

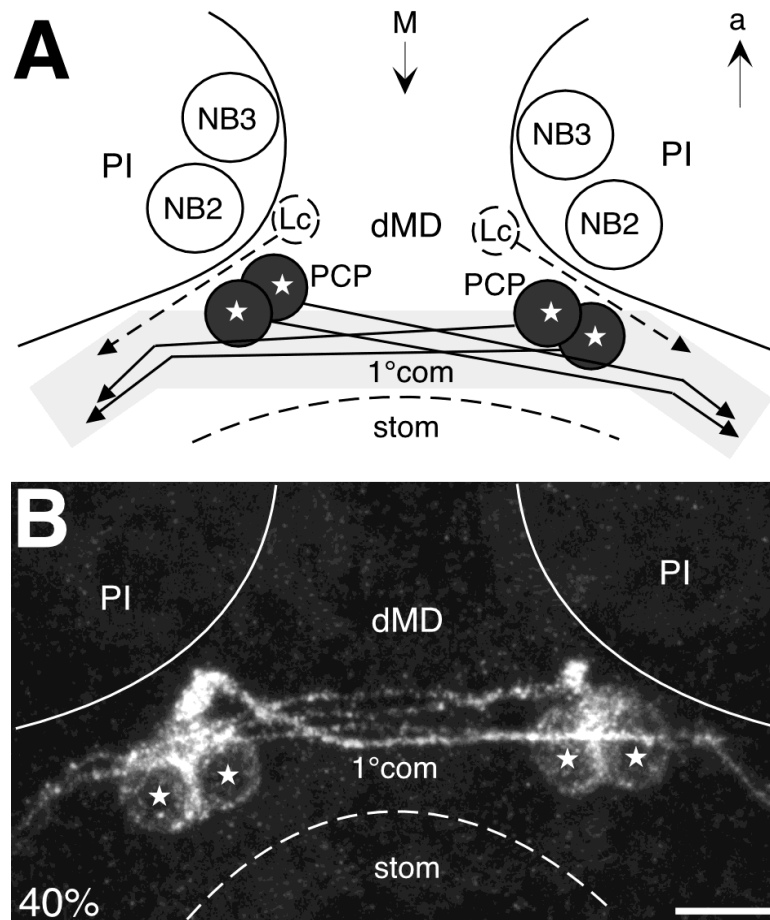
### 4.3 Die Ontogenese der "primary commissure pioneers" (PCP)

#### 4.3.1 Die Identifizierung der "primary commissure pioneers" in der "median domain"

Die funktionelle Analyse von Entwicklungsprozessen des Gehirns wird durch die Identifizierung einzelner Zellen und der Beschreibung ihrer Ontogenese deutlich erleichtert. Deshalb wird hier die embryonale und postembryonale Entwicklung der "primary commissure pioneers" (PCP) beschrieben. Die PCP wurden bereits früher von Boyan et al. (1995a) in der Mittellinie des Heuschreckengehirns identifiziert. In Kapitel 4.1.3 wird ihre Abstammung direkt aus dem Ektoderm der "median domain" beschrieben.

Die PCP Neuronen befinden sich als bilateral symmetrisch angeordnete Zellpaare in der "dorsal median domain" (dMD) zwischen den beiden Loben der Pars Intercerebralis (Abb. 17A). Andere in der dMD identifizierte Zellen sind die "lateral cells" (Abb. 17A; Graf et al., 2000), die sich aber unabhängig von den PCP entwickeln und ein anderes Zellschicksal durchlaufen (vgl. Kapitel 4.2.4). Nachdem sich die PCP Neuronen bei etwa 28% Embryonalentwicklung differenziert haben, bilden sie Axone, die über die Mittellinie zur kontralateralen Seite des Gehirns kreuzen. Die PCP Neuronen etablieren so die erste interhemisphärische Verbindung des Gehirns und bilden die Basis für die Entwicklung der "primary commissure" (Abb. 17B; Boyan et al., 1995a).

Ab circa 40% der Embryonalentwicklung exprimieren die PCP Neuronen das TERM-1 Antigen (Abb. 17B). Sie sind die einzigen Zellen im Nervensystem von *Schistocerca gregaria*, die dieses Antigen im Lauf der Embryonal- und Larvalentwicklung exprimieren. Die TERM-1 Expression in den PCP Neuronen ist kontinuierlich während der gesamten Entwicklung bis zum adulten Tier vorhanden. Das kontinuierliche und exklusive TERM-1-Expressionsmuster ermöglicht es, die PCP Neuronen in allen Entwicklungsstadien eindeutig zu identifizieren. Es ist damit geeignet, den Beitrag dieser Zellen zur funktionellen Organisation während der Gehirnentwicklung zu untersuchen.



**Abb. 17.** Identifizierte Zellen in der "dorsal median domain" (dMD). **A:** Die Schemazeichnung zeigt die "dorsal median domain" (dMD) in der Mittellinie (M) des Gehirns zwischen den beiden Loben der Pars Intercerebralis (PI) bei 40% Embryonalentwicklung. An der Grenze zur PI liegen die "primary commissure pioneers" (PCP, weiße Sterne) und die "lateral cells" (LC, gestrichelte Kreise). Die Axone der 4 PCP Zellen (schwarze Pfeile) überqueren die Mittellinie und pionieren bei circa 30% die erste Kommissur (1° com) zwischen den beiden Gehirnhemisphären. Danach wachsen sie an ihren kontralateralen Homologen vorbei, wenden sich nach posterior und projizieren in die Schlundkonnektive. Die Axone der LC wachsen ipsilateral in der 1° com und bilden absteigende Fasern zum Unterschlundganglion (gestrichelte Pfeile). Die PI ist von der dMD durch eine Gliagrenze getrennt, die hier in Form durchgezogener Linien schematisch dargestellt ist. Identifizierte Zellen in dieser Gehirnregion sind die Neuroblasten 2 und 3 (NB 2 und 3). Der Orientierungspfeil zeigt für beide Abbildungen nach anterior (a). stom, Stomodaeum. **B:** Die immunhistochemische Färbung gegen TERM-1 bei 40% Embryonalentwicklung zeigt die bilateralen Paare der PCP Neuronen (weiße Sterne) in der dMD mit ihren initialen Axonen in der 1° com. Keine anderen Zellen im Nervensystem, noch in einem anderen Gewebe exprimieren das TERM-1 Antigen. Maßstab: 30µm.

#### 4.3.2 Identifizierung und Entwicklung der PCP Neuronen

Boyan et al. (1995a) haben bereits gezeigt, dass die Axone der PCP Neuronen als Erste bei ca. 31% Embryonalentwicklung die Mittellinie des Gehirns überqueren und auf diese Weise die erste Kommissur zwischen den beiden Gehirnhemisphären pionieren.

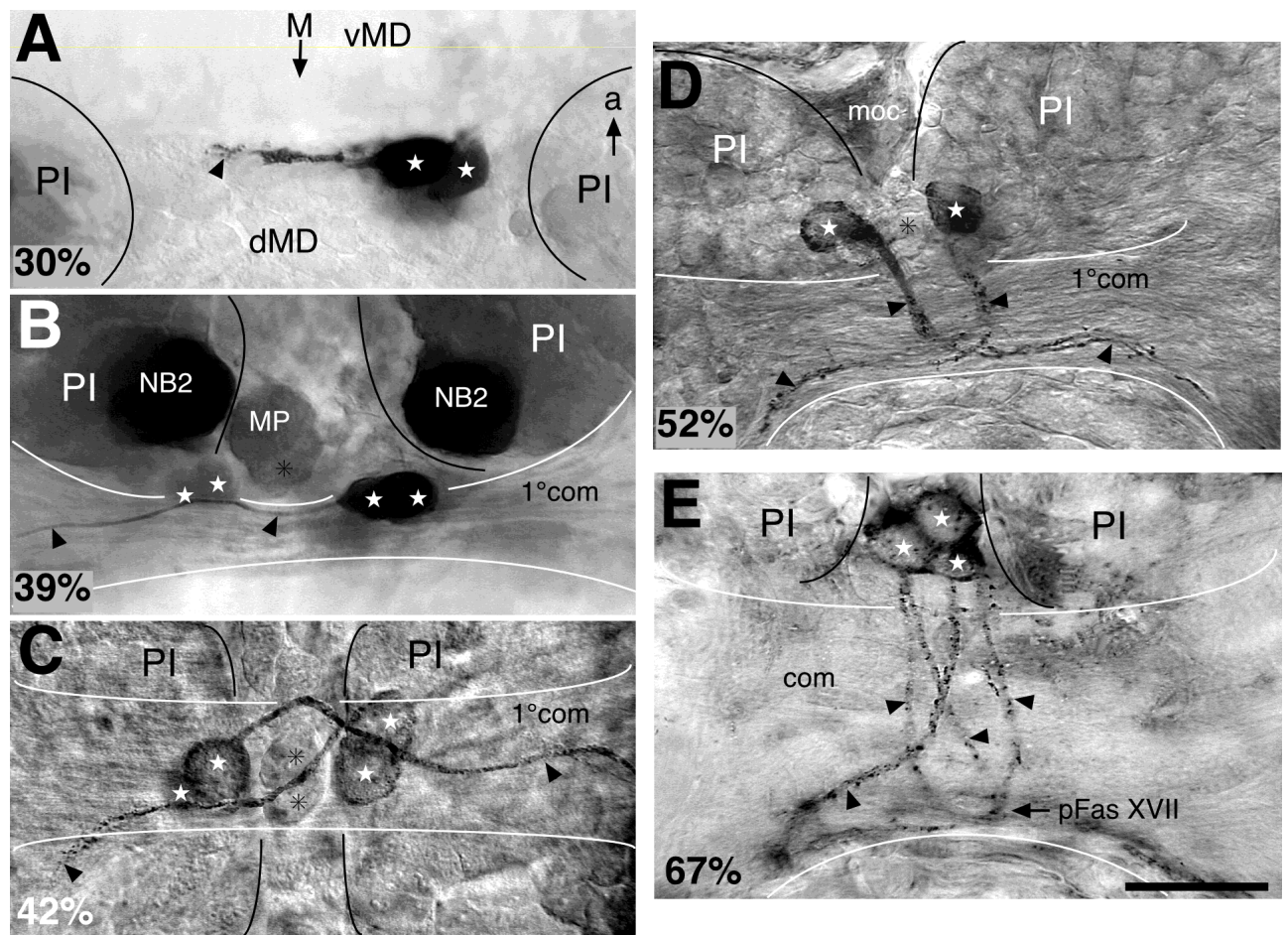
In unterschiedlichen Altersstadien zwischen 30% und 40% der Embryonalentwicklung wurden die PCP Neuronen mit Luzifer Yellow gefärbt, um die Annahme zu bestätigen, dass sie mit den von Meier et al. (1993) beschriebenen TERM-1 immunoreaktiven Zellen identisch sind!

Die intrazelluläre Färbung einer PCP Zelle bei 30% Embryonalentwicklung (Abb. 18A), kurz nachdem sie eindeutig in der dMD zu identifizieren ist, zeigt ihr Axon, das bereits die Mittellinie überquert hat. Gleichzeitig färbt sich auch die mit ihr gekoppelte Schwesterzelle an. Allerdings

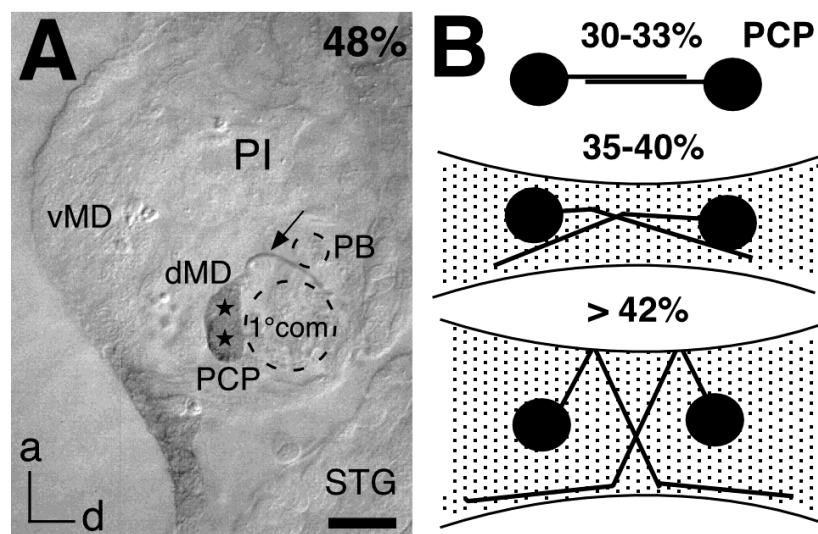
beobachtet man keine Kopplung zu irgendeiner anderen Zelle in der dMD (vgl. Kapitel 4.1.5). Intrazelluläre Färbungen bei 39% bestätigen, dass die beiden PCP-Schwesterzellen nach wie vor gekoppelt sind. Ihre Axone erstrecken sich inzwischen bis auf die kontralaterale Seite (Abb. 18B). Wiederum beobachtet man keine Kopplung der PCP mit einer anderen Zelle in der dMD.

Bei ungefähr 40% der Embryonalentwicklung exprimieren in der "dorsal median domain" zwei bilateral symmetrische Zellpaare das TERM-1 Antigen. (Abb. 17, 18C). Die beiden Zellen liegen lateral in der dMD an den Grenzen zu PI. Die Expression von TERM-1 ist im gesamten Nervensystem der Heuschrecke ausschließlich auf diese beiden Zellpaare beschränkt. Die Analyse der Einzelzellfärbungen der PCP Neuronen (Abb. 18A, B), histologischer Präparate (Abb. 3) und von immunhistochemischen TERM-1-Färbungen (Abb. 17, 18C) bestätigt, dass die PCP Neuronen mit den TERM-1-immunoreaktiven Zellen die von Meier et al. (1993) beschrieben wurden, identisch sind. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird deshalb nur noch der Name "primary commissure pioneers" (PCP) für diese Zellen verwendet.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung zwischen 42% und 52% wachsen die Axone der PCP Neuronen in posteriorer Richtung weiter und erreichen das Unterschlundganglion bei ca. 45% (Abb. 18C, D, 20). Die 1°com nimmt in diesem Zeitraum aufgrund der großen Anzahl von Axonen, welche die Mittellinie überqueren, sehr rasch an Größe zu (vgl. Abb. 9). Dadurch verändert sich passiv der Verlauf der PCP Axone. Die Zellkörper behalten ihre Position auf der Ventralseite des Gehirns vor der 1°com bei, werden aber von der sich entwickelnden PI nach lateral aufeinander zu geschoben. Bis circa 70% liegen die Zellkörper dann direkt nebeneinander (Abb. 20). Die Axone verlaufen an der Oberfläche der sich entwickelnden 1°com und bilden in der Embryogenese einen gemeinsamen Trakt, den "midline tract" (Abb. 9, 22), der in einem Bogen rund um die 1°com bzw. später den Zentralkörper verläuft. Die Kreuzung (Chiasma) der Axone zur kontralateralen Seite verschiebt sich dadurch auf die Dorsalseite der 1°com (Abb. 18 und 19). Die Axone kreuzen nun im posterioren Fascicle XVII. Diese Entwicklung wird für die Altersstadien zwischen 30% und 42% in Abbildung 19B schematisch dargestellt.



**Abb. 18.** Entwicklung der PCP Neuronen (weiße Sterne) in der dMD des embryonalen Gehirns. Die Bilder A und B sind Einzelzellfärbungen mit Luzifer Yellow, die Bilder C, D und E sind Färbungen gegen das TERM-1 Antigen. Die Orientierungspfeile markieren für alle Abbildungen die Mittellinie (M) und anterior (a). **A:** Bei 30% Embryonalentwicklung sind die beiden Schwesterzellen der PCP Neuronen (weiße Sterne) miteinander gekoppelt. Das bedeutet, die Füllung der einen Zelle färbt auch die andere mit. Zu keiner anderen Zelle in der dMD oder der PI besteht darüber hinaus eine Kopplung. Die Wachstumskegel der PCP Axone (Pfeilspitze) überqueren die Mittellinie und verbinden bei circa 31% als erste Zellen im Gehirn die beiden Hemisphären. **B:** Bei 39% sind die PCP Schwesterneuronen nach wie vor gekoppelt. Ihre Axone (Pfeilspitzen) verlaufen in der "primary commissure" (1°com, weiße Linien) und wachsen an ihren gegenüberliegenden Homologen vorbei (weißer Stern links) zur kontralateralen Seite. In diesem Präparat wurden nacheinander die PCP Neuronen, der "median precursor" (MP) und die beiden Neuroblasten 2 (NB 2) mit Luzifer Yellow gefüllt. Keine dieser Zellen zeigte eine Kopplung zu einer der anderen Zellen. **C, D:** Die PCP Neuronen haben begonnen das TERM-1 Antigen zu exprimieren. Die Bilder (C = 42%, D = 52%) sind Montagen aus verschiedenen Focusebenen, die die Zellkörper (weiße Sterne) und Axone (Pfeilspitzen) der PCP Neuronen in der dMD zeigen. Die Axone verlaufen erst nach dorsal und dann nach posterior um die 1°com (weiße Linien) und wachsen dann in den kontralateralen Schlundkonnektiven in Richtung Unterschlundganglion weiter. Zwischen den PCP Zellkörpern liegen die Tochterzellen des "median precursors" (Asterisken). Bei 52% ist anterior der PCP bereits die Anlage des medianen Ocellus (moc) zu erkennen. **E:** Bis 67% ist die ursprüngliche 1°com bedeutend gewachsen und bildet nun eine aus unterschiedlichen Nervenfaserbündeln ("fascicles") bestehende Kommissur (com). Die PCP Neuronen (weiße Sterne) sind nach wie vor TERM-1-immunoreaktiv und liegen zwischen den sich nach medial ausdehnenden Hemisphären der Pars Intercerebralis. Die Axone (Pfeilspitzen) umlaufen die Kommissur und kreuzen im posterioren Fascicle XVII (pfas XVII) zur kontralateralen Seite. Maßstab: A, B = 30µm, C = 40µm, D, E = 60µm.



**Abb. 19.** Frühe Axogenese der PCP Neuronen. **A:** Der sagittale Schnitt durch die Mittellinie des embryonalen Gehirns bei 48% der Entwicklung zeigt den Verlauf der Axone (Pfeil) der TERM-1-immunoreaktiven PCP Neuronen rund um die "primary commissure" (1°com). Zwischen 1°com und der protocerebralen Brücke (PB) biegen die Axone nach posterior ab. Die neuronalen Achsen sind anterior (a) und dorsal (d). **B:** Die Schemazeichnungen fassen die morphogenetischen Veränderungen der PCP Neuronen in der frühen Embryonalentwicklung zusammen wie sie in Abbildung 18 im Detail dargestellt sind. Die ursprünglich parallelen Axone verlaufen mit zunehmender Entwicklung der 1°com außen um diese herum und bilden auf ihrer posterioren Seite eine Kreuzung zur kontralateralen Seite. Maßstab: 40µm.

#### 4.3.3 Die embryonale Entwicklung der PCP Neuronen

In den Kapiteln 4.3.1 und 4.3.2 wurden bereits die Neurogenese der PCP Neuronen im Bereich der "dorsal median domain" und die morphogenetischen Veränderungen in der Embryonalentwicklung beschrieben. Im folgenden Kapitel wird nun die Axogenese der PCP in der späten embryonalen und in der postembryonalen Entwicklung gezeigt. Die Axogenese kann in einer vereinfachten Darstellungsweise als eine Serie aufeinander folgender Schritte verstanden werden (Abb. 20A). Nachdem die Axone bei circa 30% der Embryonalentwicklung die Mittellinie überquert haben, wachsen sie weiter nach posterior und erreichen über den "dorsal fascicle" der Schlundkonnektive bei 42% das Tritocerebrum und bei 45% Embryonalentwicklung das Unterschlundganglion. Die Wachstumskegel entwickeln sich dann im "dorsal tract" des ventralen Nervensystems kontinuierlich weiter (vgl. Abb. 29) und erreichen das letzte Abdominalganglion bei 60% der Embryonalentwicklung. Die Untersuchungsergebnisse der Axogenese der PCP Neuronen im Bauchmark werden hier nicht weiter besprochen und sind mit einigen Details bereits von Meier et al. (1993) beschrieben worden.

Während das Hauptaxon sich im Bauchmark weiter entwickelt, bilden sich ab 55% Embryonalentwicklung im Gehirn Kollateralen, welche die beiden Gehirnhemisphären innervieren. Die ersten Kollateralen entstehen auf Höhe des Stomodeums (Abb. 20, 21A) und wachsen bei fortgesetzter weiterer Verzweigung bis in die Pars Intercerebralis (PI), das Protocerebrum (PC) und die optischen Loben (OL). Bei 60% und 65% (Abb. 20, 21B) bilden sich weitere Kollateralen, die das Deutocerebrum (DC) und das Tritocerebrum (TC) innervieren.

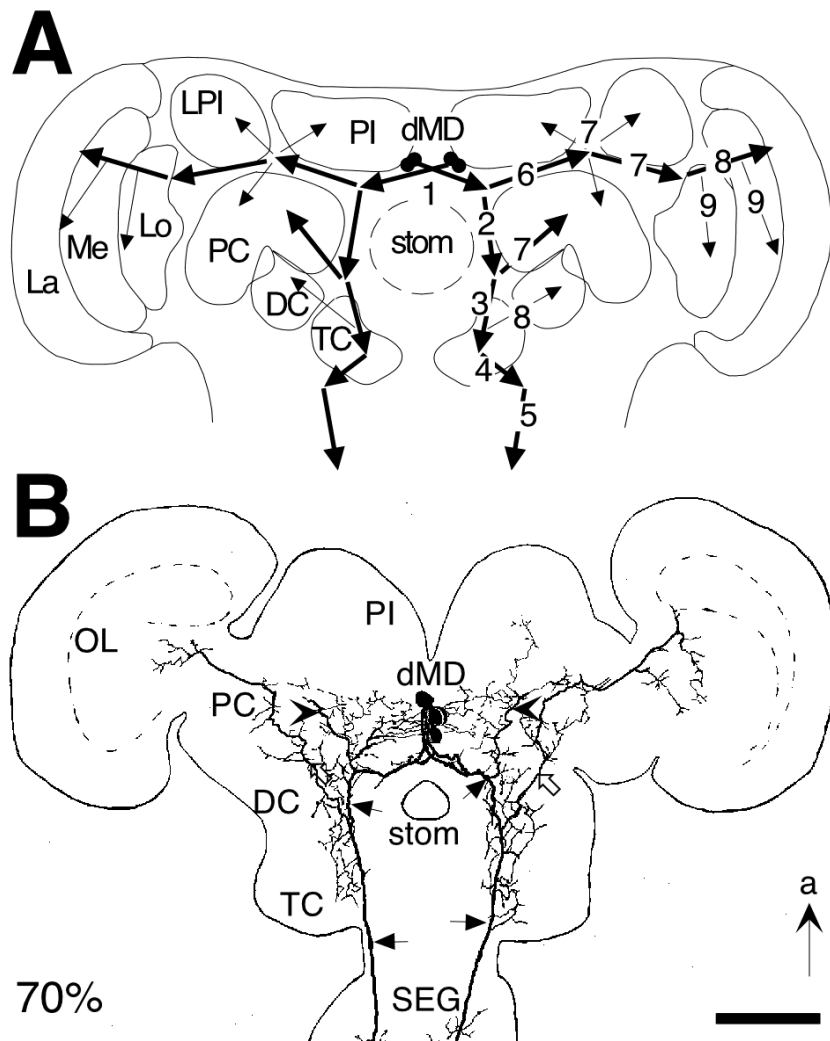
Im ventralen Nervensystem bilden sich Kollateralen im Unterschlundganglion ab 60%, und anschließend ab 65% sukzessive in den thorakalen und abdominalen Ganglien (65% - 75% der

Embryonalentwicklung). Die Axone und Kollateralen, die von den Schwesterzellen einer Seite des Gehirns gebildet werden, sind sich in ihrem Verlauf so ähnlich, dass es nicht möglich ist genau aufzulösen zu welcher der beiden Zellen bestimmte Kollateralen gehören. Es ist aber anzunehmen, dass die beiden Schwesterzellen die gleiche Morphologie haben und dieselben Bereiche im Gehirn innervieren. Diese Annahme wird durch die Tatsache unterstützt, dass die beiden Zellen der einen Seite in ihrer Gesamtheit Spiegelbilder der PCP Neuronen der anderen Seite des Gehirns sind (Abb. 20, 21).

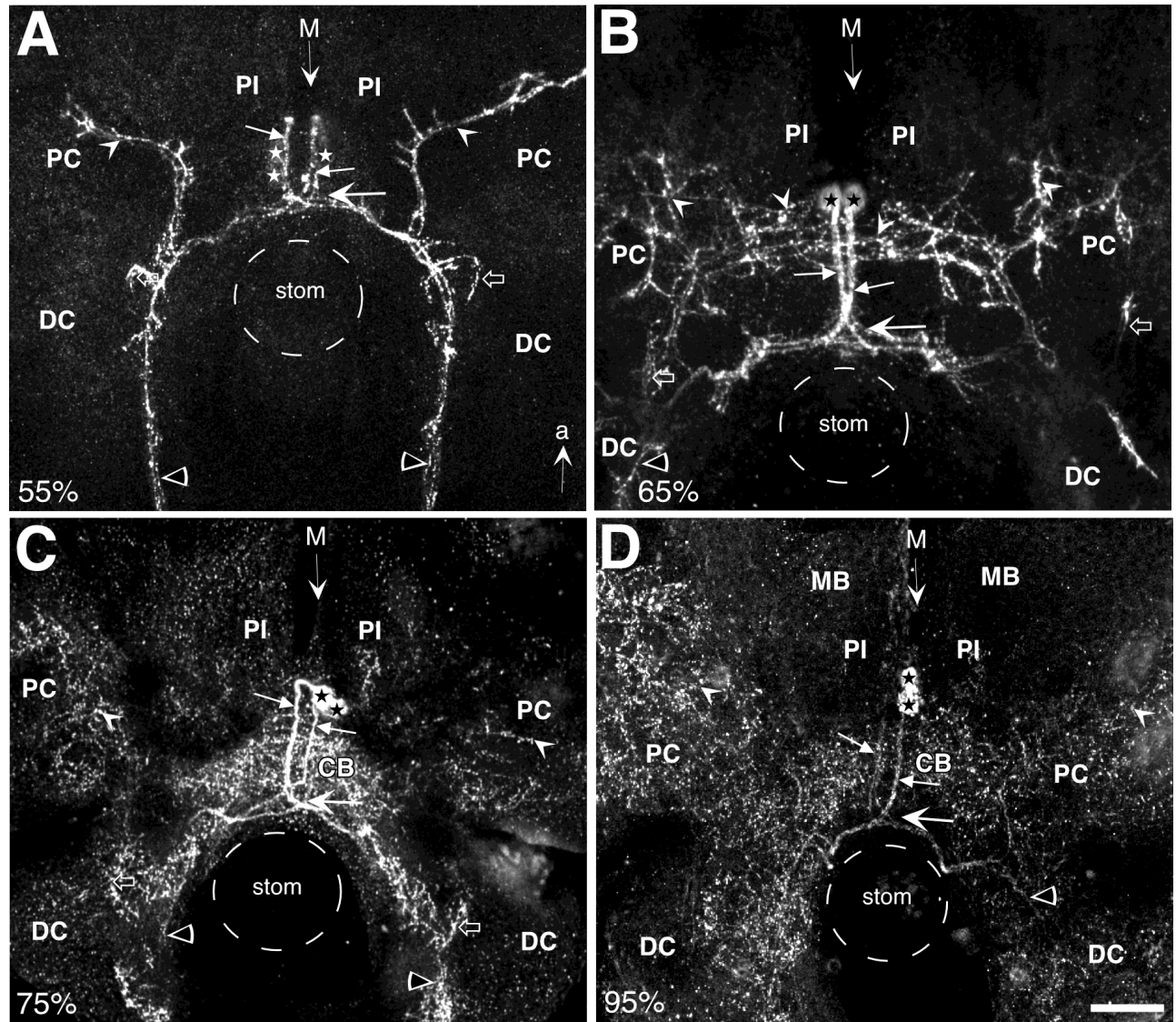
Bis 70% der Embryonalentwicklung haben die PCP Neuronen Kollateralen in der Pars Intercerebralis, dem Protocerebrum, dem Deuto- und Tritocerbrum und den optischen Loben gebildet (Abb. 20B). Die Hauptäste der Kollateralen verzweigen sich dabei immer weiter und bilden ein feines Netzwerk von TERM-1-exprimierenden Fasern in den genannten Gehirnbereichen (Abb. 21C, D). Die stärkste TERM-1-Expression findet sich während des Wachstums an den Spitzen der Axone und Kollateralen. Eine intensive Expression beobachtet man dazu vor allem in Verdickungen (Varikositäten), die in Abständen wiederholt auf Axonen und Kollateralen zu finden sind. Die TERM-1-Expression bleibt in den Verdickungen kontinuierlich hoch, lässt sich aber immer, wenn auch schwächer, in den dazwischen liegenden Faserabschnitten beobachten. Dagegen gibt es keine Hinweise darauf, dass das Antigen in den Wachstumskegeln und an den Endigungen der Kollateralen dauerhaft akkumuliert wird, nachdem sie ihre Zielregionen erreicht haben.

Bereits in der späten Embryonalentwicklung (Abb 21C, D) erreicht die Innervierung der TERM-1-immunoreaktiven Fasern im Gehirn einen Umfang wie er später vergleichbar in den Larvalstadien und in der Imago beobachtet wird (Abb. 22A, B, 24). Neben der Innervation von eher diffusen Neuropilgebieten wie PI, PC, DC und TC innervieren die PCP Neuronen auch so hoch organisierte Strukturen wie den Zentralkörper (CB), die protocerebrale Brücke (PB), die optischen Loben oder die Antennenloben (Abb. 22, 23, 24). Keine TERM-1-immunoreaktiven Fasern finden sich dagegen in den  $\alpha$ -Loben, den Pedunculi oder anderen Teilen der Pilzkörper (Abb. 21, 22, 24).





**Abb. 20.** Axogenese der PCP Neuronen im Gehirn. **A:** Die Zeichnung fasst die Axogenese der PCP Neuronen im Gehirn zusammen und zeigt schematisch die schrittweise Entwicklung bis 70% Embryonalentwicklung. Die Zahlen entsprechen dem Prozentsatz der Embryonalentwicklung, bei dem die Wachstumskegel den entsprechenden Bereich im Gehirn erreichen (1 = 37%; 2 = 40%; 3 = 42%; 4 = 43%; 5 = 45%; 6 = 55%; 7 = 60%; 8 = 65%; 9 = 70%). Bemerkenswert ist, dass sich zuerst das Hauptaxon entwickelt bevor die ersten Kollateralen bei 50% gebildet werden. Das Hauptaxon und größere Verzweigungen werden durch dickere Pfeile repräsentiert. **B:** Rekonstruktion der PCP Neuronen bei 70% Embryonalentwicklung nach einer immunhistochemischen Färbung gegen TERM-1. Gezeigt werden die Hauptverzweigungen der PCP Neuronen im Gehirn während der späten Embryonalentwicklung. Die Axone (Pfeile) überqueren die Mittellinie zur kontralateralen Seite, von wo sie im dorsalen Faszikel der Schlundkonnektive zum Unterschlundganglion (SEG) und den thorakalen Ganglien (nicht gezeigt) wachsen. Zwei Hauptäste auf beiden Seiten des Gehirns (Pfeilspitzen und offene Pfeile) innervieren die Pars Intercerebralis (PI), das Protocerebrum (PC) und die optischen Loben. Das Deutocerebrum (DC) und das Tritocerebrum (TC) werden von kleineren Verzweigungen innerviert. Abkürzungen: dMD, "dorsal median domain"; La, Lamina; LPI, laterale Pars Intercerebralis; Me, Medulla; Lo, Lobula; stom, Stomodaeum. (a) zeigt nach anterior. Maßstab: 250µm.



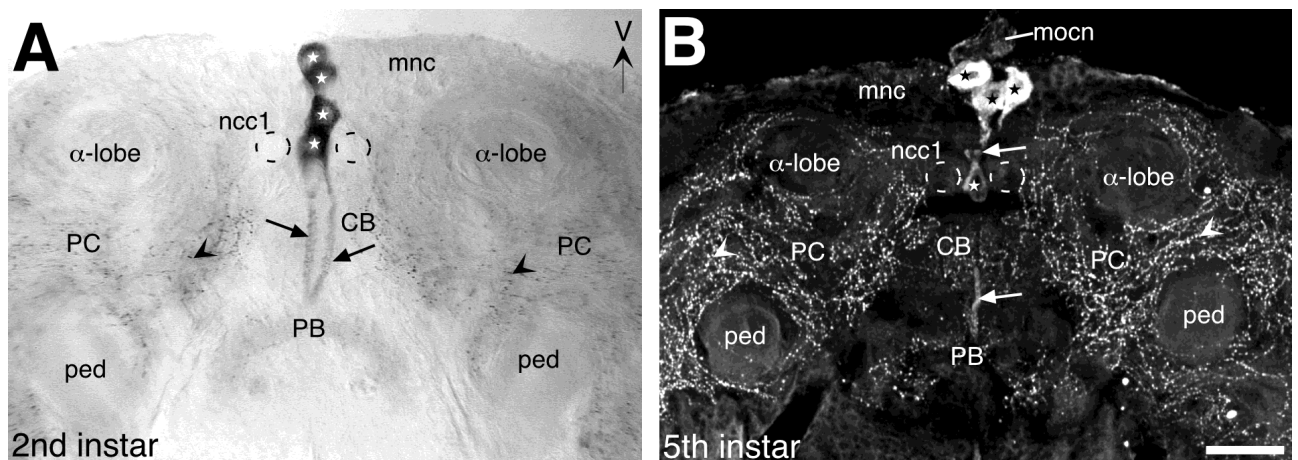
**Abb. 21.** Immunhistochemische Färbungen (TERM-1) der PCP Neuronen in unterschiedlichen embryonalen Entwicklungsstadien. Die Kollateralen innervieren sukzessive mit feinen Verzweigungen die verschiedenen Gehirnregionen. Die Bilder sind "extended focus"-Aufnahmen, die an einem confokalen Mikroskop gemacht wurden und die etwa 100µm optischer Tiefe durch das Gehirn entsprechen. Die TERM-1-Expression ist im Verlauf der Embryonalentwicklung gleichbleibend hoch. **A:** 55% Embryonalentwicklung. Die PCP Zellkörper (weiße Sterne) befinden sich in der dMD zwischen den beiden Loben der Pars Intercerebralis (PI). Die Axone (kleine weiße Pfeile) verlaufen nach posterior und kreuzen im "posterior fascicle XVII" (großer Pfeil in diesem und den folgenden Bildern) zur kontralateralen Seite. Die Axone (schwarze Pfeilspitzen) steigen dann im "dorsal fascicle" über die Schlundkonnektive zum Bauchmark ab (nicht mehr gezeigt). In diesem Entwicklungsstadium haben sich bereits zwei Paare von Kollateralen am Hauptaxon gebildet (weiße Pfeilspitzen und offene Pfeile). Diese werden in der weiteren Entwicklung die Pars Intercerebralis, das Protocerebrum und die optischen Loben innervieren (vgl. Abb. 20). Weitere Pfeile markieren die Mittellinie (M) und anterior (a) für alle Abbildungen. **B:** 65% Embryonalentwicklung. Die PCP Zellkörper (schwarze Sterne), ihre Axone (kleine weiße Pfeile) und Kollateralen (weiße Pfeilspitzen) bei stärkerer Vergrößerung als in A. Ein Netz von feinen Verzweigungen (Pfeilspitzen) erstreckt sich im Protocerebrum und projiziert auch über die Mittellinie. Die schwarze Pfeilspitze markiert das Hauptaxon. **C:** 75% Embryonalentwicklung. Feine TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen sind in der PI, im PC, DC und im Zentralkörper (CB) vorhanden. Die Hauptaxone liegen in einer anderen optischen Ebene (schwarze Pfeilspitzen). **D:** 95% Embryonalentwicklung. Die immunhistochemische Färbung zeigt noch mehr feine Verzweigungen sowohl in der PI als auch im PC und DC. Bemerkenswert ist das Fehlen von Verzweigungen im anterioren Bereich des Gehirns, in dem die Entwicklung der Pilzkörper (MB) begonnen hat. Maßstab: A = 150µm, B = 100µm, C und D = 160µm.



#### 4.3.4 Die postembryonale Entwicklung der PCP Neuronen

##### *Larvalentwicklung*

Während der gesamten Larvalentwicklung lassen sich die PCP Zellkörper leicht durch immunhistochemische Färbungen gegen das TERM-1 Antigen auf der Ventralseite des Gehirns im Bereich der Mittellinie nachweisen (Abb. 22A, B). Während sich die grundlegenden morphologischen Charakteristika wie die Lage der Zellkörper, die Projektion der Axone und das allgemeine Innervationsmuster im Vergleich zum embryonalen Gehirn nicht mehr verändern (Abb. 21), findet ein fortgesetztes Wachstum der feinen Verzweigungen in weitere Bereiche des Gehirns statt. Im Verlauf der postembryonalen Entwicklung werden zum Beispiel auch die Glomeruli der Antennenloben (Abb. 24D) oder die Medulla in den optischen Loben (Abb. 24F) innerviert.

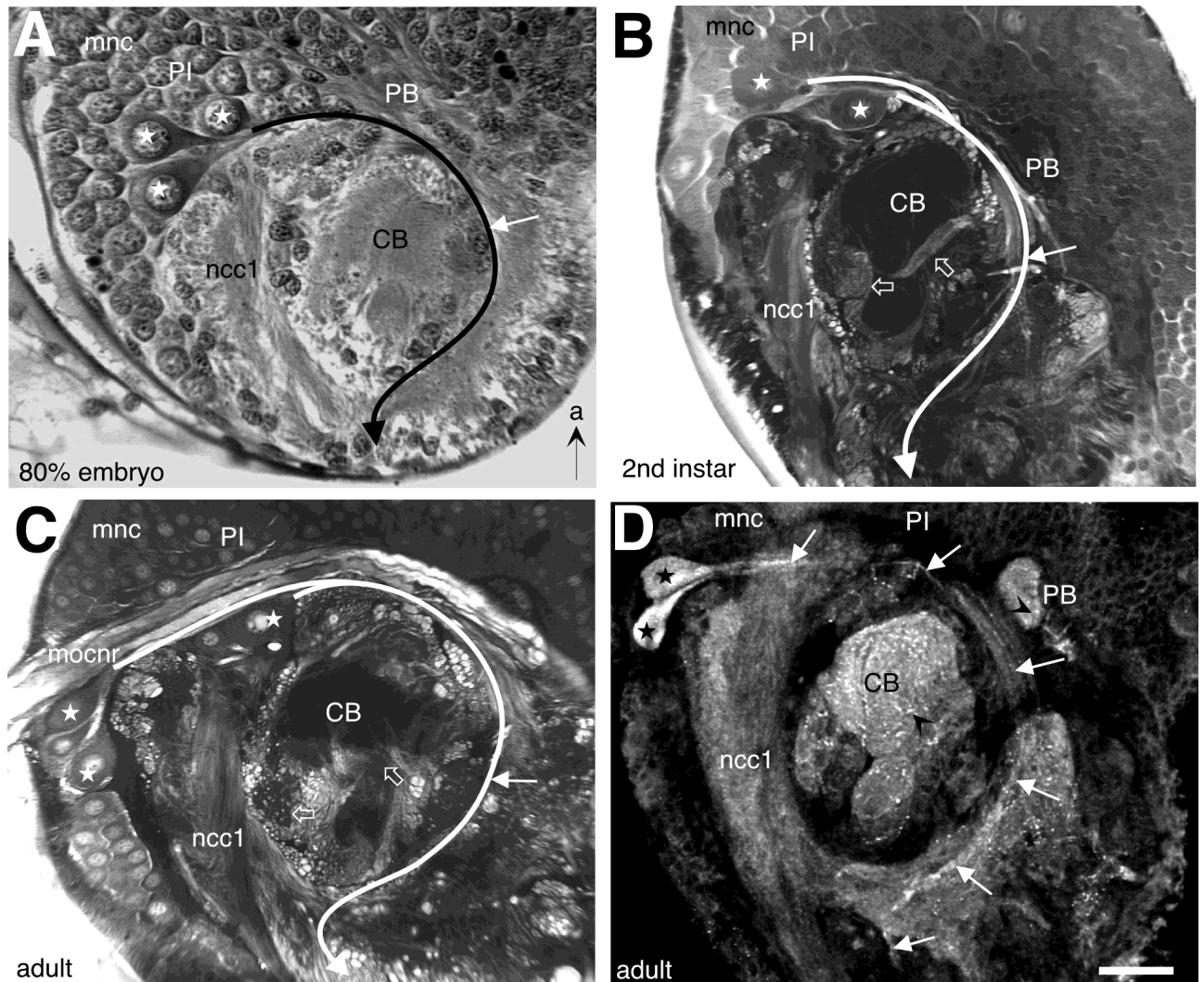


**Abb. 22.** Postembryonale Entwicklung der PCP Neuronen. **A:** 2. Larvenstadium. Eine Videomontage eines 100µm dicken Horizontalschnitts zeigt das Gehirn auf Höhe der protocerebralen Brücke (PB). Aufgrund von morphogenetischen Veränderungen im Gehirn liegen die PCP Zellkörper (weiße Sterne) jetzt zwischen den "median neurosecretory cells" (mnc) und ventral der Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1). Die mnc entstehen aus den medianen Bereichen der PI. Die Axone der PCP Neuronen (schwarze Pfeile) verlaufen im "midline tract" dorsal um den Zentralkörper (CB) und wenden sich zwischen demselben und der protocerebralen Brücke zum zentralen Bereich des Gehirns (vgl. Abb. 21). TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen finden sich im Protocerebrum (PC, Pfeilspitzen), dem Zentralkörper (CB) und der protocerebralen Brücke. In den  $\alpha$ -Loben ( $\alpha$ -lobe) oder den Pedunculi (ped) der Pilzkörper gibt es dagegen keine TERM-1-immunoreaktiven Fasern. Die Pilzkörper und die Medulla der Antennenloben (Abb. 24) sind die einzigen größeren Bereiche des Gehirns, in denen sich keine TERM-1-immunoreaktiven Fasern befinden. Der Orientierungspfeil zeigt für beide Abbildungen nach ventral (v). **B:** 5. Larvenstadium. Konfokale Aufnahme in der gleichen Schnittebene des Gehirns wie in A. Die Lage der PCP Zellkörper (schwarze Sterne) und ihrer Axone (weiße Pfeile) entspricht Abbildung A. Umfangreiche Verzweigungen der PCP Neuronen finden sich in allen Neuropilbereichen außer in den  $\alpha$ -Loben und den Pedunculi der Pilzkörper. Maßstab: A = 100µm, B = 120µm.

Durch morphogenetische Veränderungen während der späten Embryonal- und der frühen Larvalentwicklung im Gehirn (Boyan et al., 1995b) liegen die Zellkörper der PCP Neuronen nun zwischen den beiden Clustern der "median neurosecretory cells" (mnc) und posterior zum Nerv des medianen Ocellus (Abb. 22, 23). Die Zellen der mnc-Cluster stammen aus den medianen Bereichen der Pars Intercerebralis (PI). Durch die morphogenetischen Veränderungen im Gehirn werden die beiden Loben der PI in Richtung Mittellinie verschoben, die dMD aufgelöst und mit den benachbarten Regionen der PI fusioniert. Unabhängig von diesen Veränderungen bleibt die Lagebeziehung der PCP Zellkörper posterior zum medianen Ocellusnerv erhalten. Dieser ist ein geeignetes Orientierungsmerkmal, um die PCP Zellen in histologischen Schnitten larvaler oder adulter Gehirne zu lokalisieren (Abb. 23).

Die PCP Zellkörper wachsen im Lauf ihrer Entwicklung auf eine Größe von mehr als 60 µm im

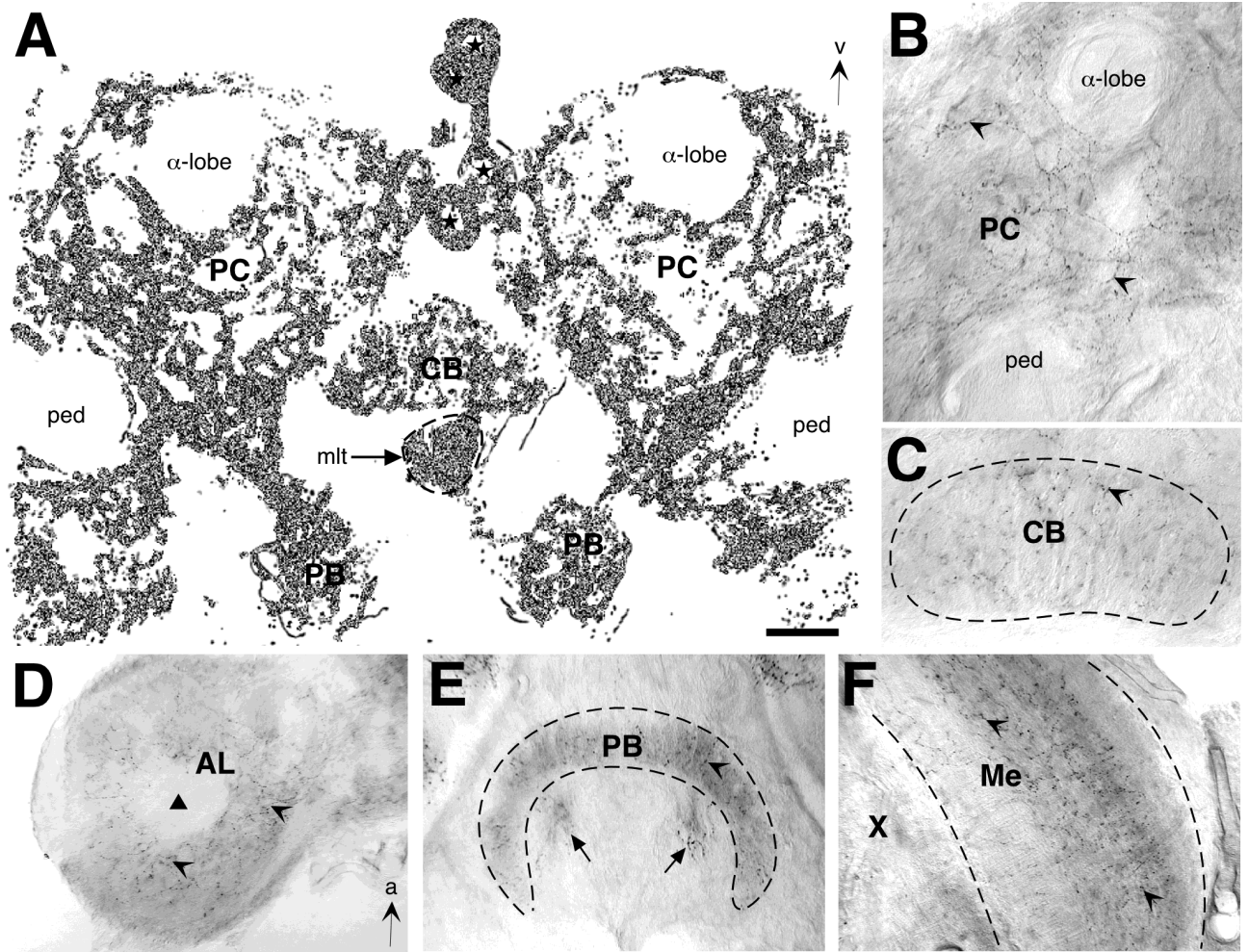
Durchmesser heran und gehören damit zu den größten Zellen im gesamten Gehirn. Ihre Neuriten wachsen im "midline tract" zuerst nach dorsal, parallel zum Nerv des medianen Ocellus. Der "midline tract" verläuft dann rund um den Zentralkörper und wendet sich unter der protocerebralen Brücke nach posterior, um in zentrale Bereiche des Neuropils zu projizieren (Abb. 23). Abbildung 23D zeigt, dass Färbungen der PCP Neuronen gegen das TERM-1 Antigen genau mit der Morphologie der PCP Neuronen und ihrer axonalen Projektion aus histologischen Schnitten übereinstimmen (Abb. 23A, B, C).



**Abb. 23.** Morphologie der PCP Neuronen. Sagittalschnitte durch die Mittellinie des Heuschreckengehirns in unterschiedlichen Entwicklungsstadien. A - C sind histologische Färbungen nach Wigglesworth, D eine TERM-1 immunhistochemische Färbung. **A:** 80% Embryo. Die drei großen, birnenförmigen Zellkörper der PCP Neuronen (weiße Sterne) befinden sich posterior der "median neurosecretory cells" (mnc) und ventral von den Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc 1). Die PCP Neuronen können leicht anhand ihrer Größe und Form und der Projektion ihrer Axone identifiziert werden. Der Verlauf der Axone ist hier und in B und C schematisch als dicker Pfeil eingezeichnet, da diese zum Teil in anderen optischen Ebenen liegen. Die Axone verlaufen im "midline tract" (weißer Pfeil) rund um den Zentralkörper, zuerst nach dorsal und dann nach posterior zwischen dem Zentralkörper (CB) und der protocerebralen Brücke (PB) und wechseln posterior des Zentralkörpers zur kontralateralen Seite. In der zweiten Larve (**B**) und im Adult (**C**) hat das Gehirn deutlich an Größe zugenommen. Ausdifferenzierte Trakte und Kommissuren sind nun im Zentralkörper zu erkennen (offene Pfeile). Die Lage der PCP Zellkörper und ihre axonale Projektion hat sich dagegen nicht geändert. **D:** Die immunhistochemische Färbung der PCP Neuronen (schwarze Sterne) in einem sagittalen Schnitt durch das adulte Gehirn bestätigt die Morphologie der PCP Neuronen aus den Abb. A - C. Der Verlauf der Axone im "midline tract" ist durch weiße Pfeile markiert. Umfangreiche TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen finden sich im Zentralkörper (CB) und der protocerebralen Brücke (PB, schwarze Pfeilspitzen). mocnr, Nerv des medianen Ocellus. Maßstab: A = 40µm, B = 50µm, C = 60µm, D = 75µm.

***Die PCP Neuronen im adulten Gehirn***

Anhand der exklusiven TERM-1-Expression lassen sich die PCP Neuronen auch im adulten Gehirn eindeutig identifizieren. Diese Tatsache ermöglicht es, das vollständige Projektionsmuster der TERM-1-immunoreaktiven Fasern aus einer Serie von Focusebenen durch einen 100µm dicken Horizontalschnitt durch das Gehirn auf Höhe des Zentralkörpers zu rekonstruieren (Abb. 24A). Erstaunlich ist die Dichte und Ausdehnung der Kollateralen der PCP Neuronen im Gehirn. Die TERM-1-exprimierenden Verzweigungen sind so dicht und exakt lokalisiert, dass sich einzelne Neuropilbereiche gegeneinander abgrenzen lassen. Während die Neuropilbereiche im Protocerebrum (Abb. 24A, B), dem Zentralkörper (Abb. 24C) und der protocerebralen Brücke (Abb. 24C) sehr intensiv innerviert sind, erscheinen die  $\alpha$ -Loben und die Pedunculi der Pilzkörper als Negativbilder. In ihnen findet sich keinerlei TERM-1-Expression. Ein vergleichbares Bild ergibt sich für die Antennenloben (Abb. 24D), in denen die Glomeruli, nicht aber die Medulla, von den PCP Neuronen innerviert werden. TERM-1-Expression findet sich darüber hinaus in den optischen Loben (Abb. 24F), im Deuto- und Tritocerebrum und im Schlundganglion (nicht gezeigt). Außerdem finden sich umfangreiche TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen in allen Ganglien des ventralen Nervensystems.



**Abb. 24.** TERM-1 Expression der PCP Neuronen im adulten Heuschreckengehirn. **A:** Die Zeichnung zeigt die Rekonstruktion der TERM-1-Expression in einem 100µm dicken Horizontalschnitt durch das Gehirn auf Höhe des Zentralkörpers (CB). Analysiert wurden 50 Focusebenen im Abstand von 2µm. Die gesamte Expression stammt von den beiden PCP Zellpaaren (schwarze Sterne), die im ventralen Bereich des Gehirns liegen. Der gestrichelte Umriß markiert die PCP Axone im "midline tract" (mlt). Bemerkenswert ist das Fehlen von TERM-1-immunoreaktiven Verzweigungen in den α-Loben (α-lobe) und Pedunculi (ped) der Pilzkörper. Der Orientierungspfeil markiert für alle Abbildungen ventral (v) mit Ausnahme von D. Die Abbildungen **B** bis **F** zeigen TERM-1-Expression in unterschiedlichen Regionen des Heuschreckengehirns. Die schwarzen Pfeilspitzen markieren jeweils feine TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen. **B:** Protocerebrum (PC) mit α-Lobus (α-lobe) und Pedunculus (ped) des Pilzkörpers. **C:** Zentralkörper (CB, gestrichelter Umriß). **D:** Antennenlobus (AL). TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen sind nur in den Glomeruli (schwarze Pfeilspitzen) aber nicht in der Medulla (Dreieck) des AL vorhanden. Der Orientierungspfeil zeigt nach anterior (a). **E:** Das Bild zeigt die TERM-1-Expression in der protocerebralen Brücke (PB, gestrichelter Umriß) und den Nervenbasen der lateralen Ocelli (schwarze Pfeile). **F:** TERM-1-Expression in der Medulla der optischen Loben (Me, gestrichelter Umriss). Das X markiert das zweite optische Chiasma. Maßstab: A, B = 60µm, C = 50µm, D, F = 125µm, E = 80µm.