

**Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main**

Dr. Senckenbergische Anatomie

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. W. Korf

**„Zytoarchitektur und deszendierende supraspinale Projektionen im
rostralen ZNS von Branchiostoma lanceolatum“**

**Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereiches
Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main**

**vorgelegt von
Daniel Ekhart
aus Sofia**

Frankfurt am Main 2005

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: PD Dr. H. Wicht

Koreferent: Prof. Dr. P. Schmidt

Verteidigt am 31.01.2006

Inhaltsverzeichnis

	<i>Seite</i>
Zusammenfassung	1
Abstract (engl.)	2
1. Einleitung	3
1.1. Phylogenetische Stellung von <i>B. lanceolatum</i>	3
1.2. Bau und Lebensweise von <i>B. lanceolatum</i>	4
1.3. Aufbau des Nervensystems von <i>B. lanceolatum</i>	9
1.4. Ontogenese von <i>B. lanceolatum</i>	15
1.4.1. Morphogenese	15
1.4.2. Molekulare Embryologie im rostralen ZNS	20
1.5. Zielsetzung und Fragestellung	21
2. Material und Methoden	23
2.1. Allgemeines	23
2.2. Nicht-experimentelle Färbetechniken	25
2.3. Experimentelle Histologie/Tracing	26
2.4. Grafische Rekonstruktion und statistische Auswertung	28
3. Ergebnisse	30
3.1. Histologie und Zytoarchitektur	30
3.2. Deszendierend projizierende Neurone im ZNS	34
4. Diskussion	36
4.1. Allgemeine Zusammenfassung	36
4.2. Übertragbarkeit larvaler Landmarken auf das erwachsene Tier	36
4.3. Larvale Derivate im adulten ZNS	38
4.4. Genetik und Morphologie	39
4.4.1. Wert von vergleichenden Genexpressions-Studien	39

4.4.2	Übereinstimmungen zwischen larvalen Genexpressions-Mustern und adulter Zytoarchitektur	40
4.5.	Homologien zwischen dem rostralen ZNS von <i>B. lanceolatum</i> und dem Gehirn von Kranioten	41
4.5.1.	Gängige Homologie-Vorschläge	41
4.5.2.	Rohdes Kern und Hatscheks Grube	43
4.5.3.	Regionale Gliederung des ZNS, Grenze zwischen „Gehirn“ und „Rückenmark“	44
4.5.4.	Homologien im PNS	45
4.6.	Kladistischer Schluss	46
4.6.1.	Phylogenetische Anmerkungen	46
4.6.2.	Das ZNS von Tunikaten und Kranioten	48
4.6.3.	Das ursprüngliche Notoneuralia-ZNS	50
5.	Abbildungen	56
6.	Quellen	100
7.	Danksagungen	106
8.	Lebenslauf	107
9.	ehrenwörtliche Erklärung	108

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit soll der Ursprung der typischen Hirn-Gliederung bei Wirbeltieren (die sich auch beim Gehirn des Menschen findet) untersucht werden. Es wurde der Versuch gemacht, die evolutive Entwicklung des Wirbeltier-Gehirns bis zu einem sehr frühen Zeitpunkt zurückzuverfolgen. Zu diesem Zweck wurde das vordere (rostrale) Ende des Zentralnervensystems (ZNS) des adulten Lanzettfisches (*Branchiostoma lanceolatum*, *B. lanceolatum*), einem Verwandten der Wirbeltiere, mit verschiedenen histologischen Methoden (diverse Färbungen, Tracing, Rasterelektronenmikroskopie) untersucht. Mittels der gewonnenen Daten konnten die Zytoarchitektur und die topografischen Beziehungen der Zellgruppen in diesem Bereich beschrieben werden. Der histologische Aufbau des erwachsenen ZNS gab Hinweise darauf, wie sich einzelne Strukturen im larvalen ZNS durch die Metamorphose verändern. Embryonale Genexpressions-Muster, die bei Wirbeltieren bestimmte, morphologisch unterscheidbare Abschnitte des Gehirns charakterisieren, finden sich auch bei der *Branchiostoma*-Larve. Ihnen konnte ein charakteristisches Muster im histologischen Aufbau des ZNS bei erwachsenen Tieren zugeordnet werden. Die Unterteilung und die gefundenen Zellgruppen zeigen teilweise Gemeinsamkeiten zu Strukturen im Wirbeltier-Gehirn, eine direkte Homologisierung ist allerdings problematisch. Es wurde daher auf kladistischer Grundlage der Versuch gemacht, über eine Zusammenschau von Merkmalen das ancestrale ZNS des letzten gemeinsamen Vorfahren von Lanzettfischen und Wirbeltieren zu rekonstruieren.

Abstract

This thesis deals with the origin of the typical (multipartite) brain-organization of vertebrates (which can be found also in the brain of man). An attempt is made to trace back the evolutionary development of the vertebrate-brain to a very early stage. Towards this end, adult lancelets (*Branchiostoma lanceletum*, Chordata), close relatives of the vertebrates, were investigated. The anterior (rostral) part of their central nervous system (CNS) had, so far, not received special attention and was regarded as a quite uniform region - at least in adults. Using various histological methods (different stainings, tracing-methods for the identification of neurons with descending supraspinal projections and electron-microscopy), the present study delivers a description of the cytoarchitecture, a determination of the location of neurons with descending supraspinal projections and a detailed description of the topographical relationships of structures in the anterior CNS and its surroundings. These new data - which show that the anterior CNS of adults is not uniform - were compared to already published data on the expression patterns of sets of regulatory genes in the CNS of larval lancelets. These genes, which regionalize the neural tube of vertebrates, also occur in the larval CNS of lancelets and (some) of their expression patterns match well with the compartmentalization of the CNS observed in adult lancelets in the present study. Nevertheless, there are huge structural and topographical differences between the anterior CNS of lancelets and vertebrates and a direct homologization, based solely on gene expression patterns, is problematical. Many different kinds of characters need to be taken into account. Therefore, using the cladistic rationale and also including data from tunicates (ascidians, another group of chordates), an attempt was made to reconstruct the anatomy of the anterior CNS of the last common ancestor of lancelets and vertebrates based on a comparison of many characters.

1. Einleitung

1.1. Phylogenetische Stellung von *B. lanceolatum*

Aus einer frühen (Präkambrium, vor ca. 700 Millionen Jahren), großen Aufspaltung von Entwicklungslinien in der Evolution gehen die Deuterostomier („Neumünder“) hervor, zu denen Branchiostoma, aber auch wir Menschen zählen. Fast zeitgleich mit ihnen entstehen die anderen Stammgruppen der vielzelligen Tiere: Schwämme, Rippenquallen, Nesseltiere und die als Protostomier („Urmünder“) bezeichneten Stämme, zu denen die heterogene Stammesgruppe der "Würmer", die Mollusken, Krebse, Spinnen und Insekten zählen. Kennzeichnend für frühe Vertreter der Deuterostomier ist ein langgestreckter Körper mit einem die ganze Länge durchziehenden Kanal, dem Darmrohr. Am rostralen Ende ist die Körperwand durch eine Serie von Schlitzen perforiert, wodurch an dieser Stelle das Darmrohr nach außen geöffnet ist (Schlunddarm, bei manchen Tieren als Kiemendarm ausgebildet). Dieser vielfach perforierte Pharynx dient primär als Reuse, in der planktonische Nahrung festgehalten werden kann. Man geht davon aus, dass sich die Deuterostomier ursprünglich als "Strudler" von Planktonpartikeln ernährten - wie Branchiostoma es heute noch tut. Die Deuterostomier tragen ihren Namen aufgrund der frühen Embryonalentwicklung des Blastoporus: er bildet den Anus, den Nabel/Ductus omphaloentericus, den Neuroporus anterior (s.u.) oder einen anderen Ausgang des späteren Darmrohres und nicht wie bei den Protostomier den Mund. Der Mund der Deuterostomier entsteht als sekundäre Öffnung des Urdarmes, meist an dem dem Blastoporus entgegengesetzten Körperpol. Nielsen (1995) nennt als weitere Merkmale von Deuterostomier das dorsale Neuralrohr und eine typische Anordnung der Zilienbänder auf planktonischen Larven.

Die Hauptmerkmale, nach denen die Neumünder weiter eingeteilt werden, sind die Chorda dorsalis und in ihrer Weiterentwicklung die Wirbelsäule, die Ausbildung eines Kopfes und das Vorhandensein von (Unter-) Kiefern (siehe hierzu, und auch für das Folgende, Abb. 1). Der Großteil der Deuterostomier besitzt, bis auf die Echinodermaten (z.B. Seesterne) und Hemichordaten (z.B. Eichelwürmer) in seinem Endoskelett einen über die ganze Länge des Rumpfes verlaufenden Stützstab, die Chorda dorsalis und wird deshalb zu der Gruppe der Chordaten zusammengefasst. Auch beim Menschen und anderen Wirbeltieren findet sich eine Chorda, die jedoch im Verlauf der Ontogenese weitgehend durch die knöchernen Wirbel der Wirbelsäule ersetzt wird und nur rudimentär in Form der Nuclei pulposi der Zwischenwirbelscheiben erhalten bleibt.

Bei Tieren, die sich frei bewegen und aktiv ihre Nahrung suchen sowie Feinden ausweichen müssen, ist das Vorhandensein von (Fern-)sinnesorganen unerlässlich. Sie liegen an dem

Ende des Körpers, an dem sich der Mund befindet und in dessen Richtung sich das Tier bevorzugt bewegt. Diese Fernsinnesorgane (Augen, Ohren) sind hochdifferenziert und benötigen im umgebenden Gewebe spezielle Strukturen, die sie schützen (z.B. Lider), halten (z.B. Orbita, Felsenbein) und unterstützen (z.B. Augenmuskeln, Ohrmuschel). Mit ihnen vergrößert sich konsekutiv auch das rostrale Ende des ZNS zu einem Gehirn, das selbst wiederum besondere Einrichtungen für seinen Schutz (Schädel) benötigt. Der auf diesen Grundlagen entstandene Kopf ist Kennzeichen der Kranioten, zu denen Branchiostoma (syn. Lanzettfisch, Amphioxus) *nicht* gehört. Er repräsentiert zusammen mit zwei weiteren, ihm morphologisch sehr ähnlichen Genera (Epigonichthys und Asymmetron, Poss und Boschung 1996) die Gruppe der Cephalochordaten oder Akranier, da sein rostrales Körperende nicht durch große Sinnesorgane und Gehirn aufgetrieben ist. Die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wurden an der in der Nordsee heimischen Art Branchiostoma lanceolatum durchgeführt.

Kiefer ermöglichen es, in Verbindung mit einem entsprechenden Zahnapparat und einem Schädel, die Nahrung festzuhalten, Stücke aus ihr herauszureißen und zu zermahlen – bringen also für die Nahrungsaufnahme eindeutige Vorteile. Spezies, die über eine solche Einrichtung verfügen, werden als Gnathostomata (Kiefermäuler) bezeichnet, solche, die zwar einen Kopf aber keine (Unter-) kiefer haben als Agnatha (Kieferlose). Zu den Kieferlosen zählen Fische wie Schleimaale und Neunaugen. Sie besitzen eine zahnartige Hornhaut an der Zunge bzw. an den Lippen, durch die sie sich an die Beute festbeißen können, um Körperflüssigkeiten aus ihr herauszusaugen (Neunauge), bzw. mittels einer zweigeteilten, bezahnten Zunge (Schleimaal) auch weiche Stücke herausreißen zu können. Die Kraft, die sie hierbei einsetzen können ist durch das Fehlen der Kiefer aber aus biomechanischen Gründen sehr begrenzt.

1.2. Bau und Lebensweise von B. lanceolatum

Da Aufbau und Aufgaben des ZNS eng mit der Lebensweise und dem allgemeinen Bauplan des Körpers zusammenhängen, sollen für das allgemeine Verständnis einige Charakteristiken vorangestellt werden. Diese basieren hier im Wesentlichen auf den Texten von Renner (1978) und Ruppert (1997):

Branchiostoma ist ein langgestrecktes, als Adultus ca. 5 cm langes Tier, das im küstennahen, sandigen Meeresboden fast aller Klimazonen lebt. Der Körper ist spindelförmig und seitlich abgeplattet, wobei er zum Schwanz hin spitzer zuläuft als zum Rostrum und dadurch seine namensgebende Lanzett-Form erhält (Abb. 2 und 3). Er ist fast durchsichtig

und die doppelbrechenden Eigenschaften der unter der Haut angeordneten Muskulatur verleihen ihm einen farbigen Schimmer. Sein Körper wird durch eine von vorne bis hinten durchlaufende Chorda dorsalis gestützt.

Der größte Teil des Körpers steckt normalerweise im Boden, lediglich das orale Ende ragt etwas aus dem Grund eines Trichters heraus. Durch seitliche Schlängelbewegungen gräbt sich das Tier in den Sand ein und dringt bei Gefahr tiefer in den Boden ein. Die Larve ist freischwimmend, und kann in dieser Periode größere Distanzen zurücklegen (Wickstead und Bone 1959; Webb 1969). Das erwachsene Tier verlässt den Boden lediglich um seine Gameten freizusetzen - gleichwohl hat Wickstead (1975) bei einigen erwachsenen Spezies Wanderungen beschreiben können. Für die undulierenden Schwimm-Bewegungen dieses Tieres stehen zwei diskrete Geschwindigkeitsstufen (langsam und schnell) ohne Übergänge zur Verfügung.

Am Rücken befindet sich auf der ganzen Länge, bauchseitig aber nur am kaudalen Ende, ein steifer, im Innern gekammerter Flossensaum, der am Schwanz zu einer ungekammerten Flosse verbreitert ist. Rostral endet das Tier mit einer spatenförmigen Flosse (Kopfflosse, Abb. 3 und 4). Auf der Bauchseite gabelt sich die Schwanzflosse direkt, ohne eine separate Analflosse auszubilden, in ein Paar ventrolateral gelegener Falten (Metapleuralfalten, Abb. 5), die sich bis zur Mundöffnung erstrecken. Die Metapleuralfalten sind nicht, wie bei Fischen, in die paarigen Brust- und Bauchflossen, die Homologa der oberen und unteren Extremitäten von Landwirbeltieren, unterteilt, gelten aber gleichsam als deren entwicklungsgeschichtliche Vorläufer.

Unter den zahlreichen Zölmräumen (Abb.5) dienen dem bindegewebsarmen Tier die Flossenkammerchen als zusätzliche Stütze. Die prall mit Flüssigkeit gefüllten Kammern wirken in ihrer Gesamtheit als Hydroskelett. Andere (Myocoelien) geben als Verschiebeschicht den Muskeln Bewegungsfreiheit, oder sind (Subchordalcoelom, Zöлом um Blutgefäße) in ihrer Funktion unverstanden.

Der geschlossene Blutkreislauf besteht aus ventralen Venen und dorsalen Arterien, die im Bereich des Pharynx über die Kiemengefäße der Kiemenbögen und im Bereich des Darmes und der übrigen Eingeweide über Kapillarnetze miteinander verbunden sind. Ein zentrales Herz existiert nicht, stattdessen wird das durchsichtige Blut (das übrigens keine freien Zellen und sauerstoffbindende Proteine enthält) durch die Körperbewegung als Ganzes, sowie durch rhythmisch kontrahierende Abschnitte der Kiemengefäße (multiple Kiemenherzen) und anderer bauchseitiger Blutgefäße langsam bewegt. Da die Gefäße keine Ventil-Klappen

besitzen, kann sich die Richtung des Blutflusses (normalerweise in den bauchseitigen Venen nach rostral fließend) umkehren. Die kontraktile Blutgefäße von Branchiostoma, die gemäß dem Blutfluss als Venen bezeichnet werden können, bestehen nicht aus den gleichen Schichten wie die Blutgefäße bei Wirbeltieren (Intima, muskuläre Media, Adventitia). Die Kontraktion wird nicht durch eine dichte Lage glatter Muskelzellen bewirkt, sondern durch Myoepithelien, die auf der Außenseite der Basalmembran aufsitzen und am ehesten mit den Perizyten der Wirbeltiere vergleichbar sind. Auf der Innenseite der Basalmembran findet sich in größeren Gefäßen eine oft inkomplette Schicht flacher Endothelien, die in kleinen Gefäßen völlig fehlt.

Der überwiegende Teil der Muskulatur ist quergestreift und befindet sich in Myomere gegliedert in zwei seitlich gelegenen Myomer-Reihen, als „viszerale Muskulatur“ in der Bauchwand und an den Körperenden, sowie als Lamellen gepackt in der Chorda dorsalis. Myoepithelien finden sich auf der Außenseite mancher Blutgefäße (s.o.), um das Darmrohr fehlt die Muskulatur weitestgehend.

Die seitlichen Muskelblöcke sind streng metamer in etwa je 60 V-förmige Myomer-Reihen geordnet, die medial an die Chorda und das ZNS grenzen (Abb. 5). Beide Reihen sind nicht völlig symmetrisch zueinander, da die linke ca. eine halbe Myomer-Länge nach vorne versetzt ist. Die Myomere sind eine nützliche Landmarke und werden in dieser Arbeit auch häufig genutzt. Nachfolgende topografische Angaben beziehen sich stets auf die linke, weiter vorne beginnende Reihe.

Innerhalb der Myomere finden sich 2 Haupt-Typen von Muskelzellen: in der Peripherie sind aerob arbeitende, tonische (langsam zuckende) Fasern vorherrschend, während die tiefe Muskulatur phasisch (schnellzuckend) und anaerob ist. Für die beiden Geschwindigkeitsstufen in der seitlichen Schlängelbewegung scheint der Aufbau dieser beiden Muskeltypen und weniger eine zentralnervöse Steuerung verantwortlich zu sein, gleichwohl sie von verschiedenen Motoneuronen innerviert werden. Ein dritter Muskel-Typ, dessen Funktion noch unklar ist und der möglicherweise ein Vorläufer der tiefen Muskelzellen darstellt, kann ebenfalls nachgewiesen werden (Lacalli 1999). Die Muskeln bestehen nicht aus synzytiellen Fasern, sondern aus Bündeln einzelner Muskelzellen. Aus jeder dieser Muskelzellen geht ein Ausläufer ab und formt zusammen mit denen der anderen Muskelzellen in jedem Myomer ein nach medial gerichtetes Bündel, das ventrolateral an das ZNS andockt. Diese Bündel können in einen dorsalen Anteil, der aus den Ausläufern der peripheren, langsamzuckenden Muskulatur besteht, und einen ventralen Anteil aus den Ausläufern tiefer, schnellzuckender Muskeln untergliedert werden (Flood 1966, Abb. 6).

Diese Bündel wurden ursprünglich als ventrale Nervenwurzeln missdeutet. Bemerkenswerterweise findet sich dieses Merkmal auch bei den Nematoden (Fadenwürmern), deren neuromuskuläre Synapse ebenfalls an der Oberfläche des ZNS liegt (Renner 1978).

Die einzelnen Myomere sind durch bindegewebige Blätter, die Myosepten, voneinander getrennt. Medial strahlen die Myosepten, in denen Nerven und Blutgefäße liegen, in die Kapseln von ZNS und Chorda ein.

Die „viszeralen Muskeln“, die bei Branchiostoma quergestreift sind, bestehen aus zwei Schließmuskeln am Anfang (Velum-Sphinkter) und am Ende des Darmrohres (Anal-Sphinkter), sowie dem Flügel- oder Transversalmuskel, der sich als Platte querverlaufender Fasern in der ventralen Bauchwand aufspannt (Abb. 5 und 8). Durch Kontraktion des Letzteren wird der Peribranchialraum (s.u.) verengt und sein Inhalt nach außen gedrückt. Bei der Relaxation wird ein Wassereinstrom in den Rachen ermöglicht. Muskelzellen finden sich desweiteren in den Wangen (Lippenmuskeln), um den Porus abdominalis (Atrioporus-Sphinkter) und als Trapez-Muskel im Bereich der Eingeweide. Im Gegensatz zu den Myomer-Muskeln werden die viszeralen Muskeln über eine in der Peripherie am Zielorgan terminierende Nervenendigung via einer neuromuskulären Synapse versorgt.

Die Chorda bei Branchiostoma ist kein passiver Stützstab aus vakuolisierten Chordazellen, wie er bei anderen Chordaten und als embryonale Anlage bei Vertebraten zu finden ist. Sie besteht vielmehr aus einer straffen Bindegewebskapsel, in der in Längsrichtung ca. 5 µm dünne Muskellamellen geldrollenartig gestapelt sind. Dorsalseitig gehen paramedian abwechselnd rechts und links Fortsätze (Hörner) aus den Lamellen ab und kontaktieren die Basis des ZNS (Flood 1970, Abb. 7). Die Endigung der Hörner zeigt bei elektronenmikroskopischen Beobachtungen tiefe Furchen und eine reiche Fältelung - typische Merkmale von postsynaptischen Membranen. Auf der Seite des ZNS finden sich gegenüberliegend synaptische Boutons mit großen Vesikeln. Im synaptischen Spalt konnte Acetylcholin-Esterase nachgewiesen werden (Flood 1974). Kapsel und Muskulatur der Chorda werden von der einlagigen Schicht Müller-Zellen voneinander getrennt. Deren Basis liegt der Kapsel breitflächig auf und lange Fortsätze schieben sich zwischen den Lamellen. Diese Zellen dienen nicht, wie ursprünglich angenommen, der neuromuskulären Erregungsübertragung, sondern haben eher eine nutritive und stützende Funktion (Welsch 1968).

Branchiostoma ernährt sich als Nahrungsstrudler von Plankton, das mit dem vom Pharynx und Flügelmuskel erzeugten Wasserstrom zugeführt wird. Die Mundhöhle wird von den beiden Wangen flankiert, welche in den bukkalen Zirren auslaufen. Die Wangen sind kaudal am Velum befestigt, einem Ringmuskel, der die Mundhöhle vom anschließenden Schlunddarm trennt und der aus den Resten der eingerissenen Membrana buccopharyngea hervorgeht. Vom Velum gehen fingerförmige Fortsätze nach rostral (Räderorgan) und kaudal (Velartentakeln) ab. Kinozilientragende Epithelien in der Mundhöhle und am Räderorgan fächern das Wasser in den Schlunddarm, wo es durch die Schlundschlitze in eine weitere Körperhöhle, dem Peribranchialraum, strömt.

Auf Höhe des 3-4. Myomers stülpt sich das ektodermale Munddach als Hatscheks Grube dorsolateral links neben der Chorda aus (Abb. 4, Abb. 20). Ektodermales Epithel und ZNS liegen hier bei einigen Spezies nah beieinander (Gorbmann 1999). Die Grube wird von vielen Autoren (z.B. Tjoa 1974, Nozaki 1992) als das Homologon der Rathkeschen Tasche, aus der sich bei Wirbeltieren die Adenohypophyse entwickelt, angesehen.

Schlundbögen und Schlunddarm sind ebenfalls von Kinozilien-tragendem Epithel bedeckt, das zusätzlich von einer schleimigen Schicht überzogen ist. In ihr wird an den Schlundbögen das Plankton festgehalten und im Schleim aktiv zum Dach des Schlunddarms bewegt. In einer dort befindlichen Furche, der Epibranchialrinne (Abb. 5), setzt sich der Transport weiter nach aboral in den Mitteldarm fort. Am Boden findet sich ebenfalls eine längsverlaufende Furche, die Hypobranchialrinne oder Endostyl. Einige der sie umgebenden hochprismatischen Zellen sind jodhaltig, weshalb eine Beziehung zur Schilddrüse der Wirbeltiere angenommen wird, andere geben das muköse Sekret ab, das den Schlunddarm überzieht und die Nahrungspartikel festhält. Der Schlunddarm verschmälert sich von oral nach aboral zunehmend, während der sich anschließende, verdauende Darm bis zum After ein annähernd gleich weites Lumen besitzt. In seiner vorderen Hälfte ist der verdauende Darm nach rechts in den Peribranchialraum ausgestülpt und bildet den Leberblindsack. Der innere Hohlraum des Leberblindsacks ist von hochprismatischen Zellen gesäumt, deren Sekrete in den Darm abgegeben werden und der Verdauung dienen. Direkt kaudal vom Leberblindsack befindet sich eine dicht bewimperte Zone, die von Ringmuskulatur umgeben ist und wahrscheinlich als Sphinkter dient. An seinem kaudalen Ende öffnet sich der Darm mit dem After, der nicht in der Median-Ebene, sondern auf der linken Seite des Leibes liegt und ebenfalls einen muskulären Sphinkter besitzt.

Der Peribranchialraum (oder Atrium, Abb. 5), der das Darmrohr mitsamt dem Pharynx umgibt, mündet über eine Öffnung (Porus abdominalis, Atrioporus) nach außen. In ihm fließt

sowohl das Wasser, das die Schlundschlitze passiert hat, als auch die Flüssigkeit aus den Nierenkanälchen ab. Eizellen und Spermien werden ebenfalls in ihn abgegeben. Ontogenetisch entsteht er, indem sich an der Bauchseite das Ektoderm breitflächig einsenkt und um den Darm legt. Seitliche Wülste, die späteren Metapleurfalten, verlagern diese Einbuchtung weiter in die Tiefe und trennen sie fast vollständig von der Oberfläche ab.

Die Eingeweide des Tieres werden somit von zwei großen Höhlen, dem Darmrohr und dem Peribranchialraum gebildet. Das Darmrohr erstreckt sich vom Velum bis zum After. Der Peribranchialraum ist eine ektodermale Höhle, die rostral über die Schlundschlitze mit dem Lumen des Darmrohres und am kaudalen Ende über den Atrioporus mit der Außenwelt verbunden ist.

Branchiostoma ist getrenntgeschlechtlich und vermehrt sich sexuell. Zwar sind auch hermaphroditische Individuen beschrieben worden, diese bilden aber eher die Ausnahme. Die Gonaden liegen beidseitig als 22-38 Paare lateral dem Peribranchialraum an, auf gleicher Höhe mit den Myomeren, mit denen sie ontogenetisch aus einem gemeinsamen Vorläufer hervorgehen. Äußerlich unterscheiden sich die weißen männlichen Gonaden von den gelblichen Eierstöcken.

1.3. Aufbau des Nervensystems von *B. lanceolatum*

Das Zentralnervensystem von *Branchiostoma lanceolatum* erstreckt sich fast über die ganze Länge der Chorda, liegt ihr dorsal unmittelbar an (komplett epichordale Lage, Abb. 4, 5, 8) und steckt eng in einer derben, bindegewebigen, jedoch transparenten Scheide. Es hat eine Dicke von ca. 140 μm , wobei der Querschnitt zur Mitte hin zunehmend abplattet. Beide Enden laufen konisch zu und schließen rostral mit einem Bläschen (rostrales Vesikel) und kaudal mit einer Ampulle (Retzius 1891, Franz 1923, Abb. 8) ab. Die über dem Schwanzende der Chorda sitzende kaudale Ampulle ist über einem feinen, ependymalen Schläuchlein (Filum terminale) mit dem übrigen ZNS verbunden.

Die folgende Gliederung des ZNS und PNS stützt sich im Wesentlichen auf Wicht und Lacalli (2005), deren Review sowohl auf den hier zitierten älteren Arbeiten, als auch auf den Ergebnissen meiner Dissertation (Ekhart et al. 2003) beruht.

Ein Zentralkanal liegt im Innern des ZNS. Er hat im rostralen Bläschen die Form einer birnenförmigen Höhle, im sich anschließenden Teil die Form eines engen, sagittal gestellten

Spaltes. Dessen Wände berühren sich und werden von den Perikaryen und Fortsätzen einzelner Neuronen (s.u.) miteinander verbunden. Am Boden und direkt hinter dem rostralen Vesikel an der Decke ist der Spalt zu einem durchgehenden, im Querschnitt kreisrunden Kanal erweitert (ventrale und dorsale Rinne).

Das rostrale Bläschen (Abb. 8, 18a) besteht in seiner Wandung aus einer mehrlagigen Neuronen-Schicht. Über seine Homologie zu den Hirnabschnitten der Wirbeltiere besteht nach wie vor Unklarheit: Es wurde mit dem Gehirn insgesamt (Willey 1894, Edinger 1906) b.z.w. dem Archencephalon (dem Prosencephalon vor Auftreten des Mesencephalons, von Kupffer 1906) gleichgesetzt.

Im übrigen, sich kaudal anschließenden Hauptteil des ZNS (Abb. 8), der sich entlang der gesamten rostro-kaudalen Achse des Tieres erstreckt, liegen die Perikaryen der Neurone hauptsächlich nahe am schlitzförmigen, zentralen Hohlraum, wobei sie entweder als unipolare Zellen die Wand bilden (perilumenale Neurone) oder als translumenale Neurone über die Mittellinie hinweg beide Seiten miteinander verbinden. Zusammen bilden sie das zentrale Grau. Peripher davon liegt ein dicker Mantel von Nervenfasern. In ihm finden sich vereinzelt migrierte Neurone, die unterschiedlich weit vom Zentralkanal liegen, sowie Ausläufer von Gliazellen, die sich radiär vom Zentralkanal zur ZNS-Kapsel spannen.

Der Hauptteil (Abb. 8) gliedert sich in einen Übergangsbereich, der direkt hinter dem rostralen Vesikel folgt, sowie den Rumpfteil, der den überwiegenden Teil des ZNS ausmacht. Der Übergangsbereich ist durch die großen, im Dach des Neuralrohrs befindlichen photorezeptiven Zellen von Joseph gekennzeichnet.

Mit der rostralsten Rohde-Zelle, einem sehr auffälligen, großen, transluminalen Neuron, beginnt ca. am 5. Myomer der Rumpfteil, welcher in vielen Publikationen als "Rückenmark" bezeichnet wird. Um eine Assoziation zum Rückenmark von Wirbeltieren mit all seinen Eigenheiten zu vermeiden, wurde hier ein neutraler Begriff gewählt. Eigentümlich für diesen Bereich sind weitere Rohde-Zellen sowie die photorezeptiven Hesse-Organe.

Der Rumpfteil kann gemäß Franz (1923, 1927) in drei größere Abschnitte untergliedert werden: der vordere Teil (in Höhe von Myomer 5-11) ist durch große Rohde-Zellen und eine hohe Dichte an Hesse-Zellen gekennzeichnet. Die Nerven dieses Abschnitts versorgen den hinteren Teil des Bukkal-Plexus und gehen in den atrialen Nerven-Plexus ein. Im mittleren Abschnitt (Myomer 12-38) fehlen die Rohde-Zellen und die Anzahl der Hesse-Zellen ist stark reduziert. Im hinteren Teil (Myomer 39-65) nimmt die Anzahl der Hesse-Zellen wieder zu und

die Rohde-Zellen tauchen erneut auf. Die Rohde-Zellen folgen in annähernd gleichen Abständen, sind aber nicht in die Metamerie des übrigen Körpers eingeordnet. Ihre langen Fortsätze ("Kolossal-Fasern") treten seitlich aus dem Zelleib heraus und kreuzen an der ventralen Kommissur zur Gegenseite. Hesse-Organe, deren vorderste bereits im Übergangsbereich auftreten, sind selbst beim unpräparierten Tier mit bloßem Auge von außen sichtbar. Ihre schwarz pigmentierten Becherzellen umschließen in ihrem Sinus photorezeptive Neurone und ermöglichen es dadurch, auftreffendem Licht eine Richtung zuzuordnen (Abb. 10).

Ampulle und Filum terminale sind frei von neuronalen Perikaryen und werden von der äußeren Kapsel und den das Innere auskleidenden Ependym-Zellen gebildet. Der von den Infundibularzellen an der Grenze zwischen rostralem Vesikel und Übergangsbereich gebildete „Reißnersche Faden“ (s. Kap. 1.4.1) endet in der kaudalen Ampulle und wird dort von speziellen Ependym-Zellen phagozytiert (Ruiz 1991). Das nur 20-25µm durchmessende und 100µm lange Filum terminale enthält außerdem dünne (0,2-0,3 µm) Nervenfasern, die vor allem basal und lateral liegen. Diese ziehen in die Ampulle und enden dort mit vesikelgefüllten, Gomori-positiven Boutons. Lage und Form dieser Endigungen sowie ihre wahrscheinliche neurosekretorische Aktivität lassen Vergleiche zur Urophyse bei Fischen zu, deren Hormone den Salzgehalt im Blut und die Füllung der Schwimmblasen regulieren (Ruiz 1991).

Ganz allgemein können alle Neurone des ZNS im Hinblick auf ihre Lage in drei Gruppen unterteilt werden (s. Abb. 9, 10): Als periluminal werden die Nervenzellen bezeichnet, die unmittelbar am Zentralkanal liegen oder ihn wenigstens mit einem ihrer Fortsätze kontaktieren, ihn aber nicht mit einem Fortsatz kreuzen. Die transluminalen Neurone hingegen zeichnen sich dadurch aus, dass sie den Spalt des Zentralkanals queren, wobei es sowohl deren Somata als auch einer ihrer Fortsätze sein können, die den Zentralkanal überbrücken. Die wenigen Neurone, deren Perikaryen nicht unmittelbar an den Zentralkanal grenzen und jenen auch mit keinem ihrer Fortsätze berühren, werden migriert genannt (z.B. „alm“ in Abb. 18 B, C). Der überwiegende Teil der Perikaryen findet sich um den Zentralkanal in Form von peri- und transluminalen Zellen.

An der ventrolateralen Fläche des Neuralrohres docken die Fortsätze der Myomere an das Neuralrohr an, die neuromuskuläre Synapse dieser Muskelgruppe liegt damit an der Oberfläche des ZNS (s.o.). In diesem Bereich enden ZNS-seitig Axone der somatomotorischen Neurone, von denen 3 Typen unterschieden werden können (SMi, SMii, SMx, Bone 1960). Bei den somatomotorischen Neuronen handelt es sich um periluminalen

Neurone, die bipolar aufgebaut sind, wobei eine Faser zum Zentralkanal und eine zum Rand zieht. Sie finden sich in der ventralen Hälfte des ZNS (Abb. 9). Ihre Fortsätze verlaufen im ventrolateralen, somatomotorischen Bündel und enden an den Kontaktstellen der Muskelzell-Bündel. Die Myomere werden entsprechend der beiden Muskeltypen von unterschiedlichen Neuronen innerviert. Während die ventrale, schnellzuckende Muskulatur wohl ausschließlich von den somatomotorischen Neuronen innerviert wird, ist es bislang noch nicht völlig geklärt, welche Neurone die peripheren, langsamzuckenden, Muskelzellen versorgen. In Frage kommen neben den somatomotorischen Neuronen die Mittcomissuralen (MC) und die Edinger-Zellen (EC). Die einzelnen somatomotorischen Neuronen unterscheiden sich in ihrer Größe und ihrem Verteilungsmuster, wobei SMi große bipolare Neurone mit zahlreichen Vakuolen in ihrem Soma und reich verzweigten Fortsätzen sind. Der zum Zentralkanal gerichtete Fortsatz ist kurz und breit. Im Gegensatz zu den kleineren SMii-Neuronen treten sie pro Segment, d.h. pro Nervenaustrittsstelle, nur einmal auf. Die SMx-Neurone sind klein, fadenförmig und finden sich ebenfalls nur einmal pro Segment. Ihr medialer Fortsatz kreuzt die Mittellinie zur anderen Seite, das Soma ist meist lateralisiert.

Die Muskulatur außerhalb der Myomer-Blöcke (Flügelmuskel etc.) wird von den viszeromotorischen Neuronen innerviert, von denen sich zwei Arten unterscheiden lassen (Vmi, Vmii; - s. Abb. 9): Sie liegen ventral der somatomotorischen Neurone, unterhalb des Zentralkanals und sind multipolar gestaltet. Sie treten je Segment einmal (Vmi) oder mehrfach und unabhängig von der Nervenaustrittsstelle auf (Vmii). Ihre Axone treten über die (dorsalen, s.u.) Nervenwurzeln aus und erreichen in der Peripherie ihre Zielorgane. Bone (1960) zählt zu der Gruppe der viszeromotorischen Neurone auch die ventral-longitudinalen Neurone (VL), die allerdings keine in der Peripherie liegenden Fortsätze besitzen, sondern eher den Charakter von Interneuronen haben. Sie sollen dorsal liegende sensible Neurone mit den eigentlichen viszeromotorischen Neuronen verbinden und damit eine Art Reflexbogen schließen.

Das Nervensystem von Branchiostoma besitzt lediglich dorsale Nervenwurzeln, die sowohl (viszero-)motorische als auch sensorische Komponenten in sich vereinen. Die Nerven (ab dem dritten Paar, s.u.) liegen im Bindegewebe zwischen den Myomer-Blöcken und stehen deshalb annähernd rechtwinklig zum ZNS. Da die Myomere beider Seiten etwas gegeneinander verschoben sind, wobei die linke Reihe etwas nach vorne versetzt ist, sind auch die Abgänge der Nerven entsprechend asymmetrisch. Die Fasern der Nerven ziehen bis unter die Körperoberfläche, zwischen Haut und Myomerblöcke, wo sie sich in einen dorsalen und einen ventralen Ast aufgabeln (Abb. 8). Der dorsale Ast innerviert den Rücken des Tieres sensibel und möglicherweise auch die glatte Muskulatur in den Flossenkammern.

Der ventrale Ast gabelt sich in einen Zweig, der die Bauchseite sensibel innerviert, sowie einen viszeralen Zweig. Der viszerale Nerv zieht an der Unterkante der Myomere nach medial und läuft weiter zwischen Peribranchialraum und Muskelblöcken. Seine Faserendigungen innervieren die Eingeweide des Tieres.

Die 65 Nerven (bei einem Tier mit 63 Myomeren) werden von rostral nach kaudal durchnummeriert und anhand dieser Position benannt. Es hat sich etabliert, die Zählung mit dem vordersten Nervenpaar (syn.: Nervenwurzeln, Dorsalwurzeln oder kurz Nerven) aus dem rostralen Vesikel zu beginnen - auch dieser Text folgt dieser Zählung. Diese Zählweise kann eine gewisse Unübersichtlichkeit bergen, wenn man die Nummerierung der Nerven mit der der Myomere vergleicht, da die ersten beiden Nerven einige Besonderheiten aufweisen: So grenzt das erste Nervenpaar an kein Myomer, Nerv 2 liegt vor Myomer 1 und der 3. Nerv zwischen dem 1. und 2. Muskelsegment. Zwecks einer einfacheren Zuordnung beginnen manche Autoren erst ab dem 3. Nerv mit der Zählung und sprechen von Spinalnerven, während die ersten beiden Nerven als Hirnnerven bezeichnet werden. Da das erste Nervenpaar an der Spitze des Vesikels austritt, wird in der Literatur manchmal erst ab dem 2. Nervenpaar von Dorsalnerv gesprochen – hier jedoch *nicht*.

Die Nerven im vorderen Bereich des ZNS lassen sich nicht zwanglos mit den Hirnnerven von Kranioten vergleichen. So fehlen klassische Charakteristika wie spezifische Verzweigungen, Innervationsmuster und Nervenursprünge in einem mit dem von Kranioten vergleichbar gegliedertem Hirn. Diese Problematik wird in der Diskussion ausführlich erörtert.

Sensible periphere Ganglien, etwa Spinalganglien, fehlen völlig. Die Perikaryen der sensorischen Neurone befinden sich entweder in der Peripherie als primäre Sinneszellen oder liegen im ZNS, ähnlich den Rohon-Beard-Zellen bei einigen Wirbeltieren oder dem Nucleus mesencephalicus n. trigemini beim Menschen. Die somatosensorischen Neurone (Abb. 9) sind bi- oder multipolar und liegen im dorsalen Teil des ZNS. Es werden 2 Typen unterschieden: Retzius Bipolare Neurone (RB) und Dorsalwurzel-Neurone (DR). Sie treten je Nervenabgang mehrfach (DR) oder unabhängig von ihm (RB) auf. Ihre peripheren Ausläufer terminieren meist als freie Nervenendigungen und werden bei der Aufnahme des Sinnesreizes meist nicht von spezifischen, mehrzelligen Organen unterstützt, bzw. enden nicht an sekundären Sinneszellen. Ausnahmen hiervon sind die Fusari-Endigungen an den Metapleurafalten (Fusari 1889), die atrialen Müller-Papillen (Müller 1844) und die solitären Sinneszellen Typ 2 (Lacalli und Hou 1999).

Primäre Sinneszellen finden sich zahlreich in dem Epithel der gesamten Körperoberfläche und in der Wand des Darmrohres. Auf bzw. knapp unter der Körperoberfläche lassen sich die de Quatrefaguesschen Körperchen, sowie die Typ 1 Sinneszellen finden. Erstere liegen an den Verzweigungsstellen des 1. und 2. Nerven und bestehen aus Hüllzellen, die eine Kapsel ausbilden und die zentral liegenden Zellen vom umgebenden Bindegewebe abtrennen. In der Mitte dieses Mechanorezeptors finden sich periphere Interneurone, sowie primäre Sinneszellen, welche Axone ins ZNS senden (Baatrup 1982). Die Typ 1 Sinneszellen sind über die gesamte Oberfläche des Lanzettfisches verstreut, neigen jedoch dazu einzelne Cluster zu bilden. Im (Vorder-)darm liegen die Perikaryen des atrialen Nervensystems, unter denen sich zahlreiche primäre Sinneszellen befinden (Bone 1961).

Der Verlauf und Ursprung der einzelnen Nerven sind gut untersucht (Dogiel 1903, Kutchin 1913, Franz 1923) und soll nur am Rand angesprochen werden. Die ersten beiden Nerven sind rein sensibel und werden vorwiegend von den Fortsätzen der de Quatrefaguessche Körperchen gebildet. Daneben finden sich auch Axone der Typ 1-Sinneszellen. Die Nerven 3-39 versorgen den Kiemenbereich, wobei 3-7 um den Mund den Bukkal-Plexus bilden. Ab dem 3. Nerv sind die Nerven nicht mehr nur rein sensibel, sondern enthalten auch einen viszeromotorischen Anteil. Während die Endigungen der sensiblen Neurone in der äußeren Wand des Peribranchialraums liegen, innervieren die viszeralen Motoneurone den Flügelmuskel und die Sphinkteren des Darms.

Die Interneurone des ZNS sind in ihrer Funktion weitgehend unverstanden und zeigen eine große Variabilität in ihrer Gestalt, Größe und (ventro-dorsaler) Lage (s. Abb. 10). Man kann annehmen, dass eine räumliche Nähe (dorsale, mittlere, ventrale Lage) ihrer Perikaryen zum jeweiligen System (somatomotorisch, viszeromotorisch, somatosensorisch) auch mit einer funktionellen Nähe einhergeht.

Dorsal liegen die dorsalen Kommissuralzellen (DC) und kleine Dorsalzellen (SD) als translumenale Neurone. In mittlerer Höhe finden sich die periluminalen Edinger-Zellen (EC) und die transluminalen mittleren kommissuralen Zellen (MC). Am ventralen Teil des Zentralkanals liegen die kleinen, periluminalen Anadon-Zellen (AC). Desweiteren finden sich vereinzelt im Rumpfteil des ZNS die großen, sagittal gestellten Internuncial-Zellen von Johnston (JI). Auf die Rohde-Zellen, die prominenteste Gruppe der Interneurone, wurden oben bereits eingegangen.

Die dorso-ventrale Lage der einzelnen Neuronengruppen folgt somit dem bei Wirbeltieren üblichen Bauplan mit ventral gelegenen motorischen und dorsal befindlichen sensiblen Nervenzellen. Lediglich die viszeromotorischen Neurone könnten als Ausnahme angesehen

werden, da sich ihr Soma ventral der somatomotorischen Zellen befindet und nicht dorsal von ihnen, wie die viszeromotorischen Neurone der Wirbeltiere.

1.4. Ontogenese von *B. lanceolatum*

1.4.1. Morphogenese

Die Darstellung der allgemeinen Morphogenese beruht auf den Arbeiten von Willey (1894), Conklin (1932), Stach (2000), Stokes und Holland (1995) und Presley et al. (1996). Bei speziellen Themenbereichen ist die Quelle im Text zusätzlich erwähnt.

Branchiostoma ist getrenntgeschlechtlich und vermehrt sich sexuell. 24-48 Stunden nach Befruchtung der Eizellen im offenen Wasser entstehen Larven, die nach ein bis mehreren Monaten ihre Metamorphose in adulte Tiere abgeschlossen haben (Stach 2000, s. Abb. 11-14). Die Dauer der Entwicklung ist von der Wassertemperatur, der Lichtstärke und dem Nahrungsangebot abhängig.

Die Gameten werden in den Peribranchialraum abgegeben und gelangen von dort ins Wasser. Während die Spermien durch den Porus abdominalis nach außen gelangen können, sind die Eizellen hierfür zu groß. Sie werden freigesetzt, indem der Flügelmuskel am Bauch der Weibchen aufreißt und sich der Inhalt des Peribranchialraums nach außen entleert.

Die Larven bilden durch holoblastische Teilung über das Stadium der Morula eine Blastula mit einem Blastozöl (Abb. 12, 13 A). Über eine typische Invaginations-Gastrulation wölbt sich die Seite des vegetativen Pols anschließend nach innen und bildet die endodermale Seite des Keimbechers (Abb. 13 B-D). Die dabei entstandene Öffnung wird als Urmund bezeichnet (Abb. 13 D-F, Pfeilspitze), die entstandene Einbuchtung, die sich im Verlauf immer weiter verlängert, als Urdarm. Im Dach des Urdarms differenziert sich das Mesoderm und schnürt sich im nachfolgenden Neurula-Stadium vom Lumen des Urdarms ab. Dabei geht aus dem axialen Mesoderm die unpaare, mediale Chorda hervor, aus dem paraxialen Mesoderm entstehen die Somiten (Querschnitte in Abb. 13 E-F und 14 A). Am Rand des Bechers grenzt das Endoderm an die außen verbliebene Seite, das Ektoderm. Über dem Dach des Urdarms differenzieren sich die Zellen und bilden einen eigenständigen, zunehmend hochprismatischen Bereich aus, die Neuralplatte.

In der weiteren Entwicklung verlängert sich die Wand des Keimbechers, die am Boden des Urdarms liegt, zunehmend und stülpt sich über den Urmund auf die Neuralplatte der gegenüberliegenden Wand. Die Neuralplatte wird von der "Lippe" der gegenüberliegenden Wand und von seitlichen, ektodermalen Wülsten überlagert und dadurch in die Tiefe verlegt

(Abb. 13 D-F, Pfeile). Die Neurulation finden also nicht wie bei vielen Wirbeltieren durch eine Invagination oder Delamination der Neuralplatte statt, sondern durch die Überwachsung derselben von umliegendem Gewebe (Epibolie). Erst nachdem die Neuralplatte von den ektodermalen „Lippen“, die von beiden Seiten und vom kaudalen Pol des Tieres her an sie herantreten, vollständig überwachsen und in die Tiefe gedrängt wurde, rollt sie sich zum Neuralrohr ein (Abb. 14 A und B).

Durch diesen Vorgang, bei dem sich die ektodermale Lippe der Gegenseite über die Neuralplatte legt, wird außerdem der Urmund vom kaudalen Ende nach dorso-rostral verlagert (Abb. 13 D-F) und nun als Neuroporus anterior bezeichnet (Abb. 14 A). Die Neuralplatte wird von dem sie überwachsenden Ektoderm nicht dicht eingeschlossen; über ihr bleibt ein längsverlaufender, kanalartiger Spalt bestehen, der sich am rostralen Ende über den Urmund nach außen öffnet und kaudal mit dem Urdarm in Verbindung steht. Die Zellen der Neuralplatte gruppieren sich um diesen Hohlraum zum Neuralrohr; Neuralleisten werden nicht gebildet. Der Hohlraum wird vollständig von neuralem Gewebe umgeben und stellt nun den Zentralkanal dar. Er ist zunächst kaudal über den Canalis neurentericus mit dem Urdarm und rostral über dem anterioren Neuroporus mit der äußeren Umgebung verbunden. Beim adulten Tier bleibt vom Neuroporus anterior eine Grube (Köllikers Grube, Kölliker 1843) zurück, die früher (fälschlicherweise) als Riechöffnung gedeutet wurde. Tatsächlich finden sich in diesem Bereich zu keiner Zeit Sinneszellen oder Nervenfasern (Tjoa und Welsch 1974).

Mund und After entstehen bei dieser Kinozilien-besetzten Larve sekundär, indem das vordere und hintere Ende des Urdarms einreißt. Der Mund liegt zunächst auf der linken Seite (Abb. 14 B), wodurch er eine größere Öffnung ausbilden kann und verlagert sich erst zum Ende des Larvenstadiums in die Medianebene.

Nachdem bei der Neurula die ersten Somiten ausgebildet sind, entsteht an der rostralen Spitze des Urdarms ein Divertikel (prechordaler Anteil des Urdarms, Abb. 14 A) der sich bald vom Urdarm abtrennt und paarig aufteilt. Die rechte Kammer gewinnt zunächst an Größe und wird zum präoralen Zölom, degeneriert aber, nachdem der Mund seine endgültige Position eingenommen hat. Durch die ursprüngliche Lage des Mundes auf der linken Seite, bleibt die linke Kammer des Urdarm-Divertikels klein und legt sich der Chorda seitlich an. Sie persistiert jedoch, und bleibt beim erwachsenen Tier als Hatscheks Grube bestehen.

Indem sich die seitlichen Anteile des Mesoderms entlang der Längsachse in seriell angeordnete Somiten gliedern (Abb. 14 A), wird die metamere Organisation des Tieres angelegt. Aus diesen Somiten gehen die gleichfalls metamere gegliederten Myomere des adulten Branchiostoma hervor. Bereits zu diesem Zeitpunkt wachsen aus dem Neuralrohr erste Nerven in die Myosepten hinein. Diese embryonalen Nerven sind mit den Nerven beim erwachsenen Tier identisch. Lediglich der 2. Nerv ist noch in 2 Anteile gespalten, die aber im weiteren Verlauf zusammenwachsen (Abb. 15).

Die nachfolgenden Darstellungen des spätlarvalen ZNS stützen sich im Wesentlichen auf die umfangreichen Arbeiten von T. Lacalli zu diesem Thema.

Das ZNS der Larve weist noch nicht die starken Größenunterschiede zwischen rostralem Bläschen und Hauptteil auf, gleichwohl ist der Zentralkanal im rostralen Vesikel breiter als im übrigen Teil. Alle Zellen, außer denen des Tektums (s.u.) haben Kontakt zum Zentralkanal und bilden jeweils eine unterschiedlich lange Zilie aus, die im Lumen des Neuralrohrs liegt.

Am Boden und an der Spitze des rostralen Bläschen (Abb. 15) stehen hochprismatische Neurone. Ihre Zilien sind zum Neuroporus anterior hin orientiert und ragen teils aus ihm heraus. Eine Ausnahme machen die Zellen des Infundibular-Organs, eine Gruppe in der hintersten Zell-Reihe am Boden des rostralen Vesikels, deren Zilien nach kaudal weisen. Die Infundibular-Zellen geben ein Sekret ab, welches zusammenläuft und zu einer fädigen Struktur aushärtet. Aufgrund dieser Eigenschaft ähnelt dieser Faden dem Reißnerschen Faden bei Kranioten. Dort wird er bei einigen Arten (z.B. beim Lachs) zunächst von einer ventral liegenden Zellgruppe (Flexural-Organ) hergestellt, die in der Embryonalentwicklung auf die dorsale Seite des Neuralrohres migriert und dort das Subkomissuralorgan bildet, das auch bei den Säugern, inkl. Mensch (bei ihm allerdings nur während der Ontogenese), gefunden wird (Nieuwenhuys 1998). Das Infundibular-Organ von Branchiostoma liegt ebenfalls ventral, allerdings zeitlebens und stellt auch einen im Ventrikel liegenden Faden her. Es liegt daher nahe, eine Verwandtschaft zwischen dem Infundibularorgan und dem Flexural- bzw. Subkomissuralorgan anzunehmen.

An der vorderen Spitze des rostralen Bläschens befindet sich eine Ansammlung von Pigment-Zellen, die zusammen mit den dahinterliegenden Rezeptorzellen von Lacalli (1996) als "Stirnauge" bezeichnet werden. Das Dach des rostralen Vesikels wird von kubischen Zellen mit kurzen Zilien gebildet.

Der ursprünglich röhrenförmige Zentralkanal des Hauptteils unterliegt bereits bei einer 5-10 Tage alten Larve grundlegenden Veränderungen: auf mittlerer ventro-dorsaler Höhe lagern sich die Wände, durch das Auftreten der großen Neurone des primären motorischen Zentrums (Motozentrum, Lacalli 1996), die zunehmend an Größe gewinnen, aneinander. Der Querschnitt des Zentralkanals nimmt die Form einer sagittal gestellten Hantel an. Im Bereich des "Griffes" der Hantel berühren sich die Wände des Neuralrohres. Wenig später entstehen in dieser Region zahlreiche translumenale Zellen, die den Hohlraum des Zentralkanals überbrücken und im mittleren Anteil endgültig verschließen. Im Bereich der "Gewichte" der Hantel bleibt das Lumen des Zentralkanals erhalten. Es bilden sich also zwei Kanäle (dorsale und ventrale Rinne), die das ZNS längs durchziehen. Die ventrale Rinne, die Reißners Faden beinhaltet bleibt auch im adulten Lanzettfisch erhalten. Im vorderen Teil der dorsalen Rinne, am Beginn des 1. Somiten, wachsen von den angrenzenden, periluminalen Neurone Fortsätze aus, die über eine Zilie mit einem dichten Membranstapel enden. Die Gesamtheit der Membranstapel füllt hier die dorsale Rinne komplett aus und bildet so als eine längsverlaufende Säule den Lamellarkörper. Da die einzelnen Zellen in ihrer Morphe (Soma, Verbindungsstück, Membranstapel) stark den Lichtsinneszellen im Pinealorgan mancher Wirbeltiere ähneln, werden bei ihnen photorezeptive Eigenschaften vermutet. Lacalli (1994) sieht in ihnen das Homologon zum Pinealorgan. Der Lamellarkörper bildet sich im weiteren Verlauf zurück und dorsal sowie kaudal von ihm tauchen während der Metamorphose die großen Joseph-Zellen auf. Sie gelten ebenfalls als photorezeptiv, gleichen aber, da ihnen ziliäre Außenglieder fehlen und sie statt dessen einen Mikrovilli-Saum tragen, mehr den Photorezeptoren von Protostomiern (Welsch 1968).

Die Zellen des Lamellarkörpers werden am kaudalen Teil von großen Neuronen, den Tektum-Zellen, umgeben, die keinen Kontakt zum Zentralkanal haben. Sie stehen in afferentem Kontakt zu den Zellen des Stirnauges und haben Anteil an den rostralen Nerven, indem einige ihrer Fasern zu sensorischen Epithelzellen in der Kopfflosse ziehen (Lacalli 2002). Ihre Efferenzen ziehen zu den Zellen des primären Motozentrums und Dendriten der vorderen großen paarigen Neurone (s.u.) enden im Tektum.

Die ersten Neurone des primären motorischen Zentrums tauchen kurz hinter den Tektum-Zellen auf der ventralen Seite auf. Es sind große Zellen, die seitlich dem Zentralkanal anliegen. Die meisten sind unipolar und dürften den späteren somatomotorischen Neuronen entsprechen. Lacalli (1999) unterscheidet innerhalb der Motoneurone die des ventralen Kompartments (VC) von denen des dorsalen Kompartments (DC). Beide senden Efferenzen zu den Myomer-Kontaktstellen, jedoch innervieren die VC die tiefe anaerobe, schnellzuckende Muskulatur, während die DC das dorsale Bündel der oberflächlichen,

aeroben, langsamzuckenden Muskeln versorgt. Daneben finden sich im larvalen Motozentrum sehr große, paarige, translumenale Neurone (LPN, *Large Paired Neurons* nach Lacalli 1999), deren Fortsätze den Spalt des Zentralkanals kreuzen und sowohl nach kaudal als auch nach rostral, bei den vorderen LPN bis zur Spitze des Vesikels ziehen.

Zusammenfassend gesagt, besteht der rostrale Vesikel im larvalen Stadium aus einer Lage hochprismatischer Zellen, von denen einige (die drei Zellreihen hinter den Pigmentzellen), photorezeptive Eigenschaften haben sollen und andere (Zellen des Infundibularorgans) zum Subkommissuralorgan homolog sein sollen. Unmittelbar vor dem Infundibularorgan liegen einige Zellen mit dicken Zilien, die möglicherweise auf Gravitations-Veränderungen sensibel sind. Die umgebenden Faserbündel stammen in diesem Stadium von Fortsätzen der peripheren de Quatrefageschen Körperchen, der photorezeptiven Neurone, der Tektum-Zellen, sowie der ersten Riesenzellen (LPN 1).

Charakteristiken des larvalen Übergangsbereiches sind die dorsal, unmittelbar hinter dem rostralen Vesikel liegenden Zellen des Lamellarkörpers, die ventral liegenden Zellen des Infundibularorgans, welche das mögliche Homologon zu Reissners Faden bilden, die im Kontakt zu den Pigmentzellen und dem primären Motozentrum stehenden Tektum-Zellen, sowie die Zellen des Motozentrums, denen sich etwas kaudal die paarigen Riesen-Zellen hinzugesellen. Hinter dem primären Motozentrum, findet sich nach einer Lücke eine weitere Ansammlung von Motoneuronen.

Die oben beschriebene Embryonal- bzw. Larvalphase spielt sich im Plankton ab und dauert 1-3 Monate (Willey 1891, Stach 2000). Kurz vor der Metamorphose, die sich nun anschließt, sinken die pelagischen Larven, die sich mit dem Flimmerschlag ihrer bewimperten Epithelien im Plankton hielten, ins Benthos hinab. Dort findet auch die Metamorphose statt, die den asymmetrischen Körper der Larve in den mehr oder weniger symmetrischen des Adultus verwandelt (siehe Wicht und Lacalli, 2005). So wandert z.B. die ursprünglich links gelegene Mundöffnung (s.o.) nach ventral und kaudal in die Medianebene, um sich zum Velum umzuformen. Im Nervensystem (das ja ursprünglich symmetrisch ist) ist die Metamorphose hingegen durch die Entwicklung einiger Asymmetrien gekennzeichnet. Köllikers Grube, der ehemals mediodorsal gelegene Neuroporusrest, wandert nach links unten und diejenigen (linken) rostralen Nerven, die den larvalen Mund innervierten, werden von diesem "mitgenommen", so dass das Velum hauptsächlich von linken Nerven innerviert wird. Im Hauptteil des ZNS entstehen mehr und mehr translumenale Zellen, die den schlitzförmigen Teil des Ventrikels verschließen. Das rostrale Bläschen bleibt dagegen im Wachstum zurück, so dass sich die Größenverhältnisse umkehren: war sein Durchmesser vor der

Metamorphose noch größer als der der Hauptteiles, so ist es nun (Abb.17) umgekehrt. Das Lamellarorgan als kompaktes Organ (s.o.) löst sich auf, wenngleich einzelne lamelläre Zellen noch im Adultus nachweisbar sind (s.u.). Hesse-Organe, Josephsche Zellen und Rohde-Zellen tauchen ebenfalls erst in der Metamorphose auf.

1.4.2. molekulare Embryologie im rostralen ZNS

Die Morphologie des larvalen und adulten ZNS ähnelt in manchen Strukturen den Hirnen von Wirbeltieren, jedoch gibt es auch viele Abweichungen, so dass kein einheitliches Bild entsteht. So lässt sich etwa zu keinem Zeitpunkt eine Unterteilung erkennen, die die Abschnitte des Wirbeltier-Hirns (Tel-, Di-, Mes-, Met- und Myelencephalon) widerspiegelt.

Es ist deshalb überraschend, dass aktuelle molekularbiologische Untersuchungen des larvalen ZNS von Branchiostoma eine Reihe sehr detaillierter Übereinstimmungen mit Vertebraten ans Licht brachten: Branchiostoma-Larven im 10-Somiten-Stadium (ca. 13 h post conceptionem), einem Zeitpunkt, an dem das Neuralrohr noch weitgehend undifferenziert ist, zeigten die Expression von Genen, welche auch bei Wirbeltieren vorkommen und für bestimmte Bereiche des Gehirns spezifisch sind (Abb. 16). So tritt die Expression von Otx-Genen bei der Maus ausschließlich im Vorder- und Mittelhirn auf, die von Hox1 im Rhombencephalon. Im Neuralrohr der Branchiostoma-Larve wird Otx im Bereich des 1.Somiten und davor exprimiert, Hox1 von der Mitte des 2. Somiten abwärts (Wada et al. 1999, Satoh und Wada 2001, Jackmann und Kimmel 2002). Zwischen den Expressions-Bereichen von Otx und Hox1 findet sich ein Abschnitt, in dem keines der beiden Gene exprimiert wird. Dieser „nicht Hox1-, nicht Otx-Bereich“ markiert bei Vertebraten die spätere Grenze zwischen Mittel- und Rautenhirn. Bei adulten Branchiostoma läge dieser Abschnitt, wenn man ihn anhand der relativen Lage zu den Somiten/Myomeren auf das adulte Gehirn projiziert (Abb. 16 C), inmitten des Übergangsbereichs des rostralen ZNS. (Abb. 16).

Außer mit diesen beiden Genen wurden auch Studien mit anderen, für bestimmte Bereiche des Wirbeltier-ZNS spezifischen Genen durchgeführt (Hox 3, 4 und 5, Pax, Engrailed, Abb. 16), auf deren Ergebnisse aber erst in der Diskussion eingegangen werden soll. Da die exprimierten Gene bei Wirbeltieren und Branchiostoma zwar homolog, aber in ihren Sequenzen dennoch nicht völlig identisch sind, wird beim Lanzettfisch in manchen Publikationen die Vorsilbe „Amphi-“ dem Gen-Namen vorangestellt („Amphi-Hox“, „Amphi-Otx“ etc.). Der Übersichtlichkeit halber soll in diesem Text darauf verzichtet werden.

1.5. Zielsetzung und Fragestellung

Wie in den vorangegangenen Abschnitten geschildert, exprimiert das sich entwickelnde anteriore Neuralrohr der Lanzettfische eine Reihe von regulatorischen Genen, die auch bei Wirbeltieren vorkommen. Diese Gene führen bei letzteren zur Regionalisierung und Differenzierung des Neuralrohres in das Pros- und Mesencephalon (Domäne der Otx-Gene), den Isthmus (nicht-Hox/nicht-Otx-Domäne) und das Rhombencephalon (Domäne der Hox-Gene).

Trotz vergleichbarer Genexpression ist eine ähnliche Differenzierung beim adulten Lanzettfisch nicht erkenntlich. Das vordere Neuralrohr lässt sich zwar, wie weiter vorne beschrieben, grob in einen anterioren Vesikel und einen größeren kaudalen Übergangsbereich unterteilen, die in der Nähe der Spitze des ersten Myomers aneinander grenzen, allerdings ist diese Grenze wahrscheinlich nicht das adultmorphologische Korrelat der larvalen Genexpressionsgrenzen. Die Grenze dieser Domänen liegt, wie im vorangegangenen Abschnitt geschildert, weiter kaudal und wäre beim Adulten auf der Höhe des 2. Myomers - also mitten im Übergangsbereich - zu vermuten.

Dieser Übergangsbereich des adulten Gehirnes aber erscheint auf den ersten Blick homogen, es zeigen sich keine Einschnürungen oder segmentalen Wölbungen, die den Hirnbläschen (oder den Rhombomeren) der Wirbeltiere entsprächen. Allerdings ist der Übergangsbereich schlecht untersucht: es gibt - im Gegensatz zum Rückenmark (Bone 1960, Franz 1923) - keine detaillierten Studien zur Topographie und Zytoarchitektur dieser Region. *Die Fragestellung lautet also: gibt es im Übergangsbereich des adulten ZNS der Lanzettfische irgendwelche Grenzen, Diskontinuitäten oder Übergänge, die den larvalen Genexpressionsgrenzen entsprechen könnten und damit einen Hinweis auf Homologien zu den Hirnabschnitten der Wirbeltiere liefern ?*

Um diese Frage zu beantworten habe ich - auf ganz klassische Art und Weise - die Zytoarchitektur des Übergangsbereiches inspiziert und in Form einer Rekonstruktion kartiert. Außerdem wurden - in einem experimentellen Ansatz - diejenigen Neurone des Übergangsbereiches identifiziert, die absteigende Axone in das Rückenmark schicken. Bei Wirbeltieren sind diese deszendierenden supraspinalen Projektionen gut untersucht. Sie gehen dort aus umschriebenen und leicht erkennbaren Zellgruppen (überwiegend des Mes- und Rhombencephalon) hervor (Wicht und Nieuwenhuys 1998). Sollten sich vergleichbare

Zellgruppen bei Lanzettfischen finden lassen, wäre dies unter Umständen ein Hinweis auf das Vorhandensein vergleichbarer Hirnregionen.

2. Material und Methoden

2.1. Allgemeines

Postmetamorphotische *Branchiostoma lanceolatum*, bezogen aus der Biologischen Bundesanstalt Helgoland, wurden in 14°C temperiertem Salzwasser (3% aquaristisches Meersalz/ demineralisiertes Wasser) gehalten. Der Boden war mit einer ca. 6 cm dicken Schicht Sand bedeckt. Täglich wurde das Aquarium 12 Stunden lang beleuchtet (Tageslicht-Leuchtröhre), ansonsten herrschte Dunkelheit.

Die Tiere wurden mittels eines Käschers aus dem Sand herausgesiebt; die experimentell manipulierten Exemplare wurden innerhalb des Aquariums in separaten Behältern gehalten. Vor allen experimentellen Eingriffen, bzw. vor der Fixierung zur histologischen Aufarbeitung wurden die Tiere mit Tricain-Methansulfat („MS-222“, Fa. Sigma, 1:10000 in Salzwasser) betäubt.

Für die unterschiedlichen Experimente und Techniken wurden insgesamt 88 Tiere beiderlei Geschlechts verwendet.

Bei den verschiedenen histologischen Verfahren wurden oft gleiche Methoden, Prozeduren und Lösungen benutzt. Um sie bei der Schilderung der einzelnen Techniken nicht stets wiederholen zu müssen, seien sie hier vorangestellt.

Herstellung des Phosphat-Puffers:

Für viele Arbeitsschritte wurde anstatt Wasser eine 0,1-molare Phosphatpuffer-Lösung verwendet, die den Bereich von pH 7,4 puffert. Die 0,5-molare Stammlösung wurde hergestellt indem 2 Liter demineralisiertem Wasser 142g Natriumhydrogenphosphat-2 Hydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) und 27,2 g Kaliumhydrogenphosphat (KH_2PO_4) beigefügt wurden. Die Lösung wurde gut durchmischt und nach 24 h im Verhältnis 1:4 in demineralisiertem Wasser verdünnt verwendet.

Fixierungs-Lösungen:

- PFA-Fixierung

0,3 molare Phosphatpuffer-Lösung mit 4% Paraformaldehyd.

- PFA/ Glutaraldehyd-Fixierung

0,3 molare Phosphatpuffer-Lösung mit 4% Paraformaldehyd und 0,5% Glutaraldehyd.

- Bouin-Fixierung

Die Lösung besteht aus 71% gesättigte, wässrige Pikrinsäure-Lsg., 24% Formalin (37%-ig) und 5% Eisessig.

- AFA-Fixierung

100 ml Lösung enthalten 90 ml Ethanol (80%), 5 ml Formalin (37%-ig) und 5 ml Eisessig.

Wenn nicht anders angegeben, wurden die Tiere 12-18 Stunden in diesen Fixierun-
gslösungen belassen.

Herstellung von Paraffin-Schnitten:

Das in PFA/ Glutaraldehyd, Bouin oder AFA fixierte Tier wurde zunächst nach folgendem
Protokoll entwässert:

- Ethanol (70%).....mind. 1 Std.
- Lsg 1, bestehend aus
 - 2/5 Ethanol (100%)
 - 2/5 demineral. Wasser
 - 1/5 t-Butyl-Alkohol.....1 Std.
- Lsg. 2, bestehend aus
 - 10/20 Ethanol (100%)
 - 3/20 demineral. Wasser
 - 7/20 t-Butyl-Alkohol.....1 Std.
- Lsg. 3, bestehend aus
 - 9/20 Ethanol (100%)
 - 11/20 t-Butyl-Alkohol.....1 Std.
- Lsg. 4, bestehend aus
 - 5/20 Ethanol (100%)
 - 15/20 t-Butyl-Alkohol.....1 Std.
- t-Butyl-Alkohol.....45 Min.

Es wurde reiner t-Butyl-Alkohol verwendet. Da der Schmelzpunkt bei ca. 32°C liegt, wurde er
vorher vorsichtig erwärmt.

Das Präparat wurde anschließend in flüssiges Paraffin (59°C) gebracht und der Druck im
Wärme-Ofen kontinuierlich, über 30 Minuten, auf ca. 20 mBar gesenkt. Nach 1 Stunde wurde
diese Prozedur mit frischem Paraffin wiederholt. Anschließend wurde das Präparat in
Paraffin-gefüllte Förmchen getaucht und langsam abgekühlt. Die so entstandenen Blöcke
wurden frühestens nach 12 Stunden am Mikrotom in 16 µm dicke Bänder geschnitten und
auf Gelatine-beschichtete Objektträger gelegt. Wenn an den jeweiligen Stellen, an denen die
einzelnen Techniken beschrieben werden, keine abweichende Angabe gemacht wird,
wurden die Präparate in der Transversal-Ebene aufgeschnitten. Mit Hilfe einer Pipette wurde
zwischen den Paraffin-Bändern und dem Objektträger ein Wasser-Film aufgetragen. Die
Objektträger wurden danach auf eine ca. 50°C warme Platte gelegt, damit sich die Paraffin-

Schnitte „schwimmend“ strecken. Nachdem sich die Schnitte auf ihre Größe vor dem Schneiden ausgedehnt hatten, wurden sie mit einer Schaumstoff-Rolle auf den Objektträger angedrückt und für mindestens 48 Stunden bei einer Lufttemperatur von 48°C belassen. Anschließend wurden sie deparaffiniert und entsprechend bearbeitet.

Hydrierung und Dehydrierung:

Für den Übergang von einem polaren (z.B. Wasser) in ein apolares (z.B. Paraffin) Medium und umgekehrt wurde für die histologischen Schnitte eine 6-stufige Reihe verwendet. Der Ablauf bei der Entwässerung war Ethanol (50%)- 5 Min., Ethanol (70%)- 5 Min., Ethanol (95%)- 5 Min., Isopropanol (Isopropyl-Alkohol 2-Propanol; 100%)- 5 Min., Isopropanol (100%)- 5 Min., Xylol (100%)- 10 Min., Xylol (100%)- 10 Min.. Die Hydrierung verlief in umgekehrter Reihenfolge.

Im Anschluss an allen Färbungen und Experimenten wurden die Gewebs-Schnitte in Entellan® (Fa. Merck) eingebettet und mit einem Deckglas verschlossen.

2.2. nicht-experimentelle Färbetechniken

Cresylviolett-Färbung (6 Tiere)

Es wurden PFA/Glutaraldehyd-fixierte Paraffin-Schnitte verwendet. Bei zwei Serien wurden die Schnitte in der Sagittal-Ebene durchgeführt. Die Paraffin-Schnitte wurden zunächst in Wasser gewaschen, 10-20 Minuten in 1%-iger Cresylviolett/Wasser- Lsg. getaucht und danach für 5 Minuten gewaschen. Unter Binokular-Kontrolle wurde anschließend in Ethanol (50%) die Intensität der Färbung abgemildert, bis ein befriedigendes Ergebnis erreicht war. In zwei Fällen schloss ich eine Gegenfärbung mit Neutralrot an. Dabei verblieben die Schnitte 15-30 Minuten in einer 1%-igen Neutralrot-Lsg. (pH 4) und wurden danach in Wasser abgewaschen.

Versilberung (10 Tiere)

Die Versilberungs-Methode nach Palmgren (Protokoll von Braak, pers. Mitteilung) sowie eine Modifikation davon wurde an PFA/Glutaraldehyd und AFA fixierten Schnitten angewandt. Bei der Abwandlung (Ekhart, pers. Insp.) wurde das Gewebe zunächst 16 Stunden bei 37°C in einer Bouin-Lsg. mit 4 % Chromalaun (Chrom III-Kaliumsulfat-Dodecahydrat) aufbewahrt, ehe mit dem Protokoll der klassischen Palmgren-Versilberung begonnen wurde.

Gomori-Färbung (8 Tiere)

Um die Existenz von S-H-Brücken nachzuweisen, wie sie für viele neuroendokrine Sekrete typisch sind, wurde Gomoris Chromhämatoxylin-Färbung (Protokoll aus Romeis 1989) angewendet. Dafür wurden Paraffin-Schnitte benutzt, die in PFA/Glutaraldehyd und AFA fixiert wurden.

2.3. Experimentelle Histologie/Tracing

Zum Einbringen der Tracing-Substanzen wurde an dem betäubten Tier unter Binokular-Kontrolle rücklings auf Höhe des 6.-15. Myomers ein transversaler Schnitt bis zur Chorda dorsalis gesetzt. Austretende Flüssigkeit aus den Zölmräumen wurde mittels eines Kosmetiktuchs vorsichtig abgetupft. Eine Nadelspitze mit einem Bröckchen des jeweiligen Tracers (BDA, Biocytin, Texas-Rot: Texas-Rot konjugiert mit Dextran, 3000 MW) wurde in die Wunde gesteckt und langsam gedreht, bis er sich ablöste. In einigen Fällen wurde der Einschnitt mit Acryl- oder Fibrin-Kleber verschlossen. Nach einer Überlebenszeit von 12-96 Stunden im Aquarium (s.o.) wurden die Tiere reanästhetisiert, fixiert, dekapitiert und in Abhängigkeit vom verwendeten Tracer auf verschiedene Arten bearbeitet.

BDA und Biocytin (26 bzw. 14 Tiere):

Die Präparate wurden mit AFA, PFA und Bouin fixiert und als Paraffin-Serien aufbereitet. Nach dem Entparaffinieren und Dehydrieren blieben sie für 10 Minuten in 3% Wasserstoffperoxid/ Phosphatpuffer-Lsg., um die gewebseigene Peroxidase zu zerstören. Anschließend wurden die Schnitte gewaschen (3x10 Min. in Phosphatpuffer) und in Phosphatpuffer-Lsg. (Phosphatpuffer mit 0,3% Triton X) mit einer am Tracer bindenden Peroxidase (Vectastain ABC-Kit[®]) 2 Std. inkubiert und danach nochmals gewaschen (3x10 Min. in Phosphatpuffer). Für die Nachweis-Reaktion wurden die Objektträger in ein flaches Gefäß gelegt, mit einer DAB-Lösung (100 ml Phosphatpuffer, 40 mg Diaminobenzidin, 2,25 ml 1%-ige $\text{CoCl}_2/\text{H}_2\text{O}$ -Lsg., 2,25 ml 1%-ige Ni II-Sulfat/ H_2O -Lsg.) bedeckt und zunächst 10 Minuten darin belassen. Die Reaktion wurde mit einigen Tropfen Wasserstoffperoxid-Lsg. (0,3% H_2O_2 in Phosphatpuffer) gestartet. Bei der Reaktion wird das DAB von der am Tracer gebundenen Peroxidase oxidiert und setzt sich als dunkler Niederschlag ab. Die Schnitte blieben darin, bis die gewünschte Farb-Intensität erreicht war, wurden anschließend gewaschen (3x 10 Min. in Phosphatpuffer), entwässert und eingedeckelt.

Texas-Rot (18 Tiere)

Nach dem Einbringen von Texas-Rot (Applikation s.o.) überlebten die Tiere 48 Stunden und wurden danach anästhetisiert und über Nacht in PFA fixiert. Der rostrale Körperteil wurde

abgetrennt, mit Acrykleber (Histoacryl[®], Fa. Braun) auf dem Präparate-Halter des Vibratoms geheftet und in eine kleine Wanne gestellt. Eine Manschette aus Filterpapier wurde dem Präparat übergestülpt und diese mit Eigelb gefüllt, bis es ganz damit umgeben war. Danach wurde das Gefäß bis zum oberen Rand der Eigelb-Füllung mit PFA gefüllt und für mindestens 48 Stunden bei 4°C abgestellt, um das Eigelb auszuhärten und ihm eine gummiartige Konsistenz zu verleihen. Der Eigelb-Block wurde anschließend mittels eines Vibratoms in 50-90 µm dicke Scheiben geschnitten. Die Schnitte wurden auf Objektträger gebracht, umgehend in ein Fluoreszenz-Medium (DAKO[®] fluorescent mounting medium) eingebettet, eingedeckelt und unter dem Mikroskop (Zeiss Axiosop) inspiziert. Die Anregung des Fluoreszenz-Farbstoffes erfolgte bei einer Wellenlänge von 546nm, die Betrachtung durch einen Tiefpassfilter von 590nm.

Post-mortem Tracing mit Dil (5 Tiere)

Der Tracer wurde nach 12-stündiger Fixierung des Tieres in PFA appliziert (Prozedere s.o.). Anschließend wurde das Präparat für 1, 2 bzw. 3 Tage in 45°C warmer 4%-iger Paraformaldehyd-Phosphatpuffer Lsg. gelegt und danach, wie im Abschnitt „Texas-Rot“ beschrieben, in Eigelb eingebettet und aufgeschitten (Verfahren nach Godement 1987). Der Farbstoff wurde unter dem Mikroskop mit einer Wellenlänge von 546nm angeregt und im Bereich von 590nm betrachtet.

Rasterelektronenmikroskopie (2 Tiere)

Für dieses Verfahren wurden zwei verschiedene Fixierungs-Methoden verwendet, die nachfolgend dargestellt werden.

- Fixierung des Gewebes durch PELDRI[®]-Trocknung:

Das anästhetisierte Tier wird für 60 Minuten in 2,5% Glutaraldehyd/Phosphatpuffer fixiert und anschließend entwässert. Danach bleibt das Präparat für eine Stunde in einer 1:1-Mischung aus Xylol und PELDRI[®] (Fa. Merck) und darauf eine weitere Stunde in reiner PELDRI[®]-Lösung. Die Probe wird dann auf -20°C abgekühlt und nachdem die gesamte Lösung gefroren war, bei -25°C in ein Vakuum überführt, wo das PELDRI[®] sublimierte. Die vollständige Sublimierung dauerte mehrere Stunden.

- Fixierung des Gewebes durch Schock-Kühlung:

Das anästhetisierte, unbehandelte Tier wurde für 4 Stunden in flüssigen Stickstoff getaucht. Anschließend blieb das Präparat für 3 Wochen in einem Trockenvakuum (25°C).

In beiden Fällen wurden unter einem Binokular mit einer Rasierklinge transversale Scheiben angefertigt und auf einen Aluminium-Zylinder geheftet. Die Präparate wurden durch ein

elektrostatisches Verfahren („Spluttern“) mit einer dünnen Gold-Schicht überzogen und anschließend im RE-Mikroskop (Hitachi S-4500) betrachtet. Die Aufnahmen entstanden bei einer Spannung von 3-5 kV, zur Vergrößerung siehe den Maßstab an den jeweiligen Abbildungen.

2.4. grafische Rekonstruktion und statistische Auswertung

Das rostrale ZNS von *B. lanceolatum* und seine angrenzenden Strukturen wurden in der Sagittal-Ebene grafisch dargestellt. Die Grafiken (Abb. 17) basieren auf den oben aufgeführten Serien transversaler und sagittaler Paraffin-Schnitte, die mit Cresylviolett bzw. nach Palmgren gefärbt waren. Es wurden die in der Medianebene gelegenen Strukturen eingezeichnet, sowie die paramedian liegenden Entitäten auf die Medianebene projiziert. Neben inneren Landmarken, wie z.B. dem zentralnervöse Lumen oder der Position der ersten Rohde-Zelle (Abb. 17A), wurden auch Bezugspunkte in der Umgebung des ZNS (z.B. Myomere, Hatscheks Grube) in die Rekonstruktion mitaufgenommen. Um die Darstellung nicht mit zu vielen Informationen zu überfrachten, wurden die Ergebnisse auf zwei Grafiken (Abb. 17A und B) verteilt. Neurone, die zytologische und topografische Eigenschaften teilen, wurden dabei zu Gruppen zusammengefasst (Abb. 17B).

Jene Rekonstruktionen dienten ihrerseits für die Darstellung und statistische Auswertung der experimentellen Daten (Abb. 23) über die deszendierenden supraspinalen Projektionen, wobei mein besonderes Augenmerk auf die rostrokaudale Lage und die Dichteverteilung der Zellleiber mit deszendierenden Projektionen gerichtet war.

Die Daten aus den Tracing-Experimenten wurden auf zwei Arten normiert und auf die topografische Rekonstruktion projiziert. Von den besten experimentellen Serien (lückenlos, guter Kontrast zwischen den markierten Zellen und Hintergrund, n=10) wurden die Anzahl der gesamten Schnitte, der Schnitte zwischen Landmarken im Übergangsbereich (Grenze zwischen rostralem Vesikel und Übergangsbereich, rostrales Ende von Rohdes Kern und erster Rohde-Zelle) und der markierten Neurone pro Schnitt bestimmt. Bei den Paraffin-Serien erstreckte sich der Übergangsbereich über ungefähr 100 Schnitte, bei den Vibratom-Schnitten über 32-40 Schnitte. Pro Serie wurden zwischen 22 und 186 retrograd gefärbte Neurone im Übergangsbereich gefunden.

Um die bei den einzelnen Individuen erhobenen Daten direkt miteinander vergleichen zu können, mussten die Ergebnisse normiert werden. Mit einer ersten Normierung sollten das

Problem der unterschiedlichen Schnitt-Dicke, sowie der unterschiedlichen Größe der verwendeten Tiere beseitigt werden. Dafür wurde der Übergangsbereich in 32 imaginäre, gleich dicke, transversale Abschnitte unterteilt. Die Anzahl der Neurone aus den wirklichen Schnitten wurde auf die entsprechenden neuen Segmente übertragen, so dass auch unterschiedlich große Tiere direkt miteinander verglichen werden konnten.

Durch die unterschiedliche Farbe-Intensität der einzelnen Tracer, den unterschiedlichen Kontrast zwischen gefärbten und ungefärbten Zellen und möglicherweise der unterschiedlichen Größe der verwendeten Tiere, differierte die Anzahl der gefärbten Neurone im Übergangsbereich bei jedem Tier. Um diese zahlenmäßig unterschiedlichen Ergebnisse trotzdem einander gegenüberstellen zu können, wurde eine zweite Normierung durchgeführt: Die markierten Zellen in den 32 Abschnitten wurden nicht als absolute Zahlen dargestellt, sondern als prozentualer Anteil von allen gefärbten Zellen im Übergangsbereich der entsprechenden Serie.

Abb. 23 A zeigt die mittlere Dichte deszendierender Neurone in den jeweiligen Bereichen aus allen 10 Serien. Die schwarzen Linien zeigen den Dichte-Verlauf in zwei einzelnen Serien.

Die Werte der mittleren Dichte wurden auf statistische Signifikanz untersucht (Excel, Fa. Microsoft). Mittels eines zweiseitigen t-Tests (Kriterium $p < 0,05$) wurde der Anteil der markierten Neurone jedes Abschnitts gegen den mittleren Anteil der markierten Neurone aus allen Abschnitten (=100%) verglichen. Es sollte die Hypothese *widerlegt* werden, dass jeder Abschnitt den gleichen Anteil an markierten Neuronen von 3,125% ($100\% : 32 \text{ Abschnitte} = 3,125\% \text{ pro Abschnitt}$) enthält und so die Dichte dieser Neurone im Übergangsbereich gleichmäßig verteilt ist.

Die einzelnen Dichteverteilungen der 10 ausgewerteten Serien sind als Linien in Abb. 23 B zu sehen. Die durchgezogenen Linien stellen zwei besondere Fälle des Dichteverlaufs dar und werden im Ergebnis-Teil näher beschrieben.

3. Ergebnisse

3.1. Histologie und Zytoarchitektur

Aus den angefertigten Serien transversaler und sagittaler Schnitte durch das vordere ZNS wurde eine Rekonstruktion der dortigen zytologischen, histologischen und topografischen Gegebenheiten angefertigt (Abb. 17 A, B). Die zu Beginn angefertigten Sagittal-Schnitte gaben einen guten Überblick, zeigten aber in der histologischen Qualität sowie der nicht exakt einstellbaren Schnittführung Mängel, weswegen die hier vorgestellten Rekonstruktionen überwiegend auf transversalen Schnitten basieren.

Im Übergangsbereich konnte eine differenzierte Gliederung aufgedeckt und einzelne Neuronen-Gruppe abgegrenzt werden (Abb. 17 B). Diese Neuronen-Gruppen sind nicht völlig homogen und die in ihnen befindlichen Zellen sind auch nicht immer für ein bestimmtes Kerngebiet spezifisch. Oftmals ließ sich keine scharfe Grenze für ein Kerngebiet ziehen, jedoch werde ich weiter unten die Kriterien auflisten, die es erlauben, jene Zellgruppen reproduzierbar zu identifizieren.

Vor der ersten Rohde-Zelle können zwei große Bereiche abgegrenzt werden:

Ein kleines Bläschen schließt das vordere Ende des Neuralrohres ab („rostrales Bläschen“). Es steht in Verbindung mit der 1. und 2. Nervenwurzel und enthält rostral das pigmentierte Frontal-Organ und an seiner ventrokaudalen Grenze das Infundibular-Organ. Die Wände des Bläschens bestehen aus einer periluminalen Schicht kleiner, dicht gepackter und uniformer Zellen, welche den birnenförmigen Ventrikel umgeben (Abb. 18 A). Die periluminalen Neurone liegen hier in 3 bis 5 Schichten. Sie werden peripher von einer dünnen Schicht von Fasern umhüllt, die auch einige wenige migrierte Zellen enthält.

Die zweite, weit größere Region im vorderen ZNS, der Übergangsbereich, befindet sich zwischen dem rostralen Bläschen und der ersten Rohde-Zelle, die den Beginn des Rumpfteils markiert (Abb. 17 A). Zwei Zell-Klassen, ependymale Gliazellen und Neurone, können im Übergangsbereich an den Paraffin-Schnitten unterschieden werden. Die Zelleiber der ependymale Glia sind klein, ihre Kerne heterochromatisch. Die Zellen bilden einen einlagigen, jedoch lückenhaften Überzug, der den Zentralkanal über die ganze Länge des Übergangsbereichs und des Rumpfteils auskleidet. Sie können in der Cresylviolett-Färbung an ihren kleinen, dunklen Zellkernen von den Neuronen unterschieden werden (Abb. 18 und 19). Ihre radiär ausgerichteten Fortsätze zur ZNS-Kapsel können nur schwer und unvollständig erkannt werden. Die Neurone haben viel größere, blassere, euchromatische Kerne. Oft sind Vakuolen unterschiedlicher Größe in ihrem Zytoplasma zu finden (Abb. 18 D,

G und J). An manchen Stellen bilden Neurone von gleicher Größe und Gestalt Kerngebiete, die sich von umgebenden Zellgruppen abgrenzen lassen (Abb. 18 B, C, H und 19 A, B). Ferner existieren einzelne, identifizierbare Neurone, die aufgrund ihrer Größe, Form und Lage erkannt werden können (Abb. 18 F, G, I, J und 19 E).

Innerhalb des Übergangsbereichs wiederum können drei Abschnitte unterschieden werden: ihre Grenzen liegen zwischen dem 1. und 2. sowie zwischen dem 2. und 3. Myomer (Abb. 17 A). Diese Abschnitte sollen nachfolgend, von rostral nach kaudal, näher beschrieben werden.

Vorderer Abschnitt

In der Ebene des Infundibular-Organ und unmittelbar kaudal vom Eintritt des zweiten Nerven, neben der Spitze des 1. Myomers, ist ein markanter und relativ abrupter Wechsel in der inneren Erscheinung des ZNS zu beobachten. Dorsal taucht eine einschichtige Lage der großen Joseph-Zellen auf (Abb. 18 C). Sie sind zunächst recht spärlich, werden nach kaudal jedoch zahlreicher (Abb. 18 H, 19 B). Der Querschnitt des Neuralrohres vergrößert sich beständig. Die seitlichen Wände des Zentralkanals berühren sich in der Mitte und das schlitzartige Lumen ist fast vollständig von durchziehenden Zellfortsätzen der hier erstmals auftretenden transluminalen Zellen verschlossen (Abb. 18 F). Allerdings bleibt dorsal und ventral ein durchgängiges Lumen erhalten (ventrale und dorsale Rinne, Abb. 18 F). Das im Querschnitt kreisrunde Lumen der ventralen Rinne bildet einen durchgehenden, längsverlaufenden Kanal über die ganze Länge des ZNS und enthält Reissners Faden (Abb. 18 B). Die dorsale Rinne endet hingegen am kaudalen Ende von Myomer 1 (Abb. 17 A). Sie wird von ungleichmäßigen Fortsätzen ausgefüllt, die von sie flankierenden Zelleibern ausgehen (Abb. 18 D und E).

Drei Neuronen-Gruppen können im vorderen Abschnitt unterschieden werden (Abb. 18 B, C und 17 B): in dem den Zentralkanal umgebenden Grau (zentrales Grau), findet sich eine drei bis vier Schichten breite Ansammlung mittelgroßer Neurone (alp). Direkt neben dieser Ansammlung finden sich verstreut migrierte Zellen (alm) von der gleichen Größe. Ventrolateral des Zentralkanals liegt eine unpaare Gruppe kleiner Zellen, von denen viele in den Fasermantel abgewandert sind (avm). Weiter kaudal, in der Mitte des 1. Myomers, verschwindet die Ansammlung mittelgroßer Neurone (alp). Sie wird durch eine dünnere, lockerer gepackte, periluminal Zellplatte ersetzt, die nur aus ein bis zwei Schichten besteht. Die ventral-migrierte Zellgruppe (avm) endet kurz vor der Grenze zwischen Myomer 1 und 2, die lateral migrierten Zellen (alm) sind bis genau zu dieser Grenze zu finden.

Das zentrale Grau besteht im Wesentlichen aus kleinen, transluminalen Zellen, jedoch sind in seinen ventralen Anteilen einige, ein oder zwei auf jeder Seite, große periluminalen Zellen mit gegabelten Fortsätzen zu finden (Abb. 18 G). Die Zellen in den migrierten Zellgruppen (avm und alm), sowie die des verdickten periluminalen Graus (alp), konnten im versilberten Material nicht dargestellt werden.

Mittlerer Abschnitt

An der Grenze zwischen dem ersten und zweiten Myomer endet die dorsale Rinne. Die Joseph-Zellen, die davor nur eine dünne Schicht bildeten, werden zahlreicher und schließen den Zentralkanal nach dorsal ab (Abb. 18 H).

Die migrierten Neurone des vorderen Abschnitts fehlen hier, doch ventral und lateral von den Joseph-Zellen taucht eine andere Gruppe migrierter Neurone (pdm, Abb. 18 H, 19 B) auf. Sie liegt weiter dorsal als alm und besteht aus Zellen mit stärker gefärbten Kernen. Diese Zellen bilden eine Säule, die vom Übergangsbereich bis in den Rumpfteil hinein verfolgt werden kann. An der Mittellinie tritt am Boden des Zentralkanals eine V-förmige Gruppe kleiner, spindelförmiger Zellen (vsc, Abb. 18 I und J) auf. All diese Zellgruppen konnten bei den Versilberungen nicht gefärbt werden.

In den seitlichen Teilen des zentralen Graus nimmt die zahlenmäßige Dichte an Neuronen ab, ihre mittlere Größe jedoch zu. Zusätzlich zu den kleinen transluminalen Zellen kommen hier große transluminalen Zellen im zentralen Grau hinzu (Abb. 19 D). In verschiedenen Cresylviolett-Serien waren ungefähr 7 solcher Zellen pro Tier im Bereich des 2., 3. und 4. Myomers zu sehen. Die Lage der Zellen zeigt kein spezielles Muster und auch die Abstände sind nicht gleichmäßig; vorne treten sie in größeren Abständen zueinander auf als hinten. Die großen periluminalen Zellen, finden sich im ventralen Teil des periluminalen Graus (Abb. 18 G) nun häufiger. Ihre Anzahl nimmt insgesamt schwanzwärts zu, sie zeigen aber ebenfalls keine charakteristische segmentale Anordnung.

Hinterer Abschnitt

An der Grenze zwischen Myomer 2 und 3 wechselt das histologische Muster erneut: Die Zusammensetzung des zentralen Graus bleibt unverändert, jedoch fehlen die spindelförmigen Zellen (vsc) unter dem Zentralkanal. An ihrer Stelle liegt hier der markante Rohde-Kern (s.u.).

Innerhalb des hinteren Abschnitts treten an der Grenze zwischen Myomer 3 und 4 einige Veränderungen auf, die jedoch sehr fließend und undramatisch sind: Die Joseph-Zellen verschwinden allmählich und die Hesse-Organe tauchen an den Seiten des Rohde-Kerns

auf. Das rostralste der Hesse-Organen ist in seiner Lage recht variabel und kann nicht allgemeingültig festgelegt werden. Im dorsalen Teil des Zentralkanals tauchen kleine, blasenartige Hohlräume auf, die als Residuen der dorsalen Rinne gelten können. Im Gegensatz zum vorderen Abschnitt bilden diese Lumina keinen durchgehenden Hohlraum und beinhalten auch keine Fortsätze benachbarter Zellen. Das Perikaryon der ersten, großen Rohde-Zelle (Abb. 19 E) liegt immer an der Grenze zwischen dem 4. und 5. Myomer, kurz dahinter endet der Rohde-Kern und das gleichförmige Muster des Rumpfteils mit seinen wiederkehrenden Rohde-Zellen beginnt.

Der oben bereits kurz erwähnte Rohde-Kern (Abb. 18 K und L, 19 A, C und E) durchzieht den gesamten hinteren Abschnitt und erstreckt sich kaudal bis knapp hinter die erste Rohde-Zelle. Er besteht aus recht großen Zellen, von denen viele nach ventral migriert sind. Sie alle haben einen euchromatischen Kern, deutlich hervortretende Nucleoli und reichlich Nissl-Substanz in ihrem Zytoplasma. In der Versilberung erscheinen die Zellen a- oder unipolar, längere von ihnen ausgehende Fasern sind nicht sichtbar. In den Gomori-gefärbten Schnitten hebt sich der Rohde-Kern merklich von dem umliegenden Gewebe ab, seine Zellen waren aber dennoch nicht so intensiv gefärbt, als dass man sie eindeutig als "Gomori-positiv" bezeichnen könnte. Im Tracing (s.u.) färbten sich die Neurone dieses Kerngebiets niemals an. Die REM-Untersuchungen zeigen im Bereich des Rohde-Kerns traubenartige Strukturen (Abb. 21 B), die aus einer Vielzahl von kleinen, kugelförmigen Gebilden bestehen, die ihrerseits durch feinste, verästelte „Stielchen“ verbunden sind. Daneben waren strangartige Gebilde zu sehen (Abb. 21 A), die aus parallel angeordneten Fasern verschiedener Durchmesser bestanden; sie waren ebenfalls mit kleinen kugeligen Gebilden besetzt und schienen von kaudal und lateral einzustrahlen. Außerdem sah man mitunter birnenförmige Strukturen (Abb. 21 A), deren „Stiele“ in die oben beschriebenen Stränge einstrahlen. Bei sehr vielen „Strängen“ konnte man im REM-Bild erkennen, dass sie sich stark auffasern ehe sie mit den einzelnen Kügelchen enden. Auch die „Birnen“ waren z.T. mit kleinen Kügelchen besetzt. Die „Trauben“ haben einen Durchmesser von ca. 4-5µm (s.u.) und enthalten vielleicht in ihrem Inneren das Perikaryon eines Rohde-Kern Neurons. Bei den Birnen handelt es sich möglicherweise um den Zelleib einer Neuroglia-Zelle. Die „Stiele“ sind wahrscheinlich Fasern, die in einer Vielzahl von Endknöpfchen, den „Kügelchen“ enden. Die „Stränge“ könnten Fortsätze von Neuronen und Gliazellen enthalten. Ob Nervenfortsätze aus den Zellen des Rohde-Kerns hervorgehen, war nicht klar ersichtlich. Bei den in den Abbildungen angegebenen Durchmesser sollte beachtet werden, dass bei der verwendeten PELDRI®-Fixierung Zellbestandteile um ca. 50% schrumpfen können.

Im Bezug auf die allgemeine Topografie des Rohde-Kerns, wie sie sich bei allen meinen Schnittserien ergab, fiel auf, dass die rostro-kaudale Ausdehnung von Rohdes Kern mit der des hochprismatischen Epithels des Räderorgans und Hatscheks Grube am Munddach übereinstimmt (Abb. 19 C und 20). Gleichwohl war niemals ein direkter Kontakt zwischen Hatscheks Grube (also dem dorsalsten Teil des Räderorgans) und dem Boden des Neuralrohres sichtbar, wie ihn Gorbmann (1999) bei *B. floridae* fand. Jedoch war der ventrolaterale Rand des ZNS in dieser Höhe nach ventral, zu Hatscheks Grube hin, ausgezogen. Außerdem fiel auf, dass an der Stelle, an der sich ZNS und Hatscheks Grube am nächsten sind, die Basalmembran unter dem Epithel von Hatscheks Grube aufgelöst ist und ihre zum ZNS hin gelegenen Zellen sowohl morphologisch als auch in ihrem Färbeverhalten differierten (Abb. 20). Während das Epithel am Rand von Hatscheks Grube schmal und mehrreihig ist, sind die Zellen am Scheitel dieser Vorwölbung breiter, follikulärer, in der HE-Färbung deutlich blasser und lösen sich scheinbar aus dem übrigen Zellverband heraus. Desweiteren war zu bemerken, dass auch die ZNS-Kapsel an dieser Stelle dünner ist. Der Bereich zwischen ZNS und Hatscheks Grube ist mit auffällig locker gewobenen Kollagen-Fasern angefüllt.

Grenze zwischen Übergangsbereich und Rumpfteil

Die rostralste Rohde-Zelle findet sich an der Grenze zwischen dem 4. und 5. Myomer (am Austritt des linken 6. Nerven) und markiert die Grenze zwischen Übergangsbereich und Rumpfteil (Abb. 19 E). Etwas kaudal von ihr endet Rohdes Kern.

3.2. Deszendierend projizierende Neurone im rostralen ZNS

Generell stimmten die Ergebnisse aus den Tracing-Experimenten mit Biocytin, BDA und Texas-Rot widerspruchlos miteinander überein. Der Kontrast und die histologische Qualität waren mit Texas-Rot am besten, während bei BDA und Biocytin die Ergebnisse auswertbar, aber nur wenig ansehnlich waren. Ein Beispiel für die Ergebnisse beim BDA-Tracing sind in Abb. 22 G zu sehen. Das Muster der gefärbten Zellen zeigte sich bei allen Versuchen, unabhängig von der genauen Injektions-Stelle. Lediglich die Anzahl der Perikaryen und die Intensität ihrer Färbung nahm bei einer etwas rostraleren Injektion zu. Wegen der geringen Größe des ZNS wurde der Farbstoff im gesamten ZNS-Querschnitt appliziert und bezog das umgebende Gewebe mit ein. Die Nerven 1-6 waren jedoch in keinem Fall angefärbt.

Nach Einbringen des Tracers in das Rückenmark ließen sich insbesondere ventrolateral deutlich gefärbte Faserbündel erkennen. Gefärbte Zellkörper fanden sich lediglich im

seitlichen zentralen Grau des Übergangsbereichs, nicht jedoch im rostralen Vesikel (auch in den Fällen, bei denen in Höhe des 6. Myomer appliziert wurde), den migrierten Zellgruppen oder dem Rohde-Kern. Von den gefärbten Zellen ließen sich drei Arten unterscheiden: die Mehrheit der gefärbten Zellen gehörte zu den kleinen und großen transluminalen Zellen, die tendenziell eher mittig oder dorsal im zentralen Grau lagen (Abb. 22 A, B, D und E). In einigen Fällen waren Fortsätze sichtbar, die ins ventrolaterale Faserbündel einstrahlten. Seltener traten die großen ventralen Zellen auf, die keine transluminalen Fortsätze besitzen und stattdessen durch einen breiten Fortsatz direkten Kontakt mit dem Zentralkanal haben (Abb. 22 C). Sie zeigen einen seitlich ausgerichteten Fortsatz, der sich in einen dorsalen und einen ventralen Teil gabelt, letzterer strahlt in das ventrolaterale Bündel ein. Sie entsprechen den somatomotorischen Neuronen nach Bone. Die Rohde-Zellen waren ebenfalls gefärbt, in den meisten Fällen allerdings recht schwach, wohl weil durch ihre außergewöhnliche Größe eine verhältnismäßig große Menge Tracer nötig ist, um sie auszufüllen (Abb. 22 F).

In vielen Serien waren im mittleren Abschnitt, neben Myomer 2, weniger Zellen gefärbt als in den benachbarten Abschnitten. Die einzelnen Daten wurden zusammengelegt (s. "Material und Methoden") und grafisch aufbereitet. Die mittlere Dichte der retrograd gefüllten Neurone entlang der Längsachse zeigt ein deutliches, statistisch signifikantes Minimum in der Mitte von Myomer 2 (Abb. 23 A). Zwei typische (der zehn) einzelnen Dichte-Verteilungen, auf denen das Ergebnis basiert, sind in Abb. 23 B als durchgezogene Linien hervorgehoben. Zwei Arten von Verteilungen zeigten sich: im ersten, häufigeren Fall existierte vor und hinter dem 2. Myomer ein Maximum. Im zweiten Fall lag ein Maximum oder ein Plateau kaudal vom 2. Myomer, das nach rostral hin absank.

4. Diskussion

4.1. allgemeine Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigten im Übergangsbereich des ZNS von *B. lanceolatum* eine deutliche Differenzierung in 3 Abschnitte. Im vorderen und hinteren Abschnitt fanden sich Gruppen migrierter Neurone (adm und avm, sowie pdm), die bisher nicht beschrieben waren. Der Rohde-Kern im hinteren Abschnitt wurde zwar bereits im 19. Jhd. entdeckt (Rohde 1887, Franz 1923), seine rostro-kaudale Ausdehnung war jedoch bisher nicht bekannt. Auch geriet er in Vergessenheit und findet sich nicht in aktuellen Publikationen. Die Wiederentdeckung ist auch im Hinblick auf seine räumliche Nähe zu Hatscheks Grube bedeutungsvoll, da sie von einigen Autoren mit der Rathkeschen Tasche verglichen wird (s.o.) und ein Gegenstück im ZNS, das als putative Neurohypophyse gelten könnte, bisher fehlte.

Bei den Tracing-Experimenten zeigten sich im Übergangsbereich und kaudal davon, nicht jedoch im rostralen Vesikel, Neurone mit deszendierenden Fasern. Bei diesen Neuronen handelt es sich um trans- und perilumenale Zellen, die nicht eng gruppiert sind und Kernbereiche ausbilden, sondern verstreut liegen. Trotzdem ist ihre Verteilung entlang der Längsachse nicht gleichmäßig; sowohl die grafische Darstellung (Abb. 23), als auch die statistische Analyse zeigten, dass im mittleren Abschnitt des Übergangsbereichs die Dichte an Neuronen mit deszendierenden Fasern signifikant niedriger ist als in den benachbarten Abschnitten und damit ein spezifisches Verteilungs-Muster vorliegt (Ekhardt et al. 2003).

Ferner wurde ersichtlich, dass der überwiegende Teil der gefärbten, deszendierenden Fasern im ventrolateralen und lateralen Trakt lag. Nach Bone (1960) liegen an den gefärbten Stellen im lateralen Trakt Fasern der Rohde-Zellen, im ventrolateralen Trakt fänden sich zusätzlich "somatomotorische Bündel" aus den Motoneuronen, die in Verbindung zu den Muskelfortsätzen der Myomere stehen.

4.2. Übertragbarkeit larvaler Landmarken auf das erwachsene Tier

Will man die Position der larvalen Gen-Expressionsorte auf die adulte Morphe übertragen, ist man auf stabile, äußere Landmarken angewiesen, die während der Metamorphose ihre relative Position zum Neuralrohr möglichst nicht verändern. Die Somiten bei der Larve und die aus ihnen hervorgehenden Myomere beim adulten Tier sind dafür am besten geeignet, weil sie durch ihre Metamerie eine Art "Maßstab" darstellen, der ans Neuralrohr bzw. ZNS angelegt ist.

Beim Vergleich der larvalen Landmarke "Somit" mit der adulten Landmarke "Myomer" muss allerdings beachtet werden, dass die linke und rechte Reihe der larvalen Somiten einander relativ genau gegenüber liegen und die jeweiligen Paare auf gleicher Höhe sind, während die rechten Myomere des Adultus um ca. eine halbe Myomer-Länge nach hinten verschoben sind und dadurch die Paare nicht völlig symmetrisch zueinander stehen, sondern leicht versetzt sind. Auch die Nervenwurzeln sind dementsprechend asymmetrisch. Während die ersten drei Spinalnerven noch fast genau gegenüber liegen, wird die Asymmetrie nach kaudal hin immer deutlicher (Wicht und Lacalli 2004).

Zu dem Zeitpunkt, zu dem die Gen-Expressions-Studien durchgeführt wurden (zumeist ist es das Neurula-Stadium, in dem die regulatorischen Gene exprimiert werden) sind noch nicht alle Somiten ausgebildet, aus denen die späteren Myomer-Paare hervorgehen. Während der Entwicklung bilden sich am kaudalen Ende weitere Somiten und reihen sich hinter den vorhandenen ein (Conklin 1932).

Es ist jedoch anzunehmen, dass das Wachstum des ZNS mit dem der Somiten und späteren Myomere annähernd proportional einhergeht und sich das Neuralrohr gegenüber den Somiten bzw. Myomere nicht wesentlich verschiebt. Als Beleg hierfür können die Nerven dienen, von denen die vordersten 13 schon im frühen 6-10 Somiten-Stadium ausgebildet sind (Yasui et al. 1998) und die beim erwachsenen Tier im Bereich der Austrittsstelle immer noch rechtwinklig zur Längsachse stehen. Dies steht im Gegensatz zum Wachstumsmuster vieler Vertebraten - bei ihnen schließt das ZNS im Vergleich zum umliegenden Gewebe schon sehr früh sein Wachstum ab. Dadurch entsteht im kaudalen Ende des Durasacks eine große Zisterne, in der die Kauda equina liegt. Die Nervenwurzeln stehen zum Rückenmark also nicht im rechten Winkel, sondern in einem spitzen, nach kaudal offenen Winkel und verlassen dann, über einen zunehmend längeren Verlauf im Subarachnoidalraum, den Spinalkanal.

Eine solche Verschiebung ("Aszensus") des ZNS bzw. Rückenmarks in Relation zu den umliegenden Strukturen tritt also, wie der Abgang der peripheren Nerven aus dem ZNS belegt, bei Branchiostoma nicht auf. Man sollte daher die Grenzen, die am larvalen ZNS durch die Somiten bestimmt sind, auf die Myomergrenzen des Adultus übertragen können. Allerdings gilt es die asymmetrische „Staffelung“ (s.o.) der adulten Myomere zu beachten, die zu einer Unsicherheit von ca. einer halben Somiten- bzw. Myomer-Länge führen. Außerdem definieren die Grenzen der V-förmigen Myomere (Abb. 5 und 17) keine eindeutigen transversalen Ebenen. Um dennoch zu einer reproduzierbaren Beschreibung

der adulten Topographie zu gelangen, habe ich diejenigen Transversalebene, die durch die Spitze der jeweils linken (rostraleren) Myomerreihe definiert werden, als Grenzebenen verwendet.

4.3. larvale Derivate im adulten ZNS

Die absteigend projizierenden, ventral gelegenen periluminalen Neurone scheinen den somatomotorischen Neuronen von Bone (1960) zu entsprechen. Lacalli (1996) beschreibt bei Larven am hinteren Ende des ersten Myomers eine Gruppe vorwiegend periluminaler Neurone mit deszendierenden Projektionen (primäres Motozentrum, Abb. 15). Nach dieser Ansammlung soll sich eine kleinere Lücke befinden, hinter der erneut Neurone mit deszendierenden Projektionen liegen, die dann kaudalwärts in mehr oder minder gleichmäßigen Abständen zu finden sind.

Die Zellen des primären Motozentrums könnten aufgrund ihrer Lage, der Morphologie ihres Perikaryons und ihrer deszendierenden Fasern die larvalen Vorläufer einige der im Tracing gefundenen Neurone im vorderen Abschnitt des Übergangsbereichs sein. Die im larvalen ZNS gefundene Lücke hinter dem primären Motozentrum bliebe demnach auch beim erwachsenen Tier erhalten. Während bei der Larve die periluminalen Neurone die Mehrzahl der deszendierenden Verbindungen stellen, verschiebt sich das Verhältnis beim erwachsenen Tier sehr stark zugunsten der transluminalen Neurone.

Die transluminalen Neurone entwickeln sich tendenziell später als die periluminalen. Sie entstehen im dorsalen Teil des Neuralrohres und kommen auch dorsal von den somatomotorischen Neuronen zu liegen. Jedoch sind auch im primären Motozentrum einzelne transluminale Neurone beschrieben (Lacalli 1999). Die transluminalen Neurone im adulten Tier sind nicht von einheitlicher Gestalt. Es finden sich sowohl große, vakuolenhaltige Zellen, als auch Neurone mit einem sehr schmalen, fadenförmigem Perikaryon.

Die Befunde am rostralen Bläschen des erwachsenen Tieres decken sich mit den Beobachtungen bei der Larve: bei ihr wurden ebenfalls keine direkten, absteigenden Verbindungen, die vom rostralen Bläschen ausgehen, gefunden. Efferenzen aus dem Vesikel werden bei ihr zunächst auf Interneurone, etwa die Tektum-Zellen umgeschaltet, die dann Kontakt zu den deszendierenden Neurone des primären Motozentrums aufnehmen (Lacalli 1996).

Die larvalen Tektum-Zellen (Abb. 15) erstrecken sich im dorsalen Teil des ZNS, latero-kaudal vom Lamellar-Körper auf Höhe des 1. Somiten und zeichnen sich durch einen fehlenden Kontakt zum Zentralkanal aus (s. Abb. 15). Ihre Dendriten aszendieren in das rostrale Bläschen und zu einigen Zellen der de Quatrefageschen Körper. Die deszendierenden Fasern sollen nicht allzu lang sein und hauptsächlich mit den Neuronen des primären Motozentrums in Kontakt stehen. Beim erwachsenen Tier projiziert sich die Lage dieser Zellen auf den vorderen Abschnitt des Übergangsbereichs, in dem auch die vorderen migrierten Zellgruppen liegen. Über die Faserverbindungen dieser Zellgruppen können keine expliziten Aussagen, gemacht werden - jedenfalls fanden sich keine längeren deszendierende Projektionen. Aufgrund ihrer topografischen Lage wäre es möglich, dass beim erwachsenen Tier zumindest ein Teil der vorderen migrierten Zellen (alm) aus den larvalen Tektum-Zellen hervorgegangen ist.

Etwas rostral von den Tektum-Zellen, am vorderen Ende des Übergangsbereichs, liegt in der Larve der Lamellar-Körper (Abb. 15), der die dorsale Rinne des ZNS-Lumens ausfüllt (Lacalli 1996b). Beim erwachsenen Branchiostoma bleibt dieser Teil des Zentralkanals im Bereich des 1. Myomers offen, obliteriert aber kaudal davon weitgehend. Im Lumen des nicht obliterierten Teils des Zentralkanals waren unregelmäßige Zellfortsätze sichtbar, die von den angrenzenden Zellen zu stammen schienen. Diese Fortsätze könnten die Reste des embryonalen Lamellarkörpers sein, da die Positionen gut übereinstimmen.

4.4. Genetik und Morphologie

4.4.1. Wert von vergleichenden Genexpressions-Studien

Vergleiche der Gen-Expression haben den Vorteil, auch dann Übereinstimmungen und mögliche Homologien aufzuzeigen, wenn Form, Aufbau und Funktion der verglichenen Strukturen zunächst auf keine Gemeinsamkeit schließen lassen. Dies darf aber nicht dazu verführen, für Gebiete mit gleicher Gen-Expression a priori einen gleichen phylogenetischen Ursprung anzunehmen. Es ist nämlich auch denkbar, dass in der Stammesgeschichte Gene in einem Bereich „ab-“ und in einem anderen Bereich „angestellt“ werden und sich dadurch ihre Lage verändert. Dies könnte etwa dann geschehen, wenn die Gene selbst der Evolution unterworfen sind, und sich dadurch ihre Funktion ändert.

Die Expressions-Orte der wichtigsten hier interessierenden Gene sind in Abb. 16 grafisch dargestellt. Das Otx-Gen, das bei larvalen Branchiostoma im rostralen Vesikel und im

Neuralrohr gegenüber dem Somiten 1 exprimiert wird, findet sich bei Mäuse-Embryonen im Pros- und Mesencephalon. Hox1, das im Neuralrohr der Branchiostoma-Larven ab der Mitte von Somit 2 bis hinab zum 5. Somiten exprimiert wird, tritt bei Mäuse-Embryos im vierten Rhombomer des Rautenhirns auf.

Im embryonalen ZNS von Wirbeltieren zeigt die Expression von Hox 5 den Beginn des Rückenmarks an, die vordere Expressionsgrenze von Hox 4 liegt etwas rostral davon. Die vorderen Grenzen dieser Gene liegen bei Branchiostoma für Hox 4 auf Höhe des kaudalen Endes des 6. Somiten (Jackmann und Kimmel 2002), für Hox 5 ungefähr bei Somit 8 (Wada und Satoh 2001), also kaudal der später bei Myomer 4/5 befindlichen ersten Rohde-Zelle.

Die Gene Pax-2/5/8, die bei Mäuse-Embryonen an der späteren Grenze zwischen Mittel- und Rautenhirn, am Isthmus cerebri auftreten, werden bei der Branchiostoma-Larve auf Höhe des 5. Somiten exprimiert, also weit hinter der rostralen Expressionsgrenze des Hox 1 Gens. Die Krox-Gen-Expression, bei Wirbeltieren spezifisch für das 3. und 5. Rhombomer, zeigt sich bei Branchiostoma dagegen im rostralen Vesikel (Jackman und Kimmel 2002).

Die bisher gemachten Expressions-Studien sind also teils widersprüchlich und ihre Ergebnisse erlauben keine eindeutigen Schlüsse auf Homologien zwischen dem ZNS von Wirbeltieren und denen von Lanzettfischen. Sie können lediglich Hinweise geben - etwa darauf, dass ein putatives „Gehirn“ weiter nach kaudal reicht, als bis zur Grenze zwischen Vesikel und Übergangsbereich, sowie auf gravierende Änderungen im Muster der Genexpression, die dann aber histologisch überprüft werden müssen – wie in dieser Arbeit geschehen.

4.4.2. Übereinstimmungen zwischen larvalen Genexpressions-Mustern und adulter Zytoarchitektur

In der Larve wird das Otx-Gen in demjenigen Bereich des Neuralrohres exprimiert, der neben dem 1. Somiten liegt. Im adulten Tier befindet sich neben und vor dem ersten Myomer der rostrale Vesikel und der vordere Abschnitt des Übergangsbereichs. Die Expression von Hox1 zeigt sich in der Larve schwach ab der Höhe von Mitte Somit 2 und ist ab der Grenze 2./3. Somit deutlich und eindeutig (Wada et al. 1999, Wada und Satoh 2001, Jackmann und Kimmel 2002). An der Grenze zwischen 2. und 3. Myomer liegt beim Adulten die Grenze zwischen dem mittleren und hinteren Abschnitt. Der nicht-Otx/nicht-Hox1 Bereich der Larve

(auf Höhe der vorderen Hälfte des 2. Somiten) würde beim Adultus also in etwa im rostralen Teil des mittleren Abschnittes des Übergangsbereiches liegen (Abb. 16C).

Dieser Abschnitt weist gegenüber der Nachbarschaft eine deutliche Diskontinuität in der Zytoarchitektur auf. Sie äußert sich in der Abwesenheit von migrierten Zellen und in der signifikant geringeren Dichte an Neuronen mit deszendierenden Fasern. Weitere Details dieses mittleren Abschnitts wurden im Ergebnis-Teil bereits erwähnt. Dieser Befund lässt sich auf verschiedene Weise deuten:

Der besondere zytoarchitektonische Aufbau im mittleren Abschnitt könnte einerseits das adult-morphologische Korrelat des larvalen Gen-Expressionsmusters (nicht-Otx/nicht-Hox1 Bereich) sein. Andererseits ließe sich die geringere Dichte an deszendierenden Neuronen auch mit einer vermeintlichen Metamerie dieses Zelltyps erklären, die hinter dem rostralen Bläschen beginnt und in kaudaleren Bereichen von einer neu hinzukommenden, ähnlich aussehenden Neuronepopulation verdeckt wird. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre, dass eine metamere Gliederung der deszendierenden Neuronen vorliegt, bei der die Neuronen-Cluster an die Nervenaustrittsstellen der jeweiligen Seite gekoppelt sind. Da sich lediglich die Stämme der ersten 4 Nerven einigermaßen genau gegenüberstehen und dahinter jeder Nerv zwischen den gegenüberliegenden austritt, würden nur am 3. und 4. Nervenaustritt die Neuronencluster beider Seiten eine gemeinsame Gruppe bilden. Ab der 5. Nervenaustrittsstelle wären die Cluster entsprechend den Nervenaustrittsstellen „ihrer“ Seite versetzt und diese Neurone würden dadurch durchgehend und lückenlos auftreten, da stets der Cluster einer Seite direkt dem der anderen folgt. Die Segmentierung der deszendierenden Neurone mitsamt der dazwischenliegenden „Lücke“ könnte sich so nur am 3. und 4. Nerv manifestieren.

4.5. Homologien zwischen dem rostralen ZNS von *B. lanceolatum* und dem Gehirn von Kranioten

4.5.1. gängige Homologie-Vorschläge

Lacalli (1996b) sieht in dem rostralen Ende des Branchiostoma-ZNS ein mit dem von Kranioten vergleichbares Gehirn und führt zahlreiche Homologien an: der rostrale Vesikel entspricht für ihn, wie bei von Kupffer (1906), dem Arch- bzw. Prosencephalon. In ihm finden sich die rostralen Pigmentzellen als Entsprechung des Wirbeltier-Auges, die Infundibularzellen als Entsprechung des Subkommissuralorgans und die Lamellar-Zellen als Entsprechung der Epiphyse. Die Tektum-Zellen mit ihrer motorischen Umschaltfunktion

homologisiert er mit dem Mittelhirn, die Zellen des primären Motozentrums mit mesencephalen retikulospinalen Projektionssystemen der Kranioten.

Die Arbeiten Lacallis geben tiefe und detaillierte Einblicke in die Morphologie, Histologie und den topografischen Beziehungen des larvalen, rostralen Lanzettfisch-ZNS. Die erhobenen Daten ermöglichen differenzierte Vergleiche zwischen (prämetamorphotischen) Branchiostomae und gut untersuchten Verwandten, wie etwa den Kranioten.

Zwar legen manche Charakteristiken eine Gemeinsamkeit nahe, sie sind jedoch zu vage, als dass man *zwingend* von einem gemeinsamen phylogenetischen Ursprung ausgehen müsste. Schleimaale und Neunaugen, Kranioten mit der engsten Verwandtschaft zu den Akraniern (s. Abb. 1) besitzen bereits sehr differenzierte Gehirne, direkt vergleichbar mit denen anderer Wirbeltiere. Übergangsformen zwischen diesen beiden Taxa (d.h. Cephalochordaten und kieferlosen Chordaten), durch die sich eine stufenlose Entwicklung mit gleitenden Übergängen nachverfolgen ließe, fehlen. Der Sprung in der Morphologie und Ontogenese des rostralen ZNS von Akraniern und Kranioten ist zu groß und die Unterschiede zu gravierend, um *eindeutige* Homologien feststellen zu können.

So stimmen z.B. der Lamellarkörper und das Pinealorgan in ihrer dorsokaudalen Lage und der Fähigkeit zur Photorezeption überein, doch Melatonin und Serotonin, deren Präsenz für die Epiphyse der Kranioten typisch ist, sind nicht nachweisbar. Das Frontalorgan ist wie das Kranioten-Auge ein photorezeptives Organ am rostralen Ende des ZNS, dennoch lassen sich mindestens so viele Unterschiede wie Gemeinsamkeiten finden. So haben z.B. (Wicht und Lacalli 2005) die photorezeptiven Zellen des Frontalorgans, die den Zapfen und Stäbchen der Wirbeltieren entsprechen müssten, relativ lange Axone, die bis zu den „Tectum“-Zellen ziehen. Mit anderen Worten: der gesamte interneurale Apparat der Retina fehlt.

Die vorgestellten Homologie-Vorschläge sollen keinesfalls als unhaltbar dargestellt werden. Vielmehr soll die prinzipielle Schwierigkeit verdeutlicht werden, Lebewesen miteinander zu vergleichen, die seit Jahrmillionen eigene und voneinander unabhängige Entwicklungen vollziehen. Man kann daher Branchiostoma nicht als einen noch lebenden Ahnen von uns ansehen, sondern als einen Verwandten, der sich vom letzten gemeinsamen Vorfahren genauso weit wie wir entfernt haben könnte. Um etwas über die eigene Evolution zu erfahren, ist es somit wenig sinnvoll *direkte* Vergleiche anzustellen. Vielmehr sollte versucht werden, über eine Synopsis der bei den rezenten Vertretern der Chordaten zu findenden Merkmale Rückschlüsse auf die uns unbekanntem gemeinsamen Vorfahren zu ziehen.

4.5.2. Rohdes Kern und Hatscheks Grube

Die Zellen des Rohde-Kerns zeichnen sich vor allem durch die prominenten Nucleoli, den euchromatischen Kern und die zahlreichen Nissl-Schollen im Zytoplasma aus. Die trauben- und strangartigen Gebilde, die in den rasterelektronenmikroskopischen Bildern zu sehen waren, könnten mit Präsynapsen besetzte Axone sein, die in Rohdes Kern eindringen und die Somata der Neurone dicht gepackt umgeben. Die zytologischen Merkmale deuten auf eine starke Proteinsynthese hin und legen eine sekretorische Tätigkeit nahe. Verwunderlich ist dabei, dass diese Zellen keine besonders markanten Axone besitzen und lichtmikroskopisch keine Vakuolen im Zytoplasma erkennbar sind. Die Sekretion müsste sich auf die unmittelbare Umgebung beschränken (Parakrinie), könnte sich aber auch durch die ventrale Rinne des Zentralkanal, dem dieses Kerngebiet anliegt, ausbreiten. Wirkorte des Sekrets wären daher die zahlreichen neuronalen Fasern und Zelleiber in diesem Gebiet, sowie die am Zentralkanal angrenzenden Neurone. Ob die Sekrete auch auf das Epithel von Hatscheks Grube (s.u.) wirken, ist nicht sicher zu entscheiden.

Wie erwähnt, befindet sich der Rohde-Kern in Nachbarschaft zu Hatscheks Grube. Die rechte Unterkante des ZNS ist in ihrer Richtung ausgezogen und auch Rohdes Kern ist auf ihrer Seite etwas stärker ausgebildet. Ein direkter Kontakt zwischen Hatscheks Grube und dem ZNS, wie er bei *B. floridae* beobachtet wurde (Gorbmann 1999), war bei *B. lanceolatum* nicht zu erkennen. Faserverbindungen zwischen dem ZNS und dem Epithel von Hatscheks Grube konnten nicht nachgewiesen werden. Im Epithel von Hatscheks Grube und der näheren Umgebung konnten Tjoa und Welsch (1974) zahlreiche Zellen mit gut entwickeltem rauhem ER, Granula im Zytoplasma und kleinen, basal gelegenen Vesikeln erkennen. Die Basallamina in diesem Gebiet soll im Vergleich zur Nachbarschaft besonders locker und durchlässig sein. Diese elektronenmikroskopischen Erkenntnisse decken sich mit meinen eigenen Beobachtungen am HE-Präparat, an dem die Basallamina unter Hatscheks Grube fast aufgelöst erschien und sich auch die ZNS-Kapsel an der Stelle, an der die ventrolaterale Kante des ZNS gegen Hatscheks Grube hin vorragt, ausgedünnt zeigte. Der dazwischenliegende Bereich besteht aus lockerem Bindegewebe und wird durch die rechte Aorta gut durchblutet.

Einige Autoren (Tjoa und Welsch 1974, Nozaki und Gorbmann 1992) sehen daher in Hatscheks Grube das mögliche Homologon zur Rathkeschen Tasche, aus der sich bei Wirbeltieren die Adenohypophyse entwickelt. Zwar geht Hatscheks Grube aus dem Endoderm des Urdarms (z.B. Stach 2000) und nicht wie bei Säugetieren aus

Oberflächenektoderm hervor, jedoch soll das Gewebe der Adenohypophyse der Schleimaale ebenfalls vom Endoderm abstammen (Gorbman 1999). Wäre Hatscheks Grube tatsächlich mit der Adenohypophyse verwandt, könnte Rohdes Kern das neurale Gegenstück dazu, also das Äquivalent zur Neurohypophyse sein. Eine Neurohypophyse würde man jedoch in einem Bereich des ZNS von Branchiostoma erwarten, der eher dem Vorderhirn entspricht. Nach den bisherigen Daten liegt sie jedoch in einem Bereich, der sich noch am ehesten mit dem Rautenhirn der Wirbeltiere vergleichen ließe (s.u.). Im Hinblick auf das Genexpressions-Muster sollte eine Neurohypophyse im Otx-Bereich (Diencephalon) zu finden sein, Rohdes Kern aber liegt im Hox-Bereich. Auch ist nicht klar, ob Rohdes Kern und Hatscheks Grube in einer funktionellen Beziehung zueinander stehen.

4.5.3. Regionale Gliederung des ZNS, Grenze zwischen „Gehirn“ und „Rückenmark“

Die Unsicherheit bezüglich dieser Grenze drückt auch Meves (1973) aus, indem sie schreibt: „Die Grenze zwischen Gehirn und Rückenmark ist unscharf; sie wird im Allgemeinen in den Bereich zwischen den Josephschen Zellen und den Becheraugen (Hesse-Zellen) gelegt“. Zur rostralen Grenze des „Rückenmarks“ (d.h. des Hauptteils) wurde in dieser Arbeit die klassische Annahme zugrunde gelegt, wonach an der ersten Rohde-Zelle ein gleichförmiges wiederkehrendes Muster beginnt, das den gesamten dahinterliegenden Bereich kennzeichnet. Bone (1960) und Franz (1923, 1927) haben das ZNS von der ersten Rohde-Zelle bis zu seinem kaudalen Ende systematisch untersucht, wobei Bone einen Schwerpunkt auf die unterschiedlichen, dort vorkommenden Neuronen-Typen legte und sie zu katalogisieren versuchte. Franz legte einen größeren Wert auf die regional unterschiedliche Gliederung des ZNS und konnte so, wie in der Einleitung erwähnt, im Rumpfteil drei Abschnitte unterscheiden. Es ist aber durchaus möglich, dass sich die von ihm vorgenommene Dreigliederung des Rumpfteils weiter präzisieren lässt und dass das sich dem Übergangsbereich anschließende Gebiet zytoarchitektonisch weit differenzierter ist als aktuell bekannt. Eigene Untersuchungen am erwachsenen Branchiostoma-ZNS zeigten z.B. beim Tracing zwischen dem linken und rechten 6. Spinalnerven zwei paarige, in der weißen Substanz liegende Neurone mit deszendierenden Fasern, die rostral davon an keiner anderen Stelle angetroffen wurden. Dies schließt aber nicht aus, dass sie in kaudaleren Bereichen wiederkehren und womöglich einem bestimmten Muster folgen. Tatsächlich wird bei der Branchiostoma-Larve das Hox1-Gen, bei Vertebraten im Gewebe des 3. Rhombomers auftretend, bis zum 6. Myomer exprimiert. Hox6, das bei der Maus im neuralen

Gewebe des späteren Rückenmarks auftritt, findet sich im larvalen Lanzettfisch erst ab dem 8. Myomer.

Es ist daher spekulativ und willkürlich, die 1. Rohde-Zelle als Grenze zwischen einem „Gehirn“ und einem „Rückenmark“ anzunehmen. Diese Annahme hatte bei dieser Arbeit hauptsächlich praktische Gründe für die Auswertung der Ergebnisse und sollte nicht als absolut angesehen werden. Gleichwohl liegt an der ersten Rohde-Zelle eine Diskontinuität vor: neben dem Auftreten dieses Zell-Typs endet auf fast gleicher Höhe Rohdes Kern. Während der Metamorphose erscheinen die ersten Hesse-Organe direkt bei der vordersten Rohde-Zelle, erst später kommen die weiter rostral gelegenen hinzu. Am Übergang zwischen 4. und 5. Myomer existiert zweifellos ein Wechsel in der Zytoarchitektur und markiert damit *eine* Grenze, - auch wenn nicht ganz klar ist, welche...

4.5.4. Homologien im PNS

Topografische Vergleiche des peripheren NS zwischen Branchiostoma und Wirbeltieren bereiten prinzipielle Schwierigkeiten und erlauben es nicht, vom PNS Rückschlüsse auf die Gliederung des rostralen ZNS des Lanzettfisches zu ziehen.

So fehlen dem Vorderende von Branchiostoma viele Zielgebiete, durch die die sie innervierenden Nerven als bestimmte „Hirnnerven“ erkannt werden können. Es existiert keine Riechgrube (0, I), keine Augenmuskulatur oder ihre embryonalen Vorläufer, die präotischen Myotome (III, IV und VI), weder Kaumuskulatur (V), noch Muskulatur des zweiten und der folgenden Kiemenbögen (VII, IX, X), kein statisches oder akustisches Organ (VIII), keine Muskulatur am Kehlkopf und um den Vorderdarm (IX, X), sowie keine Zunge (XII).

Wenn bei Branchiostoma die späteren Bereiche der Otx-Expression dem Pros- und Mesencephalon entsprächen, müssten die ersten drei Nerven irgendwie den Riech-, und Augenmuskel (III, IV) -Nerven entsprechen. Die ersten beiden Nerven sind tatsächlich rein sensibel, werden von den primären Sinneszellen in der Haut, Ausläufern der de Quatrefaguesschen Körperchen und einigen Fortsätzen zentraler sensibler Neurone gebildet. Es bestünde daher durchaus Ähnlichkeit mit den Riechsinneszellen und den Zellen des N. terminalis (0). Der Sehnerv entfiel, weil sich das Homologon zum Auge im rostralen Bläschen, also im ZNS selbst, befindet. Die Hirnnerven III und IV aus dem Mesencephalon, die die Augenmuskulatur innervieren, können am Lanzettfisch nicht funktional zugeordnet werden, jedoch liegt der IV. Nerv in einem Bereich des ZNS von Branchiostoma, der

aufgrund der Genexpressions-Muster eher dem Rhombencephalon gleicht. Die Region der Membrana buccopharyngea wird bei Wirbeltieren vom V. Hirnnerv innerviert, das Velum des Branchiostoma jedoch, das die Grenze zwischen ektodermalem Stomadeum und endodermalem Pharynx markiert, vom VII. Nerv (Wicht und Lacali 2004).

Zwischen den Charakteristika der rostralen Lanzettfisch-Nerven und echten Hirnnerven scheint es keine sinnvollen Übereinstimmungen zu geben. Findet man in einzelnen Aspekten Gemeinsamkeiten, ist das endgültige Ergebnis dennoch oft skurril. So werden die Kiemenbogenderivate bei Vertebraten von den Nerven V, VII, IX, X, XI innerviert. Legt man dieses Kriterium an Branchiostoma an, wären die Nerven 7-28 als Hirnnerven anzusehen, da diese allesamt den Pharynx innervieren (s. Abb. 8).

Ein Hirnnerv definiert sich durch seinen Ursprung in einem bestimmten Hirnabschnitt und der topografischen Lage seiner Kerne einerseits, andererseits durch sein spezifisches Innervationsmuster. Da die Baupläne und Organausstattungen von Branchiostoma und den Vertebraten so sehr differieren, gibt es keinen überzeugenden Ansatz, die Nerven von Branchiostoma einzelnen Hirnnerven der Kranioten zuzuordnen, wobei der 1. und 2. Nerv (s.o.) eine Ausnahme sein mögen.

4.6. kladistischer Schluss

4.6.1. phylogenetische Anmerkungen

Alle Merkmale eines Lebewesens unterliegen der Evolution und sind damit Veränderungen und Anpassungen unterworfen. Ein Tier ist ein Mosaik aus Eigenschaften und Merkmalen, die separat der Evolution unterworfen sind. Gleichwohl ist der Anpassungsdruck nicht bei allen Spezies gleichgroß: Tiere, bei denen sich die Bedingungen ihres Lebensraums (Nahrungsangebot, Klima, Feinde) nur unwesentlich änderten, unterlagen keinem oder nur geringem Anpassungsdruck und veränderten sich daher kaum. Es kann aber leider nicht a priori entschieden werden, welche Merkmale ursprünglich (plesiomorph) und welche evolviert (apomorph) sind, da eine einfachere Organisation als Folge einer Anpassung auch aus einer komplizierteren entstehen kann. Es macht daher auch wenig Sinn, nach „lebenden Fossilien“ zu suchen und an ihnen Form und Funktion von Organen früherer Ahnen zu erforschen. Schließlich kann nicht davon ausgegangen werden, dass ein bestimmtes Tier, das einige ursprüngliche Merkmale behalten hat (z.B. segmentale Muskelgliederung) auch bei allen anderen Merkmalen seine Ursprünglichkeit bewahrt hat. Gerade diese Annahme aber wurde beim klassischen Ansatz in der Evolutionsforschung gemacht (Scala naturae-

Denken). Diese Grundannahme, es gäbe Arten, die sich als Ganzes (!) seit Jahrmillionen nicht verändert haben, ist zwar theoretisch denkbar, aber eher unwahrscheinlich, im höchsten Maße spekulativ und letztlich unwissenschaftlich, da nicht nachprüfbar (Ax 1984).

Fossile Funde können sichere Aussagen über Alter, Lebensraum und Körperbau eines gemeinsamen Verwandten machen. Vom Körper bleiben aber hauptsächlich der Bewegungsapparat und Teile der Eingeweide erhalten. Während z.B. bei fossilen Schädeltieren Ausgüsse des Cavum cerebri Hinweise auf die äußere Form des Gehirns geben können, ist dies bei fossilen Akraniern nicht möglich. Auch können mit diesem Ansatz keine Aussagen über den Feinbau, Zytoarchitektur, Hormone, Transmitter etc. gemacht werden.

Bei der Rekonstruktion des letzten gemeinsamen Vorfahren von Akraniern und Kranioten wurde in dieser Arbeit das kladistische Prinzip angewandt (Ax 1984). Dabei werden Merkmale von *rezenten* Lebewesen im Hinblick auf Morphologie, räumliche Lage, Funktion und Konstruktionsprinzip definiert und anschließend bei den zu untersuchenden Taxa geprüft, ob die definierten Merkmale auftreten oder nicht. Eine solche Gegenüberstellung findet sich in Kapitel 4.6.3.

Die grafische Darstellung von Verwandtschaftsverhältnissen erfolgt in einem Kladogramm (Abb. 24). Der zeitliche Verlauf ist vertikal von unten nach oben eingezeichnet. Verzweigungsstellen einzelner (Entwicklungs-)linien zeigen Zeitpunkte an, an denen sich eine Art aufspaltete. An diesem Scheidepunkt ist auch der letzte gemeinsame Vorfahre zu finden. Die Gruppen, die aus einer solchen Aufspaltung hervorgehen, werden als Schwesterngruppe bezeichnet. Die den Schwesterngruppen am engsten verwandte Gruppe wird Außengruppe bezeichnet.

Finden sich beim Vergleich der Schwesterngruppen weitgehende Übereinstimmungen in einem bestimmten Merkmal, kann man davon ausgehen, dass dieses bereits beim letzten gemeinsamen Vorfahren beider Taxa vorhanden war, und sei es auch in Form einer nur mäßig differenzierten Anlage. Es hat sich in den verglichenen Gruppen weitervererbt und ist (mit möglichen Modifikationen) in die Gegenwart getragen worden. Die bei beiden Schwesterngruppen gefundenen Merkmale sind damit homolog. Wenn die Ausprägung eines bestimmten Merkmals zwischen den Schwesterngruppen divergiert, kann nur über die Berücksichtigung der Ausprägung dieses Merkmals bei der Außengruppe (bei Akraniern und Kranioten wären dies die Tunikaten) entschieden werden, welche der beiden

Merkmalsausprägungen die ursprünglichere ist. Die verschiedenen Möglichkeiten, die sich aus einer solchen Herangehensweise ergeben sind in Abb. 25 dargestellt.

Es sollte stets bedacht werden, dass ähnliche Organe und Organisationen nicht zwangsläufig auf eine gemeinsame Anlage zurückgehen müssen. Ein ähnlicher Anpassungsdruck und ähnliche Umweltbedingungen können bei unterschiedlichen Spezies zur Entstehung ähnlicher Organe führen (z.B. „Augen“ bei Insekten und Wirbeltieren), ohne dass ihr letzter gemeinsamer Vorfahre ein solches Ur-Organ oder dessen Anlage besessen haben muss. Solche Parallelbildungen (Analogien) müssen streng von den Homologien abgegrenzt werden. Deshalb sollten nur jeweils möglichst eng miteinander verwandte Spezies verglichen werden (Schwestergruppe bzw. Außengruppe), weil mit der Nähe der Verwandtschaft auch die Zeit geringer ist, in der sie voneinander unabhängige Entwicklungen nehmen konnten. Das Risiko einer Analogie aufzusitzen, minimiert sich dadurch und die Wahrscheinlichkeit ein echtes gemeinsames Merkmal (Homologie) vorliegen zu haben, ist höher.

4.6.2. das ZNS von Tunikaten und Kranioten

Da, wie oben bereits ausgeführt, nur über den Vergleich von Schwestergruppen mit ihren Außengruppen Aussagen über den letzten gemeinsamen Vorfahren gemacht werden können, sollen kurz einige Charakteristiken des ZNS der Tunikaten (der Außengruppe) und der Kranioten, der Schwestergruppe der Akranier, vorgestellt werden.

Das Neuralrohr der Tunikaten entwickelt sich ontogenetisch in ähnlicher Weise wie bei Branchiostoma. Das zentralnervöse Lumen ist über einen Neuroporus anterior zunächst mit der Außenwelt verbunden. Die um den Zentralkanal liegenden Perikaryen werden nach der Metamorphose allerdings von den sich in der Mitte ausbildenden Faserbahnen an den Rand verlagert, wie es eigentlich bei Protostomiern üblich ist. Obwohl die Perikaryen damit in der äußeren Schicht des ZNS liegen, kann dennoch nicht von Migration gesprochen werden. Im Larvenstadium zeigt sich eine Dreigliederung des rostralen ZNS, das zunächst linear angeordnet ist, später jedoch zunehmend asymmetrisch wird (Abb. 26; Brien 1948 und Sorretino et al. 2000).

Das rostrale Ende schließt ein Bläschen („sensorisches Bläschen“) ab, an dessen rechter Seite sich ein Lichtsinnesorgan (Ocellus) befindet. Das sensorische Bläschen ist über einen dünnen Strang, die sog. Nackenregion, mit einer weiteren Auftreibung, dem Viszeralganglion

verbunden. Dieser gesamte vordere Bereich des ZNS liegt prechordal. Kaudal vom Viszeralganglion ist das ZNS beim adulten Tier nur rudimentär vorhanden und enthält keine nennenswerte Zahl an Neuronen. Bei den Larven jedoch besteht das kaudale ZNS aus einem kräftigen Faserstrang, der dorsal der Chorda liegt und dessen Axone die die Chorda flankierenden Myomere des Schwanzes innervieren. Der Zentralkanal ist hier obliteriert, im Bereich des sensorischen Bläschens, der Nackenregion und des Ganglions jedoch zu je einem Ventrikel erweitert. In der frühen Entwicklung löst sich vom sensorischen Bläschen neuroektodermales Material ab und bildet einen mit dem Pharynx verbundenen Gang (neuro-hypophysealer Gang), der bei manchen Spezies noch seine Verbindung mit dem Ventrikel des sensorischen Bläschens beibehält. Im weiteren Verlauf, in dem sich das eigentliche ZNS zurückbildet, bzw. stark hinter der Größenzunahme des übrigen Körpers zurückfällt, wächst das Gewebe dieses Ganges stark an und formt sich zum zerebralen Ganglion des Adultus, sowie zur Neural-Drüse aus. Insgesamt ähnelt also das ZNS der larvalen freischwimmenden Tunikaten dem der Akranier/ Chordaten mehr als das der sessilen Adulti. Es liegt also nahe zu vermuten (z.B. Nielson 1995), dass die Notoneuralia (Akranier und Kranioten) sich aus einem als Larve geschlechtsreif gewordenen Tunikaten entwickelt haben. Von daher wird das larvale ZNS der Manteltiere hier als Grundlage für den kladistischen Vergleich verwendet werden.

Die Kranioten sind eine große Tiergruppe mit mannigfachen Formen und Erscheinungen des ZNS. Ein allgemeingültiger „Bauplan“ des Kranioten-ZNS lässt sich daher kaum aufstellen, doch kommt das Gehirn der Neunaugen (Abb. 27) aus der Gruppe der Agnatha (Kieferlose) ihm wohl recht nahe (Wicht und Nieuwenhuys 1998). Es sei daher für die Illustration des Kranioten-Gehirns verwendet. Es findet sich eine Gliederung in Tel-, Di-, Mes- und Rhombencephalon, ein ausgeprägtes Cerebellum samt Metencephalon fehlte den ursprünglichen Kranioten. Eine Neurohypophyse ist jedoch genauso vorhanden wie eine klar erkennliche Epiphyse, Augen und Bulbi olfactorii. In der inneren Struktur finden sich typische Kerngebiete. Es bestehen klar identifizier- und vergleichbare Hirnnerven. Eine morphologische Grenze zum Rückenmark, deren genaue Lage allerdings zwischen den verschiedenen Kranioten-Gruppen schwankt, kann gezogen werden und auch andere Besonderheiten des Vertebraten-ZNS wie Spinalganglien und ventrale Nervenwurzeln sind vorhanden (Wicht und Nieuwenhuys 1998).

4.6.3. Das ursprüngliche Notoneuralier-ZNS

Die Merkmale von Branchiostoma im Vergleich zu seiner Schwestergruppe (Kranioten) sowie der Außengruppe (Tunikaten) wurden in Tabelle 1 gegenübergestellt und anschließend nach den kladistischen Prinzipien, wie sie in Kap. 4.6.1. erläutert und in Abb. 25 dargestellt wurden, analysiert. Die Literaturangaben bzgl. der im Folgenden besprochenen Merkmale finden sich ebenfalls in Tabelle 1. Auf dieser kladistischen Gegenüberstellung basierend, können über das ZNS des letzten gemeinsamen Vorfahren von Akraniern und Kranioten (und damit auch des vor ca. 700 Mio. Jahren lebenden Vorfahren des Menschen) vorbehaltlich der o.g. Unsicherheiten folgende Aussagen gemacht werden.

Die fossile Art besaß ein röhrenförmiges, polarisiertes ZNS dessen rostrales Ende über der Spitze der Chorda dorsalis hinausragte (prechordale Lage). Ein zentralnervöses Lumen durchzog das Neuralrohr in seiner gesamten Länge. Ontogenetisch war der Zentralkanal an seinem kaudalen Ende mit dem Urdarm verbunden und öffnete sich an seinem rostralen Pol über einen Neuroporus anterior nach außen. Er entstand nicht, wie bei den Wirbeltieren üblich, durch eine Einsenkung und -faltung des Oberflächenektoderms, sondern durch Epibolie, wie es beim rezenten Branchiostoma und bei den Tunikaten zu beobachten ist.

In der Ontogenese wurden keine Neuralleisten angelegt und es fehlten daher auch ihre Derivate wie z.B. Spinalganglien. Die sensiblen Afferenzen zum ZNS wurden nicht über bipolare oder pseudounipolare Neurone in peripher-sensiblen Ganglien vermittelt, sondern über primäre Sinneszellen und zentralständige sensible Neurone. Letztere wurden bei den Vertebraten nach und nach von den aus den Neuralleisten hervorgehenden sensiblen Neuronen in ihrer Funktion abgelöst, finden sich aber bei Wirbeltieren noch immer als Rohon-Beard-Zellen (beim Menschen als die Neurone des Ncl. mesencephalicus nervi trigemini). Es zeigte sich bereits eine räumliche Trennung zwischen den dorsal im ZNS gelegenen sensiblen und den ventral gelegenen motorischen Neuronen.

Die Muskulatur wurde auf zwei Arten innerviert: einerseits durch in der Peripherie endende Axone (wie die viszerale Muskulatur bei Branchiostoma) und andererseits durch direkten Kontakt der Muskelzellen an das ZNS innerviert (wie die Myomere beim Lanzettfisch und die Schwanzmuskulatur der Tunikatenlarven). Das Muster der „zentralen“ Innervation ist allerdings nur dann effektiv und mit der „peripheren“ Innervation gleichwertig, wenn der Hauptteil der Muskulatur in unmittelbarer Nähe zum ZNS liegt. Bei größeren Entfernungen zwischen ZNS und Muskulatur, ist das Muster der peripheren Innervation eindeutig überlegen: sie ermöglicht eine hohe Erregungsleitungsgeschwindigkeit und ist

ökonomischer, da ein Axon viele Muskelzellen zu versorgen vermag und nicht jede einzelne Muskelzelle einen eigenen Ausläufer zum ZNS entsenden braucht. Dies scheinen die wichtigsten Gründe zu sein, weshalb sich dieses Konstruktionsprinzip bei den größeren Kranioten durchgesetzt hat.

Perikaryen fanden sich fast in der gesamten rostro-kaudalen Ausdehnung des ZNS. Lediglich im kaudalen Bereich fand sich ein ZNS-Abschnitt, der nur aus Faserbündeln bestand und dem sich eine sekretorisch aktive Auftreibung anschloss. Er entspricht dem Verbindungstück zwischen Rumpfteil und kaudaler Ampulle bei Branchiostoma bzw. Rückenmark und Urophyse bei Knochenfischen.

Am rostralen Pol befand sich ein unpaares Bläschen, bei dem die sensiblen Afferenzen sehr ausgeprägt waren und aus dem nur kurze deszendierende Fasern hervorgingen. Diese endeten in einem etwas kaudal davon befindlichen Bereich, in dem sich ein (motorisches) Zellcluster befand, das unter ihrem Einfluss stand. Seine Neurone wiederum hatten lange, absteigende Fasern, die in Kontakt mit den Motoneuronen des Rumpfes/ Schwanzes standen. Dieses Muster ist sowohl bei den rezenten Tunikaten und Akraniern zu finden. Die meisten Kranioten (anders als die Säugetiere) besitzen ebenfalls keine langen, zum Rückenmark deszendierenden Projektionen aus ihrem Telencephalon, weshalb der v. Kupffersche Vergleich (v. Kupffer 1906) zwischen dem rostralen Bläschen bei Branchiostoma und dem Archencephalon durchaus naheliegend ist. Am Vorderende dieses Bläschens fand sich ein unpaares Lichtsinnesorgan, das möglicherweise der phylogenetische Vorläufer der paarigen Wirbeltier-Augen war. Zusätzlich lag dorsokaudal davon ein weiteres unpaares Lichtsinnesorgan, das der phylogenetische Vorläufer des Lamellarkörper bei Branchiostoma einerseits und der Epiphyse bei Vertebraten andererseits gewesen sein könnte.

Es existierten ferner Riesenzellen mit langen, die Längsachse durchziehenden Fortsätzen, wie sie heute noch als Rohde-Zellen bei Branchiostoma oder als Mauthner-Zellen und Müller-Zellen bei einigen Vertebraten zu finden sind. Sie scheinen eine wichtige integrative Funktion hinsichtlich einer „Gesamt-Synchronisation“ zu haben.

Die Perikaryen waren um den Zentralkanal gruppiert, gleichwohl bereits radiär angeordnete Glia existierte. Migrierte Neurone fanden sich etwas kaudal vom rostralen Pol. Photorezeptive Zellgruppen lagen sowohl am rostralen Ende des ZNS als auch etwas dorsokaudal davon. Ein spezialisierter Zellverband, der dem bei rezenten Vertebraten zu

findenden Subkommissuralorgan entsprach, produzierte einen im Zentralkanal liegenden Faden, der am kaudalen Ende phagozytiert wurde (Reißners Faden bei Kranioten).

Im rostralen Teil existierte eine enge topografische Beziehung zwischen dem Rachendach und dem ZNS. Eine Drüse aus endo-, ekto- oder neuroektodermalem Material stand einerseits in Kontakt mit dem Inhalt des Pharynx und andererseits dem rostralen ZNS.

Tab.1

Merkmal	Tunikaten	Akranier	Kranioten <small>Die folgenden Angaben sind, - sofern nicht andere Zitate angegeben sind-, sämtlich aus Nieuwenhuys et al. 1998.</small>
generelle Merkmale von ZNS und PNS			
Epibolische Neurulation	Ja [Brien 1948]	Ja [Stach 2000]	Nein (Invaginations- Neurulation)
Prechordale Lage des rostralen ZNS	Ja [Brien 1948]	Nein [Rohde 1887]	Ja
Perikaryen über der gesamten Länge des Neuralrohres	Nein [Sorrentino 2000]	Ja [Franz 1928]	Ja
Perikaryen überwiegend in periluminaler Lage	Ja (transient in der Ontogenese, im Adultus bildet sich unter Verlust des Ventrikels ein Kortex mit zentralem Neuropil) [Sorrentino 2000]	Ja [Bone 1960]	Ja (transient in der Ontogenese bei allen Arten, im Adultus von Art zu Art verschieden)
Verlust des Neuralrohres im Adultus, Konzentration der nervösen Massen in einigen wenigen Ganglien	Ja [Sorrentino 2000]	Nein [Franz 1928]	Nein
ZNS in verschiedene abgrenzbare Abschnitte gegliedert	Ja (transient, während Ontogenese) [Brien 1948]	Ja [Franz 1928]	Ja
Radiär angeordnete Glia	?	Ja [Bone 1960]	Ja (Radiärglia, bei Arten mit periventriculären Perikaryen zeitlebens, ansonsten transient)
Vorkommen transluminaler Zellen	Nein [Sorrentino 2000]	Ja [Bone 1960]	Nein
Vorkommen von Riesenzellen	Nein [Sorrentino 2000]	Ja (Rhode-Zellen) [Rohde 1887]	Ja (Mauthner-Zellen, Müller-Zellen bei Anamnioten)
Dorsal liegende sensible Neurone, ventral liegende Motoneurone	?	Ja [Bone 1960]	Ja
(transientes) Auftreten von Neuralleisten	Nein [Sorrentino 2000]	Nein [Stach 2000]	Ja
Typische, metamere periphere Nerven	Nein [Brien 1948]	Ja [Dogiel 1903]	Ja
gemischt sensomotorische (Hinter-)wurzeln der Nerven		Ja [Bone 1960]	Ja (bei Neunaugen)
sensorische Hinterwurzelganglien	Nein [Brien 1948]	Nein [Bone 1960]	Ja
Innervation von Muskulatur über periphere Nerven	Ja , teilweise (Muskeln der Schlundbögen) [Brien 1948]	Ja , teilweise (nur viszerale Muskulatur) [Dogiel 1903]	Ja , ausschließlich
Innervation von Muskulatur an der Oberfläche des ZNS	Ja , (Muskulatur des larvalen Schwanzes) [Brien 1948]	Ja , (Muskulatur der Myomere) [Flood 1966]	Nein

zentrale sensible Neurone	?	Ja (Retzius-Bipolare Zellen) [Retzius 1891]	Ja (transient in Ontogenese als Rohon-Beard-Zellen, permanent als Nucleus mesencephalicus nervi trigemini)
Gliederung des ZNS			
Rostraler und kaudaler Pol am ZNS unterscheidbar	Ja [Brien 1948]	Ja [Renner 1978]	Ja
Grenze zwischen "Hirn" und "Rückenmark" erkennbar	Ja (?) (Grenze zwischen Viszeralganglion und epichordales Rohr) [Brien 1948]	Nein [Edinger 1906]	Ja (aber Grenze von Art zu Art auf verschiedenen Höhen)
sekretorisch aktive Auftreibung am kaudalen Ende des ZNS	Nein [Brien 1948]	Ja (Ampulla caudalis) [Franz 1923]	Ja (Urophyse, bei Knochenfischen) [Hanser 2001]
Gliederung des rostralen Abschnittes des ZNS			
frühontogenetische rostro-kaudale Gliederung des rostralen Abschnittes des ZNS in Otx-/Pax 2-5-8-/Hox- Genexpressions-Domänen	Ja [Wada 2001]	Nein (Pax 2-5-8 Domäne fehlt) [Wada 2001]	Ja [Wada 2001]
Rostraler Abschnitt des ZNS auch morphologisch bzw. zytoarchitektonisch untergliedert	Ja (transient in rostrale Bläschen [Otx-Domäne], Nackenbereich [Pax 2-5-8-Domäne] und Viszeralganglion [Hox-Domäne] gegliedert) [Sorrentino 2000]	Ja (s. Ergebnis-Teil -- rostrales Bläschen und vorderer Übergangsbereich [Otx-Domäne], mittlerer Übergangsbereich [jedoch ohne Pax 2-5-8-Expression] und hinterer Übergangsbereich [Hox-Domäne])	Ja (transient in Pros- und Mesencephalonbläschen [Otx-Domäne], Isthmus [Pax 2-5-8-Domäne] und Rhombencephalon [Hox-Domäne] gegliedert) [Hanser 2001]
Merkmale innerhalb der verschiedenen Abschnitte des rostralen ZNS			
Endständiges <i>unpaares</i> Bläschen am rostralen Pol des ZNS	Ja (sensorisches Bläschen) [Sorrentino 2000]	Ja (rostraler Vesikel) [Rohde 1887]	Ja (transientes Prosencephalonbläschen) [Renner 1978]
Endständige <i>paarige</i> Bläschen am rostralen Pol des ZNS	Nein (im Alter zunehmende Asymmetrie aber keine Teilung des sensorischen Vesikels) [Sorrentino 2000]	Nein (rostraler Vesikel bleibt zeitlebens unpaar) [Rohde 1887]	Ja (symmetrisch paarige Hemisphären des Telencephalons)
überwiegend sensorische Afferenzen im rostralen Bläschen	Ja [Brien 1948]	Ja [Franz 1923]	Ja
(unpaares) zilientrages Lichtsinnesorgan am Vorderpol des rostralen Bläschens	Ja (Ocellus) [Sorrentino 2000]	Ja (Frontalorgan) [Meves 1973, Lacalli 1996a]	Ja (transient unpaare Anlage der Seitenaugen [Augenfeld] am Vorderpol der Medullarplatte -- Zyklopie als Missbildung)
Neurone mit langen, zum kaudalen ZNS deszendierenden Projektionen im rostralen Bläschen	?	Nein	Nein (Ausnahme: kortikospinale Trakte der Säugetiere) [Wicht und Nieuwenhuys 1998]
(Reissners) Faden bildende Zellgruppe in der Otx-Domäne	Nein [Sorrentino 2000]	Ja (Infundibular-Zellen) [Franz 1923]	Ja (Subkommissuralorgan) [Wicht und Nieuwenhuys 1998]
(unpaares) zilientrages Lichtsinnesorgan dorsal in der Otx-Domäne	Nein [Sorrentino 2000]	Ja (transient als Lamellarkörper) [Lacalli 1994]	Ja (Epiphyse)
"tektale" Zellgruppe (Afferenzen aus rostralem Lichtsinnesorgan Neuronen und Efferenzen zu Motoneuronen) dorsal in der Otx-Domäne	?	Ja (transient, larvale Tektum-Zellen.) [Lacalli 1996]	Ja (Tectum opticum bzw. Colliculus superior)

Migrierte Neurone in den kaudalen Abschnitten der Otx-Domäne	Nein (randständig aber nicht migriert) [Brien 1948]	Ja (s. Ergebnis-Teil)	Ja (wenn auch bei manchen Arten mit periventriculärem Grau nur in geringer Zahl, s.o.)
Neurone mit langen deszendierenden Projektionen in den kaudalen Abschnitten der Otx-Domäne	?	Ja (s. Ergebnis-Teil)	Ja (hypothalamo- und tegmentospinale Bahnen) [Wicht und Nieuwenhuys 1998]
Neurone mit langen deszendierenden Projektionen in der Hox-Domäne	Ja (Zellen des Viszeralganglions) [Brien 1948]	Ja (s. Ergebnisteil)	Ja (retikulo- und vestibulospinale Bahnen) [Wicht und Nieuwenhuys 1998]
Enge topografische Beziehung zwischen Munddach und rostralem ZNS	Ja (Nervendrüse über Schlund) [Sorrentino 2000]	Ja (Rathkes Tasche/ Rohdes Kern -- allerdings in Hox -Domäne am Boden des kaudalen Übergangsbereiches) [Gorbmann 1999]	Ja (Adeno-/ Neurohypophyse, allerdings in Otx-Domäne am Boden des Diencephalon)
Adenohypophyse/ Hatscheks Grube endodermalen Ursprunges	Nein (Abschnürung aus ZNS) [Sorrentino 2000]	Ja [Stach 2000]	Ja & Nein (nur bei Schleimaalen, sonst ektodermal) [Gorbman und Tamarin 1985]
(rhabdomerische) intramedulläre Photorezeptoren in Hox- und Otx-Domänen	Nein [Sorrentino 2000]	Ja (Hesse-Zellen, Joseph-Zellen) [Wicht und Lacalli 2004]	Nein

Unsere Vorfahren besaßen schon früh ein longitudinal ausgerichtetes ZNS mit einem Zentralkanal. Die komplexe Architektur der Hirnhäute und Subarachnoidalräume kam anscheinend erst viel später hinzu, womöglich erst beim Übergang zum Landleben, vielleicht des großen Gewichtes des Hirnes wegen, da der Liquor cerebrospinalis mit seiner ähnlichen Dichte ein „Schweben“ ermöglicht und Druckschäden vermeiden hilft. Die Vaskularisation des neuralen Gewebes ist eine "Erfindung" der Kranioten: während seine Nutrition zunächst durch Diffusion gesichert werden kann, ist ab einer gewissen Größe eine eigene Blutversorgung notwendig. Wie weiter oben bereits erwähnt, lag die neuromuskuläre Synapse ursprünglich an der Oberfläche des ZNS. Muskelfaserbündel endeten dort und wurden dort neural erregt. Durch die Größenzunahme des Körpers mit weit in der Peripherie liegenden Muskeln bedeutete die Ausbildung von peripheren Nerven mit ihrer höheren Erregungs-Leitgeschwindigkeit einen deutlichen Vorteil. Die Unterscheidbarkeit von anaeroben, schnellzuckenden und aeroben langsamzuckenden Muskeln bestand schon früh, hatte allerdings vielleicht weniger mit spezifischen Aufgaben, als vielmehr mit der schlechteren Sauerstoffversorgung im Inneren der (bei Branchiostoma nicht vaskularisierten) Myomere zu tun.

Der rostrale Teil des ZNS hatte schon eine prechordale Lage, die komplett epichordale Lage bei Branchiostoma scheint eine Apomorphie zu sein. Das rostrale Ende des ZNS hatte zunächst eine rein sensorische Funktion. Dort befanden sich primäre Sinneszellen, sowie

Neurone, die mit sensiblen Afferenzen im Zusammenhang standen. Motorische Neurone, auch solche mit deszendierenden Fasern, lagen weiter kaudal. Sie bildeten zwar keine deutlich abgegrenzten Kerngruppen, wohl aber einzelne Cluster. Am „sensorischen Ende“ scheinen sich nach und nach Kerngruppen auszubilden, die die sensiblen Einflüsse mit der Motorik verschränken und einen weitreichenden Einfluss auf das gesamte ZNS haben.

In dieser Arbeit wurde versucht, anhand von klassischer Histologie, Tracing, REM-Mikroskopie, statistischer Aufbereitung und vergleichender Morphologie auf kladistischem Weg Aussagen über die Evolution des menschlichen ZNS (oder allgemein der Vertebraten) zu machen. Bereits bekannte Ergebnisse über das ZNS des Lanzettfisches konnten präzisiert und in einen Gesamt-Kontext eingebettet werden (z.B. topografische Lage der Neurone im rostralen ZNS), andere Resultate geben Ansatzpunkte für weitergehende Forschung (z.B. die Bedeutung von Rohdes Kern und die Frage nach den dort verwendeten Neurotransmittern). Es mag zunächst bestimmt verwunderlich erschienen sein, dass die Erforschung dieses im Meeresboden lebenden „Wurms“ dazu verhelfen kann, unsere Gestalt und ihre Entwicklung besser zu verstehen. Es sollte jedoch deutlich geworden sein, dass eine erschöpfende Rekonstruktion unseres Evolutionsweges weder aus der theoretischen Betrachtung unserer aktuellen Gestalt noch allein durch den Rückgriff auf fossile Funde möglich ist.

Ich hoffe, diese Arbeit hat einen Beitrag dazu geliefert, die Sicht auf unseren phylogenetischen Werdegang weiter aufzuklären .

5. Abbildungen

Zu Abb. 1

Dieser Stammbaum soll die phylogenetischen Verwandtschaften innerhalb der Deuterostomier veranschaulichen und einen Überblick über die gebräuchlichen taxonomischen Termini geben. Es sind sowohl die gemeinsamen Entwicklungslinien der verschiedenen Tiergruppen, als auch die jeweiligen Schwestergruppen ersichtlich. Die Pfeile markieren Stammlinien mit charakteristischen Neubildungen.

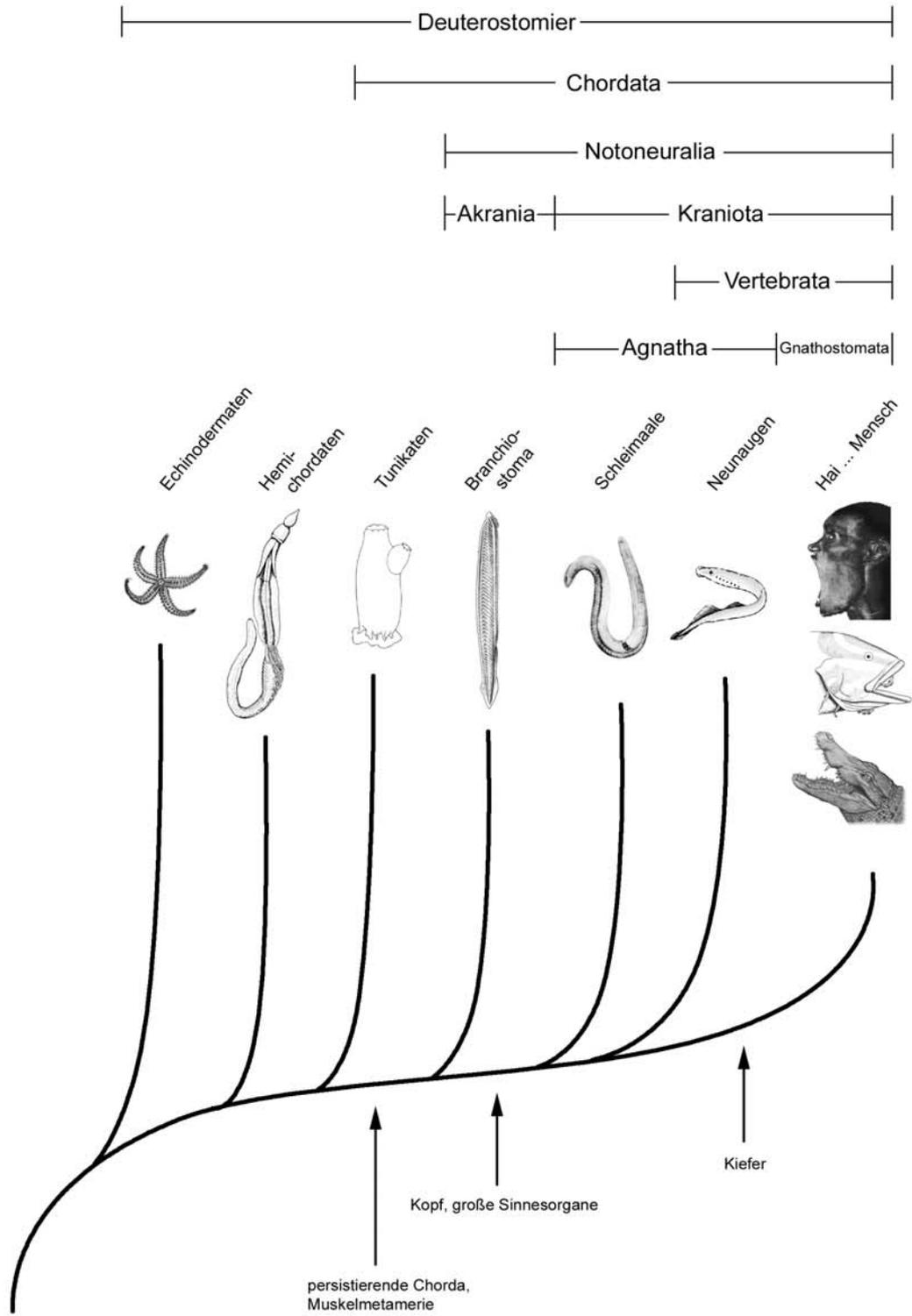


Abb.1

Zu Abb. 2

Vergleichende Zoologie und Forschung an Lanzettfischen haben in der Dr. Senckenbergischen Anatomie Tradition, wie dieses Glasnegativ aus den 40-Jahren beweist.

Die aus der Sammlung stammende Fotografie dokumentiert, dass *Branchiostoma lanceolatum* in den letzten 60 Jahren keinem besonderen Anpassungsdruck ausgesetzt war und seine Morphologie im Vergleich zu den heutigen, lebenden Vertretern keine ersichtlichen Veränderungen zeigt.

Zu Abb. 3

Das ausbelichtete Negativ aus Abb. 2. Die namensgebende lanzettförmige Silhouette wird am rostralen Ende von der als zartem Saum erkenntlichen Kopfflosse gebildet, die sich dorsal in die Rückenflosse und anschließend in die Schwanzflosse fortsetzt. Die Rumpfmuskulatur imponiert als Block von V-förmigen, dicht aneinander gelagerten Myomeren. Den längsten Teil des Darmes stellt der Schlunddarm, dessen Wandung perforiert ist. Die schräggestellten pharyngealen Schlitze sind deutlich zu erkennen. Am Übergang zwischen Schlunddarm und verdauendem Darm ist der Wulst des Leberblindsacks erkennbar. Der Maßstab entspricht 1cm.

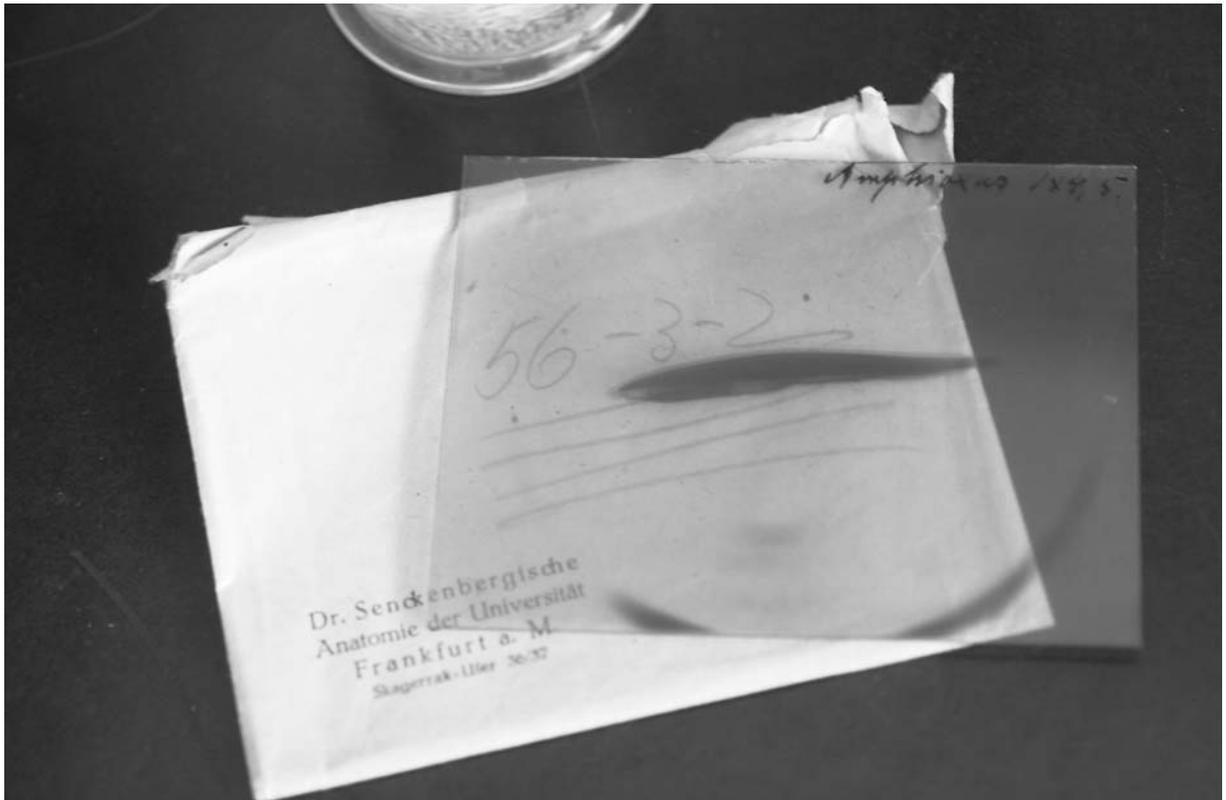


Abb. 2



Abb. 3

Zu Abb. 4

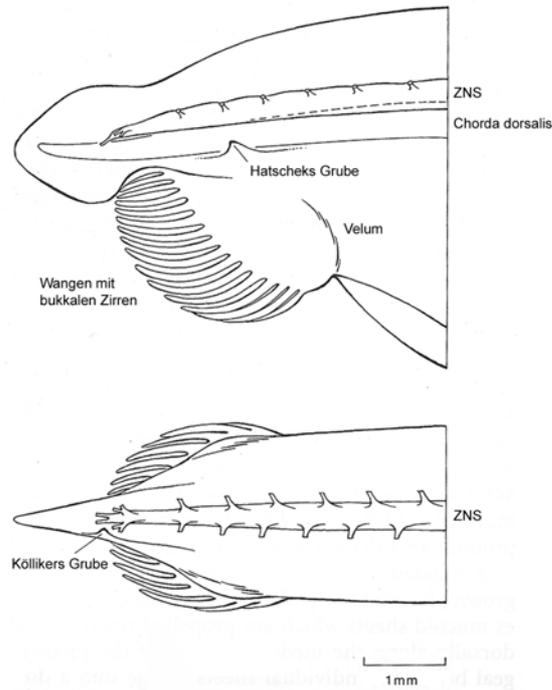
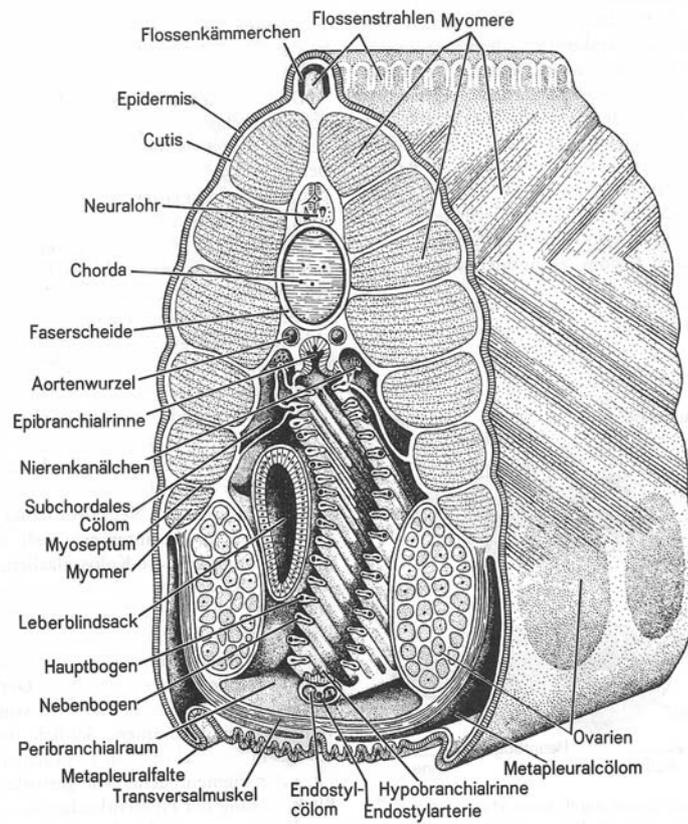
Seitliche Ansicht (oben) des rostralen Ende des Lanzettfisches mit der bis in die Kopfflosse hineinragenden Chorda und dem ihr dorsal aufsitzenden ZNS. Auf der linken Seite der Chorda befindet sich die endodermale Ausstülpung von Hatscheks Grube. Die mit Zirren auslaufenden Wangen umgeben die Mundhöhle. Die Lage von Köllikers Grube und die Asymmetrie der Nervenabgänge ist in der unteren Abbildung (Ansicht von dorsal) illustriert.

(aus Nieuwenhuys 1998, leicht modifiziert)

Zu Abb. 5

Die Zeichnung zeigt einen Querschnitt im Bereich des Schlunddarms von vorne. Es veranschaulicht die räumlichen Beziehungen zwischen inneren Organen, Bewegungsapparat und ZNS. Beschreibung im Text.

(Abbildung aus Kükenthal und Renner 1978)

**Abb. 4****Abb. 5**

Zu Abb. 6

Die Abbildung ist eine 3-dimensionale Rekonstruktion, die auf elektronenmikroskopischen Beobachtungen basiert. Sie zeigt die neuromuskuläre Kontaktzone an der ventrolateralen Oberfläche des ZNS. Im Gegensatz zu der von peripheren Nerven versorgten viszerale Muskulatur befinden sich die neuromuskulären Synapsen der somatischen, sowie der notochordalen Muskulatur (s. Abb. 7) an der Oberfläche des Neuralrohres. Die Axone zentralständiger, motorischer Neurone enden hier und innervieren die beiden o.g. Muskel-Typen. Hier die ist die neuromuskuläre Synapse der somatischen, die Myomere bildenden Muskulatur gezeigt. Die dorsale (langsamzuckende) und ventrale (schnellzuckende) Myomer-Muskulatur bildet Faserbündel aus, die seitlich an das ZNS docken und an der Oberfläche des ZNS neuromuskuläre Kontaktzonen ausbilden (aus Flood 1966).

Zu Abb. 7

Die neuromuskulären Kontaktzonen zwischen den Muskellamellen der Chorda dorsalis und dem ZNS liegen rechts und links paramedian an der Unterseite des Neuralrohres. Von der notochordalen Muskulatur gehen Muskel-"Hörner" ab, die zum Boden des ZNS ziehen. Zwischen Muskel-"Hörnern" und ZNS existiert ein Hohlraum, der wahrscheinlich als Verschiebeschicht dient (aus Flood 1970).

Abkürzungen:

- dmc - dorsale Müller-Zelle
- G - Gliazelle
- H - "Hörner"
- lmc - laterale Müller-Zelle
- N - Neuriten
- P - Fortsatz einer Muskelzelle

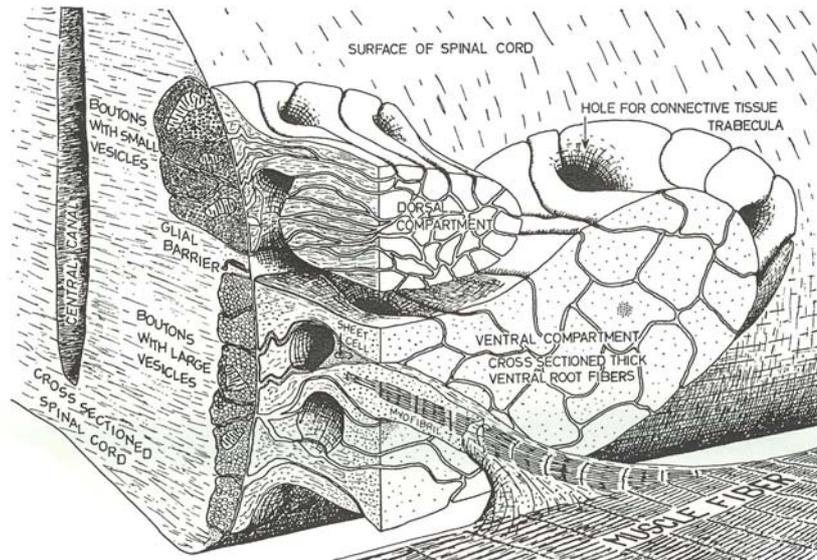


Abb. 6

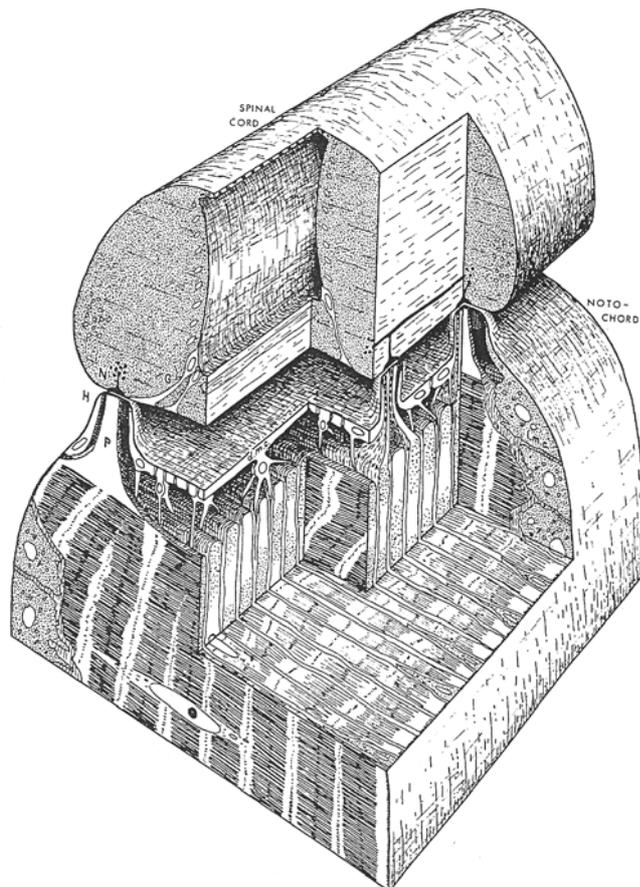


Abb. 7

Zu Abb. 8

Diese halbschematische Zeichnung von *B. lanceolatum* mit 63 Myomeren (m 1-63), zeigt den allgemeinen Aufbau des zentralen und peripheren Nervensystems in Verhältnis zu den umgebenden Strukturen. Die ersten vier und die letzten drei Myomere sind grau schattiert eingezeichnet, um die Beziehung in der Zählung von Myomere und Nerven zu veranschaulichen. Bereiche, die von viszeraler Muskulatur eingenommen werden, sind in einem etwas dunkleren Grau gehalten. Einzelne Abschnitte des Körpers wurden ausgespart, was durch die gezackten Linien angedeutet ist.

(aus Wicht und Lacalli 2005, leicht verändert).

Abkürzungen:

ansm	- Anus-Sphinkter
atsm	- Atrioporus-Sphinkter
chd	- Chorda dorsalis
elm	- äußerer Lippenmuskel
gon	- Gonaden
Ha	- Hatscheks Grube
ilm	- innerer Lippenmuskel
io	- Infundibular-Organ
Kö	- Köllikers Grube
m1-63	- Myomere
n1-65	- Nerven
nRo	- Rohdes Kern
oHe	- Hesse-Organ
pm	- Flügelmuskel (Transversal-Muskel)
tm	- Trapezius-Muskel
vsm	- Velum-Sphinkter
zJo	- Joseph-Zellen
zRo	- Rohde-Zellen

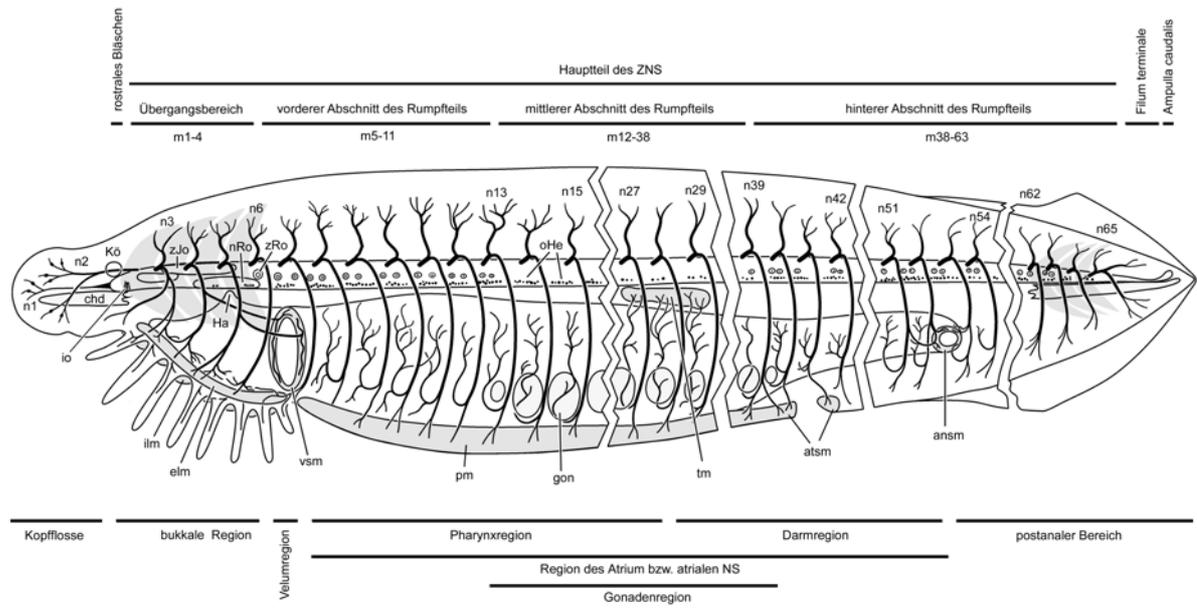


Abb. 8

Zu Abb. 9

Halbschematische Übersicht der zentralen und peripheren Neuronen-Typen, sowie der zentralnervösen Glia. Der Querschnitt durch das ZNS liegt zwischen der ersten und zweiten Rohde-Zelle. Eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Strukturen und Neuronentypen findet sich im Text (aus Wicht und Lacalli 2005).

Abkürzungen:

DR	- Dorsalwurzel-Zelle (dorsal root cell)
EC	- Edinger-Zellen
MC	- Mittkommissurale Zellen
Mg	- Müller-Glia
MRoax	- Axon der ersten Rohde-Zelle
ncmf	- notochordal-motorische Fasern
RB	- Retzius Bipolar-Zellen
rg	- Radiär-Glia
Sg	- Schneider-Glia
SM1	- Somatomotorische Zellen 1 (große ventrale Zellen)
smf	- somatomotorische Fasern
ssf	- somatosensorische Fasern
VM1	- viszeromotorische Zellen 1
VM2	- viszeromotorische Zellen 2
vsf	- viszerosensorische Fasern

Zu Abb. 10

Halbschematische Zeichnung eines Schnittes auf Höhe einer der vorderen Rohde-Zellen. Es sind die typischen Typen von Interneuronen abgebildet, auf welche im Text genauer eingegangen wird. (aus Wicht und Lacalli 2005)

Abkürzungen:

AC	- Anadon-Zelle
antRo	- vordere Rohde-Zelle
antRoax	- Axone der vorderen Rohde-Zellen
cJohn	- Johnston-Zelle
DC	- dorsale kommissurale Zelle
EC	- Edinger-Zelle
MC	- Mittkommissurale Zelle
mRoax	- Axon der ersten Rohde-Zelle
oHe	- Hesse-Organ
SD	- kleine Dorsal-Zelle

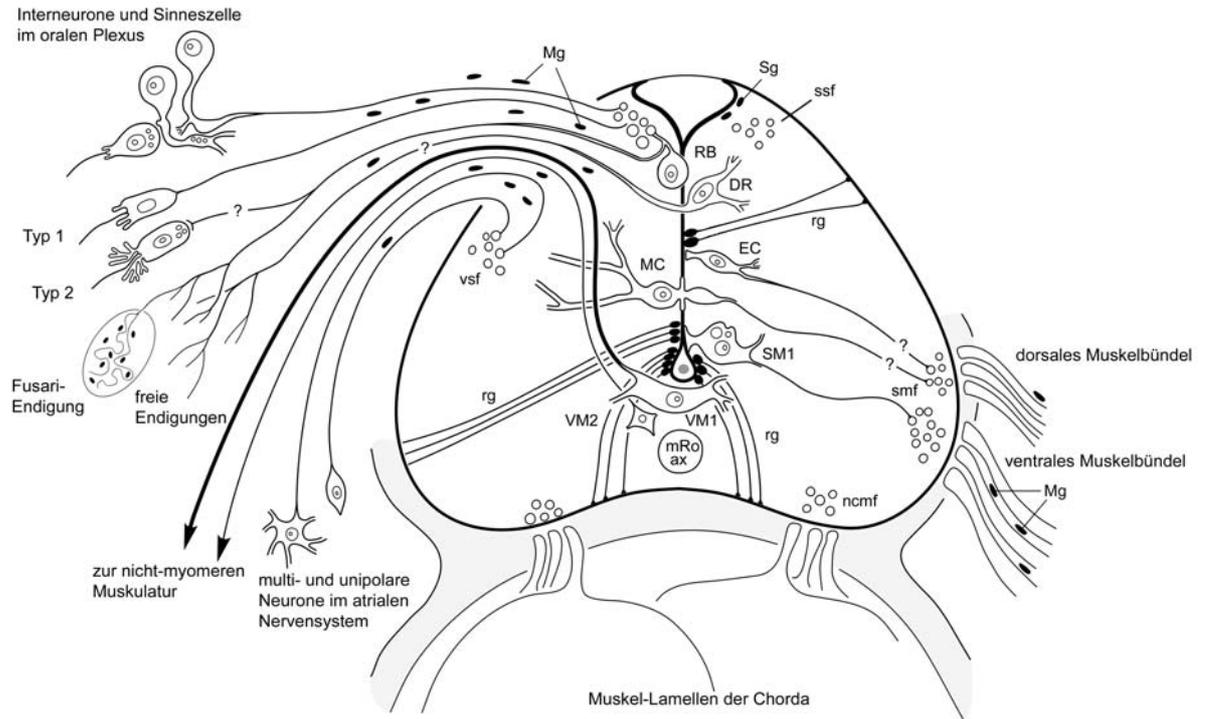


Abb. 9

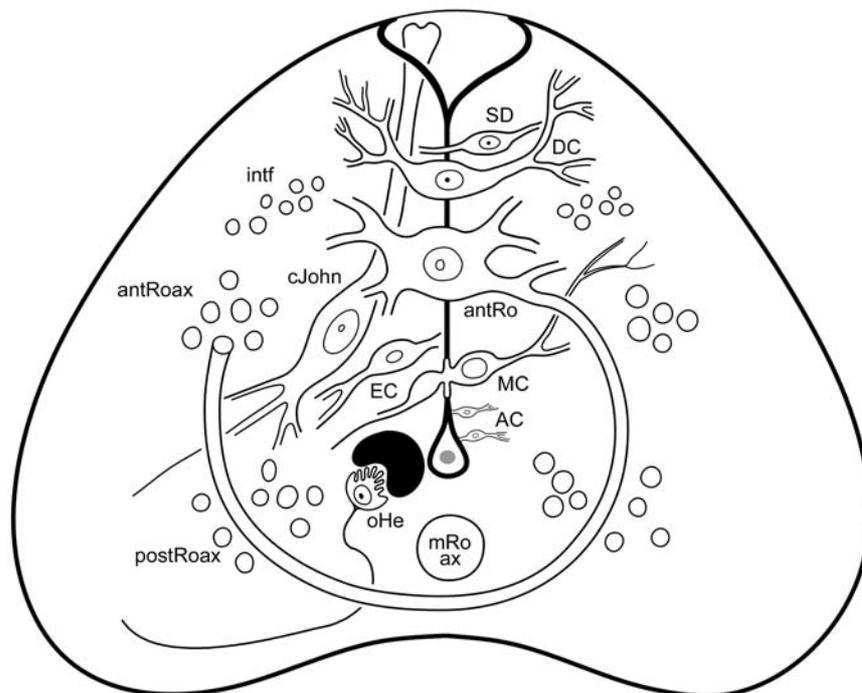


Abb. 10

Zu Abb. 11

Das Diagramm zeigt den zeitlichen Ablauf der ontogenetischen Entwicklungsstadien von Branchiostoma. Die Einträge in den Balken verweisen auf die folgenden Abbildungen, die die jeweiligen Entwicklungsphase darstellen.

(Diagramm nach Stach 2000)

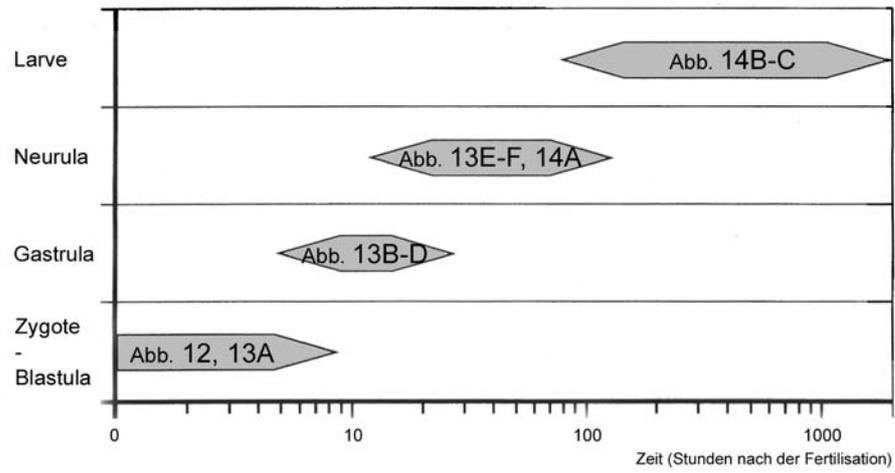
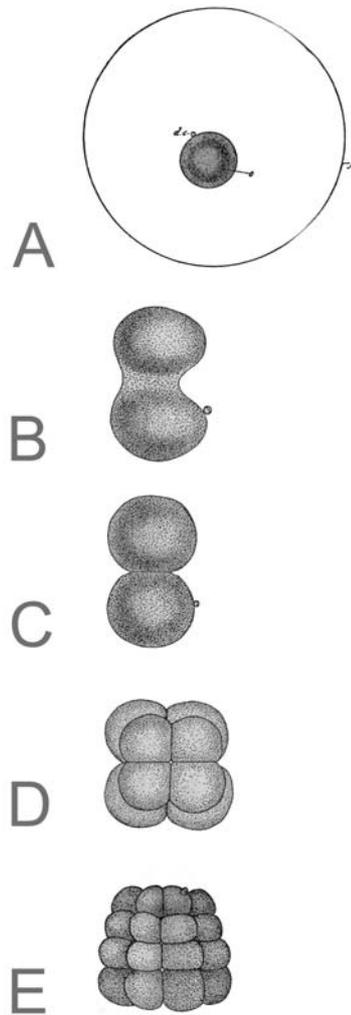
Zu Abb. 12

Hier sind die ersten Entwicklungsstadien von *B. lanceolatum* zu sehen: Von der Zygote (A) zur Morula (E). Diese Schritte werden in den ersten 7 Stunden p.c. durchlaufen.

(Zeichnungen aus Willey 1894).

Abkürzungen:

- d.c. - Polkörperchen
- f - Zona pellucida
- o - Zygote

**Abb. 11****Abb. 12**

Zu Abb. 13

Längs- (1. Spalte) sowie Querschnitte (2. und 3. Spalte in D-F). Die Blastula (A) faltet sich zum Keimbecher ein (B und C) und bildet die Gastrula (D). Der dabei entstehende Urmund ist durch eine Pfeilspitze gekennzeichnet. In der anschließenden, epibolischen, Neurulation (E-F) schiebt sich eine ektodermale Lippe über den Urmund und verlagert ihn nach dorsal und rostral (F, erste Spalte). Zusätzlich überwachsen ektodermale Wülste die Neuralplatte (mp, in den Querschnitten dunkel schraffiert) von den Seiten und verlagern sie in die Tiefe. Der Urdarm (arc) ist über den canalis neurentericus (p.n.c.) mit der Außenwelt verbunden.

(Zeichnungen aus Willey 1894)

Abkürzungen:

- arc - Urdarm (Archenteron)
- mp - Neural- (Medullar-) Platte
- pnc - Canalis (Porus) neurentericus

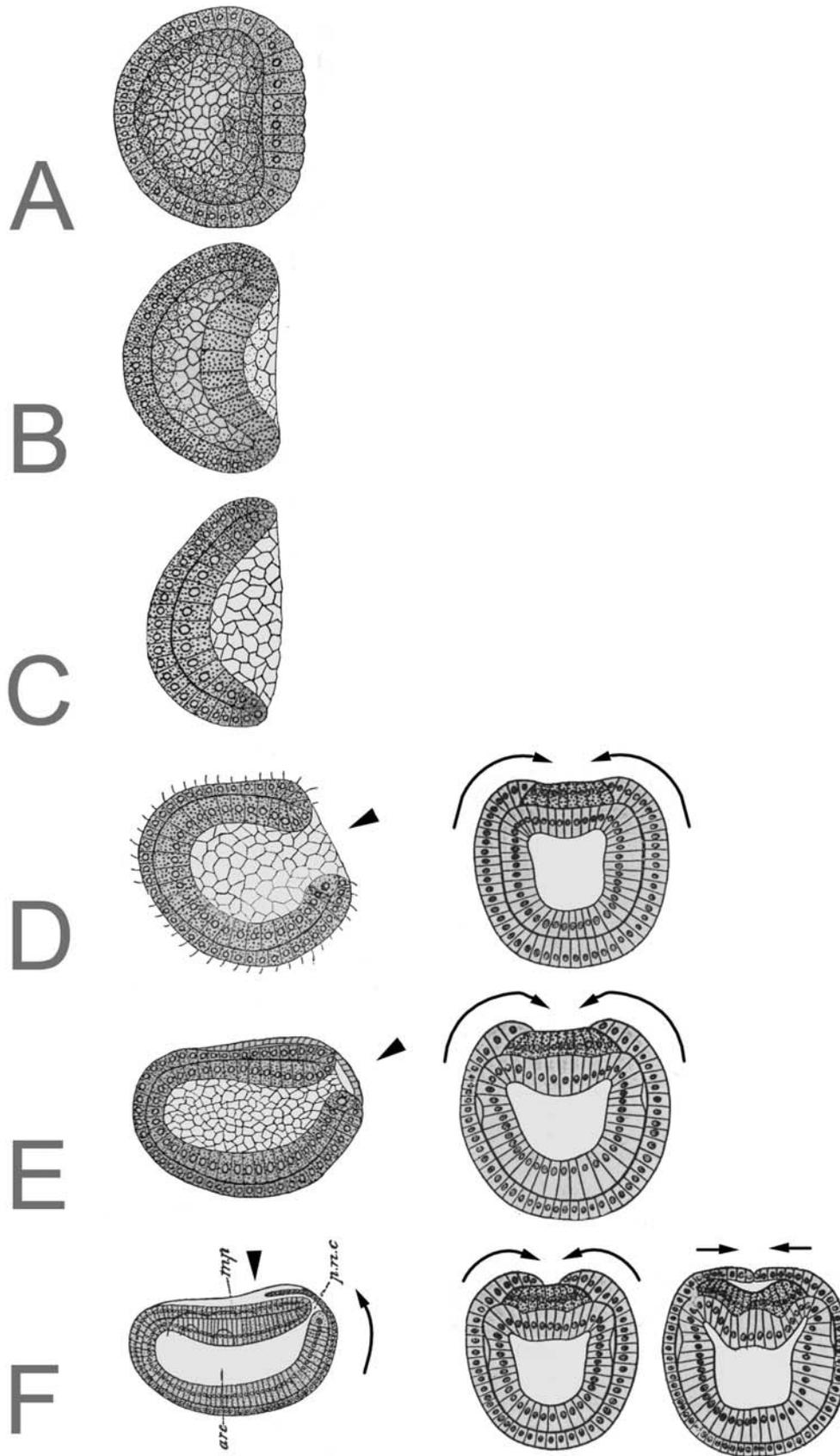


Abb. 13

Zu Abb. 14

In der larvalen Phase, die 4-5 Tage nach Befruchtung der Eizelle beginnt, ist die Gastrulation sowie Neurulation abgeschlossen und somit der grundlegende Bauplan angelegt. Im frühen larvalen Stadium (A) werden die ersten Somiten angelegt, indem sie sich, wie die Chorda dorsalis, aus dem Endoderm des Urdarmes abfalten. Periphere Nerven bündeln sich in dieser Phase zwischen ihnen zu den späteren Nervenwurzeln. Der Urmund hat sich weiter nach rostral verschoben (Pfeilspitze) und wird nun als Neuroporus anterior bezeichnet. In den späteren larvalen Stadien (B und C) verlieren die Tiere im Übergang zu ihrem adulten, benthischen Dasein ihre für das larvale, planktonische Leben nützlichen Kinozilien. Der Canalis neurentericus verschließt sich, wodurch der Zentralkanal des ZNS sowie der Urdarm voneinander getrennt werden. Die Mundöffnung (m, rechts in B) liegt zunächst links außen.

(Zeichnungen aus Willey 1894)

Abkürzungen:

n	- Neural-Platte
al	- Darmrohr
an	- Anus
bc	- allgemeine Leibeshöhle (Zölom)
ch	- Chorda dorsalis
csg	- club-shaped gland (transiente embryonale Drüse)
gl	- club-shaped gland (transiente embryonale Drüse)
gs	- Anlage des der ersten Kiemenspalte
int	- Darmrohr /Urdarm
lad	- linker vorderer Urdarm-Divertikel (später Hatscheks Grube)
m	- Mund
my	- Myomere
n, nt	- Neuralrohr
nc	- Zentralkanal des ZNS
np	- Neuroporus anterior
pnc	- Canalis neurentericus / Porus neurentericus
poc	- präorales Zölom (aus dem rechten vorderen Urdarmdivertikel)
pp	- präorale Grube (aus dem linken Urdarmdivertikel, später Hatscheks Grube)
rad	- rechter vorderer Urdarmdivertikel (späteres präorales Zölom)
t	- Schwanzflosse

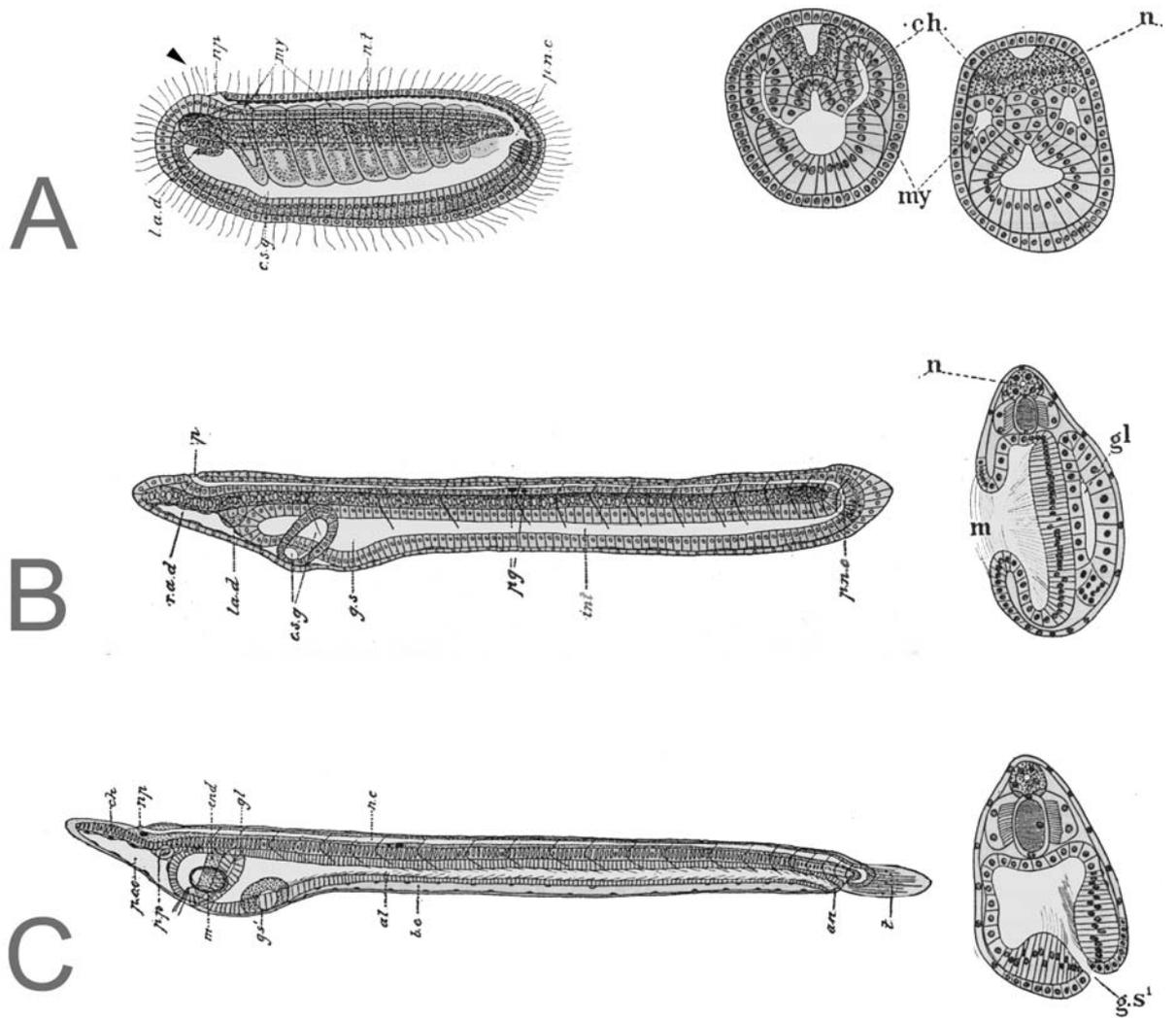


Abb. 14

Zu Abb. 15

Dreidimensionale Rekonstruktion von Kerngebieten und wichtigen Fasertrakten im anterioren larvalen ZNS von Branchiostoma. Eine genaue Beschreibung findet sich im Text.

(aus Lacalli 1996, leicht verändert)

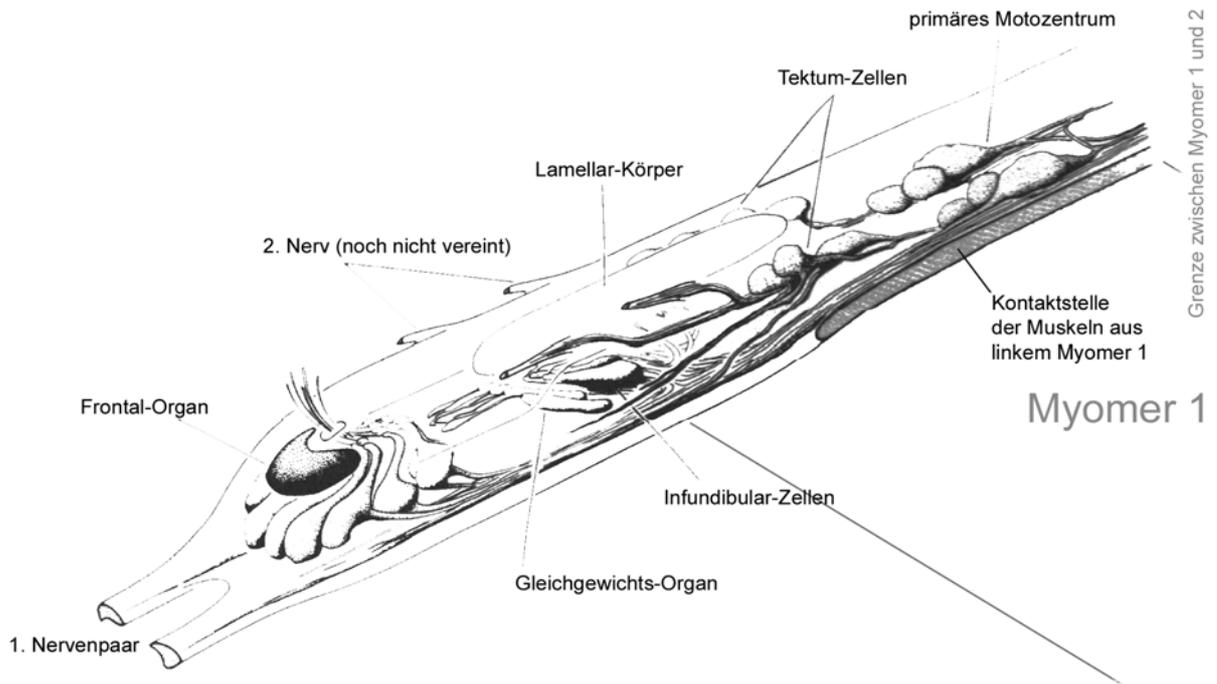


Abb. 15

Zu Abb. 16

Gegenüberstellung der Expressions-Orte homologer Gene im embryonalen Wirbeltiergehirn (A) und im ZNS der Lanzettfisch-Larve (B). C zeigt die auf das adulte rostrale ZNS (siehe Abb. 17) von *B. lanceolatum* projizierten larvalen Expressions-Orte der Otx-, Hox- und Engrailed-Gene.

Abkürzungen:

- b - Branchialbögen
- d - Diencephalon
- m - Mesencephalon
- o - Augenbecher
- r1-8 - Rhombomere 1-8
- sc - Rückenmark
- t - Telencephalon

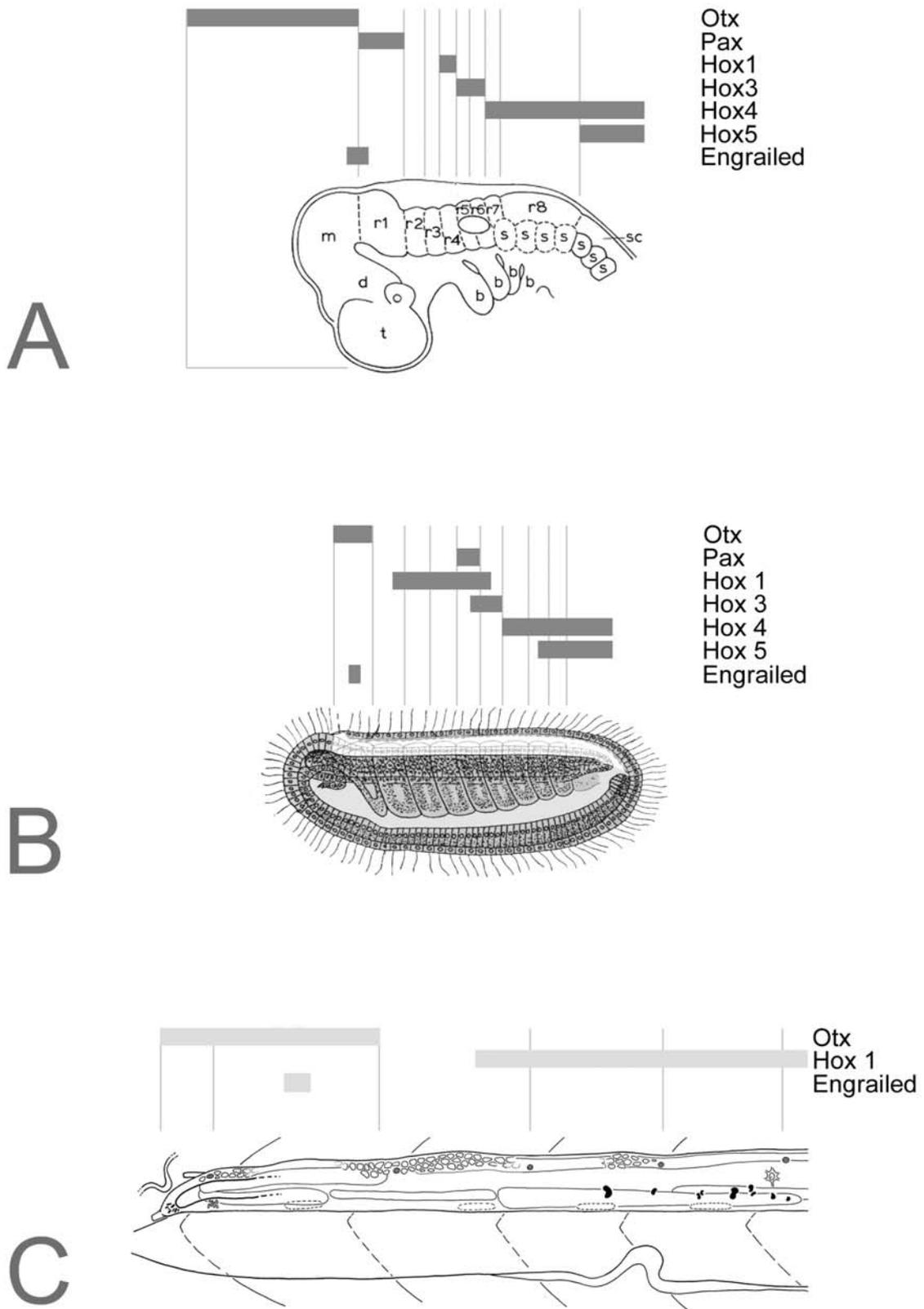


Abb. 16

Zu Abb. 17

Grafische Rekonstruktion des rostralen ZNS vom adulten *B. lanceolatum*. Es sind das rostrale ZNS und seine räumlichen Beziehungen zu den es umgebenden Strukturen wie Chorda dorsalis, linke Myomer-Reihe, Hatscheks und Köllikers Grube dargestellt. Außerdem sind einige innere Landmarken wie die Lage der Nervenwurzeln und die Rohde-Zellen abgebildet.

In A sind zusätzlich die Residuen des Zentralkanal, sowie die typische Verteilung der großen transluminalen und ventralen Zellen eingezeichnet. B zeigt die Lage der im Text beschriebenen Kerngebiete, der Joseph-Zellen und der Hesse-Organen. Die Buchstaben zwischen den „A“ und „B“ geben die Lage der auf den Fototafeln 18 und 19 abgebildeten Querschnitte an.

Abkürzungen:

alm	- anterolaterale migrierte Zellgruppe
alp	- anterolaterale periluminalenale Zellgruppe
avm	- anteroventrale migrierte Zellgruppe
chd	- Chorda dorsalis
cJo	- Joseph-Zelle
fo	- Frontal-Organ
Hp	- Hatscheks Grube
io	- Infundibular-Organ
Kp	- Köllikers Grube
m1-4	- Myomere
nRo	- Rohdes Kern
oHe	- Hesse-Organen
pdm	- posterodorsale migrierte Zellgruppe
vsc	- ventrale spindelförmige Zellgruppe

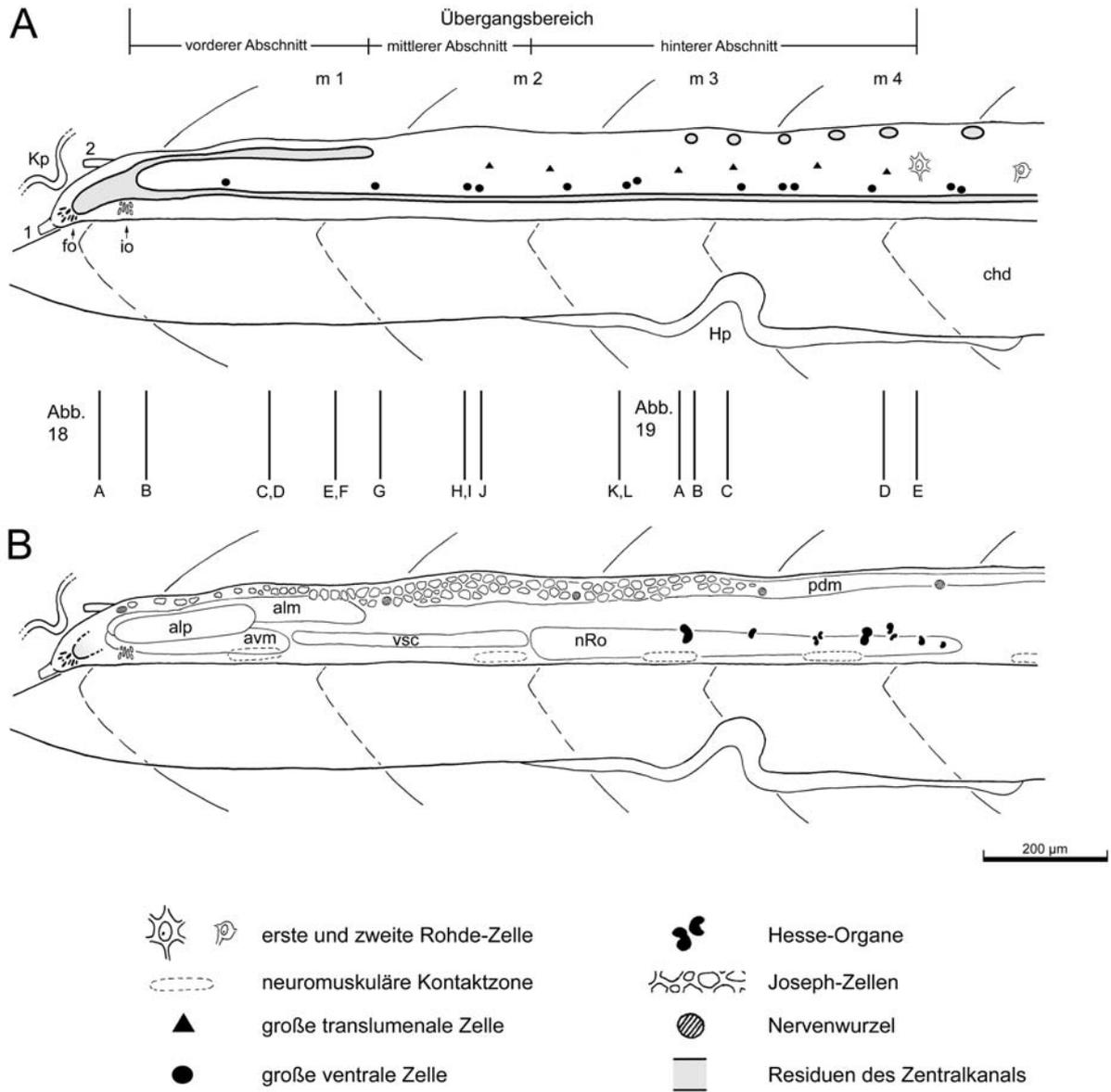


Abb. 17

Zu Abb. 18

Transversalschnitte, deren genaue Lage in Abb. 17 eingezeichnet ist. Dort finden sich auch die Erklärungen für die hier benutzten Abkürzungen. Der Maßstab beträgt 25µm.

A: Die um das zentrale Lumen gruppierten, kleinen Zellen im rostralen Vesikel. Um die zentrale Gruppe finden sich einzelne migrierte Zellen. **B:** Querschnitt am Beginn des Übergangsbereiches. Die anterolaterale Zellgruppe (alp), sowie die nach lateral und ventral migrierten Zell-Verbände (alm und avm) sind deutlich zu erkennen. In der Cresylviolett-Färbung kann das Ependym mit seinen kleinen, dunklen Kernen leicht von den Neuronen abgegrenzt werden. Die in der ventralen Rinne eingezeichnete Pfeilspitze deutet auf Reißners Faden. **C:** An der dorsalen Seite des ZNS sind 3 Joseph-Zellen (cJo) angeschnitten. Die in der vorherigen Abbildung gezeigten vorderen migrierten Zellgruppen (avm und alm) sind auch hier zu sehen. Die Pfeilspitze deutet auf die dorsale Rinne. Diese wird in höherer Vergrößerung in den beiden nächsten Bildern gezeigt. **D** und **E:** Die dorsale Rinne und ihre Umgebung. Ihr Lumen ist ungleichmäßig mit einem Material gefüllt, das aus länglichen, gewellten Fortsätzen (Pfeilspitze in E) besteht und das von den umgebenden Zellen ausgeht. Ein vakuolengefülltes Neuron ist in D mit einer Pfeilspitze markiert. **F:** Aus einer Versilberungs-Serie. Vier kleine translumenale Neurone, die den Ventrikelspalt kreuzen. **G:** Hier sind 3 kleine translumenale Neurone zu sehen, von denen eines ein vakuolengefülltes Soma (Pfeilspitze) besitzt. Unmittelbar an der ventralen Rinne befindet sich ein somatomotorisches Neuron (Pfeil). **H:** Die Aufnahme entstand im mittleren Abschnitt des Übergangsbereiches. Die Joseph-Zellen bilden an der dorsalseite des Neuralrohres eine dicke Kappe. Während die ventral und lateral migrierten Zellgruppen (avm und alm) nicht mehr vorhanden sind, taucht die postero-dorsale Zellgruppe (pdm) auf. Man beachte, dass die in den vorherigen Bildern gut sichtbare dorsale Rinne hier nicht mehr sichtbar ist. **I** und **J:** Beide Abbildungen zeigen die V-förmig angeordneten spindelförmigen Zellen (vsc), die sich unterhalb der ventralen Rinne befinden. In J zeigt die Pfeilspitze auf eine große translumenale Zelle, ventral davon ist eine große vakuolisierte Zelle zu sehen. **K** und **L:** Der Rohde Kern (nRo) ist hier in einer Cresylviolett und einer Versilberungs-Serie zu sehen. Die Zellen sind a- oder unipolar. Die schollige Struktur der Nissl-Substanz ist gut sichtbar (Pfeil). Man beachte, dass der Zell-Verband nach links verzogen ist. In K ist der Pigmentbecher der Hesse-Zelle (oHe) mit der im Sinus befindlichen photorezeptiven Zelle zu sehen. Die Pfeilspitze deutet auf eine große ventrale (somatomotorische) Zelle.

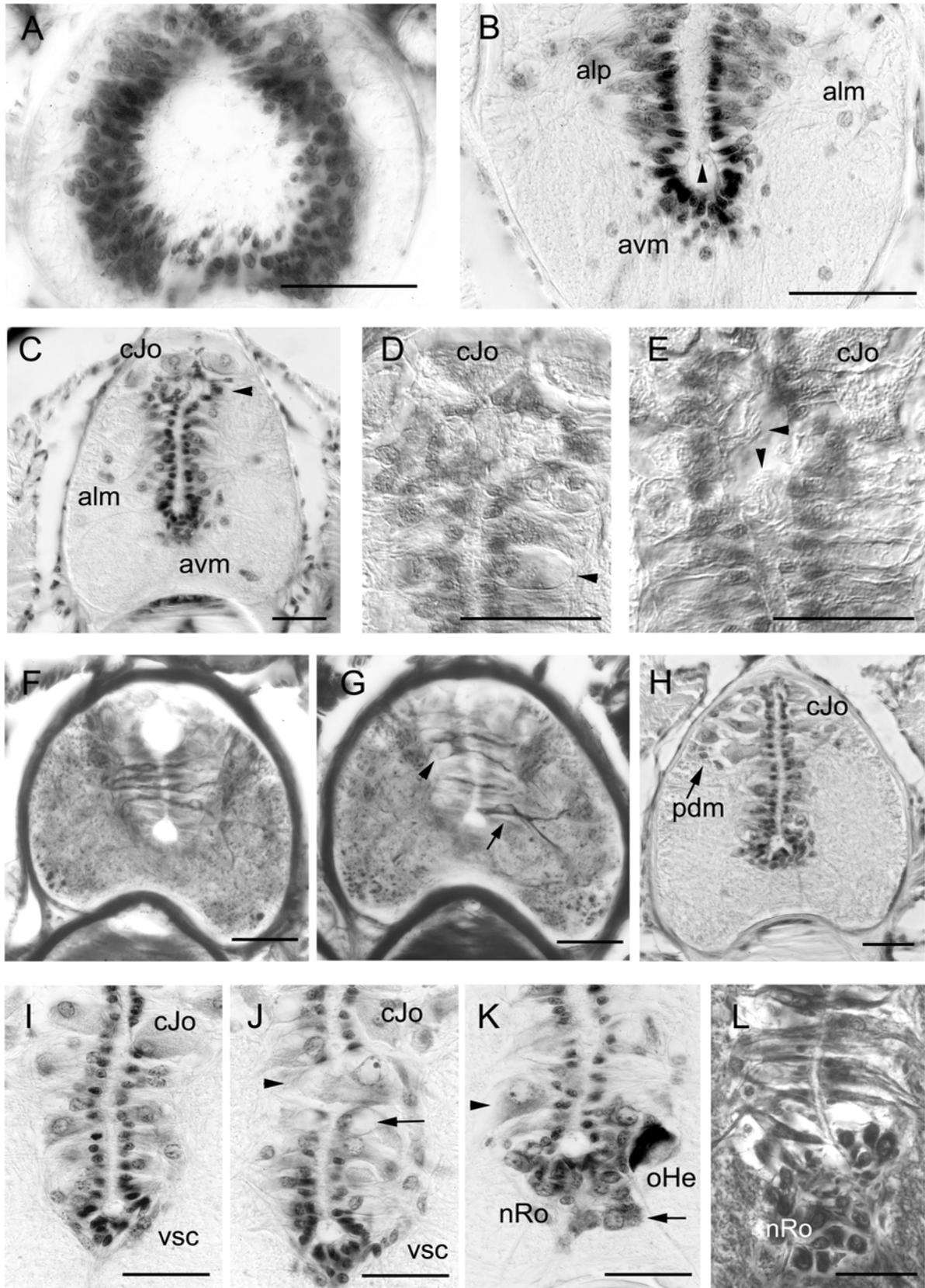


Abb. 18

Zu Abb. 19

Transversalschnitte, deren genaue Lage in Abb. 17 eingezeichnet ist. Die Abkürzungen sind dort erklärt. Der Maßstab in den Abbildungen beträgt 25µm.

A: Rohdes Kern (nRo) und eine der Bläschen (Pfeilspitze), die ein Derivat der dorsalen Rinne sind. Das Foto entstand auf Höhe des 3. Myomers. **B:** Detailaufnahme am dorsolateralen Rand des ZNS. Die Joseph-Zellen (cJo) werden seitlich von einer Schicht postero-dorsal migrierter Neurone (pdm) flankiert. **C:** Übersicht vom ZNS und seiner Umgebung in Höhe von Hatscheks Grube (Hp). Vergleiche hierzu auch Abb. 20. **D:** In dieser Versilberung sind mehrere kleine sowie eine große translumenale Zelle zu sehen. **E:** Das kaudale Ende des Übergangsbereiches, das durch die erste Rohde-Zelle markiert wird.

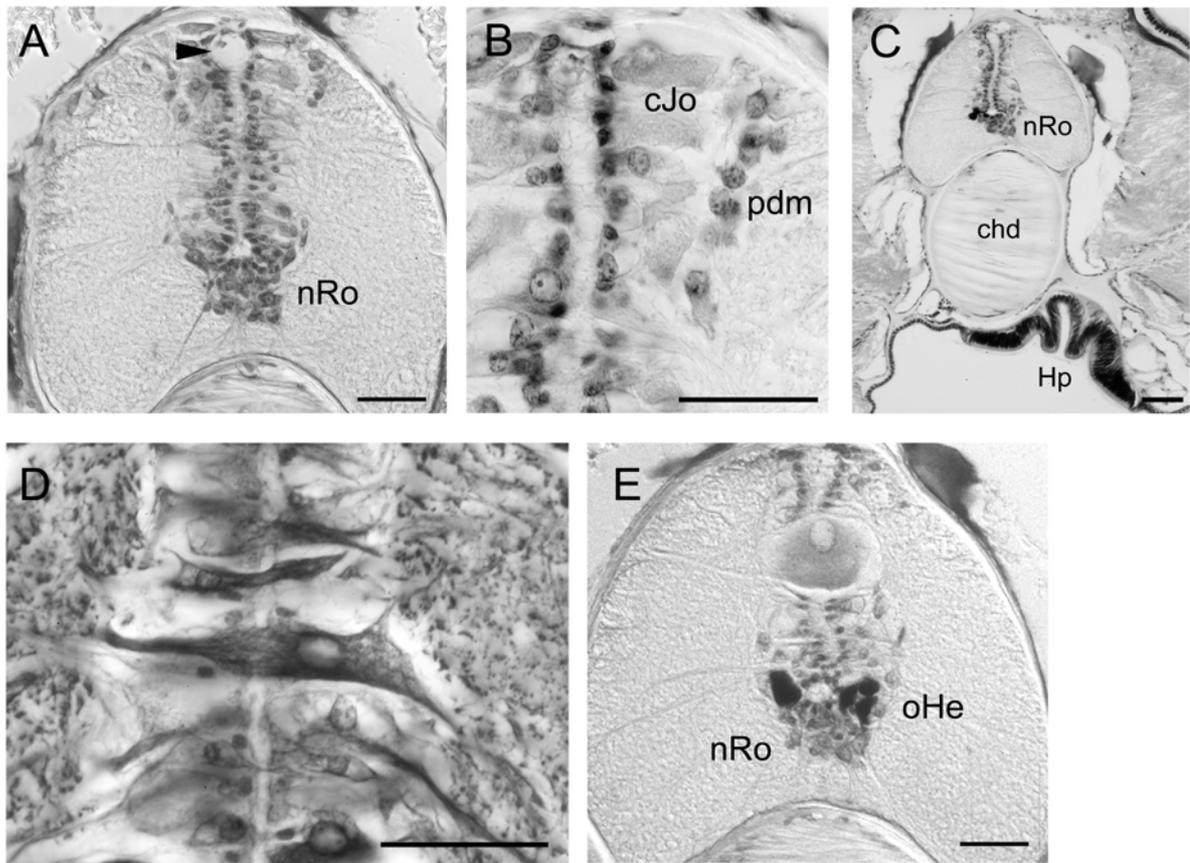


Abb. 19

Zu Abb. 20

Übersicht (A) und Detail (B) des Bereichs von Hatscheks Grube und dem ZNS im Querschnitt eines Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparates. Ansicht von vorne. Es ist gut zu sehen, wie sich die linke Kante des ZNS und Hatscheks Grube einander annähern. Sie sind nur durch lockeres Bindegewebe voneinander getrennt. Auf der Seite des ZNS ist Rohdes Kern nach links verzogen und die ZNS-Kapsel scheint in diesem Bereich, genauso wie übrigens die Kapsel der Chorda dorsalis, weniger dick (Pfeilspitzen). In der Tiefe von Hatscheks Grube ist der epitheliale Verband aus mehrreihigem Epithel aufgehoben, die Zellen sind eher follikulär angeordnet. Die Basalmembran ist in diesem Bereich aufgelöst.

Abkürzungen:

Bm	- Basalmembran
Bm*	- sich auflösende Basalmembran
Chd	- Chorda dorsalis
HG	- Hatscheks Grube
Muh	- Mundhöhle
My	- Myomere
reAo	- rechte Aorta
RohK	- Rohdes Kern
SZ	- Subchordalzölom
ZNS-K	- ZNS-Kapsel

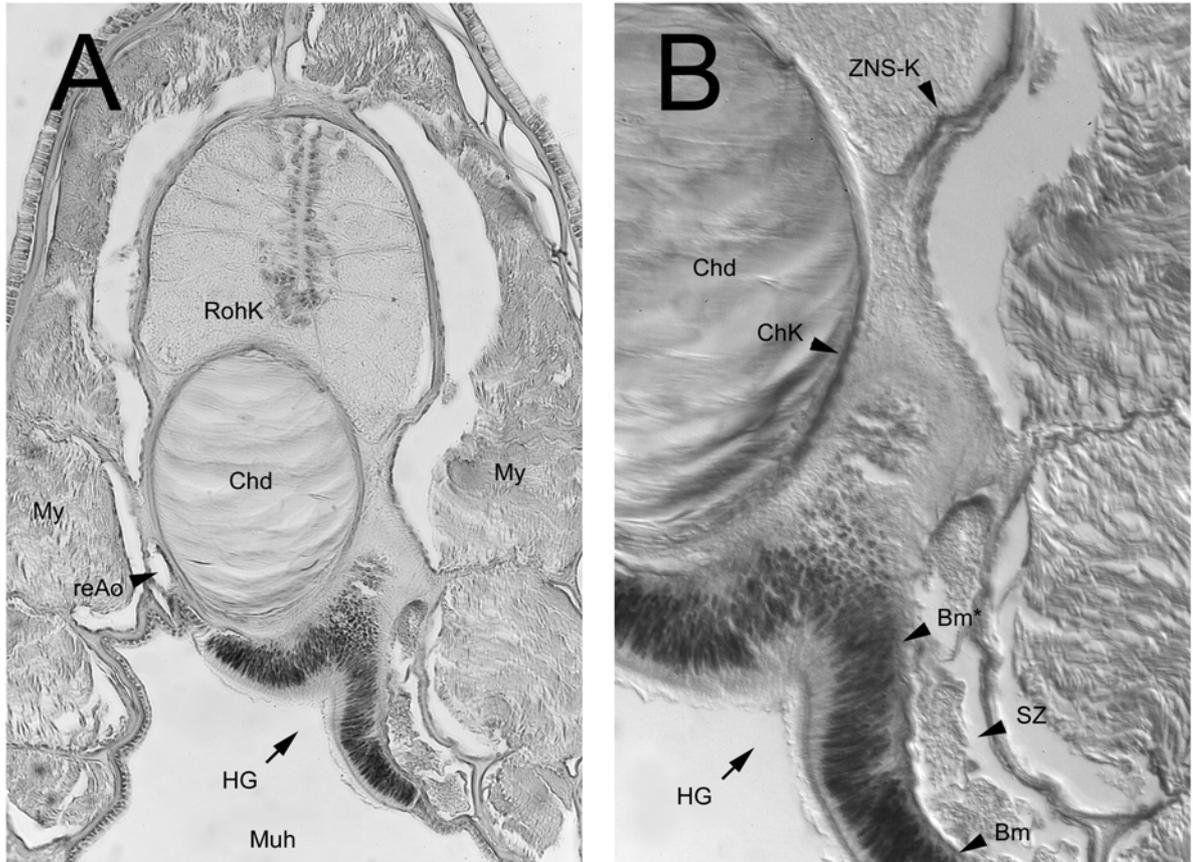
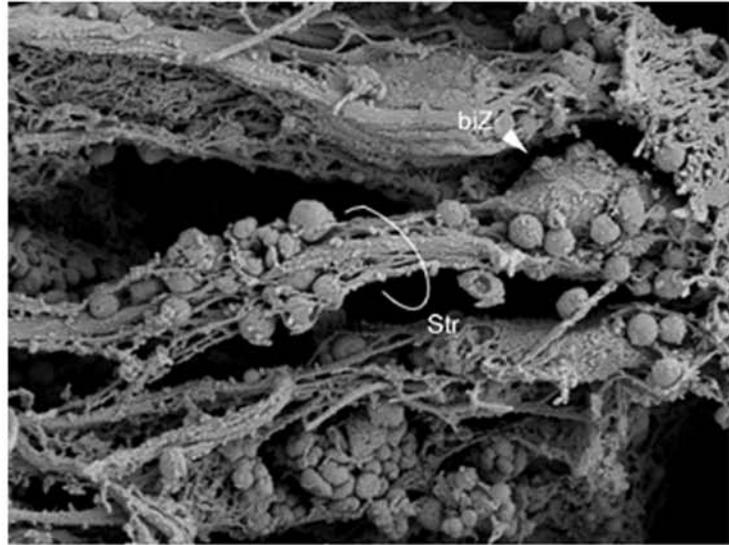


Abb. 20

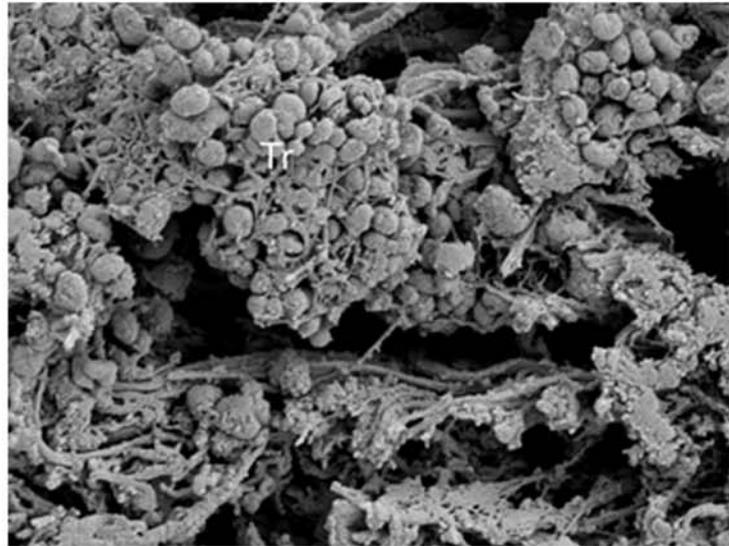
Zu Abb. 21

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen aus Rohdes Kern. Von kaudal und lateral eintretende Faserstränge (Str) teilen sich in feine Verästelungen, die mit zahlreichen Kügelchen terminieren. Mehrere Kügelchen bilden „Trauben“ (Tr) aus, in deren Innerem sich möglicherweise ein Perikaryon befindet. Daneben finden sich auch fast nackte Zelleiber, welche ein birnenförmiges Äußeres haben (biZ, in A). Bezüglich der Größe ist die bei dieser Fixier-Methode übliche Schrumpfung der Zellen um ca. 50% zu beachten.

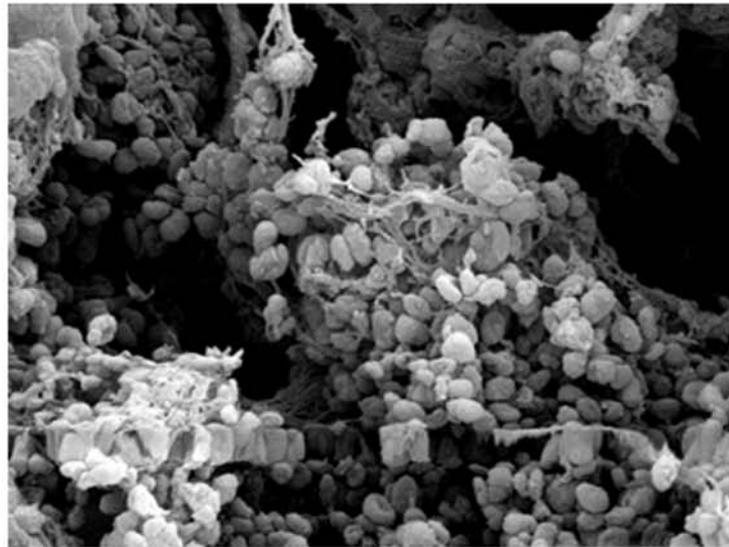
A



B



C



— 3 μ m —

Abb. 21

Zu Abb. 22

Im Tracing gefärbte Neurone und ihre Position im ZNS. Die Buchstaben im Sagittal-Schnitt verweisen auf die Lage der jeweiligen Abbildungen. Die typische Verteilung der Perikaryen von deszendierend projizierenden Neurone ist in der Übersicht eingezeichnet. Die Fotos **A-F** entstanden unter Verwendung von Texas Rot, Foto **G** zeigt ein Beispiel der mit BDA erzielten Resultate. Um die Grenze des ZNS hervorzuheben, wurde sein Umriss in A-F nachgezeichnet. Der Maßstab in F entspricht 25µm, in G 30µm. Beschreibung der Zelltypen im Text.

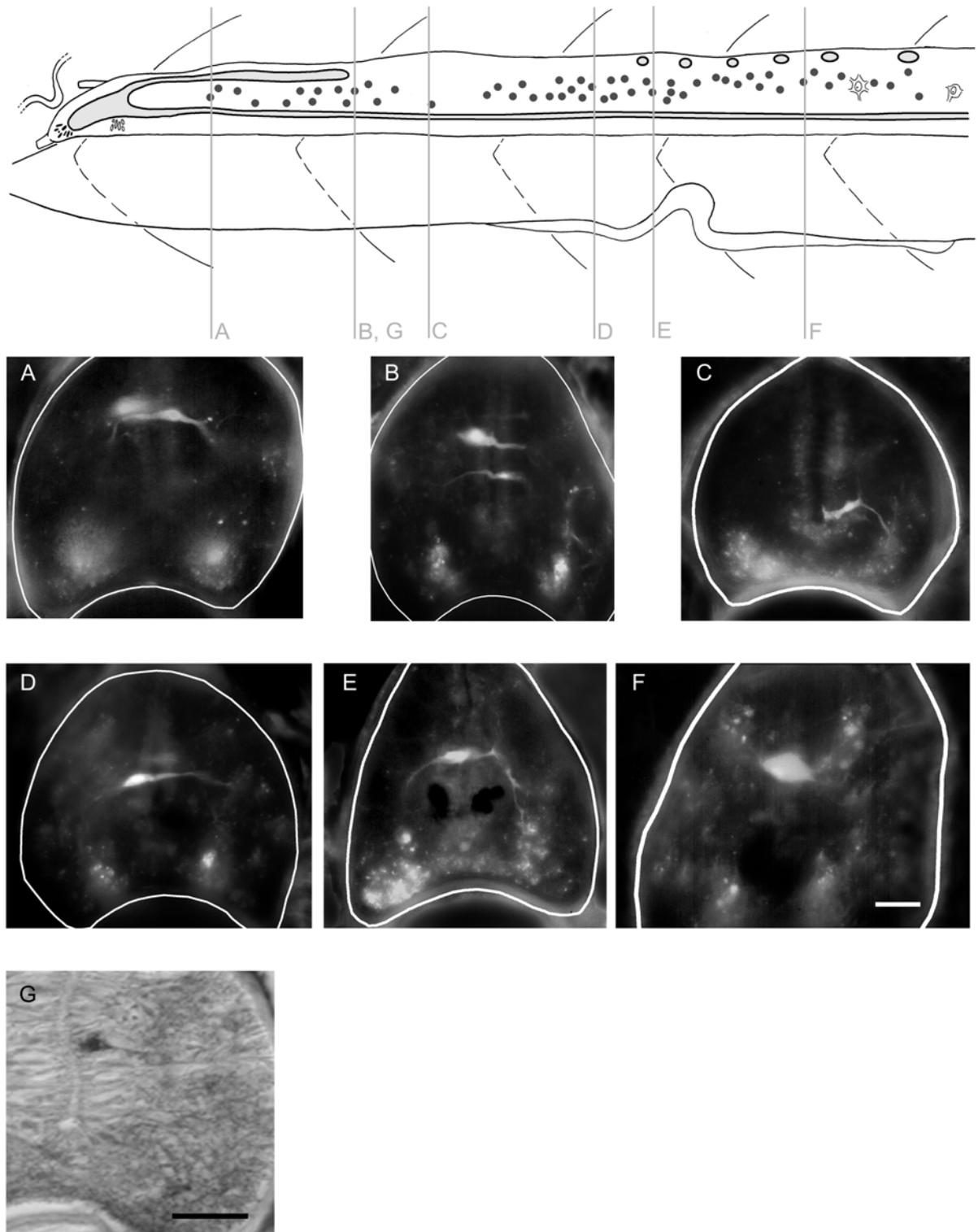


Abb. 22

Zu Abb. 23

Die Verteilung der bei Tracing-Experimenten gefärbten Neurone von 10 gut gelungenen Serien wurde, wie in Material und Methoden beschrieben, auf den Übergangsbereich des ZNS kartiert. Der statistischen Auswertung in A und B ist die topografische Abbildung darunter maßstabsgetreu gegenübergestellt. In A und B ist auf der x-Achse der Übergangsbereich in 32 gleichgroße Abschnitte aufgeteilt. Während sich Abschnitt „1“ etwas kaudal des Infundibular-Organ befindet, liegt Abschnitt „32“ auf Höhe der ersten Rohde-Zelle.

Die y-Achse gibt den prozentualen Anteil der gefärbten Neurone des jeweiligen Abschnittes im Verhältnis zu allen gefärbten Neuronen der jeweiligen Serie wieder. In Diagramm A ist die mittlere prozentuale Verteilung aller zehn Serien in den einzelnen Abschnitten als Balken abgebildet. Die Kurve stellt dabei einen interpolierten Verlauf dar, indem auch die Dichte der benachbarten Abschnitte einbezogen sind. Die Signifikanzsternchen über einzelnen Balken in A deuten an, dass sich in diesen Abschnitten signifikant ($p < 0,05$) weniger bzw. mehr gefärbte Neurone befinden, als nach der "Gleichverteilungshypothese" zu erwarten wären. In B zeigen die Kurven die Dichteverteilungen der 10 einzelnen Serien, auf denen die Mittelwertdarstellungen in A basieren. Zwei der Kurven, die im Text näher beschrieben werden, sind besonders hervorgehoben.

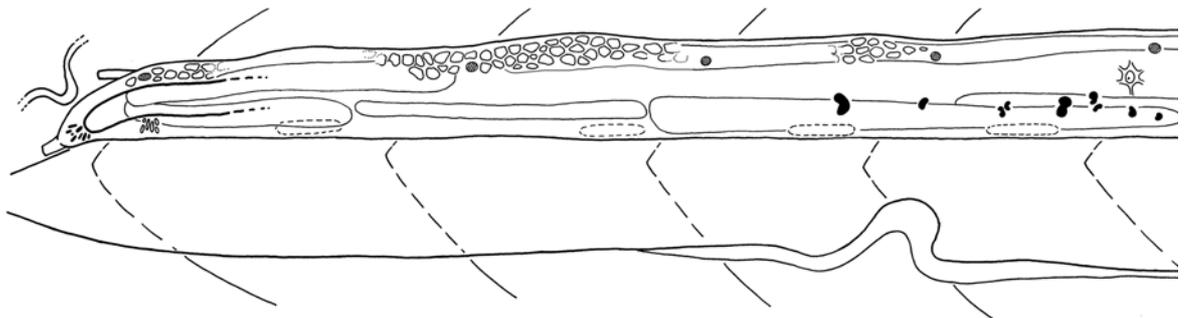
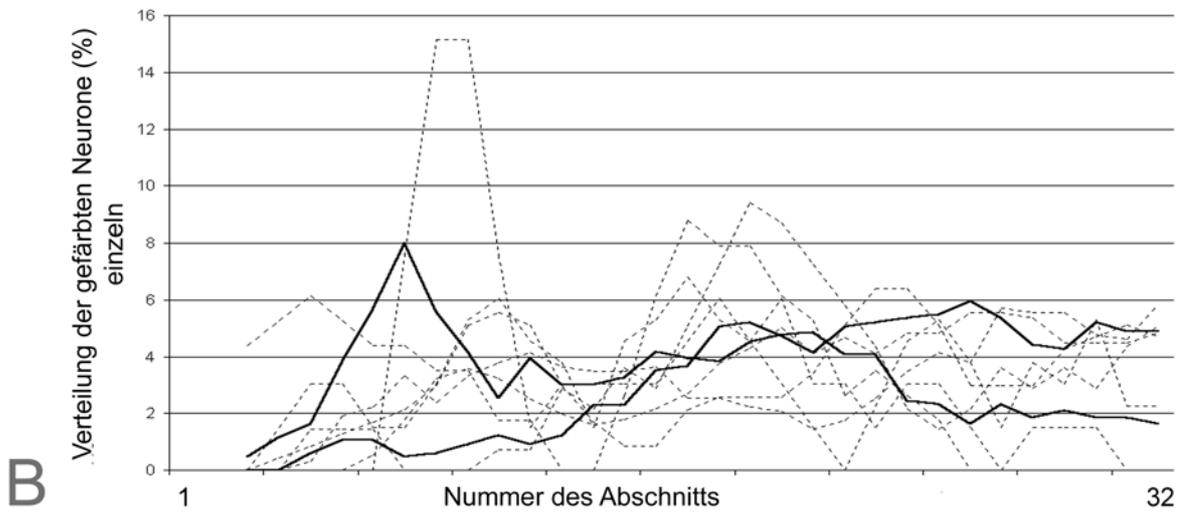
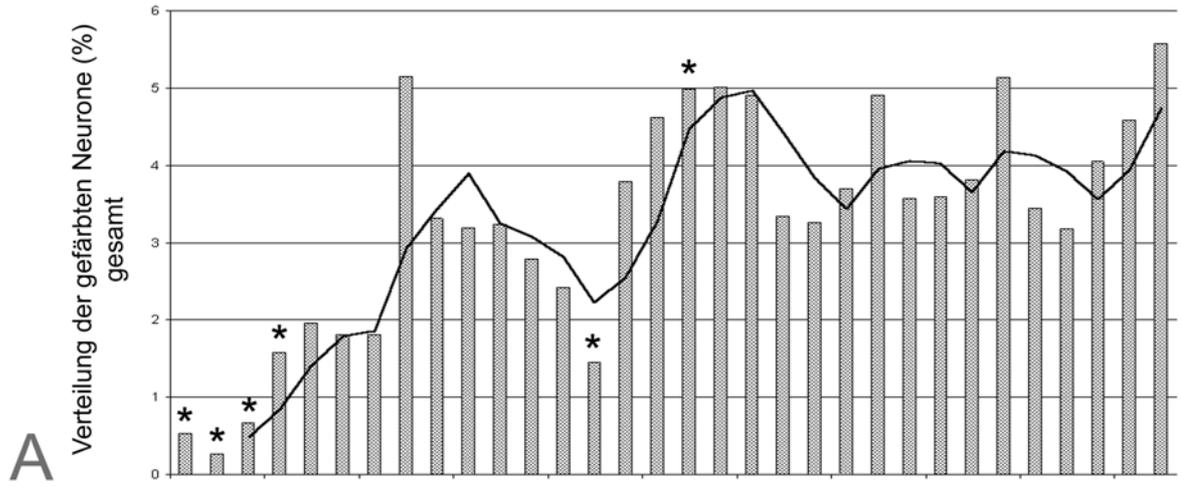
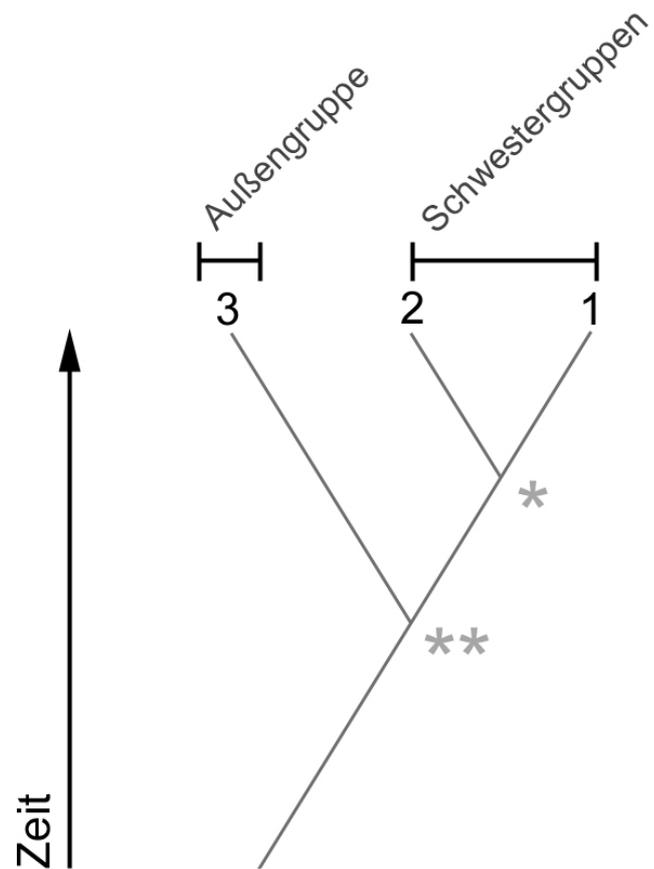


Abb. 23

Zu Abb. 24

In einem Kladogramm werden die Verwandtschaftsbeziehungen von Arten dargestellt. Der zeitliche Verlauf ist in der Vertikalen dargestellt. Die Verzweigungspunkte (*, **) markieren die Zeitpunkte, an denen die Population einer Stammart sich in zwei reproduktiv voneinander isolierte Arten aufgespalten hat. An bzw. unter den Verzweigungspunkten finden sich als die letzten gemeinsamen Vorfahren der Arten bzw. Artengruppen, die als „terminale Taxa“ (1,2,3) auf die Spitzen des Kladogramms aufgetragen sind. 1 und 2 sind sog. „Schwestergruppen“, 3 wiederum ist die nächste lebende verwandte Gruppe dieser „Schwestern“ – die sog. Außengruppe. Die Linien, die von Verzweigungspunkt zu Verzweigungspunkt bzw. zu den terminalen Taxa führen, werden als Stammlinien bezeichnet.

**Abb. 24**

Zu Abb. 25

Fünf mögliche Konstellationen für den Rückschluss von Merkmalen rezenter Tiere (hochgestellte Buchstaben an den terminalen Positionen der Kladogramme) auf Merkmale ihrer letzten gemeinsamen Ahnen (kursive Buchstaben an den Positionen der letzten gemeinsamen Vorfahren). In den Kladogrammen der linken Spalte sind die verschiedenen Möglichkeiten von Merkmalsausprägungen dargestellt. In der rechten Spalte sind die Rückschlüsse im Hinblick auf die letzten gemeinsamen Vorfahren und den einzelnen Stammlinien schematisch abgebildet.

Im Fall A, in dem alle rezenten Vertreter das gleiche Merkmal aufweisen, kann davon ausgegangen werden, dass auch die letzten gemeinsamen Vorfahren dieses Merkmal aufwiesen. In B könnte der letzte gemeinsame Vorfahre der Schwestergruppen und der Außengruppe mit gleicher Wahrscheinlichkeit das Merkmal „a“ oder „b“ gehabt haben. C und D zeigen das gleiche Merkmal bei der Außengruppe als auch bei einem Vertreter der Schwestergruppe - ihr letzter gemeinsamer Vorfahre müsste es ebenfalls besessen haben. Merkmal „a“ ist demnach eine Neubildung, die sich in der Stammlinie einer der Schwestergruppen entwickelt hat (s. Pfeilspitze). Besitzen die Mitglieder der Schwestergruppe, sowie die Außengruppe unterschiedliche Merkmale (Fall E), können keine Rückschlüsse auf die Merkmalsausprägung der letzten gemeinsamen Vorfahren gezogen werden.

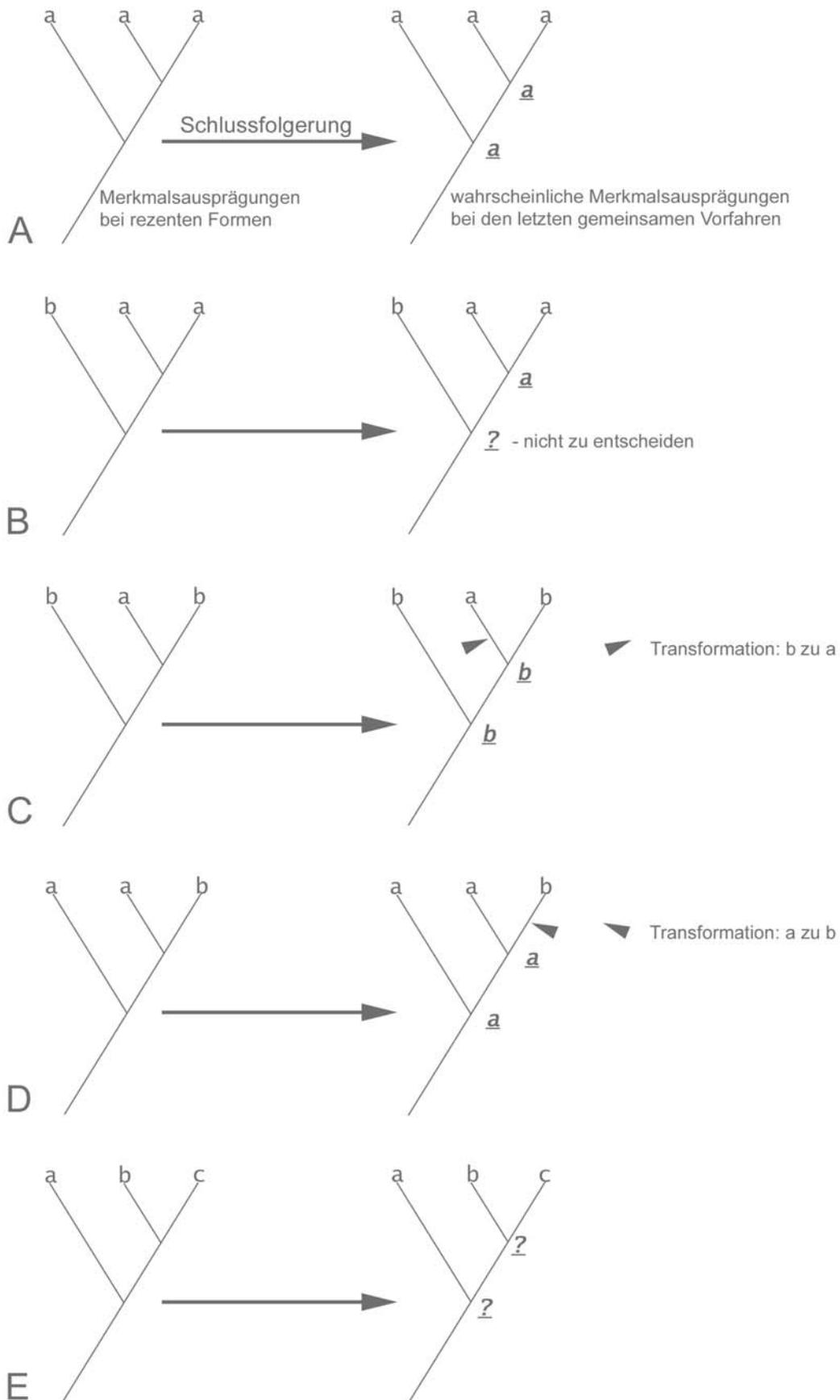


Abb. 25

Zu Abb. 26

Rostrales ZNS eines Tunikaten im Übergang zwischen larvalem und adulten Stadium.

Abkürzungen:

Chd	-Chorda dorsalis
gB	-ganglionisches Bläschen
nDr	-neurale Drüse
nhG	-neuro-hypophysealer Gang
Nr	-Nackenregion des ZNS
Ph	-Pharynx
SB	-sensorisches Bläschen
SchN	-Schwanzneuralrohr
V	-Ventrikel
zGgl	-zerebrales Ganglion

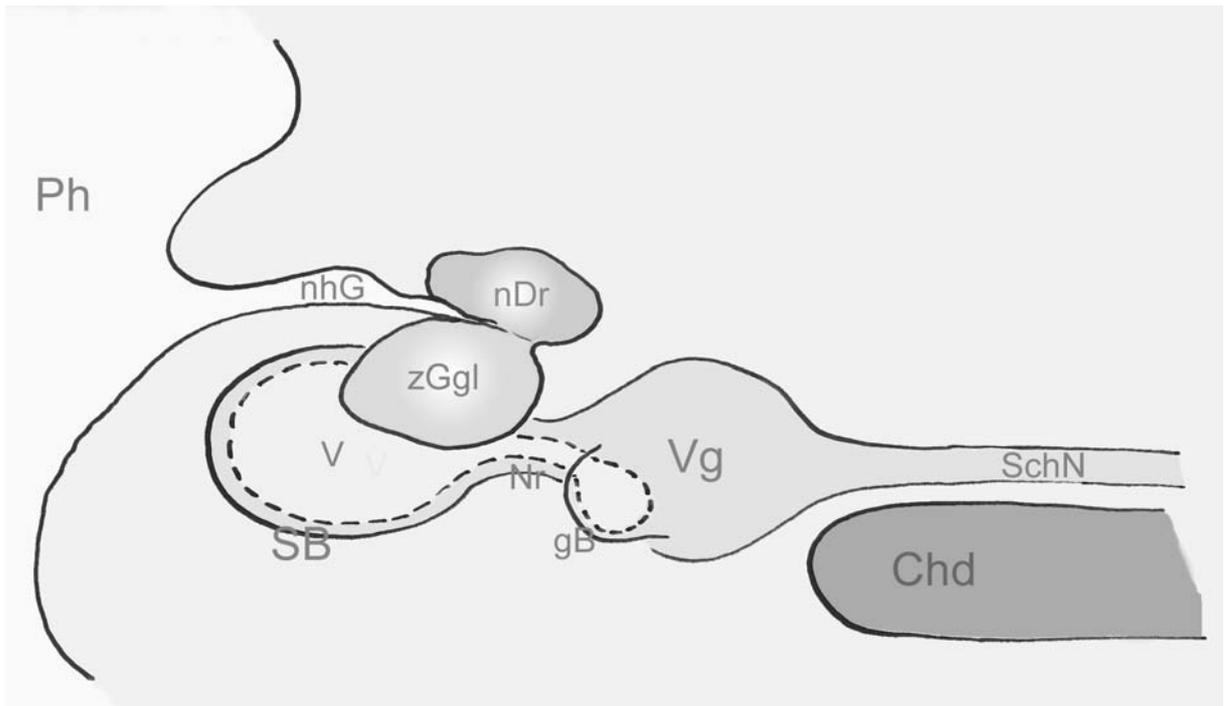


Abb. 26

Zu Abb. 27

Das Gehirn eines Neunauges (*Lampetra fluviatilis*) in einer dorsalen (A) und einer seitlichen Ansicht von links (B). Die Tela choroidea ist auf der linken Seite abgetragen und gibt den Blick in die einzelnen Ventrikel frei. Es findet sich die typische Gliederung eines Kraniotengehirnes.

(aus Nieuwenhuys und Nicholson 1998).

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Nervus olfactorius | 29. Neurohypophyse |
| 2. Telencephalon | 30. Adenohypophyse |
| 3. Bulbus olfactorius | 31. Commissura posterior |
| 4. Fissura circularis | 32. Tuberculum posterior |
| 5. Hemisphere des Gehirns | 33. Mesencephalon |
| 6. mediales Pallium | 34. Tectum mesencephali |
| 7. Foramen interventriculare | 35. Tegmentum mesencephali |
| 8. Recessus preopticus | 36. Ventriculus mesencephalicus |
| 9. Lamina terminalis | 37. Tela choroidea mesencephalica |
| 10. Commissura interbulbaris | 38. Nervus oculomotoricus |
| 11. Commissura anterior | 39. Isthmus rhombencephali |
| 12. Diencephalon | 40. vordere Lippe der Rautengrube |
| 13. Ventriculus tertius | 41. Nervus trochlearis |
| 14. Corpus pineale | 42. Rhombencephalon |
| 15. Parapineal-Organ | 43. Ventriculus quartus |
| 16. Nervus pinealis | 44. Eminentia trigemini |
| 17. Nervus parapinealis | 45. Tela choroidea rhombencephali |
| 18. Tela choroidea diencephali | 46. Obex |
| 19. Saccus dorsalis | 47. Nervus trigeminus, radix motoria |
| 20. Ganglion habenulae | 48. Nervus trigeminus, radix sensoria |
| 21. Commissura habenulae | 49. Nervus abducens |
| 22. Thalamus | 50. Nervus lineae lateralis anterior |
| 23. Hypothalamus | 51. Nervus octavus |
| 24. Nervus opticus | 52. Nervus facialis |
| 25. Chiasma opticum | 53. Nervus lineae lateralis posterior |
| 26. Commissura postoptica | 54. Nervus glossopharyngeus |
| 27. Recessus postopticus | 55. Nervus vagus |
| 28. Infundibulum | 56. Medulla spinalis |

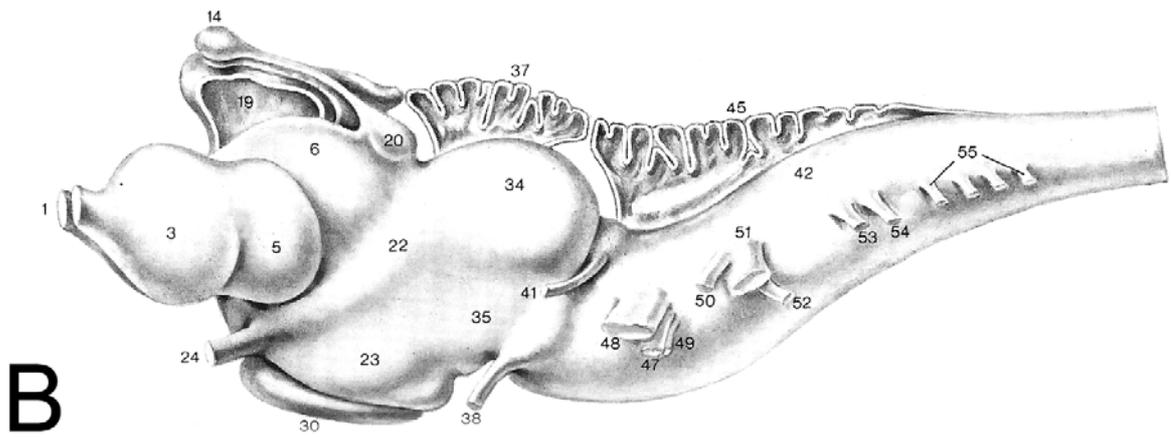
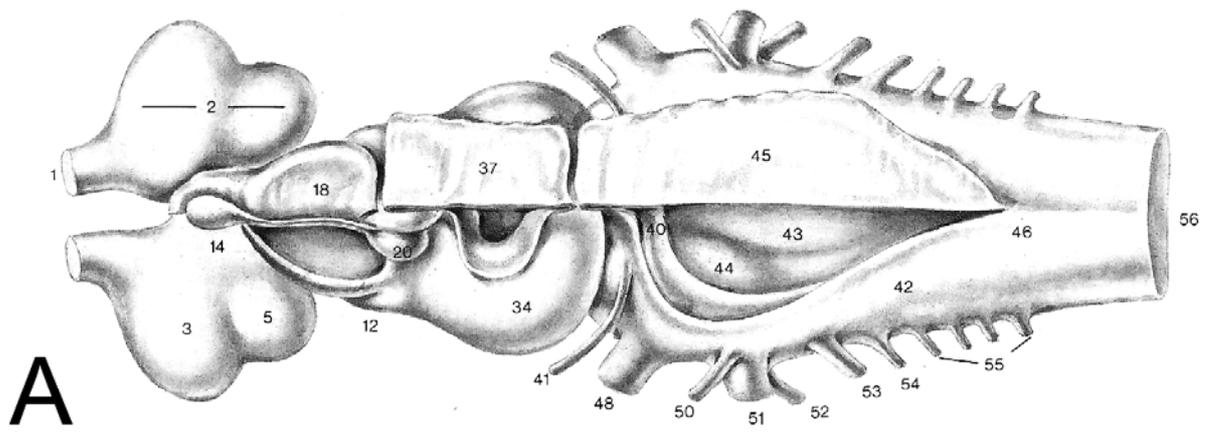


Abb. 27

6. Quellen

Ax, P. 1984: „Das Phylogenetische System“. Stuttgart; Gustav Fischer Verlag.

Baatrup, E. 1982: „On the Structure of the Corpuscles of the Quatrefages (Branchiostoma lanceolatum (P))“. Acta Zoologica (Stockholm) **63**: 39-44.

Bone, Q. 1960: „The central nervous system in Amphioxus“. Journal of Comparative Neurology **115**: 27-64.

Bone, Q., 1961: „The organization of the atrial nervous system of Amphioxus (Branchiostoma lanceolatum [Pallas])“. Philosophical Transactions of the Royal Society London - series B, biological sciences **243**: 241-269.

Brien, P. 1948: „Embranchement des Tunicates – Morphologie et Reproduction“. In: Grassé, P. (Hrsg.): „Traité de Zoologie; Anatomie, Systématique, Biologie“. Bd. 11: 553-930. Paris, Masson et Cie.

Conklin, E. 1932: „The embryology of amphioxus“. Journal of Morphology **54**: 69-151.

De Quatrefages, M. 1845 : „Memoire sur le systeme nerveux et sur l’histologie du Branchiostome ou amphioxus“. Annal. Sci. Nat. (3) **4**: 197-248.

Dogiel, A. 1903: „Das periphere Nervensystem des Amphioxus (Branchiostoma lanceolatum)“. Anatomische Hefte **66**: 145-213.

Edinger, L. 1906: „Einiges vom Gehirn des Amphioxus“. Anatomischer Anzeiger **28**: 417-428.

Ekhart, D., Korf, W., Wicht, H. 2003: „Cytoarchitecture, topography and descending supraspinal projections in the anterior central nervous system of Branchiostoma lanceolatum“. The Journal of comparative neurology **466**: 319-330.

Flood, P. 1966: „A peculiar mode of muscular innervation in Amphioxus. Light and electron microscopic studies of the so-called ventral roots“. Journal of Comparative Neurology **126**: 181-217.

Flood, P. 1970: „The connection between spinal cord and notochord in *Amphioxus* (*Branchiostoma lanceolatum*)“. *Zeitschrift für Zellforschung* **103**: 115-128.

Flood, P. 1974: „Histochemistry of cholinesterase in *Amphioxus* (*Branchiostoma lanceolatum* Pallas)“. *Journal of Comparative Neurology* **157**: 407-438.

Franz, V. 1923: „Haut, Sinnesorgane und Nervensystem der Akranier“. *Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft* **59**: 401-526.

Fusari, R. 1889: „Beitrag zum Studium des peripherischen Nervensystems von *Amphioxus lanceolatus*“. *Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie* **6**: 120-140.

Godement, P., Vanselow, J., Thanos, S., Bonhoeffer, F. 1987: „A study in developing visual systems with a new method of staining neurones and their processes in fixed tissue“. *Development* **101**: 697-713.

Gorbman, A., Tamarin, A. 1985: „Development of oral, olfactory and adenohipophyseal structures of Agnathas and ist evolutionary implications“. In: „*Evolutionary Biology of Primitive Fishes*“. New-York, Plenum Press: 165-185.

Gorbmann, A., Nozaki, M. und Kubokawa, K. 1999: „A brain-Hatschek's pit connection in *Amphioxus*“. *General and Comparative Endocrinology* **113**: 251-254.

Hanser, H. (Hrsg.) 2001: „*Lexikon der Neurowissenschaft*“. Heidelberg, Spektrum Akademischer Verlag.

Jackman, W., Kimmel, C. 2002: „Coincident iterated gene expression in the *amphioxus* neural tube“. *Evolution & Development* **4**: 366-374.

Kölliker 1843: „Ueber das Geruchsorgan von *Amphioxus*“. *Archiv für Anatomie und Physiologie* **Jahrgang 1843**: 32-35.

Kutchin, H. 1913: „Studies on the peripheral nervous system of *Amphioxus*“. *Contributions from the zoological laboratory of The Museum of Comparative Zoology at Harvard College* **240**: 569-624.

Lacalli, T., Holland, N., West, J. 1994: „Landmarks in the anterior central nervous system of amphioxus larvae“. *Philosophical Transactions of the Royal Society London - series B, biological sciences* **344**:165-185.

Lacalli, T. 1996 a: „Frontal eye circuitry, rostral sensory pathways and brain-organization in amphioxus larvae: evidence from 3 D reconstructions“. *Philosophical Transactions of the Royal Society London - series B, biological sciences* **351**: 243-263.

Lacalli, T. 1996 b: „Landmarks and Subdomains in the Larval Brain of Branchiostoma: Vertebrate Homologs and Invertebrate Antecedens“ *Israel Journal of Zoology* **42**: 131-146.

Lacalli, T. 1999: „Somatic motoneurons in amphioxus larvae: cell types, cell position and innervation patterns“. *Acta Zoologica (Stockholm)* **80**: 113-124

Lacalli, T., Hou, S. 1999: „A re-examination of the epithelial sensory cells of amphioxus“ *Acta Zoologica (Stockholm)* **80**: 125-134.

Lacalli, T. 2002: „Sensory pathways in amphioxus larvae I. Constituent fibres of the rostral and anterodorsal nerves, their targets and evolutionary significance“. *Acta Zoologica (Stockholm)* **83**: 149-166.

Meves, A. 1973: „Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Zytoarchitektur des Gehirns von Branchiostoma lanceolatum“. *Zeitschrift für Zellforschung* **139**: 511-532.

Nielsen, C. 1995: „Animal Evolution – Interrelationships of the living Phyla“. Oxford, Oxford University Press.

Nozaki, M., Gorbmann, A, 1992: „The Question of Functional Homology of Hatschek´s Pit of Amphioxus (*Branchiostoma belcheri*) and the Vertebrate Adenohypophysis“. *Zoological Science (Japan)* **9**: 387-395.

Nieuwehuys, R., Ten Donkelaar, H., Nicholson, C. (Hrsg.) 1998: „The Central Nervous System of Vertebrates“. Berlin, Springer Verlag.

- Nieuwenhuys, R. 1998: „Amphioxus“. In: Nieuwenhuys, R., Ten Donkelaar, H., Nicholson, C. (Hrsg.): „The Central Nervous System of Vertebrates“. Bd. 1: 365-396. Berlin, Springer Verlag.
- Nieuwenhuys, R., Nicholson, C. 1998: „Lampreys, Petromyzontoidea“. In: Nieuwenhuys, R., Ten Donkelaar, H., Nicholson, C. (Hrsg.): „The Central Nervous System of Vertebrates“. Bd. 1: 397-495. Berlin, Springer Verlag.
- Poss, S., Boschung, H. 1996: „Lancelets (Cephalochordata: Branchiostomidae): How many Species are valid“. *Israel Journal of Zoology* **42**: 13-66.
- Presley, R., Horder, T. und Slípka, J. 1996: „Lancelet development as evidence of ancestral chordate structure“. *Israel Journal of Zoology* **42**: 97-116.
- Renner, M. 1978: „Leitfaden für das zoologische Praktikum (Kükenthal)“. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag.
- Retzius, G. 1891: „Zur Kenntnis des Centralnervensystems von *Amphioxus lanceolatus*“. *Biologische Untersuchungen – Neue Folge* **2**: 29-46.
- Rohde, E. 1887: „Histologische Untersuchung über das Nervensystem von *Amphioxus lanceolatus*“. *Zoologische Beiträge (Breslau)* **2**: 169-211.
- Romeis, B., Böck, P. (Hrsg.) 1989: „Mikroskopische Technik“. München, Urban und Schwarzenberg.
- Ruiz, M. und Anadon, R. 1991: „Ultrastructural study of the filum terminale and caudal ampulla of the spinal cord of *Amphioxus* (*Branchiostoma lanceolatum* Pallas)“. *Acta zoologica (Stockholm)* **72**: 62-71.
- Ruppert, E. 1997: „Cephalochordata (Acrania)“. In: Harrison, F. (Hrsg.): „Microscopic Anatomy of Invertebrates“ Bd. 15; New-York, Wiley-Liss.
- Sorrentino, M., Manni, L., Lane, N. und Burighel, P. 2000: „Evolution of cerebral vesicles and their sensory organs in ascidian larva“. *Acta zoologica (Stockholm)* **81**: 243-258.

Stach, T. 2000: „Microscopic anatomy of developmental stages of *Branchiostoma lanceolatum* (Cephalochordata, Chordata)“. Thesis. Bonner Zoologische Monographien **47**.

Stokes, M. und Holland, N. 1995: „Embryos and larvae of a lancelet, *Branchiostoma floridae*, from hatching through Metamorphosis: Growth in the laboratory and external morphology“. Acta Zoologica (Stockholm) **76**: 105-120.

Tjoa, L., Welsch, U. 1974: „Electron microscopical observations on Kölliker's and Hatschek's pit and on the wheel organ in the head region of *Amphioxus* (*Branchiostoma lanceolatum*)“. Cell Tissue Research **153**: 175-187.

Von Kupffer, C. 1906: „Die Morphogenie des Centralnervensystems“. In: Hertwig, O. (Hrsg.): „Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere“. Bd. 2, Teil 3. Jena, Verlag von Gustav Fischer.

Wada, H., Garcia-Fernandez, J., Holland, P. 1999: „Colinear and segmental Expression of *Amphioxus* Hox-Genes“. Developmental Biology **213**: 131-141.

Wada, H., Satoh, N. 2001: „Patterning the protochordate neural tube“. Current Opinion in Neurobiology **11**: 16-21.

Welsch, U. 1968: „Die Feinstruktur der Josephschen Zellen im Gehirn von *Amphioxus*“. Zeitschrift für Zellforschung **86**: 252-261.

Wicht, H. und Lacalli T. 2005: „The nervous system of *amphioxus*: Structure, development and evolutionary significance“. Canadian Journal of Zoology **83**: 122-150.

Wicht, H. und Nieuwenhuys, R. 1998: „Myxinoidea“. In: Nieuwenhuys, R., Ten Donkelaar, H., Nicholson, C. (Hrsg.): „The Central Nervous System of Vertebrates“. Bd. 1, S. 497-549. Berlin, Springer Verlag.

Wickstead, J. 1975: „Chordata: Acrania (Cephalochordata)“. In: Pearse, J. und Giese, A. (Hrsg.): „Reproduction of marine invertebrates“. Bd. 2. New York, Academic Press.

Willey, A. 1894: „*Amphioxus* and the ancestry of the vertebrates“. Columbia University Biological Series II. **85**.

Yasui, K., Tabata, S., Ueki, T., Uemura, M. und Zhang, S. 1998: „Early development of the peripheral nervous system in a lancelet species“. *The Journal of Comparative Neurology* **393**: 415-425.

7. Danksagungen

Mein besonder Dank gilt meinem Doktor-Vater PD Dr. Helmut Wicht, der nicht nur meinen Horizont über den humanmedizinischen Rand hinaus erweiterte, sondern mir auch klar machte, dass menschliche Qualitäten und ein gesunder Sinn für Ästhetik im wissenschaftlichen Betrieb (oder in der Berufswelt insgesamt?) kein Luxus, sondern Grundlage für eine gute Arbeit sind. Dem Graduiertenkolleg „Neuronale Plastizität“ danke ich für meine Aufnahme. Die Ringvorlesungen, Kolloquien, Hospitationen und Exkursionen waren inspirierend und eröffneten Kontakte zu anderen Kollegen und Instituten. Nicht zuletzt ermöglichte seine finanzielle Unterstützung die Arbeit in diesem Umfang. Ich danke weiterhin Herrn Prof. Dr. Horst-Werner Korf, der diese Unternehmung wohlwollend förderte. Ausserdem gilt mein Dank Frau Dr. Barbara Wicht, die dem Graduierten-Kolleg Leben einhauchte (wenn sie es nicht gar verkörperte). Der Belegschaft der gesamten Dr. Senckenbergischen Anatomie danke ich für ihre kollegiale Unterstützung und die angenehme Arbeitsatmosphäre. Nicht vergessen will ich Herrn Manfred Ruppel, durch dessen Erfahrung die elektronenmikroskopischen Untersuchungen möglich wurden.

8. Lebenslauf

Geboren am 19.08.1974 in Sofia

Schule 1981-1986 Grundschule in Gravenbruch (bei Frankfurt a. M.)
1984-1986 Deutsche Schule in Moskau
1986-1994 Carl-Schurz-Gymnasium in Frankfurt a. M., Abitur

Studium 1996-1999 Friedrich Schiller-Universität, Jena
1999-2004 J. W. Goethe-Universität, Frankfurt

2000-2003 Stipendiat des Graduiertenkollegs „Neuronale Plastizität: Moleküle,
Strukturen, Funktionen“ der DFG

Beruf seit 2004 Assistenzarzt an der Medizinischen Klinik II des
Klinikums Stadt Hanau



(D. Ekhart)

Frankfurt am Main, den 31.01.2006

9. ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

"Zytoarchitektur und deszendierende supraspinale Projektionen im rostralen ZNS von Branchiostoma lanceolatum"

in der

Dr. Senckenbergischen Anatomie

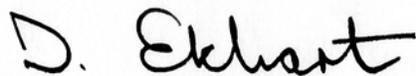
unter Betreuung und Anleitung von PD Dr. H. Wicht

mit Unterstützung durch Prof. H.-W. Korf

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.



(D. Ekhart)

Frankfurt am Main, den 31.01.2006