftritt, zu Phasenverspätungen oder Phase Delays, wohingegen Licht, das sich gegen Ende der subjektiven Dunkelperiode präsentiert, ein Vorrücken der Phase einen sogenannten Phase Advance auslöst. Diese Effekte können als „Phase Response“ Kurve (PRC) beschrieben werden. In dieser sind die Größe und die Richtung der Phasenverschiebung bei Aktivitätsbeginn als Funktion der circadianen Zeit der Impulsapplikation gezeichnet.

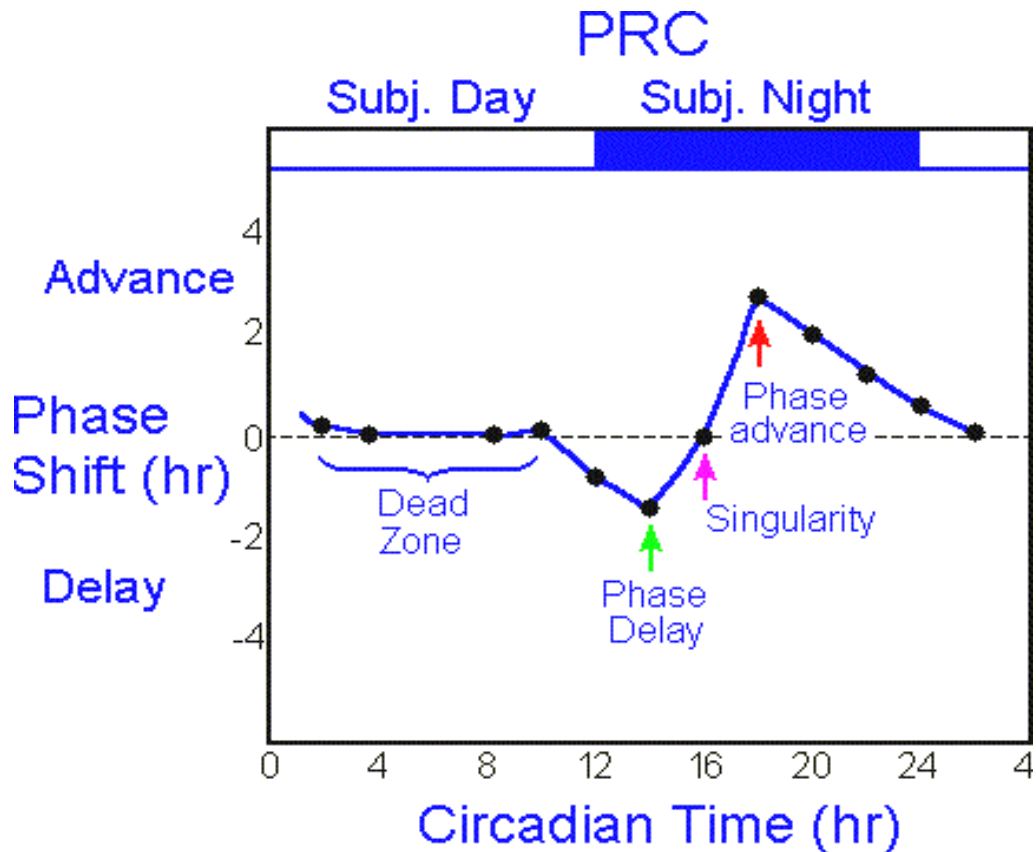


Abbildung 6: Eine allgemeine Phasen-Antwort-Kurve als Antwort auf Lichtimpulse

Obwohl die Phasenantwortkurve (engl.: phase response curve=PCR) für jede Spezies unterschiedlich aussieht, gibt es doch einige Gemeinsamkeiten. Eine Phasenverspätung (Phase Delay) tritt auf, wenn die Lichtimpulsapplikation in der Abenddämmerung oder der frühen subjektiven Nacht erfolgt. Zu einem Phasenvorschub (Phase Advance) kommt es bei Applikation in der späten subjektiven Nacht oder im Morgengrauen. Es existieren zwei Zeitpunkte an denen nur eine geringe Veränderung (Shift) stattfindet: gegen Mitte des subjektiven Tages genannt „Todeszone (dead zone)“ und gegen Mitte der subjektiven Nacht genannt „Einzigkeit“ (singularity). Letztere tritt auf, da es an diesem Punkt zu einer Umkehr von einer Phasenverspätung zu einem Phasenvorschub kommt. Der Grund für die „Todeszone (dead zone)“ ist dagegen weniger klar. Es könnte eine Veränderung der Sensitivität des circadianen Schrittmacher-Prozesses darstellen. Jedenfalls stellt es sicher eine Abnahme der Sensitivität dar, störende Signale wahrzunehmen (nach Hasegawa, 1987, S. 269).

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass die circadiane Uhr als komplexes System anzusehen ist, das aus vielen verschiedenen hierarchisch angeordneten Oszillatoren besteht, die die Fähigkeit besitzen, sich sowohl intern, als auch extern zu synchronisieren, so dass daraus ein stabiler exakter 24 Stunden-Rhythmus von Verhalten und Physiologie unter Umweltbedingungen resultiert.

1.3.1. Das circadiane System der Vögel

Das circadiane System der Vögel zeichnet sich durch eine hohe Komplexität und Diversität aus. So haben Vögel im Gegensatz zu Säugern die Fähigkeit, Licht der Umwelt und somit eine Beeinflussung durch einen äußeren Zeitgeber sowohl durch die Retina, die Epiphyse, als auch über tiefe enzephalische Photorezeptoren wahrzunehmen. Weiterhin existieren bei ihnen mindestens drei verschiedene Strukturen, die zur Generierung und Steuerung circadianer Rhythmen nötig sind und somit als Schrittmacher angesehen werden. Diese drei Hauptkomponenten bzw. autonome circadianen Oszillatoren des circadianen Schrittmachersystems sind die Retina, die Epiphyse, und ein hypothalamischer Oszillator (vgl. Abb. 10) [Gwinner, E. et al., 2000, S. 557]. Nachdem neben diesen gemeinsamen Eigenschaften, ein hoher Grad an Vielfalt zwischen den einzelnen Vogelgattungen besteht, besonders was die Rolle der individuellen Komponenten in der Erzeugung eines sich selbsterhaltenden circadianen Verhaltensrhythmus angeht, möchte ich hier vor allem auf die für diese Arbeit wichtige Ordnung der passeriformen Vögel eingehen.

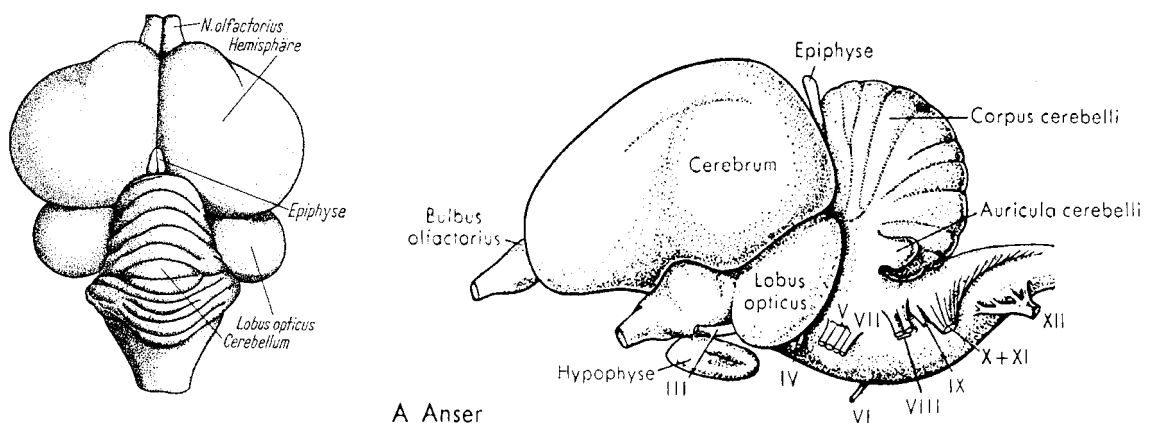


Abbildung 7 und Abbildung 8: Lage des Pinealorgans. Links: Aufsicht, rechts: Seitenansicht des Gehirns einer Gans [Romer, A. S., 2005, S. 426]

Bei diesen ist die erste und wohl wichtigste Komponente die Epiphyse. Diese, auf der dorsalen Seite des Gehirns in einem dreieckigen Raum zwischen den zwei Hemisphären des Telenzephalons und des Kleinhirns eingebettete Struktur, synthetisiert und sezerniert rhythmisch Melatonin [Gwinner, E. et al., 2000, S. 557]. Diese rhythmische Melantoninsekretion in das Blut findet nicht nur im Zustand der Synchronisation z.B. wenn die Vögel einem Licht/ Dunkelzyklus (LD) ausgesetzt sind, sondern auch

unter konstanten Bedingungen (z.B. Dauerdunkelheit (DD) oder kontinuierlich gedämmten Licht (LLdim)) statt. Dies beweisen zahlreiche *in vitro* Versuche mit isoliert oder primär kultivierten epiphysären Zellen [Takahashi, J. S. et al., 1979, S. 2583; Takahashi, J. S. et al., 1982, S. 1104; Murakami, N. et al., 1994, S. 209] oder kultivierten Epiphysen von Spatzen [Brandstaetter, R. et al., 2000, S. 12324], die eine Persistenz der rhythmischen Melatoninsekretion auch in konstanter Dunkelheit bewiesen (vgl. auch Abb. 3). Daß die Epiphyse mit ihrer rhythmischen Melatoninsekretion ein dominierender Oszillator im circadianen System der Vögel ist, zeigten weiterhin Versuche, in denen passerine Vögel in konstanter Dunkelheit nach vollständiger Zerstörung oder Entfernung der Epiphyse ihre „freilaufende“ circadiane lokomotorische Aktivität verloren und arrhythmisch wurden [Gaston, S. et al., 1968, S. 1125]. Nach Transplantation derselben in einen anderen pinealektomierten arrhythmischen Spatzen wurde die circadiane Rhythmik wieder hergestellt (vgl. Abb. 9). Allerdings übernahm der Spatz den Rhythmus des Donors [Zimmerman, N. H. et al., 1975, S. 477]. Dies, als auch der Nachweis eines völligen Verschwindens des Plasma-Melatoninrhythmus nach Pinealektomie [Janik, D. et al., 1992, S. 277] legen nahe, dass das zirkulierende Melatonin hauptsächlich von der Epiphyse gebildet wird.

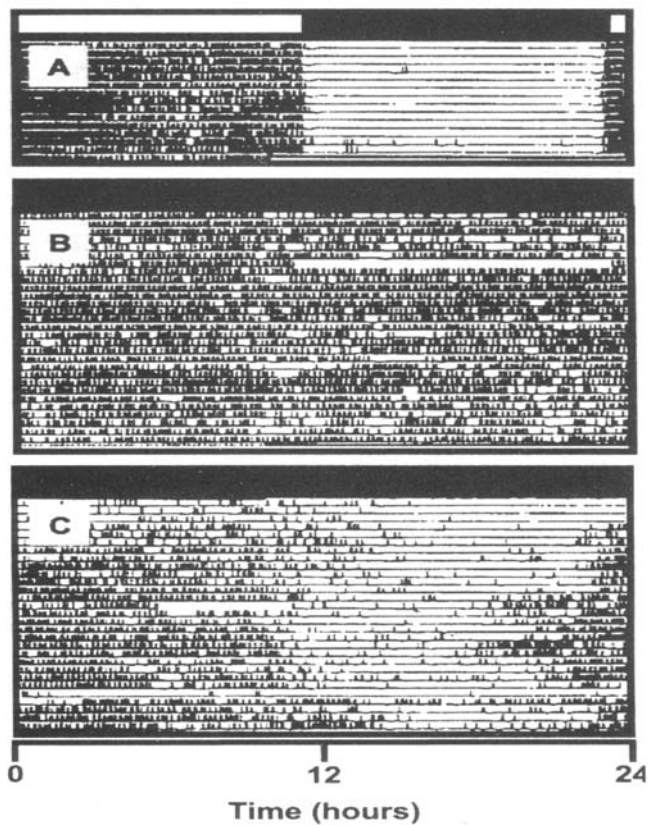


Abbildung 9. Abbildung der lokomotorischen Aktivität von Haussperlingen unter LD-Bedingungen (A), nach Pinealektomie unter konstanten Bedingungen in Dauerdunkel (B), und nach Transplantation der Epiphyse in die vordere Augenkammer unter konstanten Bedingungen (C).

Der Licht/Dunkel-Zyklus ist durch einen horizontalen Balken über Bild A markiert; die Dauerdunkelheit ist durch schwarze Balken über Bild B und C markiert [Brandstaetter, B., 2002, S. 144]

Die zweite Komponente besteht aus mindestens zwei anatomisch und morphologisch verschiedenen Zellgruppen im Hypothalamus. Die erste Region im medialen anterioren Teil des Hypothalamus, kaudal des 3. Ventrikels, direkt über dem Chiasma opticum liegend, wird unter anderem aufgrund seiner anatomischen Lage Suprachiasmatischer Nucleus (SCN) [Van Tienhofen, A., 1962, S. 185] genannt. Durch experimentelle Läsionen [Danilenko, K. V. et al., 1994, S. 137; Takahashi, J. S. et al., 1979, S. 2583] und Neuron-spezifischen Färbungen [Brandstaetter, R. et al., 2003, S. 637] konnte nachgewiesen werden, dass dieser wahrscheinlich äquivalent zu den Säugern den SCN darstellt. Lateral davon liegt eine zweite morphologisch heterogene Zellgruppe, die Lateraler Hypothalamischer Nucleus (LHN) genannt wird ([Brandstaetter, R. et al., 2003, S. 637]. Letztere erhält in ihrem ventralen Teil über den retinohypothalamischen Trakt Lichtsignale der retinalen Zellen [Cassone, V. M., 1998, S. 457]. Doch trotz dieser Anwesenheit von retinohypothalamischen Projektionen, als auch von Neurotransmittern und Neuropeptiden, die sowohl im SCN der Säuger als auch bei Vögeln rhythmisch produziert werden, können keine sicheren Rückschlüsse auf die genaue Funktion dieser Zellgruppen im circadianen System, als auch über mögliche Interaktionswege untereinander gezogen werden. So konnten bisher keine neuronalen Verbindungen zwischen SCN und LHN gefunden werden. Und auch die Frage, in wie weit Melatonin eine Rolle für diese Strukturen spielt, ist derzeit ungeklärt.

Die dritte Struktur ist die Retina der Augen. Auch in dieser wird rhythmisch und autonom d.h. unabhängig von extra-retinalen Oszillatoren [Thomas, K. B. et al., 1991, S. 511] Melatonin produziert. Dieses wird allerdings nicht bei allen Spezies, so auch nicht bei den passerinen Vögeln, in den Blutkreislauf freigesetzt. Sie nimmt die für die Synchronisation wichtige Information des Zeitgebers Licht auf und übermittelt diese über den Retinohypothalamischen Trakt dem SCN.

Diese drei Komponenten interagieren, sie stabilisieren sich gegenseitig und amplifizieren sich um letztlich ein sich höchst selbsterhaltendes System zu bilden. Dies erlaubt so einen hohen Grad an Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen. Es ermöglicht somit Zugvögeln den Jahresfortlauf zu messen und zum richtigen Zeitpunkt ihre Wanderung anzutreten. Es erleichtert ihnen die Synchronisation zu wechselnden, äußeren Zeitgebern und schützt sie vor einem auftretendem „jet-lag-Syndrom“ v.a. bei Flügen entlang der Ost-West-Achse. Doch auch sesshafte Vögel sind Veränderungen von exogenen Zeitgebern, wie z. B. der Temperatur oder der Tageslänge über das Jahr ausgesetzt und zeigen oft einen vergleichbaren täglichen und saisonalen Rhythmus. Mit Hilfe dessen sind sie in der Lage, ihr Verhalten zu regulieren und Störungen in ihrer Umwelt oder irreführenden Zeitgebersignalen („noise“) entgegenzuwirken.

Hierfür erscheinen allerdings bestimmte Änderungen der Schrittmachereigenschaften der Oszillatoren notwendig. Meist werden diese durch eine Veränderung des epiphysären Melatoninrhythmus bewirkt. Diese Variabilität ist wichtig, um das Antwortverhalten bei Vögeln, die in der temperierten Zone leben, auf Veränderungen des Lichtes der Umwelt zu erhöhen oder zu verringern [Brandstaetter, R. et

al., 2001, S. 120]. So können sich beispielsweise Vögel durch saisonale Verringerung ihrer Melatoninsekretion und damit Abnahme des Selbsterhaltungsgrads des circadianen Systems den schwachen Zeitgeberbedingungen im Mittsommer anpassen und auch bei geringamplitudigen Zeitgeberbedingungen synchronisieren. Auch Zugvögeln wird so, über eine Abnahme der rhythmischen täglichen Plasmamelatoninspiegels während der Migrationszeit eine schnellere Anpassung ihrer Verhaltensrhythmen zu wechselnden Umweltbedingungen während der Wanderung ermöglicht [Gwinner, E. et al., 1997, S. 439].

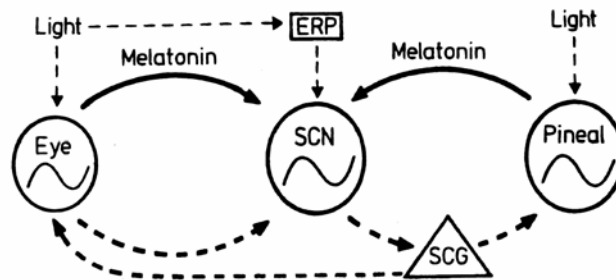


Abbildung 10: Diagramm der Oszillatorkomponenten des Schrittmachersystems der Vögel und einige ihrer Interaktionen:

Die einzelnen Komponenten sind untereinander verbunden und bauen so einen offenen circadianen Rhythmus auf: der SCN hat sympathische neuronale Verbindung zur Epiphyse. Diese wiederum beeinflusst den SCN durch die periodische Ausschüttung von dem Indolamin Melatonin. Zusätzlich erreicht Licht, von der Retina der Augen aufgenommen, über den retinothalamischen Trakt den SCN. Auch Licht das über tiefe enzephalische Photorezeptoren aufgenommen wird, gelangt zum SCN.

(→) Endokrine Verbindungen (Melatonin); (- - >) neuronale Verbindungen; (- - - >) Wirkung des Lichts auf das Auge, die Epiphyse und extraretinale und extrapineale Photorezeptoren (ERP)

SCG=Ganglion cervicale superior; Pineal=Epiphyse; SCN=Suprachiasmatischer Nucleus

[Gwinner, E. et al., 2000, S. 557]

1.3.2. Das circadiane System des Menschen

Die Annahme einer Inneren Uhr im Menschen entwickelte sich erst in der 2. Hälfte des 20. Jahrhunderts. Aschoff und Wever isolierten 1962 Versuchspersonen für 8 bis 19 Tage in einen Bunker, den sie von Umwelteinflüssen abgeschirmt hatten [Aschoff, J., 1963, S. 581; Aschoff, J., 1963, S. 1930]. Diese Versuche und ein Eigenversuch von Michael Siffre 1962, der drei Monate in einer Gletscherhöhle von der Umwelt abgeschlossen lebte, ergaben, dass der menschliche Aktivitäts-Ruhe-Zyklus bei durchschnittlich 25 Stunden lag, was als Hinweis auf ein endogenes circadianes System gewertet wurde [Siffre, M et al., 1966, S. 915].

Weitere Versuche mit Ratten von R. Moore, als auch unabhängig davon von F.K. Stephan und I. Zucker zeigten, dass der SCN in Säugetieren ein wesentlicher Bestandteil der Inneren Uhr ist [Stephan, F. K. et al., 1972, S. 315]. Dieser im anterioren Hypothalamus gelegene Kern kontrolliert mittels periodischer Aktivität verschiedene hormonelle Rhythmen wie z.B. Melatonin oder ACTH [Hastings, M. H. et al., 2004, S. 400; DeFrance, R. et al., 1998, S. 142]. Des weiteren beeinflusst er wichtige Funktionen wie die Nahrungsaufnahme und den Wasserhaushalt, die Körperkerntemperatur und den Schlaf/Wachrhythmus [DeFrance, R. et al., 1998, S. 142]. Bei Säugetieren kommt es nach Zerstörung des SCN zum völligen Verlust der circadianen Rhythmik, was seine Rolle als Hauptschrittmacher („pacemaker“) unterstreicht [Stephan, F. K. et al., 1972, S. 315].

Er besitzt eine hohe Dichte an Melatoninrezeptoren, an die in der Epiphyse synthetisiertes Melatonin mit unterschiedlicher Affinität bindet und somit seine elektrische Aktivität moduliert bzw. aus in vitro Versuchen ersichtlich, seine Aktivität vermindert [DeFrance, R. et al., 1998, S. 142]. Dieser so entstandene endogene Rhythmus wird dann durch äußere Zeitgeber, wie Licht oder Nahrung, auf die Umwelt abgestimmt, so dass die Grundlage für eine hohe Reproduktion und damit zum Überleben gegeben ist.

Aufgrund der molekularen Forschung geht man heute davon aus, daß nach Einwirken eines äußeren Zeitgebers eine den ganzen Organismus betreffende Kaskade an Ereignissen in Gang gesetzt wird, durch die letztlich eine Synchronisation mit der Umwelt erfolgt. So senden bei Säugern Neurone der Ganglion Zellschicht nach Wahrnehmung von Licht Signale zum SCN [Berson, D. M. et al., 2002, S. 1070]. Dieser kann als übergeordneter Schrittmacher die circadiane Uhr zurückstellen, indem er die biologische Zeit durch bisher unbekannte Mechanismen den Mitteilungen des Lichtes anpasst und verinnerlicht [Albrecht, U., 2004, S. 48]. Somit entstehen circadiane Oszillationen, die exakt das Licht-Dunkel-Verhältnis der Umwelt in ihrem 24 Stunden-Rahmen widerspiegeln [Mrugala, M. et al., 2000, S. R987]. Nach Anpassung an diese äußeren Bedingungen beginnt die interne Synchronisation, indem der SCN mit Hilfe unterschiedlicher Arten an Ausgangssignalen, wie beispielsweise direkte und indirekte neuronale Projektionen [Kriegsfeld, L. J. et al., 2004, S. 361] oder durch Sekretion

diffundierbarer Polypeptide [Albrecht, U., 2004, S. 48] die circadiane Nachricht dem Gehirn, als auch dem gesamten Körper mitteilt. Dort synchronisieren dann sowohl neuronale und periphere Oszillatoren als auch organ-spezifische „Synchronisatoren“ auf Zell- und Gewebsebene ihre biologische Zeit, wobei dieser Prozeß eine Vielzahl an Interaktionen, als auch an Rückkoppelungsschleifen beinhaltet. Das Ergebnis ist ein zu Umweltbedingungen koordinierter Rhythmus von Physiologie und Verhalten des Tieres, der sich zum Beispiel durch Aktivität während der Lichtzeiten widerspiegelt (vgl. Abb.11) [Brandstaetter, R., 2004, S. 5699].

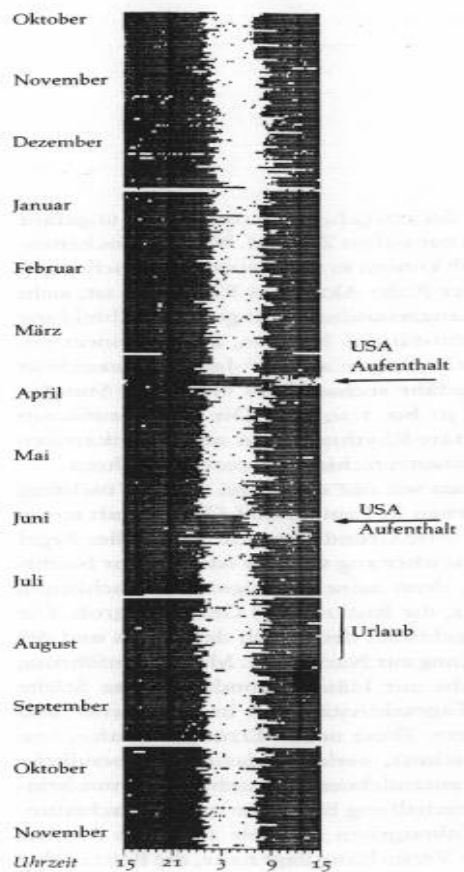


Abbildung 11: Ruhe-Aktivitäts-Rhythmus einer Versuchsperson, die länger als ein Jahr kontinuierlich registriert wurde.

Jede waagrechte Linie entspricht einem Tag (von 15 Uhr bis anderntags 15 Uhr). Striche entsprechen Aktivitätsperioden, weiße Zwischenräume Ruheperioden. Die Zeit des Zubettgehens und Aufstehens variiert nur wenig. Zwei USA-Reisen verursachen wegen der Zeitzoneänderung deutliche Rhythmusverschiebungen. Im Sommerurlaub ist die Schlafzeit etwas verlängert. Das spätere Aufstehen an den Wochenenden ist aus den periodischen, weißen Einschnitten am Morgen ersichtlich. Längere Ausfälle der Tagesaktivität sind auf Defekte am Registriergerät zurückzuführen [Borbély, A., 1998, S. 28].

1.4. Kokzidien

1.4.1. Definition und Epidemiologie

Kokzidien sind intrazelluläre parasitische, zur Ordnung der Sporozoa gehörende Protozoen. Sie leben vor allem in Epithelzellen oder Blutzellen hauptsächlich von Vertebraten aber auch von Invertebraten. Unterordnungen sind Eimeriina und Haemosporina. Dazu zählen u. a. die Gattungen Plasmodium, Toxoplasma, Sarcocystis oder Isospora [Kayser, F. H. et al., 2005, S. 152].

Eine weitere Definition sieht sie in der Gruppe der Apikomplexa, die verschiedenste Parasiten unter dem Aspekt der gleichen sexuellen Entwicklung und gemeinsamen Bestandteilen ihrer apikalen Komplexe vereint. So beinhaltet ihr Lebenszyklus - wie für Apikomplexa üblich - sowohl sexuelle als auch asexuelle Stadien und es treten nacheinander Sporogonie, Merogonie und Gamogonie auf [Wilber, P. G. D. W. Duszynski S. J. Upton R. S. Seville et al., 1998, S. 113].

Kokzidienarten wie z.B. die Gattung Eimeria oder Isospora, mit Entwicklung im Intestinaltrakt oder seinen angebundenen Strukturen, zeichnen sich durch einen direkten Lebenszyklus aus und benötigen somit für ihre Entwicklung nur einen Wirt, während hingegen andere Gattungen wie Toxoplasma, Sarcocystis oder Frenkelia etc., deren Merogonie in extraintestinalen Gewebe stattfindet, für ihre Entwicklung mehr als einen Wirt benötigen. Allen gemeinsam sind ihre freilebenden Jugendformen (Sporo,- und Merozoiten) und die Art des Übertragungsweges auf einen neuen Wirt. Dieser findet über sehr resistente Oozysten statt, die außerhalb des Wirtes über Wochen bis Monate abhängig von der Umgebungstemperatur lebensfähig sind.

Wie beschrieben, beruht die allgemeine Einteilung der Kokzidien zum einen auf Merkmalen des Lebenszyklus. So entwickeln die meisten Spezies eine bestimmte Anzahl an asexuellen Generationen (Merogonien), denen sich die Gamogonie und die Bildung von Oozysten anschließt. Zum anderen findet eine Differenzierung der einzelnen Arten aufgrund morphologischer Unterschiede in der Struktur der Oozysten statt. Diese können nach Form und Taille unterschieden werden, immer unter der Bedingung, dass die Oozysten komplett reif sind. Außerdem beinhalten die reifen Oozysten eine gewisse Anzahl an Sporozysten, die wiederum eine für jede Spezies typische Anzahl an Sporozoiten enthalten, die das infektiöse Agens darstellen.

Neben der Morphologie können die einzelnen Arten auch aufgrund der Temperatur, der Zeitdauer in der die Sporulation stattfindet und ihrem Widerstand gegenüber schädlichen Umwelteinflüssen charakterisiert werden. Auch die intestinale Lokalisation ihrer Sporogonie ist bei der Bestimmung der einzelnen Art hilfreich.

Bisher trugen die oben angeführten Merkmale zur Differenzierung von über 2000 Kokzidienarten bei.

Kokzidien sind weit verbreitete Parasiten von Vertebraten aber auch Invertebraten. Sie sind vor allem im Tierreich häufig, wobei einige Arten auf bestimmte Wirte wie Affen oder Fische spezialisiert zu sein scheinen, während andere Spezies eine große Reihe von Säugetieren, darunter auch den Menschen befallen können. Da jede Art nur genau definierte Abschnitte des Intestinums befällt und zusätzlich nicht nur für bestimmte Zellarten, sondern auch oft für spezifische Teile der Zelle eine Vorliebe besitzt, ist es nicht ungewöhnlich, dass bei bestimmten Tierarten mehrere unterschiedliche Kokkzidienarten gefunden werden können [Grulet, O. et al., 1982, S. 209]. In der Natur stellt dies normalerweise kein Problem dar, da der Lebenszyklus der Kokzidien durch eine natürlich festgelegte Anzahl an Merogoniegenerationen und der dann folgenden Gamogonie selbstlimitierend ist und außerdem auch die Möglichkeit des Wirtes zur Entwicklung einer Resistenz gegeben ist. Allerdings könnte es durch so enge Systeme wie die intensivierte Tierzucht zu einer Veränderung kommen. So werden die Verluste in der Hühnerproduktion in den USA aufgrund von Infektionen mit Kokzidien derzeit bereits auf bis zu 1,5 Milliarden US Dollar pro Jahr geschätzt [Fitzgerald, P. R., 1980, S. 121]. Auch die humanpathogenen Arten gewinnen zunehmend an Bedeutung. *Toxoplasma gondii* infiziert jedes Jahr über ein Drittel der Bevölkerung Nordamerikas und führt in tausenden Fällen zum perinatalen Tod [Hill, D. E. et al., 2005, S. 41]. Aufgrund der zunehmenden Ausbreitung von AIDS werden bei immunsupprimierten Patienten in den letzten Jahren immer häufiger schwere chronische Diarrhöen nach Infektionen mit *Isospora belli* oder anderen Kokzidienarten gefunden. Auch Cyclosporidien, die über Trinkwasserausbreitung große und anhaltende Epidemien hervorrufen können, sind zu den neuen und heraufziehenden Erkrankungen zu rechnen.

1.4.2. Lebenszyklus

Exemplarisch für alle Kokzidienarten soll hier der Lebenszyklus der Eimeriidae dargestellt werden:

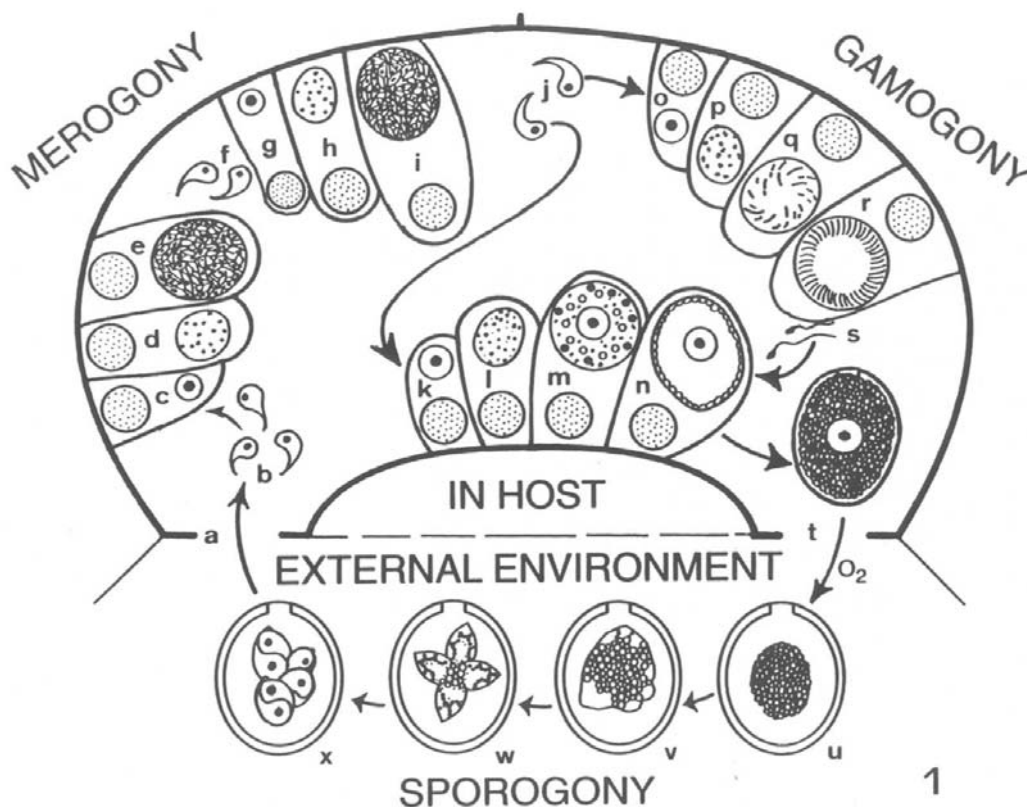


Abbildung 12: Vollständiger Lebenszyklus einer "typischen" Eimeria-Art

Erklärung siehe Text [Lindsay, D. S. et al., 1993, S. 89]

Nach Aufnahme einer sporulierten Oozyste von einem geeigneten Wirt (Fig. 1, a) kommt es vor Beginn der Infektion zur Freisetzung der Sporoziten (Fig. 1, b) aus den Sporozysten (Fig. 1, x) und der Oozyste (Fig. 1, x). Dies erfolgt mit Hilfe mechanischer, als auch enzymatischer Verdauungsprozesse (Trypsin und Gallensalze) im oberen Intestinaltrakt des Wirtes. Diese tragen dazu bei, die Sporozysten,- und Oozystenwand durchlässiger zu machen. Im Milieu des Darmes freigesetzt, muss der Sporozoit die Epithelzelle des Wirtes penetrieren, bevor eine Entwicklung stattfinden kann (Fig. 1, c). Dies beinhaltet eine Reihe von aufeinanderfolgenden Schritten, wie Erkennen der Wirtszelle, Anheftung an die Oberflächenkomponenten, Formation von „tight junctions“, Eintritt in

die Zelle (wird durch Organellen des apikalen Komplex erleichtert) und Ausbildung einer parasitophoren Vakuole um den Sporozoiten. In dieser parasitophoren Vakuole sicher, beginnt der Sporozoit schließlich mit der Merogonie (= mehrere asexuelle Zellteilungen).

Während der Merogonie (Fig. 1, c-e) werden von jedem Sporozoiten, abhängig von der Spezies von mindestens 2 bis hin zu 100.000 Merozoiten gebildet. Reife Merozoiten rupturieren, wobei die Wirtszelle zu Grunde geht (Fig. 1, f) und penetrieren in eine neue Epithelzelle. In dieser beginnen sie erneut mit ihrer Merogonie (Fig. 1, g-i). Man nimmt an, daß die Abfolge der Merogoniezyklen genetisch determiniert ist, da für jede *Eimeria* Art eine bestimmte Anzahl von Merogonie Generationen charakteristisch ist. Für einige Arten, in denen die aktuelle Anzahl von Generationen bekannt ist, variiert sie zwischen zwei und vier Generationen. Aus diesem Grund ist eine Infektion mit *Eimeria* Arten selbstlimitierend. Nichts desto trotz resultiert eine extreme Zunahme der Zahl der Parasiten durch diese Entwicklungsstufen, egal wie oft der Merogoniezyklus durchlaufen wurde.

Nach Eindringen der letzten Generation der Merozoiten in die Epithelzellen des Wirtes entwickeln sich statt weiterer Merozoiten, Gameten (Fig. 1, j). Deren größter Teil entwickelt sich wiederum zu Makrogametozyten (Makrogamonten) (Fig. 1 k-n), die einen einzelligen Makrogameten bilden, während der übrige Teil der Merozoiten sich in Mikrogametozyten entwickelt. Diese unterziehen sich einer vielfachen Zellteilung und bilden tausende von beweglichen Mikrogameten (Fig. 1, o-r). Nach Reifung der Mikrogameten verlassen diese ihre Wirtszelle (Fig. 1, s), strömen aus, penetrieren die Zellen, die reife Makrogameten enthalten (Fig. 1, n) und es beginnt die Fertilisation, die wieder diploide Bedingungen ($2n$) herstellt. Kurz nach der Fertilisation bildet sich eine dünne Membran um die Zygote und es entwickeln sich zwei wandbildende Strukturen im Zytoplasma. Diese wandern aufeinander zu und verschmelzen mit den Oberflächenmembranen um eine resistente Oozystenwand zu formen. Wenn die Oozystenwand vollkommen geformt ist, rupturiert die Oozyste die Wirtszelle und verlässt den Wirt gewöhnlich mit dem Faeces (Fig. 1, t) [Lindsay, D. S. et al., 1993, S. 89]. Außerhalb des Wirtes muss die Oozyste sporulieren, bevor sie für ein anderes Tier infektiös wird. Die Anwesenheit von Sauerstoff, feuchtem Milieu, Schatten (direktes Aussetzen der Oozyste zu UV-Strahlung tötet dieselbe) und im allgemeinen einen niedrigeren Temperatur, als die Körpertemperatur der Wirtszelle sind notwendig für das Überleben. Wenn diese Voraussetzungen gegeben sind, findet die erste meiotische Kernteilung des Sporoplasmas (diploide Zygote) in der Oozyste statt. Alle folgenden Zellteilungen, die letztendlich zur Bildung von Sporozysten führen, von denen jede zwei Sporozoiten enthält, sind mitotisch.

Nachdem der Sporulationsvorgang abgeschlossen ist, besitzen die voll ausgeformten Oozysten und ihre Sporozysten eine Reihe von strukturellen Unterschieden, die es den Systematikern ermöglicht zwischen den einzelnen Arten unterscheiden zu können.

Die Oozysten sind nun resistent gegen extreme Umweltbedingungen und die in ihr befindlichen Sporozoiten sind infektiös für das nächste mögliche Wirtstier, das sie aufnimmt.

Viele der Mechanismen des Lebenszyklus wie z.B. die Regulation ob ein Merozoit zu einem Makro-, oder Mikrogamont wird oder wie Mikrogameten die Zellen mit den entwickelten Makrogameten finden und auch Details der Fertilisation, sind indes Fragen, die weiteren Studien bedürfen.

1.4.3. Die Kokzidiose und ihre Bedeutung

Kokzidien sind sowohl für den Menschen, als auch für das Tier pathogen. Dabei besitzen nicht alle Kokzidienarten den gleichen Grad an Pathogenität. Die Eigenschaften der Kokzidien, die diesen bestimmen, sind das Reproduktionspotential, die Lokalisation im Gewebe und die Kokzidiengattung. Die intestinalen Formen rufen eine meist mild verlaufende Erkrankung des Darmepithels, die Kokzidiose hervor. Hierbei kommt es mikroskopisch zu einer milden bis subtotalen Zottenatrophie im Dünndarm mit Entzündungszellen und eosinophilen Zellen in der Lamina Propria, was zu einer Abnahme von für die Infektion verfügbaren funktionellen Epithelzellen führt. Klinisch zeigt sich bei nicht-immunsupprimierten Patienten eine selbst-limitierende Diarrhöe, während bei immunsupprimierten Patienten diese oft in eine chronische Diarrhoe übergeht. Diese klinischen Zeichen gehen normalerweise mit dem Auftreten von Oozysten im Kot einher. Extraintestinale Formen wie *Toxoplasma gondii* können nach Infektion intrauterin zur Erblindung, geistiger Retardiertheit oder Tod eines Neugeborenen führen, während Kokzidienarten wie *Sarcocystis*, nach Aufnahme ihrer Sporozysten, Zysten in gestreiften oder Herzmuskulatur bilden können [Cranendonk, R. J. et al., 2003, S. 398; Mehlhorn, H., 2001, S.]

1.4.3.1. Die Kokzidiose und ihre Bedeutung beim Haussperling

Bereits 1956 fiel Gerhard Schwalbach in Kokzidienreihenversuchen eine tagesperiodische Rhythmik der Ausscheidung von Oozysten im Faeces von Singvögeln auf. Durch diese konnte auch eine in vielen vorhergehenden Versuchen aufgetretene starke Diskrepanz in der Kokzidien-Durchseuchungsrate von Singvögeln erklärt werden. Es zeigte sich, dass unter normalen Verhältnissen die Isospora-Oozysten nur in den Nachmittags-, und Abendstunden ausgeschieden wurden und dass sowohl der Beginn der Ausscheidungsphase, als auch das Erreichen des Maximums in Abhängigkeit der Licht-Dunkel-Rhythmik stand. Unter konstanten Bedingungen konnte ein zeitlich stabiler Ausscheidungszeitraum sowie eine stabile Beziehung zwischen Ausscheidungsbeginn und Erreichen des Maximums erkannt werden [Schwalbach, G et al., 1960, S. 263]. Auch weiterführende Versuche von Keinath, Schuster, Flohrs und Wild zeigten, dass bei Nachahmung der natürlichen Licht-Dunkel-Periode (Lichtperiode von 6.00-18.00 Uhr) eine regelmäßige Oozystenausscheidung von 11.00 Uhr bis

23.00 Uhr sowie ein konstantes Ausscheidungsmaximum hauptsächlich zwischen 14.00 Uhr und 16.00 Uhr zu beobachten war [Flohrs, K., 2001, S. 68; Keinath, S., 1998, S. 23; Schuster, C., 1998, S. 54; Wild, T., 2004, S. 70]. Diese zeitliche Synchronisation ist umso beeindruckender, da mittlerweile eine große Anzahl unterschiedlicher Kokzidienarten bei Sperlingen gefunden werden konnte. So konnten Grulet et al. nachweisen, dass sich neben *Isospora lacazei* mindestens 12 weitere Kokzidienarten beim Haussperling finden lassen [Grulet, O. et al., 1982, S. 209]. So trifft die von Labbé 1893 aufgestellte Behauptung, dass fast alle Kokzidienarten bei Haussperlingen als eine Art, nämlich *Isospora lacazei* anzusehen ist, nicht mehr zu. Unterscheiden lassen sich die neu gefundenen Kokzidienarten neben einem spezifischen Auftreten im Vogeldarmtrakt, vor allem aufgrund der Morphologie ihrer frisch sporulierten Oozysten (vgl. Abb.16).

Man geht heute davon aus, dass auch bei dieser Wirt-Parasit-Beziehung, wie häufig bei natürlichen Infektionen, ein Polyparasitismus vorliegt [Grulet, O. et al., 1982, S. 209]. Dabei sind einige Kokzidien das ganze Jahr bei den Sperlingen präsent, andere findet man nur zu bestimmten Zeiten im Jahr, so dass die Intensität der Kokzidiose zwischen den Gattungen und der Saison variiert.

1.5. Fragestellung

Circadiane Rhythmen spielen eine große Rolle in der Natur. Sie lassen sich bei vielen Lebewesen - vom Einzeller bis hin zum Säuger- finden und beeinflussen deren Physiologie und Verhaltensweisen. Viele der anatomischen und physiologischen Zusammenhänge, die zu diesem circadianen Rhythmus führen, wurden mit Einführung der chronobiologischen Forschung bei einzelnen Arten zwar immer deutlicher, doch bleiben viele Fragen offen. Gerade im Bereich der Interaktion und Beeinflussung circadianer Rhythmen im Zusammenleben unterschiedlicher Spezies, wie z.B. bei einem Wirt-Parasit-Verhältnis ist vieles noch unklar und bedarf weiterer Klärung. So hat man bis heute keine Erklärung für das Auftreten von Mikrofilarien zu bestimmten Zeiten im Blut, für den circadianen Schlüpfrythmus von Zerkarien aus ihrem Zwischenwirt der Süßwasserschnecke oder das nächtliche Ablegen der Eier des Madenwurms am After des Menschen. Auch für die synchrone Reifung und das synchrone Auftreten von Plasmodienformen im Blut und den damit verbundenen regelmäßigen Fieberschüben gibt es keine ausreichende Erklärung. Neue Studien gerade im Bereich der Malariaforschung zeigen, dass Melatonin dabei eine wichtige Rolle spielen könnte. Es wäre dann nicht nur bei der Aufrechterhaltung des circadianen Rhythmus einer Spezies beteiligt, sondern wäre auch ein wichtiger Signalgeber bei der Interaktion circadianer Rhythmen verschiedener, eng verbundener Spezies. Das Anliegen dieser Arbeit besteht darin, diese These weiter zu vertiefen und somit die circadianen Rhythmen von Spezies, die in enger Interaktion stehen, besser zu verstehen.

Die nachfolgenden Ausführungen stellen die Zusammenfassung von Ergebnissen aus experimentellen Untersuchungen an kokzidieninfizierten Haussperlingen (*Passer domesticus*) dar. Sie sind seit Jahrzehnten Modellorganismen der chronobiologischen Forschung, da sie ausgeprägte tages-, sowie jahresperiodische Rhythmen zeigen. Diese wiederum erlauben interessante Rückschlüsse auf die funktionelle Bedeutung der Inneren Uhr für Verhalten und Ökologie. Durch Aufzeichnung ihrer Freß- und lokomotorischen Aktivität stehen zwei technisch einfache aber aussagekräftige Parameter für ihren circadianen Rhythmus zur Verfügung. Auch kann dieser durch Veränderungen der Lichtverhältnisse oder der Futterzeiten leicht beeinflusst werden. Des Weiteren sind bei ihnen Kokzidienarten oft das ganze Jahr über ohne schwere Krankheitserscheinungen präsent, was sie zu einem geeigneten Wirt für die Versuche macht.

Für die Versuche wurde ihr endogener Melatoninrhythmus entweder durch operative Entfernung der Epiphyse- ein Vorgang der den Rhythmus von zirkulierenden Melatonin bei diesen Tieren eliminiert, oder durch "masking" der endogenen rhythmischen Melatoninsekretion durch konstant hohe Spiegel von exogen in Silikonröhrchen applizierten Melatonin, aufgehoben. Aufgrund dessen konnte die Frage in wie weit eine Veränderung des dem Sperling eigenen Hormons Melatonin die circadiane Ausscheidung der Kokzidienoozysten beeinflusst, untersucht werden.

Im Falle einer Beeinflussung der Oozystenausscheidung durch Veränderungen des Melatoninspiegels des Haussperlings soll diese Arbeit folgende Fragen beantworten:

- Wie reagiert der Parasit auf Phasenwechsel und wie verhält er sich unter konstanten Bedingungen?
- Macht es für die Ausscheidung der Oozysten einen Unterschied, ob der endogene Melatoninspiegel des Vogels eliminiert ist, oder durch kontinuierlich appliziertes Melatonin überlagert ist?
- Synchronisiert der Parasit mit einem Zeitgeber und wenn ja, ist der Zeitgeber durch das Wirtstier gegeben oder von diesem unabhängig?
- Können aus den Ergebnissen der oben gestellten Fragen Rückschlüsse auf eine evtl. bestehende, eigene Innere Uhr des Parasiten gezogen werden?

Die mit Hilfe dieser Arbeit an einem Wirt-Parasit-Modell gewonnenen Ergebnisse, sollen zum weiteren Verstehen parasitärer Rhythmen und Interaktionen beitragen.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere und Haltung

Alle Versuche wurden mit in Süddeutschland gefangenen Sperlingen der Art *Passer domesticus*, Haussperling (vgl. Abb.11), durchgeführt. Diese wurden von der Max-Planck-Forschungsstelle für Ornithologie in Erling / Andechs zur Verfügung gestellt. Dort waren sie nach ihrem Fang einige Monate in einer Außenvolière gehalten worden. Da es sich um Wildfänge handelt, ist das Alter und die genaue Herkunft der Tiere unbekannt. Für die Versuche stand ein gut schallisolierter und lichtisolierter Raum (L=480 cm, B= 168 cm, H=270 cm) im Untergeschoß des Institutes für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technischen Universität München zur Verfügung. Dort wurden die Tiere in Einzelkäfigen (L=43 cm, H=26 cm, B=22 cm) bei relativ konstanter Raumtemperatur (20-25°C) gehalten. Die Vögel hatten über die gesamte Versuchsdauer freien Zugang zu Nahrung und Wasser. Beim Futter handelte es sich um Kokzidiostatika-freies Futter der Firma HEMO (HEMO-Entenalleinfutter, Bayerische Kraftfutter GmbH & Co, Staudach-Mühle, Hergatz, Oberbayern). Zusätzlich wurden Sand und Eierschalen, die für Sperlinge als Körnerfresser wichtig sind, angeboten.

Sowohl Wasser, als auch Futter, wurden in unregelmäßigen Abständen gewechselt und erneuert.

Als Lichtquellen dienten zum einen die Deckenbeleuchtung, die zentral über den vier Käfigen angebracht war und über einen Dimmer verändert werden konnte, als auch zwei weitere Lampen mit Glühlampen von 20 und 100 Watt, die über einen beweglichen Arm im Raum ausgerichtet werden konnten. Je nach Versuch wurde die Lichtstärke variiert und mit einem Lichtstärkemessgerät direkt an der Oberfläche der Käfige die Luxzahl überprüft. Während der Versuche wurden die Lichtverhältnisse von einer automatischen Zeitschaltuhr exakt gesteuert.

In der Eingewöhnungsphase wurden die Vögel einige Tage dem natürlichen Licht-Dunkel-Zyklus (LD) mit 12 Stunden Licht (06.00 Uhr-18.00 Uhr) und 12 Stunden Dunkelheit (18.00 Uhr-06.00 Uhr) (10 lx:0,5 lx Versuch 1; 5 lx:0,5 lx Versuch 2 und 3) ausgesetzt. In dieser Zeit wurde auch geprüft, ob bei den Vögeln eine natürliche Kokzidieninfektion vorlag. Konnten keine Oozysten nachgewiesen werden, oder war die Infektion zu schwach, wurden die Sperlinge im Labor nachinfiziert (vgl. S. 44).

Licht-Dunkel-Zyklen der Versuche:

Nachahmung des natürlichen Licht-Dunkel Zyklus LD 12:12

Während dieser Phase waren die Spatzen täglich 12 Stunden Licht von 6.00 Uhr bis 18.00 Uhr unterschiedlicher Intensität (10 lx (Versuch 1) und 5 lx (Versuch 2,3)) ausgesetzt. Die verbleibenden 12 Stunden des Tages verbrachten sie in nahezu kompletter Dunkelheit. Die Lichtintensität betrug hier 0,5 Lux.

Licht-Dunkel-Zyklus LD 12:12 mit grellem Licht

Am Ende von Versuch 1 wurden die Vögel während der Lichtphase einer Lichtintensität von 500 Lux ausgesetzt. Die Intensität der Dunkelperiode wurde nicht verändert.

Licht-Dunkel-Zyklus LD 12:12 mit zeitlichen Variationen des Licht-Dunkelzyklus

Während der Versuche 2 und 3 blieb der Licht-Dunkel-Zyklus LD 12:12 in seiner Dauer zwar erhalten, doch wurde er an definierten Tagen zeitlich verändert, so dass der Beginn der Lichtperiode und somit auch der Beginn der Dunkelperiode sich um sechs Stunden verschob. Die Lichtintensität der einzelnen Perioden wurde nicht verändert.

Dauer-Dämmerlicht LLdim

Während dieser Periode betrug die Lichtintensität 0,4 Lux über 24 Stunden am Tag.

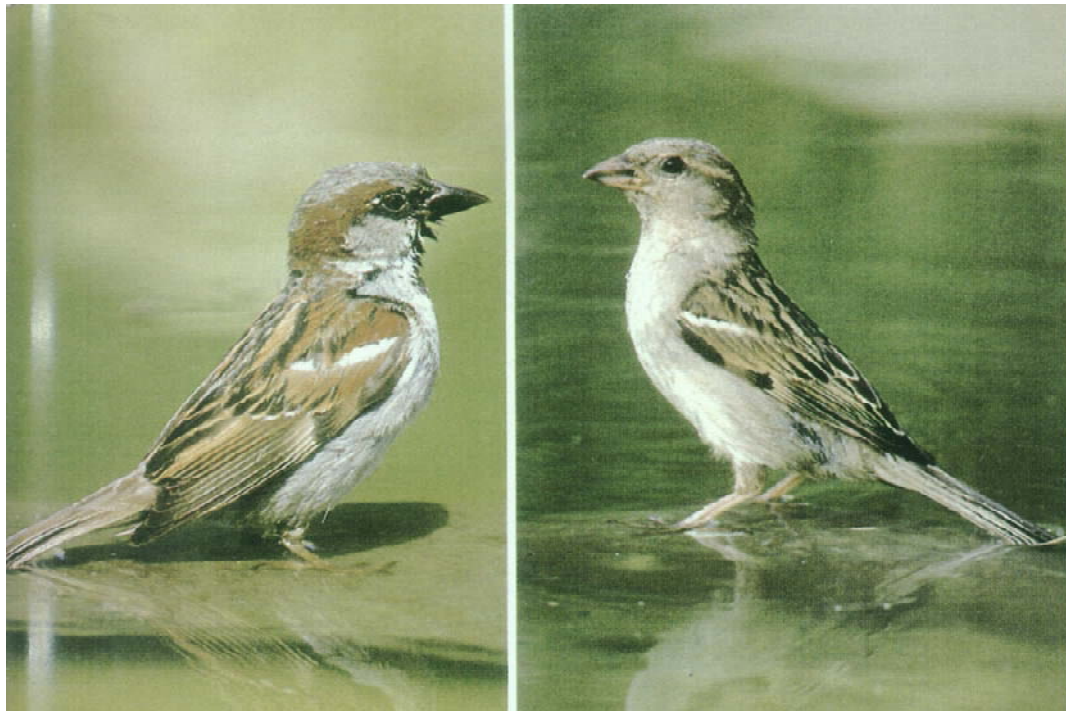


Abbildung 13: Haussperling (Passer domesticus)

links im Bild: Darstellung eines ausgewachsenen männlichen Haussperlings, rechts im Bild Darstellung eines ausgewachsenen weiblichen Haussperlings (Passer domesticus) [Bezzel, E., 2000, S. 75]

2.2.Registrierung

Futteraktivität und Bewegungsmuster wurden für jeden Spatzen, sowohl optisch, als auch quantitativ kontinuierlich registriert. Die Spatzen mussten um an Futter zu kommen eine leicht justierte Plexiglastüre, die mit einer Infrarot-Lichtschanke versehen war, lüften. Ein dabei ausgelöster click-Ton schien keinerlei Einfluß auf die Verhaltensweise der Sperlinge zu haben [Hau, M. et al., 1995, S. 89]. Ebenso wurde die lokomotorische Aktivität durch eine mit Mikroschalter versehene Stange registriert. Beide Signale wurden zum einen zu einem Registriergerät (Esterline-Angus „Event-Recorder“, Fa. Neumüller, 82024 Taufkirchen) weitergeleitet und dort aufgezeichnet zum anderen quantitativ pro Stunde von einem Computer (Fa. Hengstler GmbH, Zähler,- und Zeitsysteme, 78554 Aldingen) gespeichert (vgl. Abb. 14).

Die Aufzeichnung des Registriergerätes wurde in Streifen von jeweils 24 Stunden geschnitten und für jeden Spatz getrennt auf einen Karton untereinander gesondert nach Hüpf-, und Fressaktivität aufgeklebt. Auf diese Weise entstanden Aktogramme in denen das Verhaltensmuster der Sperlinge und Veränderungen derselben einfach erkannt werden konnten.

Die stündlich genau ermittelten Zahlenwerte des Computers wurden ausgedruckt und von Hand in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2000 eingegeben. Für jeden Sperling wurde jeweils für die Hüpf-, und die Fressaktivität eine Tabelle pro Tag angelegt. Diese wiederum wurden in ein Flächendiagramm übertragen, wobei die Uhrzeit in Stunden (x-Achse) gegen die Impulszahl (y-Achse) aufgetragen wurde, so dass der Trend der Einzelwerte über den Zeitraum des Tages gut sichtbar wurde. Durch Untereinanderlegen der einzelnen Tage, Verkleinerung der Diagramme und Betonung der Lichtverhältnisse durch unterschiedliche Grautöne mit Hilfe des Computerprogrammes Adope Photo Shop 6.0 konnte der Betrachter einen schnellen Überblick über Veränderungen des Aktivitätsmuster der Sperlinge bekommen.

So erhielt man zwei unterschiedliche Darstellungsweisen für das Verhaltensmuster der Sperlinge während der Versuche. Mit Hilfe der Aktogramme konnte der Verlauf der Aktivitätsrhythmen über einen längeren Zeitraum optisch gut nachvollzogen und ausgewertet werden, während hingegen zur genaueren Darstellung auch kurzfristiger Verhaltensveränderungen die Flächendiagramme sehr hilfreich waren.

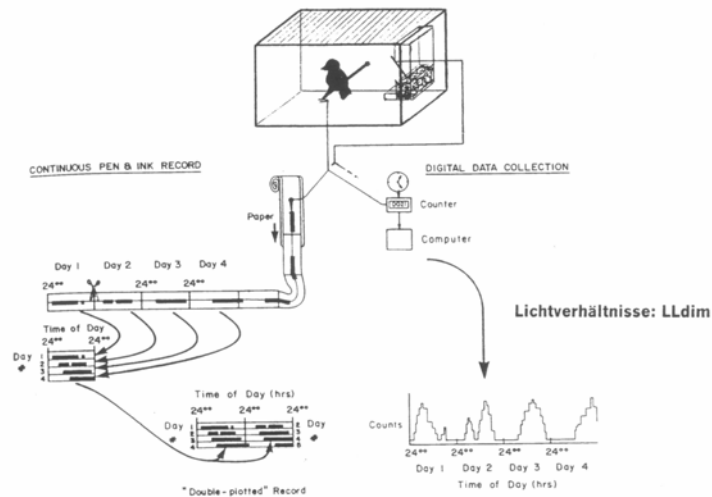


Abbildung 14: Darstellung der Apparatur zur Aufzeichnung von Aktivitätsrhythmen

Jeder Aktivitätsimpuls, der an Mikroschaltern der Sitzstange und der Futterklappe aufgenommen wird, wird sowohl an den Zählcomputer (rechte Bildhälfte, Mitte) als auch an das Registriergerät (Esterliner, linke Bildhälfte, Mitte) weitergeleitet. Die Daten aus dem Zählcomputer werden dann in Diagrammen dargestellt (rechts unten) und die Registrierstreifen des Tintendruckers werden in Form von 24-Stunden-Streifen untereinander angeordnet (links unten) und oft aufgrund besserer Übersichtlichkeit doppel-geplottet.

nach [Moore-Ede, M. C. et al., 1982, S. 48],[Keinath, S., 1998, S. 16]

2.3.Kokzidienausscheidung

Die Ausscheidungen der Sperlinge wurden durch eine eigens für diese Versuche entwickelten Apparatur [Knott, S. et al., 1992, S. 32] gesammelt. Diese hatte sich bereits in vorangegangenen Versuchen bewährt. Auf dem Boden der Käfige ausgelegtes Papier einer Papierrolle wurde von einem Elektro-Gleichstrommotor, der präzise über eine Zeitschaltuhr gesteuert wurde, alle zwei Stunden automatisch weitertransportiert und in einem Karton gestapelt. Die auf dem Papier vorhandenen Kotproben trockneten langsam an und konnten durch handschriftliche Markierung auf dem Papier der entsprechenden Ausscheidungszeit zugeordnet werden. Die Kotproben wurden bis auf wenige Ausnahmen täglich zu unterschiedlichen Zeiten eingeholt, um die Sperlinge nicht durch einen ungewollten regelmäßigen äußeren Zeitgeber zu beeinflussen.

Die Kotproben wurden in vorher leer gewogenen Reagenzgläser abgefüllt und abgewogen. Das so ermittelte Gewicht der Probe war wichtig, um ein standardisiertes Ergebnis der Oozystenanzahl pro Gramm Kot zu erhalten. Es folgte eine Verdünnung mit einer gesättigten natürlichen Natriumchloridlösung (Speisesalz ist aufgrund seiner Trennmittel und Phosphatgranulierung ungeeignet) von der 30 ml pro 1 Gramm Kot zugegeben wurde. Diese Lösung wurde nach einigen Minuten der Ruhe mit einem Glasstab verrührt und durch eine Gaze in ein weiteres Reagenzglas abfiltriert. Anschließend wurde das gewonnene Filtrat nach nochmaligem Verrühren mit einer Pasteur-Pipette direkt in eine McMaster Zählkammer (Fa. Wagner und Munz, 81829 München) abgefüllt (Abb.15).

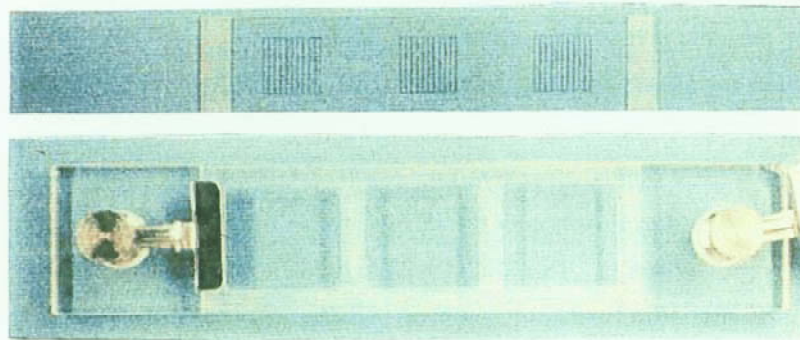


Abbildung 15: McMaster Zählkammer mit Deckglas (Fa. Wagner und Munz, München)

Diese besteht aus einer 7,5 X 2,6 cm großen gläsernen Grundplatte mit drei gleich großen abgeteilten Kammern von 1,5 mm Tiefe und einem Deckglas. Auf dem mit Druckklammern befestigten Deckglas sind drei Zählraster von je 1 cm quadratischer Fläche, die durch Striche im Abstand von 1 mm unterteilt sind, eingeritzt. Die Füllung der Kammer erfolgt von der Seite her. Verwendung findet die Kammer bei der Auszählung von Coccidienoozysten, Nematodeneiern, besonders Strongyloideneiern, sowie Eiern der Anoplocephalidae und Hymenolepididae. Es werden Infektionen ab 67 EPG erfasst (Firma Wagner und Munz, München)

Nachdem die Oozysten nach ein bis zwei Minuten in der gesättigten Lösung an die Oberfläche traten, erfolgte die Auszählung unter dem Zählraster mit Hilfe eines Mikroskops.

Da die mit einer Zähluhr erhaltene Anzahl der Oozysten pro Kammer sich nur auf 0,005 g Kot bezog wurde anschließend eine Multiplikation mit dem Faktor 200 vorgenommen, wodurch man die Menge der Oozysten pro Gramm Kot erhielt. Der Faktor 200 errechnete sich aus der vorliegenden Verdünnung von 1 Gramm Kot in 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung und dem unter dem Zählraster befindlichem Volumen von 0,15 ml ($10 \times 10 \times 1,5 \text{ mm} = 150 \text{ mm}^3 = 0,15 \text{ ml}$) (EPG-Regel = Eier pro Gramm) [Wetzel, R., 1951, S. p. 209-p. 210].

EPG-Regel:

Berechnung der Oozysten / g Kot = Anzahl der Oozysten x 200

Die so gewonnenen Daten wurden (wie bereits für die Hüpf-, und die Freßaktivität beschrieben) in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2000 eingegeben und in ein Flächendiagramm umgewandelt. Auch hier wurde auf der Abszisse die Uhrzeit (in h) und auf der Ordinate die Anzahl der Oozysten aufgetragen.



*Abbildung 16: Ansicht einer sporulierten Oozyste von Isospora Spp.
[Pappas, P. W., 1988, S. 142]*

Reinfektion der Spatzen:

Vor Beginn der Versuche wurde in der Eingewöhnungsphase der Spatzen eine Auszählung der Kokzidien vorgenommen, um den Nachweis einer Infektion zu sichern. Nicht oder zu gering infizierte Tiere wurden daraufhin nachinfiziert. Auch während der Versuche wurden einzelne Spatzen mit sporulierten Oozysten nachinfiziert. Zu diesem Zweck wurde der Kot eines stark mit Kokzidien infizierten Vogels gesammelt und über Nacht in einer leeren Petrischale im lauwarmen Wasser bei Zimmertemperatur verrührt und aufgeweicht. Am nächsten Tag wurde der verdünnte Kot auf einem Objektträger unter dem Mikroskop auf sporulierte Oozysten untersucht und bei Vorliegen derselben dem zu infizierendem Spatzen unter das Futter gemischt. Bei erfolgreicher Reinfektion war nach drei bis fünf Tagen eine deutliche Zunahme der Kokzidienzahl erkennbar.

Da während der Versuche nicht auf die absolute Anzahl, sondern auf das zeitliche Verhältnis der Ausscheidung der Kokzidien wertgelegt wurde, konnte das Verfahren der Reinfektion ohne Bedenken angewandt werden und war zudem hilfreich für den Erhalt zeitlich deutlich abgrenzbarer, unterschiedlicher Werte.

2.4. Pinealektomie

Die Pinealektomie wurde am Max-Planck-Institut für Ornithologie, Andechs / Erling durchgeführt.

Die Spatzen wurden mit 0,8µg Ketamin/g Körpergewicht i.m. narkotisiert und erhielten je nach Bedarf während der Operation eine weitere Anästhesie mit Isofluran. Nach Fixation des Schädels und Öffnen der Kopfhaut wurde mit Hilfe eines flach geführtem Skalpells ein scheibenförmiges Stück (ca. 3 mm Durchmesser) aus der Schädeldecke an der Kopfnahnt entlang entfernt. Dieses Stück wurde für die Dauer der Operation in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt.

Nach Abpräparation der Spongiosa wurden die Meningen zwischen den Gefäßen des darunter liegenden Blutsinus und auch die Venen des Sinus durchtrennt. Direkt unter diesem Sinus liegt das Pinealorgan. Nach erfolgreicher Blutstillung wurde das Pinealorgan durch Anheben des Sinus, wenn möglich mit Stiel und Plexus choroideus, entfernt. Die Schädelknochenscheibe wurde wieder eingebracht und die Kopfhaut mit einigen Stichen geschlossen [Heigl, S. et al., 1994, S. 83].

2.5. Melatoninimplantate

Für die Versuche zwei und drei wurde den Vögeln im Max-Planck-Institut für Ornithologie in Andechs melatoninhaltige und äquivalente leere Kontrollimplantate eingepflanzt.

Als Implantate wurden hierbei Siliconschläuche (Fa. Down Corning) mit einem inneren Durchmesser von 1,47 mm, einem äußerem Durchmesser von 1,96 mm und von ca. 11 mm Länge verwendet. Diese wurden vor Versuchsbeginn leer (d.h. als Kontrollimplantate ohne Melatonin) an beiden Enden mit einem Elastomer verschlossen. Nach kleiner Hautinzision wurden sie den Sperlingen subkutan am Rücken unterhalb des linken Flügels implantiert. Dazu wurde der Spatz ohne Betäubung kurz auf ein Brett gespannt. Die postoperative Wunde wurde kurzzeitig mit einer Kompresse versorgt und verschloss sich dann von selbst. Circa einen Monat nach Versuchsbeginn erfolgte nach Explantation der leeren Röhrchen, die Implantation von mit kristallinem Melatonin (Fa. Sigma) gefüllten Siliconschläuche gleichen Durchmessers und Länge. Sowohl die Implantation, als auch der Implantatwechsel, wurden von Prof. Gwinner, Frau Dr. Abraham, als auch von mir vorgenommen.

In früheren Versuchen wurde bereits gezeigt, daß vergleichbare Implantate Melatonin in einer gleichbleibenden Rate ausschütten. Dabei kommt es durch die kontinuierliche Freisetzung des Melatonin aus dem Implantat zu einer Überlagerung des endogenen tagesrhythmischen Melatoninplasmaspiegels der Tiere [Gwinner, E. et al., 1997, S. 439]. Damit können diese wahrgenommenen Effekte des Melatonins auf die Aktivität der Sperlinge, als auch auf die Ausscheidung der Oozyten als „tonisch“ betrachtet werden und es ergibt sich der gleiche Nettoeffekt wie nach Pinealektomie [Hendel, R. C. et al., 1978, S. 275], [Quay, W. B., 1986, S. 143; Turek, F. W. et al., 1976, S. 1441].

2.6. Versuchsdurchführung:

Es wurden Versuche mit pinealektomierten, als auch mit pinealintakten Spatzen, die eine kontinuierliche exogene Melatoninzufuhr durch ein subkutanes Implantat erhielten, durchgeführt.

2.6.1. Pinealektomierte Spatzen

Die Versuchsgruppe bestand aus vier Spatzen, denen ca. eine Woche vor Versuchsbeginn die Epiphyse entnommen worden war. Die ersten 6 Tage des Versuchs wurden die Spatzen in ihrem natürlichen Licht-Dunkel-Zyklus mit einer Lichtperiode von 6.00-18.00 Uhr bei 10 Lux und einer Dunkelperiode von 18.00-6.00 Uhr bei 0,5 Lux belassen. An Tag 6 erfolgte die Umstellung auf Dauerdämmerlicht bei 0,4 Lux über 24 Stunden am Tag. Dies wurde für einen Zeitraum von zwei Monaten beibehalten. Um die Gefahr eines möglichen „masking“ (vgl. S. 8) durch einen Zeitgeber zu minimieren, wurden die Spatzen zu unterschiedlichsten Zeiten versorgt und der Zeitpunkt der Kotsammlung variiert. An Tag 68 folgte für weitere fünf Tage erneut der bereits erwähnte, natürliche Licht-Dunkel-Zyklus mit der Lichtperiode von 6.00-18.00 Uhr bei 10 Lux. Daran anschließend wurde an Tag 74 um 15.00 Uhr unter sonst gleichbleibenden Bedingungen, die Lichtintensität auf 500 Lux angehoben. Dies wurde bis Versuchsende, zwei Tage später, beibehalten.

Versuchsdaten im Überblick:**Pinealektomierte Spatzen**

- Tag 1-6: LD 12:12 (0,5:10 Lux), Lichtperiode 6.00-18.00 Uhr, „Eingewöhnungsphase“
 Tag 7-67: LLdim mit 0,4 Lux
 Tag 68-73: LD 12:12 (0,5:10 Lux), Lichtperiode 6.00-18.00 Uhr
 Tag 74: Erhöhung der Lichtintensität auf 500 Lux um 15.00 Uhr
 Tag 74-76: LD 12:12 (0,5:500 Lux), Lichtperiode 6.00-18.00 Uhr

Versuchstag	Periodenlänge	Phasenlänge	Lichtintensität	Licht an	Licht aus
01.-07.	24h	12:12	0,5 lx : 10 lx	6.00 Uhr	18.00 Uhr
7.	Dauerdämmerlicht 0,4 Lux				
7.-67.	Lldim 0,4 lx				
68.	LD- Zyklus 12:12 mit Lichtperiode von 06.00 Uhr-18.00 Uhr				
68.-73.	24h	12:12	0,5 lx : 10 lx	6.00 Uhr	18.00 Uhr
74.	Erhöhung der Lichtintensität während der Lichtperiode auf 500 Lux				
74.-80.	24h	12:12	0,5 lx : 500 lx	6.00 Uhr	18.00 Uhr

Tabelle 1: Darstellung der Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse in Versuch 1

2.6.2. Melatoninimplantierte Spatzen:

2.6.2.1. Versuchsreihe mit Verlängerung der Lichtperiode

Die Versuchsgruppe bestand aus vier Sperlingen, die zwei Tage vor Versuchsbeginn im Max-Planck-Institut in Andechs ein Leerimplantat erhalten hatten. Da ein Spatz, wohl aufgrund des operativen Stresses und der zusätzlichen neuen Umgebung verstarb, wurde die Gruppe an Tag 4 mit einem neuen Spatz aufgefüllt. Die Spatzen wurden anfangs einem LD-Zyklus von 12 Std. Licht und 12 Std. Dunkelheit ausgesetzt, der ihrem Rhythmus in der freien Natur am ähnlichsten kommt (LD 12:12, Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr). Die Lichtintensität, die direkt über jedem Käfig gemessen wurde, betrug 5 : 0,5 Lux. Diese geringe Amplitude des Licht-Dunkel-Zyklus wurde gewählt, um einen möglichen direkten Effekt des Lichtes auf die Hüpf-, und die Fressaktivität der Spatzen zu minimieren. An Tag 12 des Versuchs wurde ein erster Phasenwechsel des Licht-Dunkel Zyklus durchgeführt, indem einmalig die Lichtperiode um 8 h verlängert wurde. Somit waren alle Vögel einer Phasenverspätung (phase delay) von 8 h gegenüber dem vorangegangenen Licht-Dunkel-Zyklus ausgesetzt. Nach drei Wochen in dem neuen Licht-Dunkel-Zyklus wurde an Tag 34 allen Sperlingen ein mit kristallinen Melatonin gefüllter Siliconschlauch (siehe 2.5.) implantiert. Danach wurde eine weitere Woche der LD-Zyklus beibehalten, um den Sperlingen nach dem operativen Stress Zeit zur Erholung zu geben. An Tag 42 fand erneut ein Phasenwechsel mit Verlängerung der Lichtperiode (phase shift delay) statt, so dass die neue Lichtperiode nun 10.00-22.00 Uhr betrug. Diese wurde bis Tag 64 beibehalten, bevor die Spatzen einem letzten Phasenwechsel durch einmalige Verlängerung der Lichtperiode (phase shift delay) ausgesetzt wurden und somit die Lichtperiode wie anfangs 6.00-18.00 Uhr betrug. Nach weiteren 7 Tagen wurde der Versuch beendet und die Spatzen in die Voliere zurückgebracht.

Versuchsdaten im Überblick:**Melatoninimplantierte Spatzen mit Verlängerung der Lichtperiode**

- Tag 1- 12: LD 12:12 (5 lux : 0,5l ux), Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr
 Tag 12: Phasenwechsel: Lichtperiode 14.00-02.00 Uhr
 Tag 12-34: LD 12:12 (5 lux : 0,5 lux), Lichtperiode 14.00-02.00 Uhr
 Tag 34: Implantation des Melatoningefüllten Röhrchens
 Tag 34-42: LD 12:12 (5 lux : 0,5 lux), Lichtperiode 14.00-02.00 Uhr, Ruhepause (keine Kokzidienzählung)
 Tag 42: Phasenwechsel: Lichtperiode 22.00-10.00 Uhr
 Tag 42-64: LD 12:12 (0,5:5 Lux), Lichtperiode 22.00-10.00 Uhr
 Tag 64: Phasenwechsel: Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr
 Tag 64-71: LD 12:12 (0,5:5 Lux), Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr

Versuchstag	Periodenlänge	Phasenlänge	Lichtintensität	Licht an	Licht aus	
01.-12.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	06.00 Uhr	18.00 Uhr	
12.		1. Phasensprung durch Verlängerung der Lichtperiode um 8 Stunden				
12.-34.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	14.00 Uhr	02.00 Uhr	
34.		Implantation des Melatoningefüllten Röhrchens				
34.-42.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	14.00 Uhr	22.00 Uhr	
42.		2. Phasensprung durch Verlängerung der Lichtperiode um 8 Stunden				
42.-64.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	22.00 Uhr	10.00 Uhr	
64.		3. Phasensprung durch Verlängerung der Lichtperiode um 8 Stunden				
64.-71.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	06.00 Uhr	18.00 Uhr	

Tabelle 2: Darstellung der Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse in Versuch 2

2.6.2.2. Versuchsreihe mit Verkürzung der Dunkelperiode

Es wurde versucht, sich möglichst nahe an das Protokoll des unter 2.6.2.1. genannten Versuchs zu halten, da u.a. ein direkter Vergleich der Versuche stattfinden sollte. Im Gegensatz zu Versuch 2 wurden die Sperlinge in diesem Versuch einem Phasenvorschub (phase advance) ausgesetzt. d.h. der anfängliche LD-Zyklus mit der 12 Std. Lichtperiode von 6.00-18.00 Uhr wurde an Tag 12 durch eine einmalige Verkürzung der Dunkelphase um acht Stunden „geshifet“. Somit betrug die neue Lichtperiode nun 22.00-10.00 Uhr und die Sperlinge waren einem Phasenvorschub (phase shift advance) ausgesetzt worden. Ebenso wie im unter 2.6.2.1. genannten Versuch bekamen alle Spatzen nach ca. drei Wochen (VT 33) im neuen Licht-Dunkel-Zyklus ein mit Melatonin gefülltes Röhrchen im Max-Planck-Institut implantiert. Es folgte eine Ruhephase von sieben Tagen, in der die Oozysten ausgezählt wurden, bevor ein erneuter Phasenwechsel mit Verkürzung der Dunkelperiode (phase shift advance) um acht Stunden und somit neuer Lichtperiode von 14.00-22.00 Uhr an Tag 40 des Versuchs durchgeführt wurde. Nach einem erneuten Phasenwechsel (phase shift advance) (Tag 62) wurden wie im oben genannten Versuch die Sperlinge wieder in den anfänglichen Licht-Dunkel-Zyklus entlassen, d.h. mit einer Lichtperiode von 6.00-18.00 Uhr. Nach vollständiger Synchronisation wurde der Versuch 9 Tage später beendet.

Während des Versuchs verstarben zwei Spatzen aus ungeklärter Ursache. Die Daten dieser Sperlinge wurden nicht in die Analysen miteingeschlossen.

Da die Versuchsreihe bereits fortgeschritten war und im Max-Planck-Institut zu diesem Zeitpunkt leider keine Spatzen zur Verfügung standen, wurde darauf verzichtet, die Versuchsgruppe aufzufüllen.

Versuchsdaten im Überblick:**Melatoninimplantierte Spatzen mit Verkürzung der Dunkelperiode**

- Tag 1-12: LD 12:12 (5lux : 0,5 lux), Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr
 Tag 12: Phasenwechsel: Lichtperiode 22.00-10.00 Uhr
 Tag 12-33: LD 12:12 (5lux : 0,5 lux), Lichtperiode 22.00-10.00 Uhr
 Tag 33: Implantation des mit Melatonin gefüllten Röhrchens
 Tag 33-40: LD 12:12 (5lux : 0,5 lux); Lichtperiode 22.00-10.00 Uhr, Ruhepause (Auszählung der Oozystenausscheidung)
 Tag 40: Phase Shift Lichtperiode 14.00-02.00 Uhr
 Tag 40-62: LD 12:12 (5lux : 0,5 lux), Lichtperiode 14.00-02.00 Uhr
 Tag 62: Phasenwechsel: Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr
 Tag 62-71: LD 12:12 (5lux : 0,5 lux) Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr

Versuchstag	Periodenlänge	Phasenlänge	Lichtintensität	Licht an	Licht aus	
1.-12.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	06.00 Uhr	18.00 Uhr	
12.		1. Phasensprung mit Verkürzung der Dunkelperiode um 8 Stunden				
12.-33.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	22.00 Uhr	10.00 Uhr	
33.		Implantation des Melatoningefüllten Röhrchens				
33.-40.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	22.00 Uhr	10.00 Uhr	
40.		2. Phasensprung mit Verkürzung der Dunkelperiode um 8 Stunden				
40.-62.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	14.00 Uhr	02.00 Uhr	
62.		3. Phasensprung mit Verkürzung der Dunkelperiode um 8 Stunden				
62.-71.	24h	12:12	5 lx : 0,5 lx	06.00 Uhr	18.00 Uhr	

Tabelle 3: Darstellung der Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse in Versuch 3

2.7. Auswertung

Folgende Fragen sollten bei der Auswertung der Daten beantwortet werden:

Versuch 1:

- Die circadiane Rhythmik der pinealektomierten Spatzen und der Oozystenausscheidung unter LD 12 : 12-Bedingungen
- Das Verhalten der pinealektomierten Spatzen und der Oozystenausscheidung unter konstanten Bedingungen (Ldim 0,4 lx): Rhythmus, Periodenlänge, Aktivitätsdauer, Aktivitätsintensität Phasenbeziehung und ggf. Synchronisation zwischen den Aktivitäten der Spatzen und der Oozystenausscheidung
- Das Verhalten der pinealektomierten Spatzen und der Oozystenausscheidung unter erneuten LD 12 : 12-Bedingungen: Resynchronisation und wenn ja: Anzahl der Übergangszyklen, Phasenbeziehung zwischen den Aktivitäten der Spatzen und der Oozystenausscheidung, Veränderungen des Verhaltens bei Erhöhung der Luxzahl (500 Lux) während der Lichtperiode

Versuch 2 und 3:

Spatzen mit Leerimplantat:

- Die circadiane Rhythmik und Phasenbeziehung der Aktivitäten der Spatzen und der Oozystenausscheidung unter LD 12 : 12-Bedingungen
- Das Verhalten nach Phasenwechsel: Resynchronisation mit dem Zeitgeber und wenn ja: Anzahl der Übergangszyklen, Phasenbeziehung zwischen den Aktivitäten der Sperlinge und der Oozystenausscheidung

Spatzen mit Melatonin-gefüllten Implantat:

- Die circadiane Rhythmik und Phasenbeziehung der Aktivitäten der Spatzen und der Oozystenausscheidung unter LD 12 : 12-Bedingungen

- Das Verhalten nach Phasenwechsel: Resynchronisation mit dem Zeitgeber und wenn ja: Anzahl der Übergangszyklen, Phasenbeziehung zwischen den Aktivitäten der Spatzen und der Oozystenausscheidung
- Gibt es Unterschiede im Verhalten der Spatzen und der Oozystenausscheidung unter exogener Zufuhr von Melatonin: Rhythmus, Resynchronisationszeit, Phasenbeziehung, Aktivitätsdauer, Aktivitätsintensität
- Existieren Unterschiede im Verhalten der Spatzen und der Oozystenausscheidung zwischen Versuch 2 und 3 d.h. zwischen Veränderungen der Phasenlage im Sinne eines Phasenvorschubes im Gegensatz zu einer Phasenverspätung.

Versuch 1: Pinealektomierte Spatzen

Aufgrund der besseren Übersicht und Ablesbarkeit wurden sowohl die Aktivität der Spatzen, als auch die Kokzidienausscheidung in diesem Versuch, vor allem anhand der Computerdaten, die in Flächendiagramme übertragen worden waren, ausgewertet (siehe 2.2.). In schwierig zu beurteilenden Fällen wurden zusätzlich die Aktogramme und die Zahlenwerte hinzugezogen. Bei eventuell weiter bestehenden Schwierigkeiten wurde im Text darauf hingewiesen.

Drei unabhängige Beobachter beurteilten visuell die Aktivität der Sperlinge und die Ausscheidung der Oozysten. Somit konnte über die Periodenlänge τ , die Aktivitätsdauer A , die Aktivitätsintensität, die Phasenlage und über die Phasenbeziehung Ψ eine Aussage getroffen werden. Außerdem wurde per „eye fitting“ Verfahren die Anzahl der Übergangszyklen bestimmt. Dieses Verfahren, das im ersten Moment sehr ungenau erscheint, hat sich bereits in vielen vorausgegangenen Studien zu diesem Thema bewährt [Enright, J. T., 1981, S. p.21-p.38]. So kommt es durch genaue Beurteilungskriterien (siehe unten) zu einer guten Übereinstimmung der Ergebnisse der einzelnen Betrachter, so dass dieses Verfahren als zuverlässige Auswertungsmethode angewandt werden kann.

Die Bestimmung der Periodenlänge τ eines Spatzen erfolgte durch Anlegen einer gemittelten Geraden durch den Aktivitätsbeginn des Sperlinge während 10 bis 14 Tagen. Die Differenz zwischen dem ersten und letzten Tag dieses gewählten Bereiches in Stunden wurde durch die Anzahl der dazwischenliegenden Tage ($n-1$) dividiert. Hierbei wurden nur Abschnitte mit einer stabilen Periode des Tieres verwendet, Übergangszyklen wurden ausgelassen.

Als Übergangszyklen (Transients) wurden die Tage definiert, in denen nach Umstellung der Versuchsbedingungen (noch) keine stabile Phasenlage bestand. Als stabil galt eine Phasenlage, wenn

sie an drei aufeinanderfolgenden Tagen einen konstanten Wert einnahm. Der letzte Tag vor Erreichen einer so ermittelten stabilen Phasenlage, wurde als letzter Übergangstag gewertet.

Zusätzlich wurde sowohl während den Übergangszyklen, als auch nach Einnahme der stabilen Phasenlage die Phasenbeziehung zwischen Beginn der Aktivität der Sperlinge und der Ausscheidung der Oozysten berechnet. Der Wert der Phasenbeziehung zwischen Spatz und Ausscheidung der Oozysten errechnete sich dabei für jeden Versuchsabschnitt aus dem durchschnittlichen Wert der Zeitdifferenz zwischen dem Aktivitätsbeginn der Spatzen und dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten.

Die Aktivitätsdauer wurde bestimmt, indem bei allen wertbaren Versuchstagen eines Versuchsabschnittes die Dauer der Tagesaktivität in Stunden addiert wurde und diese Summe dann durch die Anzahl der Tage dividiert wurde. Somit kam es zu einem gemittelten Wert pro Versuchsabschnitt. Es versteht sich von selbst, dass der Beginn der Berechnung erst bei stabiler Phasenlage erfolgte. Unter wertbare Tage wurden alle Tage definiert, an denen es keinerlei technische Probleme gab.

Die Aktivitätsintensität eines Versuchsabschnittes wurde bei stabiler Phasenlage des Spatzen immer im Vergleich zur Aktivitätsintensität des ersten Versuchsabschnittes bewertet. Ausnahmen werden im Text erwähnt.

Als Arrhythmie wurde eine gleichmäßige Aktivitätsverteilung über 24 Stunden ohne regelmäßige Häufung der Aktivität zu bestimmten Zeiten definiert.

Als Beurteilungskriterien wurden festgelegt:

Der Beginn der Hüpf-, und Fressaktivität wurde definiert als das Auftreten von mindestens 5 Impulsen innerhalb der ersten Stunde.

Der Beginn der Kokzidienausscheidung wurde definiert, als das Auftreten von mindestens 10 Kokzidien im Kot innerhalb einer Zählinheit, d.h. zwei Stunden.

Versuchstage an denen technische Fehler auftraten, wurden nicht gewertet.

Die Einschätzungen der Betrachter zur Periodenlänge τ und zum Phasenwinkel Ψ durften nicht mehr als 0,5 Stunden betragen. Sonst wurden die Ergebnisse nicht gewertet.

Ebenso wurde die Anzahl der Übergangstage nur gewertet, wenn die Einschätzung der Betrachter nicht mehr als einen Tag voneinander abwichen.

Zur Berechnung der Phasenbeziehung der Oozystenausscheidung zur Aktivität der Spatzen wurden bei unklarer Zahl an Übergangszyklen (v.a. in Versuchsabschnitt II (Ldim)) die ersten 10 Tage nach Phasenwechsel betrachtet und daraus die Phasenbeziehung errechnet.

Versuch 2 und 3: Spatzen mit Melatoninimplantaten

Auch hier galten die für Versuch 1 festgelegten Beurteilungskriterien. Aufgrund unterschiedlichen Versuchsaufbaues wurde allerdings zusätzlich definiert:

Aufgrund mangelnder Oozystenausscheidung am Anfang des Versuches wurde nun eine Ausscheidung von mindestens fünf Oozysten als Kriterium für den Ausscheidungsbeginn gefordert. Zusätzlich wurde als Aktivitätsdauer der Zeitraum festgelegt, in dem der Spatz nicht eine längere Aktivitätspause als zwei Stunden aufwies. Bei der Bestimmung der positiven Phasenwinkeldifferenz wurden nur Versuchstage gewertet, in denen der Spatz auch innerhalb der ersten zwei Stunden vor Lichtbeginn Aktivität zeigte. Ansonsten wurde die Aktivität in der Dunkelperiode als Störung gedeutet. Die Intensität der Oozystenausscheidung wurde aufgrund von Reinfektionen immer im Vergleich zum Ende des vorher stattgefundenen Versuchabschnittes gewertet. Einzige Ausnahme stellte hierbei Versuchsabschnitt IV (Versuch 2) dar, der aufgrund mangelnder Aussagekraft des vorher stattgefundenen Versuchsabschnittes, mit Versuchsabschnitt II verglichen wurde.

Insgesamt wurden bei diesen Versuchen aufgrund besserer visueller Übersicht und Ablesbarkeit vornehmlich die Aktogramme zur Beurteilung der Freß-, und Hüpfaktivität der Spatzen ausgewertet. Wie bei Versuch 1 gilt, daß in schwierigen Fällen zusätzlich die Flächendiagramme hinzugezogen wurden und bei eventuell weiter bestehenden Schwierigkeiten im Text darauf verwiesen wurde. Die Beurteilung der Oozystenausscheidung erfolgte wieder durch die in Flächendiagramme umgewandelten Computerdaten.

3. Ergebnisse

3.1. Pinealektomierte Spatzen

Versuchsabschnitt	Versuchstag	Bedingungen
I	01. - 06.	LD 12 : 12 (0,5lx : 10lx) Lichtphase 06-18 Uhr
II	07. - 67.	Ldim (0,4lx)
III	68. - 73.	LD 12 : 12 (0,5lx : 10lx) Lichtphase 06-18 Uhr
IV	74. - 76.	LD 12 : 12 (0,5lx : 500lx) Lichtphase 06-18 Uhr

Tabelle 4: Übersicht über die Versuchsbedingungen in Versuch 1

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV	
Bedingungen	LD 12:12 0,5:10 Lux		LLdim 0,4 Lux		LD 12:12 0,5:10 Lux		LD 12:12 0,5:500 Lux	
Periodenlänge (h)	τ_{fr}	τ_h	τ_{fr}	τ_h	τ_{fr}	τ_h	τ_{fr}	τ_h
Spatz								
A	24	24	23,18	23,17	b	24	24	24
B	24	24	23,42	23,39	24	24	d	24
C	24	24	23,47	23,45	b	24	24	24
D	24	24	23,44	d	b	24	d	24
Mittelwert	24	24	23,36	23,33	24	24	24	24

Tabelle 5: Circadiane Periodenlängen (in h) der Hüpfaktivität und der Freßaktivität der Spatzen A - D in Versuch 1 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-IV). In der letzten Zeile sind die Mittelwerte der vier Spatzen angegeben.

b: bei Übergangszyklen Beurteilung der Periodenlänge nicht möglich; d: aufgrund Hüpfverweigerung keine Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV	
Bedingungen	LD 12:12 0,5:10 Lux		LLdim 0,4 Lux		LD 12:12 0,5:10 Lux		LD 12:12 0,5:500 Lux	
Periodenlänge (h)	τ_c		τ_c		τ_c		τ_c	
Kokzidienausscheidung bei Spatz								
A	a		23,26		b		b	
B	24		e/24		24		b	
C	24		24		b		b	
D	24		24		b		b	
Mittelwert	24		23,75 (mit B 23,82)		24/b		b	

Tabelle 6: Circadiane Periodenlängen (in h) der Oozystenausscheidung der Spatzen A - D in Versuch 1 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-IV). In der letzten Zeile sind die Mittelwerte der vier Spatzen angegeben.

a: bei mangelnder Ausscheidung von Oozysten keine Aussage möglich; b: bei Übergangszyklen Beurteilung der Periodenlänge nicht möglich; e: aufgrund technischer Probleme an den Versuchstagen 50-60 nur eingeschränkte Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV	
Bedingungen	LD 12:12 0,5:10 Lux		LLdim 0,4 Lux		LD 12:12 0,5:10 Lux		LD 12:12 0,5:500 Lux	
Aktivitätsdauer (h)	Afr	Ah	Afr	Ah	Afr	Ah	Afr	Ah
Spatz								
A	12	12	12,2	7,5	nb	12	12	12
B	12	12	14,8	4,1	12	12	nb	12
C	12	12	17,6	a	nb	12	3,2	12
D	12	12	15,2	a	nb	12	nb	12
Mittelwert	12	12	14,95	5,8	12	12	7,6	12

Tabelle 7: Aktivitätsdauer (in h) der Freßaktivität (Afr) und Hüpfaktivität (Ah) der Spatzen A - D in Versuch 1 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-IV). In der unteren Zeile ist der Mittelwert der vier Spatzen angegeben.

a: aufgrund Hüpf-verweigerung keine Aussage möglich; nb: bei fehlender stabiler Phasenlage keine Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV	
Bedingungen	LD 12:12 0,5:10 Lux		LLdim 0,4 Lux		LD 12:12 0,5:10 Lux		LD 12:12 0,5:500 Lux	
Aktivitätsdauer (h)	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac
Kokzidienausscheidung bei Spatz								
A	nw		11,6		nb		nb	
B	6		10,2		8,5		nw	
C	6		9,3		nb		nb	
D	8		8,2		nb		nw	
Mittelwert	6,7		9,83		8,5		nw	

Tabelle 8: Aktivitätsdauer (in h) der Oozystenausscheidung (Ac) der Spatzen A - D in Versuch 1 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-IV).

nw: aufgrund mangelnder Oozystenausscheidung keine Aussage möglich; nb: bei fehlender stabiler Phasenlage keine Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I		II		II		III		IV	
Bedingungen	LD 12:12 0,5:10 Lux		LLdim 0,4 Lux transient		LLdim 0,4 Lux stabile Phasenlage		LD 12:12 0,5:10 Lux		LD 12:12 0,5:500 Lux	
Phasenwinkel- differenz ψ	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$
Spatz	(-6,0)	(-6,0)	-9,0	kA	-7,66	(-5,55)	-3,75	-1,0	-7,33	-7,0
B	-8,0	-8,0	-11,4	(-8,33)	-6,44	-10,13	-5,2	-5,0	kA	kA
C	-6,0	-6,0	-8,6	-8,6	-10,22	kA	-4,83	-1,0	-4,66	-2,66
D	-3,6	-3,6	-6,8	kA	-7,5	kA	-2,25	-2,0	kA	-4,0
Mittelwert	-6,0	-6,0(-5,9)	-8,95	-6,8(-7,57)	-8,0	-10,13(-7,82)	-4,01	-2,25	-6,0	-4,55

Tabelle 9: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen der Oozystenausscheidung und der Hüpf,- ($\Psi_{c/h}$) bzw. und der Freßaktivität ($\Psi_{c/fr}$) der Spatzen A - D in Versuch 1 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-IV). In Versuchsabschnitt II wurde die Phasenwinkeldifferenz sowohl während der Übergangszeit, als auch nach Einnahme der stabilen Phasenlage berechnet. In der letzten Zeile sind die Mittelwerte der vier Spatzen angegeben; Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Beginn der Aktivität des Spatzen antizipiert, negative Werte (-) zeigen eine Oozystenausscheidung nach Beginn der Hüpf,- bzw. Freßaktivität der Spatzen an.

() : Werte nur eingeschränkt beurteilbar; kA: keine Aussage möglich

3.1.1. Versuchsabschnitt I: LD 12:12 (10 lux:0,5 lux)

Hüpfaktivität:

Alle vier Spatzen zeigten eine Rhythmik (τ_h) der Hüpfaktivität mit 24 Stunden. Dabei kam es bei allen Spatzen nach Anschalten des Lichtes (10 lux) um 6.00 Uhr zu einem starken Beginn der Hüpfaktivität (Phasenwinkeldifferenz $\Psi_{h/li} = 0$). Diese hielt bei den Spatzen A, C, D bis zum Beginn der Dunkelperiode um 18.00 Uhr in gleicher Intensität an, wohingegen Spatz B einen zweigipfligen Verlauf mit Maximum der Hüpfaktivität, sowohl in den ersten Stunden nach Lichtbeginn, als auch erneut am Ende der Lichtperiode zeigte (siehe Abb.18). Mit Beginn der Dunkelperiode zeigten die Spatzen bis auf vereinzelt Hüpfen keine Aktivität mehr. Somit lag die Aktivitätsdauer aller Spatzen bei 12 Stunden.

Fressaktivität:

Die Verteilung des Fressverhaltens entsprach der der Hüpfaktivität mit ebenfalls einer Periodenlänge (τ_f) von 24 Stunden. Während der gesamten Lichtperiode zeigten die Spatzen Fressaktivität, allerdings war diese bei allen Spatzen außer bei Spatz D während der Lichtperiode schwächer ausgeprägt, als die Hüpfaktivität. Auch war bei keinem der Spatzen ein zweigipfliger Aktivitätsverlauf während der Lichtperiode zu erkennen. Mit Beginn der Dunkelperiode kam es zu keiner Aktivität, so dass die Aktivitätsdauer bei 12 Stunden lag und sich eine Phasenwinkeldifferenz von null ($\Psi_{f/li} = 0$) ergab.

Oozystenausscheidung:

Ebenso wie die Freß-, und die Hüpfaktivität lag die Periodenlänge (τ_o) der Oozystenausscheidung in diesem Versuchsabschnitt bei 24 Stunden. Dabei waren die ersten Oozysten in geringer Konzentration ab 10.00 Uhr nachweisbar. Das Maximum lag bei allen Spatzen im Durchschnitt zwischen 16.00 und 18.00 Uhr. Die Ausscheidungsdauer (A_c) betrug gemittelt 6,5 Stunden. Dieser Wert kann bei geringer Kokzidienzahl allerdings nur eingeschränkt gewertet werden. Spatz A wurde aufgrund mangelnder Oozystenausscheidung und Beginn der Messung erst an VT 5 nicht gewertet. Hinsichtlich der Phasenlage der Kokzidien zu den Aktivitäten der Spatzen ($\Psi_{f/c}$ und $\Psi_{h/c}$) ergab sich ein Wert von -6,0 Stunden.

3.1.2. Versuchsabschnitt II: Lldim (0,4lux)

Hüpfaktivität:

Nach Umstellung des Lichts auf ein 24-stündiges Dauerdämmerlicht (Lldim 0,5 lux) entwickelten Spatz A und B eindeutig einen Freilauf mit einer Periodenlänge τ_h von gemittelt 23,28 Stunden. Diese war den gesamten Versuchsabschnitt (60 Tage) über nachweisbar, allerdings verkürzte sich die Periodenlänge von Spatz B etwas während des Versuchsabschnittes (von τ_h 23,41 (VT 9-19) auf τ_h 23,37 Stunden (VT 48-58)). Bei diesem Spatz war auch mit drei Tagen bis zum Beginn des Freilaufes die Zahl der Übergangszyklen messbar. Die Transients der anderen Tiere konnten bei anfangs undeutlichem Freilaufverhalten nicht bewertet werden.

Spatz C entwickelte anfangs eine Periodenlänge τ_h von 23,45 Stunden. Diese war allerdings bei mangelnder Hüpfaktivität ab VT 23 nicht mehr nachweisbar, so dass dieses Ergebnis nur eingeschränkt zu werten ist. Ebenso wies Spatz D mit Beginn des Versuchsabschnittes keine Hüpfaktivität mehr auf. Insgesamt fiel auf, dass bei allen Spatzen mit Beginn des Dauerdämmerlichts die Hüpfaktivität sehr stark abnahm. So ist auch der Mittelwert der Aktivitätsdauer (A_h) mit 5,8 Stunden (Spatz A, B) nur unter Vorbehalt zu werten.

Fressaktivität:

Alle 4 Spatzen entwickelten einen Freilauf mit gemittelter Periodenlänge τ_f von 23,38 Stunden. Diese war am besten ab VT 40 und somit nach 35 Versuchstagen unter Lldim ersichtlich. Dieser Freilauf hielt bei den Spatzen A, C, D bis zum Ende des Versuchsabschnittes an, wohingegen bei Spatz B dieses freilaufende Verhalten nur von VT 44 bis VT 63 klar ersichtlich war. Ansonsten zeigte der Spatz eher eine Periodenlänge (τ_f) nahe 24 Stunden.

Im Gegensatz zur Hüpfaktivität war eine Zunahme der Freßaktivitätsdauer (A_{fr}) der Spatzen im Dauerdämmerlicht auf 14,95 Stunden im Mittel gegeben. Insgesamt nahm bei allen Spatzen, bis auf Spatz D, die Intensität der Fressaktivität gegenüber Versuchsabschnitt I ab. Allerdings war diese im Vergleich zur Abnahme der Hüpfaktivität lange nicht so ausgeprägt. Spatz D wies weiterhin die gleiche Freßaktivitätsdauer wie unter LD 12:12 (0,5 lux:10 Lux) auf. Auch hier war die Zahl der Übergangszyklen bei wirklich erst deutlichem freilaufenden Verhalten ab VT 40 schlecht zu erkennen (siehe Abb.14).

Oozystenausscheidung:

Leider konnten aufgrund eines technischen Problemes bei den Spatzen B, C und D an den Versuchstagen 52-60 und 62-67 keine Oozysten bzw. nur eingeschränkt Oozysten ausgezählt werden. An den übrigen Tagen dieses Versuchabschnittes zeigte sich bei den Spatzen C und D eine circadiane Periodik mit τ_c von 24 Stunden. Diese war bei Spatz A ab VT 23 bis VT 33 ebenso klar ersichtlich. Allerdings zeigte die Oozystenausscheidung dieses Spatzen ab VT 34 ein freilaufendes Verhalten mit einer Periodenlänge von τ_c 23,26 Stunden. Diese hielt bis zum Ende des Versuchabschnittes an. Aufgrund unterschiedlichen Ausscheidungszeiträumen der Oozysten v.a. in den Nachmittags-, und Abendstunden und fehlenden Daten konnte die Oozystenausscheidung bei Spatz B nur eingeschränkt gewertet werden. Es zeichnete sich bei den wertbaren Tagen eine gewisse Rhythmik mit einer Periodenlänge von $\tau_c = 24$ Stunden ab.

Der Zeitraum der Ausscheidung (A_c) lag im Mittel bei 9,83 Stunden. Das Maximum der Oozystenausscheidung verschob sich bei Spatz D zeitlich etwas nach hinten. Es lag nun zwischen 16 und 20 Uhr. Spatz C wies weiterhin am häufigsten ein Maximum zwischen 14.00 und 16.00 Uhr auf. Weiterhin auffällig war eine starke Abnahme der Oozystenausscheidung von Spatz D zu Beginn von Lldim. Leider konnte bei bereits in Versuchsabschnitt I bestehender geringer Oozystenausscheidung der anderen Spatzen, keine Aussage über die Veränderung der Ausscheidung bei Beginn der Dunkelperiode getroffen werden.

Hinsichtlich der Phasenlage zwischen Oozystenausscheidung und Fressaktivität ergab sich für die Zeit in der sowohl Spatz, als auch Oozystenausscheidung, noch keine stabile Phasenlage eingenommen hatten, ein gemittelter Wert von $\Psi_{c/fr}$ -8,95 Stunden. Der durchschnittliche Wert von $\Psi_{c/h}$ -7,57 Stunden der Phasenbeziehung zur Hüpfaktivität konnte, bei Hüpfverweigerung von Spatz A und D und geringer Kokzidienausscheidung von Spatz B, nur sehr eingeschränkt beurteilt werden. Nach Einnahme der stabilen Phasenlage zeigte die Ausscheidung der Oozysten zur Fressaktivität einen durchschnittlichen Wert von $\Psi_{c/fr}$ -8,0 Stunden, wobei diese Verlängerung der Phasenwinkeldifferenz im Vergleich zu Versuchsabschnitt I vor allem auf den späteren Ausscheidungsbeginn der Oozysten von Spatz C zurückzuführen ist (Phasenwinkeldifferenz $\Psi_{c/fr}$ von Spatz C: -10,22 Stunden). Bei Betrachtung der Phasenlage im Bezug auf die Hüpfaktivität können bei fehlender Aktivität von Spatz C und D und sehr geringer Aktivität von Spatz A die Werte wieder nur unter großem Vorbehalt beurteilt werden (Phasenwinkeldifferenz $\Psi_{c/h}$ = -10,13 Stunden).

3.1.3. Versuchsabschnitt III: LD 12:12 (10 lux :0,5 lux)

Hüpfaktivität:

Nach erneutem Beginn der LD-Periode zeigten die Spatzen geschlossen ab dem ersten Versuchstag dieses Abschnittes wieder eine Periodenlänge von τ_h 24 Stunden. Dabei kam es bei allen Spatzen zu einem starken Beginn der Hüpfaktivität mit Beginn der Lichtperiode um 6.00 Uhr. Das Maximum der Hüpfaktivität war bei allen Spatzen deutlich in den ersten beiden Stunden nach Lichtbeginn zu erkennen. Danach kam es zu einer Abnahme der Aktivität, allerdings zeigten alle Spatzen am Ende der Lichtperiode an einigen Versuchstagen nochmals einen Anstieg der Aktivität. Mit Beginn der Dunkelperiode kam es bis auf vereinzelte Hüpfen zu keiner weiteren Aktivität. Die Aktivitätsdauer (A_h) lag somit wieder bei 12 Stunden. Die Aktivitätsintensität (I_h) lag bei den Spatzen A, B und C leicht unterhalb der Intensität aus der ersten Lichtperiode, somit allerdings weit über der Aktivität im Dauerdämmerlicht. Spatz D zeigte im Vergleich zur ersten Lichtperiode eine leichte Zunahme der Intensität.

Fressaktivität:

Nachdem dieser Versuchsabschnitt mit 6 Versuchstagen sehr kurz geplant war, lagen bei den Spatzen A, C und D aufgrund fehlender stabiler Phasenlage leider keine verwertbaren Daten über die Periodenlänge vor. Spatz B entwickelte nach zwei Übergangszyklen bereits eine stabile Phasenlage mit einer Periodenlänge τ_{fr} von 24 Stunden. Dabei lag der Aktivitätsbeginn mit Beginn der Lichtperiode bei 6.00 Uhr. Die Fressaktivität wies einen zweigipfligen Verlauf mit höchster Intensität in den Morgenstunden und mit einem zweitem Maximum kurz vor Ende der Lichtperiode auf. Die Aktivitätsdauer (A_{fr}) lag bei 12 Stunden und im Vergleich zur ersten Licht-Dunkelperiode kam es zu einer geringen Abnahme der Fressaktivität.

Oozystenausscheidung:

Ebenso wie bei der Fressaktivität konnten die Daten der Oozystenausscheidung bei den Spatzen A, C und D aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes und somit mangelnder Einnahme der stabilen Phasenlage nicht gewertet werden. Die Oozystenausscheidung von Spatz B dagegen erreichte nach 3 Übergangszyklen eine stabile Phasenlage. Daraufhin betrug die Periodenlänge der Oozystenausscheidung (τ_c) des Spatzen 24 Stunden. Der Ausscheidungsbeginn lag dabei meist zwischen 10.00 und 12.00 Uhr und das Maximum der Ausscheidung wurde zwischen 16.00 und 18.00 Uhr erreicht. Die Spatzen B und D wiesen im Vergleich zum Ende von Versuchsabschnitt III eine

Zunahme der Oozystenausscheidung auf, wohingegen bei den Spatzen A und C eine Abnahme festzustellen war. Ein Vergleich mit Versuchsabschnitt I konnte aufgrund einer Reinfektion an VT 14 und VT 27 (während Versuchsabschnitt II) nicht vollzogen werden.

Die einzig wertbare Aktivitätsdauer von Spatz B lag bei $A_c = 8,5$ Stunden.

Die Phasenlage der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität betrug in diesem Versuchsabschnitt gemittelt ($\Psi_{c/fr}$) – 4,01 Stunden und zur Hüpfaktivität ($\Psi_{c/h}$) – 2,25 Stunden.

3.1.4. Versuchsabschnitt IV: LD 12:12 (500 lux:0,5lux)

Hüpfaktivität:

Nachdem im letzten Teil des Versuches die Lichtintensität während der Lichtperiode auf 500 Lux bei sonst gleichen Versuchsbedingungen gesteigert wurde, zeigten die Spatzen weiterhin eine Rhythmik der Hüpfaktivität mit einer Periodenlänge τ_h von 24 Stunden. Die Aktivitätsdauer (A_h) betrug bei allen Spatzen 12 Stunden und hatte bei den Spatzen B, C und D bereits nach einem Versuchstag unter diesen Bedingungen ihr Maximum in den ersten 3 Stunden nach Lichtbeginn. Spatz A entwickelte dieses nach 4 Tagen. Bei den Spatzen C und D nahm während der Dauer der Lichtperiode die Aktivität kontinuierlich ab, wohingegen Spatz B ein zweites Aktivitätsmaximum kurz vor Beginn der Dunkelperiode aufwies und Spatz A relativ konstant die gleiche Hüpfaktivität während der gesamten Lichtperiode zeigte. Die Intensität der Hüpfaktivität nahm bei allen Spatzen im Vergleich zu Versuchsabschnitt III zu.

Fressaktivität:

Unter den gegebenen Bedingungen nahm im Gegensatz zur Hüpfaktivität die Fressaktivität aller Spatzen stark ab. Nur Spatz A wies weiterhin eine wertbare Fressaktivität auf. Die Aktivitätsdauer zeigte eine Periodenlänge τ_{fr} von 24 Stunden und eine Aktivitätsdauer (A_{fr}) von 12 Stunden. Diese lag in der gesamten Lichtperiode, ohne wirklich eindeutig erkennbarem Maximum und endete mit Beginn der Dunkelperiode.

Spatz C zeigte ein bis zwei Stunden vor Lichtbeginn eine Fressaktivität, die mit Anschalten des Lichts nicht mehr nachweisbar war, so dass er eine Aktivitätsdauer (A_{fr}) von gemittelt 3,2 Stunden aufwies.

Oozystenausscheidung:

Bei zu geringer Dauer des Versuchsabschnittes kann sowohl über die Periodenlänge, als auch über den Ausscheidungszeitraum keine Aussage getroffen werden. Auffällig war eine drastische Abnahme der Oozystenausscheidung bereits einen Tag unter gegebenen Bedingungen. Spatz A zeigte eine Fortführung der in Versuchsabschnitt III begonnenen Übergangszyklen, die übrigen Spatzen konnte aus oben genannten Gründen nicht gewertet werden.

Die Phasenlage zwischen der Ausscheidung der Oozysten und Fressaktivität ($\Psi_{c/fr}$) betrug durchschnittlich $-6,0$ Stunden. Im Bezug auf den Beginn der Hüpfaktivität kam es im Mittel nach $\Psi_{c/h} = 4,55$ Stunden zum Ausscheidungsbeginn der Oozysten.

Spatz A Versuch 1

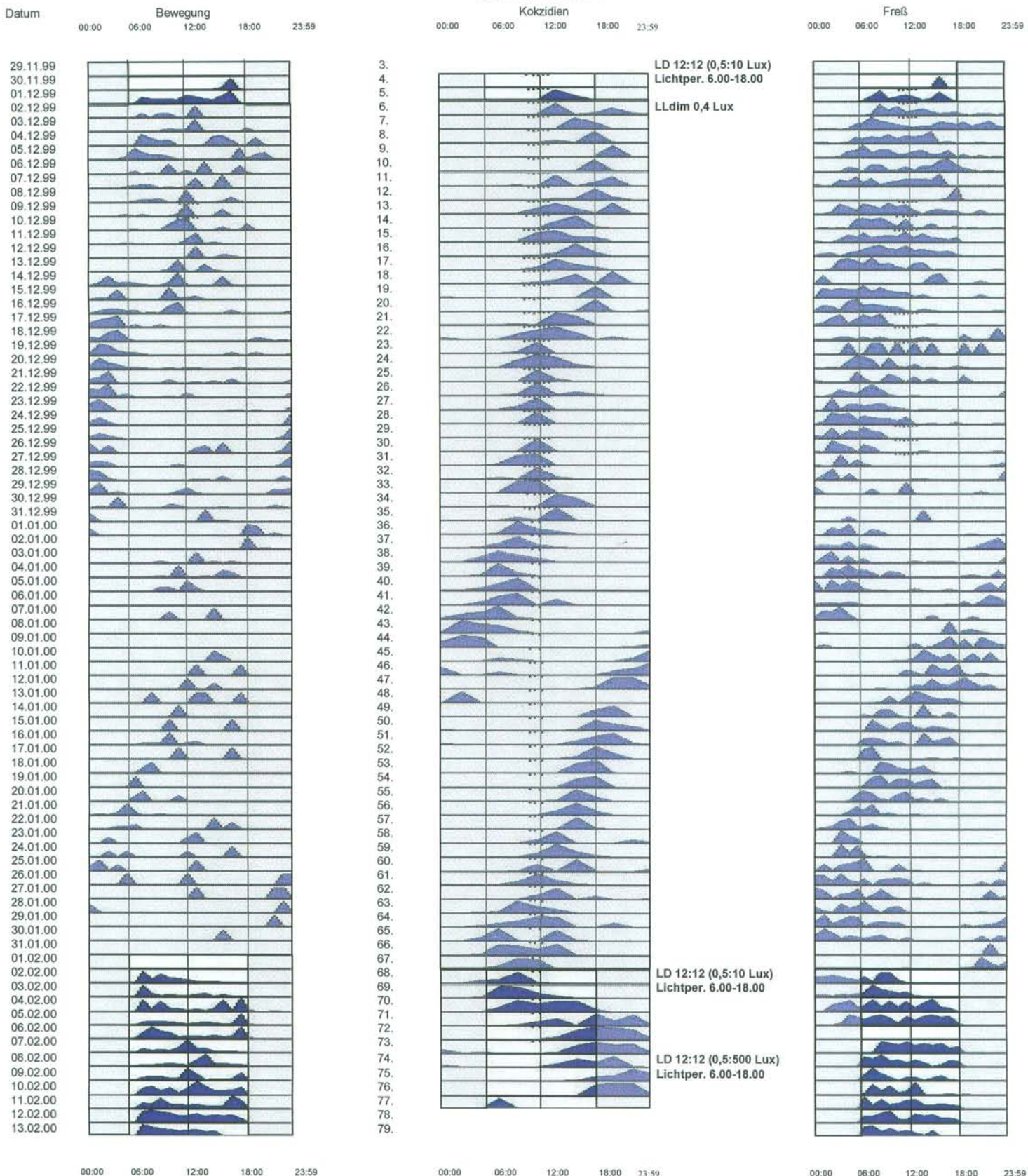


Abbildung 17: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) des Spatzes A in Versuch 1. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Die ersten drei Versuchstage wurden die Spatzen unter oben genannten Bedingungen gehalten, allerdings erfolgte noch keine quantitative Aufzeichnung der Aktivität mit Hilfe des Computers aufgrund der Eingewöhnphase.

VT 20 und VT 28-30: Dokumentationsausfall von 22-08.00 Uhr bei Spatz A; VT 42: Reinfektion von Spatz A

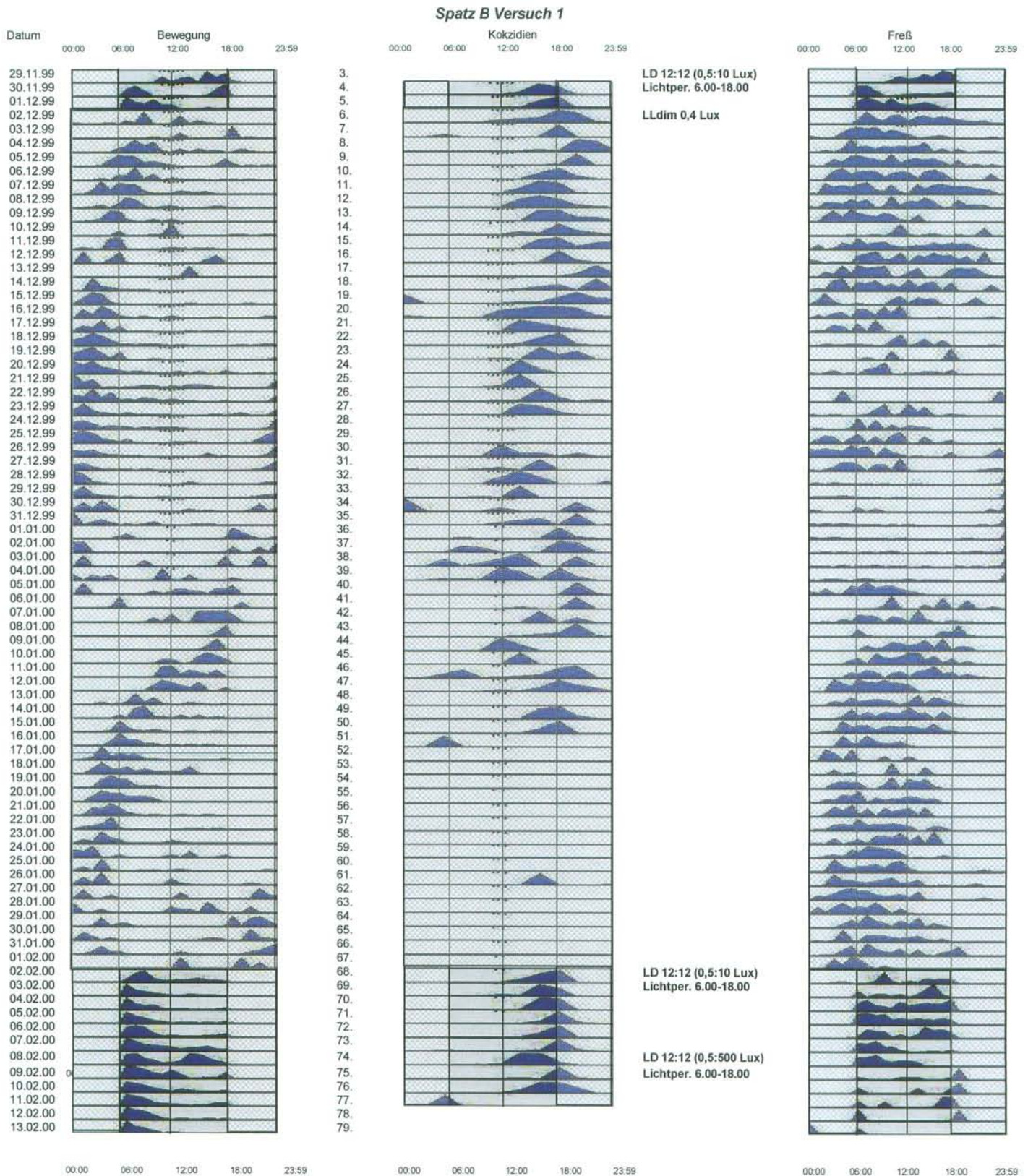


Abbildung 18: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenauscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) von Spatz B in Versuch 1. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Die ersten drei Versuchstage wurden die Spatzen unter oben genannten Bedingungen gehalten, allerdings erfolgte noch keine quantitative Aufzeichnung der Aktivität mit Hilfe des Computers (graphische Aufzeichnung erfolgte).

VT 28-30: Dokumentationsausfall bei allen Spatzen; VT 42: Reinfektion von allen Spatzen

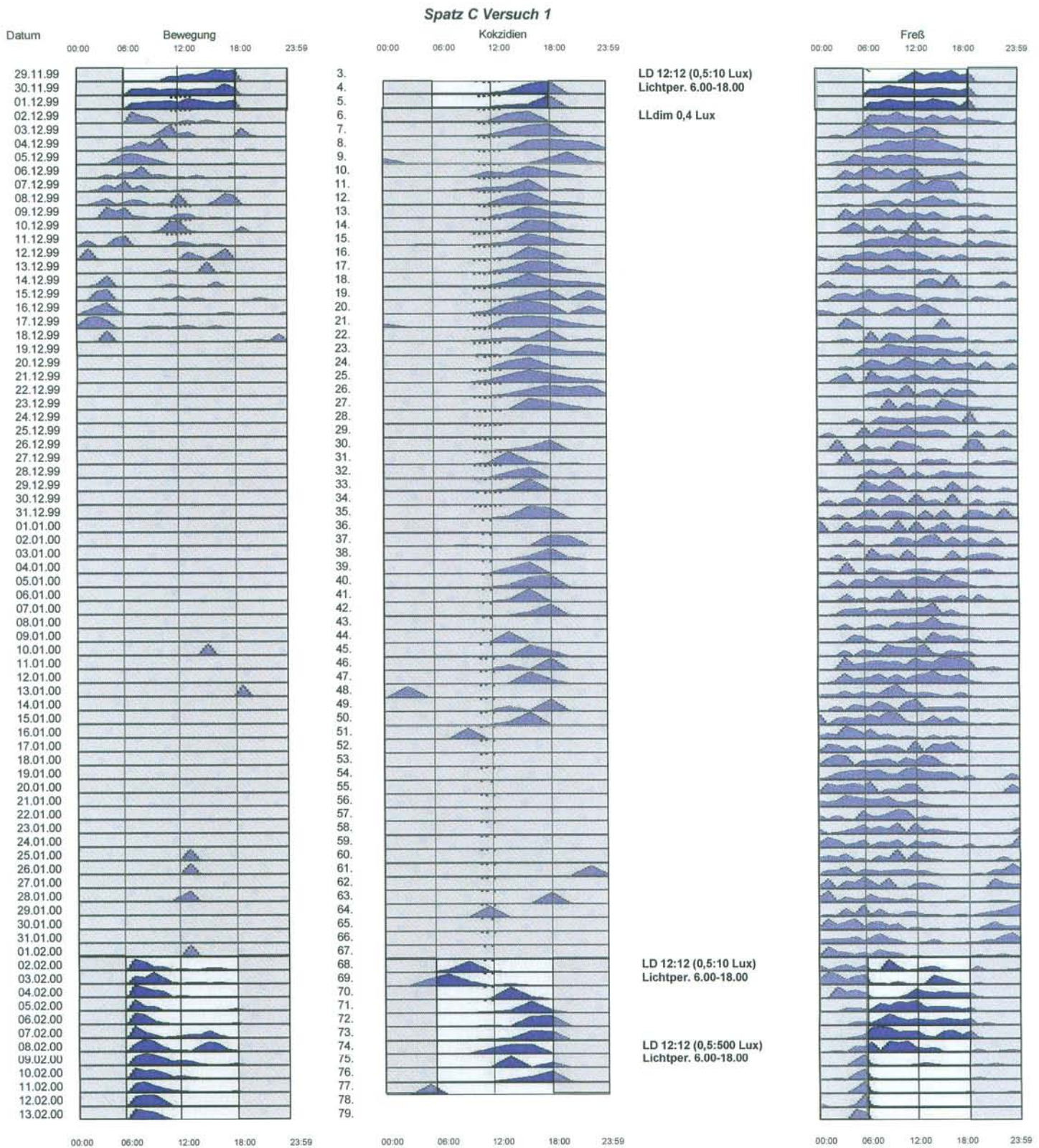


Abbildung 19: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) von Spatz C in Versuch 1. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Die ersten drei Versuchstage wurden die Spatzen unter oben genannten Bedingungen gehalten, allerdings erfolgte noch keine quantitative Aufzeichnung der Aktivität mit Hilfe des Computers (graphische Aufzeichnung erfolgte).

VT 28-30: Dokumentationsausfall bei Spatz C; VT 27 und 42: Reinfektion von Spatz C

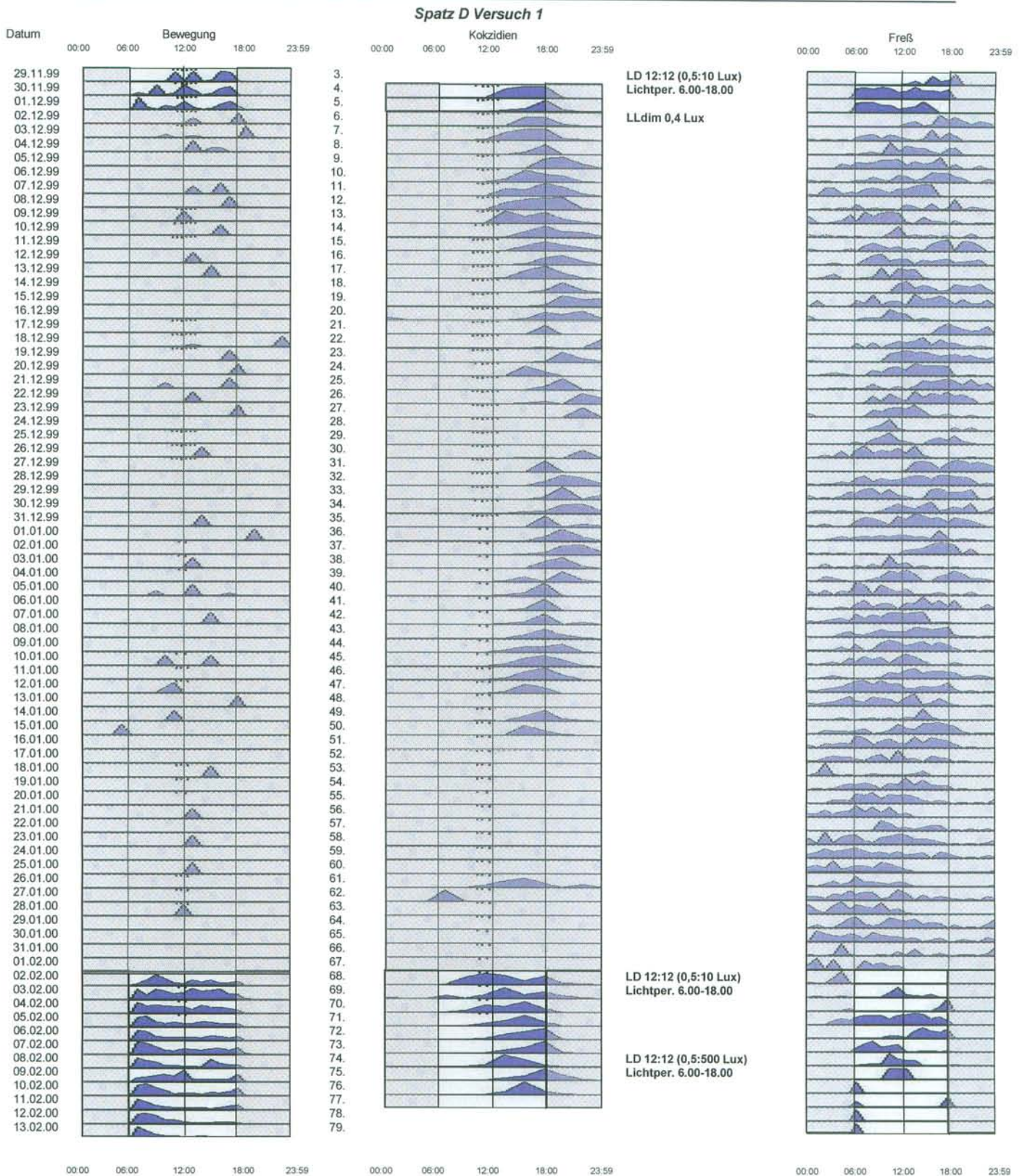


Abbildung 20: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen D in Versuch 1. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Die ersten drei Versuchstage wurden die Spatzen unter oben genannten Bedingungen gehalten, allerdings erfolgte noch keine quantitative Aufzeichnung der Aktivität mit Hilfe des Computers (graphische Aufzeichnung erfolgte).

VT 28-30, VT48-50 und VT 57: Dokumentationsausfall bei Spatz D; VT 27 und 42: Reinfektion von Spatz D

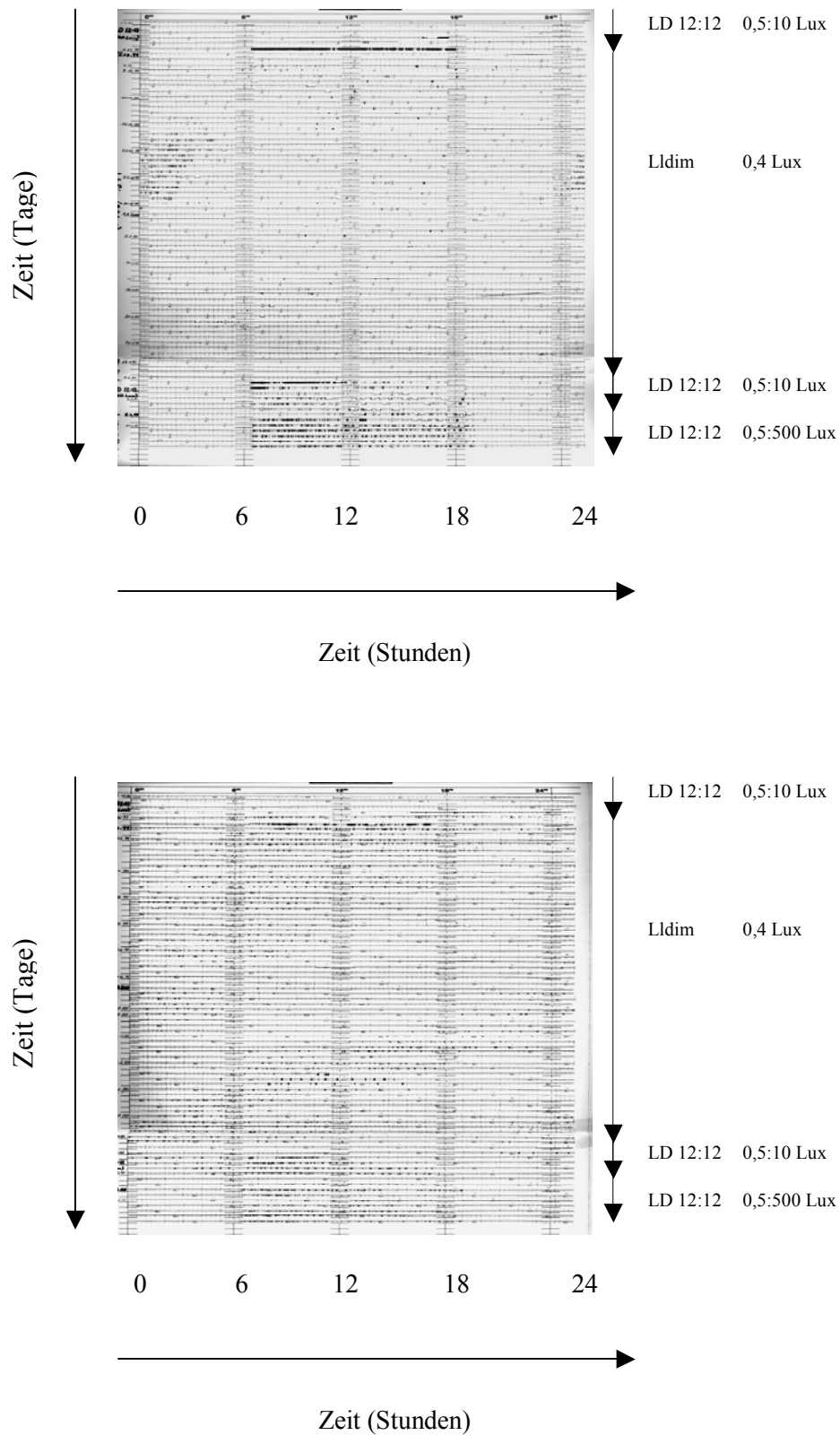


Abbildung 21: Hüpf,- und Freßaktogramm des Spatzen A in Versuch 1.

Unter konstanten Bedingungen in Dauerdämmerlicht (Lldim: 0,4lx) zeigt der Sperling sowohl bei der Hüpf-, (oben im Bild) als auch bei der Freßaktivität (unten im Bild) ein freilaufendes Verhalten mit einer Periodenlänge $\tau < 24$ Stunden.

Ordinate: Zeit (in Tagen), Abszisse: Tageszeit; die Versuchsbedingungen sind am rechten Bildrand angezeigt.

3.2. Spatzen mit Melatoninimplantaten

3.2.1. Versuch 2: Verlängerung der Licht periode

Versuchsabschnitt	Versuchstag	Bedingungen	
I	01.-12.	LD 12:12 Lichtphase 06.00-18.00 Uhr Leerimplantat	(5 lux:0,5 lux)
II	12.-34.	LD 12:12 Lichtphase 14.00-02.00 Uhr Leerimplantat	(5 lux:0,5 lux)
III	34.-42.	LD 12:12 Lichtphase 14.00-02.00 Uhr Implantation eines Melatoninröhrchens	(5 lux:0,5 lux)
IV	42.-64.	LD 12:12 Lichtphase 22.00-10.00 Uhr Melatoninimplantat	(5 lux:0,5 lux)
V	64.-71.	LD 12:12 Lichtphase 06.00-18.00 Uhr Melatoninimplantat	(5 lux:0,5 lux)

Tabelle 10: Übersicht über die Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse der Abschnitte I-V des 2. Versuchs

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melantoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melantoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melantoninimplantat	
Phasenwinkeldifferenz	$\Psi_{fr/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{fr/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{fr/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{fr/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{fr/li}$	$\Psi_{h/li}$
Spatz										
A	0,0	0,0	+0,13	+0,11	+0,14	0,0	+0,19	0,0	kA	-1
B	+1,0	0,0	0,0	+1,89	0,0	+0,83	+0,19	+0,8	kA	0,0
C	+1,0	+0,67	+0,54	+0,25	0,0	0,0	+0,07	+0,3	g+0,66	0,0
D	0,0	e(-1,0)	+0,3	0,0	+2,43	0,0	+0,22	+0,3	g+0,33	0,0
Mittelwert	+0,5	+0,22	+0,92	+0,56	+0,64	+0,21	+0,17	+0,35	g+0,50	-0,25

Tabelle 11: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Hüpf-, ($\Psi_{h/li}$) bzw. der Freßaktivität ($\Psi_{fr/li}$) der Spatzen A - D in Versuch 2 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Hüpf-, und bzw. Freßaktivität den Lichtbeginn antizipierten, negative Werte (-) zeigen eine Aktivität nach Helligkeitsbeginn an.

g: Werte aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt wertbar; kA: keine Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melantoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melantoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melantoninimplantat	
Phasenwinkeldifferenz	$\Psi_{c/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{c/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{c/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{c/li}$	$\Psi_{h/li}$	$\Psi_{c/li}$	$\Psi_{h/li}$
Spatz										
A	g-6,4		-6,33		g-6,0		-7,56		kA	
B	kA		-5,83		g-6,0		-6,46		g-6,0	
C	-6,29		-5,38		g-6,0		-6,91		kA	
D	-6,57		-6,13		g-6,0		-6,31		-6,0	
Mittelwert	-6,43 (g-6,42)		-5,92		g-6,0		-6,81		-6,0(h-6,0)	

Tabelle 12: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Oozystenausscheidung ($\Psi_{c/li}$) der Spatzen A - D in Versuch 2 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Lichtbeginn antizipierte, negative Werte (-) zeigen eine Ausscheidung nach Helligkeitsbeginn an.

g: Werte aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt wertbar; kA: keine Aussage möglich

3.2. Spatzen mit Melatoninimplantaten

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Phasenwinkeldifferenz	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$
Spatz										
A	g-6,4	g-6,4	-6,2	-6,22	g-5,86	g-6,0	-7,37	-7,56	kA	kA
B	kA	kA	-5,83	-3,94	g-6,0	g-5,17	-6,27	-5,66	kA	g-6,0
C	-5,29	-5,62	-4,84	-5,13	g-6,0	g-6,0	-6,84	-6,61	kA	kA
D	-6,57	e(7,57)	-3,13	-6,13	g-3,57	g-6,0	-6,09	-6,01	-5,67	-6,0
Mittelwert	-6,09	-6,01	-5,0	-5,35	g-5,36	g-5,79	-6,64	-6,46	-5,67	-6,0

Tabelle 13: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß,- ($\Psi_{c/fr}$) bzw. Hüpfaktivität ($\Psi_{c/h}$) der Spatzen A - D in Versuch 2 nach Einnahme der stabilen Phasenlage (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Aktivitäten der Spatzen antizipierte, negative Werte (-) zeigen eine Ausscheidung nach Aktivitätsbeginn der Tiere an. g : Werte aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt wertbar; kA: keine Aussage möglich, e: bei mangelnder Aktivität Wert nur eingeschränkt wertbar

Versuchsabschnitt	I-II		III-IV		IV-V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) 1. Phasenwechsel Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) 2. Phasenwechsel Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) 3. Phasenwechsel Melatoninimplantat	
Phasenwinkeldifferenz	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$	$\Psi_{c/fr}$	$\Psi_{c/h}$
Spatz						
A	(-5,67)	(-3,33)	-3,18	-3,09	g -7,4	g -3,66
B	(-2,5)	(-2,5)	-3,57	-3,43	g -6,75	g -3,5
C	-6,63	-5,88	-5,55	-3,83	g -6,0	g -3,2
D	-5,33	-1,66	-4,17	-3,0	g -5,0	g -3,6
Mittelwert	-5,98 (-5,03)	-3,77 (-3,34)	-4,12	-3,34	g -6,29	g -3,49

Tabelle 14: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß,- ($\Psi_{c/fr}$) bzw. Hüpfaktivität ($\Psi_{c/h}$) der Spatzen A - D in Versuch 2 während der Resynchronisationszeit (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Aktivitäten der Spatzen antizipierte, negative Werte (-) zeigen eine Ausscheidung nach Aktivitätsbeginn der Tiere an. ()= Aussage aufgrund technischer Fehler und bei Spatz B fehlender Oozystenausscheidung nur eingeschränkt möglich; g: bei unvollständigen Shift Werte nur eingeschränkt wertbar

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Transients	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h
Spatz										
A	0	0	6	2	0	0	(5)	1	5	(4)
B	0	0	7	2	0	0	5	1	(5)	1
C	0	0	8	7	0	0	5	1	3	1
D	0	0	5	1	0	0	3	1	4	1
Mittelwert	0	0	6,5	3	0	0	4,33(4,5)	1	4(4,25)	1(1,75)

Tabelle 15: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) von Freß-, (T_{fr}) und Hüpfaktivität (T_h) der Spatzen A - D in Versuch 2 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

() bedeutet, daß es im "eye-fitting-verfahren" zu keiner eindeutige Einigung im Rahmen der Definitonsgrenzen kam; beim Einschluß dieser Werte ergeben sich die Mittelwerte in Klammern

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux/0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Transients	T _c		T _c		T _c		T _c		T _c	
Spatz										
A	0		9		0		11		rbrmind 5	
B	0		7		0		7		4	
C	0		8		0		9		rbrmind 5	
D	0		6		0		6		4	
Mittelwert	0		7,5		0		8,25		4/rb	

Tabelle 16: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) der Oozystenausscheidung (T_c) der Spatzen A - D in Versuch 2 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

nb: nicht beurteilbar, da die Oozystenausscheidung der Spatzen noch keine neue stabile Phasenlage am Ende des Versuches eingenommen hatte

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Aktivitätsdauer (h)	A _r	A _h	A _r	A _h	A _r	A _h	A _r	A _h	A _r	A _h
Spatz										
A	12,0	12,0	11,8	11,68	12,0	6,14	7,63	7,47	kA	g7,5
B	13,0	13,0	11,71	12,33	10,71	11,25	11,81	12,2	kA	11,2
C	13,0	11,63	12,54	11,58	10,57	5,43	11,92	11,0	g12,66	11,2
D	12,0	kA	13,53	11,89	11,43	10,83	12,38	11,95	g12	10,6
Mittelwert	12,5	12,21	12,4	11,87	11,18	8,42	10,94	10,66	g12,33	11,5 (g10,13)

Tabelle 17: Aktivitätsdauer (in h) der Freß-, (A_r) und Hüpfaktivität (A_h) der Spatzen A - D in Versuch 2 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

kA: bei kurzem Versuchsabschnitt keine Aussage möglich; g: aufgrund der Kürze der Zeit nur eingeschränkte Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I	II	III	IV	V
Bedingungen	LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat	LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Leerimplantat	LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat	LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat	LD 12:12 (10lux0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat
Aktivitätsdauer (h)	A _c	A _c	A _c	A _c	A _c
Spatz					
A	g3,2	9,0	g6,0	11,43	kA
B	kA	10,16	g8,0	7,38	g8,0
C	6,0	7,38	g6,0	6,73	kA
D	9,4	5,73	g8,0	6,0	g6,0
Mittelwert	7,7 (g6,2)	8,07	g7,0	7,89	g7,0

Tabelle 18: Aktivitätsdauer (in h) der Oozystenausscheidung (A_c) der Spatzen A - D in Versuch 2 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

kA: bei kurzem Versuchsabschnitt keine Aussage möglich; g: aufgrund der Kürze der Zeit nur eingeschränkte Aussage möglich

3.2.1.1. Versuchsabschnitt I: LD 12:12 (Lichtperiode 06.00-18.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Die gemittelte Aktivitätsdauer (A_h) betrug 12,21 Stunden, wobei Spatz D aufgrund mangelnder Aktivität nicht gewertet werden konnte. Vor allem Spatz C zeigte eine positive Phasenwinkeldifferenz d.h. einen Aktivitätsbeginn vor Beginn der Lichtperiode mit $\Psi_{h/li} = +0,67$ Stunden. Der Aktivitätsbeginn der Spatzen A und B dagegen lag exakt bei Beginn der Lichtperiode um 6.00 Uhr, so daß sich gemittelt eine Phasenwinkeldifferenz von $\Psi_{h/li} = +0,22$ Stunden ergab. Bis auf die Antizipation der Spatzen lag die Hüpfaktivität ausschließlich in der Lichtperiode.

Die höchste Aktivität zeigten die Tiere nach Beginn der Lichtperiode in den Morgenstunden.

Freßaktivität:

Die gemittelte Dauer der Fressaktivität (A_{fr}) der vier Spatzen lag bei 12,5 Stunden. Die Spatzen B und C antizipierten deutlich dem Lichtbeginn mit $\Psi_{fr/li} = +1,0$ Stunden, so daß sich bei Aktivitätsbeginn der Spatzen A und D mit Lichtbeginn, ein gemittelter Wert von $\Psi_{h/li} = +0,5$ Stunden ergab.

Die Fressaktivität lag bis auf wenige Ausnahmen, bei allen Spatzen in der gesamten Lichtperiode und endete mit Beginn der Dunkelperiode.

Oozystenausscheidung

Leider konnten die Oozystenausscheidung der Spatzen A und B während dieses Versuchsabschnittes aufgrund mangelnder Ausscheidung nicht bewertet werden. Die Spatzen C und D wiesen eine Ausscheidungsdauer (A_c) von 7,7 Stunden auf. Der Beginn der Ausscheidung lag dabei zwischen 12.00 und 14.00 Uhr und das Maximum der Ausscheidung erstreckte sich zwischen 14.00 und 18.00 Uhr. Somit ergab sich eine Phasenwinkeldifferenz zum Lichtbeginn ($\Psi_{c/li}$) von $-6,43$ Stunden dieser Spatzen.

3.2.1.2. Versuchsabschnitt II: LD 12:12 (Lichtperiode 14.00-02.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach dem ersten Phasenwechsel benötigten die Spatzen durchschnittlich 3 Tage bis zur Einnahme einer neuen stabilen Phasenlage. Auffällig war dabei, daß Spatz C, im Gegensatz zu den anderen Tieren, 7 Übergangszyklen benötigte. Danach zeigten die Spatzen eine gemittelte Aktivitätsdauer (A_h) von 11,87 Stunden bei einer weiterhin positiven Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{h/li}$) von +0,56 Stunden. Bei den Spatzen A, B und D war eine leichte Zunahme der Aktivitätsintensität im Vergleich zu Versuchsabschnitt I zu erkennen. Die Hüpfaktivität lag wieder, bis auf vereinzelte Ausnahmen, nur in der Lichtperiode, mit höchster Intensität in den ersten Stunden nach Lichtbeginn.

Fressaktivität:

Bei der Fressaktivität zeigten die Spatzen nach durchschnittlich 6,5 Übergangszyklen eine neue stabile Phasenlage. Die Aktivitätsdauer (A_{fr}) belief sich ähnlich wie im Versuchsabschnitt I auf 12,4 Stunden und die Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{fr/li}$) aller Tiere betrug gemittelt +0,92 Stunden. Die Spatzen A und D wiesen eine leichte Zunahme der Aktivitätsintensität auf, wohingegen bei Spatz B und C diese gegenüber Versuchsabschnitt I gleich blieb.

Die Fressaktivität der Spatzen A, B und C lag wie in Versuchsabschnitt I, bis auf einzelne Ausnahmen, in der gesamten Lichtperiode, wohingegen Spatz D an allen Versuchstagen des Abschnittes stundenweise während der Dunkelperiode schwache Fressaktivität aufwies.

Oozystenausscheidung:

Nach durchschnittlich 7,5 Tagen zeigte die Oozystenausscheidung eine neue stabile Phasenlage. Die Ausscheidungsdauer (A_c) betrug in diesem Versuchsabschnitt 8,07 Stunden und der Ausscheidungsbeginn zeigte eine Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{c/li}$) von - 5,92 Stunden nach Lichtbeginn. Das Maximum der Ausscheidung lag bei allen Tieren bei den meisten Versuchstagen zwischen 22.00 und 00.00 Uhr.

3.2.1.3. Versuchsabschnitt III: LD 12:12 (Lichtperiode 14.00-02.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach Implantation der Melatoninröhrchen wiesen alle Spatzen eine deutliche Abnahme der Hüpfaktivitätsdauer von gemittelt 8,42 Stunden auf. Außerdem kam es vor allem bei den Spatzen A und D zu einer Abnahme der Aktivitätsintensität. Die Spatzen A, C und D zeigten bei Beginn der Lichtperiode Hüpfaktivität, wohingegen Spatz B +0,83 Stunden antizipierte. Somit ergab sich eine gemittelte Phasenwinkeldifferenz von $\Psi_{h/li} = + 0,21$ Stunden. Wie in den vorher stattgefundenen Versuchsabschnitten lag die Aktivität, bis auf vereinzelte Hüpf, in der Lichtphase. Nachdem der Zeitraum der Lichtperiode sich gegenüber Versuchsabschnitt II nicht veränderte, verließen die Spatzen ihre stabile Phasenlage nicht und wiesen somit auch keine Übergangszyklen auf.

Fressaktivität:

Auch bei der Fressaktivität zeigte sich eine Abnahme der Aktivitätsdauer gegenüber Versuchsabschnitt I und II auf 11,18 Stunden. Ebenso nahm die Intensität der Aktivität bei den Spatzen leicht ab. Die Spatzen A und D antizipierten dem Lichtbeginn, wohingegen der Aktivitätsbeginn von Spatz B und C mit Anschalten des Lichtes zusammenfiel. Somit ergab sich eine gemittelte Phasenwinkeldifferenz von $\Psi_{c/li} = + 0,64$ Stunden. Die Fressaktivität der Spatzen A, B und C lag wie in den Versuchsabschnitten davor in der Lichtphase, während Spatz D wie in Versuchsabschnitt II, auch abgeschwächte Aktivität in der Dunkelphase aufwies. Wie bei der Hüpfaktivität beschrieben, verließen auch hier die Spatzen ihre stabile Phasenlage nicht.

Oozystenausscheidung:

Die Ausscheidung der Oozysten konnte in diesem Versuchsabschnitt nur eingeschränkt beurteilt werden, da nach Implantation der Melatoninröhrchen eine Regenerationsphase der Spatzen geplant war, in der keine Störung durch Papiervorschub und Oozystenzählung erfolgen sollte. Bei gleichem Zeitraum der Lichtperiode konnte davon ausgegangen werden, daß die Oozystenausscheidung die gleiche Phasenlage wie in Versuchsabschnitt II zeigte. Dies bestätigte sich auch in den gewerteten Versuchstagen dieses Versuchsabschnittes. Weiterhin zeigte sich, soweit auswertbar, eine Ausscheidungsdauer (A_c) von 7 Stunden. Die Phasenwinkeldifferenz betrug im Durchschnitt $\Psi_{c/li} = -6,0$ Stunden und das Maximum der Ausscheidung lag bei den Spatzen A, B und C zwischen 22.00 und 00.00 Uhr. Das Ausscheidungsmaximum von Spatz D lag zwischen 00.00 und 02.00 Uhr.

3.2.1.4. Versuchsabschnitt IV: LD 12:12 (Lichtperiode 22.00-10.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach dem ersten Phasenwechsel, nach Implantation der Melatoninröhrchen, hatten alle Spatzen nach einem Versuchstag bereits eine stabile Phasenlage eingenommen. Die Aktivitätsdauer (A_h) lag im Mittel bei 10,66 Stunden und war somit kürzer als in den Versuchsabschnitten I und II. Die Phasenwinkeldifferenz betrug gemittelt +0,35 Stunden. Auffällig war, daß alle Spatzen während der Dunkelperiode vermehrt Hüpfaktivität zeigten.

Fressaktivität:

Nach Implantation der Melatoninröhrchen benötigten die Spatzen B, C und D beim ersten Phasenwechsel durchschnittlich 4,33 Übergangszyklen bis zur Einnahme einer neuen stabilen Phasenlage. Bei Spatz A ergab sich im „eyefitting“ Verfahren kein eindeutiges Ergebnis, so daß dieser Spatz nicht in die Wertung miteinbezogen wurde. Die Aktivitätsdauer (A_{fr}) betrug gemittelt 10,94 Stunden. Die Phasenwinkeldifferenz lag durchschnittlich bei +0,17 Stunden und war somit kleiner als in den vorher durchgeführten Versuchsabschnitten. Allerdings zeigten die Spatzen, ebenso wie bei der Hüpfaktivität, während diesem Versuchsabschnitt häufiger auch Aktivität in der Dunkelperiode.

Oozystenausscheidung:

Bei der Oozystenausscheidung zeigte sich im Mittel nach 6,33 Tagen eine neue stabile Phasenlage in diesem Versuchsabschnitt. Allerdings wurde Spatz A aufgrund mangelnder Oozystenausscheidung an den Versuchstagen 51 und 52 nicht gewertet. Die Ausscheidungsdauer (A_c) lag bei durchschnittlich 7,89 Stunden und die Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{c/li}$) betrug gemittelt - 6,81 Stunden. Das Maximum der Ausscheidung lag bei allen Tieren zwischen 06.00 und 10.00 Uhr.

3.2.1.5. Versuchsabschnitt V: LD 12:12 (Lichtperiode 06.00-18.00 Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach dem zweiten Phasenwechsel unter Melatoninimplantat benötigten die Spatzen B, C und D jeweils einen Versuchstag bis eine stabile Phasenlage erreicht wurde. Spatz A wurde aufgrund unterschiedlicher Beurteilungen im „eye-fitting“-Verfahren nicht gewertet. In diesem Versuchsabschnitt lag die Aktivitätsdauer im Mittelwert bei 11,5 Stunden, wobei zum einen Spatz A nicht mitgewertet wurde, und zum anderen die Ergebnisse aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt zu werten sind. Das Gleiche trifft auch auf die Phasenwinkeldifferenz zu, für die sich ein Nullwert ergab, d.h., daß der Beginn der Hüpfaktivität der Spatzen mit Beginn der Lichtperiode zusammenfiel ($\Psi_{h/l} = 0$ Stunden). Auffällig war in diesem Versuchsabschnitt eine erneute deutliche Abnahme der Intensität der Hüpfaktivität bei den Spatzen A, C und D. Spatz B zeigte als einziger eine geringe Zunahme.

Fressaktivität:

In diesem Versuchsabschnitt benötigten die Spatzen im Durchschnitt 4,0 Übergangszyklen bis zur erneuten Einnahme einer stabilen Phasenlage, wobei Spatz B nicht in die Wertung miteinging. Bei den Spatzen C und D lag die Aktivitätsdauer bei 12,33 Stunden und die Phasenlage $\Psi_{fr/li}$ bei + 0,5 Stunden. Allerdings sind diese Ergebnisse aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt wertbar. Aus diesem Grund konnten auch die Spatzen A und B nicht beurteilt werden.

Oozystenausscheidung:

Aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes ist über die Ausscheidung der Oozysten nur eingeschränkt eine Aussage möglich. Die Spatzen B und D zeigten vier Übergangszyklen bis zur Einnahme einer neuen stabilen Phasenlage. Die Aktivitätsdauer lag bei diesen Spatzen bei 7 Stunden und die Phasenwinkeldifferenz betrug $\Psi_{c/li} = - 6$ Stunden. Das Maximum der Oozystenausscheidung lag zwischen 14.00 und 16.00 Uhr.

Alle Versuchsabschnitte betreffende Ergebnisse:

Während der gesamten Versuchsdauer zeigten sowohl die Freß,- und Hüpfaktivität der Spatzen, als auch die Oozystenausscheidung bei stabiler Phasenlage eine Rhythmik mit einer Periodenlänge von $\tau = 24$ Stunden.

Bei allen Spatzen war die Intensität der Fressaktivität schwächer ausgeprägt, als die Hüpfaktivität.

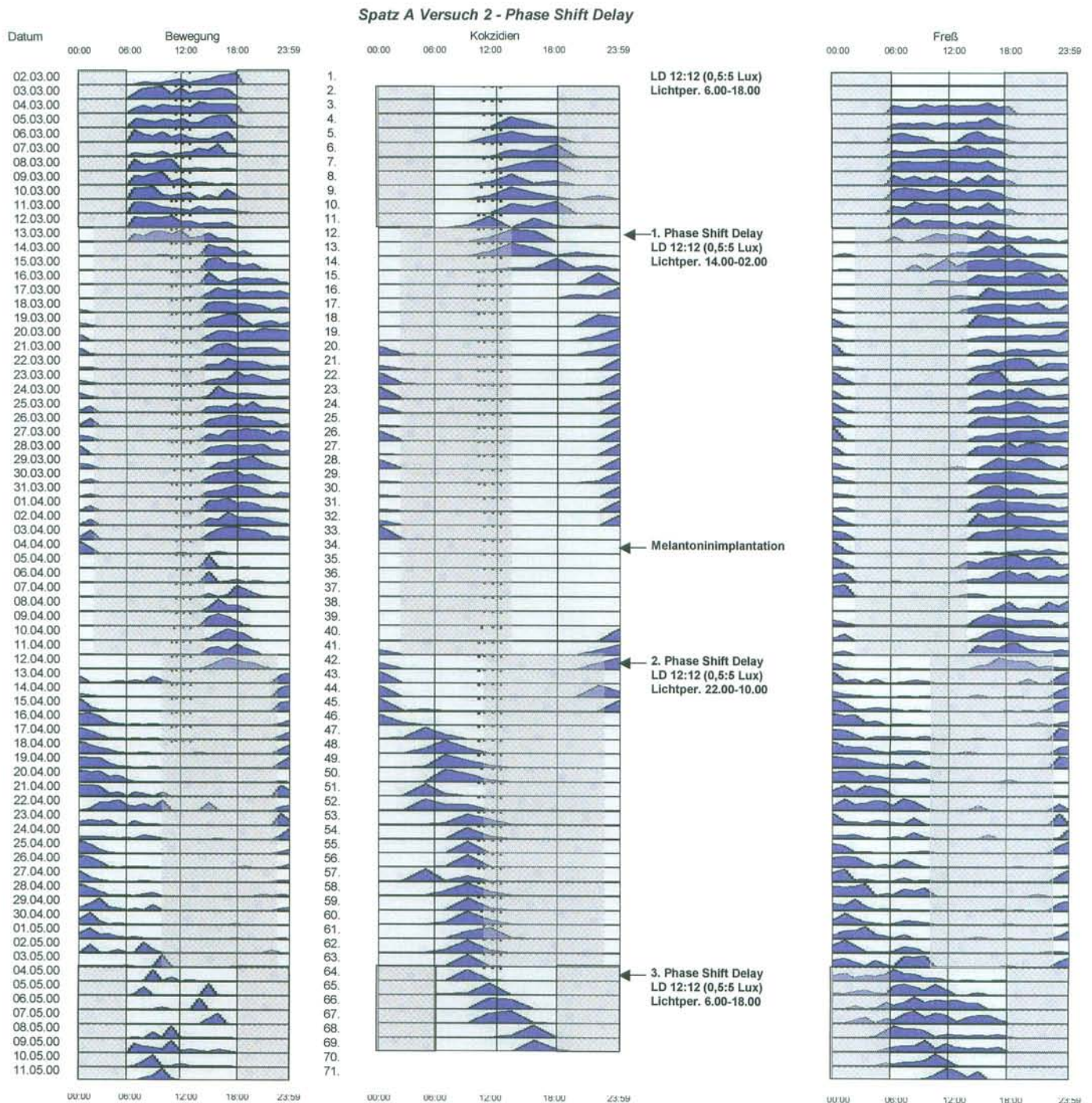


Abbildung 22: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen A in Versuch 2. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Phasenwechsel und Implantation des Melatoninröhrchens sind durch Pfeile gekennzeichnet.

VT 6-7 und VT 56 fehlende Oozystenausscheidung des Spatzen aufgrund eines technischen Fehlers; VT 20 bis 22 Fressaktivität bei technischem Fehler graphisch nicht wertbar; VT 10, 16 und 52 Reinfektion des Spatzen

Spatz B Versuch 2 - Phase Shift Delay

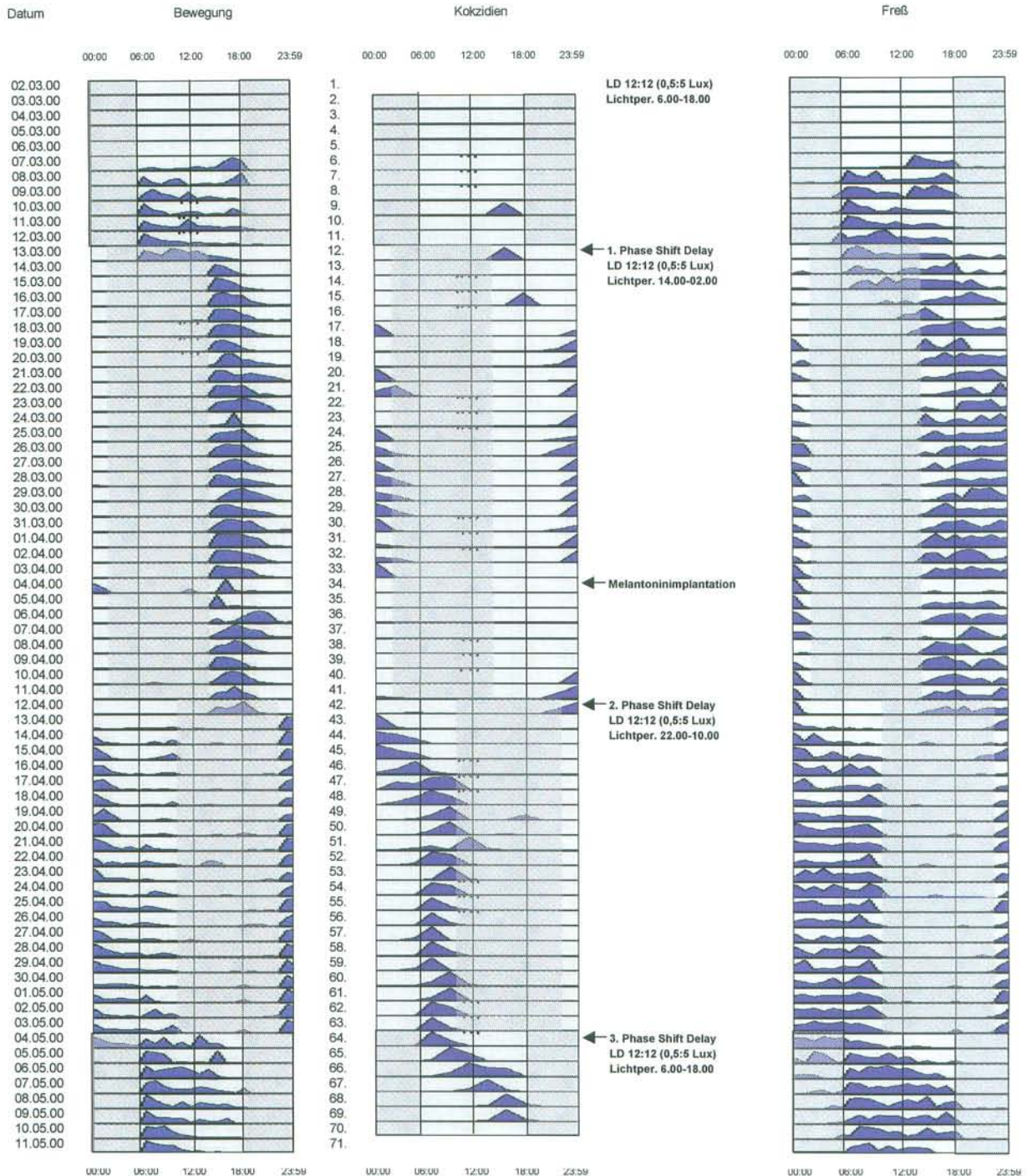


Abbildung 23: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) des Spatzen B in Versuch 2. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Phasenwechsel und Implantation des Melatoninröhrchens sind durch Pfeile gekennzeichnet.

VT 6 bis 7 (10.00 Uhr) und VT 56 fehlende Oozystenausscheidung des Spatzen aufgrund eines technischen Fehlers; VT 48 bis 49 Hüpfaktivität bei technischem Fehler graphisch nicht wertbar; VT 10, 16 und 52 Reinfektion des Spatzen

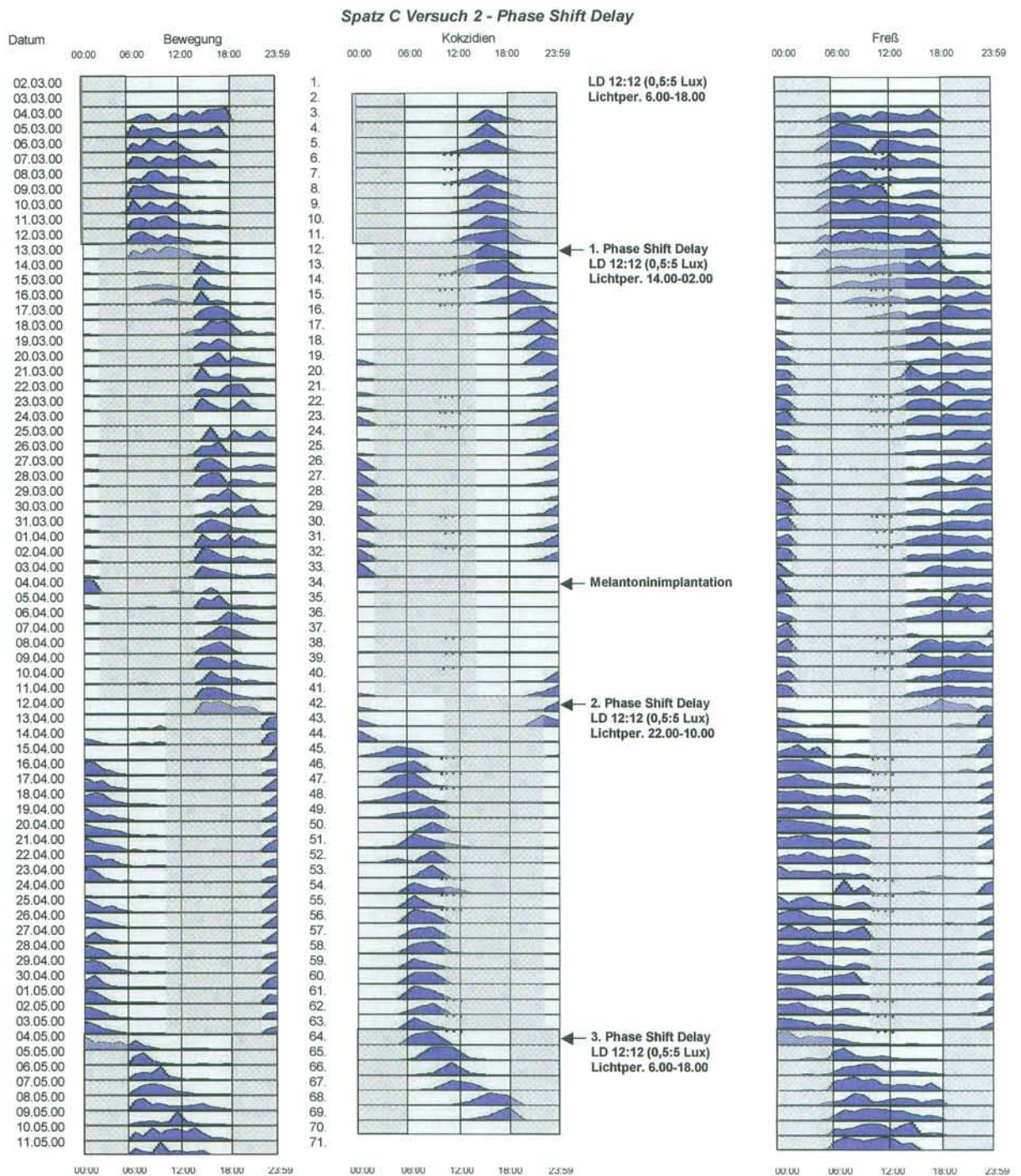


Abbildung 24: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen C in Versuch 2. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Phasenwechsel und Implantation des Melatoninröhrchens sind durch Pfeile gekennzeichnet.

VT 6 bis 7 (10.00 Uhr) und VT 56 fehlende Oozystenausscheidung des Spatzen aufgrund eines technischen Fehlers; VT 16 und 52 Reinfektion des Spatzen

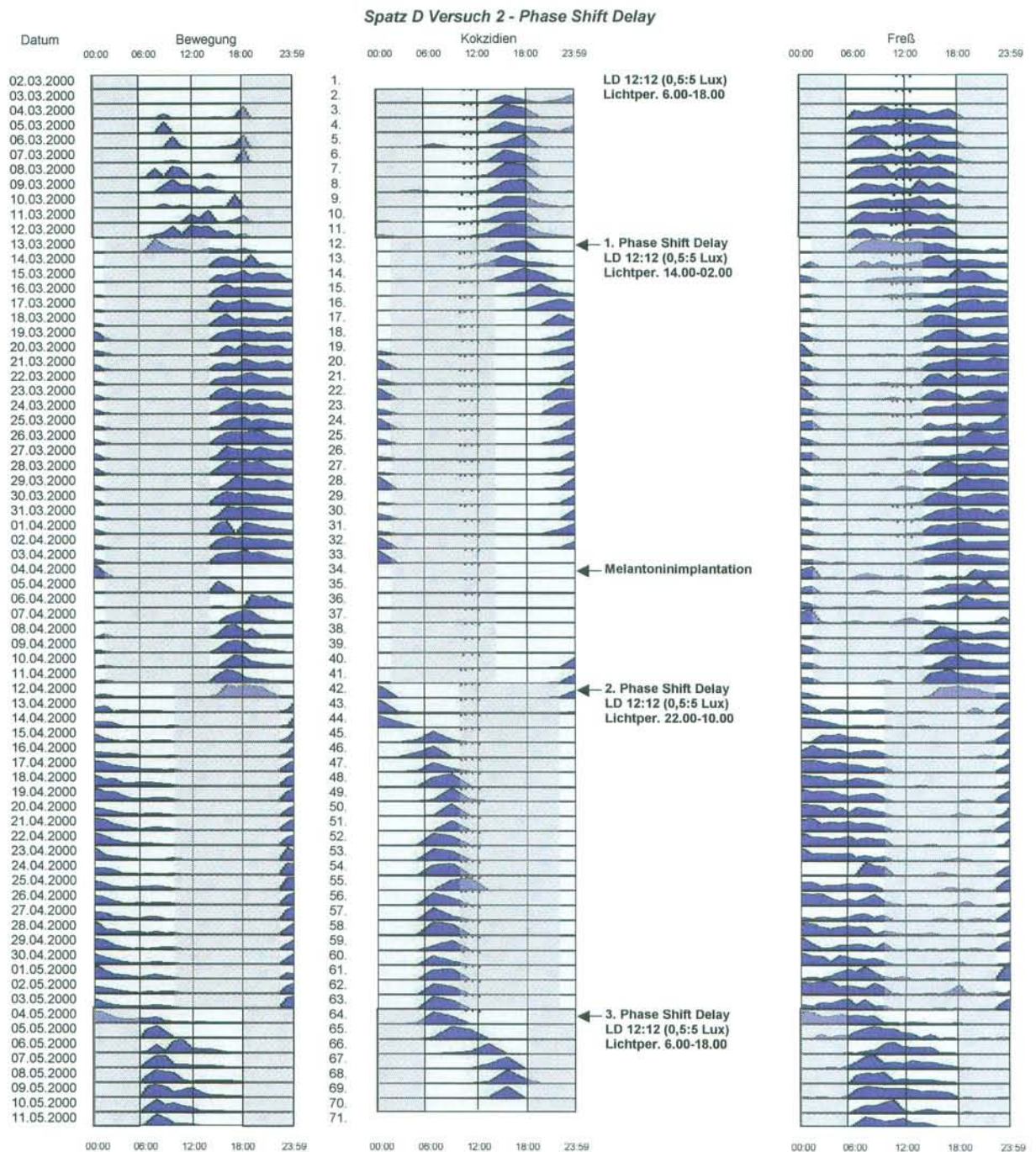


Abbildung 25: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen D in Versuch 2. Die schwächer kontrastierten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die kontrastreicheren Flächen die Lichtperiode. Phasenwechsel und Implantation des Melatoninröhrchens sind durch Pfeile gekennzeichnet.

VT 56 fehlende Oozystenausscheidung des Spatzen aufgrund eines technischen Fehlers; VT 15-17 Hüpfaktivität bei technischem Fehler graphisch nicht wertbar; VT 16 Reinfektion des Spatzen;

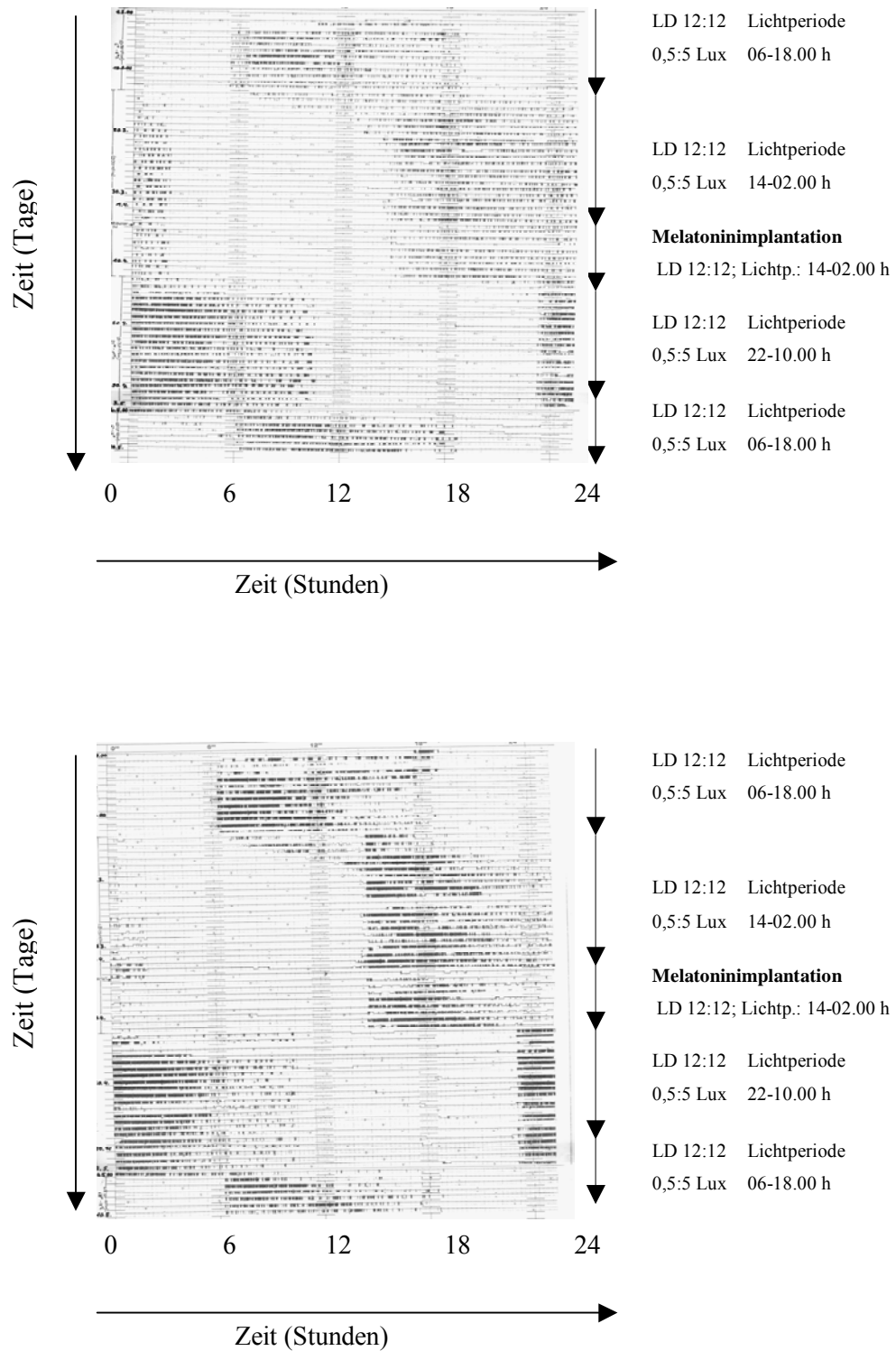


Abbildung 26: Aktogramme des Spatzen C in Versuch 2

Nach Implantation des Melatoningefüllten Röhrchens kommt es sowohl bei der Freß-, (oben im Bild), als auch bei der Hüpfaktivität (unten im Bild) nach Phasenwechsel zu einer deutlich schnelleren Resynchronisation des Spatzen mit dem neuen Licht-Dunkel-Zyklus. Erkennbar ist dies, am bereits am Folgetag des nach Phasenwechsel einsetzenden Aktivitätsbeginn des Spatzen mit Beginn der Lichtperiode.

Ordinate: Zeit (in Tagen), Abszisse: Tageszeit; die Versuchsbedingungen sind am rechten Bildrand angezeigt.

3.2.2. Versuch 3: Verkürzung der Dunkelperiode

Versuchsabschnitt	Versuchstag	Bedingungen	
I	01.-12.	LD 12:12 Lichtphase 06.00-18.00 Uhr Leerimplantat	(5 lux:0,5 lux)
II	12.-33.	LD 12:12 Lichtphase 22.00-10.00 Uhr Leerimplantat	(5 lux:0,5 lux)
III	33.-40.	LD 12:12 Lichtphase 22.00-10.00 Uhr Implantation eines Melatoninröhrchens	(5 lux:0,5 lux)
IV	40.-62.	LD 12:12 Lichtphase 14.00-02.00 Uhr Melatoninimplantat	(5 lux:0,5 lux)
V	62.-71.	LD 12:12 Lichtphase 06.00-18.00 Uhr Melatoninimplantat	(5lux:0,5lux)

Tabelle 19: Übersicht über die Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse der Abschnitte I-V des 3. Versuchs

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Phasenwinkel- differenz	$\psi_{fr/li}$	$\psi_{iv/li}$	$\psi_{fr/li}$	$\psi_{iv/li}$	$\psi_{fr/li}$	$\psi_{iv/li}$	$\psi_{fr/li}$	$\psi_{iv/li}$	$\psi_{fr/li}$	$\psi_{iv/li}$
Spatz										
C	+1,0	+0,78	+1,0	+0,87	0,0	g 0,0	+0,38	0,0	+0,5	g 0,0
D	+2,88	+0,5	+1,36	+1,06	0,0	0,0	+0,63	+0,18	+0,17	g 0,0
Mittelwert	+1,94	+0,64	+1,18	+0,97	0,0	0,0	+0,51	+0,09	+0,34	g 0,0

Tabelle 20: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Hüpf-, ($\Psi_{h/li}$) bzw. der Freßaktivität ($\Psi_{fr/li}$) der Spatzen C und D in Versuch 3 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Hüpf-, und bzw. Freßaktivität den Lichtbeginn antizipierten, negative Werte (-) zeigen eine Aktivität nach Helligkeitsbeginn an;

g : Wert aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt wertbar

Versuchsabschnitt	I	II	III	IV	V
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Leerimplantat	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat
Phasenwinkel- differenz	$\psi_{c/li}$	$\psi_{c/li}$	$\psi_{c/li}$	$\psi_{c/li}$	$\psi_{c/li}$
Spatz					
C	-6,0	-5,67	-7,14	-5,38	-6,0
D	-5,8	-7,33	-9,33	-7,14	-6,0
Mittelwert	-5,9	-6,5	-8,24	-6,26	-6,0

Tabelle 21: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Oozystenausscheidung ($\Psi_{c/li}$) der Spatzen C und D in Versuch 3 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Lichtbeginn antizipierte, negative Werte (-) zeigen eine Ausscheidung nach Helligkeitsbeginn an

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Phasenwinkel- differenz	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$
Spatz										
C	-5,0	-5,22	-4,67	-4,8	-7,14	g-7,14	-5,0	-5,38	-5,5	g-6,0
D	-2,92	-5,3	-5,97	-6,27	-9,33	-9,33	-6,51	-6,96	-5,83	g-6,0
Mittelwert	-3,96	-5,26	-5,47	-5,54	-8,24	-8,24	-5,76	-6,17	-5,67	g-6,0

Tabelle 22: Phasenwindeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß-, ($\Psi_{c/fr}$) bzw. Hüpfaktivität ($\Psi_{c/h}$) der Spatzen C und D in Versuch 3 nach Einnahme der stabilen Phasenlage (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Aktivitäten der Spatzen antizipierte, negative Werte (-) zeigen eine Ausscheidung nach Aktivitätsbeginn der Tiere an.

g : Werte aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes nur eingeschränkt wertbar

Versuchsabschnitt	I-II		III-IV		IV-V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) 1. Phasenwechsel Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) 2. Phasenwechsel Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) 3. Phasenwechsel Melatoninimplantat	
Phasenwindeldifferenz	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$	$\psi_{c/fr}$	$\psi_{c/h}$
Spatz						
C	-8,33	-8,83	-6,5	-6,5	-7,5	-7,5
D	-9,57	-9,29	(-6,0)	(-6,0)	-8,6	-8,6
Mittelwert	-8,95	-9,06	-6,5	-6,5	-8,05	-8,05

Tabelle 23: Phasenwindeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß-, ($\Psi_{c/fr}$) bzw. Hüpfaktivität ($\Psi_{c/h}$) der Spatzen C und D in Versuch 3 während der Zeit bis zur Resynchronisation (Versuchsabschnitt I-V). Positive Werte (+) bezeichnen, daß die Oozystenausscheidung den Aktivitäten der Spatzen antizipierte, negative Werte (-) zeigen eine Ausscheidung nach Aktivitätsbeginn der Tiere an.

() : Aussage nur eingeschränkt möglich

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melantoninimplantat		LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melantoninimplantat		LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melantoninimplantat	
Transients	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h	T _{fr}	T _h
Spatz										
C	0,0	0,0	4,0	5,0	0,0	0,0	2,0	2,0	2,0	2,0
D	0,0	0,0	6,0	4,0	0,0	0,0	3,0	3,0	2,0	2,0
Mittelwert	0,0	0,0	5,0	4,5	0,0	0,0	2,5	2,5	2,0	2,0

Tabelle 24: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) von Freß-, (T_{fr}) und Hüpfaktivität (T_h) der Spatzen C und D in Versuch 3 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

Versuchsabschnitt	I	II	III	IV	V
Bedingungen	LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat	LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Leerimplantat	LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melantoninimplantat	LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melantoninimplantat	LD 12:12 (10lux,0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melantoninimplantat
Transients	T _c	T _c	T _c	T _c	T _c
Spatz					
C	0,0	6,0	0,0	4,0	4,0
D	0,0	7,0	0,0	3,0	3,0
Mittelwert	0,0	6,5	0,0	3,5	3,5

Tabelle 25: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) der Oozystenausscheidung (T_c) der Spatzen C und D in Versuch 3 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Aktivitätsdauer (h)	A _{fr}	A _h	A _{fr}	A _h	A _{fr}	A _h	A _{fr}	A _h	A _{fr}	A _h
Spatz										
C	11,86	13,11	12,69	13,2	13,0	g 12,5	12,21	12,0	11,0	g 13,25
D	16,22	11,7	13,42	7,44	14,5	10,5	13,35	9,06	14,3	g 9,66
Mittelwert	14,04	12,41	13,01	10,32	13,75	11,5	12,78	10,53	12,65	g 11,46

Tabelle 26: Aktivitätsdauer (in h) der Freß-, (A_{fr}) und Hüpfaktivität (A_h) der Spatzen C und D in Versuch 3 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

g: aufgrund der Kürze der Zeit nur eingeschränkt Aussage möglich

Versuchsabschnitt	I		II		III		IV		V	
Bedingungen	LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Leerimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 22.00-10.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 14.00-02.00Uhr Melatoninimplantat		LD 12:12 (10lux:0,5lux) Licht: 06.00-18.00Uhr Melatoninimplantat	
Aktivitätsdauer (h)	A _c		A _c		A _c		A _c		A _c	
Spatz										
C	8,2		8,17		6,86		6,63		6,0	
D	6,4		7,0		6,33		6,57		7,2	
Mittelwert	7,3		7,58		6,6		6,6		6,6	

Tabelle 27: Aktivitätsdauer (in h) der Oozystenausscheidung (A_c) der Spatzen C und D in Versuch 3 unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsabschnitte I-V).

3.2.2.1. Versuchsabschnitt I: LD 12:12 (Lichtperiode 06.00-18.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach einer Eingewöhnungszeit zeigten die Spatzen im ersten Versuchsabschnitt eine Hüpfaktivitätsdauer (A_h) von 12,41 Stunden. Beide Spatzen antizipierten dem Lichtbeginn, so daß sich eine Phasenwinkeldifferenz von $\Psi_{h/li} = + 0,64$ Stunden ergab. Die Aktivitätsdauer lag, bis auf einzelne Ausnahmen, in der Lichtperiode, mit höchster Aktivität in den Morgenstunden. Spatz C wies zusätzlich einen zweiten Aktivitätsanstieg kurz vor Beginn der Dunkelperiode auf.

Fressaktivität:

Die Fressaktivitätsdauer (A_{fr}) der beiden Sperlinge lag bei 14,04 Stunden und die Phasenwinkeldifferenz betrug gemittelt $\Psi_{fr/li} = + 1,94$ Stunden. Beide Spatzen zeigten ihre hauptsächliche Fressaktivität während der Lichtperiode, wobei auffiel, daß Spatz D diese in geringerem Umfang auch in der Dunkelperiode fortsetzte.

Oozystenausscheidung:

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen lag der Zeitraum der Oozystenausscheidung (A_c) beider Spatzen bei 7,3 Stunden. Der Beginn der Ausscheidung erfolgte durchschnittlich 5,9 Stunden nach Lichtbeginn ($\Psi_{c/li} = -5,9$ Stunden) und das Ausscheidungsmaximum lag zwischen 14.00 und 16.00 Uhr.

3.2.2.2. Versuchsabschnitt II: LD 12:12 (Lichtperiode 22.00-10.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach dem ersten Phasenwechsel, durch einmalige Verkürzung der Lichtperiode, benötigten die Spatzen im Durchschnitt 4,5 Übergangszyklen bis zur Einnahme einer neuen stabilen Phasenlage. Danach zeigte Spatz D eine sehr kurze Aktivitätsdauer von 7,44 Stunden, wohingegen Spatz C 13,2 Stunden aufwies, so daß sich ein Mittelwert von $A_h = 10,32$ Stunden ergab. Die

Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{h/li}$) betrug + 0,97 Stunden. Beide Spatzen zeigten, wie in Versuchsabschnitt I, ihre höchste Aktivität in den Stunden nach Lichtbeginn. Bei Spatz C konnte ein zweiter Aktivitätsanstieg gegen Ende der Lichtperiode wahr genommen werden. Dieser war allerdings im Vergleich zum vorherigen Versuchsabschnitt weniger stark ausgeprägt.

Fressaktivität:

Bei der Fressaktivität hatten die Spatzen nach durchschnittlich 5 Übergangszyklen eine neue stabile Phasenlage erreicht. Die Aktivitätsdauer lag in diesem Abschnitt im Mittel bei 13,01 Stunden. Die Aktivitätsintensität nahm im Vergleich zu Versuchsabschnitt I bei beiden Tieren zu. Die Phasenwinkeldifferenz betrug $\Psi_{fr/li} = + 1,18$ Stunden. Der Zeitraum der Aktivität lag bei beiden Spatzen während der gesamten Dauer der Lichtperiode, allerdings zeigte Spatz D, wie in Versuchsabschnitt I, auch eine Aktivität in der Dunkelperiode.

Oozystenausscheidung:

Nach durchschnittlich 6,5 Tagen kam es bei der Ausscheidung der Oozysten zum erneuten Erreichen einer stabilen Phasenlage nach Phasenwechsel. Der Ausscheidungszeitraum (A_c) betrug 7,58 Stunden. Das Ausscheidungsmaximum lag bei Spatz C konstant zwischen 06.00 und 08.00 Uhr und bei Spatz D hauptsächlich zwischen 08.00 und 10.00 Uhr. Beide Spatzen zeigten eine zum Lichtbeginn verzögerte Ausscheidung der Oozysten von durchschnittlich $\Psi_{c/li} = - 6,5$ Stunden.

3.2.2.3. Versuchsabschnitt III: LD 12:12 (Lichtperiode 22.00-10.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Unter gleichen Bedingungen, wie in Versuchsabschnitt II, verließen die Spatzen nach Implantation der Melatoninröhrchen ihre stabile Phasenlage nicht (0 Übergangszyklen). Es kam zu einer sehr deutlichen Abnahme der Aktivitätsintensität. Die Aktivitätsdauer nahm bei Spatz D im Vergleich zu Versuchsabschnitt II zu, bei Spatz C konnte aufgrund der mangelnden Aktivität nur bedingt eine Aussage getroffen werden, so daß der gemittelte Wert der Aktivitätsdauer beider Spatzen mit 11,5 Stunden nur eingeschränkt beurteilt werden kann. Die Hüpfaktivität beider Tiere setzte mit Anschalten des Lichtes ein, so daß sich eine Phasenwinkeldifferenz von 0 ergab ($\Psi_{h/li} = 0$ Stunden).

Fressaktivität:

Ebenso wie bei der Hüpfaktivität behielten die Spatzen ihre stabile Phasenlage bei, zeigten somit keine Übergangszyklen und eine Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{fr/li}$) von 0 Stunden. Die Aktivitätsdauer betrug durchschnittlich 13,75 Stunden und es kam zu einer deutlichen Abnahme der Aktivitätsintensität.

Oozystenausscheidung:

Der Zeitraum der Oozystenausscheidung (A_c) betrug in diesem Versuchsabschnitt 6,6 Stunden. Wie für die Aktivität der Spatzen galt auch hier, daß die Ausscheidung der Oozysten die stabile Phasenlage nicht verließ und somit keine Übergangszyklen auftraten. Das Maximum der Ausscheidung verschob sich im Vergleich zu Versuchsabschnitt II etwas zeitlich nach hinten, so daß es nun hauptsächlich zwischen 08.00 und 12.00 Uhr lag. Die Phasenwinkeldifferenz vergrößerte sich im Gegensatz zu den Versuchsabschnitten I und II auf $\Psi_{c/li} = - 8,24$ Stunden.

3.2.2.4. Versuchsabschnitt IV: LD 12:12 (Lichtperiode 14.00-02.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach dem ersten Phasensprung nach Implantation der Melatoninröhrchen benötigten die Spatzen durchschnittlich 2,5 Übergangszyklen bis zur Einnahme einer neuen stabilen Phasenlage. Die Aktivitätsdauer lag bei durchschnittlich 10,53 Stunden, wobei Spatz D wieder eine deutlich kürzere Dauer der Aktivität ($A_h = 9,06$ Stunden) als Spatz C ($A_h = 12$ Stunden) aufwies. Die Aktivitätsintensität war bei beiden Tieren im Vergleich zu Versuchsabschnitt I deutlich reduziert. Insgesamt zeigten beide Spatzen die höchste Aktivität wieder in den Stunden nach Lichtbeginn. Bei Spatz C war der zweite Aktivitätsanstieg am Ende der Lichtperiode deutlich schwächer ausgeprägt, als in den Versuchsabschnitten I und II. Spatz C zeigte weiterhin einen Beginn der Hüpfaktivität mit Beginn der Lichtperiode, Spatz D dagegen antizipierte diesem etwas ($\Psi_{h/li} = + 0,18$ Stunden), so daß sich eine gemittelte Phasenwinkeldifferenz von $\Psi_{h/li} = + 0,09$ Stunden ergab.

Fressaktivität:

Die Fressaktivität der Spatzen benötigte nach Phasenwechsel im Durchschnitt 2,5 Tage zum Erreichen einer stabilen Phasenlage. Danach betrug die Aktivitätsdauer der Tiere zwischen 12 und 13,5 Stunden (Mittelwert $A_{fr} = 12,78$ Stunden). Die Aktivitätsintensität nahm im Vergleich zu Versuchsabschnitt I deutlich ab. Außerdem kam es im Vergleich zu den Versuchsabschnitten I und II zu einer deutlich geringeren Antizipation der Spatzen (gemittelte Phasenwinkeldifferenz $\Psi_{fr/li} = + 0,51$ Stunden). Die Aktivität lag bei Spatz C, bis auf vereinzelt Fressen, ausschließlich in der Lichtperiode. Spatz D zeigte auch in diesem Versuchsabschnitt an den meisten Versuchstagen schwache Fressaktivität in der Dunkelperiode.

Oozystenausscheidung:

Nach durchschnittlich 3,5 Übergangszyklen wies die Ausscheidung der Oozysten erneut eine stabile Phasenlage auf. Die Ausscheidungsdauer (A_c) betrug im Mittel 6,6 Stunden und die Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{c/li}$) im Durchschnitt $- 8,24$ Stunden. Das Maximum der Ausscheidung lag bei Spatz C relativ konstant zwischen 22.00 und 00.00 Uhr; bei Spatz D zwischen 22.00 und 02.00 Uhr.

3.2.2.5. Versuchsabschnitt V: LD 12:12 (Lichtperiode 06.00-18.00Uhr)

Hüpfaktivität:

Nach dem zweiten Phasenwechsel unter exogen zugeführtem Melatonin erreichten die Spatzen nach 2 Übergangszyklen erneut eine stabile Phasenlage. Aufgrund der Kürze des Versuchsabschnittes konnten die weiteren Daten nur eingeschränkt gewertet werden. Für die Aktivitätsdauer ergab sich ein Wert von gemittelt $A_h = 11,46$ Stunden und die Aktivitätsintensität war im Vergleich zu Versuchsabschnitt I deutlich abgeschwächt. Der Beginn der Hüpfaktivität fiel bei beiden Spatzen mit dem Beginn der Lichtperiode zusammen, so dass sich eine Phasenwinkeldifferenz von null ergab ($\Psi_{h/li} = 0$ Stunden). Im Gegensatz zu Versuchsabschnitt I, wo die gleichen Lichtbedingungen herrschten, zeigten beide Spatzen die höchste Aktivität nur in den ersten Stunden nach Lichtbeginn.

Fressaktivität:

Die Fressaktivität der beiden Spatzen erreichte nach Phasenwechsel nach 2 Übergangszyklen erneut eine stabile Phasenlage. Die Aktivitätsdauer (A_{fr}) betrug hier gemittelt 12,65 Stunden und beide Spatzen antizipierten gering dem Lichtbeginn (Phasenwinkeldifferenz $\Psi_{fr/li} = + 0,34$ Stunden). Insgesamt nahm die Aktivitätsintensität im Vergleich zu Versuchsabschnitt I ab. Beide Spatzen zeigten die höchste Aktivität in den Stunden nach Lichtbeginn.

Oozystenausscheidung:

Wie in Versuchsabschnitt IV erreichte die Oozystenausscheidung der beiden Spatzen nach 3,5 Tagen eine neue stabile Phasenlage. Auch die Aktivitätsdauer blieb mit durchschnittlich 6,6 Stunden konstant (gleiche Werte in Versuchsabschnitt III und IV). Die Ausscheidung der Oozysten begann 6 Stunden nach Lichtbeginn (Phasenwinkeldifferenz $\Psi_{o/li} = -6,0$ Stunden). Im Vergleich zum vorherigen Versuchsabschnitt kam es zu einer Steigerung der Ausscheidung. Spatz C hatte sein Ausscheidungsmaximum, wie in Versuchsabschnitt I, an den meisten Versuchstagen zwischen 14.00 und 16.00 Uhr. Spatz D zeigte ein konstantes Ausscheidungsmaximum zwischen 18.00 und 20.00 Uhr.

Spatz C Versuch 3 - Phase Shift Advance

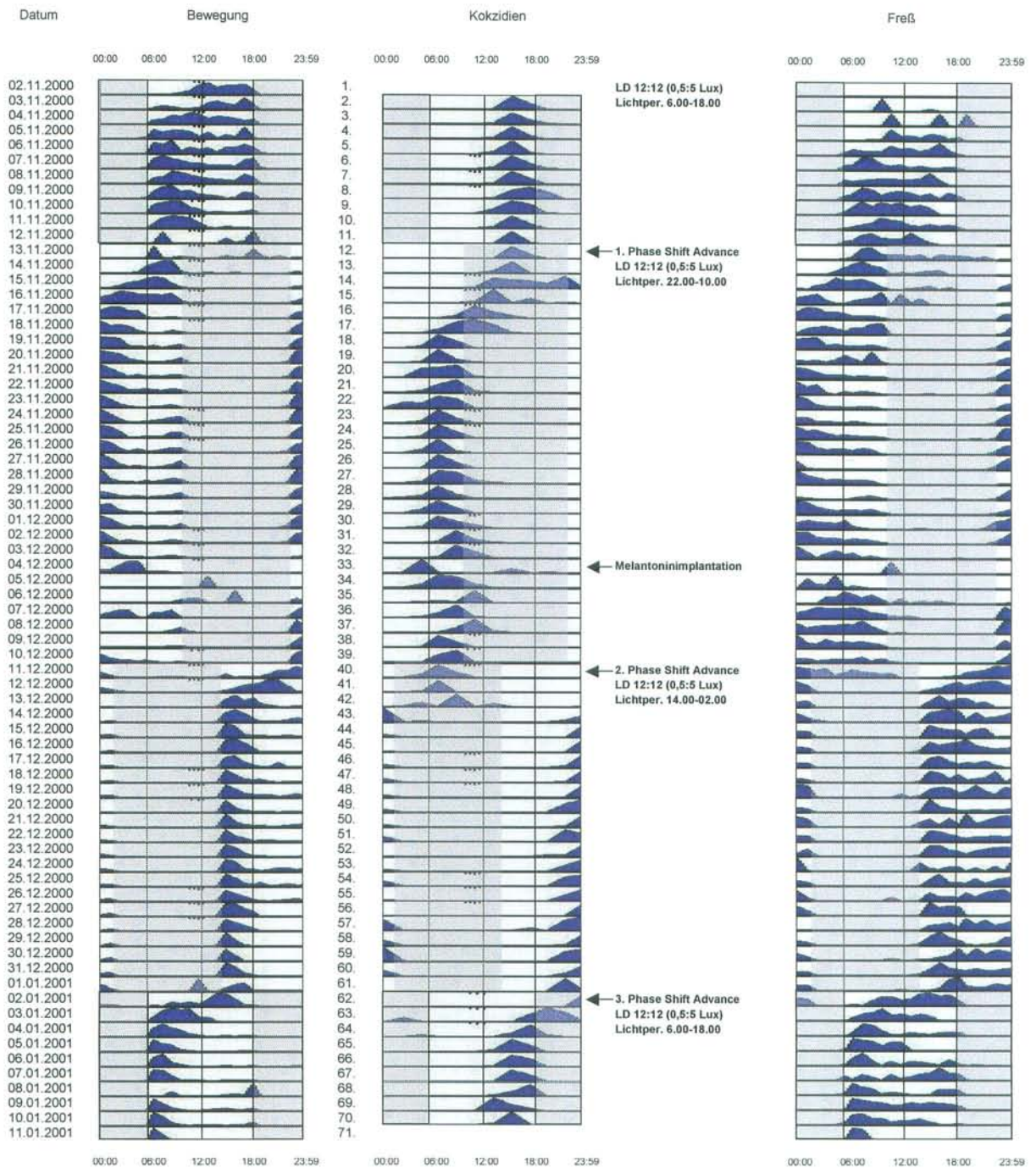


Abbildung 27: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) des Spatzen C in Versuch 3. Die grünlich unterlegten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die weißen Flächen die Lichtperiode. Phasenwechsel und Implantation des Melatoninröhrchens sind durch Pfeile gekennzeichnet.

VT 38: Hüpfaktivität bei technischem Fehler graphisch nicht wertbar; VT 61 bis 62 (22.00-10.00 Uhr): fehlende Oozystenausscheidung des Spatzen aufgrund eines technischen Fehlers;

Spatz D Versuch 3 - Phase Shift Advance

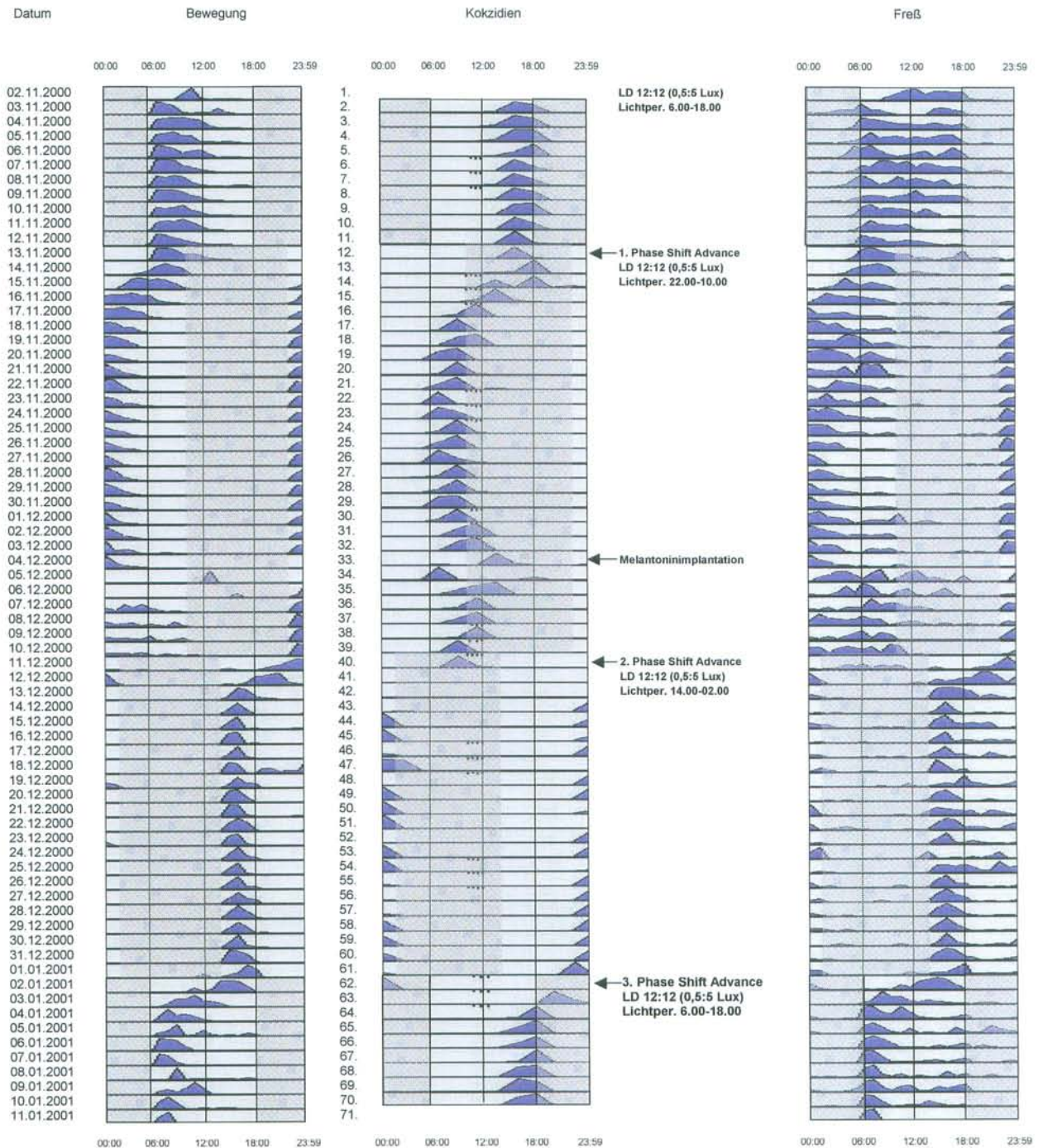


Abbildung 28: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenauscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen D in Versuch 3. Die grünlich unterlegten Flächen zeigen den Zeitraum der Dunkelperiode an, die weissen Flächen die Lichtperiode. Phasenwechsel und Implantation des Melatoninröhrchens sind durch Pfeile gekennzeichnet.

VT 38: Hüpfaktivität bei technischem Fehler graphisch nicht wertbar; VT 47 bis 48 (18.00-08.00 Uhr) und VT 51 bis 52 (22.00-14.00 Uhr): fehlende Oozystenauscheidung des Spatzen aufgrund eines technischen Fehlers

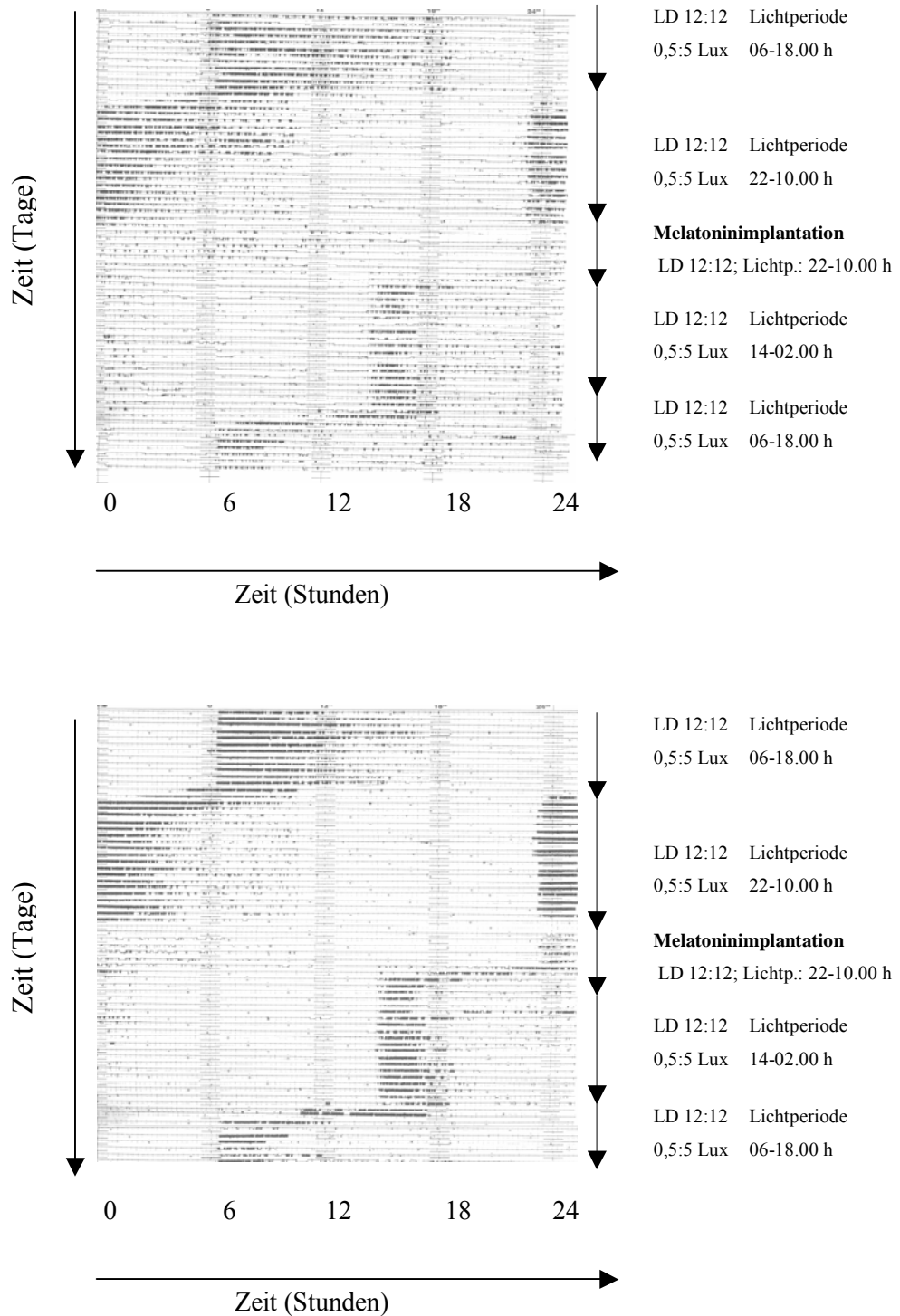


Abbildung 29: Aktogramme des Spatzen D in Versuch 3

Unter exogener Melatoninzufuhr zeigt der Sperling sowohl bei der Freß- (oben im Bild), als auch bei der Hüpfaktivität eine deutliche Abnahme der Aktivitätsintensität und der Aktivitätsdauer. Diese hält bis zum Versuchsende an.

Ordinate: Zeit (in Tagen), Abszisse: Tageszeit; die Versuchsbedingungen sind am rechten Bildrand angezeigt.

4. Diskussion

4.1. Allgemeines

Circadiane Rhythmen sind ein in der Natur weit verbreitetes Phänomen. Erzeugt werden diese bei vielen lebenden Organismen durch eine Innere Uhr. Diese endogene, circadian schwingende Uhr ist ein komplexes System, bestehend aus mehreren Oszillatoren, die die Fähigkeit besitzen, sich intern zu synchronisieren und den Organismus auf Veränderungen der Umwelt vorzubereiten und daran anzupassen [Brandstaetter, R., 2004, S. 5699]. Als äußere Zeitgeber bzw. synchronisierende Agentien dienen dabei zum Beispiel Umgebungslicht, Temperatur, gewisse (noch unbekannt) Serumfaktoren, soziale Kontakte und Tätigkeiten wie die Nahrungsaufnahme. Viele der Fragen wie die einzelnen Oszillatoren untereinander und zur Außenwelt synchronisiert werden, sind derzeit unklar. Dennoch konnten dank molekulargenetischer Forschung weitere Einblicke gewonnen werden. So steht heute fest, daß jede Zelle eine eigene circadiane Oszillation und damit eine ihr eigene Innere Uhr enthält. Dabei scheint der Kern der Oszillatoren dieser Inneren Uhr aus einer auf Transskription und Translation basierenden negativen Rückkopplungsschleife zu bestehen, die die zyklische Anzahl an „clock“-Genen (wie Per, Cry, Bmal1...) und hunderter von Ausgangsgenen in einer abgestimmten Weise reguliert [Hirota, T. et al., 2004, S. 359].

Als zentraler übergeordneter Oszillator und Schrittmacher wird dabei bei Säugern der SCN angesehen, der direkt und indirekt über neuronale und humorale Signale die im gesamten Organismus vorkommenden peripheren Uhren koordiniert [Cassone, V. M. et al., 1993, S. S73]. Unter anderem beeinflussen seine Signale die rhythmische Produktion und Sekretion von Melatonin. Dieses wiederum selbst stellt für die circadianen Schwingungen anderer Oszillatoren und auch über Rückmeldung an den SCN ein wichtiges Rhythmen stabilisierendes Signal dar. So konnten Haimov et al. nachweisen, daß bei älteren Menschen eine abendliche Melatoningabe Einschlafstörungen reduziert und eine hohe Melatoningabe über den Tag, die den Serummelatoninspiegel über das physiologische Niveau hebt, eine schlaffördernde Wirkung aufweist [Haimov, I. et al., 1997, S. 167]. Ebenso zeigte sich bei blinden Menschen, deren Rhythmus aufgrund fehlender Wahrnehmung von Licht freiläuft, daß eine abendliche Melatoningabe den gestörten Schlaf-Wach-Rhythmus synchronisiert und den Tagschlaf reduziert [Arendt, J., 2000, S. 1114; Hack, L. M. et al., 2003, S. 420; Lockley, S. W. et al., 2000, S. R6]. Und auch in anderen Situationen bei denen der biologische Rhythmus gestört ist, wie zum Beispiel das „Jet-lag-Syndrom“, Schichtarbeit oder das „delayed sleep phase syndrom“ findet es mittlerweile seinen therapeutischen Einsatz [Geoffriau, M. et al., 1998, S. 136].

Dass Melatonin als circadianer Zeitgeber wohl viele lebende Organismen beeinflusst, zeigen beispielsweise Untersuchungen von Menaker et al.. Diese konnten bei Sperlingen nachweisen, dass es nach Entfernung der Epiphyse und weitgehendem Verlust der endogenen Serummelatoninspiegels zu einem arrhythmischen Verhalten der Tiere kam. Nach Transplantation der Epiphyse in die vordere

Augenkammer eines anderen pinealektomierten Spatzen wurde die circadiane Rhythmik wiederhergestellt. Allerdings übernahm der Sperling den Rhythmus des Donors [Gaston, S. et al., 1968, S. 1125; Zimmerman, N. H. et al., 1975, S. 477]. Weiterhin war es möglich pinealektomierte Vögel mit Hilfe rhythmischer Melatoningabe zu resynchronisieren [Heigl, S. et al., 1995, S. 225]. Somit scheint bewiesen, dass Melatonin, wenigstens bei dieser Spezies, eine zentrale Rolle in der Erhaltung der circadianen Rhythmen spielt.

Auch im Bereich der Parasitologie nimmt dieses Hormon einen wichtigen Stellenwert ein. So beeinflusst es den biologischen Entwicklungszyklus von *Trypanosoma cruzi* [Macias, M. et al., 1999, S. 86] und die synchrone Reifung bestimmter Plasmodienarten *in vivo*. Hotta et al. konnten nachweisen, daß bei letztgenannten die operative Entfernung der Epiphyse des Wirtes (der Maus) *in vivo* zu einer reduzierten Synchronizität im Reifungsprozess der Plasmodien (*Plasmodium chabaudi*) führt [Hotta, C. T. et al., 2000, S. 466]. Durch eine Melatoninbehandlung konnte dieser Effekt wieder aufgehoben werden. Dieses Ergebnis wurde durch eine weitere Arbeit von Célia R.S. Garcia et al. bestätigt. Auch in dieser zeigten pinealektomierte *Plasmodium chabaudi* infizierte Mäuse in „*in-vitro*“ Experimenten einen Verlust der Synchronizität der parasitären Entwicklung im Vergleich mit scheinoperierten Tieren [Garcia, C. R. et al., 2001, S. 436].

Somit ergeben sich Hinweise, dass der Lebenszyklus des Parasiten mit dem circadianen Rhythmus des Wirtes verbunden ist und Melatonin diese Verbindung beeinflusst.

Gegenstand dieser Arbeit war es, die Interaktion circadianer Rhythmen in einer Wirt-Parasit-Beziehung unter Berücksichtigung des Melatonins, als wichtigen circadianen Zeitgeber, näher zu untersuchen und vielleicht dadurch ein kleines Stück zum Verständnis eines sehr bekannten, aber immer noch mysteriösen Phänomens, nämlich der Synchronizität im Reifungsprozess von Parasiten beizutragen. Dies ist gerade im Hinblick auf Malaria, eine durch Plasmodienarten übertragene Krankheit, die eine starke soziale, als auch ökonomische Rolle in Ländern der sogenannten 3. Welt spielt, von großem Interesse.

4.2. Pinealektomierte Spatzen

In diesem Versuch wurden vier Kokzidien-infizierte, pinealektomierte Sperlinge nach einer Eingewöhnungsphase, in der eine Licht-Dunkel-Rhythmik von jeweils 12 Stunden (LD 12:12, 0,5lx:10lx) vorherrschte (Versuchsabschnitt I), über 60 Versuchstage einem Dauerdämmerlicht ausgesetzt (Versuchsabschnitt II). Daran schloss sich eine erneute Licht-Dunkel-Rhythmik von jeweils 12 Stunden mit einer Lichtintensität von 0,5 lx während der Dunkelperiode und 10 lx während der Lichtperiode an (Versuchsabschnitt III), bevor in Versuchsabschnitt IV die Lichtintensität während der Lichtperiode auf 500 lx gesteigert wurde (LD 12:12, 0,5 lx : 500 lx).

Wie erwartet zeigten alle Sperlinge trotz Pinealektomie während den LD-Perioden eine Rhythmik von $\tau = 24$ Stunden. Dies traf sowohl für die Hüpf- und Fressaktivität der Tiere, als auch für die Oozystenausscheidung zu. Die Aktivitätsdauer der Spatzen betrug dabei 12 Stunden. Die Dauer der Oozystenausscheidung (A_c) lag bei 6,5 Stunden mit einem Ausscheidungsbeginn 6 Stunden nach Aktivitätsbeginn der Tiere ($\Psi_{c/fr} = - 6,0$ Stunden, $\Psi_{c/h} = - 6,0$ Stunden) und einem Ausscheidungsmaximum zwischen 16.00 und 18.00 Uhr. Dies entspricht in etwa den Werten von pinealintakten Haussperlingen [Keinath, S., 1998, S. 45]. Man geht davon aus, dass diese Aufrechterhaltung der Rhythmik trotz Pinealektomie auf andere sich selbst-erhaltende Oszillatoren zurückzuführen ist. Diese neuronalen und nicht-neuronalen Oszillatoren benötigen dazu allerdings nach Verlust der Epiphyse, die als übergeordneter Schrittmacher angesehen werden muss [Brandstaetter, R., 2004, S. 5699], rhythmische Informationen von innen und außen im Sinne eines Zeitgebers, z.B. Licht [Gwinner, E. et al., 1997, S. 439].

Nach Wegfall jeglicher Zeitgeber im Dauerdämmerlicht von Versuchsabschnitt II entwickelten alle Spatzen einen freilaufenden Rhythmus mit einer Verkürzung der Periodenlänge ($\tau_h = 23,33$ Stunden; $\tau_{fr} = 23,38$ Stunden). Dieses freilaufende Verhalten war anhand der Fressaktivität bei allen Spatzen sichtbar, wobei Spatz B gegen Ende des Versuchsabschnittes (VT 52-67) allerdings eine Periodenlänge $\tau_{fr} = 24$ Stunden entwickelte. Auch bei der Hüpfaktivität zeigten die Spatzen A und B deutlich ein freilaufendes Verhalten. Die Hüpfaktivitäten der Spatzen C und D konnten aufgrund mangelnder Aktivität nicht beurteilt werden.

Insgesamt kam es zu einer deutlichen Abnahme der Aktivitätsintensität, wobei diese bei der Hüpfaktivität sehr viel stärker ausgeprägt war, als bei der Fressaktivität. Auch die Aktivitätsdauer nahm im Bewegungsverhalten deutlich ab ($A_h = 5,8$ Stunden), wohingegen sich die Fressaktivitätsdauer mit gemittelt $A_{fr} = 14,95$ Stunden im Gegensatz zur Licht-Dunkelperiode verlängerte.

Die Ausscheidung der Oozysten zeigte bei allen Spatzen weiterhin eine circadiane Rhythmik. So wies die Oozystenausscheidung bei den Spatzen A, C und D eine Periodenlänge von 24 Stunden auf. Ab VT 33 kam es bei Spatz A allerdings zu einer Verkürzung der Periodenlänge (τ_c) auf 23,26 Stunden. Aufgrund fehlender Daten konnte die Periodenlänge der Oozystenausscheidung bei Spatz B leider nicht gewertet werden. Der Ausscheidungszeitraum nahm im Vergleich zur Licht-Dunkelperiode deutlich zu ($A_c = 9,83$ Stunden). Bei allen Spatzen war weiterhin ein zeitliches Maximum der Oozystenausscheidung ersichtlich, das sich bei Spatz D zeitlich gesehen zum Abend hin verschob (Maximum zwischen 16.00 - 20.00 Uhr), wohingegen es bei Spatz C zwischen 14 und 16 Uhr lag. Spatz A zeigte aufgrund seiner Periodenlänge < 24 Stunden kein zeitlich konstantes Ausscheidungsmaximum, und auch bei Spatz B konnte dieses aufgrund fehlender Daten nicht exakt bestimmt werden. Hinsichtlich der Phasenbeziehung zwischen Oozystenausscheidung und Aktivitäten der Spatzen ergab sich nach Einnahme der stabilen Phasenlage ein deutlich größerer Wert im Vergleich zum ersten Versuchsabschnitt. Hierbei lag jedoch die Phasenbeziehung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität mit einer Differenz von ca. 2 Stunden weit näher an den Werten des ersten Versuchsabschnittes, als die Phasenbeziehung der Oozystenausscheidung zur Hüpfaktivität ($\Psi_{c/fr} = - 8,0$ Stunden, $\Psi_{c/h} = - 10,13$ Stunden). Auch im Zeitraum der Übergangszyklen blieb dieser Wert der Phasenbeziehung zwischen Oozystenausscheidung und Fressaktivität gemittelt weitestgehend gleich ($\Psi_{c/fr} = - 8,75$ Stunden), während die Phasenbeziehung zur Hüpfaktivität einen deutlich geringeren Wert ($\Psi_{c/h} = - 6,8$ Stunden) annahm.

Weiterhin auffällig war eine starke Abnahme der Oozystenausscheidung von Spatz D zu Beginn von Lldim. Leider konnte bei zu geringer Oozystenausscheidung der anderen Spatzen während des ersten Versuchsabschnittes, keine Aussage über die Veränderung bei Beginn der Dunkelperiode gemacht werden.

Besonders auffallend waren in diesem Versuchsabschnitt zwei Ergebnisse:

Zum einen blieben alle vier Spatzen rhythmisch, sowohl, was die Ausscheidung der Oozysten, als auch ihre Aktivität anbetraf. Da dieses rhythmische Verhalten der Fress-, und der Hüpfaktivität im Widerspruch zu zahlreichen anderen Arbeiten im Bereich der circadianen Forschung mit Hausspatzen steht [Binkley, S. et al., 1971, S. 311; Gaston, S. et al., 1968, S. 1125; Janik, D. et al., 1992, S. 277], möchte ich diese Ergebnisse weiter unten in dieser Arbeit noch ausführlich diskutieren.

Zum anderen fiel eine enge Beziehung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität auf. So entwickelte z. B. Spatz A, sowohl bei der Fressaktivität, als auch bei der Ausscheidung der Oozysten an den selben Versuchstagen, aus einer Periodenlänge von $\tau = 24$ Stunden einen freilaufenden Rhythmus (vgl. Abb.15). Ebenso zeigte die Oozystenausscheidung von Spatz B, trotz sehr raschem Beginn des freilaufenden Verhaltens der Hüpfaktivität, keinen Freilauf, sondern wies eher wie die Fressaktivität bis VT 44, eine Periodenlänge (τ_{fr}) von 24 Stunden auf. Auch bei den Spatzen C und D zeigte sich mit einer Periodenlänge nahe 24 Stunden eine gewisse Verbindung der Fressaktivität zur Oozystenausscheidung. Diese Synchronizität im Verhalten der Fressaktivität und der

Oozystenausscheidung, auch an einzelnen Versuchstagen, war graphisch gut sichtbar (vgl. Abb. 17 und 18). Auch die stabilere Phasenbeziehung, die sich in einer geringeren Streubreite der Werte, sowohl zwischen den Versuchsabschnitten, als auch zwischen den Übergangszyklen und den Werten nach Einnahme der stabilen Phasenlage, zwischen Oozystenausscheidung und Fressaktivität zeigten, sprechen für die Richtigkeit dieser Beobachtung. Weiterhin kam es sowohl bei der Fressaktivität, als auch bei der Oozystenausscheidung zu einer Zunahme der Aktivitätsdauer. Im Gegensatz dazu nahm die Dauer der Hüpfaktivität stark, bis hin zur Hüpfverweigerung, ab. Grund hierfür kann natürlich sogenanntes negatives „masking“ (siehe Glossar, S.8) sein, das die Bewegungsaktivität stärker beeinflusst, als die Fressaktivität [Heigl, S. et al., 1995, S. 225]. Allerdings könnte es sich auch um eine engere Verbindung zwischen einem, die Fressaktivität, als auch die Oozystenausscheidung steuernden Zentrum handeln.

Versuchsabschnitt III bestätigte die Beobachtung aus Versuchsabschnitt II (Dauerdämmerlicht). So zeigten alle Spatzen ab dem ersten Tag unter LD-Bedingungen eine Hüpfaktivität mit einer Periodenlänge von $\tau_h = 24$ Stunden. Wie in vielen Arbeiten beschrieben, ist dieser sofortige Beginn der Aktivität mit dem Beginn des Lichts ohne Übergangszyklen wohl am ehesten auf das „masking“ von Licht zurückzuführen [Heigl, S. et al., 1995, S. 225]. Die Fressaktivität dagegen erreichte bei drei Spatzen (Spatz A, C, D) bei kurzem Versuchsabschnitt keine stabile Phasenlage. Nur Spatz B wies nach zwei Übergangszyklen eine stabile Phasenlage auf. Ebenso verhielt es sich mit der Ausscheidung der Oozysten. Diese zeigten ebenfalls bei den Spatzen A, C und D keine stabile Phasenlage. Spatz B wies diese wie bei der Fressaktivität auf. Er benötigte dafür 3 Übergangszyklen. So kann wieder von einer engen Verbindung zwischen Fressaktivität und Oozystenausscheidung gesprochen werden. Auch in Versuchsabschnitt IV konnte ein weiterer Hinweis für diese Verbindung gefunden werden. So nahm sowohl die Fressaktivität als auch die Oozystenausscheidung bei einer Erhöhung der Lichtintensität (500 lux) unter sonst gleichbleibenden Bedingungen sehr stark ab. Die Hüpfaktivität dagegen zeigte eine deutliche Zunahme der Intensität. Die Hüpfaktivitätsdauer lag, wie bei den anderen Licht-Dunkel-Zyklen, mit 5 lux während der Lichtperiode bei 12 Stunden (während der gesamten Lichtperiode) und die Spatzen zeigten ihre höchste Hüpfaktivität in den Morgenstunden. Die Periodenlänge betrug ebenso wieder $\tau_h = 24$ Stunden. Aufgrund der sehr starken Abnahme der Fressaktivität konnte leider nur Spatz A hinsichtlich der Periodenlänge und Aktivitätsdauer ausgewertet werden. Diese verhielt sich wie die Hüpfaktivität des Spatzen. Die Oozysten konnten durch die geringe Zahl der Ausscheidung nicht beurteilt werden. Auch in diesen beiden Versuchsabschnitten zeigte sich gemittelt eine größere Nähe der Phasenbeziehung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität als zur Hüpfaktivität (Versuchsabschnitt III: $\Psi_{c/fr} = - 4,01$ Stunden, $\Psi_{c/h} = - 2,25$ Stunden, Versuchsabschnitt IV: $\Psi_{c/fr} = - 6,0$ Stunden, $\Psi_{c/h} = - 4,55$ Stunden). Interessant ist vielleicht noch, dass Spatz C bereits zwei Stunden vor Lichtbeginn (d.h. bei 0,5 lux) eine Fressaktivität aufwies, die mit Anschalten des Lichts (500 lux) nicht mehr nachweisbar war.

Weiterhin festzuhalten ist, dass die Ausscheidung der Oozysten, unter allen gegebenen Bedingungen, stets in einem zeitlich begrenzten Raum von zwei bis vier Stunden ein deutliches Maximum aufwies,

auch wenn sich die Ausscheidungsdauer insgesamt v.a. im Dauerdämmerlicht deutlich verlängerte. Dies unterscheidet sie von der Aktivität des Spatzen.

Bei Vorliegen dieser Ergebnisse stellen sich nun folgende Fragen:

1. Wieso sind die Spatzen trotz Pinealektomie im Dauerdämmerlicht und somit ohne erkennbaren äußeren Zeitgeber nicht wie erwartet arrhythmisch geworden?
2. Können die Ergebnisse unter gegebenen Bedingungen überhaupt gewertet werden?
3. Gibt es eine Verbindung zwischen der Oozystenausscheidung und der Fressaktivität oder ist diese Verbindung in diesem Versuch nur zufällig?
4. Besitzen die Kokzidien eine eigene endogene Uhr?

Bevor die Frage einer eigenen endogenen Uhr der Kokzidien diskutiert und auf die Synchronizität der Fressaktivität und der Oozystenausscheidung näher eingegangen werden kann, sollte zuerst geklärt werden, warum die Spatzen nicht, wie erwartet, im Dauerdämmerlicht arrhythmisch geworden sind, und ob sich daraus Konsequenzen auf die vorliegenden Ergebnisse ergeben.

Im Bereich der circadianen Forschung mit Vögeln ist weitestgehend unbestritten, dass es bei Haussperlingen nach Entfernung der Epiphyse unter konstanten Bedingungen nach einigen Übergangszyklen zu einem arrhythmischen Verhalten der Tiere kommt [Gaston, S. et al., 1968, S. 1125; Gwinner, E., 1989, S. 27; Waever, D. R., 1999, S. 197]. Grund hierfür ist der mit Entfernung der Epiphyse stattfindende Verlust eines übergeordneten Schrittmachers. So geht man davon aus, dass das circadiane System der Spatzen aus mehreren oszillierenden, sich erhaltenden und verstärkenden Einheiten besteht (siehe auch 1.3.1), und dass nach Verlust eines der Hauptschrittmacher die Aufrechterhaltung der Rhythmik auf andere sich selbst-erhaltende Oszillatoren zurückzuführen ist. Diese neuronalen und nicht-neuronalen Oszillatoren benötigen dazu allerdings rhythmische Informationen von innen und außen im Sinne eines Zeitgebers.

Falls nun einer der Hauptoszillatoren wie die Epiphyse mit seinem humoralen „output“ (Melatonin) wegfällt, werden die Oszillationen der anderen Komponenten ohne erneuten Impuls (z. B. einen Zeitgeber) ausklingen. Somit führt der Verlust der Epiphyse, durch Reduktion des Selbsterhaltungsgrades des circadianen Schrittmachers als Ganzem [Abraham, U. et al., 2000, S. 48], unter konstanten Bedingungen, zum Verlust des circadianen Rhythmus des Spatzen.

Diese Untersuchungen stehen im Widerspruch zu meinen Ergebnissen im Dauerdämmerlicht. Grund hierfür könnte zum einen die nicht vollständige Entfernung der Epiphyse darstellen. Allerdings spricht gegen diese Annahme, dass diese durch einen sehr erfahrenen Operateur (Prof. Dr. E. Gwinner) stattfand und dass bei keinem der Spatzen ein arrhythmisches Verhalten festgestellt worden war. Zum

anderen könnten äußere Faktoren das Verhalten der Spatzen beeinflusst haben. Trotz eines schall,- und lichtisolierten Raumes kann dies nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Hierfür spricht, dass die Tiere zu einem sehr ähnlichen Zeitpunkt (ca. VT 22) eine klar ersichtliche freilaufende Periodenlänge entwickelten, was allerdings auch durch eine Synchronisierung der Tiere untereinander durch soziale Zeitgeber zu erklären wäre [Gwinner, E., 1966, S. 765]. Gegen diese Theorie als alleinige Ursache für die weiter bestehende Rhythmik der Tiere, sprechen jedoch die unterschiedlichen Periodenlängen und Aktivitätsdauern der Sperlinge.

Eine weitere Erklärung wäre in einem Fortbestehen einer circadianen Rhythmik durch andere Suboszillatoren zu suchen. Man könnte annehmen, dass nach Verlust der Epiphyse andere Suboszillatoren (beim Spatzen z. B. Retina oder SCN) weiterhin eine zwar deutlich abgeschwächte, jedoch noch sich selbst-erhaltende circadiane Rhythmik erzeugen. Diese könnte, unter anderem aufgrund zeitlicher Koordination der individuellen Oszillatoren und erhöhter Empfindlichkeit der peripheren Zellen ausreichen, den Organismus zu „entrainen“ und somit ein rhythmisches Verhalten der Spatzen bewirken. Das heißt in einem multioszillierenden System käme es dann auch ohne äußeren Zeitgeber zu einer internen Synchronisation [Brandstaetter, R., 2004, S. 5699]. Diese zeitliche Koordination könnte dabei über neuronale oder humorale Transmitter erfolgen, wobei dann nahe liegt, dass wiederum extrapineal produziertes Melatonin eine Rolle spielt. Es gibt Untersuchungen, die bei Vögeln neben einer epiphysären auch eine rhythmische retinale Melatoninproduktion nachweisen [Gwinner, E. et al., 2001, S. 1801; Takahashi, J. S. et al., 1989, S. 279]. Auch der Gastrointestinaltrakt und die Harderschen Drüsen zeigen eine unabhängige Melatoninproduktion [Gwinner, E. et al., 2000, S. 557; Huether, G., 1993, S. 665]. Allerdings muss zu bedenken gegeben werden, dass zum einen in diesen Strukturen produziertes Melatonin nur selten ins Blut sezerniert wird, und zum anderen Janik und Gwinner nachweisen konnten, dass bei Hausspatzen nach Verlust der Epiphyse kein endogener Melatoninspiegel im Blut mehr messbar war [Janik, D. et al., 1992, S. 277].

Trotz des nicht erwarteten Ergebnisses und der daraus folgenden Diskussion kann die Frage nach einer endogenen Uhr der Kokzidien und deren möglicher Beeinflussung durch Melatonin, sicherlich diskutiert werden.

So könnte die Ausscheidung der Oozysten auch von oben erwähnten suboszillierenden Einheiten des Spatzen beeinflusst werden. Hierfür spricht, dass die Ausscheidung der Oozysten ebenfalls in allen Versuchsabschnitten rhythmisch blieb und sich ihre Periodenlänge unter Lldim zum annähernd selben Zeitpunkt wie die Aktivität der Spatzen veränderte (vgl. Abb. 17,18). Wie erwähnt, fiel hier eine deutlich engere Beziehung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität auf. Grund hierfür könnte ein Suboszillator sein, der als Teil des multioszillierenden Systems besonders die Rhythmik des Darmgewebes steuert, indem er als übergeordneter Schrittmacher periphere oszillierende Einheiten,

z. B. die Enterozyten untereinander und miteinander intern synchronisiert. Deren synchrone circadiane Rhythmik hätte dann auch eine circadiane Rhythmik der Oozystenausscheidung zur Folge.

Gestützt wird diese Annahme durch Untersuchungen von Yoo, der bei arrhythmischen Mäusen (aufgrund des Verlustes des SCN) nachwies, dass das periphere Gewebe zwar weiterhin rhythmische circadiane Oszillationen zeigte, sich die Phasenlage der einzelnen Gewebsarten zueinander allerdings veränderte. Diese Desynchronität der einzelnen Gewebsarten untereinander könnte ein Hinweis auf unterschiedliche, einzelne gewebsverbundene steuernde Oszillatoren sein [Yoo, S. H. et al., 2004, S. 5339].

Neben dieser Möglichkeit könnte auch das Vorhandensein einer rein peripheren, unabhängigen Darmuhr für die engere Bindung der Oozystenausscheidung an die Fressaktivität verantwortlich sein. Man nimmt an, dass alle peripheren Zellen eine eigene circadiane Rhythmik besitzen, die durch äußere Einflüsse direkt „entrain“ werden kann. So konnten Damiola et al. nachweisen, dass bei Fütterung nachtaktiver Mäuse und Ratten während der Lichtperiode, sich die Phasenlage der circadianen Genexpression im peripheren Gewebe vollkommen verändert, die Genexpression des zentralen Schrittmachers (SCN) dagegen jedoch in keiner Weise beeinflusst wird [Damiola, F. et al., 2000, S. 2950]. In meiner Arbeit wird diese Theorie der „eigenständigen, peripheren Darmuhr“ durch das weiterhin rhythmische Verhalten der Spatzen unter Dauerdämmerlicht, den divergierenden Aktivitätsrhythmen der Tiere (erkennbar an verschiedener Periodenlänge, Aktivitätsdauer und -intensität) und der engeren Bindung der Oozystenausscheidung an die Fressaktivität bestätigt. Dagegen spricht, dass in ähnlichen Versuchen mit Spatzen diese enge Kopplung zwischen Fressaktivität und Oozystenausscheidung nicht nachweisbar war [Flohers, K., 2001, S. 89; Schuster, C., 1998, S. 69] und auch meine folgenden Versuche diese Annahme nicht vollständig bestätigen konnten.

Ein weiterer Grund für die circadiane Ausscheidung der Oozysten bei den pinealektomierten Spatzen könnte auch extrapineal produziertes Melatonin sein. Dabei liegt aufgrund der engeren Bindung zwischen Oozystenausscheidung und Fressaktivität eine gastrointestinale Melatoninproduktion nahe. Gegen diese Annahme spricht allerdings die unterschiedliche Phasenbeziehung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität zwischen den einzelnen Versuchsabschnitten. Auch die Änderung der Phasenbeziehung während der Übergangszyklen, im Vergleich zu derer nach Einnahme der stabilen Phasenlage, spricht gegen diese Annahme. Weiterhin lassen auch die nicht exakt gleiche Anzahl an Übergangszyklen und die unterschiedliche Veränderung der Periodenlängen diese Theorie als unwahrscheinlich erscheinen.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen noch eine weitere, sehr wahrscheinliche Interpretationsmöglichkeit zu:

Die Kokzidien könnten im Besitz einer eigenen endogenen Uhr sein, die den circadianen Rhythmus der Oozystenausscheidung steuert. Hinweise hierfür ergeben sich in meiner Arbeit sowohl aus der unterschiedlichen Periodenlänge, als auch durch die völlig unterschiedliche Phasenbeziehung zwischen der Oozystenausscheidung und den Aktivitäten der Spatzen unter Konstantbedingungen. Auch das stabile Fortbestehen eines zeitlich begrenzten Ausscheidungsmaximums der Oozysten unter konstanten Bedingungen, bei zeitlich wechselnden und über die gesamte Aktivitätsphase verteilten Aktivitätsmaxima der Spatzen spricht für diese These. Gestützt wird diese These der eigenen Inneren Uhr des Parasiten auch durch die Arbeit von Keinath, die bei pinealektomierten Spatzen, die unter Konstantbedingungen arrhythmisch waren, weiterhin in fast allen Fällen eine rhythmische Ausscheidung der Oozysten nachwies [Keinath, S., 1998, S. 98]. In ähnlichen Versuchen mit Veränderungen der Periodenlänge des Zeitgebers [Wild, T., 2004, S. 64], oder wechselnden Lichtphasen bei pinealintakten Spatzen [Schuster, C., 1998, S. 23] ergaben sich weitere Hinweise auf das Vorliegen einer endogenen Uhr. Ferner sprechen neueste Ergebnisse der molekularen Forschung für diese Behauptung. So konnten circadiane Oszillationen nicht nur in allen peripheren Zellen durch eine Expression von "clock"-Genen nachgewiesen, sondern konnte auch anhand von Cyanobakterien gezeigt werden, dass Einzeller ein stabiles, circadianes System aufweisen, das die Genexpression in ihrem Organismus steuert [Johnson, C. H., 2004, S. 23]. Weiterhin scheint es die Fähigkeit zu besitzen, als unabhängiges Zeitsystem stabil und hochpräzise, trotz der großen Veränderungen, die eine Zelle durch ihren Teilungsvorgang unterliegt, einen circadianen Rhythmus aufrechtzuerhalten.

Im Ganzen betrachtet, erscheint somit das Vorliegen einer endogenen Inneren Uhr der Kokzidien, die eng an die Fressaktivität gekoppelt ist, wahrscheinlich. Ob diese Verbindung nun über übergeordnete Oszillatoren des circadianen Systems des Spatzen, über eine unabhängige periphere Darmuhr oder über humorale Faktoren gesteuert ist, oder ob sie nur zufällig auftritt, müssen weitere Versuche klären. Dabei wäre eine Möglichkeit, bei pinealintakten Spatzen unter konstanten Bedingungen (zum Ausschluß von masking) ohne Zeitgeber, sowohl deren Hüpf-, als auch Fressaktivität mit Hilfe der Periodenlänge mit der Ausscheidung der Oozysten zu vergleichen. Ferner könnte man die Spatzen unter konstanten Bedingungen, bestimmten Reizen (Licht, Gesang, Futter, Melatonin) kurzzeitig aussetzen und die nachfolgende Wirkung auf Fressverhalten, Hüpfaktivität und Oozystenausscheidung beurteilen.

In Bezug auf die die Evolutionstheorie wäre eine Anpassung der circadianen Oozystenausscheidung direkt an die Fressaktivität jedenfalls sinnvoll, da somit auch ein Überleben bzw. eine Fortpflanzung in längeren Dunkelperioden (z. B. Mittsommernacht), die oft mit einer Verringerung der Hüpfaktivität bis hin zu einer vollkommenen Inaktivität einhergehen, gewährleistet ist. Außerdem wäre durch eine Bindung an eine periphere Uhr, die flexibler auf Umweltreize reagieren kann, eine schnellere Anpassung der Oozysten auf Veränderungen der Umweltbedingungen und damit die Voraussetzung für eine optimale Vermehrung gegeben.

4.3. Spatzen mit Melatoninimplantaten

In den Versuchen 2 und 3 wurde bei vier kokzidieninfizierten Sperlingen der Einfluss von exogenem Melatonin auf die Aktivität der Tiere und auf die circadiane Ausscheidung der Oozysten untersucht.

Dazu wurden die Tiere anfangs mit Leerimplantaten, später im Versuch mit melatoningefüllten Implantaten, verschiedenen Phasenwechseln ausgesetzt. In Versuch 2 erfolgten diese Phasenwechsel jeweils durch Verlängerung der Lichtperiode (phase delay), wohingegen in Versuch 3 die Dunkelperiode beim Phasenwechsel verkürzt wurde (phase advance) (vgl. S. 48 und S. 50).

Bei sehr großer Nähe der beiden Versuche sollen diese hier gemeinsam diskutiert werden. Eventuell aufgetretene Unterschiede zwischen Versuch zwei und drei werden im Text erläutert. Grundsätzlich kann man sagen, dass bei Versuchen mit Verkürzung der Dunkelperiode aufgrund weniger stark ausgeprägtem „masking“ genauere Ergebnisse erzielt werden [Hau, M. et al., 1995, S. 89].

In den ersten beiden Versuchsabschnitten, bei denen die Spatzen ein Leerimplantat trugen und somit nur eine Beeinflussung durch endogen ausgeschüttetes Melatonin erfolgte, zeigten die Spatzen eine Hüpfaktivität (A_h) von durchschnittlich 11,65 Stunden. Diese verkürzte sich nach Implantation der mit Melatonin gefüllten Röhren bei allen Tieren, außer Spatz D, in Versuch 3 in den folgenden Versuchsabschnitten auf durchschnittlich 10,68 Stunden.

Die Fressaktivität zeigte in den ersten beiden Versuchsabschnitten gemittelt eine etwas längere Dauer als die Hüpfaktivität (Fressaktivitätsdauer Versuchsabschnitt I und II: $A_{fr} = 12,88$ Stunden), wobei es ebenso wie bei der Hüpfaktivität, nach Implantation der Melatoninröhren zu einer Abnahme dergleichen kam (Fressaktivitätsdauer Versuchsabschnitt III-V: $A_{fr} = 12,38$ Stunden).

Dass die Fressaktivität in allen Versuchsabschnitten eine längere Aktivitätsdauer als die Hüpfaktivität zeigte, liegt wohl vor allem an einer dem Lichtbeginn verstärkten Antizipation (d.h. die Sperlinge beginnen bereits in der Dunkelphase mit dem Fressbeginn, wohingegen der Hüpfaktivitätsbeginn näher am Lichtbeginn liegt). So ergab sich bei der Fressaktivität unter Leerimplantaten zum Lichtbeginn eine positive Phasenwinkeldifferenz ($\Psi_{fr/li}$) von + 1,14 Stunden. Im Gegensatz dazu betrug diese bei der Hüpfaktivität unter Leerimplantaten ($\Psi_{h/li}$) gemittelt + 0,50 Stunden. Nach Zufuhr von exogenem Melatonin nahm die Phasenwinkeldifferenz aller Spatzen stark ab (Fressaktivität ($\Psi_{fr/li}$) = + 0,36 Stunden, Hüpfaktivität ($\Psi_{h/li}$) = + 0,11 Stunden), d.h. der Aktivitätsbeginn der Tiere lag nun zeitlich näher am Lichtbeginn. Dieses Ergebnis geht einher mit früheren Studien, in denen die exogene Gabe von Melatonin zu einer Verringerung der positiven Phasenwinkeldifferenz (bis hin zu einem Phasenwinkel von Null) führte [Aschoff, J et al., 1982, S. 305; Hau, M. et al., 1995, S. 89]. Zurückzuführen ist dies auf eine Zunahme der direkten Effekte des Lichtes („masking“) auf die Aktivität der Spatzen [Aschoff, J et al., 1960, S. 11; Hau, M. et al., 1995, S. 89]. Dieses „masking“ dürfte auch der Grund für die kleinere Phasenwinkeldifferenz der Hüpfaktivität im Vergleich zur

Freßaktivität in allen Versuchsabschnitten sein, da diese, wie mehrere Arbeiten zeigen konnten, einem stärkerem masking unterliegt [Hau, M. et al., 1997, S. 973].

Weiterhin auffällig war eine Abnahme der Aktivitätsintensität der Spatzen nach Implantation der Melatoninröhrchen. Am deutlichsten war diese in den Tagen nach Implantation (Versuchsabschnitt III) ersichtlich. In Versuchsabschnitt IV und V kam es zwar wieder zu einer Zunahme der Aktivität, allerdings lag diese, vor allem bei den Spatzen des dritten Versuches, weiterhin unterhalb den Werten der ersten beiden Versuchsabschnitte (vgl. Abb. 19).

Bei der Beurteilung der Resynchronisationszeiten nach Phasenwechsel fiel sowohl für die Fressaktivität, als auch für die Hüpfaktivität, eine deutlich geringere Anzahl an Übergangszyklen nach Implantation der Melantoninröhrchen auf. Dabei war insgesamt die Resynchronisationszeit der Hüpfaktivität (mit $T_h = 3,75$ Tage bei Leerimplantat und $T_h = 1,63$ Tage nach Implantation des Melatonin gefüllten Röhrchens) in allen Versuchsabschnitten kürzer, als die Resynchronisationszeit der Fressaktivität (Übergangszyklen der Fressaktivität mit Leerimplantat: $T_{fr} = 5,75$ Tage, mit Melatoninimplantat: $T_{fr} = 3,22$ Tage). Somit bestätigten meine Ergebnisse, die von Hau und Gwinner 1995 gesammelten Daten einer schnelleren Resynchronisation der Spatzen unter Zufuhr von exogenem Melatonin [Hau, M. et al., 1995, S. 89].

Insgesamt synchronisierten in allen Versuchen alle Tiere mit dem Zeitgeber und zeigten nach Einnahme der stabilen Phasenlage eine circadiane Rhythmik mit einer Periodenlänge von $\tau = 24$ Stunden.

Auch die Ausscheidung der Oozysten zeigte in allen Versuchsabschnitten nach Einnahme einer stabilen Phasenlage die bekannte Rhythmik mit einer Periodenlänge von $\tau = 24$ Stunden.

Allerdings benötigte die Oozystenausscheidung der Spatzen deutlich mehr Übergangszyklen bis zur Resynchronisation mit dem Zeitgeber, als die Freß-, und Hüpfaktivität der Tiere. Dies traf sowohl für die Phasenwechsel unter Leerimplantat ($T_c = 6,5$ Tage), als auch für die Phasenwechsel unter exogener Melatoninzufuhr zu ($T_c = 5,08$ Tage). Allerdings zeigte sich in beiden Versuchen unter exogener Zufuhr, wie bei den Aktivitäten der Spatzen, eine schnellere Resynchronisation der Oozystenausscheidung nach Phasenwechsel. Dies war vor allem in Versuch 3 (phase advance) deutlich ersichtlich (vgl. Abb.27, 28 und 29). Sowohl optisch, als auch anhand der Phasenlage zwischen den Aktivitäten der Spatzen und der Oozystenausscheidung zeigte sich dabei eine größere Nähe der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität des Spatzen. So lag die Phasenwinkeldifferenz der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität in allen Versuchen grob geschätzt um 6 Stunden, wohingegen die Phasenwinkeldifferenz der Oozystenausscheidung zur Hüpfaktivität während den Übergangszyklen bei Versuch zwei, einen deutlich geringeren und bei Versuch drei, einen deutlichen höheren Wert, einnahm (vgl. Tab. 14 und 23). Der Grund hierfür könnte, wie oben bereits erwähnt, in einem stärkerem „masking“ der Hüpfaktivität gegenüber der Fressaktivität liegen.

Weiterhin fiel in diesen beiden Versuchen, ähnlich wie bei der Freß-, und Hüpfaktivität der Spatzen, unter exogener Melatoninzufuhr des Spatzen eine Verkürzung der Ausscheidungszeitraum der

Oozysten (Ausscheidungszeitraum Leerimplantat: $A_c = 7,66$ Stunden, Melatoninimplantat $A_c = 6,47$ Stunden) auf.

Zusammenfassend drängt sich beim Vorliegen dieser Ergebnisse die Annahme auf, dass die circadiane Oozystenausscheidung durch Melatonin beeinflusst wird. Hierfür spricht, dass unter exogener Melatoninzufuhr sowohl die Aktivitätsdauer der Spatzen, als auch die Ausscheidungsdauer der Oozysten abnahm. Ebenfalls kam es unter kontinuierlicher exogener Melatoninzufuhr, sowohl bei der Hüpf-, und Freßaktivität der Spatzen, als auch bei der Oozystenausscheidung zu einer Abnahme der Anzahl der Übergangszyklen und somit zur Abnahme der Resynchronisationszeit. Angenommen diese Hypothese wäre richtig und Melatonin beeinflusst die Oozystenausscheidung, stellt sich weiterhin die Frage, ob die exogene Melatoninzufuhr eine direkte Wirkung auf eine eventuell bestehende Innere Uhr der Kokzidien besitzt, oder ob sie indirekt durch Veränderungen der circadianen Rhythmik des Spatzen die Ausscheidung der Oozysten beeinflusst.

Für eine direkte Wirkung spricht, dass für manche Einzeller wie z. B. *Gonyaulax polyedra* eine Beteiligung von Melatonin an photoperiodischen Prozessen nachgewiesen werden konnte und es somit evolutionär ein sehr altes rhythmusassoziiertes Molekül darstellt [Balzer, I. et al., 1991, S. 795; Hardeland, R. et al., 1996, S. 119]. Allerdings gibt es bisher bei der Gattung der Kokzidien keine Untersuchungen über die Existenz Melatonin-bindender Zellen. Diesen zu erbringen, könnte Bestandteil weiterer Arbeiten sein.

Wie oben beschrieben, könnte die circadiane Rhythmik der Oozystenausscheidung auch indirekt durch Melatonin beeinflusst werden. In diesem Fall würde die exogene Melatoninzufuhr im "System Spatz" zu Veränderungen führen, die sich wiederum auf die circadiane Rhythmik der Oozystenausscheidung auswirken. Wie bereits erwähnt, besteht das circadiane System der Vögel aus mindestens drei Komponenten, nämlich einer Region im Hypothalamus (LHN und SCN), der Retina und der Epiphyse. Normalerweise interagieren und stabilisieren sich diese Komponenten gegenseitig und schaffen so ein sich „selbst-erhaltendes circadianes System“ [Gwinner, E. et al., 2001, S. 1801]. Änderungen in den Eigenschaften einer dieser Komponenten, wie z.B. eine kontinuierliche epiphysäre Melatoninausschüttung, können somit die Eigenschaften dieses Schrittmachers beeinflussen. Dass dies auf jeden Fall für die Epiphyse als zentralem Schrittmacher bei Sperlingen zutrifft, beweisen zahlreiche Arbeiten sowohl mit pinealektomierten Sperlingen, als auch mit Vögeln, die eine exogene Melatoninzufuhr erhielten [Abraham, U. et al., 2000, S. 48; Gaston, S. et al., 1968, S. 1125; Gwinner, E. et al., 1997, S. 439; Hau, M. et al., 1995, S. 89]. Dabei zeigte sich bei Spatzen unter synchronisierten Bedingungen neben einer Erhöhung des „Range of entrainment“ zu den Zeitgebern Licht und Futter, auch eine Verkürzung der Aktivitätsdauer und -intensität, eine Verringerung der positiven Phasenwinkeldifferenz und eine Verkürzung der Resynchronisationzeiten nach Phasenwechsel [Gwinner, E. et al., 1997, S. 439; Gwinner, E. et al., 2001, S. 1801]. Bis auf die Erhöhung des „range of entrainment“, die hier nicht geprüft wurde, alles Ergebnisse, die in meinen

Versuchen auch auf die Ausscheidung der Oozysten zutreffen. Somit kann postuliert werden, dass die Oozystenauscheidung passiv an einen übergeordneten Schrittmacher (SCN, Epiphyse, Retina usw.) des Spatzen gebunden ist. Dagegen spricht allerdings, dass sich der Ausscheidungsrhythmus der Oozysten nicht, wie erwartet, genau an die veränderten Lichtbedingungen hielt. So benötigte die Oozystenauscheidung unter exogener Melatoninzufuhr des Spatzen eine weitaus höhere Anzahl an Übergangszyklen bis zur Resynchronisation, als die Aktivitäten der Spatzen. Auch die unterschiedlichen Phasenbeziehungen der Oozystenauscheidung zu den Aktivitäten der Spatzen sowohl während der Transients, als auch nach Einnahme der stabilen Phasenlage sprechen gegen diese Theorie.

Eine weitere Möglichkeit einer indirekten Wirkung von Melatonin auf die Ausscheidung der Oozysten könnte durch Melatonin, das im Gastrointestinaltrakt des Spatzen produziert wird, sein. So wies Huether 1993 dort eine extrapineale Melatoninsynthese nach [Huether, G., 1993, S. 665]. Ferner zeigte Vakkuri, dass Tauben nach Pinealektomie aufgrund einer rhythmischen Melatoninproduktion im Duodenum weiterhin einen in der Amplitude unveränderten Melatoninrhythmus aufwiesen [Vakkuri, O. et al., 1985, S. 263]. Des weiteren konnte bei Säugetieren der Nachweis von 125-I-Melatonin bindenden Rezeptoren im Gastrointestinaltrakt erbracht werden. Auf dem Boden dieser Ergebnisse könnte man annehmen, dass die auffällige Synchronisation zwischen Fressaktivität und Oozystenauscheidung, sichtbar vor allem durch eine ähnliche Anzahl an Übergangszyklen (siehe Tab. 15, 16, 24 und 25), und eine in beiden Fällen vorliegenden Periodenlänge von $\tau \sim 24$ Stunden nach Einnahme der stabilen Phasenlage auf eine eventuelle, durch Melatonin gesteuerte Darmuhr der Spatzen zurückzuführen ist. Auch die während der Übergangszyklen, wie nach Einnahme der stabilen Phasenlage ähnliche Phasenbeziehung zwischen Oozystenauscheidung und Fressaktivität, deutet auf eine Synchronisation dieser beider Rhythmen durch einen darmeigenen Schrittmacher hin.

Gegen eine die Oozystenauscheidung allein steuernde Darmuhr spricht jedoch, dass die Phasenwinkeldifferenz während der Übergangszyklen einen anderen Wert, als nach Einnahme der stabilen Phasenlage aufwies. Auch anhand der nicht exakt gleichen Anzahl an Übergangszyklen erscheint ein direkte Steuerung durch im Gastrointestinaltrakt produziertes Melatonin des Spatzen unwahrscheinlich. Weiterhin muss bedacht werden, dass derzeit auch keine Ergebnisse einer rhythmischen Melatoninsekretion im Darm des Haussperlings vorliegen. Vielmehr gibt es Hinweise, daß dieses dort produzierte Melatonin, wenn überhaupt, nur bei einigen Spezies unter bestimmten Umständen ins Blut freigesetzt wird [Gwinner, E. et al., 1997, S. 439; Gwinner, E. et al., 1997, S. 176]. Ferner zeigten Untersuchungen an Zebrafinken, dass bei diesen nach Pinealektomie der circadiane Melatoninrhythmus im Gastrointestinaltrakt nicht mehr nachweisbar war, womit eine gastrointestinale Melatoninproduktion als unwahrscheinlich erscheint [Van't Hof, T. J. et al., 1999, S. 185]. Damit wären die Ergebnisse der oben erwähnten Studien für die Spatzen wieder in Frage zu stellen. Zur Klärung ob wirklich eine durch Melatonin beeinflusste Darmuhr der Sperlinge die circadiane Rhythmik der Oozystenauscheidung steuert, könnten Messungen des Melatoninspiegels von „in vitro“ kultivierten Enterozyten beitragen.

Entgegen der oben genannten Theorien könnten die Kokzidien auch eine eigene, durch Melatonin und das circadiane System des Spatzen nicht beeinflussbare, Innere Uhr besitzen. Für diese Annahme spricht zum einen, dass die Aktivitätsrhythmen des Wirtes und die Ausscheidungsrhythmik der Oozysten eine unterschiedliche Anzahl an Übergangszyklen benötigten und diese bei den einzelnen Phasenwechseln auch in keinerlei Verhältnis zueinander standen. Zum anderen änderte sich während der Phasenwechsel bei allen Spatzen die Phasenbeziehung zwischen Oozystenausscheidung und Aktivitätsrhythmen der Tiere im Vergleich zur Phasenbeziehung nach Resynchronisation. Alles Tatsachen, die sehr für eine eigene Uhr des Parasiten sprechen. Gestützt wird diese These durch die Arbeit von Schuster, der in früheren Versuchen mit Durchführung von Phasenwechseln ebenfalls unterschiedliche Resynchronisationszeiten und eine Veränderung der Phasenbeziehung nach Phasenwechsel von Oozystenausscheidung und Aktivitätsrhythmen nachweisen konnte [Schuster, C., 1998, S. 69]. Bei ähnlich angelegten Versuchsreihen mit wechselnder Periodenlänge des Zeitgebers und wechselnden Licht-Dunkel-Zyklen (12:12 bzw. 8:16 bzw. 16:8 Stunden) kam es ebenfalls zu unterschiedlichen Resynchronisationszeiten [Flohers, K., 2001, S. 79; Wild, T., 2004, S. 108]. Erhöht kommt die Tatsache hinzu, dass in früheren Versuchen trotz arrhythmischen Verhaltens von pinealektomierten Spatzen, nach Wegfall jeglicher Zeitgeber, die Oozystenausscheidung in den meisten Fällen weiterhin rhythmisch blieb [Keinath, S., 1998, S. 65].

Bei objektiver Betrachtung kann somit die Existenz einer Inneren Uhr der Kokzidien zwar nicht bewiesen, aber als wahrscheinlich angenommen werden. Allerdings scheint auch Melatonin und das circadiane Verhalten des Spatzen die Ausscheidung der Oozysten zu beeinflussen. Somit deutet vieles daraufhin, dass eine eventuell existierende endogene Uhr der Kokzidien sich durch seinen Wirt dem Spatzen, zu Zeitgebern „entrainen“ (vgl. Glossar S. 7) lässt, so dass der Parasit optimale Bedingungen zur Fortpflanzung und Weiterentwicklung vorfindet. Beispiel hierfür sind die Ausscheidungsmaxima der Oozysten besonders in den Stunden vor Beginn der Dunkelperiode. In diesem Zeitraum ist aufgrund des Sozialverhaltens der Haussperlinge die Wahrscheinlichkeit der Infektion und Reinfektion anderer Haussperlinge am größten [Schwalbach, G et al., 1960, S. 263]. Somit ergibt sich durch Anpassung an den Licht-Dunkel-Rhythmus ein Überlebensvorteil für den Parasit.

Ob und wenn ja, auf welche Weise diese Innere Uhr der Kokzidien durch das circadiane System des Spatzen „getriggert“ wird und auf welche Art Melatonin dieses ganze System beeinflusst, muss in weiteren Versuchen geklärt werden. Hilfreich wäre hier eine „in-vitro“ Kultivierung der Kokzidien, bei der sowohl der Einfluss von Melatonin, als auch das Verhalten unter wechselnden Licht-Dunkelperioden untersucht werden.

5. Zusammenfassung

Nach unserem Wissen besitzt jeder Organismus, vom Einzeller bis zum Menschen, eine tagesperiodische circadiane Uhr. Eine ihrer wichtigsten Aufgaben ist es, die Organismen in Einklang mit den sich täglich ändernden Umweltbedingungen, zum Beispiel den Tag-Nacht-Wechsel zu bringen. Eine wichtige Rolle scheint hierbei das Hormon Melatonin zu spielen.

In dieser Arbeit wurde die circadiane Rhythmik der Ausscheidung von *Isoospora lacazei* – einer zur Ordnung der Kokzidien gehörenden Darmprotozoen-Art des Haussperlings (*Passer domesticus*) – in Abhängigkeit von der Verhaltensperiodik der Tiere (Freß-, und Hüpfaktivität) unter Veränderungen, sowohl des endogenen Melatoninspiegels des Spatzens, als auch der Umweltbedingungen, untersucht. Es handelt sich hierbei um ein ideales Modell zur Analyse der Interaktion von circadianen Rhythmen in einem Wirt-Parasit-System. So ist der Haussperling aufgrund seiner ausgeprägten tages- sowie jahresperiodischen Rhythmen seit Jahrzehnten “Modell“ der chronobiologischen Forschung. Mit Hilfe seiner leicht messbaren Aktivitätsrhythmen, seiner hohen Kotabgabefrequenz und seiner natürlich vorkommenden hohen Infektionsrate mit *Isoospora lacazei* werden ohne den Wirt beeinflussende Faktoren, einfache Rückschlüsse auf circadiane Rhythmen und ihre Bedeutung für Verhalten und Ökologie ermöglicht.

Medizinische Bedeutung erhält das Thema durch das Vorkommen ausgeprägter circadianer Rhythmen bei humanpathogenen Parasiten. Wichtige Beispiele hierfür sind die Mikrofilarienperiodik oder das rhythmische Auftreten von Plasmodienarten im Blut. Dabei ist der Mechanismus dieser rhythmischen Phänomene so gut wie unbekannt. Neuere Forschungsergebnisse im Bereich der Malariaforschung lassen zwar auf einen Einfluss von wirtseigenem Melatonin auf den Parasiten schließen [Hotta, C. T. et al., 2000, S. 466] und dank molekularer Forschung verstehen wir heute die präzisen Rhythmen der Parasiten und die Interaktion der circadianen Rhythmen in einer Wirt-Parasit-Beziehung etwas besser, dennoch bleiben derzeit sehr viele Fragen offen.

Wünschenswert wäre es, die circadiane Rhythmik dieser Wirt-Parasiten-Beziehung so zu begreifen, dass die Möglichkeit besteht, durch gezieltes Erzeugen einer Desynchronisation der Rhythmen diese Beziehung so zu stören, dass daraus ein Therapievorteil resultiert.

In meiner Arbeit wurde insbesondere die Frage untersucht, ob die Kokzidien über eine eigene, endogene, Innere Uhr verfügen, und wenn ja, ob diese von Veränderungen des Melatoninspiegels des Sperlings (*Passer domesticus*) und somit auch Veränderungen im Bereich des circadianen Systems des Spatzens beeinflusst wird und ob, und wenn ja, durch welchen Zeitgeber, diese unter genannten Bedingungen synchronisiert werden kann.

Es ergaben sich folgende Ergebnisse:

1. Unter Licht-Dunkelbedingungen (LD 12:12) waren Parasit und Wirt miteinander und mit dem äußeren Zeitgeber synchronisiert. Die Aktivität aller Sperlinge (pinealektomiert, pinealintakt, exogene Melatoninzufuhr) und die Oozystenausscheidung hatten die Periode von $\tau = 24$ Stunden des Licht-Dunkel-Zyklus.
2. Nach Pinealektomie zeigten sowohl Hüpfaktivität, als auch Fressaktivität der Spatzen unter konstanten Bedingungen (Ldim 0,4 lux) – und somit nach Wegfall jeglicher äußerer Zeitgeber - eine circadiane Rhythmik mit einer Periodenlänge knapp unterhalb 24 Stunden ($\tau_h = 23,33$ Stunden, $\tau_{fr} = 23,36$ Stunden). Auch die Oozystenausscheidung der Spatzen zeigte eine circadiane Rhythmik, die sich allerdings in der Periodenlänge ($\tau_c = 23,75$ Stunden) von der circadianen Rhythmik der Aktivitäten unterschied.
3. Bei den pinealektomierten Spatzen fiel besonders unter konstanten Bedingungen eine enge Verbindung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität auf (zeitlich gleicher Beginn des freilaufenden Verhaltens, ähnliche Periodenlänge und ähnliche Anzahl an Übergangszyklen). Diese wurde in den Versuchen zwei und drei teilweise bestätigt.
4. Unter exogener Melatoninzufuhr kam es nach Phasenwechsel zu einer schnelleren Synchronisation der Aktivitäten aller Vögel zur neuen Licht-Dunkel-Periode. Dies traf auch auf die Ausscheidung der Oozysten zu. Allerdings zeigte sie dabei eine von der Freß- als auch der Hüpfaktivität der Spatzen unterschiedliche Resynchronisationszeit.

Schlußfolgerung:

Solange ein äußerer Zeitgeber in Form eines Licht-Dunkel-Zyklus mit einer Periodenlänge von $\tau \sim 24$ Stunden existiert, sind Wirt und Parasit mit diesem und untereinander vollständig synchronisiert. Dabei scheint eine kontinuierliche exogene Melatoninzufuhr die Empfindlichkeit des Wirtes, als auch die des Parasiten, zum äußeren Zeitgeber zu erhöhen. Weiterhin zeigt sich bei pinealektomierten Spatzen, besonders nach Wegfall des Licht-Dunkel-Rhythmus als Zeitgeber, eine enge Verbindung der Oozystenausscheidung zur Fressaktivität des Spatzen, wenngleich eine vollständige Synchronisation mit dieser nicht erfolgt. Damit kann man festhalten, dass nach Verlust einer endogenen rhythmischen Melatoninproduktion des Spatzen (durch Überlagerung mittels exogener kontinuierlicher Melatoningabe oder mittels Pinealektomie) und damit verbundener Schwächung seines circadianen Systems, sich Hinweise für eine den Kokzidien eigene, Innere Uhr ergeben, die fähig ist, ihren Rhythmus, sowohl an äußere Einflüsse, als auch an die Fressaktivität des Vogels, anzupassen.

Biologisch gesehen wäre eine enge Bindung des Parasiten an äußere Zeitgeber, als auch an die Fressaktivität bzw. einen, die Fressaktivität steuernden Suboszillator des Spatzen sinnvoll, da hierdurch sowohl bei Störungen der Rhythmik (Futtermangel, Fluchtverhalten, Fortpflanzungsverhalten), als auch bei Störungen der Licht-Dunkel-Zyklen (Mittsommernacht, Zugvögel) weiterhin eine Fortpflanzung gewährleistet bleiben würde.

6. Literaturverzeichnis

1. Abraham,U., Gwinner,E., and Van't Hof,T.J., Exogenous melatonin reduces the resynchronization time after phase shifts of a nonphotic zeitgeber in the house sparrow (*Passer domesticus*), *J. Biol. Rhythms*, 15 (2000) 48-56.
2. Acuna-Castroviejo,D., Reiter,R.J., Menendez-Pelaez,A., Pablos,M.I., and Burgos,A., Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver, *J. Pineal Res.*, 16 (1994) 100-112.
3. Albrecht,U., The mammalian circadian clock: a network of gene expression, *Front Biosci.*, 9 (2004) 48-55.
4. Arendt,J., Melatonin, circadian rhythms, and sleep, *N. Engl. J. Med.*, 343 (2000) 1114-1116.
5. Aschoff,J., Exogenous and endogenous components in circadian rhythms, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 25 (1960) 11-28.
6. Aschoff,J., [Laws of biological diurnal periodicity.], *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 88 (1963) 1930-1937.
7. Aschoff,J., Comparative physiology: diurnal rhythms, *Annu. Rev. Physiol*, 25 (1963) 581-600.
8. Aschoff,J., Handbook of Behavioral Neurobiology. In: ASCHOFF,J. (Ed.), Handbook of Behavioral Neurobiology 4, Biological Rhythms, Plenum Press, New York and London, 1981, pp. p.81-p.92.
9. Aschoff,J., Gerecke,U., Goetz,C.v., Groos,G.A., and Turek,F.W., Phase responses and characteristics of free-running activity rhythms in the golden hamster: Independence of the pineal gland. In: Aschoff,J., Daan,S., Groos,G.A., e, d, s, . (Eds.), Vertebrate circadian systems: Structure and physiology, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1982, pp. 305-321.
10. Axelrod,J., Weissbach J, and ., Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin, *Science*, 131 (1960) 1312.
11. Balzer,I. and Hardeland,R., Photoperiodism and effects of indoleamines in a unicellular alga, *Gonyaulax polyedra*, *Science*, 253 (1991) 795-797.
12. Bartsch,C., Bartsch,H., Fluchter,S.H., Attanasio,A., and Gupta,D., Evidence for modulation of melatonin secretion in men with benign and malignant tumors of the prostate: relationship with the pituitary hormones, *J. Pineal Res.*, 2 (1985) 121-132.

13. Berg,J.M., Stryer,L., and Tymoczko,J.L., Biochemie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2003, 568 pp.
14. Berson,D.M., Dunn,F.A., and Takao,M., Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock, *Science*, 295 (2002) 1070-1073.
15. Bezzel,E., Vögel, BLV-Verlagsanstalt, München, 2000, 75
16. Binkley,S., Kluth,E., and Menaker,M., Pineal function in sparrows: circadian rhythms and body temperature, *Science*, 174 (1971) 311-314.
17. Borbély,A., Schlaf als biologischer Rhythmus. In: Borbély,A. (Ed.), *Das Geheimnis des Schlafs*, Deutsche Verlags-Anstalt GmbH, Stuttgart, 1998.
18. Brainard,G.C., Richardson,B.A., King,T.S., and Reiter,R.J., The influence of different light spectra on the suppression of pineal melatonin content in the Syrian hamster, *Brain Res.*, 294 (1984) 333-339.
19. Brandstaetter,B., The circadian Pacemaking System of Birds. In: Kumar,V. (Ed.), *Biological rhythms*, Mehra, N.K., New Delhi, 2002, pp. 144-163.
20. Brandstaetter,R., Circadian lessons from peripheral clocks: is the time of the mammalian pacemaker up?, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 101 (2004) 5699-5700.
21. Brandstaetter,R. and Abraham,U., Hypothalamic circadian organization in birds. I. Anatomy, functional morphology, and terminology of the suprachiasmatic region, *Chronobiol. Int.*, 20 (2003) 637-655.
22. Brandstaetter,R., Kumar,V., Abraham,U., and Gwinner,E., Photoperiodic information acquired and stored in vivo is retained in vitro by a circadian oscillator, the avian pineal gland, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97 (2000) 12324-12328.
23. Brandstaetter,R., Kumar,V., Van't Hof,T.J., and Gwinner,E., Seasonal variations of in vivo and in vitro melatonin production in a passeriform bird, the house sparrow (*Passer domesticus*), *J. Pineal Res.*, 31 (2001) 120-126.
24. Bubenik,G.A., Blask,D.E., Brown,B.M., Maestroni,G.J., Pang,S.F., Reiter,R.J., Viswanathan,M., and Zsapel,N., Prospects of the clinical utilization of melatonin, *Biol. Signals Recept.*, Recept. 7 (1998) 195-219.
25. Bünning,E., Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primärblättern von *Phaseolus multiflorus*. In: *Jb. Wiss.Bot.* 81 1935, pp. p.411-p.418.

26. Cagnacci,A., Krauchi,K., Wirz-Justice,A., and Volpe,A., Homeostatic versus circadian effects of melatonin on core body temperature in humans, *J. Biol. Rhythms*, 12 (1997) 509-517.
27. Cassone,V.M., Melatonin's role in vertebrate circadian rhythms, *Chronobiol. Int.*, 15 (1998) 457-473.
28. Cassone,V.M. and Menaker,M., Is the avian circadian system a neuroendocrine loop?, *J. Exp. Zool.*, 232 (1984) 539-549.
29. Cassone,V.M., Roberts,M.H., and Moore,R.Y., Melatonin inhibits metabolic activity in the rat suprachiasmatic nuclei, *Neurosci. Lett.*, 81 (1987) 29-34.
30. Cassone,V.M., Warren,W.S., Brooks,D.S., and Lu,J., Melatonin, the pineal gland, and circadian rhythms, *J. Biol. Rhythms*, 8 Suppl (1993) S73-S81.
31. Cranendonk,R.J., Kodde,C.J., Chipeta,D., Zijlstra,E.E., and Sluiter,J.F., *Cryptosporidium parvum* and *Isospora belli* infections among patients with and without diarrhoea, *East Afr. Med J.*, 80 (2003) 398-401.
32. Damiola,F., Le Minh,N., Preitner,N., Kornmann,B., Fleury-Olela,F., and Schibler,U., Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus, *Genes Dev.*, 14 (2000) 2950-2961.
33. Danilenko,K.V., Putilov,A.A., Russkikh,G.S., Duffy,L.K., and Ebbesson,S.O., Diurnal and seasonal variations of melatonin and serotonin in women with seasonal affective disorder, *Arctic Med. Res.*, 53 (1994) 137-145.
34. Defrance,R. and Quera-Salva,M.A., Therapeutic applications of melatonin and related compounds, *Horm. Res.*, 49 (1998) 142-146.
35. Enright,J.T., Data Analysis. In: ASCHOFF,J. (Ed.), *Handbook of Behavioral Neurobiology 4, Biological Rhythms*, Plenum Press, New York and London, 1981, pp. p.21-p.38.
36. Fitzgerald,P.R., The economic impact of coccidiosis in domestic animals, *Adv Vet Sci Comp Med*, 24 (1980) 121-143.
37. Flohrs,K. Biorhythmische Interaktion in einem Wirt-Parasit-System: Experimentelle Untersuchungen am Beispiel der Kokzidiose des Haussperlings. 1-97. 2001.
Ref Type: Thesis/Dissertation
38. Garcia,C.R., Markus,R.P., and Madeira,L., Tertian and quartan fevers: temporal regulation in malarial infection, *J. Biol. Rhythms*, 16 (2001) 436-443.

39. Gaston,S. and Menaker,M., Pineal function: the biological clock in the sparrow?, *Science*, 160 (1968) 1125-1127.
40. Geoffriau,M., Brun,J., Chazot,G., and Claustrat,B., The physiology and pharmacology of melatonin in humans, *Horm. Res.*, 49 (1998) 136-141.
41. Grulet,O., Landau,I., and Baccam,D., [Isospora from the domestic sparrow; multiplicity of species], *Ann. Parasitol. Hum. Comp*, 57 (1982) 209-235.
42. Gwinner,E., Entrainment of a circadian rhythm in birds by species-specific song-cycles, *Experientia*, 22 (1966) p. 765.
43. Gwinner,E., Melatonin in the circadian system of birds: model of internal resonance. In: Hiroshige,T., Homma,K. (Eds.), *Circadian clocks and ecology*, Hokaido University Press, Sapporo, 1989, pp. 27-53.
44. Gwinner,E. and Brandstatter,R., Complex bird clocks, *Philos. Trans. R. Soc. Lond B Biol. Sci.*, 356 (2001) 1801-1810.
45. Gwinner,E. and Hau,M., the pineal gland, circadian rhythms, and photoperiodism. In: *Sturkie's avian physiology*, Academic press, 2000, pp. 557-568.
46. Gwinner,E., Hau,M., and Heigl,S., Melatonin: generation and modulation of avian circadian rhythms, *Brain Res. Bull.*, 44 (1997) 439-444.
47. Gwinner,E., Zeman,M., and Klaassen,M., Synchronization by low-amplitude light-dark cycles of 24-hour pineal and plasma melatonin rhythms of hatchling European starlings (*Sturnus vulgaris*), *J. Pineal Res.*, 23 (1997) 176-181.
48. Hack,L.M., Lockley,S.W., Arendt,J., and Skene,D.J., The effects of low-dose 0.5-mg melatonin on the free-running circadian rhythms of blind subjects, *J. Biol. Rhythms*, 18 (2003) 420-429.
49. Haimov,I. and Arendt,J., The prevention and treatment of jet lag , *Sleep Med. Rev.*, 3 (1999) 229-240.
50. Haimov,I. and Lavie,P., Melatonin - a chronobiotic and soporific hormone, *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 24 (1997) 167-173.
51. Halberg,F., and Siffre,M., [free-run study of circadian rhythms of the pulse, of waking-sleep alternation and estimation of time during the 2 months of subterranean sojourn of a young adult male.], *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 260 (1965) 1259-1262.

52. Hardeland,R., Fuhrberg,B., Uria,H., Behrmann,G., Meyer,T.J., Burkhardt,S., and Poeggeler,B., Chronobiology of indoleamines in the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra*: metabolism and effects related to circadian rhythmicity and photoperiodism, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 29 (1996) 119-123.
53. Hastings,M.H. and Herzog,E.D., Clock genes, oscillators, and cellular networks in the suprachiasmatic nuclei, *J. Biol. Rhythms*, 19 (2004) 400-413.
54. Hau,M. and Gwinner,E., Continuous melatonin administration accelerates resynchronization following phase shifts of a light-dark cycle, *Physiol Behav.*, 58 (1995) 89-95.
55. Hau,M. and Gwinner,E., Adjustment of house sparrow circadian rhythms to a simultaneously applied light and food zeitgeber, *Physiol Behav.*, 62 (1997) 973-981.
56. Heigl,S. and Gwinner,E., Periodic Melatonin in the Drinking Water Synchronizes Circadian Rhythms in Sparrows, *Naturwissenschaften*, 81 (1994) p.83-p.85.
57. Heigl,S. and Gwinner,E., Synchronization of circadian rhythms of house sparrows by oral melatonin: effects of changing period, *J. Biol. Rhythms*, 10 (1995) 225-233.
58. Hendel,R.C. and Turek,F.W., Suppression of locomotor activity in sparrows by treatment with melatonin, *Physiol Behav.*, 21 (1978) 275-278.
59. Hill,D.E., Chirukandoth,S., and Dubey,J.P., Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals, *Anim Health Res. Rev.*, 6 (2005) 41-61.
60. Hirota,T. and Fukada,Y., Resetting mechanism of central and peripheral circadian clocks in mammals, *Zoolog. Sci.*, 21 (2004) 359-368.
61. Hotta,C.T., Gazarini,M.L., Beraldo,F.H., Varotti,F.P., Lopes,C., Markus,R.P., Pozzan,T., and Garcia,C.R., Calcium-dependent modulation by melatonin of the circadian rhythm in malarial parasites, *Nat. Cell Biol.*, 2 (2000) 466-468.
62. Huether,G., The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates, *Experientia*, 49 (1993) 665-670.
63. Huygens,C., *Horologium*, Karl-Heinz Becker, Düsseldorf, 1658.
64. Janik,D., Dittami,J., and Gwinner,E., The effect of pinealectomy on circadian plasma melatonin levels in house sparrows and European starlings, *J. Biol. Rhythms*, 7 (1992) 277-286.
65. Johnson,C.H., Circadian rhythms: as time glows by in bacteria, *Nature*, 430 (2004) 23-24.

66. Kayser, F.H., Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005, 152-153 pp.
67. Keinath, S. Die Chronobiologie der Kokzidiose (*Isospora lacazei*) des Haussperlings (*Passer domesticus*): Experimentelle Untersuchungen am Modell eines Wirt-Parasit-Systems. 1-98. 1998. Med. Fak. Technisch. Univ. München.
Ref Type: Thesis/Dissertation
68. Knott, S. and . Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidungsperiodik von Darmcoccidien beim Haussperling. 1992. Fak. f. Biowiss., Technisch. Univ..
Ref Type: Thesis/Dissertation
69. Kriegsfeld, L.J., Leak, R.K., Yackulic, C.B., LeSauter, J., and Silver, R., Organization of suprachiasmatic nucleus projections in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*): an anterograde and retrograde analysis, *J. Comp Neurol.*, 468 (2004) 361-379.
70. Lerner, A., Case, D., Wright, H., and Mori, W., Melatonin in peripheral nerve, *Nature*, 183 (1959) 1821.
71. Lindsay, D.S. and K.S. Todd, Jr. Coccidia of mammals. *Parasitic protozoa* 4, -89. 1993. 131, Academic Press, Inc.
Ref Type: Magazine Article
72. Lockley, S.W., Skene, D.J., James, K., Thapan, K., Wright, J., and Arendt, J., Melatonin administration can entrain the free-running circadian system of blind subjects, *J. Endocrinol.*, 164 (2000) R1-R6.
73. Macias, M., Rodriguez-Cabezas, M.N., Reiter, R.J., Osuna, A., and Acuna-Castroviejo, D., Presence and effects of melatonin in *Trypanosoma cruzi*, *J. Pineal Res.*, 27 (1999) 86-94.
74. Martin, X.D., Circadian rhythm in physiology and pharmacology, *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, 33 (1992) 3480.
75. Mehlhorn, H., *Encyclopedic reference of parasitology., disease, treatment, therapy*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2001.
76. Moore-Ede, M.C., Sulzman, F., and Fuller, C., *The clocks that time us, Physiology of the Circadian Timing System* Cambridge-Massachusetts-London, 1982.
77. Morgan, P.J., Williams, L.M., Lawson, W., and Riddoch, G., Stimulation of melatonin synthesis in ovine pineals in vitro, *J. Neurochem.*, 50 (1988) 75-81.

78. Mrugala,M., Zlomanczuk,P., Jagota,A., and Schwartz,W.J., Rhythmic multiunit neural activity in slices of hamster suprachiasmatic nucleus reflect prior photoperiod, *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol*, 278 (2000) R987-R994.
79. Murakami,N., Nakamura,H., Nishi,R., Marumoto,N., and Nasu,T., Comparison of circadian oscillation of melatonin release in pineal cells of house sparrow, pigeon and Japanese quail, using cell perfusion systems, *Brain Res.*, 651 (1994) 209-214.
80. Pappas,P.W., More parasites in the press, *Parasitol. Today*, 4 (1988) 142.
81. Quay,W.B., Effects of melatonin implants on structures and behaviors of the house finch (*Carpodacus mexicanus*) eye, *J. Pineal Res.*, 3 (1986) 143-157.
82. Reiter,R.J., Chronobiological aspects of the mammalian pineal gland, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 59C (1981) 223-233.
83. Romer,A.S., *Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere*, Verlag P Parey, Hamburg und Berlin, 2005, 426-427 pp.
84. Schuster,C. Experimentelle Untersuchungen zur Zeitstruktur einer Wirt-Parasit-Beziehung am Modell des coccidieninfizierten Haussperlings. 15-122. 1998. Fak. f. Med., Technisch. Univ. München.
Ref Type: Thesis/Dissertation
85. Schwalbach,G. and ., [Coccidiosis in songbirds. I. The excretion rhythm of *Isoospora* oocysts in the sparrow (*Passer domesticus*)], *Arch. Hyg. Bakteriol.*, 178 (1960) 263-276.
86. Siffre,M., Reinberg,A., Halberg,F., Ghata,J., Perdriel,G., and Slind,R., [Prolonged subterranean isolation. Study of 2 healthy adult subjects before, during and after this isolation], *Presse Med.*, 74 (1966) 915-919.
87. Sofic,E., Rimpapa,Z., Kundurovic,Z., Sapcanin,A., Tahirovic,I., Rustembegovic,A., and Cao,G., Antioxidant capacity of the neurohormone melatonin, *J. Neural Transm.*, (2005).
88. Stephan,F.K. and Zucker,I., Rat drinking rhythms: central visual pathways and endocrine factors mediating responsiveness to environmental illumination, *Physiol Behav.*, 8 (1972) 315-326.
89. Stepien,J.M. and Kennaway,D.J., Phase response relationships between light pulses and the melatonin rhythm in rats, *J. Biol. Rhythms*, 16 (2001) 234-242.
90. Stokkan,K.A., Reiter,R.J., Nonaka,K.O., Lerchl,A., Yu,B.P., and Vaughan,M.K., Food restriction retards aging of the pineal gland, *Brain Res.*, 545 (1991) 66-72.

91. Subramanian,P., Balamurugan,E., and Suthakar,G., Circadian clock genes in *Drosophila*: recent developments, *Indian J. Exp. Biol.*, 41 (2003) 797-804.
92. Takahashi,J.S. and Menaker,M., Physiology of avian circadian pacemakers, *Fed. Proc.*, 38 (1979) 2583-2588.
93. Takahashi,J.S., Murakami,N., Nikaido,S.S., Pratt,B.L., and Robertson,L.M., The avian pineal, a vertebrate model system of the circadian oscillator: cellular regulation of circadian rhythms by light, second messengers, and macromolecular synthesis, *Recent Prog. Horm. Res.*, 45 (1989) 279-348.
94. Takahashi,J.S. and Zatz,M., Regulation of circadian rhythmicity, *Science*, 217 (1982) 1104-1111.
95. Thomas,K.B. and Iuvone,P.M., Circadian rhythm of tryptophan hydroxylase activity in chicken retina, *Cell Mol. Neurobiol.* , 11 (1991) 511-527.
96. Tosini,G. and Menaker,M., Multioscillatory circadian organization in a vertebrate, iguana iguana, *J. Neurosci.*, 18 (1998) 1105-1114.
97. Touitou,Y., Fevre,M., Lagoguey,M., Carayon,A., Bogdan,A., Reinberg,A., Beck,H., Cesselin,F., and Touitou,C., Age- and mental health-related circadian rhythms of plasma levels of melatonin, prolactin, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in man, *J. Endocrinol.*, 91 (1981) 467-475.
98. Turek,F.W., McMillan,J.P., and Menaker,M., Melatonin: effects on the circadian locomotor rhythm of sparrows, *Science*, 194 (1976) 1441-1443.
99. Vakkuri,O., Rintamaki,H., and Leppaluoto,J., Plasma and tissue concentrations of melatonin after midnight light exposure and pinealectomy in the pigeon, *J. Endocrinol.*, 105 (1985) 263-268.
100. Van't Hof,T.J. and Gwinner,E., Influence of pinealectomy and pineal stalk deflection on circadian gastrointestinal tract melatonin rhythms in zebra finches (*Taeniopygia guttata*), *J. Biol. Rhythms*, 14 (1999) 185-189.
101. Van Tienhofen,A., The chicken telencephalon, diencephalon and mesencephalon in stereotaxic coordinates, *J. Comp Neurol.*, 118 (1962) 185-197.
102. Waever,D.R., Melatonin and circadian rhythmicity in vertebrates: physiological roles and pharmacological effects. In: Turek,F.W., Zee,P. (Eds.), Marcel Dekker, New York, 1999, pp. 197-262.

103. Walker,R.F., Melatonin:serotonin interaction during termination of the LH surge in rats , Prog. Clin. Biol. Res., 92 (1982) 167-176.
104. Walker,R.F., McCamant,S., and Timiras,P.S., Melatonin and the influence of the pineal gland on timing of the LH surge in rats, Neuroendocrinology, 35 (1982) 37-42.
105. Wetzel,R., Verbesserte McMaster-Kammer zum Auszählen von Wurmeiern, Tierärztl. Umschau, 6 (1951) p. 209-p. 210.
106. Wilber,P.G.D. and J.O.Corriss, A revision of the taxonomy and nomenclature of the eimerians (Apicomplexa: Eimeriidae) from rodents in the tribe marmotini (Sciuridae)., Systematic Parasitology, 39 (1998) 113-135.
107. Wild,T. Experimentelle Untersuchung zur Chronobiologie einer Wirt-Parasit-Beziehung am Beispiel der Coccidiose (*Isospora lacazei*) des Haussperlings (*Passer domesticus*) . 2004. Ref Type: Thesis/Dissertation
108. Yoo,S.H., Yamazaki,S., Lowrey,P.L., Shimomura,K., Ko,C.H., Buhr,E.D., Sieppka,S.M., Hong,H.K., Oh,W.J., Yoo,O.J., Menaker,M., and Takahashi,J.S., PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 101 (2004) 5339-5346.
109. Zimmerman,N.H. and Menaker,M., Neural connections of sparrow pineal: role in circadian control of activity, Science, 190 (1975) 477-479.

7. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Graphische Darstellung von <i>Passer domesticus</i></i>	1
<i>Abbildung 2: Die Synthese des Melatonins</i>	14
<i>Abbildung 3: Darstellung des circadianen Rhythmus der in vitro-Sekretion von Melatonin aus einem isolierten Pinealorgan eines Haussperlings in Kultur</i>	15
<i>Abbildung 4: Rhythmus einer biologischen Variablen x</i>	19
<i>Abbildung 5: Zyklus eines Umweltzeitgebers</i>	21
<i>Abbildung 6: Eine allgemeine Phasen-Antwort-Kurve als Antwort auf Lichtimpulse</i>	22
<i>Abbildung 7 und Abbildung 8: Lage des Pinealorgans</i>	23
<i>Abbildung 9. Abbildung der lokomotorischen Aktivität von Haussperlingen unter LD-Bedingungen (A), nach Pinealektomie unter konstanten Bedingungen in Dauerdunkel (B), und nach Transplantation der Epiphyse in die vordere Augenkammer unter konstanten Bedingungen (C)</i>	24
<i>Abbildung 10: Diagramm der Oszillatorkomponenten des Schrittmachersystems der Vögel und einige ihrer Interaktionen</i>	26
<i>Abbildung 11: Ruhe-Aktivitäts-Rhythmus einer Versuchsperson, die länger als ein Jahr kontinuierlich registriert wurde</i>	28
<i>Abbildung 12: Vollständiger Lebenszyklus einer "typischen" Eimeria-Art</i>	31
<i>Abbildung 13: Haussperling (<i>Passer domesticus</i>)</i>	39
<i>Abbildung 14: Darstellung der Apparatur zur Aufzeichnung von Aktivitätsrhythmen</i>	41
<i>Abbildung 15: McMaster Zählkammer mit Deckglas (Fa. Wagner und Munz, München)</i>	42
<i>Abbildung 16: Ansicht einer sporulierten Oozyste von <i>Isospora Spp.</i></i>	43
<i>Abbildung 17: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) des Spatzen A in Versuch 1</i>	66
<i>Abbildung 18: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) von Spatz B in Versuch 1</i>	67
<i>Abbildung 19: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) von Spatz C in Versuch 1</i>	68
<i>Abbildung 20 Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), der Oozystenausscheidung (mitte) und Freßaktivität (rechts) von Spatz D in Versuch 1</i>	69
<i>Abbildung 21: Hüpf,- und Freßaktogramm des Spatzen A in Versuch 1</i>	70
<i>Abbildung 22: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen A in Versuch 2</i>	82
<i>Abbildung 23: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Freßaktivität (rechts) des Spatzen B in Versuch 2</i>	83
<i>Abbildung 24: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen C in Versuch 2</i>	84
<i>Abbildung 25: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und Fressaktivität (rechts) des Spatzen D in Versuch 2</i>	85
<i>Abbildung 26: Aktogramme des Spatzen C in Versuch 2</i>	86

Abbildung 27: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und
Freßaktivität (rechts) des Spatzen C in Versuch 3..... 97

Abbildung 28: Graphische Darstellung der Hüpfaktivität (links), Oozystenausscheidung (Mitte) und
Fressaktivität (rechts) des Spatzen D in Versuch 3..... 98

Abbildung 29: Aktogramme des Spatzen D in Versuch 3..... 99

8. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Darstellung der Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse in Versuch 1.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 2: Darstellung der Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse in Versuch 2.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 3: Darstellung der Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse in Versuch 3.....</i>	<i>51</i>
<i>Tabelle 4: Übersicht über die Versuchsbedingungen in Versuch 1.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 5: Circadiane Periodenlängen (in h) der Hüpfaktivität und der Freßaktivität der Spatzen A - D in Versuch 1.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 6: Circadiane Periodenlängen (in h) der Oozystenausscheidung der Spatzen A - D in Versuch 1.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 7: Aktivitätsdauer (in h) der Freßaktivität (Afr) und Hüpfaktivität (Ah) der Spatzen A - D in Versuch 1.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 8: Aktivitätsdauer (in h) der Oozystenausscheidung (Ac) der Spatzen A - D in Versuch 1.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 9: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen der Oozystenausscheidung und der Hüpf,- (Ψ_c/h) bzw. und der Freßaktivität (Ψ_c/fr) der Spatzen A - D in Versuch 1.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 10: Übersicht über die Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse der Abschnitte I-V des 2. Versuchs.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabelle 11: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Hüpf,- (Ψ_h/li) bzw. der Freßaktivität (Ψ_{fr}/li) der Spatzen A - D in Versuch 2.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabelle 12: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Oozystenausscheidung (Ψ_c/li) der Spatzen A - D in Versuch 2.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabelle 13: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß,- (Ψ_c/fr) bzw. Hüpfaktivität (Ψ_c/h) der Spatzen A - D in Versuch 2 nach Einnahme der stabilen Phasenlage.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabelle 14: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß,- (Ψ_c/fr) bzw. Hüpfaktivität (Ψ_c/h) der Spatzen A - D in Versuch 2 während der Resynchronisationszeit.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabelle 15: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) von Freß,- (Tfr) und Hüpfaktivität (Th) der Spatzen A - D in Versuch 2.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabelle 16: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) der Oozystenausscheidung (Tc) der Spatzen A - D in Versuch 2.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabelle 17: Aktivitätsdauer (in h) der Freß,- (Afr) und Hüpfaktivität (Ah) der Spatzen A - D in Versuch 2.....</i>	<i>75</i>
<i>Tabelle 18: Aktivitätsdauer (in h) der Oozystenausscheidung (Ac) der Spatzen A - D in Versuch 2.....</i>	<i>75</i>
<i>Tabelle 19: Übersicht über die Versuchsbedingungen und Lichtverhältnisse der Abschnitte I-V des 3 Versuchs.....</i>	<i>87</i>
<i>Tabelle 20: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Hüpf,- (Ψ_h/li) bzw. der Freßaktivität (Ψ_{fr}/li) der Spatzen C und D in Versuch 3.....</i>	<i>88</i>
<i>Tabelle 21: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem täglichen Lichtbeginn und dem Beginn der Oozystenausscheidung (Ψ_c/li) der Spatzen C und D in Versuch 3.....</i>	<i>88</i>
<i>Tabelle 22: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß,- (Ψ_c/fr) bzw. Hüpfaktivität (Ψ_c/h) der Spatzen C und D in Versuch 3 nach Einnahme der stabilen Phasenlage.....</i>	<i>89</i>

<i>Tabelle 23: Phasenwinkeldifferenz Ψ (in h) zwischen dem Ausscheidungsbeginn der Oozysten und der Freß-, (Ψ_c/fr) bzw. Hüpfaktivität (Ψ_c/h) der Spatzen C und D in Versuch 3 während der Resynchronisationszeit.....</i>	<i>89</i>
<i>Tabelle 24: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) von Freß-, (Tfr) und Hüpfaktivität (Th) der Spatzen C und D in Versuch 3.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabelle 25: Übersicht über die Anzahl der Übergangszyklen (in Tage) der Oozystenausscheidung (Th) der Spatzen C und D in Versuch 3.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabelle 26: Aktivitätsdauer (in h) der Freß-, (Afr) und Hüpfaktivität (Ah) der Spatzen C und D in Versuch 3.....</i>	<i>91</i>
<i>Tabelle 27: Aktivitätsdauer (in h) der Oozystenausscheidung (Ac) der Spatzen C und D in Versuch 3.....</i>	<i>91</i>

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Heidi Brandlmeier
Geburtsdatum: 28.09.1975
Geburtsort: Wasserburg am Inn
Nationalität: Deutsch
Familienstand: ledig

Schulbildung:

09/1986–07/1993 Gymnasium Grafing
09/1993–07/1995 Theodolindengymnasium München
07/1995 Abitur; Leistungskurse Latein, Sport

Studium:

09/1996–07/1998 Vorklinisches Studium der Humanmedizin, TU München
09/1998 Ärztliche Vorprüfung
08/1998–11/2002 Klinischer Studienabschnitt, Klinikum Rechts der Isar, TU München
08/1999 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/2001 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/2001 Beginn des praktischen Jahres
10/2001–02/2002 1. Terial Chirurgie, Inselspital Bern, Schweiz
02/2002–06/2002 2. Terial Innere Medizin, II. Medizinische Klinik,
Klinikum Rechts der Isar
06/2002–08/2002 3. Terial Neurologie, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Pointe-à-
Pitre, Guadeloupe
08/2002–10/2002 3. Terial Neurologie, Klinikum Rechts der Isar
05/2003 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Famulaturen

04/1999 Abteilung Innere, Kreisklinik Ebersberg
09–10/1999 Emergency Department, Clarion, Pennsylvania, USA
04/2000 Institut der Pathologie, Klinikum Rechts der Isar
08–10/2000 Abteilung für Pädiatrie und Gynäkologie, Machame Hospital, Tansania
02/2000 Anästhesie, Ambulantes Anästhesiezentrum Dr. Stoeckel, Berlin

Berufliche Tätigkeiten

06/2003-12/2004	Anstellung als ÄIP in der inneren Abteilung des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder in Nymphenburg, München
seit 03/2005	Anstellung als Assistenzärztin in der inneren Abteilung des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder in Nymphenburg, München

Weitere praktische Tätigkeiten

10/1995–03/1996	6-monatiger Aufenthalt bei Deutschen Entwicklungshelfern in Tansania/Ostafrika
1995 – 1999	Pflegehelferin, Kreisklinik Ebersberg, Innere Abteilung
10/1998	Pflegekraft Klinikum Rechts der Isar, Orthopädische Abteilung
1998 - 2003	Studentische Hilfskraft, Giftnotruf München
1999 - 2003	Medizinische Assistentin, Firma Harrison Clinical Research

Zusatzqualifikationen

11/1998	Nahtkurs (1 Semester, TU München)
1998 – 1999	Sportmedizin (2 Semester, TU München)
05/1999	Amerikanisches Staatsexamen Medizin, UMSLE Step 1, Punkte: 186/78
1999	Sprachkurs Kisuaheli (2 Semester, LMU München)
1999 – 2000	Tropenmedizin (3 Semester, TU München)
10/2003	1. Ultraschallkurs (Kurs der DEGUM)
03/2004	2. Ultraschallkurs (Kurs der DEGUM)
06/2004	Notfallmedizinkurs
09/2005	Reisemedizinfortbildung
08/2006	UKG-Kurs

Interessen

1995 - 1998	Mitglied der Deutschen Nationalmannschaft Karate; Gewinn zahlreicher nationaler und internationaler Titel
-------------	--

Sprachen

Englisch, Französisch, Kisuaheli, Latein

10. Dank

Ich danke Herrn Prof. Dr. R. Disko für die Überlassung dieses Themas, sowie seiner engagierten wissenschaftliche Betreuung und menschlichen Unterstützung und Geduld bei der Fertigstellung der Arbeit. Für seine allgegenwärtige Hilfsbereitschaft und seine fachlichen als auch nicht-fachlichen Anregungen, die sich aus den Gesprächen mit ihm ergaben, bin ich sehr verbunden.

Herrn Prof. Dr. Eberhard Gwinner sowie den Mitarbeitern des Max-Planck-Instituts für Ornithologie in Andechs / Erling möchte ich für die Bereitsstellung der Sperlinge und für die engagierte und souveräne Beratung bei der Auswertung herzlich danken.

Weiterhin danke ich insbesondere Frau Miti Herdlicka, Frau Ute Graczoll und Frau Irmgard Wackenhut, sowie den übrigen Mitarbeitern des Labors für Parasitologie und Tropenmedizin, des Institutes für medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technischen Universität München für die Versorgung der Sperlinge, die Hilfe beim Auszählen der Oozysten und die liebe Umsorgung während der experimentellen Phase.

Weiterhin danke ich meinen Eltern, Frau Elisabeth und Herrn Paul Brandlmeier, sowie Herrn Benedict Mirow, meinen Freunden und Herrn Dr. Dietrich Hasse für die immerwährende und tatkräftige Unterstützung in allen Phasen der Arbeit.