

ABSTRACT

Based on anatomical and functional data, the habenula – a phylogenetically old brain structure present in all vertebrates – has shown to take part in the integration of limbic, sensory, and basal ganglia information in order to guide effective response strategies appropriate to environmental conditions. In the present study I investigated the afferent and efferent connections of the habenular nuclei of the Oriental fire-bellied toad, *Bombina orientalis*, and compared them with data from lampreys, chondrichthyes, teleosts, reptiles, birds, and mammals. Both the medial and lateral habenula homolog receive limbic input from the septum, nucleus of the diagonal band of Broca, and preoptic area, as they do in mammals. Additionally, hypothalamic input to both nuclei could be observed. Fibers from the medial habenular nucleus homolog extended caudally and were traced to the interpeduncular nucleus and newly identified interfascicular nucleus of the ventral tegmental area. Basal ganglia input of the lateral habenula homolog arises from an area that could possibly be identified as the internal globus pallidus of anuran amphibians. Further input originates from the rostral pallium, nucleus accumbens, ventral pallidum, and bed nucleus of the stria terminalis. As in mammals, topographic separate populations of neurons project via a direct excitatory or indirect GABAergic pathway to dopaminergic and serotonergic neurons. This input derives from previously not described GABAergic neurons adjacent to the dopaminergic nuclei, which – in terms of their connectivity – resemble the mammalian rostromedial tegmental nucleus (RMTg). The largest contingent of lateral habenula homolog efferents pass ventrocaudad into the raphé nuclei. Moderate labeling was found in the homologs of the substantia nigra pars compacta, ventral tegmental area, and supramammillary region. Sparse labeling was traced into the laterodorsal tegmental nucleus, locus coeruleus, and the inferior and superior colliculus homologs. Very sparse fibers reach via the medial forebrain bundle the ventral hypothalamus, the preoptic area, the septum, and the nucleus of the diagonal band of Broca.

Intracellular recordings revealed similar cell and response properties to those reported for mammals. Electrical stimulation of the optic and auditory nerve, inferior colliculus homolog, bed nucleus of the stria terminalis, lateral forebrain bundle and rostral pallium demonstrated the integration of multisensory, limbic, basal ganglia, and associative information. Additionally, intracellular recordings were performed in the homologs of the substantia nigra pars compacta and ventral tegmental area. As expected from data obtained in mammals, these neurons receive inhibitory and excitatory inputs following habenula stimulation. Therefore, the main connectivity between sensory and limbic systems, basal ganglia and the habenula in anurans can be regarded to reflect the ancestral state of the mammalian habenula.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Habenula ist eine phylogenetisch alte Hirnstruktur, die bei allen Wirbeltieren vorhanden ist. Funktionelle und anatomische Studien konnten zeigen, dass die Habenula an der Integration von limbischen, sensorischen und Basalganglien Informationen beteiligt ist, um an Umweltbedingungen angepasste Verhaltensstrategien zu steuern. In der vorliegenden Studie wurden die afferenten und efferenten Verbindungen der Habenula in der chinesischen Rotbauchunke, *Bombina orientalis*, untersucht und mit Daten von Neunaugen, Knorpelfischen, Echten Knochenfische, Reptilien, Vögeln und Säugetieren verglichen. Wie in Säugetieren erhalten die homologen Strukturen der medialen und lateralen Habenula limbische Eingänge aus dem Septum, dem Nucleus des diagonalen Bands von Broca und dem präoptischen Areal. Zusätzlich konnte ein hypothalamischer Eingang in beide Habenula Kerne beobachtet werden. Fasern aus dem Homolog der medialen Habenula erstrecken sich caudal zum Nucleus interpeduncularis und den in Froschlurchen neu identifizierten Nucleus interfasciularis des ventralen tegmental Areal. Eingänge aus den Basalganglien zum Homolog der lateralen Habenula stammen aus einem Bereich, der möglicherweise dem Globus pallidus pars interna entspricht.

Weitere Eingänge stammen aus dem rostralen Pallium, dem Nucleus accumbens, dem ventralen Pallidum und dem Nucleus striae terminalis. Wie in Säugetieren projizieren topographisch getrennte Populationen von Habenula Neuronen über einen direkten exzitatorischen oder indirekten inhibitorischen Weg zu dopaminergen und serotonergen Neuronen. Dieser indirekte Eingang stammt von einem zuvor nicht beschriebenen GABAergen Areal, das in seiner Konnektivität dem rostromedialen tegmental Areal (RMTg) von Säugetieren ähnelt. Das größte Kontingent der Projektionen des Homologs der lateralen Habenula verläuft ventrocaudad in die Raphé-Kerne über. Einige Fasern konnten zu den homologen Strukturen der Substantia nigra pars compacta, des ventralen tegmental Areal und der supramammillaren Region verfolgt werden.

Spärliche Markierungen wurden zum Nucleus tegmentalis posterolateralis, Locus coeruleus und zum Homolog des Colliculi inferiores und Colliculi superiores verfolgt. Sehr spärlich markierte Fasern erreichen über das mediale Vorderhirnbündel den ventralen Hypothalamus, das präoptische Areal, das Septum und den Nucleus des diagonalen Bands von Broca.

Intrazelluläre Ableitungen in der Habenula zeigten zudem ähnliche Zell- und Antwortigenschaften wie bei Säugetieren. Die elektrische Stimulation von Seh- und Hörnerv, Colliculi inferiores Homolog, Nucleus striae terminalis, lateralen Vorderhirnbündel und rostralen Pallium zeigten zudem die Integration von multisensorischen, limbischen,

Basalganglien und assoziativen Informationen. Zusätzlich wurden intrazelluläre Ableitungen in den homologen Strukturen der Substantia nigra pars compacta und des ventralen tegmentalen Areals durchgeführt. Die Stimulation der Habenula führte wie in Säugetieren zu hemmenden und erregenden Eingängen. Die Hauptkonnektivität zwischen sensorischen und limbischen Systemen, Basalganglien und der Habenula ist daher bereits in Froschlurchen angelegt und in Säugetiere konserviert.