Wolfgang Stein: Versuche zur neuronalen Basis kontextabhängiger Antworten im Femur–Tibia–Kontrollsystem der Stabheuschrecke

Versuche zur neuronalen Basis kontextabhängiger Antworten im Femur−Tibia−Kontrollsystem der Stabheuschrecke

Vom Fachbereich Biologie der Universität Kaiserslautern zur Verleihung des akademischen Grades

"DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN"

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

WOLFGANG STEIN

D 386

Tag der Abgabe:	28.01.1998
wissenschaftliche Aussprache:	20.02.1998
Referent:	Prof. Dr. U. Bässler
Korreferent:	PD Dr. Ansgar Büschges

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Ulrich Bässler für die Vergabe des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, sowie für die vielen hilfsreichen Diskussionen und Korrekturen.

Herrn PD Dr. Ansgar Büschges danke ich für seine Unterstützung und die anregenden Gespräche, Diskussionen und Korrekturen.

Herrn Dr. Arne Sauer danke ich für die intensive Betreuung und die zahlreichen Diskussionen sowohl während, als auch vor und nach seiner Arbeitszeit, persönlich, als auch telefonisch und per Email.

Natürlich danke ich auch den restlichen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Bässler, die mich immer unterstützten.

Frau Ilona Elzer danke ich ganz besonders, weil sie immer zu mir gehalten hat und Verständnis zeigte für all meine Launen.

Ein großer Dank geht an meine Familie, die mich immer in allen Belangen unterstützte und mir zur Seite stand.

"Es gibt eine Theorie, die besagt, daß wenn jemand genau herausfindet, wie das Universum funktioniert, es sich sofort in etwas noch Komplizierteres und Verrückteres verwandelt . . .

"Es gibt eine andere Theorie, nach der das schon passiert ist."

––– *Douglas Adams*

"The truth is out there"

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere, daß ich die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe angefertigt und mich keiner anderen als der ausdrücklich angegebenen Hilfsmittel bedient habe.

Kaiserslautern, den

Zusammenfassung

Die Verarbeitung sensorischer Information in einem neuronalen Gelenkstellungsregelsystem muß plastische Eigenschaften besitzen, um sich dem jeweiligen Verhaltenskontext anzupassen. Es wurde die Plastizität der Verarbeitung von sensorischer Chordotonalorgan–Information im Femur–Tibia–Regelkreis der Stabheuschrecke in zwei Situationen untersucht:

(1) Nach einer taktilen Reizung des Tieres erhöht sich die Verstärkung des Widerstandsreflexes im Femur–Tibia–Gelenk, unter anderem durch eine Zunahme der Aktionspotentialfrequenz der Extensor–Motoneurone. Diese Zunahme wurde von einer Erhöhung der reizbezogenen exzitatorischen Eingänge zu den Motoneuronen ausgelöst. Es wurde deshalb untersucht, ob und in welchem Maße die Verarbeitung sensorischer Chordotonalorgan–Information im prämotorischen Netzwerk geändert wurde: In den Afferenzen des Chordotonalorgans änderte sich weder Aktionspotentialfrequenz noch präsynaptische Inhibition, wohingegen einige der nichtspikenden Interneurone durch Änderungen in ihren synaptischen Eingängen die Verstärkungsänderungen unterstützten (E3, E5/6, E7, I1). Eine zweite Gruppe von nichtspikenden Interneuronen zeigte keine Veränderung ihrer Antwort (E2, E4, E8, I4).

Diese Ergebnisse zeigen, daß die neuronalen Mechanismen der Verstärkungskontrolle spezifisch neuronale Wege zwischen sensorischen Neuronen und einzelnen Interneuronen beziehungsweise Motoneuronen verändern können.

(2) Im inaktiven Tier hat sensorische Information anderer Beine nur einen geringen Einfluß auf das lokale Femur–Tibia–Kontrollsystem. Eine Badapplikation von Picrotoxin mit einer Konzentration von 10^{-5}M jedoch evozierte einen Einfluß von Chordotonalorgan–Information des Mittelbeins auf die Motoneurone der Femur–Tibia–Gelenke aller anderen Beine. Dabei wurde Information über Tibiabeugung und –streckung, also über Tibiabewegungen, sowie über den Femur–Tibia–Winkel, also über die Tibiaposition, übertragen. Im kontralateral zur Chordotonalorgan–Reizung liegenden Bein erhöhte sich dabei die Aktivität der Extensor–Motoneurone während der Dehnung des Chordotonalorgans aufgrund einer Zunahme der reizbezogenen synaptischen Eingänge. Die prämotorischen nichtspikenden Interneurone verarbeiteten sowohl Positions– als auch Geschwindigkeitsinformationen. Die Verarbeitung der letzteren waren assoziiert mit einer Zunahme reizbezogener synaptischer Eingänge vom Chordotonalorgan.

Untersuchungen an spikenden Interneuronen deuteten darauf hin, daß diese an der Ausprägung der kontralateralen Kopplung beteiligt sind und Chordotonalorgan–Informationen zum kontralateralen Bein übertragen konnten.

Die vorgelegten Ergebnisse deuten darauf hin, daß Informationen über die Bewegungen der Tibien benachbarter Beine auf der Ebene der prämotorischen Interneurone in den jeweiligen Gelenkstellungsregelkreis eingebracht werden.

In beiden experimentellen Situationen waren Änderungen der reizbezogenen synaptischen Eingänge zu spikenden und nichtspikenden Interneuronen an der Änderungen der Informationsverarbeitung beteiligt. Bei der kontextabhängigen Verarbeitung sensorischer Information scheint dabei die unterschiedliche Gewichtung von Eingangssynapsen der Interneurone eine wichtige Rolle zu spielen.

Summary

The neuronal basis of intra− and intersegmental processing of proprioceptive signals in the femur−tibia joint control system of the stick insect

Processing of sensory information in joint control systems requires plasticity to enable the systems to adapt to different behavioral requirements. The processing of sensory signals from the femoral chordotonal organ in the femur−tibia joint control system was investigated in two situations:

(1) In inactive animals tactile stimuli induce a gain increase of the resistance reflex in tibial motor neurons towards passive movements of the tibia. This gain increase is mostly due to an increase of the spike frequency of the extensor motor neurons, which was found to be caused by the enhancement of stimulus−related synaptic inputs from the femoral chordotonal organ onto the motor neurons. Neither spike frequency nor presynaptic inhibition of the afferent terminals of the femoral chordotonal organ was altered with the system's gain. However, gain changes were found to be associated with changes in the processing of sensory signals from the chordotonal organ in identified premotor nonspiking interneurons (interneuron types E3, E5/6, E7, I1). The responses of other identified premotor interneurons remained unchanged during a gain increase (E2, E4, I4, E8).

Additionally, results indicated that these changes in gain of the resistance reflex are mediated by specifically altering neuronal pathways between sensory neurons and motor neurons.

(2) In inactive stick insects only a weak influence of sensory leg information other than from the own leg can be measured in the femur−tibia joint. However, after topical application of picrotoxin with concentrations of 10^{-5}M sensory signals from the middle leg femoral chordotonal organ elicited specific motor responses in tibial motor neurons of all other legs.

For the contralateral leg, extracellular and intracellular recordings from the extensor motor neurons revealed that information about the position and the velocity of the stimulated ispilateral chordotonal organ influenced this leg by an enhancement of stimulus−related synaptic inputs during an elongation of the chordotonal organ. The premotor nonspiking interneurons of the contralateral leg received position and velocity sensitive inputs, the latter were associated with an enhancement of stimulus−related synaptic inputs from the chordotonal organ.

Spiking interneurons were recorded that participated in the transmission of sensory information from the middle leg to the tibial motor neurons of the contralateral leg.

The present results indicate that signals about tibial movements of the adjacent legs are fed into the segmental femur−tibia control networks on the level of the premotor nonspiking interneurons.

In both experimental situations the premotor neuronal network consisting of spiking and nonspiking interneurons contributed to alterations in information processing. Thereby, it seems that the weighting of synaptic inputs to these interneurons plays an important role in adapting a neuronal net to a specific task.

1 Allgemeine Einleitung

Jedes Verhalten besteht aus einer Abfolge von Bewegungen. Die an einer solchen Bewegung beteiligten Elemente (z.B. Gliedmaßen, Muskeln) müssen dabei koordiniert eingesetzt werden. Die Art der Koordination muß je nach Verhaltenskontext anders sein. So sind z.B. die Gelenke eines Beines beim Vorwärtslauf anders koordiniert als beim Rückwärtslauf, und beim Stehen ist keine Koordination zwischen ihnen nötig.

Fast alle Verhaltensweisen müssen sich an wechselnde Umweltgegebenheiten anpassen können. Deshalb wird der genaue Ablauf der Bewegungen oftmals von Reflexen beeinflußt (siehe z.B. Bentley und Konishi, 1978). Auch solche Reflexe müssen oft je nach Verhaltenskontext anders ablaufen. So führt ein Tastreiz auf der Oberseite der Pfote einer Katze zu einer Beugung des Beingelenks, solange sich das Bein in einer Schwingphase des Laufens befindet, und zu einer Streckung dieser Gelenke, solange das Bein in der Stemmphase ist (Forssberg et al., 1975).

Sowohl koordinierende Einflüsse als auch Reflexe werden also oft vom Verhaltenskontext abhängig sein. Wie das Nervensystem solche kontextabhängigen Veränderungen vorbringt, ist schwer zu untersuchen. Für eine solche Analyse sind mehrere Voraussetzungen wichtig:

(1) Zunächst sollten die Neurone identifiziert werden können, die an der Generierung einer bestimmten Leistung beteiligt sind. Dies ist um so leichter, je einfacher das Nervensystem eines Organismus aufgebaut ist, d.h., je weniger Neurone es besitzt. Aus dieser Überlegung ergibt sich ein wichtiger Vorteil von "Invertebratensystemen", in denen die Zahl der beteiligten Neurone relativ gering ist.

(2) Die Versuchstiere sollten nur ein begrenztes Verhaltensrepertoire besitzen und deshalb das einzelne Verhalten sehr stereotyp ausführen. Das gilt ebenfalls für viele Invertebraten. Tatsächlich ist es in einigen Invertebratensystemen aus den Gründen (1) und (2) gelungen, den Einfluß einiger weniger Neurone auf das Verhalten zu beschreiben. Als Beispiele seien der Kiemenrückziehreflex von Aplysia (Byrne et al., 1978a; Byrne et al., 1978b), das stomato−gastrische System von Crustaceen (Zusammenfassung: Selverston und Moulins, 1987; Harris−Warrick et al., 1992) und das Flugsystem der Wanderheuschrecken (z.B. Robertson und Pearson, 1985; Wolf, 1991) genannt.

(3) Die verschiedenen Verhaltenszustände eines Versuchstieres sollten klar erkennbar und eindeutig definiert sein, auch wenn das Tier das entsprechende Verhalten gar nicht ausführen kann, weil es im Versuch festgelegt wurde. Wenn diese Verhaltenszustände auch noch vom Experimentator beeinflußt werden können, wäre das ein zusätzlicher Vorteil. Stabheuschrecken besitzen beide Vorteile (Zusammenfassung: Bässler, 1983a).

Das Femur−Tibia−Kontrollsystem der Stabheuschrecken ist aus allen drei genannten Gründen für das Studium der neuronalen Basis kontextabhängiger Variationen in der Arbeitsweise neuronaler Netzwerke besonders geeignet: Das Tier hat ein kleines, klar definiertes Verhaltensrepertoire (Bässler, 1983a), die Verhaltenszustände sind bis zu einem gewissen Grad von außen steuerbar sowie auch im festgelegten Tier klar erkennbar, und der neuronale Aufbau des Systems ist gut bekannt (Zusammenfassungen: Bässler, 1993; Büschges, 1995a).

Untersuchungen an Reflexen in den Beingelenken verschiedener Arthropoden zeigten, daß an der Generierung eines Verhaltens überschaubare Netzwerke von Neuronen beteiligt sind. Gut bekannt sind solche neuronalen Gelenkstellungsregelkreise beim Krebs (z.B. El Manira und Clarac, 1991; El Manira et al., 1991), bei der Wanderheuschrecke (z.B. Burrows, 1989; 1996) und bei der Stabheuschrecke (z.B. Bässler, 1983a; 1993; Büschges, 1990). In der Stabheuschrecke ist der am intensivsten untersuchte Gelenkstellungsregelkreis das Femur−Tibia−Kontrollsystem. In diesem System wird der Femur−Tibia−Winkel von ungefähr 80 der 500 Sinneszellen des femoralen Chordotonalorgans (fCO, Füller und Ernst, 1973; Kittmann und Schmitz, 1992) perzipiert. Die Sinneszellen signalisieren entweder die Position, die Geschwindigkeit oder die Beschleunigung der Tibia oder eine Kombination aus zwei dieser Parameter (Hofmann und Koch, 1985; Hofmann et al., 1985; Büschges, 1994). Die in diesen ca. 80 Afferenzen enthaltene Information wird dann auf 5 hintereinander geschalteten Ebenen jeweils antagonistisch verarbeitet (Abbildung **Fehler! Unbekanntes**

Schalterargument.A): (1) Die Terminalen der Afferenzen im Ganglion erhalten präsynaptische Inhibition von spikenden Interneuronen, die ihrerseits Eingänge von den gleichen, aber auch von anderen fCO−Afferenzen erhalten (Sauer et al., 1997).

(2) Die präsynaptisch gehemmten Afferenzen verschalten auf bestimmte Interneurone (Stabheuschrecke: Büschges, 1989; 1990; Wanderheuschrecke: Burrows, l989; 1996), vorwiegend auf nichtspikende Interneurone. Bisher sind 10 verschiedene identifizierte Typen lokaler nichtspikender Interneurone (NSIs) bekannt, die die sensorische Information verarbeiten und sie zu den Extensor− und Flexor−Motoneuronen weiterleiten (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996). Eine unbekannte Anzahl spikender Interneurone ist an der Verarbeitung beteiligt. Die fCO−Afferenzen projizieren entweder direkt exzitatorisch auf die NSIs oder indirekt (über ein zwischengeschaltetes spikendes Interneuron) inhibitorisch. Das relative Gewicht der direkt erregenden und der indirekt hemmenden Einflüsse ist für jeden der 10 NSIs anders. Deshalb wird die Information des fCOs von diesen Neuronen in jeweils charakteristischer Weise verarbeitet (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996).

(3) Sieben der bekannten nichtspikenden Interneurone wirken erregend auf die beiden erregenden (exzitatorischen) Motoneurone des Extensor−Tibiae−Muskels (FETi = Fast Extensor Tibiae Motoneuron und SETi = Slow Extensor Tibiae Motoneuron). Sie werden E−Neurone genannt (E1 − E7). Drei der bekannten Interneurone wirken hemmend auf FETi und SETi (sogenannte I−Neurone, I1, I2, I4).

Auch auf dieser Ebene gibt es also eine antagonistische Informationsverarbeitung. Der Antagonismus drückt sich aber auch noch in einer anderen Weise aus: Einige E−Typen und einige I−Typen unterstützen nämlich den Widerstandsreflex, während andere E− und I−Typen ihm entgegenwirken (Zusammenfassungen: Bässler, 1993; Büschges, 1995a). Zum Beispiel werden Interneurone des Typs E3 bei einer Dehnung des fCOs depolarisiert, während Interneurone des Typs E7 hyperpolarisiert werden (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996). Beide sind aber exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet. Da fCO−Dehnung FETi und SETi erregt, unterstützt also E3 die SETi−Antwort, während E7 ihr opponiert. Für sich alleine würde E7 die Extensor−Aktivität verringern. Die motoneuronale Aktivität ist daher die Summe von sich widersprechenden Informationen der verschiedenen neuronalen Komponenten.

(4) Die Kontraktion des Extensor−Tibiae−Muskels wird nicht nur von FETi und SETi, sondern auch von dem inhibitorischen Motoneuron CI_1 (Common Inhibitor 1) bestimmt (z.B. Bässler und Stein, 1996).

(5) Die Bewegung ist die Folge der Kontraktionen der antagonistischen Muskeln Extensor− und Flexor−Tibiae (Bässler und Stein, 1996).

Tagsüber vermeiden Stabheuschrecken möglichst jede Bewegung. Aufgezwungene Bewegungen lösen daher einen Widerstandsreflex im Femur−Tibia (FT)−Gelenk aus (Bässler, 1983a). Die Stärke dieses Reflexes ist sehr variabel (bis zu einem Faktor von 50; Bässler, 1974; Kittmann, 1991). Sie wird in Abhängigkeit von verschiedenen externen und internen Parametern verändert. Die Verstärkung steigt nach einer Beunruhigung (Berühren, Anblasen) und sie fällt langsam während längerer Zeit der Ruhe und schnell bei rascher Wiederholung von Reizen (Habituation bzw. habituationsähnlicher Vorgang; Kittmann, 1991; Bässler und Stein, 1996).

Der allmähliche Abfall der Verstärkung bei repetitiver Reizung beruht bei der hier untersuchten Spezies *Cuniculina impigra* (Abbildung **Fehler! Unbekanntes Schalterargument.**B) auf einer zunehmenden Co−Kontraktion von Extensor− und Flexor−Muskeln. Die Aktivität von SETi verändert sich dagegen nur wenig (Bässler und Stein, 1996). Während also diese Art der Verstärkungsabnahme auf eine Muskeleigenschaft zurückgeführt werden konnte, ist bisher über die Ursachen der durch Beunruhigung hervorgerufenen Verstärkungserhöhungen nur wenig bekannt (Bässler, 1993; Kittmann, 1991; 1997; Bässler und Nothof, 1994). Sie werden deshalb im ersten Teil der Arbeit untersucht.

Wenn Stabheuschrecken aktiv werden und laufen, ändern sich Vorgänge auf mehreren Verarbeitungsebenen: (1) Das inhibitorische Motoneuron des Extensor−Muskels wird aktiv und unterdrückt dadurch mögliche

Co−Kontraktionen (Ebenen 4 und 5). Deshalb kann das Extensor−Flexor−System rasche Modulationen der motoneuronalen Aktivität in voller Höhe in Bewegungen umsetzen (Bässler und Stein, 1996). (2) Das neuronale Netzwerk des Femur−Tibia−Kontrollsystems schaltet von der negativen Rückkopplung (Widerstandsreflex) im inaktiven Tier auf die positive Rückkopplung der sogenannten "Aktiven Reaktion" um (Bässler, 1974; 1976; 1986a,b; 1988; Weiland und Koch, 1987). Die positive Rückkopplung synchronisiert die Bewegungsabläufe aller Beine, die sich gleichzeitig in der Stemmphase befinden (Cruse et al., 1997). Gleichzeitig ist die "Aktive Reaktion" auch an der Steuerung des Übergangs von der Stemm− in die Schwingphase beteiligt (Weiland und Koch, 1987; Bässler, 1988).

Bei der "Aktiven Reaktion" werden z.B. auf eine Dehnung des fCOs (signalisiert ein Beugen des FT−Gelenkes) FETi und SETi stark gehemmt (und nicht erregt, wie beim Widerstandsreflex im inaktiven Tier). Erst nach Erreichen einer stark gebeugten Stellung werden sie wieder plötzlich aktiv. Die "Aktive Reaktion" wird vom gleichen Netzwerk hervorgebracht wie der Widerstandsreflex. Es ändert sich vor allem die relative Gewichtung von erregenden und indirekt hemmenden Eingängen auf die nichtspikenden Interneurone (Ebene 2; Bässler und Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1996). Die gemessenen Änderungen sind hinreichend, um die "Aktive Reaktion" zu erklären (Sauer, Bässler, persönliche Mitteilung).

Eine solche verhaltensabhängige Reflexumkehr wurde nach ihrer Entdeckung bei Stabheuschrecken (Bässler, 1973) und Katzen (Forssberg et al., 1975) auch bei verschiedenen Vertebraten− und Invertebratensystemen beschrieben (Zusammenfassung: Pearson, 1995), z.B. bei Katzen (Pearson und Collins, 1993), bei Menschen (Yang und Stein, 1990), bei Krebsen (DiCaprio und Clarac, 1981; Skorupski und Sillar, 1986) und der Wanderheuschrecke (Bässler, 1992; Wolf, 1992).

Wenn das Tier aktiv läuft, müssen sich die Gelenkstellungsregelkreise verschiedener Gelenke und auch die verschiedenen Beine gegenseitig beeinflussen können. Die Beeinflussung verschiedener Gelenkstellungsregelkreise des gleichen Beines wird derzeit von D. Hess bearbeitet (siehe auch Hess und Büschges, 1997). Die FT−Kontrollsysteme verschiedener Beine beeinflussen sich im inaktiven Tier nicht in eindeutiger Weise (Bässler, 1974). Im aktiven Tier sind dagegen deutliche Einflüsse vorhanden. Diese Einflüsse zwischen den FT−Kontrollsystemen verschiedener Beine sind also ebenfalls kontextabhängig. Sie sollen im zweiten Teil der Arbeit untersucht werden.

Die Stabheuschrecke ist zur Untersuchung von kontextabhängigen Reaktionen besonders geeignet, weil hier zwei Verhaltenszustände eindeutig definiert werden können: (1) ein inaktiver und (2) ein aktiver Verhaltenszustand (Bässler, 1983a). In diesen Verhaltenszuständen lösen Elongationsreize am fCO (entsprechen einem Beugen der Tibia) unterschiedliche, aber eindeutige Reaktionen aus. Ähnlich eindeutige Verhaltenszustände liegen bei anderen Tieren nicht vor (z .B. Locusta, Bässler, 1992).

(1) Im inaktiven Verhaltenszustand verharren Stabheuschrecken bewegungslos (Bässler, 1983a). Helles Licht unterdrückt Aktivität so stark, daß die Tiere bewegungslos bleiben (Steiniger, 1933; Kalmus, 1938; Eidmann, 1956; Godden und Goldsmith, 1972). In diesem Zustand zeigen Stabheuschrecken auch das Verhalten der Katalepsie. Von den Extensor−Motoneuronen ist nur das Slow−Motoneuron (SETi) mit niedriger konstanter Frequenz aktiv. Ein Elongationsreiz am fCO löst einen Widerstandsreflex (negative Rückkopplung) aus (Zusammenfassung: Bässler, 1983a; 1993), wobei der Extensor−Muskel erregt und der Flexor−Muskel gehemmt wird. Wird ein Tier leicht gestört, z.B. durch eine kurze Berührung des Abdomens, wird die Stärke dieses Widerstandsreflexes drastisch erhöht (Kittmann, 1991).

(2) Bei andauernder oder heftiger Störung des Tieres wechselt das Tier in den aktiven Verhaltenszustand. Dies zeigt sich dadurch, daß die Tiere aktive Bewegungen mit den Beinen ausführen, und alle Motoneurone des Extensor−Tibiae−Muskels Aktionspotentiale bilden. Wird in diesem Verhaltenszustand ein Dehnungsreiz an das fCO appliziert, wird die "Aktive Reaktion" ausgelöst (Zusammenfassung: Bässler, 1983a).

Es war das Ziel der Arbeit, die neuronale Basis kontextabhängiger Antworten der FT−Kontrollsysteme aufzuklären. Diese neuronale Basis ist bisher vor allem für Verstärkungsänderungen beim Widerstandsreflex und für den Einfluß sensorischer Information auf andere Beine im aktiven Tier nicht bekannt. Deshalb konzentrierte sich die vorliegende Arbeit auf die beiden folgenden Aspekte:

1. Erhöhung der Verstärkung der Reflexantwort nach taktilen Reizen am Abdomen.
2. Erhöhung des Einflusses der sensorischen Information auf andere Beine.

Die Arbeit ist in zwei Teile gegliedert. Im ersten Teil (1) werden die Ergebnisse der Versuche zu Verstärkungsänderungen vorgestellt, im zweiten Teil (2) die Ergebnisse, die aus Versuchen zum Austausch sensorischer Information zwischen verschiedenen Beinen resultierten.

2 Material und Methoden

Alle Versuche wurden an adulten, weiblichen Stabheuschrecken der Art *Cuniculina impigra* Redtenbacher (syn. *Baculum impigrum* Brunner; Abbildung 1B) aus der Zucht der Universität Kaiserslautern unter Tageslichtbedingungen und Raumtemperatur durchgeführt.

2.1 Präparation

2.1.1 Aufbau bei Versuchen zu Verstärkungsänderungen

Die Versuchstiere wurden waagerecht mit der Ventralseite nach unten festgelegt und mit Dentalkleber (Protemp II, Espe) fixiert. Die Coxa und der Femur des rechten Mittelbeines wurden mit der dorsalen Seite nach oben im rechten Winkel zum Körper festgelegt. Das Femur−Tibia−Gelenk ragte mit der Tibia über den Rand der Platte hinaus (siehe Abbildung ###). Ein kleines Fenster wurde dorsal in den Mittelteil des Femurs geschnitten, und die Rezeptorsehne des fCOs in eine Reizfeder eingespannt. Bei Bewegungsmessungen wurde ein Fähnchen zur Beschattung der Photoelekrischen Einheit (siehe 2.3.5 und Abbildung ###) an die Tibia geklebt. Für Kraftmessungen wurde der Tibia ca. 0,5 cm von ihrem proximalen Ende ein Kraftmesser angelegt (FT−Winkel 110°), der die Gesamtkraft von Extensor− und Flexor−Tibiae−Muskel maß. Die motoneuronale Aktivität wurde entweder mit Hakenelektroden oder Drahtelektroden (siehe 2.3.1) abgeleitet. Für intrazelluläre Ableitungen von Afferenzen, Interneuronen und Motoneuronen wurde der Thorax dorsal eröffnet und der Darm zur Seite gelegt.

2.1.2 Aufbau bei Versuchen zum Austausch sensorischer Information zwischen verschiedenen Beinen

Die Versuchstiere wurden waagerecht mit der Ventralseite nach unten befestigt. Coxae und Femora aller Beine wurden mit der dorsalen Seite nach oben festgelegt. Alle Femora wurden auf der Dorsalseite eröffnet.

Die fCO−Rezeptorsehne des rechten und in einigen Fällen zusätzlich des linken Mittelbeins wurde in die Reizfeder eingespannt. Der Extensor−Tibiae−Muskel wurde im gereizten Bein vollständig entfernt, und der Flexor−Tibiae−Muskel und der ihn innervierende Flexornerv wurden proximal im Femur durchtrennt. Damit verminderte sich die während eines Widerstandsreflexes auftretende Kraft und damit auch mögliche Spannungen in der Kutikula, die von den campaniformen Sensillen gemessen werden.

In allen anderen Beinen wurde die Rezeptorsehne des fCOs durchtrennt, und die einzelnen FT−Regelkreise somit geöffnet (Open−loop−Konfiguration). Der F2−Nerv wurde in einem oder mehreren Beinen extrazellulär mit einer Hakenelektrode (Schmitz et al., 1991a; siehe 2.3.1) abgeleitet (Abbildung ###A). Auch in diesen Beinen wurde der Extensor−Tibiae−Muskel entfernt und der Flexor−Tibiae−Muskel proximal im Femur durchtrennt. In anderen Beinen wurde statt der Messung der F2−Aktivität bei intakten Muskeln die Gesamtkraft an der Tibia gemessen (Abbildung 2A). Dazu wurde die entsprechende Tibia in einen Kraftmesser eingespannt (siehe 2.3.4). Nach dorsalem Eröffnen der Tiere und Beiseitelegen des Darms wurde Picrotoxin appliziert und intrazellulär abgeleitet (siehe 2.3.2). Bei der Charakterisierung der kontralateralen Kopplung mittels intrazellulärer Ableitungen wurde zusätzlich zum fCO des rechten Mittelbeins auch das fCO des linken Mittelbeins in eine Reizfeder eingespannt, welches dann unabhängig vom fCO des rechten Mittelbeins gereizt werden konnte (Abbildung ###B).

2.2 Definierte Reizung des fCOs

Zur Reizung des femoralen Chordotonalorgans wurde dessen Rezeptorsehne in eine Klammer (zugespitzte Reißfeder) eingespannt und distal dieser Klammer durchtrennt. Die Reizklammer konnte über einen

Reizgeber (Hellige, He 18 Pen−Motor oder optisch rückgekoppelter Mittelton−Lautsprecher) kontrolliert bewegt werden. Der zum Reizgeber gehörende Funktionsgenerator erzeugte rampenförmige oder sinusförmige Reize, deren Amplitude und Geschwindigkeit verändert werden konnte. Das fCO wurde von einer Stellung aus gereizt, die einer 100° Stellung des Femur−Tibia−Gelenkes entsprach (Abbildung ###A). Die Reizamplitude betrug, soweit nicht anders angegeben, 400 µm, was einer Tibiabewegung von 40° entspricht (Weiland et al., 1986). Bei ramp−and−hold Reizen wurde das fCO zunächst gedehnt, und damit eine Beugung der Tibia von 100° auf 60° angezeigt. Nach einer Haltephase wurde das fCO wieder relaxiert, was einer Streckung der Tibia von 60° auf 100° entsprach. Die verwendeten Geschwindigkeiten der Rampenreizung lagen in einem Bereich von 0,08 mm/s bis 2,5 mm/s (entspricht 8°/s bis 250°/s). Die Frequenz der Sinusreizung lag zwischen 0,1 Hz und 2 Hz. Auch bei Sinusreizung entsprach die Ausgangslage der Tibia der 100° Stellung des FT−Gelenkes (Abbildung 3A).

In allen Versuche blieben die Tiere im inaktiven Verhaltenszustand. Aktive Bewegungen traten dabei nicht auf. Aus diesem Grund ist davon auszugehen. daß die gemessenen Effekte vornehmlich direkt auf die Reizung des fCOs zurückzuführen sind (siehe auch Bässler, 1983a; Büschges, 1989) und nicht etwa auf re−afferente Informationswege, die durch die fCO−Reizung aktiviert wurden. Nur unter dieser Prämisse sind die vorgestellten Ergebnisse gültig. Re−afferente Einflüsse konnten aber in den gewählten Versuchssituationen nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Auf Versuche in einer reduzierten oder deafferentierten Präparation wurde zugunsten einer physiologischen Situation verzichtet. Die Versuchsergebnisse sind daher mit dieser Einschränkung zu interpretieren.

2.3 Ableitungen, Kraftmessungen und Bewegungsmessungen

2.3.1 Extrazelluläre Ableitungen

Die motoneuronale Aktivität wurde am F2−Nerv abgeleitet. Der F2−Nerv enthält, neben einer größeren Zahl kleiner sensorischer Axone, die Axone der drei den Extensor−Tibiae−Muskel innervierenden Motoneurone (Bässler und Storrer, 1980):

- Fast Extensor Tibiae: FETi
- Slow Extensor Tibiae: SETi,

beide wirken exzitatorisch auf den Muskel und

- den Common Inhibitor 1 (CI_1; Abbildung ###B). Die Aktivität des F2−Nervs wurde extrazellulär entweder mit einer modifizierten Hakenelektrode (Schmitz et al., 1991a) oder mit feinen Drähten (Pflüger, 1977) abgeleitet. Bei der letzteren Methode wurden zwei lackisolierte Drähte mit 50 µm Durchmesser durch kleine Öffnungen auf der dorsalen Seite des Femurs eingeführt. Der F2−Nerv wurde mit den Enden der Drähte leicht gegen eine Trachee gedrückt und damit etwas von der Hämolymphe isoliert. Der direkte Kontakt zwischen den Drähten und dem Nerven erzeugte stabile und dauerhafte Ableitungen. Die extrazellulären Signale wurden mit einer optogekoppelten Vorstufe und einem AC−Filtamp (Universität Kaiserslautern) verstärkt. Die Grenzfrequenzen des Bandpaßfilters betrugen: Hochpaßfilter: 100 Hz, Tiefpaßfilter: 2 kHz, 12 dB/okt.

2.3.2 Intrazelluläre Ableitungen

Intrazelluläre Ableitungen im mesothorakalen Ganglion erfolgten grundsätzlich aus dem Neuropil. Sie wurden nach den in Büschges (1990) und Sauer et al. (1995) ausführlich beschriebenen Standardmethoden ausgeführt. In Kürze: Die Tiere wurden dorsal eröffnet, der Darm entfernt und die entstandene Wanne mit Ringer−Lösung (Weidler und Diecke, 1969; Bässler, 1977) gefüllt. Das mesothorakale Ganglion wurde mit einem wachsbeschichteten Ganglionhalter stabilisiert, die Fettkörper des Ganglions entfernt und die Ganglionhülle mit Pronase E (Merck KGaA, Darmstadt) angedaut. Die Aktivitäten der Interneurone wurden in der dorso−lateralen Neuropilregion des mesothorakalen Ganglions abgeleitet. Afferenzen des fCOs wurden in deren Axonen im Nervus cruris, nahe des Eintrittspunkts ins Ganglion, abgeleitet. Alle intrazellulären Ableitungen wurden mit dünnwandigen Glasmikroelektroden (wpi, ∅ 1 mm) durchgeführt, die entweder mit 2M KAc/0,05M KCl (Elektrodenwiderstand 10−20 MΩ) oder 1M LiCl (Schaft−Lösung) und 5% Lucifer Yellow (Spitzenlösung; Elektrodenwiderstand: 40−70 MΩ) gefüllt waren. Wenn nicht anders angegeben, wurde im Brückenmodus abgeleitet. Die abgeleiteten Neurone wurden nach morphologischen und physiologischen Eigenschaften (Büschges, 1990; 1994; Sauer et al., 1996) identifiziert. Dabei wurden die Interneurone E5 und E6 (Büschges; 1990), die sich nur anhand ihrer Positionssensitivität unterscheiden, aus folgenden Gründen zu einer Typklasse zusammengefaßt: (i) Für die in dieser Arbeit verwendete Stabheuschreckenart *Cuniculina impigra* gibt es bisher keine eindeutigen Hinweise auf Unterschiede in der Positionsabhängigkeit beider Neuronentypen (Sauer, persönliche Mitteilung). (ii) Nicht in allen Ableitungen wurden verschiedene Positionsreize getestet.

2.3.3 Ein−Elektroden−Stromklemme

Die Methode der Ein−Elektroden−Stromklemme stellt eine besondere Form der intrazellulären Ableitung dar. Mit der Elektrode können dabei, unter Ausnutzung der Elektrodeneigenschaften, gleichzeitig das zelluläre Membranpotential abgeleitet und kontrolliert Ströme in die Zelle appliziert werden. Dies wird möglich durch einen schnellen Wechsel zwischen Spannungsmessung und Stromapplikation (Wechselfrequenz hier immer 10 kHz). Bei einer Applikation von Strompulsen können die resultierenden Spannungssprünge als Maß für den relativen Eingangswiderstand des jeweiligen Neurons benutzt werden, weil nach dem Ohmschen Gesetz der Membranwiderstand umgekehrt proportional zum Spannungssprung ist. Es wurden negative Strompulse verschiedener Amplitude
(−0,5nA bis −5nA) und Zeitdauer (100ms bis 300ms) appliziert, und die Amplitude der resultierenden Spannungssprünge als relatives Maß für den Eingangswiderstand der abgeleiteten Neurone verwendet (ausführliche Begründung dieser Methode siehe Wolf und Burrows, 1995). Der Eingangswiderstand eines Neurons weist auf die synaptischen Ereignisse am Neuron hin. Eine Abnahme des Eingangswiderstands weist zum Beispiel auf eine Öffnung von Ionenkanälen, und damit auf eine Zunahme von Ionenleitfähigkeiten über die Neuronenmembran, hin. Wenn das Neuron während der Abnahme des Eingangswiderstands zum Beispiel hyperpolarisiert wurde, bedeutete das eine Zunahme inhibitorischer Ionenströme über die Membran des Neurons.

2.3.4 Kraftmessungen

Zur Messung der Gesamtkräfte der Tibien verschiedener Beine wurden Kraftmesser (Swema SG−02109) verwendet, die jeweils mit einer Meßbrücke (Hellige TF119) verbunden waren. Die Meßanordnung ist linear und hat eine hohe Nullwert−Stabilität (Bässler, 1974). Die Kraftmesser wurden an die jeweilige Tibia (Femur−Tibia−Winkel 110°) geklemmt (indirekte Kraftmessung). Es wurden nur relative Kräfte gemessen, also die Einheiten nicht in tatsächlich aufgebrachte Kraft umgerechnet.

2.3.5 Photoelektrische Registrierung der Tibiastellung

Der Femur−Tibia−Winkel wurde mittels optoelektronischer Bauteile aufgezeichnet (Abbildung 4; Details siehe Weiland et al., 1986; Bässler und Nothof, 1994). Coxa und Femur des zu untersuchenden Beins wurden so festgelegt, daß die Tibia in einer vertikalen Ebene beweglich war. Die Apparatur war berührungsfrei und mechanische Kopplungen eines Meßgeräts mit der Tibia waren nicht nötig. Das Femur−Tibia−Gelenk wurde vor dem Mittelpunkt des halbkreisförmigen Spaltes des sonst geschlossenen Gehäuses einer Photodiode positioniert (Bässler und Foth, 1982; Weiland et al., 1986). Das Ganze wurde von einer gegenüberliegenden Konstantlichtquelle beleuchtet. Das Meßsignal der durch ein Fähnchen an der Tibia beschatteten Photozelle wurde mit einem Photostromverstärker verstärkt und als lineare Meßspannung aufgezeichnet, wobei die maximale Auflösung 1° betrug. Jede Messung wurde nach Versuchsende geeicht, um den Einfluß eventuell geänderter Beleuchtung (durch unterschiedliche Raumhelligkeit) auszugleichen. Es konnten Tibiastellungen zwischen 20° (maximale Beugung) und 180° (maximale Streckung) registriert werden.

2.4 Aufzeichnung und Auswertung

Alle gemessene Signale (extrazellulär, intrazellulärer Spannungs− und Stromverlauf, Tibiaauslenkung und Kraft) wurden zusammen mit entsprechender Reizpositionsspur und deren Triggersignalen auf digitalem Band (DAT) mit einem DAT−Rekorder der Firma Biologic (DTR−1802) aufgezeichnet. Die einzelnen Kanäle wurden dann über ein A/D−Interface (DT 2821/F 16 SE AD/DA Karte; Stemmer, DATA−Translation) in einen 40 MHz DOS 486 Rechner eingelesen. Zur Erfassung der Daten wurde das Programm Turbolab V4.0 (Stemmer) benutzt, mit einer Abtastrate von 5 kHz für die intrazellulären und bis zu 10 kHz für die extrazellulären Ableitungen. Die erhaltenen DAT−Dateien wurden mit dem Programm tl_spike V2.0 (H. Hemker, O. Noack, T. Zäckel) in ein für das Auswerteprogramm erkennbares Fileformat umgewandelt. Die Daten wurden zur weiteren Auswertung in dem Programm "Spike 2" (Cambridge Electronics CO, Fa. Science Products, V3.14) verwendet. So wurden von F2−Ableitungen PST−Histogramme erstellt (mit BINbreiten von 0,1 oder 0,5 Sekunden), von Kraft, intrazellulären Potentialen und der Tibiaauslenkung Minima, Maxima, Phasenverschiebungen und Frequenzen bestimmt. Hierzu wurden in "Spike 2" verschiedene Befehlsfolgen (sog. Makros) erstellt und mit diesen Off−Line die Meßsignale bearbeitet. Die Ergebnisse wurden als ASCII−Files gespeichert und dann in das Auswerteprogramm "Plotit for Windows v3.1 bzw. v3.2" (Scientific Programming Enterprises) übernommen. Die Ausgabe erfolgte dann auf einem Drucker (HP Laserjet III / 4L / 5L; bzw. Deskjet 550C). Originalsequenzen wurden entweder mit Hilfe von "Spike 2" erstellt oder mit einem Schreiber vom Typ Yokogawa OR 2300A gedruckt und dann mit einem Twain−Flachbettscanner (Mustek) eingelesen.

2.5 Picrotoxin−Applikation

Die Verdünnungsreihen des Picrotoxins waren 10^{-5}M und 10^{-4}M in Ringer, angesetzt aus 10^{-2}M Stammlösung in DMSO (Dimethyl−Sulfoxid), die tiefgekühlt aufbewahrt wurde. Picrotoxin wurde tropfenweise auf das Mesothorakalganglion appliziert. Hierzu wurde das Mesothorakalsegment von dorsal eröffnet und der Darm zur Seite gelegt. Die so gebildete Wanne wurde zunächst mit *Carausius*−Ringer (WD−Ringer, nach Weidler und Diecke, 1969; Bässler, 1977) gefüllt ("Kontrolle"), der bei Picrotoxin−Applikation durch Ringer/Picrotoxin Verdünnungen ("+PCT") ersetzt wurde.

2.6 Messung graduierter Potentiale

Nichtspikende Interneurone (NSIs) sind erregend oder hemmend mit den Motoneuronen verschaltet. Ihre Transmitterausschüttung ist graduiert und hängt von ihrem aktuellen Membranpotential ab, welches sich entsprechend der Stimulation des fCOs ändern kann (Büschges, 1990). Der Beitrag einzelner NSIs zu Verstärkungsänderungen wurde durch einen Vergleich der De− bzw. Hyperpolarisation während der rampenförmigen fCO−Dehnung und der Modulation der SETi−Aktivität abgeschätzt. Es wurde dazu das Integral [mV*s] des NSI−Spannungsverlaufs während der fCO−Dehnung oberhalb bzw. unterhalb des Membranpotentialwertes vor Rampenbeginn berechnet (Abbildung ###A) und als Maß für die NSI−Reaktion benutzt. Die Modulation der SETi−Aktivität wurde als Differenz zwischen mittlerer extrazellulärer Aktivität während und vor der rampenförmigen fCO−Dehnung errechnet, so daß nur die Zunahme der Aktionspotentialfrequenz gemessen wurde (siehe Abbildung 5B). Da diese Auswertung nur den Rampenteil des fCO−Stimulus einbezieht, beschränkte sich dieser Teil der Analyse auf den geschwindigkeitssensitiven Anteil des Widerstandsreflexes.

Eine entsprechende Auswertung wurde auch zur Messung der präsynaptischen Inhibition in sensorischen Neuronen des fCOs gemacht. Dabei wurde das Integral der Depolarisation unter den Aktionspotentialen errechnet und mit der jeweiligen SETi−Modulation verglichen. In positionssensitiven Afferenzen wurde dabei sowohl das Integral der Depolarisation, als auch die SETi−Modulation während der Rampen− und Haltephase der fCO−Dehnung gemessen.

2.7 Niedrige und hohe Regelkreisverstärkung

In den Versuchen zu Verstärkungsänderungen wurden die intrazellulären Antworten der neuronalen Elemente während fCO−Stimulation in zwei verschiedenen Situationen verglichen: (i) Nach einer langen Serie von Rampenreizen am fCO (hier: "niedrige Regelkreisverstärkung", siehe Kittmann, 1991) und (ii) nach taktiler Stimulation des Abdomens mit einem Pinsel. Ein solcher taktiler Reiz erhöht die Verstärkung des Widerstandsreflexes bis zu einem Faktor von 50 (Bässler, 1974; Kittmann, 1991). Im folgenden wurde diese

Situation "hohe Regelkreisverstärkung" genannt.

2.8 Auswertung der Ergebnisse

2.8.1 Quantitative Auswertungen

Die Regressionkurven für die Korrelation zwischen dem Integral der intrazellulären Reaktion und der Zunahme der motoneuronalen Aktivität (SETi−Modulation) wurden mit dem Statistikpaket von Plotit for Windows v3.1 bzw. v3.2 (Scientific Programking Enterprises, Haslett, USA) errechnet. Statistische Unterschiede zwischen Mittelwerten wurden nach einem modifiziertem *t*−Test für ungleiche Varianzen (Dixon und Massey, 1969) errechnet. "N" nennt die Anzahl der Ableitungen bzw. Tiere; "n" gibt die Anzahl der jeweils gemessen Ereignisse eines Tieres an. Ein Signifikanzniveau von $P<0,001$ wurde mit "**" gekennzeichnet, eines von $P<0,05$ mit "*". Signifikanzniveaus von $P>0,05$ wurden als "nicht signifikant" bezeichnet.

2.8.2 Qualitative Auswertungen

In beiden Hauptteilen der Arbeit wurden Verhaltenssituationen untersucht, deren Ausprägung sehr unterschiedlich zwischen den verschiedenen Tieren war. Zum Beispiel unterschieden sich die Verstärkungszustände der verschiedenen Tiere und auch die relative Zunahme der Verstärkung nach einem taktilen Reiz am Abdomen (siehe 3.2). Die taktilen Reize lösten ab und zu aktive Beinbewegungen und auch "Aktive Reaktionen" (Zusammenfassung: Bässler, 1983a, 1993) aus. Im Anschluß an solche Ereignisse veränderten sich sowohl Spontanaktivität als auch Verstärkung des Widerstandsreflexes (Driesang, Sauer, persönliche Mitteilung).

Im zweiten Teil der Arbeit wurde Picrotoxin (PCT) zur Ringerlösung hinzugegeben. Nach einer PCT−Applikation traten unterschiedlich starke Ausprägungen der kontralateralen Kopplung auf (siehe 4.2). In der letzteren Situation kam hinzu, daß die Wirkung des Pharmakons mit der Zeit zunahm (siehe auch Abbildung 21 in Stein, 1995). Die Zunahme war zudem konzentrationsabhängig und zwischen verschiedenen Tieren unterschiedlich. Der Beginn der Wirkung und die Zeit, während der unter PCT−Einwirkung reizinduzierte Aktivität abgeleitet werden konnte, waren ebenfalls konzentrationsabhängig (Abbildung 16 in Stein, 1995). Eine höhere Konzentration löste einen früheren Beginn der PCT−Wirkung aus, verkürzte aber auch die Zeit, in der reizinduzierte Aktivität gemessen werden konnte. Daher stand für die Messungen nach PCT−Applikation nur ein Zeitfenster von maximal 20 Minuten zur Verfügung, in der der Effekt stetig, aber nichtlinear zunahm. Alle Messungen und Abbildungen, die im 2. Teil dieser Arbeit vorgestellt werden, wurden aus Ableitungen innerhalb dieses Zeitfensters erstellt.

Es gibt zwei Möglichkeiten, die Ergebnisse solch variabler Experimente zu quantifizieren: Zum einen kann ein einzelnes Tier quantitativ beschrieben, und mit einem Vergleich zu den Resultaten der anderen Tiere auf eine qualitative Aussage geschlossen werden. Zum anderen können die Mittelwerte der Resultate einzelner Tiere quantitativ verglichen werden, um dann zu einer qualitativen Aussage der Effekte zu gelangen. In dieser Arbeit wurde die erste Variante gewählt, da die Mittelwerte der einzelnen Tiere wegen der oben genannten Gründe sehr stark voneinander abwichen, die qualitativen Effekte aber jeweils gleich waren.

3 Versuche zur Verstärkungskontrolle

3.1 Problem

Viele Stabheuschreckenarten sind auf eine optimale Tarnung in ihrer Umgebung angewiesen, da sie gegenüber Freßfeinden keine Verteidigungsmechanismen besitzen. Dies ist auch bei *Cuniculina impigra* (Abbildung ###B) der Fall. Diese Tarnung, die Zweigmimese, war namensgebend für die gesamte Tiergruppe. Die Zweigmimese wird erreicht durch Besonderheiten im Körperbau und Verhalten der Tiere. Zu den Besonderheiten im Körperbau gehören die Streckung des Körpers (Meso– und Metathorax), sowie eine konkave Form der Vorderbeinfemora, die es erlaubt, die Vorderbeine in der Körperlängsachse verharren zu lassen. Die Verhaltensanpassungen der Zweigmimese sind besonders im Licht gut ausgeprägt, wenn das Tier von Freßfeinden gesehen werden kann. Licht unterdrückt die Spontanaktivität, die Vorderbeine werden in Körperlängsachse angelegt und das Tier zeigt die sogenannte Katalepsie (Abbildung ###B; Details siehe Bässler, 1983a). Katalepsie bedeutet, daß eine der Stabheuschrecke aufgezwungene Beinhaltung (und kurzer Haltephase) nach dem Loslassen scheinbar beibehalten wird. Tatsächlich kehrt das Bein aber äußerst langsam (mit Gelenkwinkelgeschwindigkeiten bis herunter zur Winkelgeschwindigkeit des Stundenzeigers einer Uhr) in seine Ausgangslage zurück. Diese langsame Rückkehrbewegung kann von einem Beobachter (Freßfeind) nicht wahrgenommen werden, und führt somit nicht zur Entdeckung der Tiere.

Wie Godden (1974) und Bässler (1972a) zeigen konnten, liegen Widerstandsreflexe im FT–Gelenk der Stabheuschrecke dem Verhalten der Katalepsie, zumindest für dieses Gelenk, zugrunde. Wie schon in der Einleitung erwähnt, wird in inaktiven, ruhenden Stabheuschrecken vom FT–Regelkreis ein robuster Widerstandsreflex generiert, dessen Stärke (die Regelkreisverstärkung) sehr stark variieren kann. Nach einer Störung des Tieres, z.B. durch eine taktile Reizung des Abdomens oder eines anderen Körperteils, wird die Verstärkung kurzfristig erhöht (z.B. Kittmann, 1991). Sie nimmt ab in Perioden ohne Störung und bei Habituation oder habituationsähnlichen Prozessen mit andauernder gleichförmiger fCO–Reizung (Abbildung 6; Bässler, 1974; Kittmann, 1991; 1997; Bässler und Nothof, 1994; Bässler und Stein, 1996). Die Regelkreisverstärkung, gemessen als das Verhältnis von Änderung des FT–Winkels zur Amplitude des die Bewegung auslösenden fCO–Reizes, wird von 2 Faktoren beeinflußt, nämlich der Aktionspotentialfrequenz der beteiligten Motoneurone und der Co–Kontraktion der Extensor– und Flexor–Muskeln (Bässler und Stein, 1996).

Durch eine Erhöhung der Verstärkung kann eine Rückbewegung der Tibia nach einer passiven Auslenkung besser abgebremst werden. Deshalb erniedrigt eine Erhöhung der Verstärkung die Rückkehrgeschwindigkeit, verbessert also die Katalepsie (Bässler, 1972a). Eine Erhöhung der Verstärkung kann also im Falle der Stabheuschrecke als Verhaltensanpassung zur Verbesserung der Katalepsie angesehen werden.

In der Spezies *Carausius morosus* wird ein Abfall der Verstärkung bei repetitiven Reizen exakt von den Charakteristika des Fast Extensor Tibiae (FETi) und des Slow Extensor Tibiae (SETi) Motoneurons wiedergegeben (Kittmann, 1997). Diese Form des Verstärkungsabfalls wird daher Habituation genannt. Habituation wirkt als ein Kontrollmechanismus, der die Verstärkung entsprechend den Anforderungen der Katalepsie gerade so hoch hält, daß keine Regelschwingungen auftreten (Kittmann, 1991). In der Spezies *Cuniculina impigra* habituiert nur die Reaktion des FETi (Bässler, 1983b). Die SETi–Antwort verändert sich während einer repetitiven Stimulation kaum und der Abfall in der Verstärkung resultiert aus einer allmählich zunehmenden Co–Kontraktion der Extensor– und Flexor–Muskeln und kann daher nur als habituationsähnlicher Prozeß beschrieben werden (Bässler und Stein, 1996).

Eine Verstärkungserhöhung, die durch eine Störung des Tieres ausgelöst wurde, drückt sich in beiden Spezies dagegen als eine Zunahme der Aktivität von SETi und FETi aus. Es konnte gezeigt werden, daß die SETi–Aktivität in diesem Fall als ein Monitor für die Systemverstärkung des Gesamtreflexes benutzt werden kann, sowohl in *Carausius morosus* (Kittmann, 1997), als auch in *Cuniculina impigra* (Abbildung 7A,B;

Stein, 1995). Da der Versuchsteil dieser Arbeit repetitive Stimulationen ohne Habituationseinfluß benötigte, wurde *Cuniculina impigra* als Versuchstier gewählt. Das Ziel war es, die Beteiligung neuronaler Elemente des FT−Regelkreises an Verstärkungsänderungen des Widerstandsreflexes aufzuzeigen. Die Untersuchungen wurden auf verschiedenen Ebenen der Informationsverarbeitung im Netzwerk durchgeführt, nämlich an Motoneuronen, Interneuronen und sensorischen Neuronen des fCOs.

Neuere Untersuchungen am FT−Gelenk der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria* zeigten, daß Veränderungen der Reflexstärke korreliert mit Veränderungen der stimulusbezogenen Eingänge der Motoneurone auftreten. Erste Daten deuten darauf hin, daß das prämotorische Netzwerk zumindest teilweise zu diesen Veränderungen beiträgt (Büschges und Wolf, 1996). Als möglicher Mechanismus für solche Verstärkungsänderungen wurde auch die präsynaptische Inhibition der Terminalen der sensorischen Neurone diskutiert (Burrows und Matheson, 1994; Büschges und Wolf, 1996).

Im folgenden wurde nun untersucht, ob dieser Mechanismus tatsächlich zu Verstärkungsänderungen beiträgt, oder ob auch andere Mechanismen im FT−Regelkreis eine Rolle spielen. Dabei wäre an den Beitrag spezieller Typen von Interneuronen zur Veränderung der Reflexstärke zu denken.

Um diese Fragen zu beantworten, wurden Untersuchungen in folgenden neuronalen Elementen des FT−Kontrollsystems gemacht:

1. Den Extensor−Motoneuronen: Hier gibt es mindestens drei verschiedene Mechanismen, die zu einer Zunahme der Aktivität (und damit der Regelkreisverstärkung) führen könnten: (i) Änderungen in der Informationsverarbeitung im prämotorischen Netzwerk (Interneurone, sensorische Neurone) könnten zu einer Zunahme der stimulusbezogenen synaptischen Eingänge auf die Motoneurone führen. (ii) Ein konstanter depolarisierender Eingang auf SETi/FETi könnte deren Membranpotential tonisch in Richtung der Spikeschwelle verschieben. (iii) Eine konstante Zunahme des SETi/FETi−Membranwiderstandes könnte eine höhere Erregbarkeit bewirken, obwohl die synaptischen Eingänge an sich unverändert blieben.

Um zwischen diesen Möglichkeiten zu unterscheiden, wurde intrazellulär aus den Motoneuronen abgeleitet und deren Antwort vor und nach Verstärkungserhöhung gemessen. Dabei ergab sich, daß (i) realisiert ist.

2. Es mußten daher im nächsten Schritt die nichtspikenden Interneurone untersucht werden. Diese Neurone spielen eine zentrale Rolle in der Verarbeitung der sensorischen Information des fCOs (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996). Ein Beitrag dieser Neurone zu Verstärkungsänderungen deutete sich schon in anderen Studien an (Büschges und Wolf, 1996). Deshalb wurden im folgenden individuelle identifizierte nichtspikende Interneurone auf deren Beitrag zu Verstärkungsänderungen getestet.

3. Verstärkungsänderungen könnten auch von den sensorischen Afferenzen des fCOs verursacht werden: Diese Afferenzen sind entweder direkt (Burrows, 1987) oder, nachdem sie vorher präsynaptisch gehemmt worden sind, über polysynaptische Bahnen mit den Motoneuronen verschaltet (Zusammenfassungen: Burrows, 1994; Büschges, 1995a). Verstärkungserhöhungen könnten einmal durch eine Zunahme der Aktivität dieser sensorischen Neurone ausgelöst werden (evtl. verursacht durch eine veränderte neuromodulatorische Umgebung; Ramirez et al., 1993), oder durch eine Abnahme der präsynaptischen Inhibition in deren Terminalen, wie Burrows und Laurent (1993) vermuteten.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Welche Mechanismen bestimmen die Zunahme der motoneuronalen

Aktivität?

Nach einem taktilen Reiz am Abdomen des Tieres erhöht sich die Regelkreisverstärkung, was sich auch in der Zunahme der Aktionspotentialfrequenz der Extensor−Motoneurone ausdrückt (Stein, 1995; Kittmann, 1997). Diese könnte durch eine Zunahme der stimulusbezogenen synaptischen Eingänge, durch eine tonische Depolarisation des Motoneurons oder durch eine tonische Zunahme des Membranwiderstandes ausgelöst werden. Um zwischen diesen Möglichkeiten unterscheiden zu können, wurde intrazellulär von den beiden exzitatorischen Motoneuronen abgeleitet und zwar sowohl nach längerer Ruhe als auch nach einer taktilen Reizung des Abdomens.

Die Ableitungen des Slow Extensor Motoneurons SETi (N=6 Tiere) zeigten, daß bei einer Erhöhung der Gesamtverstärkung des Regelkreises nur die Amplitude der stimulusbezogenen synaptischen Eingänge erhöht war. Diese Aussage ergibt sich aus den folgenden Befunden:

1. In allen Ableitungen erhöhten sich nach taktilem Reiz, also bei hoher Regelkreisverstärkung, nur die Amplituden der stimulusbezogenen Depolarisationen während der fCO−Dehnung (Abbildung 8A,B). In diesem Versuch wurde das Motoneuron mit einer Strominjektion von −2nA tonisch hyperpolarisiert, um die spontane Aktionspotentialfrequenz zu vermindern. Das Ausgangspotential (Membranpotential bei relaxiertem fCO) dagegen blieb in 5 von 6 Tieren unverändert, nur in einer Ableitung konnte eine leichte tonische Depolarisation (+0,8± 0,3mV, n=6 taktile Reize) festgestellt werden. Abbildung ###C zeigt eine Messung der Amplitude der SETi−Depolarisation im Verlauf mehrerer fCO−Stimuli vor, während und nach taktilem Reiz. Die Amplitude war bei hoher Verstärkung erhöht, verkleinerte sich aber im Verlauf einiger ramp−and−hold Reize wieder, und kehrte schon nach wenigen Sekunden wieder auf die ursprüngliche Höhe zurück.
2. Würde sich eine tonische Verschiebung des SETi−Membranpotentials überhaupt auf die Regelkreisverstärkung auswirken und nicht nur die Ausgangslage des Gelenkes verändern? Entsprechende Versuche mit künstlicher Verschiebung des SETi−Membranpotentials zeigten, daß dies tatsächlich Auswirkungen auch auf die Regelkreisverstärkung hatte. Wenn SETi z.B. tonisch hyperpolarisiert wurde (Abbildung 9), verschob sich die Tibiaposition nicht nur zu gebeugteren Winkeln, sondern auch die Amplitude der Streckung der Tibia bei einem Dehnungsreiz am fCO verringerte sich, während die Beugung der Tibia bei Relaxationsreiz unbeeinflußt blieb. Dies bedeutet für die Dehnung des fCOs eine Abnahme der Regelkreisverstärkung (Verstärkung = Verhältnis aus Bewegungs− und Reizamplitude). Bei einer künstlichen tonischen Depolarisation des Motoneurons zeigte sich neben einer Verschiebung der Tibiaposition zu gestreckteren Winkeln (ausgelöst durch die erhöhte tonische Aktivität) auch eine Zunahme der Amplitude der Tibiastreckung (Abbildung ###, rechts) und damit der Regelkreisverstärkung. Entsprechende Ergebnisse wurden in 2 Tieren gemessen.
3. Es konnte nur während der rampenförmigen fCO−Dehnung eine Veränderung des SETi−Eingangswiderstands bei hoher Verstärkung festgestellt werden, nicht aber eine tonische Veränderung. In Versuchen mit der Technik der Ein−Elektroden−Stromklemme (N=4 Tiere) konnte in allen Fällen gezeigt werden, daß bei einer Erhöhung der Regelkreisverstärkung der Membranwiderstand abnahm, und zwar nur während der rampenförmigen fCO−Dehnung (Abbildung 10A,B). Bei hoher Verstärkung (Abbildung ###A, rechts) verminderten sich die durch die Strompulse erzeugten Spannungssprünge während der rampenförmigen fCO−Dehnung im Vergleich zu den Spannungssprüngen bei niedriger Verstärkung (Abbildung ###A,B). Diese Veränderungen der Spannungsspünge bei Änderung der Verstärkung waren statistisch signifikant ($P<0,001$, Abbildung ###C). Ebenso waren die Spannungssprünge während der Ruheposition des fCOs und während der fCO−Dehnung signifikant verschieden (bei niedriger und hoher Regelkreisverstärkung, Abbildung ###C, $P<0,001$). Dies bedeutete eine Abnahme des Membranwiderstands des Motoneurons während der fCO−Dehnung, und zwar um so stärker, je höher die Regelkreisverstärkung war. Im Gegensatz dazu konnte in keiner anderen Phase des fCO−Reizes eine Veränderung des Eingangswiderstands gemessen werden. Das bedeutet, daß nur während der rampenförmigen fCO−Dehnung zusätzliche Ionenkanäle geöffnet wurden und somit eine höhere Ionenleitfähigkeit über der Membran des Motoneurons auftrat.

FETi, das zweite exzitatorische Motoneuron des Extensor−Muskels, ist nicht spontan aktiv und wird nur bei hohen Regelkreisverstärkungen kurzzeitig überschwellig aktiviert (Bässler, 1983a,b; Kittmann, 1991). Trotzdem spiegelt sein (unterschwelliger) Membranpotentialverlauf die Stimulation des Chordotonalorgans in gleicher Weise wider wie SETi. Die Untersuchungen des FETi−Membranpotentialverlaufs lieferten ähnliche Ergebnisse wie die des SETi. Nach einem taktilen Reiz konnte keine konstante Depolarisation des Membranpotentials festgestellt werden, nur die Amplitude der stimulusbezogenen Depolarisationen während der Rampenphase der fCO−Dehnung waren erhöht (Abbildung 11; N=3 Tiere). Da bei beiden exzitatorischen Extensor−Motoneuronen keine konstante Verschiebung des Membranpotentialverlaufs der Motoneurone festgestellt werden konnte, und zumindest bei SETi auch keine Veränderung des Eingangswiderstands bei hoher Regelkreisverstärkung auftrat, scheint die Zunahme der stimulusbezogenen Depolarisationen nicht durch eine Veränderung der Eigenschaften der Motoneurone selbst, sondern präsynaptisch zu den Motoneuronen verursacht zu werden, z.B. durch eine Erhöhung der unterstützenden und eine Verminderung der widersprechenden synaptischen Eingänge. Dieses Ergebnis unterstützt ein Experiment aus Bässler (1993): Die SETi−Aktionspotentialfrequenz (als Maß für die Regelkreisverstärkung) direkt nach dem Ende einer rampenförmigen fCO−Dehnung war nicht mit der SETi−Aktionspotentialfrequenz vor Reizbeginn (als Maßstab für den tonischen Eingang) korreliert.

3.2.2 Trägt die Aktivität der sensorischen Neurone zur Verstärkungserhöhung bei?

Die sensorischen Neurone sind entweder direkt (Burrows, 1987) oder über polysynaptische Wege (Burrows, 1994; Büschges, 1995a; Sauer et al., 1996) auf die Extensor−Motoneurone verschaltet. Eine Zunahme der stimulusbezogenen synaptischen Eingänge zu den Motoneuronen (wie oben gezeigt) könnte auf einer Zunahme der Aktionspotentialfrequenz der Afferenzen beruhen.

Um zu testen, ob die Aktionspotentialfrequenzen der fCO−Afferenzen mit Änderungen in der Regelkreisverstärkung moduliert werden, wurden die Aktivitäten verschiedener Typen von Afferenzen (geschwindigkeits− und positionssensitiver) während fCO−Reizung abgeleitet. Bei geschwindigkeitssensitiven Neuronen wurde die Aktionspotentialfrequenz während der Rampenphase der fCO−Dehnung gemessen, bei positionssensitiven Neuronen während der gesamten fCO−Dehnung (Rampe und Haltephase). Sie wurde daraufhin mit der jeweiligen Modulation der SETi−Aktivität (siehe Material und Methoden) als Maß der Regelkreisverstärkung verglichen. Abbildung 12A zeigt die intrazelluläre Ableitung eines geschwindigkeitssensitiven sensorischen Neurons während ramp−and−hold Reizung des fCOs. Nach taktilem Stimulus (Pfeil) zeigte sich eine erhöhte motoneuronale Aktivität, aber keine Veränderung der Aktionspotentialfrequenz der Afferenz. Bei hoher Regelkreisverstärkung war die Aktionspotentialfrequenz keines der abgeleiteten sensorischen Neurone (N=50) signifikant von der Aktionspotentialfrequenz bei niedriger Regelkreisverstärkung verschieden (P>0,2 für jeweils n=10 fCO−Stimuli). Es bestand auch in keinem Fall eine Korrelation zwischen der Aktionspotentialfrequenz geschwindigkeitssensitiver Afferenzen und der SETi−Modulation. Das wurde auf zwei Arten getestet: (1) Es wurde die gesamte Aktivität während mehrerer Rampen aufgezeichnet, ein Aktionspotential jeweils als Punkt dargestellt und jeder Reizzyklus (von Rampenbeginn bis zum nächsten) untereinander aufgetragen (Abbildung ###B). Selbst bei hoher Regelkreisverstärkung (rot) konnte kein Unterschied in der Entladungscharakteristik der Afferenz im Vergleich zu niedriger Verstärkung (blau) festgestellt werden. (2) Es wurde die mittlere Aktionspotentialfrequenz geschwindigkeitssensitiver Afferenzen während der rampenförmigen fCO−Dehnung gegen die SETi−Modulation aufgetragen (Abbildung ###A). Auch hier wurde in keinem Fall (insgesamt N=35) eine Korrelation gefunden. Abbildung 13B zeigt den Vergleich mehrerer geschwindigkeitssensitiver Afferenzen. Dabei wurde die SETi−Modulation auf den Maximalwert normiert.

In Abbildung 14A wurde aus einer positionssensitiven fCO−Afferenz in verschiedenen Verstärkungszuständen abgeleitet. Auch in Neuronen, die diesen Stimulusparameter kodierten (insgesamt N=15), zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Aktionspotentialhäufigkeit zwischen niedriger und hoher Verstärkung (Abbildung ###A,B; P>0,2 für jeweils n>7 fCO−Stimuli). Ein Vergleich mehrerer positionssensitiver Afferenzen ergab keinen Zusammenhang zwischen Aktionspotentialfrequenz der Afferenzen und der (normierten) SETi−Modulation (Abbildung ###C).

Bei einer durch Abdomenreizung hervorgerufenen Verstärkungsänderung änderten sich also die Charakteristika geschwindigkeits− und positionssensitiver Afferenzen nicht.

3.2.3 Ist die präsynaptische Inhibition der Afferenzen an der Verstärkungskontrolle beteiligt?

Um diese Hypothese zu testen, wurde die Stärke der präsynaptischen Inhibition bei niedriger Regelkreisverstärkung mit der Stärke bei hoher Regelkreisverstärkung verglichen. Abbildung 15A zeigt die Ableitung einer geschwindigkeits− und positionssensitiven fCO−Afferenz. Eine Depolarisation kann während der Rampen− und Haltephase der fCO−Dehnung erkannt werden (PAD = primary afferent depolarization; Burrows, 1994; Sauer et al., 1997), deren Amplitude sich mit der Amplitude des fCO−Reizes änderte. Diese Depolarisation führt zu einer Verkleinerung der Aktionspotentialamplitude (Abbildung ###B, Beispiel einer geschwindigkeitssensitiven Afferenz). Abbildung ###C zeigt, daß während der rampenförmigen Reizung des fCOs der Eingangswiderstand der Axonmembran durch die Zunahme synaptischer Ionenströme abnimmt.

Im folgenden wurde nun untersucht, ob sich die Amplitude dieser Depolarisationen in Abhängigkeit von der Regelkreisverstärkung verändert. Abbildung 16A zeigt eine intrazelluläre Ableitung einer geschwindigkeitssensitiven Chordotonalorgan−Afferenz bei ramp−and−hold Reizung am fCO und taktiler Reizung am Abdomen des Tieres. Obwohl sich nach taktilem Reiz eine Zunahme der motoneuronalen Aktivität (und somit auch der Regelkreisverstärkung) während der fCO−Dehnung ergab, zeigte sich kein Unterschied in der Höhe der präsynaptischen Depolarisation (Abbildung ###B).

In Abbildung 17A wurde die Höhe der präsynaptischen Inhibition einer anderen geschwindigkeitssensitiven Afferenz bei niedriger (links) und bei hoher (rechts) Regelkreisverstärkung verglichen. Zur quantitativen Erfassung wurde das Integral der Depolarisation errechnet (siehe Abbildung ###A). Das Integral war, wie in allen anderen der getesteten Afferenzen (N=20), nicht signifikant mit der Modulation des motoneuronalen Ausgangs korreliert (Abbildung ###C; immer P>0,2 für jeweils n>7 fCO−Stimuli). In dieser Abbildung wurde zum Vergleich noch eine zweite geschwindigkeitssensitive Afferenz eingetragen (insgesamt N=14). Auch in positionssensitiven Afferenzen (insgesamt N=6) konnte kein Zusammenhang zwischen der präsynaptischen Inhibition und der Modulation der SETi−Aktivität gefunden werden (Abbildung ###C; Vergleich zweier positionssensitiver Afferenzen). Dies deutet darauf hin, daß die Stärke der präsynaptischen Inhibition bei Erhöhungen der Regelkreisverstärkung durch taktile Stimulation konstant bleibt. Daher scheinen Änderungen in der präsynaptischen Inhibition der Afferenzen nicht substantiell zu Verstärkungsänderungen im FT−Regelkreis beizutragen. Die Zunahme der synaptischen Eingänge der Motoneurone bei hoher Regelkreisverstärkung wird daher wahrscheinlich auf der Ebene der Interneurone erzeugt.

3.2.4 Veränderungen in der Aktivität der nichtspikenden Interneurone

Um den möglichen Beitrag verschiedener Interneurontypen zu Verstärkungserhöhungen nach taktilen Reizen zu testen, wurde die Reaktion einzelner Interneurone auf fCO−Stimulation zwischen niedriger und hoher Verstärkung verglichen.

Während der Untersuchungen des prämotorischen neuronalen Netzwerks wurde ein neuer Typ nichtspikender Interneurone in der Stabheuschrecke identifiziert (insgesamt N=8 Ableitungen, siehe Tabelle 1, 3), welcher auch schon in der Wanderheuschrecke nachgewiesen worden war (Büschges und Wolf, 1995). Dieser Typ wurde in Anlehnung an das Namensschema von Büschges (1990) 'E8' genannt. Die Morphologie von E8 ist in Abbildung 18A anhand einer Lucifer−Yellow Färbung dieses Interneurons illustriert. Dieser Typ von Interneuronen wird durch fCO−Dehnung und Relaxation hyperpolarisiert (Abbildung ###B). Es konnte keine Positionskomponente nachgewiesen werden. Beide Hyperpolarisationen nehmen mit steigender Reizgeschwindigkeit zu (Abbildung ###B). NSIs des Typs E8 erregen das Slow Extensor Tibiae Motoneuron

SETi, wenn sie durch Strominjektion depolarisiert werden (Abbildung ###C).

Um zu testen, ob die verschiedenen Typen von nichtspikenden Interneuronen ihr Antwortverhalten während fCO−Stimulation verändern, wenn die Regelkreisverstärkung durch taktile Reize erhöht wird, wurde die jeweilige De− oder Hyperpolarisation während der rampenförmigen fCO−Dehnung mit der Modulation der SETi−Aktivität (bei niedriger und hoher Regelkreisverstärkung) verglichen. Die folgenden Typen wurden mindestens zweimal abgeleitet: E2, E3, E4, E5/6, E7, E8, I1, I4 (jeweilige Anzahl siehe Tabelle 1). Interneurone der Typen E5 und E6 wurden aufgrund der Ähnlichkeit ihrer Reaktion während ramp−and−hold Reizung des fCOs (Büschges, 1990; Sauer, persönliche Mitteilung; siehe auch 2.3.2) zu einer Klasse zusammengefaßt.

Nur ein Teil der Interneurone (Typen E3, E5/6, E7, I1) änderte seine Reaktion auf fCO−Stimuli bei Erhöhung der Regelkreisverstärkung (Tabelle 1). Die Änderungen bezogen sich nur auf die Amplitude der stimulusbezogenen De− oder Hyperpolarisationen; nie war eine konstante Verschiebung des Membranpotentials zu beobachten. In Abbildung 19 ist dies für ein nichtspikendes Interneuron des Typs E3 gezeigt. NSIs des Typs E3 werden während einer rampenförmigen fCO−Dehnung depolarisiert, während einer fCO−Relaxation hyperpolarisiert, und sind erregend auf die Extensor−Motoneurone verschaltet (Büschges, 1990). Nach einem taktilen Reiz am Abdomen des Versuchstieres nahm bei allen abgeleiteten E3 (N=6) die Amplitude sowohl der De− als auch der Hyperpolarisation zu (Abbildung ###A,B); das Ausgangspotential veränderte sich nicht. Die Amplitude der reizbezogenen Depolarisationen war in allen Ableitungen signifikant korreliert mit der Modulation der SETi−Aktivität (für das Beispiel in Abbildung 20A: R^2=0,87, n=26, P<0,01). Ähnliche Ergebnisse wurden auch für die Interneurontypen E5/6 (nicht im Detail gezeigt, siehe Tabelle 1) erzielt. Beim Vergleich mehrerer Interneurone des Typs E3 (Abbildung ###B; es wurden sowohl die SETi−Modulation als auch das Integral der Depolarisation normiert) ergaben sich Unterschiede in der Steilheit der jeweiligen Regressionsgeraden. Gleiche Zunahme an Depolarisation löste in verschiedenen Tieren unterschiedliche SETi−Modulationen aus.

NSIs des Typs E7 werden hyperpolarisiert während fCO−Dehnung und depolarisiert während fCO−Relaxation. Sie sind exzitatorisch mit den Motoneuronen verschaltet (Sauer et al., 1996). Sie wirken also in beiden Reizrichtungen der Gesamtreaktion entgegen. Der Membranpotentialverlauf während der Haltephase eines ramp−and−hold Reizes am fCO zeigt eine kleine Positionskomponente (Abbildung 21A). Die Amplitude der Hyperpolarisation während der fCO−Dehnung nahm in allen Fällen (N=3 Ableitungen) mit Zunahme der Regelkreisverstärkung ab (Abbildung ###A,B). Je größer die Modulation der SETi−Aktivität war, desto kleiner war die Hyperpolarisation (für das Neuron aus Abbildung ###A; R^2=0,64, n=43, P<0,01). Das bedeutet, daß die schwächere Hemmung des E7 der Gesamtreaktion weniger entgegenwirkt, also die Zunahme der stimulusbezogenen Eingänge zu den Motoneuronen bei einer Erhöhung der Regelkreisverstärkung unterstützt.

Der Interneurontyp I1 (insgesamt N=3 Ableitungen) ist inhibitorisch mit den Motoneuronen verschaltet (Büschges, 1990). Bei ihm nahm die während fCO−Dehnung auftretende Hyperpolarisation mit zunehmender Verstärkung zu. Die Höhe der Hyperpolarisation war in allen Fällen signifikant korreliert mit der Modulation der SETi−Aktivität (für das Neuron in Abbildung 22B: R^2=0,79, n=16, P<0,001). Da das Ruhemembranpotential von Interneuronen des Typs I1 oberhalb der Transmitterausschüttungsschwelle liegt (Büschges, 1990), führt eine Zunahme der Hyperpolarisation während der fCO−Dehnung zu einer Disinhibition des SETi−Motoneurons und trägt daher auch zur Erhöhung der Regelkreisverstärkung bei.

Tatsächlich läßt sich durch künstliche De− bzw. Hyperpolarisation die Tibiabewegung während eines Widerstandsreflexes beeinflussen. In Abbildung 23 wurde I1 intrazellulär abgeleitet und gleichzeitig die Tibiaposition gemessen (insgesamt N=2). Bei tonischer Depolarisation des Neurons (+3nA) verschob sich die Tibiaausgangslage zu gebeugteren Winkeln hin. Die Amplitude der Streckbewegung während der fCO−Dehnung erhöhte sich, die Tibia erreichte aber aufgrund der tonischen Veränderung ihrer Ausgangslage nicht mehr den ursprünglichen, maximalen Streckwinkel (vor der Depolarisation). Die Amplitude der Beugebewegung während der fCO−Relaxation nahm zu. Bei einer tonischen Hyperpolarisation (−3nA) von I1 zeigte sich keine tonische Verschiebung der Tibiaausgangslage, nur die Amplitude der Streckbewegung der Tibia während der fCO−Dehnung erhöhte sich geringfügig. Die Veränderung des Membranpotentials eines einzigen Interneurons konnte also die Regelkreisverstärkung verändern. Die nichtspikenden Interneurone I4, E3 und E8 wurden jeweils einmal mit Bewegungsmessung abgeleitet. Eine künstliche Depolarisation jedes dieser Neurone beeinflußte die Bewegung der Tibia während eines Widerstandsreflexes.

Es wurden auch verschiedene NSIs gefunden, deren Reaktion auf fCO−Stimuli unabhängig von der Regelkreisverstärkung war. Dies ist verdeutlicht an Ableitungen der Interneurone E4 und E8 in Abbildung 24 bis ###. Interneuron E4 wird während rampenförmiger fCO−Dehnung und Relaxation depolarisiert und ist exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet (Büschges, 1990). E4 zeigt keinen Positionsanteil in seiner Reaktion auf fCO−Reizung. Während einer Zunahme der SETi−Modulation konnte keine Veränderung der reizbezogenen Depolarisation festgestellt werden. Nach taktilem Reiz zeigten sich sowohl reizbezogene synaptische Eingänge als auch das Membranpotential unverändert (Abbildung ###A,B). In keiner Ableitung (N=7) konnte eine Korrelation zwischen der reizbezogenen Depolarisation während fCO−Dehnung und der Modulation des motorischen Ausgangs gefunden werden (für das Beispiel in Abbildung ###A: R^2=0,04, n=18, P>0,2). Interneurone des Typs E4 konnten daher nicht zu den ausgelösten Änderungen der Regelkreisverstärkung beitragen.

Interneuron E8 wird hyperpolarisiert während rampenförmiger fCO−Dehnung und Relaxation und ist exzitatorisch auf SETi verschaltet (siehe 3.2.4). Ähnlich wie Interneuron E4 zeigt es auch keinen Positionsanteil in seiner Reaktion auf fCO−Stimulation. Nach einer Abdomenreizung konnte keine Veränderung der reizbezogenen Hyperpolarisationen in E8 festgestellt werden. Bei einer Zunahme der SETi−Modulation zeigten sich sowohl reizbezogene synaptische Eingänge als auch Membranpotential unverändert (Abbildung 25A,B). In allen untersuchten Fällen (N=3) konnte keine Korrelation zwischen der reizbezogenen Antwort des Neurons und der Modulation des motorischen Ausgangs festgestellt werden (für das Beispiel in Abbildung 26B: R^2=0,14, n=18). Das bedeutet, daß auch NSIs des Typs E8 nicht zu Verstärkungsänderungen beitrugen. Ähnliche Ergebnisse wurden für NSIs der Typen E2 und I4 erzielt (siehe Tabelle 1).

3.2.5 Reizbezogene synaptische Eingänge der nichtspikenden Interneurone

Änderungen in den reizbezogenen Antworten der NSIs, wie im Falle des NSIs E3, könnten von mindestens zwei verschiedenen Mechanismen ausgelöst werden: (i) Durch eine Zunahme der reizbezogenen Eingänge zu den NSIs oder (ii) durch eine Zunahme des Eingangswiderstands. Dies würde, weil die Membranpotentialänderungen direkt proportional zum Eingangswiderstand sind (Ohmsches Gesetz), einen größeren Einfluß vorgegebener synaptischer Eingänge bewirken. Um in ersten Versuchen zu entscheiden, welche dieser Möglichkeiten zutrifft, wurde von Interneuron E3 in der Ein−Elektroden−Stromklemme abgeleitet (N=4 Tiere) und kurze hyperpolarisierende Strompulse appliziert (Abbildung 27A). Es konnte in keinem Fall eine tonische Veränderung des Eingangswiderstands in E3 festgestellt werden, weder vor, noch während oder nach einer taktilen Reizung des Tieres. Nur der Eingangswiderstand während der fCO−Dehnung nahm ab, verglichen mit relaxiertem fCO (P<0,001). Bei hoher Regelkreisverstärkung nahm der Eingangswiderstand während fCO−Dehnung weiter ab als bei niedriger Verstärkung (Abbildung ###B; P<0,001). Die drei anderen abgeleiteten E3 führten zu qualitativ gleichen Aussagen. Das bedeutet, daß die Zunahme der stimulusbezogenen Depolarisationen in E3 während einer Erhöhung der Regelkreisverstärkung von einer Erhöhung der stimulusbezogenen Eingänge ausgelöst wird. Es konnte kein tonischer Einfluß auf den Eingangswiderstand des Interneurons E3 gefunden werden. Die anderen Neuronentypen wurden nicht in der Ein−Elektroden−Stromklemme untersucht.

3.2.6 Der Einfluß spikender Interneurone auf die Regelkreisverstärkung

Da die Zunahme der reizbezogenen Eingänge zu den nichtspikenden Interneuronen wohl nicht durch Veränderungen in den Interneuronen selbst hervorgerufen wird (siehe 3.2.4/5), und auch nicht durch Veränderungen in der Aktionspotentialfrequenz (siehe 3.2.2) oder präsynaptischen Inhibition (siehe 3.2.3) der sensorischen Neurone des fCOs, könnte diese Zunahme von einer Veränderung der synaptischen Übertragung zwischen Afferenzen und nichtspikenden Interneuronen oder aber von einem veränderten Verhalten der beteiligten spikenden Interneurone (siehe Abbildung ###A) ausgelöst werden.

In den Experimenten wurden spikende Interneurone, die fCO−Information an die Extensor−Motoneurone übertragen, nicht systematisch untersucht. In 2 Experimenten wurde jedoch von spikenden Interneuronen abgeleitet, die, obwohl sie keine Information vom fCO auf SETi oder FETi übertrugen, dennoch einen Einfluß auf die Regelkreisverstärkung hatten. Ein solches Beispiel zeigt die intrazelluläre Ableitung in Abbildung 28. Bei rampenförmiger Dehnung des fCOs wurde dieses Neuron hyperpolarisiert, bei Relaxation überschwellig depolarisiert. Es zeigte eine deutliche Positionskomponente in seiner Antwort. Bei einer tonischen Depolarisation durch Strominjektion ohne fCO−Reizung zeigte sich eine sich langsam aufbauende Zunahme der Aktionspotentialfrequenz des SETi (μ), die sich aber nicht in einer Bewegung ausdrückte. Dieses spikende Interneuron ist also wahrscheinlich nicht unmittelbar Teil des FT−Regelkreises. Während der ramp−and−hold Stimulation des fCOs zeigte sich **nach** Beenden der Strominjektion eine Zunahme der Tibiastreckung (Pfeil) und Beugung verglichen mit der Bewegung vor Stromapplikation. Eine Aktivität in diesem Neuron zeigte also einen anhaltenden Effekt auf die Regelkreisverstärkung.

3.3 Diskussion der Versuche zur Verstärkungskontrolle

3.3.1 Allgemein

In inaktiven, ruhenden Stabheuschrecken lösen Reize am femoralen Chordotonalorgan Widerstandsreflexe mit unterschiedlicher Verstärkung im Slow und Fast Extensor Tibiae Motoneuron aus. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß die Zunahme der SETi−Aktivität nach einem taktilen Reiz am Abdomen des Tiers von einer Erhöhung der reizbezogenen Eingänge zu den Motoneuronen herrührt. Das prämotorische Netzwerk zeigt kein so einheitliches Bild. Nur bei einem Teil der nichtspikenden Interneurone führt eine Verstärkungserhöhung zu einer Zunahme der reizbezogenen Eingänge in ähnlicher Weise wie in den Motoneuronen. Bei anderen NSIs verringern sich dagegen die reizbezogenen Informationen vom fCO und bei wieder anderen gibt es keine Änderung.

Da die Aktivität der sensorischen Neurone unverändert blieb – weder die Aktionspotentialfrequenz, noch die präsynaptische Inhibition änderte sich – scheint es sehr wahrscheinlich, daß Änderungen der Regelkreisverstärkung im wesentlichen durch eine veränderte Gewichtung der direkten erregenden und indirekten hemmenden Informationswege zwischen fCO und NSIs spezifisch für jeden NSI−Typ erzeugt werden.

3.3.2 Gibt es verschiedene Mechanismen für Verstärkungskontrolle?

Nach einem taktilen Reiz am Abdomen des Tieres nehmen nur die reizbezogenen synaptischen Eingänge auf SETi zu. Es konnte kein tonischer Effekt festgestellt werden, weder auf das Membranpotential (Abbildung ###), noch auf den Eingangswiderstand des Motoneurons (Abbildung ###). Bei Habituation wird das Membranpotential des FETi in *Cuniculina* nicht nur weniger stark moduliert von einem bestimmten Reiz, sondern es nimmt auch tonisch hyperpolarisiertere Werte an (Bässler, 1983b). Bei *Carausius*, bei der auch die SETi−Antwort habituiert, deuten extrazelluläre Ableitungen auch für dieses Neuron in die gleiche Richtung (Kittmann, 1997). Anscheinend wird eine Erniedrigung der Regelkreisverstärkung während der Habituation sowohl durch Veränderungen der Stärke der reizbezogenen Eingänge, als auch durch das Hinzufügen von tonischen Eingängen generiert. Dagegen wird eine Erhöhung der Regelkreisverstärkung nach taktilen Reizen nur durch Veränderungen der reizbezogenen Eingänge hervorgerufen. Außerdem scheint sich die Verstärkungserhöhung nach einer Beunruhigung des Tieres (taktiler Reiz) auf viele, wenn nicht alle Regelsysteme zu erstrecken (Bässler, persönliche Mitteilung), während die Habituation auf ein einziges Gelenk beschränkt bleibt (Bässler und Nothof, 1994). Offensichtlich werden also Verstärkungsänderungen bei Habituation und bei Störung des Tieres mindestens zum Teil durch unterschiedliche Mechanismen hervorgerufen. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind daher nur für Verstärkungsänderungen nach einer Störung des Tieres gültig.

3.3.3 Die Aktivität der sensorischen Neurone bei Verstärkungsänderungen

Änderungen in der Aktivität der sensorischen Neurone könnten zu Verstärkungsänderungen beitragen. Das fCO der Stabheuschrecke ist nicht unter direkter efferenter Kontrolle zentraler neuronaler Wege, aber seine Sensitivität und sein Antwortverhalten kann durch biogene Amine wie Oktopamin (Ramirez et al., 1993) moduliert werden. Oktopamin wird in Insekten typischerweise in Streßsituationen in die Hämolymphe ausgeschüttet (Orchard et al., 1981). Eine solche Modulation der sensorischen Neurone ist auch von Propriorezeptoren in Crustaceen (Pasztor und Bush, 1989) und dem fCO von Wanderheuschrecken (Matheson, 1997) bekannt. Daher könnte eine Störung des Tieres eine Modulation der Antworteigenschaften des fCOs durch Neuromodulatoren bewirken. Die hier gezeigten Ergebnisse zeigen dagegen keine Korrelation zwischen der Aktionspotentialfrequenz geschwindigkeits− und positionssensitiver Afferenzen und der störungsindizierten Verstärkungserhöhung (Abbildung ###A,B; Abbildung ###A,B,C). Eine eventuelle Erhöhung des Oktopaminspiegels durch die mechanische Reizung des Abdomens reicht also nicht aus, um die Sensitivität des fCOs zu verändern.

Die Terminalen der sensorischen Neurone erhalten präsynaptische inhibitorische Eingänge (Wanderheuschrecke: Burrows und Laurent, 1993; Stabheuschrecke: Sauer et al., 1997), die die Amplitude der Aktionspotentiale (durch einen Kurzschluß der Membran) und damit auch die Transmitterausschüttung an nachfolgende Neurone vermindern. Veränderungen in der Stärke der präsynaptischen Inhibition, wie z.B. nach Oktopamin−Applikation auf das fCO (Matheson, 1997) oder in bestimmten Verhaltenssituationen (Wolf und Burrows, 1995; Hedwig und Burrows, 1996) könnten auch zu Verstärkungsänderungen im FT−Gelenk beitragen. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen aber, daß die Stärke der präsynaptischen Eingänge nicht mit der Regelkreisverstärkung verändert wird. In keiner Ableitung konnte eine Korrelation zwischen der Stärke der präsynaptischen Inhibition und der motorischen Aktivität gefunden werden. (z.B. Abbildung ###). Die Amplitude der Hemmung war nur abhängig von den Parametern des fCO−Stimulus selbst. Zum Beispiel nahm die Amplitude der präsynaptischen Inhibition einer positionssensitiven Afferenz mit der Amplitude des fCO−Reizes zu (Abbildung ###A), nicht aber bei höherer Verstärkung und gleichbleibendem Reiz. Daher scheint die präsynaptische Inhibition in der Stabheuschrecke eher als Mechanismus zur unterschiedlichen Gewichtung sensomotorischer Bahnen zur Ausführung der Katalepsie (wie in Sauer et al., 1997) verwendet zu werden, als daß sie der maßgebliche Mechanismus für Veränderungen der Regelkreisverstärkung ist.

3.3.4 Prämotorisches interneuronales Netzwerk und Verstärkungsänderungen

Die verschiedenen Typen identifizierter nichtspikender Interneurone, die an der Verarbeitung sensorischer Information im FT−Regelkreis beteiligt sind, verändern nur zum Teil ihre Reaktion auf fCO−Stimulation während Änderungen der Regelkreisverstärkung. Die Interneurone bilden ein Netz aus parallelen und antagonistischen Bahnen (Büschges, 1990; 1995a; Sauer et al., 1995, 1996). Einige Interneurone, sowohl exzitatorische als auch inhibitorische, unterstützen den Widerstandsreflex, während andere ihm widersprechen (Abbildung ###A). Die Ergebnisse zeigen, daß während einer fCO−Dehnung (i) sowohl eine Verstärkung unterstützender neuronaler Verarbeitungswege (E3, E5/6, I1), als auch (ii) eine Abschwächung widersprechender neuronaler Verarbeitungswege (E7) zur Erhöhung der Regelkreisverstärkung nach einem taktilen Reiz beitragen (siehe 3.2.4; Tabelle 1). In Neuronen, die den Widerstandsreflex während der fCO−Dehnung unterstützen, war die Reaktion während fCO−Dehnung erhöht. Dabei kann es sich entweder um eine Erhöhung der Erregung in E−Neuronen (exzitatorisch auf SETi verschaltet) wie bei E3 und E5/6 handeln oder um eine Erhöhung der Hemmung von I−Neuronen (inhibitorisch auf SETi verschaltet), wie bei

I1. Im Gegensatz dazu wurde die Amplitude der Hyperpolarisation in Interneuron E7, das dem Widerstandsreflex während der fCO−Dehnung entgegenwirkt, bei Verstärkungserhöhung verringert. Das bedeutet, daß die Informationsübertragung über unterstützende Bahnen verstärkt wurde, während sie bei widersprechenden verringert wurde. Es wurden keine Änderungen in den NSIs gefunden, die Verstärkungserhöhungen im FT−Gelenk entgegenwirkten.

Das Antwortverhalten auf fCO−Reizung einiger anderer identifizierter, prämotorischer Interneurone änderte sich nicht nach taktiler Reizung. Interessanterweise sind in dieser Gruppe von Neuronen (Typen E2, E4, E8 und I4; siehe 3.2.4; Tabelle 1) auch die Neuronen E4 und I4 enthalten, die nicht exklusiv die Extensor−Motoneurone innervieren, sondern auch die Motoneuronen−Pools anderer Beingelenke wie z.B. die des Thorax−Coxa−Gelenks und des Coxa−Trochanter−Gelenks (siehe Tabelle 1 in Büschges, 1995b). Diese neuronalen Verarbeitungswege könnten daher dem Tier erlauben, unabhängig von der Regelkreisverstärkung Informationen über das FT−Gelenk zu anderen Beingelenken zu übertragen.

Die Veränderungen der Antworten einiger Interneurone während Verstärkungsänderungen scheinen nicht von Mechanismen ausgelöst zu werden, die die Membraneigenschaften der Neurone selbst verändern. Zumindest zeigen sich keine Anzeichen einer tonischen Veränderung des Eingangswiderstands in Interneuron E3 (Abbildung ###) und des Membranpotentials aller Interneurone (zum Beispiel Abbildung ###c), im Gegensatz zu den Ergebnissen von Büschges und Wolf (1996) im FT−Regelsystem der Wanderheuschrecke während einer Erniedrigung der Regelkreisverstärkung nach fiktivem Flug. Das bedeutet, daß die in den nichtspikenden Interneuronen gemessenen Membranpotentialveränderungen durch Modifizierung der synaptischen Eingänge auf die Neurone hervorgerufen werden.

Das Ergebnis, daß nur Änderungen in den Antworten der Interneurone gefunden wurden, bedeutet nicht, daß dies die einzigen Änderungen im Netzwerk sind. Veränderungen z.B. der Gewichtung der Synapsen zwischen Interneuronen und Motoneuronen können nicht ausgeschlossen werden.

3.3.5 Synaptische Übertragung zwischen sensorischen Neuronen und Interneuronen

Sowohl die Membraneigenschaften der Interneurone, als auch die Aktivität der sensorischen Neurone und deren präsynaptische Hemmung, veränderten sich nicht während einer Verstärkungserhöhung. Es scheint daher sehr wahrscheinlich, daß die neuronalen Mechanismen, die die interneuronale Antwort während fCO−Reizung verändern, auf der Ebene der synaptischen Eingänge zu den Interneuronen lokalisiert sind. Die NSIs erhalten direkte erregende Eingänge von den sensorischen Neuronen des fCOs (Sauer et al., 1995; 1996) und zumindest teilweise reizbezogene hemmende Eingänge über bisher nicht identifizierte polysynaptische Wege (Büschges, 1990; Büschges und Wolf, 1995; Sauer et al., 1995; 1996). Änderungen in der Gewichtung dieser parallelen erregenden und hemmenden Wege scheinen während der Generierung der Reflexumkehr aufzutreten (Bässler und Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1996). Sie könnten auch als Mechanismus zur Verstärkungskontrolle dienen. Veränderungen in der relativen Effizienz solcher paralleler und antagonistischer Bahnen würden die reizbezogenen Potentiale in den nichtspikenden Interneuronen sehr stark beeinflussen. So könnte die Zunahme der reizbezogenen Depolarisation in Interneuron E3 aus einer Abnahme der hemmenden und/oder einer Zunahme der erregenden Eingänge resultieren. Die Abschätzung des Membranwiderstands (Abbildung ###A) deutet darauf hin, daß eine Zunahme der erregenden Eingänge ausreichend ist, die abgeleiteten Änderungen in der reizbezogenen Reaktion des Neurons zu erklären.

Solche Änderungen der synaptischen Übertragung könnten durch die Wirkung von Neuromodulatoren ausgelöst werden. Neuere Studien über statusabhängige Ausschüttung von Neuromodulatoren aus neurosekretorischen Zellen in Segmentganglien unterstützen diese Hypothese, z.B. eine postsynaptische Modulation der Transmitterwirkung (Casagrand und Ritzmann, 1992) oder eine präsynaptische Modulation der Transmitterausschüttung durch Neuromodulatoren (Leitch und Pitman, 1995).

Ein möglicher Kandidat für ein Neuron, welches die synaptische Übertragung zwischen sensorischen Neuronen und Interneuronen verändern könnte, wurde in Abbildung ### gezeigt. Dieses spikende Neuron zeigte einen verzögerten Effekt auf die motoneuronale Aktivität, und bewirkte auch eine verzögerte Zunahme der Regelkreisverstärkung, selbst nach dem Beenden einer künstlichen Depolarisation dieses Neurons. Das Neuron scheint daher nicht direkt mit den Motoneuronen verschaltet zu sein. Es ist denkbar, daß ein solches Neuron eine synaptische Übertragung zwischen Teilen des FT−Regelkreises verändert, und damit eine Erhöhung der Regelkreisverstärkung ähnlich der nach einem taktilem Reiz am Abdomen des Tieres, nachahmt. Da intersegmentale spikende Neurone an der Veränderung der Verstärkung beteiligt sind, könnte eine Aktivierung ähnlicher Neurone mit einer elektrischen Stimulation der Konnektive zwischen den verschiedenen Segmentganglien ebenfalls zu einer Erhöhung der Regelkreisverstärkung führen. Erste Versuche bestätigen diese Vermutung (Sauer, 1996).

4 Versuche zum Austausch sensorischer Information zwischen verschiedenen Beinen

4.1 Problem

Die Generierung von Widerstandsreflexen, wie sie in Kapitel 3 gezeigt wurde, dient der Stabilisierung einer bestimmten Körperhaltung. Will sich ein Tier aber aktiv fortbewegen, z.B. zur Nahrungsaufnahme, muß die Verarbeitung lokaler sensorischer Information den neuen Gegebenheiten angepaßt werden (z.B. Bush et al., 1978; Sillar und Roberts, 1992). Es kann zum einen die Verstärkung des Regelsystems verändert werden (z.B. bei Katzen: Murphy et al., 1984; Locusta: Burrows, 1996; Stabheuschrecke: Bässler, 1983a), zum anderen kann es zu einer totalen Reflexumkehr kommen (Zusammenfassung: Pearson, 1995).

Beim Laufen einer Stabheuschrecke wird zusätzlich zur sensorischen Information aus dem "eigenen" Bein auch sensorische Information anderer Beine verarbeitet. Im aktiv laufenden Tier tragen daher koordinierende Einflüsse anderer Beine stark zur Erzeugung von Einzelbeinbewegungen bei (Zusammenfassungen: Bässler, 1987; Cruse, 1990). Zum Beispiel wird das Hinterbein laufender Stabheuschrecken sehr genau hinter dem Tarsus des Mittelbeins aufgesetzt (Zielreaktion, Cruse, 1979; 1990), gleichgültig, wo dieser sich befindet. Dies setzt eine Übertragung präziser Positionsinformation voraus. Brunn und Dean (1994) zeigten im inaktiven Tier intersegmentale Neurone, die solche Positionsinformation zwischen den thorakalen Ganglien übertragen. Es ist aber unklar, wie die Positionsinformation in den Kontrollsystemen der einzelnen Beingelenke verarbeitet wird.

Jedes Bein der Stabheuschrecke besitzt einen eigenen Mustergenerator zur Erzeugung des Laufmusters. Die sechs Mustergeneratoren werden durch starke Kopplungen zwischen benachbarten ipsi− und kontralateralen Beinen koordiniert und so die typischen Gangarten beim Laufen erzeugt (Zusammenfassung: Cruse, 1990). Es wurden drei verschiedene ipsilaterale, und zwei, etwas schwächere, kontralaterale koordinierende Einflüsse nachgewiesen (Details siehe 4.4.4). Diese Kopplungen scheinen nur im aktiven Tier ausgeprägt zu sein; im inaktiven Tier scheinen sie dagegen zu fehlen. Im inaktiven, ruhenden Tier zeigen sich daher nur schwache Kopplungen zwischen den einzelnen Beinen (Bässler, 1974; 1983a; Cruse et al., 1993), wobei man nur wenig darüber weiß, welche Informationswege diesen schwachen Kopplungen zugrunde liegen (z.B. Brunn und Dean, 1994).

Vorversuche (Stein, 1995) zeigten, daß ein Austausch sensorischer Information zwischen den FT−Gelenken der gegenüberliegenden Mittelbeine auch im inaktiven Tier durch Applikation von Pharmaka etabliert werden kann. Die starken Kopplungen zwischen den einzelnen Gelenkstellungsregelkreisen verschiedener Beine im laufenden Tier werden im inaktiven Tier also möglicherweise unterdrückt (gehemmt), und scheinen durch die Badapplikation von Picrotoxin (PCT), eines nicht−kompetitiven Blockers GABAerger Chloridkanäle, aktiviert zu werden (Stein, 1995). Dadurch ergibt sich die Möglichkeit zur Untersuchung der Informationsübertragung zwischen verschiedenen Beinen trotz eines inaktiven Verhaltenszustandes. Dieses Vorgehen bietet den Vorteil, daß intrazelluläre Ableitungen im inaktiven Tier sehr viel leichter durchzuführen sind als im sich aktiv bewegenden Tier, und keine Interaktionen mit lokalen Netzwerken und den für die Laufbewegung zuständigen Mustergeneratoren auftreten. In dieser Präparation kann ein einzelnes Sinnesorgan (das femorale Chordotonalorgan) spezifisch gereizt werden und die Reaktion einzelner Neurone oder Muskeln der anderen Beine während dieser Reizung beobachtet werden. Da sich die FT−Regelkreise aller anderen Beine in der Open−loop−Konfiguration (siehe 2.1.2) befinden, sind auch Rückkopplungen über die anderen femoralen Chordotonalorgane ausgeschlossen.

PCT beeinflußt nicht nur die Übertragung sensorischer Information zwischen verschiedenen Beinen, sondern auch die Verarbeitung lokaler sensorischer Information im FT−Kontrollsystem. Nach einer PCT−Applikation werden die präsynaptischen Hemmungen der sensorischen Neurone des fCOs geblockt (siehe Abbildung 2 in Sauer et al., 1997) und damit die Informationsverarbeitung des gesamten neuronalen Netzwerkes in der Art verändert, daß die Positionsabhängigkeit des FT−Regelkreises stärker erhöht wird als die Geschwindigkeitsabhängigkeit (siehe Abbildung 11 in Sauer et al., 1997). Ein direkter Einfluß des PCT auf

Motoneurone, nichtspikende Interneurone, sowie auf die jeweilige Informationsübertragung zwischen ihnen konnte jedoch nicht gefunden werden (Sauer et al., 1997). PCT scheint daher spezifisch auf die präsynaptische Inhibition der sensorischen Neurone zu wirken, und die anderen Teile des lokalen Netzwerks nicht nennenswert zu beeinflussen.

Aufgrund der Kenntnisse seiner Effekte auf die Neurone des lokalen FT−Regelkreise scheint eine PCT−Applikation geeignet zu sein, um den Informationsaustausch zwischen den FT−Regelkreisen verschiedener Beine und den Einfluß der sensorischen Information anderer Beine auf den lokalen Reflex zu untersuchen. Die physiologische Relevanz der Daten wird dann im Vergleich zu Versuchen mit aktiv laufenden Tieren diskutiert.

Im Zusammenhang mit der Verarbeitung sensorischer fCO−Information anderer Beine ergaben sich folgende Fragen:

1. Hat die sensorische fCO−Information eines Beins nach der Pharmakon−Applikation Einfluß auf die einzelnen Gelenkstellungsregelkreise benachbart liegender Beine (kontralateral oder ipsilateral)?

2. Welche Parameter der am fCO simulierten Tibiabewegung werden zu den anderen Beinen übertragen? Wird Information über die Geschwindigkeit und die Position des gereizten fCOs übertragen?

3. Aus früheren Untersuchungen (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996) ist bekannt, welche Neurone an der Steuerung der Beingelenke im inaktiven Tier beteiligt sind. Erhalten Interneurone, die Elemente in den neuronalen Netzwerken der Gelenkstellungskontrolle sind, auch Information von den Sinnesorganen anderer Beine, oder erreicht diese Sinnesinformation die Motoneurone auf anderen Wegen?

4. Welche der Neurone, die die Stellung des Femur−Tibia−Gelenkes kontrollieren, erhalten die Information über die Stellung der anderen Beine und wie wird diese Information verarbeitet?

Um diese Fragen zu beantworten, wurde zunächst die Reaktion aller FT−Gelenke auf einen Reiz am fCO des rechten Mittelbeins vor und nach PCT−Applikation beobachtet. Zum Studium des Einflusses kontralateraler fCO−Stimuli auf einzelne Regelkreisneurone wurde dann intrazellulär aus Extensor−Motoneuronen, nichtspikenden Interneuronen, sowie einigen spikenden Interneuronen des FT−Regelkreises des rechten Mittelbeins abgeleitet, und zwar während einer fCO−Reizung des linken Mittelbeins (zur Auswertung der Ergebnisse und der spezifischen Probleme der PCT−Applikation siehe 2.8).

4.2 Ergebnisse aus Versuchen mit extrazellulären Methoden

Picrotoxin bewirkt wahrscheinlich in vielen Neuronen eine Blockierung der über chemische Synapsen induzierten, inhibitorischen Chloridströme und damit eine Aktivitätszunahme. Diese zeigt sich in der Zunahme von Spontan− und burstartiger Aktivitäten vieler Neurone (Stein, nicht publizierte Beobachtung; Sauer, persönliche Mitteilung). Nach einer PCT−Applikation waren immer wieder scheinbar spontan ausgelöste Neuronenaktivitäten und damit auch Muskelbewegungen zu beobachten. Da zudem die Wirkung des Pharmakons nach der Applikation stetig zunahm (Stein, 1995), ließen sich in vielen Fällen nur schwer quantitative Aussagen machen. Zwischen verschiedenen Tieren traten oft deutlich unterschiedliche Ausprägungen der PCT−Wirkung auf, so daß ein quantitativer Vergleich zwischen verschiedenen Tieren nicht sinnvoll erschien. Es wurde daher immer am Beispiel eines Tieres die erhaltene Reaktion gezeigt, und die erhaltene Aussage dann qualitativ mit den Ergebnissen der Versuche an anderen Tieren verglichen.

4.2.1 Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf die FT−Gelenke aller anderen Beine

Um zu klären, ob und welche sensorische Information zwischen verschiedenen Beinen übertragen wird, wurde zuerst das fCO des rechten Mittelbeins mit sinusförmigen Reizen (Amplitude 400µm = 40°

FT−Winkel) stimuliert und die Reaktion der FT−Gelenke aller anderen Beine (jeweils in der Open−loop−Konfiguration) gleichzeitig entweder mit Kraftmessern an der Tibia (siehe 2.3.4) oder mit extrazellulären Ableitungen von den F2−Nerven aufgezeichnet. Da bekannt war, daß das Pharmakon Picrotoxin den Austausch sensorischer Information zwischen benachbarten Beinen etablieren kann (Stein, 1995), wurde nach Eröffnen des Pro−, Meso− und Metathorax 0,2ml Picrotoxin in einer Konzentration von 10^{-5}M zum Ringerbad hinzugegeben. Die Wirkung des Pharmakons wurde an der Veränderung der Reaktion im lokalen FT−Gelenk, dem des rechten Mittelbeins, verfolgt. Einige Minuten nach erfolgter Applikation sollte sich die durch die Sinusreizung ausgelöste Aktivität der Extensor−Motoneurone (des Widerstandsreflexes) erhöhen (Sauer et al., 1997).

Im Versuch in Abbildung 29 wurden die Reaktionen aller FT−Gelenke vor und nach Picrotoxin−Applikation während der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins gemessen. Vor PCT−Applikation zeigte sich nur im rechten Mittelbein reizkorrelierte Aktivität (µ). Dies ist der schon oben (siehe Kapitel 3) beschriebene Widerstandsreflex im lokalen FT−Regelkreis. In den FT−Regelkreisen aller anderen Beine war keine Veränderung der Aktivität der Extensor−Motoneurone (rechtes Vorderbein), bzw. der an der Tibia anliegenden Kraft (linkes Vorderbein, linkes Mittelbein, linkes Hinterbein, rechtes Hinterbein) zu beobachten. Ungefähr 15 Minuten nach PCT−Applikation zeigten sich in den FT−Regelkreisen aller Beine reizkorrelierte Änderungen der Aktivität bzw. der Kräfte. Dabei waren die jeweils gegenüberliegenden Beine eines Segments gegensätzlich aktiv: Wenn die Extensor−Motoneurone des rechten Vorderbeins aktiv waren, trat am linken Vorderbein eine Beugekraft auf. Entsprechend ergab sich im linken Hinterbein eine Beugekraft, während gleichzeitig im rechten Hinterbein eine Streckkraft auftrat. Auch die Kraft im linken Mittelbein wurde reizkorreliert moduliert.

PCT scheint daher die Übertragung sensorischer Information des fCOs des rechten Mittelbeins an die FT−Regelkreise aller anderen Beine zu etablieren. Von insgesamt 15 Tieren war bei 10 Tieren ein Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf die FT−Regelkreise der anderen Beine zu beobachten. In 2 Tieren wurden nicht alle anderen Beine beeinflußt, und in 3 Tieren zeigte sich kein Effekt.

Im folgenden wurde die Übertragung der sensorischen Chordotonalorgan−Information für die einzelnen Beine getrennt untersucht. Es wurden neben den Sinusreizen auch ramp−and−hold Reize am fCO des rechten Mittelbeins verwendet, da mit diesen eine systemtheoretische Beschreibung der auftretenden Kopplungen eher möglich ist. Zuerst werden die Veränderungen im lokalen (rechten) FT−Gelenk bei Stimulation des fCOs des rechten Mittelbeins beschrieben, um die Wirkung des Pharmakons zu dokumentieren. Danach wird der Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf die FT−Gelenke der Vorderbeine und der Hinterbeine dargestellt. Die Reaktion des kontralateral zur Reizung liegenden FT−Gelenk wird zuletzt betrachtet, da an diesem Gelenk die entstehenden Kopplungen mit intrazellulären Ableitungen von Motoneuronen und Interneuronen des FT−Kontrollsystems genauer charakterisiert wurden.

4.2.2 Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf das FT−Gelenk des gleichen Beins

Die Reaktion des lokalen Regelkreises während fCO−Stimulation nach PCT−Applikation entsprach den in Stein (1995) und Sauer et al. (1997) beschriebenen Veränderungen: Die reizbezogene Aktivität beider exzitatorischen Motoneurone (FETi/SETi) nahm stark zu. Abbildung 30 zeigt eine extrazelluläre Ableitung des F2−Nervs des FT−Gelenkes des rechten Mittelbeins bei ramp−and−hold Reizung des fCOs des gleichen Beins vor und nach PCT−Applikation. Insbesondere der Positionsanteil der motoneuronalen Reaktion erhöhte sich im Vergleich zur Reaktion ohne PCT. Dieser Effekt wurde bereits in Stein (1995) und Sauer et al. (1997) beschrieben. Es wurde daher auf eine ausführliche quantitative Beschreibung verzichtet. Die Zeit bis zum Eintreten einer deutlich erkennbaren Zunahme der reizbezogenen Aktivität der Motoneurone betrug hier 10± 2,5 Minuten (N=10 Tiere).

4.2.3 Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf die

FT−Gelenke der Vorderbeine

In allen Tieren (insgesamt N=15) konnte vor PCT−Applikation weder in Kraftmessungen noch in extrazellulären Ableitungen eine Veränderung der Spontankraft bzw. der Spontanaktivität der Extensor−Motoneurone der Vorderbeine bei Stimulation des fCOs des rechten Mittelbeins festgestellt werden (Abbildung 31A,B, links). Nach PCT−Applikation (10^{-5}M) war in allen Tieren dagegen sowohl bei Sinus− als auch bei ramp−and−hold Reizung eine Modulation der Kraft bzw. der Aktivität der Extensor−Motoneurone bei Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins vorhanden. Diese Modulation soll im folgenden anhand einiger Beispiele beschrieben werden.

Zwanzig Minuten nach PCT−Applikation löste eine Sinusreizung (Reizfrequenz 1 Hz) in allen darauf getesteten Tieren (N=4) während einer Dehnung des fCOs des rechten Mittelbeins (signalisiert Beugen) eine Streckkraft an der Tibia des rechten Vorderbeins und eine Beugekraft an der Tibia des linken Vorderbeins aus (Abbildung ###A, rechts). Eine fCO−Relaxation löste eine Beugekraft an der Tibia des rechten Vorderbeins und eine Streckkraft an der des linken Vorderbeins aus. Die beiden Vorderbeine wurden also während einer Sinusreizung des fCOs des rechten Mittelbeins gegensätzlich aktiviert.

Bei ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins ergab sich ein etwas anderes Bild (N=11 Ableitungen der Extensor−Motoneurone des rechten Vorderbeins; N=9 Ableitungen der des linken). Abbildung ###B zeigt ein Beispiel der extrazellulären Ableitungen der F2−Nerven beider Vorderbeine während ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins im Verlauf einer PCT−Applikation. Vor PCT−Applikation konnte keine reizkorrelierte Veränderung der Aktivität der Extensor−Motoneurone festgestellt werden. Ungefähr 20 Minuten nach PCT−Applikation dagegen zeigten die Extensor−Motoneurone beider Vorderbeine eine Zunahme ihrer Aktivität sowohl bei Dehnung als auch bei Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins. Diese Aktivitäten nahmen mit zunehmender Zeit nach PCT−Applikation stetig zu. Die Kopplungen konnten mit einer Durchtrennung der beiden Konnektive zwischen mesothorakalem und prothorakalem Ganglion unterbunden werden (Abbildung ###B rechts, in N=5 Tieren wurden die Konnektive durchtrennt).

Zur genaueren Charakterisierung der reizbezogenen Aktivitäten wurden PST−Histogramme der Extensor−Aktivitäten beider Vorderbeine eines Tieres vor und nach PCT−Applikation während ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins erstellt (Abbildung ###C,D). Im rechten Vorderbein zeigte sich nach PCT−Applikation neben einer Zunahme der Spontanaktivität (in der Ausgangslage des fCOs, entsprechend 100° FT−Winkel) auch eine reizkorrelierte Zunahme der motoneuronalen Extensor−Aktivität, die weitgehend auf die Zeiträume der fCO−Dehnung und Relaxation begrenzt blieb (Abbildung 31C). Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes verringerte sich die Aktivität wieder, fiel aber nicht auf ihr Ausgangsniveau (100° FT−Winkel) ab. Ein ähnliches Bild ergab sich für die Aktivitäten der Extensor−Motoneurone des linken Vorderbeins (Abbildung 31D). Während fCO−Dehnung und Relaxation erhöhte sich die Aktivität der Extensor−Motoneurone; während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes verminderte sie sich etwa auf ihr Ausgangsniveau.

Alle reizkorrelierten Veränderungen der Kräfte bzw. der Aktivitäten der Extensor−Motoneurone nach einer PCT−Applikation traten im jeweiligen Tier reproduzierbar auf. In 6 der 11 getesteten Tiere trat während Dehnung und Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins jeweils eine Aktivierung der Extensor−Motoneurone des *rechten Vorderbeins* auf. In 5 Tieren wurden die Extensor−Motoneurone nur während fCO−Dehnung aktiviert. Die Extensor−Motoneurone des *linken Vorderbeins* erhöhten ihre Aktivität in 4 von 9 getesteten Tieren nur während der fCO−Relaxation. In 5 Tieren erhöhte sich die Aktivität während fCO−Dehnung und Relaxation.

Die Extensor−Motoneurone beider Vorderbeine wurden also nach PCT−Applikation während rampenförmiger Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins aktiviert.

Ist diese geschwindigkeitssensitive Aktivierung der Extensor−Motoneurone von der Geschwindigkeit des fCO−Reizes abhängig? Um dies zu testen, wurde in insgesamt 11 Tieren die Aktivität der Extensor−Motoneurone der Vorderbeine während der ramp−and−hold Reizung des rechten Mittelbeins mit verschiedenen Reizgeschwindigkeiten gemessen. In Abbildung 32 wurde über den extrazellulären Ableitungen der F2−Nerven der Vorderbeine jeweils das zugehörige PST−Histogramm der F2−Aktivität eines Tieres dargestellt. Mit zunehmender Reizgeschwindigkeit erhöhte sich auch die reizbezogene Aktivität (Aktionspotentiale / BIN) der Motoneurone, vor allem bei Dehnungsreizen. Der Maximalwert des PSTHs während der fCO−Dehnung nahm in beiden Vorderbeinen von einer Reizgeschwindigkeit von 50°/s zu 250°/s zu. Bei 250°/s wurde im rechten Vorderbein sogar das FETi−Motoneuron während fCO−Dehnung aktiviert. Die Zunahme der motoneuronalen Extensor−Aktivität mit höheren Reizgeschwindigkeiten wurde in Abbildung 33A−D anhand einer Auszählung der mittleren SETi−Aktivität während der rampenförmigen fCO−Dehnung dargestellt. Sowohl im rechten (Abbildung ###A) als auch im linken Vorderbein (Abbildung ###B) zeigten sich signifikante Unterschiede der mittleren SETi−Aktivität bei unterschiedlichen Reizgeschwindigkeiten (jeweils $P<0{,}001$). Während fCO−Relaxation trat zwar eine geringere Abhängigkeit der Aktivitäten von der Reizgeschwindigkeit auf, die Unterschiede waren aber signifikant (Abbildung ###C,D; jeweils $P<0{,}001$).

Um zu testen, ob der geschwindigkeitssensitive Teil der Aktivierung der Extensor−Motoneurone auch abhängig von der aktuellen Startposition des Rampenreizes (Ausgangslage der Tibia) war, wurde die motoneuronale Extensor−Aktivität der beiden Vorderbeine während der fCO−Dehnung aus verschiedenen Startpositionen des fCO−Reizes gemessen und verglichen (N=5 Tiere). Abbildung 34A zeigt eine extrazelluläre Ableitung der F2−Nerven der beiden Vorderbeine bei ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins mit unterschiedlichen Startpositionen. Mit zunehmender Streckung des Mittelbeins verminderte sich die reizbezogene Aktivität der Extensor−Motoneurone beider Vorderbeine. In Abbildung ###B,C wurde die mittlere F2−Aktivität während der fCO−Dehnung gemessen, und bei verschiedenen Ausgangspositionen verglichen. Sowohl im rechten (Abbildung ###B) als auch im linken Bein (Abbildung ###C) erhöhte sich der geschwindigkeitssensitive Anteil der Extensor−Aktivität mit zunehmender Beugung des Mittelbeins signifikant (jeweils $P<0{,}05$ bzw. $P<0{,}001$). Die Ausgangsposition des fCO−Reizes bestimmte also die reizbezogene Aktivität der Motoneurone der FT−Gelenke der beiden Vorderbeine. Alle 5 Tiere ergaben gleiche Ergebnisse.

Die genannten Ergebnisse deuteten auf einen Einfluß der Tibiaposition des rechten Mittelbeins auf die Aktivierung der Extensor−Motoneurone der Vorderbeine hin. Im folgenden wurde daher getestet, ob auch Positionsinformation größerer Amplitude als die sonst verwendete Reizamplitude von 40° am fCO des rechten Mittelbeins die Daueraktivität der vorderen Extensor−Motoneurone beeinflussen konnte. Dabei wurde festgestellt, daß die Extensor−Motoneurone der rechten und linken Vorderbeine aller getesteten Tiere (N=4) von Positionsreizen am fCO des rechten Mittelbeins gegensätzlich aktiviert wurden. Während mit zunehmender Beugung des rechten Mittelbeins die Aktivität der Extensor−Motoneurone des rechten Vorderbeins zunahm, verringerte sich deren Aktivität im linken Vorderbein (gemessen jeweils nach dem Ende des geschwindigkeitssensitiven Anteils der Aktivität; Abbildung 35A). In einem mittleren Bereich der Tibiaposition (110°) zeigten beide Seiten eine relativ geringe Aktivität. Zur Verdeutlichung dieses Positionseffektes wurden extrazellulär abgeleitete Aktionspotentiale der Extensor−Motoneurone beider Vorderbeine jeweils als Ereignisse (Punkte) dargestellt und über einer Reizung mit 3 verschiedenen Positionen (20°, 100°, 180°) aufgetragen (Abbildung ###B).

Bei einem Vergleich der mittleren F2−Aktivitäten des rechten Vorderbeins bei verschiedenen Positionen (Abbildung ###C) ließen sich bei je 30° unterschiedlichem FT−Winkel des rechten Mittelbeins signifikante Unterschiede (jeweils P<0,001) feststellen und die Erhöhung der Aktivität bei zunehmender Beugung des Gelenks erkennen. Im linken Vorderbein zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede bei Veränderung des FT−Winkels um 30° (jeweils P<0,05 bzw. P<0,001). Bei 20° FT−Winkel war die Daueraktivität am geringsten, bei 180° am höchsten (Abbildung ###D). Die gleiche Abhängigkeit der SETi−Frequenz von der Position konnte in allen daraufhin untersuchten Tiere (N=4) gefunden werden.

Aus diesen Ergebnissen ergibt sich auch eine Erklärung für den scheinbaren Unterschied zwischen der Kopplung bei Sinusreizung und der Kopplung bei ramp−and−hold Reizung. Bei den relativ langsamen Sinusreizen schien hauptsächlich die positionsabhängige Komponente die Kopplungen zu bestimmen, bei ramp−and−hold Reizen die geschwindigkeitsabhängige Komponente (siehe auch Diskussion in 4.4.3).

Welchen Weg nimmt die sensorische Information des fCOs des rechten Mittelbeins zum Prothorakalganglion? Ein erster Schritt, um dies zu klären, ist das Durchtrennen eines Konnektivs zwischen Pro− und Mesothorakalganglion. Abbildung 36A zeigt die extrazellulären Ableitungen der F2−Nerven des rechten und linken Vorderbeins nach einer PCT−Applikation und der Durchtrennung des linken Konnektivs zwischen Meso− und Prothorakalganglion (N=2 Tiere). Die geschwindigkeitssensitiven, reizkorrelierten Veränderungen im FT−Gelenk des rechten und linken Vorderbeins blieben unverändert. Bei Dehnung und Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins nahmen die Aktivitäten der Extensor−Motoneurone des linken Vorderbeins, wie auch vor dem Durchtrennen des Konnektivs, zu (Abbildung ###A, rechts).

Eine Veränderung des Einflusses der sensorischen Information des fCOs des rechten Mittelbeins nach dem Durchtrennen des linken Konnektivs konnte in der Reaktion des FT−Gelenkes des linken Vorderbeins während der Reizung des fCOs mit unterschiedlichen Positionen festgestellt werden (Abbildung ###B). Vor dem Durchtrennen war die Aktivität der Extensor−Motoneurone so von der Position abhängig, daß im linken Vorderbein mit zunehmender Beugung die Aktivität immer weiter abnahm, im rechten dagegen zunahm (Abbildung ###A). Nach dem Durchtrennen blieb die Reaktion im *rechten Vorderbein* auf unterschiedliche fCO−Positionen qualitativ gleich (Abbildung ###C). Im *linken Vorderbein* dagegen nahm die Aktivität der Extensor−Motoneurone nach dem Durchtrennen mit zunehmender Beugung des rechten Mittelbeins zu (Abbildung ###D), zeigte also eine genau umgekehrte Abhängigkeit von der Position des Reizes wie vor dem Durchtrennen.

Wenn statt des linken Konnektivs zwischen Meso− und Prothorakalganglion das rechte Konnektiv durchtrennt wurde (N=2 Tiere), konnten weiterhin reizbezogene Veränderungen der Extensor−Aktivität des linken Vorderbeins, sowohl bei Positions− als auch bei Geschwindigkeitsreizen, festgestellt werden. Die Aktivität der Extensor−Motoneurone des rechten Vorderbeins dagegen war kaum noch abhängig von der Position, erhöhte sich aber immer noch während fCO−Dehnung und Relaxation.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß sensorische Positionsinformation, die die Aktivität des kontralateral zur Reizung liegenden Vorderbeins moduliert, über das kontralateral zum gereizten Bein liegende Konnektiv zum Vorderbein übertragen wird, während die Positionsinformation, die die Aktivität des ipsilateralen Vorderbeins beeinflußt, über das ipsilaterale Konnektiv übertragen wird. Geschwindigkeitsinformation scheint über beide Konnektive übertragen zu werden.

4.2.4 Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf die FT−Gelenke der Hinterbeine

Zeigt sich in den FT−Gelenken der Hinterbeine ein Einfluß sensorischer Information des fCOs des rechten Mittelbeins? Um dies festzustellen, wurde das fCO des rechten Mittelbeins mit Sinusreizen oder ramp−and−hold Reizen stimuliert, und die Kräfte der Tibien beider Hinterbeine oder die Aktivität der jeweiligen Extensor−Motoneurone aufgezeichnet.

Auch in den Hinterbeinen wurden vor der PCT−Applikation keine Veränderungen der Aktivität der Extensor−Motoneurone bzw. der Tibiakraft, die reizkorreliert zur Stimulation des fCOs des rechten Mittelbeins auftraten, gefunden. Die Aktivität der F2−Nerven beider Hinterbeine blieb sowohl bei Sinusreizung (Reizfrequenz 1Hz, Amplitude 400µm) als auch bei ramp−and−hold Reizung unverändert (Abbildung 37A). Nach PCT−Applikation (10^{-5}M) dagegen traten reizkorrelierte Kopplungen zur Stimulation des fCOs des rechten Mittelbeins auf. Es zeigte sich ein ähnliches Bild wie bei den Vorderbeinen.

Bei einer Sinusreizung des rechten mesothorakalen fCOs (Reizfrequenz 1Hz, Amplitude 400µm) verminderte sich während fCO−Dehnung die F2−Aktivität des linken Hinterbeins (N=4 Tiere), während sich die Aktivität im rechten Hinterbein erhöhte (Abbildung ###A rechts, N=7 Tiere). Während fCO−Relaxation dagegen erhöhte sich die Aktivität der Extensor−Motoneurone im linken Hinterbein, und es kam zu einem Ausfall der Extensor−Aktivität im rechten Hinterbein.

Bei Kraftmessungen (jeweils N=5 Tiere) ergab sich während fCO−Relaxation entsprechend eine Beugekraft der Tibia des rechten Hinterbeins und eine Streckkraft an der des linken Hinterbeins (Abbildung ###B). Eine fCO−Dehnung löste an der Tibia des rechten Hinterbeins eine Streckkraft und an der des linken eine Beugekraft aus. Vergleicht man die auftretenden Kopplungen der FT−Gelenke der Hinterbeine bei Sinusreizung des fCOs des rechten Mittelbeins mit denen der Vorderbeine, so stellt man fest, daß die FT−Regelkreise der Vorder− und Hinterbeine einer Körperseite jeweils während der gleichen Phase des fCO−Reizes gleich aktiviert wurden.

Zur besseren Charakterisierung des Einflusses der fCO−Information vom rechten Mittelbein auf die Hinterbeine wurden auch ramp−and−hold Reize an das fCO des rechten Mittelbeins angelegt und die Aktivität der Extensor−Motoneurone der Hinterbeine abgeleitet (N=15 Ableitungen der Extensor−Motoneurone des rechten Hinterbeins, N=11 der des linken). Im Beispiel der Abbildung 38A erhöhte sich während der Dehnung und der Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins die Aktivität der Extensor−Motoneurone beider Hinterbeine. Das Maximum der Aktivität während der fCO−Dehnung übertraf das der fCO−Relaxation (Abbildung ###B,C). Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes war kein Unterschied zur Aktivität des SETi im Vergleich zur Ausgangslage des fCOs (100° FT−Winkel) vorhanden.

Alle reizkorrelierten Veränderungen der Kräfte bzw. der Aktivitäten der Extensor−Motoneurone nach einer PCT−Applikation traten im jeweiligen Tier reproduzierbar auf. In 9 von 15 mit ramp−and−hold Reizung getesteten Tieren erhöhte sich die Extensor−Aktivität des *rechten Hinterbeins* während der Dehnung des fCOs des rechten Mittelbeins und es trat keine oder eine nur sehr schwache Aktivierung der Motoneurone während fCO−Relaxation auf. In 6 Tieren wurden die Extensor−Motoneurone in beiden Reizrichtungen aktiviert. In 6 der 11 für das FT−Gelenk des *linken Hinterbeins* getesteten Tiere nahm die Extensor−Aktivität hauptsächlich während fCO−Relaxation zu, während in 5 Tieren eine Zunahme in beiden Reizrichtungen beobachtet werden konnte.

Die Aktivität der Extensor−Motoneurone der beiden Hinterbeine war also geschwindigkeitssensitiv an die Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins angekoppelt.

Um festzustellen, ob sich diese reizbezogenen Aktivitäten in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit am fCO des rechten Mittelbeins ändern, wurde die Extensor−Aktivität der Hinterbeine während ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins mit unterschiedlichen Reizgeschwindigkeiten abgeleitet (insgesamt N=7). In der Ableitung in Abbildung 39A erhöhte sich die reizbezogene Extensor−Aktivität des rechten und des linken Hinterbeins mit zunehmender Reizgeschwindigkeit der fCO−Dehnung. Dies traf auf alle 7 untersuchten Tiere zu. Die Zunahme der Extensor−Aktivität des rechten Hinterbeins mit steigender Reizgeschwindigkeit war ebenso signifikant (P<0,001; Abbildung ###B;C) wie die Zunahme der Aktivität im linken Hinterbein (jeweils P<0,05 bzw. P<0,001; Abbildung 40A,B). Die Extensor−Aktivität während der fCO−Relaxation dagegen schien sich bei hohen Reizgeschwindigkeiten leicht zu verringern.

Die geschwindigkeitssensitive Aktivierung der Extensor−Motoneurone der Hinterbeine war also, zumindest während der Dehnung des fCOs des rechten Mittelbeins, auch abhängig von der Geschwindigkeit des fCO−Reizes.

Auch in den Hinterbeinen war die Aktivitätszunahme der Extensor−Motoneurone während der fCO−Dehnung und Relaxation abhängig von der aktuellen Position des Rampenreizes (Ausgangslage der Tibia; Abbildung 41A). Bei einer Startposition von 140° zeigte sich in beiden Hinterbeinen eine geringere reizbezogene Aktivität während der fCO−Dehnung als bei einer Startposition von 100°. Sowohl im rechten (Abbildung ###B) als auch im linken Hinterbein (Abbildung ###C) erhöhte sich mit zunehmender Beugung des rechten Mittelbeins die Aktivität der Extensor−Motoneurone während der fCO−Dehnung signifikant (jeweils $P<0{,}05$ bzw. $P<0{,}001$). Die Ausgangslage der Tibia bestimmte also auch hier die Stärke der Kopplungen nach einer PCT−Applikation. In allen getesteten Tieren (N=4) ergaben sich gleiche Ergebnisse.

Die genannten Ergebnisse zeigten den Einfluß von Positionsinformation des fCOs des rechten Mittelbeins auf die Aktivität der Extensor−Motoneurone der Hinterbeine. Verändert die Positionsinformation auch die Daueraktivität der Extensor−Motoneurone der Hinterbeine? Es wurden die F2−Nerven der Hinterbeine extrazellulär abgeleitet und unterschiedliche fCO−Positionen appliziert (Abbildung 42A). Es zeigte sich, daß, entsprechend der Situation in den FT−Gelenken der Vorderbeine, auch die Extensor−Motoneurone der Hinterbeine aller getesteten Tiere (N=4) nach einer PCT−Applikation gegensätzlich aktiviert wurden (Abbildung ###A,B).

Im rechten Hinterbein nahm die Aktivität der Extensor−Motoneurone mit zunehmender Beugung des rechten Mittelbeins signifikant zu (jeweils $P<0{,}05$ bzw. $P<0{,}001$; Abbildung 43A), im linken Mittelbein dagegen signifikant ab ($P<0{,}001$; Abbildung ###B). Bei der Ausgangslage der Tibia (100°) zeigten beide Seiten eine relativ geringe Aktivität. Die gegensätzliche Aktivität der beiden Hinterbeine kann in der Darstellung als PST−Histogramm (Abbildung ###C) gut erkannt werden. Die Aktivität zeigte eine deutliche Hysterese.

Auch hier erklärte sich der scheinbare Unterschied zwischen den Kopplungen bei Sinus− und ramp−and−hold Reizung dadurch, daß bei Sinusreizung hauptsächlich die positionsabhängige Komponente der Kopplung aktiviert wurde, bei ramp−and−hold Reizung dagegen die geschwindigkeitsabhängige (siehe Diskussion in 4.4.3).

4.2.5 Einfluß der Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins auf das FT−Gelenk des linken Mittelbeins

Zur Untersuchung der Übertragung sensorischer Information zwischen dem fCO eines Mittelbeins und dem kontralateral liegenden FT−Gelenk wurde der Versuchsaufbau geändert. Die Rezeptorsehnen der fCO beider Mittelbeine konnten jeweils getrennt mit ramp−and−hold Reizen stimuliert werden, und es wurden die F2−Nerven beider Mittelbeine extrazellulär abgeleitet. So konnte gleichzeitig eine mögliche Übertragung sensorischer Information vom FT−Gelenk des linken Mittelbeins zum rechten und umgekehrt gemessen werden.

Vor der PCT–Applikation war in 56 von 59 Tieren bei einer ramp–and–hold Reizung der fCO beider Mittelbeine keine Veränderung der motoneuronalen Extensor–Aktivität im jeweils kontralateral liegenden Bein (Abbildung 44A, links) zu erkennen. In 3 Tieren konnte bereits ohne PCT ein (schwacher) Einfluß des gereizten fCOs auf die Extensor–Motoneuronen des kontralateralen FT–Gelenkes gesehen werden. Wenn dies der Fall war, dann konnte immer nur eine Aktivitätszunahme der Motoneurone bei Dehnung des kontralateralen fCOs, nie eine Reaktion auf Relaxation festgestellt werden. Diese reizbezogene Aktivität verstärkte sich nach einer PCT–Applikation. In 2 der Tiere trat im weiteren Verlauf der PCT–Applikation auch eine Aktivitätserhöhung der Extensor–Motoneurone bei Relaxation des kontralateralen fCOs auf, die sich dann mit fortschreitender Zeit ebenfalls verstärkte.

Nach Applikation von Picrotoxin (10^{-5}M) konnten in 51 von 59 abgeleiteten Tieren im Mittel nach 17,6± 6,9 Minuten (N=12 ausgewertete Tiere) reizkorrelierte Veränderungen der Aktivität der kontralateral zur fCO–Reizung liegenden Extensor–Motoneurone beobachtet werden (Abbildung ###A, rechts). In den jeweils ipsilateral liegenden FT–Gelenken kam es im Mittel bereits nach 10± 2,5 Minuten (N=10) zu einer erkennbaren Zunahme der reizbezogenen Extensor–Aktivität, wie schon in Stein (1995) und Sauer et. al. (1997) beschrieben. Die Zeit bis zur Etablierung der kontralateralen Kopplungen übertraf also die Zeit, bei der im lokalen (ipsilateral zur fCO–Reizung liegenden) FT–Gelenk ein erkennbarer PCT–Effekt beobachtet werden konnte, um mehr als 50%.

Zwischen den jeweils kontralateral liegenden Beingelenken konnten folgende Typen reizkorrelierter Veränderungen der Extensor–Aktivitäten festgestellt werden: 1. Eine Erhöhung der Aktivität während kontralateraler fCO–Dehnung und Relaxation. 2. Eine Erhöhung der Aktivität nur während der fCO–Dehnung. 3. Eine Erhöhung der Aktivität nur während der fCO–Relaxation. Die folgenden Beispiele erläutern die einzelnen Reaktionstypen.

1. Im Versuch der Abbildung ###A (rechts) führte eine Dehnung des fCOs des linken Mittelbeins zu einer Aktivitätszunahme des SETi des rechten Mittelbeins (schwarzer Pfeil). Während fCO–Relaxation wurde SETi nochmals aktiv, allerdings schwächer als während fCO–Dehnung. Während der anschließenden Dehnung und Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins erhöhte sich die Aktivität der Extensor–Motoneurone des linken Mittelbeins. FETi wurde in beiden Fällen überschwellig aktiviert (weiße Pfeile), bei der Relaxation des fCOs allerdings etwas schwächer als während der fCO–Dehnung. In Abbildung ###B wurde ein PST–Histogramm der SETi–Aktivität des linken Mittelbeins während der Reizung des rechten fCOs erstellt, jeweils vor und nach PCT–Applikation. Nach der Applikation waren zwei geschwindigkeitssensitive Aktivierungen des SETi während der fCO–Dehnung und Relaxation zu erkennen. Dieser Reaktionstyp trat am häufigsten auf (23 von 59 getesteten Tieren, Abbildung ###A). In 18 dieser 23 Tieren konnte keine Positionskomponente gefunden werden; die Aktivität während der Haltephase nahm auf das Ausgangsniveau ab. In 2 Tieren war eine kleine positionssensitive Reaktion während der Haltephase des ramp–and–hold Reizes vorhanden (Abbildung ###B, II). In 3 anderen Tieren zeigte sich ein umgekehrter Trend: Während der Haltephase war die Aktivität geringer als ohne fCO–Reiz (Abbildung ###B, III).

2. Im Versuch der Abbildung 45A zeigte sich nur bei der Dehnung des fCOs des rechten Mittelbeins eine Aktivitätszunahme der kontralateral liegenden Extensor–Motoneurone des linken Mittelbeins (weißer Pfeil). FETi wurde dabei überschwellig aktiviert. Diese Art von Kopplung trat in 19 von 59 getesteten Tieren auf (Abbildung ###A), und stellte damit die zweithäufigste Reaktionsklasse dar. In 1 von 19 Tieren zeigte sich eine geringe Positionskomponente während der Haltephase des ramp–and–hold Reizes, in 2 Tieren war die Aktivität während der Haltephase geringer als ohne fCO–Reiz. In den restlichen 16 Tieren ergab sich keine Positionskomponente (Abbildung ###B).

3. In der Ableitung des F2−Nervs des linken Mittelbeins in Abbildung ###C wurde SETi nur während der Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins aktiv (weiße Pfeile). Im PSTH der F2−Aktivität der Abbildung ###D zeigt sich die geschwindigkeitssensitive Antwort des Extensor−Motoneurons. Es war in diesem Fall keine Positionskomponente vorhanden. Dieser Typ kontralateraler Beeinflussung stellte die seltenste Klasse mit 9 von 59 abgeleiteten Tieren dar (Abbildung ###A). In 2 der 9 Tiere war eine geringe Positionskomponente vorhanden.

Verschiedene Reaktionstypen konnten auch in einem Tier auftreten. Im Versuch der Abbildung ###E trat zum Beispiel bei Reizung des fCOs des linken Mittelbeins im rechten Mittelbein Reaktionstyp 1 mit einer Erhöhung der Extensor−Aktivität während fCO−Dehnung und Relaxation (schwarze Pfeile) auf. Bei einer Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins kam es im linken Mittelbein nur zu einer Aktivierung der Extensor−Motoneurone während fCO−Dehnung (Reaktionstyp 2, weiße Pfeile).

Nach Durchtrennen der Konnektive zum Pro− und Metathorakalganglion konnte kein Unterschied in der Beeinflussung des kontralateralen Bein festgestellt werden (Abbildung 46B, N=8 getestete Tiere). Der Austausch sensorischer Information zwischen den FT−Gelenken eines Segments benötigt daher wohl keine intersegmentalen neuronale Informationswege.

Die reizbezogene Zunahme der Extensor−Aktivität war in anderen Beinen abhängig von der Geschwindigkeit der Dehnung des fCOs des Mittelbeins. Um festzustellen, ob dies auch für das gegenüberliegende Mittelbein gilt, wurde das fCO mit unterschiedlichen Reizgeschwindigkeiten stimuliert und die Reaktion der kontralateralen Extensor−Motoneurone beobachtet. In Abbildung 47A wurde das fCO des rechten Mittelbeins mit 50°/s, 130°/s und 250°/s gereizt, und die Aktivitäten der ipsilateralen und kontralateralen Extensor−Motoneurone aufgezeichnet. Über diesen Ableitungen sind die entsprechenden PST−Histogramme der Aktivität des F2−Nervs des linken Mittelbeins dargestellt. Bei der Reizung mit 130°/s erreichte das PSTH seinen Maximalwert. Sowohl bei langsameren (50°/s) als auch bei schnelleren (250°/s) Reizen verringerte sich die geschwindigkeitssensitive Antwort der Extensor−Motoneurone während der fCO−Dehnung (Abbildung ###B,C). Eine ähnlicher Trend konnte auch in den ipsilateral zur fCO−Reizung liegenden Extensor−Motoneuronen des rechten Mittelbeins gesehen werden. Bei niedriger Reizgeschwindigkeit wurde z.B. FETi nicht überschwellig aktiv, sehr wohl aber bei mittlerer (130°/s) Reizgeschwindigkeit. Bei hoher Reizgeschwindigkeit wurde FETi wieder schwächer aktiviert.

In 10 von 13 (Reaktionstypen I und II) getesteten Tieren zeigte sich ein ähnliches Bild, in 3 Tieren dagegen nahm die Aktivität der kontralateral zur fCO−Reizung liegenden Extensor−Motoneurone zu hohen Reizgeschwindigkeiten weiter zu.

Die mittleren Aktivitäten der ipsilateral und kontralateral zur fCO−Reizung liegenden Extensor−Motoneurone zeigten also ähnliche Geschwindigkeits−abhängigkeiten bei fCO−Dehnung.

Um festzustellen, ob auch die Momentan−Aktionspotentialfrequenz kontralateraler Motoneurone ein

Maximum bei mittleren Reizgeschwindigkeiten erreichen, wurden in einem Tier die Momentan−Aktionspotentialfrequenzen des ipsi− und kontralateralen FETi bei unterschiedlichen Reizgeschwindigkeiten gemessen und verglichen. Die Auswertung fand zu einem späteren Zeitpunkt nach PCT−Applikation statt, bei der auch bei niedriger Reizgeschwindigkeit FETi überschwellig aktiviert wurde. Abbildung 48A zeigt die Auftragung für das ipsilaterale rechte FT−Gelenk (gereizt wurde das fCO des rechten Mittelbeins). Die maximalen Momentanfrequenzen des FETi unterschieden sich kaum für die Reizung mit 250°/s (Δ), 130°/s (+) und 50°/s (o). Im Gegensatz dazu zeigten die Momentanfrequenzen des kontralateral zur fCO−Reizung liegenden FETi (Abbildung ###B) Unterschiede zwischen verschiedenen Reizgeschwindigkeiten. Bei mittlerer Reizgeschwindigkeit (130°/s, ¡) lagen die maximalen Momentanfrequenzen höher als bei niedriger (50°/s, o) und hoher Reizgeschwindigkeit (250°/s, Δ).

Die Stärke der kontralateralen Kopplung zwischen den FT−Gelenken der Mittelbeine nach einer PCT−Applikation scheint also bei mittleren Reizgeschwindigkeiten ein Maximum zu erreichen.

Um zu testen, ob die Kopplung zwischen den FT−Gelenken der Mittelbeine auch abhängig von der Startposition eines fCO−Reizes war, wurden ramp−and−hold Reize mit gleicher Reizgeschwindigkeit (250°/s) und gleichen Amplituden (400µm = 40° FT−Winkel) aus verschiedenen Tibiapositionen appliziert. Abbildung ###A zeigt an einem Beispiel die Ableitungen der F2−Nerven beider Mittelbeine bei ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins mit verschiedenen Startpositionen. Mit zunehmend gebeugter Startposition erhöhte sich sowohl die Verstärkung des ipsilateralen Widerstandsreflexes, als auch die reizbezogene Aktivität der kontralateralen Extensor−Motoneurone (Abbildung 49A,B). Diese Ergebnisse zeigten auch im Mittelbein den Einfluß der Position des kontralateralen fCO−Reizes auf die Aktivität der Extensor−Motoneurone, zumindest für die beiden häufigsten Reaktionstypen 1 und 2 (N=3 ausgewertete Tiere pro Reaktionstyp).

Beeinflußt die Position des kontralateralen fCO−Reizes die Daueraktivität der ipsilateralen Extensor−Motoneurone? Um dies zu messen, wurden verschiedene Positionen an das fCO angelegt, und die Reaktion der gegenüberliegenden Extensor−Motoneurone beobachtet. Im Versuch der Abbildung 50A wurden die F2−Nerven der beiden Mittelbeine extrazellulär abgeleitet und am fCO des rechten Mittelbeins Positionen von 20°, 100° und 180° (FT−Winkel) angelegt. Die ipsilateralen Extensor−Motoneurone zeigten die für PCT−Wirkung in Sauer et al. (1997) beschriebenen Reaktion: Mit zunehmender Beugung des FT−Gelenkes nahm die Daueraktivität der Motoneurone stark zu (Abbildung ###C). Im Gegensatz dazu zeigten die kontralateral zur Reizung liegenden Extensor−Motoneurone eine zur ipsilateralen Seite gegensätzliche Aktivität (sowohl bei Reaktionstyp 1 und 2, jeweils N=3 ausgewertete Tiere; Reaktionstyp 3 wurde nicht getestet). Bei zunehmender Streckung des rechten FT−Gelenkes nahm die Aktivität der linken Extensor−Motoneurone signifikant zu ($P<0,05$ bzw. $P<0,001$; Abbildung ###B,D). Nur in der Ausgangslage der Tibia (100°) konnte in beiden Beinen eine ungefähr gleiche Aktivität der Extensor−Motoneurone verzeichnet werden. Entsprechendes konnte in allen getesteten Tieren (N=6) gefunden werden; die Signifikanzniveaus lagen jedoch zum Teil unter denen des gezeigten Tieres (in allen Tieren $P<0,05$).

4.2.6 Zeitpunkt des Auftretens der Kopplung zwischen den FT−Gelenken des rechten und linken Mittelbeins

Betrachtet man den Zeitgang der Etablierung des kontralateralen Einflusses nach Applikation von PCT (wenn ohne PCT keine erkennbare Kopplung vorhanden war), so läßt sich erkennen, daß immer die Aktivitätserhöhung während der fCO−Dehnung zuerst auftrat. In 54% aller Tiere (N=42), die dann eine Reaktion bei Dehnung des kontralateralen fCOs zeigten, etablierte sich 5 ± 3 Minuten (N=5 ausgewertete Tiere) später auch die Zunahme der Extensor−Aktivität während der Relaxation.

4.2.7 Zusammenfassung der extrazellulären Ergebnisse

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, daß die Extensor−Motoneurone der FT−Gelenke aller Beine bei ramp−and−hold Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins jeweils in ähnlicher Weise geschwindigkeitsabhängig aktiviert wurden, sowohl während der fCO−Dehnung als auch während der Relaxation. Die Information über die Geschwindigkeit der Dehnung und der Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins erreicht also nach PCT−Applikation alle anderen Beine.

Wenn das fCO des rechten Mittelbeins dauerhaft gedehnt wurde, also ein Positionsreiz appliziert wurde, der ein Beugen der Tibia signalisierte, wurden jeweils ipsilateral liegende Vorder− und Hinterbeine in Gegenphase dazu aktiviert (Abbildung 51A). Die Aktivität der Extensor−Motoneurone erhöhte sich, so daß eine freibewegliche Tibia sich strecken würde. In den kontralateral liegenden Beinen dagegen verminderte sich die Aktivität der Extensor−Motoneurone. Während einer dauerhaften Relaxation des fCOs, also während eines Positionsreizes, der eine gestreckte Tibia signalisierte, zeigte sich ein spiegelbildliches Verhalten der FT−Gelenke (Abbildung ###B): In allen kontralateralen Beinen erhöhte sich die Aktivität der Extensor−Motoneurone, und im ipsilateralen Vorder− und Hinterbein nahm sie ab. Die Information über die Stellung des rechten Mittelbeins erreichte also nach PCT−Applikation ebenfalls alle anderen Beine, hatte aber unterschiedliche Auswirkungen auf die FT−Gelenke der einzelnen Beine. Während Geschwindigkeitsinformation des fCOs in allen Beinen nur eine Zunahme der Aktivität der Motoneurone bewirkte, konnten Positionsreize in Abhängigkeit von deren Richtung (Beugung oder Streckung) auch eine Abnahme der Aktivität hervorrufen.

4.3 Ergebnisse aus Versuchen mit intrazellulären Methoden

4.3.1 Allgemein

Das neuronale Netzwerk des Femur−Tibia−Kontrollsystems verarbeitet lokale sensorische Information des fCOs und steuert das FT−Gelenk (Zusammenfassung: Bässler, 1983a; 1993). Die einzelnen Neurone dieses Netzwerks sind für das Mittelbein beschrieben und zum Teil auch identifiziert (Zusammenfassung: Büschges, 1995a). Sowohl im stehenden (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996; diese Arbeit), als auch im laufenden Tier (Bässler und Büschges, 1990; Schmitz et al., 1991c; Büschges et al., 1994; Driesang und Büschges, 1996) wirken nichtspikende Interneurone an der Generierung des jeweiligen motorischen Ausgangs mit. Es stellte sich nun die Frage, ob das neuronale Netzwerk des FT−Kontrollsystem auch an der Verarbeitung kontralateraler fCO−Information beteiligt ist, oder ob die Information die Motoneurone über andere neuronale Wege erreicht. Um festzustellen, welche Elemente des das jeweilige FT−Gelenk kontrollierenden neuronalen Netzwerks von der sensorischen Information des stimulierten kontralateralen fCOs beeinflußt wurden, wurde intrazellulär von Motoneuronen und Interneuronen abgeleitet und nach Veränderungen in deren Reaktion nach PCT−Applikation während der Reizung des fCOs des gegenüberliegenden Beins gesucht.

4.3.2 Der Einfluß kontralateraler fCO−Reizung auf die exzitatorischen Motoneurone

Intrazelluläre Ableitungen lassen Rückschlüsse auf die Charakteristika der Neuronenaktivität, auf Veränderungen in den Neuronen selbst, und auf die beteiligten neuronalen Wege zu. Um die extrazellulär gewonnenen Ergebnisse dahingehend zu vervollständigen, wurde intrazellulär aus den Extensor−Motoneuronen während der Reizung des kontralateralen fCOs abgeleitet.

In insgesamt 7 Tieren wurden 4 mal SETi und 3 mal FETi jeweils vor und nach PCT−Applikation abgeleitet. Die Neurone wurden anhand ihrer konstanten Latenz zwischen intrazellulär abgeleiteten Aktionspotentialen und extrazellulär auftretenden Spikes identifiziert, wie in Abbildung 52C für FETi demonstriert. Wie die Ergebnisse der extrazellulären Versuche schon andeuteten, traten weder in SETi noch in FETi vor Picrotoxin−Applikation reizkorrelierte Veränderungen des Membranpotentials oder einer vorhandenen

Spontanaktivität bei Reizung des kontralateralen fCOs auf (für FETi in Abbildung ### gezeigt). Dies traf auf alle Ableitungen (N=7) zu. Ungefähr zehn Minuten nach PCT−Applikation (10^{-5}M) zeigten sich während der Dehnung des fCOs in beiden Motoneuronen erste reizbezogene Depolarisationen. Nach weiteren fünf Minuten war in 5 der 7 Ableitungen auch während Relaxation des fCOs eine (geringe) Depolarisation vorhanden (Abbildung ###B, Abbildung 53A,B). Die Amplitude der Depolarisation während fCO−Dehnung hatte sich bis zu diesem Zeitpunkt weiter erhöht. Beide Motoneurone zeigten qualitativ die gleiche Reaktion während fCO−Stimulation, aber Unterschiede bezüglich der Anzahl der Aktionspotentiale.

SETi zeigte vor PCT−Applikation eine Spontanaktivität (ohne fCO−Reiz, Ausgangslage der Tibia) von 5± 5Hz (N=4), die sich nach PCT−Applikation immer erhöhte und zwar im Mittel auf 45± 15Hz (N=4). FETi wies ohne PCT nie eine Spontanaktivität auf; nach PCT−Applikation konnte eine Spontanaktivität von 15,2± 15Hz (N=3) gemessen werden.

Im Falle der Abbildung ###B (Ausschnittsvergrößerung) erhöhte sich die Aktivität des FETi ohne fCO−Reiz auf 25± 5 Hz (n=5 Messungen pro 2s in der fCO−Ausgangslage) nach PCT−Applikation. Eine fCO−Dehnung des linken Mittelbeins löste eine Depolarisation und damit eine Zunahme der Aktionspotentialfrequenz aus (Ausschnittsvergrößerung, rechts). Auch bei Relaxation des fCOs trat eine, verglichen zur Depolarisation während fCO−Dehnung, Depolarisation geringerer Amplitude auf.

In Abbildung ###A ist der Membranpotentialverlauf des SETi des rechten Mittelbeins nach PCT−Applikation dargestellt. Um die Spontanaktivität nach PCT−Applikation zu verringern, wurde SETi tonisch mit einem Strom von −2nA hyperpolarisiert. Während der fCO−Dehnung des ipsilateralen fCOs des rechten Mittelbeins wurde SETi überschwellig depolarisiert und begann Aktionspotentiale zu bilden. Während der Haltephase fiel die Aktionspotentialfrequenz kaum ab, der Membranpotentialverlauf des SETi zeigte eine Zunahme der positionssensitiven Komponente (siehe auch Sauer et. al., 1997). Während der fCO−Relaxation kehrte das Membranpotential wieder auf sein Ausgangsniveau zurück. Aufgrund der tonischen Hyperpolarisation konnte keine reizbezogene Hyperpolarisation während der fCO−Relaxation beobachtet werden.

Die Dehnung des kontralateralen fCOs depolarisierte SETi mit geringerer Amplitude als die Dehnung des ipsilateralen fCOs. Trotzdem wurde SETi überschwellig aktiviert und Aktionspotentiale wurden generiert. Die Depolarisation begann mit einer Latenz von 18,3± 6,2ms (n=8) nach Beginn des Rampenreizes (gemessen bei einer Reizgeschwindigkeit von 250°/s). Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes fiel das Membranpotential wieder auf das Ausgangsniveau. Es war keine positionssensitive Komponente im Membranpotentialverlauf des SETi erkennbar. Die Relaxation des kontralateralen fCOs löste eine Depolarisation aus, deren Amplitude geringer war als während fCO−Dehnung (Abbildung ###B), und die mit einer Latenz von 45± 10,1ms (n=8) auftrat.

Die reizbezogenen Depolarisationen beider exzitatorischen Motoneurone könnten aus einer Zunahme der exzitatorischen synaptischen Potentiale oder einer Abnahme einer eventuell vorhandenen Inhibition resultieren. Es wurde daher intrazellulär mit der Ein−Elektroden−Stromklemme abgeleitet, um zwischen diesen Möglichkeiten entscheiden zu können. Es wurden negative Strompulse mit einer Dauer von 100ms und je nach Versuch unterschiedlichen Amplituden (−0,5nA bis −1nA) appliziert, und die Amplituden der resultierenden Spannungssprünge gemessen. Dabei zeigte sich, daß die reizbezogenen Depolarisationen, sowohl während fCO−Dehnung, als auch während fCO−Relaxation, durch eine Zunahme der reizbezogenen depolarisierenden Eingänge verursacht wurden, und nicht durch eine Abnahme hemmender Eingänge (Disinhibition).

Abbildung 54A zeigt beispielhaft eine solche Ableitung des SETi des rechten Mittelbeins (insgesamt N=2 Ableitungen in dieser Konfiguration) nach erfolgter PCT−Applikation in der Ein−Elektroden−Stromklemme mit Strompulsen von
−0,5nA. Bei Dehnung des ipsilateralen rechten fCOs konnte eine Abnahme der Amplitude der aus den Strompulsen resultierenden Spannungssprünge gemessen werden. Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes erreichten die Amplituden der Spannungssprünge wieder ihre ursprüngliche Höhe. Die Abnahme der Amplituden während der fCO−Dehnung bedeutet eine Zunahme von Ionenströmen, die SETi depolarisieren. Bei Reizung des kontralateralen fCOs des linken Mittelbeins ergab sich während der Dehnung des fCOs eine Abnahme der Amplitude der Spannungssprünge; es wurden also ebenfalls Ionenkanäle geöffnet, deren Leitfähigkeiten bewirkten, daß SETi depolarisierte. Direkt nach Ende der Rampe erreichten die Amplituden der Spannungssprünge wieder ihr ursprüngliches Niveau. Dies korrespondiert mit der Beobachtung, daß hier keine positionssensitive Komponente in der intrazellulären Reaktion des SETi während ramp−and−hold Reizung am kontralateralen fCO gefunden wurde. Bei Relaxation des kontralateralen fCOs konnte in einigen Fällen eine Abnahme der Amplitude der Spannungssprünge gesehen werden, die sich jedoch nicht signifikant nachweisen ließ.

Man kann aus den Amplituden der Spannungssprünge den relativen Eingangswiderstand des SETi−Neurons berechnen. Die Abnahme des relativen Eingangswiderstands bei Dehnung des ipsilateralen fCOs war ebenso statistisch signifikant wie die Abnahme bei Dehnung des kontralateralen fCOs ($P<0{,}001$; Abbildung ###B). Dies bedeutet, daß während der Dehnung des kontralateral liegenden fCOs die Zunahme der Depolarisation in SETi durch eine Zunahme depolarisierender Eingänge zu SETi ausgelöst wurde und nicht nur durch eine Abnahme inhibitorischer Eingänge. Andeutungsweise gilt dies auch für die Relaxation. Insgesamt wurde SETi in 2 Tieren in dieser Konfiguration abgeleitet. In beiden Ableitungen zeigte sich die beschriebene Zunahme der reizbezogenen Eingänge auf SETi.

Auch in FETi trat nach PCT−Applikation eine Zunahme der reizbezogenen Eingänge sowohl vom ipsilateralen als auch vom kontralateral liegenden fCO auf. Auch hier erwiesen sich die zugehörigen Abnahmen des relativen Eingangswiderstands während fCO−Dehnung als signifikant verschieden vom Eingangswiderstand ohne fCO−Reiz. ($P<0{,}001$; Abbildung 55). Während der anderen Stimulusphasen konnte keine Veränderung des Eingangswiderstands des FETi−Neurons nachgewiesen werden. Insgesamt wurde auch FETi zwei mal in dieser Konfiguration abgeleitet. Beide Ableitungen zeigten qualitativ gleiche Ergebnisse.

In den exzitatorischen Motoneuronen zeigte sich also nur eine Zunahme der stimulusbezogenen erregenden Eingänge bei Dehnung des kontralateral liegenden fCOs nach einer PCT−Applikation. Einen Einfluß der Position des kontralateralen fCOs auf den Eingangswiderstand der Motoneurone wurde nicht gefunden, obwohl extrazellulär ein Einfluß von Positionsreizen großer Amplitude auf die Aktivität der Motoneurone gezeigt werden konnte.

4.3.3 Der Einfluß kontralateraler fCO−Reizung auf das inhibitorische Motoneuron

Das dritte Motoneuron, das den Extensor−Muskel innerviert, ist der Common Inhibitor 1 (CI_1). Dieses Neuron ist während eines Widerstandsreflexes nur selten aktiv (Bässler, pers. Mitteilung), und zeigt im inaktiven Tier auch nur eine geringe Spontanaktivität. Es verschaltet inhibitorisch auf den Extensor−Muskel (Bässler und Storrer, 1980; Bässler, 1983a; Bässler und Stein, 1996). Es wird vom ipsilateralen fCO in komplexer Weise depolarisiert (Bässler, 1986a) und unterstützt mit seiner Aktivität aktive Bewegungen der Tibia (Bässler und Stein, 1996).

Das Common Inhibitor 1 Motoneuron wurde insgesamt in dieser Arbeit 4 mal abgeleitet und anhand der konstanten Latenz zwischen intrazellulär abgeleiteten Aktionspotentialen und extrazellulär auftretenden Spikes identifiziert (Abbildung ###B). Vor der Pharmakon−Applikation wurde es nicht von einer Reizung des gegenüberliegenden fCOs beeinflußt. Nach PCT−Applikation hingegen zeigte sich während einer fCO−Dehnung mit einer Reizgeschwindigkeit von 130°/s eine überschwellige Depolarisation, die während der Haltephase von einer Hyperpolarisation gefolgt wurde (Abbildung 56A, links). Im Verlauf der Haltephase nahm die Amplitude der Hyperpolarisation ab und es wurden wieder Aktionspotentiale generiert. Eine fCO−Relaxation löste eine geringe Zunahme der CI_1−Aktionspotentialfrequenz aus. Die Amplitude der Hyperpolarisation nach der fCO−Dehnung nahm mit zunehmender Reizgeschwindigkeit zu (Abbildung ###A). Die Amplitude der Depolarisation während der fCO−Dehnung nahm ebenfalls mit höheren Reizgeschwindigkeiten zu, wobei eine Reizung mit 50°/s CI_1 nicht überschwellig depolarisierte. In zwei der vier Ableitungen zeigte CI_1 biphasische Antworten (De− und Hyperpolarisation) bei einer fCO−Dehnung mit einer Reizgeschwindigkeit von 130°/s. In einer Ableitung wurde CI1 während der kontralateralen fCO−Dehnung nur depolarisiert. In einer anderen Ableitung konnte, trotz extrazellulär gemessenen Einflusses der kontralateralen fCO−Reizung auf die exzitatorischen Motoneurone, keine reizbezogene Veränderung des CI_1−Membranpotentials gemessen werden.

Wie sich aufgrund extrazellulär gemessener Daten ergab, war die Reaktion des CI_1 während kontralateraler fCO−Stimulation, im Gegensatz zu den exzitatorischen Motoneuronen, sehr variabel zwischen verschiedenen Tieren. Von insgesamt 10 ausgewerteten extrazellulären CI_1−Ableitungen zeigten 8 bei Dehnung des kontralateralen fCOs eine Zunahme der mittleren Aktionspotentialfrequenz pro Rampe, während 2 eine Abnahme zeigten. Während fCO−Relaxation konnte in 6 von 10 Tieren eine Zunahme der CI_1−Aktionspotentialfrequenz gesehen werden. Auffällig war, daß oft die CI_1−Neurone beider Mittelbeine nach einer PCT−Applikation von dergleichen Phase der fCO−Reizung aktiviert wurden, also koaktiv waren. Die Spontanaktivität konnte dabei sehr unterschiedlich sein.

4.3.4 Der Einfluß kontralateraler fCO−Reizung auf die nichtspikenden Interneurone

Es war nun zu klären, wie die fCO−Information auf die kontralateralen Motoneurone übertragen wurde. War das lokale prämotorische Netzwerk, das die Information des ipsilateralen fCOs verarbeitete, an der Übertragung der Information beteiligt? Erhielt es auch sensorische Information bei einer Reizung des kontralateralen fCOs, oder erfolgte die Zunahme der reizbezogenen Eingänge zu den Motoneuronen nach PCT−Applikation unabhängig davon? Es wurde deshalb intrazellulär aus identifizierten nichtspikenden Interneuronen abgeleitet, die an der Verarbeitung ipsilateraler fCO−Information beteiligt sind (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996; diese Arbeit, 3.2.4). Bei diesen Ableitungen wurde zusätzlich zum fCO des linken Mittelbeins auch das ipsilateral zur Ableitstelle liegende fCO (also das des rechten Mittelbeins) gereizt, um die jeweiligen Interneurone anhand ihrer Charakteristika zu identifizieren. In allen Fällen wurde die Reaktion der Neurone während ispilateraler fCO−Reizung gemessen. Zusätzlich wurden die Neurone künstlich depolarisiert, um somit die Verschaltung auf die Extensor−Motoneurone festgestellt. Damit konnten die Neurone gemäß Büschges (1990) klassifiziert werden. Wenn diese Klassifikation nicht eindeutig war, wurde die Zelle zusätzlich mit Teufelsgelb (Lucifer−Yellow; siehe 2.3.2) gefärbt und ihre Morphologie anschließend gezeichnet.

Da die nichtspikenden Interneurone ipsilaterale fCO−Information verarbeiten, könnten sie nach einer PCT−Applikation auch an der Übertragung dieser Information zu den kontralateralen Motoneuronen beteiligt sein. Mit künstlicher De− bzw. Hyperpolarisation wurde daher getestet, ob diese ipsilateral liegenden Interneurone kontralateral liegende Extensor−Motoneurone nach PCT−Applikation beeinflussen können.

Keines der nichtspikenden Interneurone (insgesamt in N=14 Neuronen getestet) konnte die Aktivität der Extensor−Motoneurone des gegenüberliegenden Beins nach PCT−Applikation beeinflussen. Interneuron E7 zum Beispiel erregte bei Injektion depolarisierenden Strom die ipsilateralen Extensor−Motoneurone nach PCT−Applikation, beeinflußte aber nicht die Aktivität der kontralateralen Extensor−Motoneurone (Abbildung 57A). Am Beispiel des inhibitorischen Interneurons I4 ist in Abbildung ###B gezeigt, daß auch inhibitorische Interneurone die Aktivität nur der Extensor−Motoneurone des ipsilateralen Beins veränderten, nicht jedoch die der kontralateralen Motoneurone.

Alle abgeleiteten nichtspikenden Interneurone, mit Ausnahme des Interneurons E2 (Anzahl der jeweiligen Ableitungen siehe Tabelle 2), zeigten nach einer PCT−Applikation eine Reaktion auf die Reizung des kontralateral liegenden fCOs. Im folgenden werden die Ergebnisse der Versuche an den einzelnen Interneuronen separat aufgeführt.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E1.

Interneurone des Typs E1 sind an der Generierung des Widerstandsreflexes im FT−Gelenk des Mittelbeins beteiligt und exzitatorisch auf die Extensor−Motoneurone verschaltet (Büschges, 1990). Bei Reizung des ipsilateralen fCOs zeigt dieses Neuron eine geschwindigkeitssensitive Depolarisation während der fCO−Dehnung, und eine positionssensitive Depolarisation während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes. Abbildung 58 zeigt eine intrazelluläre Ableitung eines Interneurons E1 des FT−Regelkreises des rechten Mittelbeins. Insgesamt wurde dieses Neuron 3 mal abgeleitet.

Eine Reizung des kontralateral liegenden fCOs löste in 2 von 3 Tieren auch vor PCT−Applikation reizbezogene Modulationen des Membranpotentials aus (Pfeile), und zwar während fCO−Dehnung und Relaxation, die aber die ipsilaterale SETi−Aktivität nicht veränderten. Nach der PCT−Applikation (Abbildung ###, rechts) wurde Interneuron E1 jeweils während der Dehnung und der Relaxation des kontralateralen fCOs depolarisiert. Die Reaktion des Neurons bei Reizung des ipsilateralen rechten fCOs blieb qualitativ gleich, die reizbezogenen Depolarisationen nahmen an Amplitude zu.

Die Depolarisation in E1 während ipsilateraler fCO−Dehnung ist geschwindigkeitsensitiv (Büschges, 1990). Verändert sich die Amplitude dieser Depolarisation nach PCT−Applikation in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit und trifft dies auch für die Depolarisationen während kontralateraler fCO−Reizung zu? Es wurde daher während einer intrazellulären Ableitung des E1 jeweils das ipsilaterale und das kontralaterale fCO mit unterschiedlichen Reizgeschwindigkeiten gereizt. Bei Reizung des ipsilateralen fCOs nach PCT−Applikation konnte eine Zunahme der Depolarisation mit Zunahme der Reizgeschwindigkeit festgestellt werden (Abbildung 59A). Relaxation führte bei allen Geschwindigkeiten zum Wegfall der positionssensitiven Komponente. Bei Reizung des kontralateralen fCOs nahmen beide reizbezogene Depolarisationen, während fCO−Dehnung und Relaxation, mit zunehmender Reizgeschwindigkeit an Amplitude zu (Abbildung ###B, N=3 Tiere). Die geschwindigkeitssensitiven Depolarisationen in Interneuron E1 bei Reizung des kontralateralen fCOs waren also abhängig von der anliegenden Reizgeschwindigkeit.

Um die Abhängigkeit des Membranpotentials von der Stellung der kontralateralen Tibia, also von der fCO−Position, genauer zu studieren, wurde in einem Tier das fCO des linken Mittelbeins mit unterschiedlichen Positionen gereizt und die Reaktion des kontralateral liegenden Interneurons E1 verfolgt.

Mit zunehmender Streckung der kontralateralen Tibia nahm das Membranpotential weniger negative Werte an und die Anzahl erregender postsynaptischer Potentiale nahm zu (Abbildung 60A). In Abbildung ###B wurde ein Vergleich der Membranpotentialveränderungen bei verschiedenen fCO−Positionen aufgetragen.

Das Membranpotential des Interneurons E1 wurde also nach einer PCT−Applikation in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit und auch der Position des kontralateralen fCOs moduliert.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E2.

Interneuron E2 ist exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet (Büschges, 1990) und zeigt bei einer Dehnung des ipsilateralen fCOs eine Depolarisation, die auch während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes nicht abfällt, also positionssensitiv ist (Büschges, 1990; Abbildung 61 links). Während der fCO−Relaxation kehrt das Membranpotential zum Ausgangswert zurück. Entgegen der Ergebnissen von Büschges (1990) konnte keine geschwindigkeitssensitive Reaktion in E2 gefunden werden. E2 wurde anhand seiner Morphologie identifiziert.

Sowohl vor (nicht gezeigt), als auch nach PCT−Applikation konnte keine Veränderung des Membranpotentialverlaufs bei Reizung des kontralateralen fCOs festgestellt werden (Abbildung ###, rechts), obwohl sich die Aktivität der Extensor−Motoneurone reizbezogen änderte. Damit stellt dieses Neuron einen Sonderfall dar, weil alle anderen Interneurone (Tabelle 2) reizbezogene Veränderungen ihres Membranpotentials bei Reizung des kontralateral liegenden fCOs nach einer PCT−Applikation zeigten. Interneuron E2 wurde allerdings nur einmal abgeleitet.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E3.

Interneuron E3 ist exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet (Büschges, 1990) und spiegelt deren Aktivitätsverlauf während eines Widerstandsreflexes sowohl vor als auch nach PCT−Applikation in seinem Membranpotentials wider (Abbildung 62; Büschges, 1990; Sauer et al., 1997). Das Membranpotential von E3 wird dabei von einer fCO−Dehnung depolarisiert, zeigt eine positionssensitive Komponente während der Haltephase und hyperpolarisiert während einer fCO−Relaxation.

Nur nach einer PCT−Applikation lösten Dehnung und Relaxation des kontralateralen fCOs Depolarisationen aus (Abbildung ###, rechts, Pfeile), die in allen abgeleiteten Neuronen (N=4) eine geringere Amplitude aufwiesen als die Depolarisationen während ipsilateraler fCO−Dehnung. Während der Haltephase kehrte das Membranpotential wieder auf seinen Ausgangswert ohne fCO−Reiz zurück. Es konnte kein Einfluß von Positionsreizen am kontralateralen fCO auf den Membranpotentialverlauf von Interneuron E3 gefunden werden.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E4.

Interneuron E4 ist exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet und wird in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit während fCO−Dehnung und Relaxation des ipsilateralen fCOs depolarisiert (Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1993).

Die war auch nach Applikation von PCT der Fall (Abbildung 63, links). Eine ähnliche Reaktion löste die Reizung des kontralateralen fCOs aus: Bei Dehnung des kontralateralen fCOs wurde Interneuron E4 depolarisiert, und zwar um so stärker, je höher die Reizgeschwindigkeit war (Abbildung ###, rechts). Bei Relaxation konnte nur bei hohen Reizgeschwindigkeiten (>130°/s) eine Veränderung des Membranpotentials gemessen werden. Interneuron E4 wurde insgesamt 5 mal abgeleitet, in 3 Fällen zeigte sich die oben genannte Reaktion, in einem Fall depolarisierte das Neuron nur bei Dehnung, nicht aber bei Relaxation des kontralateralen fCOs, in einem Fall zeigte sich keine Reaktion. In keinem Fall wurde ein Einfluß der kontralateralen fCO−Position auf das Membranpotential gefunden.

Exzitatorische nichtspikende Interneurone E5 und E6.

Die Interneurontypen E5 und E6 unterscheiden sich in ihren Reaktionen während ipsilateraler fCO−Reizung nur in ihrer Positionsabhängigkeit (Büschges, 1990). Beide Typen werden während Dehnung und Relaxation des ipsilateralen fCOs depolarisiert (Büschges, 1990; Abbildung 64) und sind exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet. Aufgrund der Ähnlichkeit ihrer Reaktionen wurden diese Neurone zu einer Typklasse zusammengefaßt (siehe auch 2.3.2).

Insgesamt wurde diese Typklasse 5 mal abgeleitet, in 2 Fällen konnte dabei ein geringer Positionsanteil in der Reaktion während ipsilateraler fCO−Reizung gefunden werden. Während einer Reizung des kontralateralen fCOs zeigte sich ohne PCT kein Einfluß auf das Membranpotential von E5/6.

Nach PCT−Applikation nahmen die Depolarisationen bei Dehnung und Relaxation des ipsilateralen fCOs an Amplitude zu, und es kam ein positionssensitiver Anteil hinzu (Abbildung ###, rechts). Während einer Dehnung des kontralateralen fCOs wurde Interneuron E5/6 depolarisiert, zeigte also eine geschwindigkeitssensitive Reaktion. Während der Haltephase konnte eine tonische Depolarisation erkannt werden (in 4 der 5 Tiere). Während fCO−Relaxation wurde das Neuron zunächst unter den Ausgangswert ohne fCO−Reizung hyperpolarisiert.

Interneurone der Typen E5/6 verarbeiteten daher nach einer PCT−Applikation Geschwindigkeits− und Positionsinformationen des kontralateralen fCOs.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E7.

Interneurone des Typs E7 sind exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet und werden während ipsilateraler fCO−Dehnung in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit hyperpolarisiert. Die Hyperpolarisation erstreckt sich über die gesamte Haltephase des ramp−and−hold Reizes. Während der fCO−Relaxation zeigt sich eine von der Reizgeschwindigkeit abhängige Repolarisation auf das Ausgangspotential oder darüber (Sauer et al., 1996; Abbildung 65A).

Interneuron E7 wurde insgesamt 4 mal abgeleitet. Während der Reizung des kontralateralen fCOs konnte vor

PCT−Applikation kein Einfluß auf den Membranpotentialverlauf des Interneurons gesehen werden (Abbildung ###A, rechts).

Nach einer PCT−Applikation (Abbildung ###B) nahm die Amplitude der Hyperpolarisation von E7 bei Dehnung des ipsilateralen fCOs zu. Eine fCO−Relaxation löste eine Depolarisation mit größerer Amplitude (im Vergleich zu vor der PCT−Applikation) aus.

Während der Dehnung und der Relaxation des kontralateralen fCOs nach PCT−Applikation wurde das Membranpotential von E7 depolarisiert. Die Depolarisation während der fCO−Dehnung übertraf in allen abgeleiteten E7 (N=4) die der fCO−Relaxation. Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes fiel das Membranpotential unter den Wert der fCO−Ausgangslage. Interneuron E7 verarbeitete daher auch Positionsinformation des gegenüberliegenden fCOs nach einer PCT−Applikation.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E8.

Interneuron E8 ist exzitatorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet und wird während einer Dehnung und einer Relaxation des ipsilateralen fCOs in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit hyperpolarisiert. Es zeigt keinen Positionsanteil in seiner Antwort (Abbildung 66A, genaue Charakterisierung siehe 3.2.4).

Insgesamt wurde Interneuron E8 5 mal abgeleitet. Während einer Reizung des kontralateralen fCOs konnte vor PCT−Applikation kein Einfluß sensorischer fCO−Information auf den Membranpotentialverlauf von E8 gefunden werden (Abbildung ###A).

Nach PCT−Applikation veränderte sich die Reaktion von Interneuron E8: Während der Dehnung des ipsilateralen fCOs konnte keine Hyperpolarisation mehr erkannt werden, dafür aber eine prominente Depolarisation (Abbildung ###A rechts). Dies traf auf 3 der 5 abgeleiteten Neurone zu. In den beiden anderen Ableitungen verringerte sich die Amplitude der Hyperpolarisation während fCO−Dehnung nach PCT−Applikation. Die Hyperpolarisation während fCO−Relaxation blieb erhalten und nahm an Amplitude zu.

Eine Dehnung des kontralateralen fCOs nach PCT−Applikation bewirkte in allen Tieren (N=5) eine Hyperpolarisation des Membranpotentials von Interneuron E8, deren Amplitude vergleichbar oder größer war als die Depolarisation während ipsilateraler fCO−Dehnung mit gleicher Reizgeschwindigkeit. Als einziges identifiziertes nichtspikendes Interneuron zeigte E8 eine Hyperpolarisation während der Reizung des kontralateral liegenden fCOs. Die Amplitude dieser Hyperpolarisation war abhängig von der Geschwindigkeit des Reizes am kontralateralen fCO (Abbildung ###B). Mit zunehmender Reizgeschwindigkeit (27°/s bis 250°/s) nahm die Amplitude der Hyperpolarisation zu.

Eine Mittelung ("Average") des Membranpotentialverlaufs über mehrere kontralaterale fCO−Dehnungen (Abbildung ###A) zeigte, daß vor der reizbezogenen Hyperpolarisation eine Depolarisation mit einer Latenz von 16,9± 5,1ms (n=10) auftrat (Pfeil). Bei simultaner Reizung des fCOs des rechten und linken Mittelbeins (N=2 Tiere) addierten sich die verschiedenen reizkorrelierten Veränderungen des Membranpotentials und ergaben eine Mischantwort aus den beiden Antworttypen bei ipsilateraler und kontralateraler fCO−Reizung (Abbildung 67B) nach PCT−Applikation. Bei gleichzeitiger Dehnung beider fCOs wurde Interneuron E8 zuerst hyperpolarisiert und zwar mit schnellerer Repolarisation als bei alleiniger kontralateraler Reizung, um dann während der Haltephase tonisch depolarisiert zu werden. Bei simultaner fCO−Relaxation wurde E8 hyperpolarisiert.

Inhibitorisches nichtspikendes Interneuron I1.

Interneuron I1 wird während einer Dehnung des ipsilateralen fCOs hyperpolarisiert. Es bleibt während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes auf einem hyperpolarisierten Niveau, zeigt also eine positionssensitive Reaktion. Während der Relaxation des ipsilateralen fCOs wird Interneuron I1 depolarisiert. Es ist inhibitorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltet (Büschges, 1990).

Nach PCT−Applikation wird Interneuron I1 währen der ipsilateralen fCO−Dehnung mit größerer Amplitude hyperpolarisiert und auch die Depolarisation während der fCO−Relaxation nimmt an Amplitude zu (Sauer et al., 1997; Abbildung 68).

Das Interneuron I1 wurde insgesamt 6 mal abgeleitet. Während einer Reizung des kontralateralen fCOs zeigten sich nur nach PCT−Applikation reizkorrelierte Modulationen des Membranpotentials von I1 (Abbildung ###, rechts). Sowohl während fCO−Dehnung als auch während fCO−Relaxation wurde das Interneuron I1 depolarisiert. Während der Haltephase kehrte das Membranpotential wieder auf seinen Ausgangswert zurück.

Inhibitorisches nichtspikendes Interneuron I2.

Das inhibitorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltete nichtspikende Interneuron I2 wird während ipsilateraler fCO−Dehnung und Relaxation depolarisiert (Büschges, 1990). I2 wurde bisher nicht nach einer PCT−Applikation abgeleitet.

Da I2 zweimal nur nach PCT−Applikation abgeleitet wurde, und in diesen Ableitungen keine mit Farbstoff gefüllten Elektroden benutzt wurden, mußten die Interneurone anhand ihrer Reaktion während ispilateraler fCO−Reizung und anhand ihrer Verschaltung zu den Extensor−Motoneuronen identifiziert werden. Im FT−Regelkreis sind außer I2 nur 2 andere Typen inhibitorischer, nichtspikender Interneurone beschrieben (I1, Büschges, 1990; und I4, Sauer et al., 1996). Die hier abgeleiteten Interneurone unterschieden sich nach PCT−Applikation in ihrer Reaktion während ramp−and−hold Reizung des ipsilateralen fCOs von Interneuronen des Typs I1, aber kaum von Interneuronen des Typs I4 (Sauer et al., 1997; diese Arbeit, siehe NSI I4, 4.3.4). Wenn die hier abgeleiteten Interneurone künstlich depolarisiert wurden, verminderte sich nur die Aktivität des ispilateralen SETi−Motoneurons, die Aktivität des CI_1−Motoneurons veränderte sich nicht. Dies grenzte die Interneurone gegen Interneurone des Typs I4 ab (siehe Tabelle 1 in Büschges, 1995b). Zusätzlich wurde keine Membranpotentialänderung während Vibrationsreizen am fCO (im Gegensatz zu Interneuronen des Typs I4; Sauer und Stein, in prep.) gefunden. Es handelte sich daher mit hoher Wahrscheinlichkeit um Interneurone des Typs I2. Im folgenden wurden diese Neurone mit "I2?" gekennzeichnet. Nach einer PCT−Applikation wurde I2? während Dehnung und Relaxation des ipsilateralen fCOs depolarisiert (Abbildung 69). Es zeigte keinen Positionsanteil in seiner Reaktion.

Während der Dehnung des kontralateralen fCOs wurde I2? stark depolarisiert (Abbildung ###, rechts). Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes kehrte das Membranpotential langsam auf seinen Ausgangswert zurück. Während fCO−Relaxation konnte keine Reaktion festgestellt werden. Verschiedene

Positionsreize wurden nicht getestet.

Inhibitorisches nichtspikendes Interneuron I4.

Bei ipsilateraler fCO−Reizung wird dieses inhibitorisch mit den Extensor−Motoneuronen verschaltete Interneuron bei Dehnung und Relaxation des fCOs jeweils in Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit depolarisiert (Sauer et al., 1996).

Insgesamt wurde I4 vier mal abgeleitet. Nach PCT−Applikation zeigte sich in zwei Ableitungen während ramp−and−hold Reizung am ipsilateralen fCO zusätzlich ein hyperpolarisierender Positionsanteil in der Reaktion von I4 (Abbildung 70A, links).

Während der Dehnung und der Relaxation des kontralateralen fCOs nach PCT−Applikation wurde das Membranpotential von I4 in allen Ableitungen (N=4) depolarisiert (Abbildung ###A). Die Amplitude der Depolarisation während der Dehnung war größer als die der Relaxation, und sie übertraf die Depolarisationen, die durch ipsilaterale fCO−Reizung mit gleicher Reizgeschwindigkeit ausgelöst wurden. Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes kehrte das Membranpotential wieder auf seinen Ausgangswert zurück. Es konnte kein Positionsanteil in der Reaktion des Interneurons I4 bei Reizung des kontralateralen fCOs gefunden werden. Bei gleichzeitiger Reizung der fCO beider Mittelbeine überlagerten sich die Antworten auf ipsilaterale und kontralaterale Reizung und ergaben, ähnlich wie in Interneuron E8, eine Mischantwort (Abbildung ###A, rechts).

Die Depolarisationen bei kontralateraler Dehnung und Relaxation des fCOs waren abhängig von der Reizgeschwindigkeit am kontralateralen fCO (Abbildung ###B): Mit zunehmender Reizgeschwindigkeit nahm sowohl die Depolarisation während fCO−Dehnung, als auch die während Relaxation zu.

In Abbildung 71A,B wurden die ipsilateralen und kontralateralen Antworten von Interneuron I4 über mehrere fCO−Reizungen gemittelt. Die Depolarisation während ipsilateraler fCO−Dehnung trat mit einer Latenz von 8,2± 0,6ms (n=6) auf, und wies eine mittlere Amplitude von 7,1± 1,8mV (n=14) auf. Die Depolarisation während kontralateraler fCO−Dehnung begann mit einer Latenz von 22,8± 3,3ms (n=9) und hatte eine mittlere Amplitude von 13,9± 1,2mV (n=26). Beim Vergleich der mittleren Amplituden während ipsilateraler und kontralateraler fCO−Dehnung ergab sich in 3 ausgewerteten Tieren immer eine höhere Amplitude der Depolarisation bei kontralateraler fCO−Dehnung (Abbildung ###C).

Interneurone dieses Typs könnten einen großen Beitrag zur kontralateralen Kopplung zu leisten, da sie während der fCO−Dehnung des kontralateralen fCOs stärker depolarisiert werden als während der Dehnung des ipsilateralen fCOs.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der intrazellulären Ableitungen aller nichtspikenden Interneurone bei Reizung des kontralateralen fCOs eingetragen und deren Reaktion vor und nach PCT−Applikation verglichen.

Latenzen zwischen Beginn der kontralateralen fCO−Reizung und ipsilateraler Neuronenantwort.

Latenzen zwischen der Reizung des fCOs und der Reaktion eines Neurons weisen auf die Laufzeiten der neuronalen Informationen hin. Es wurden deshalb die Latenzen der Reaktionen einzelner nichtspikender Interneurone und des SETi während der Reizung des kontralateralen fCOs gemessen und mit den Latenzen während ipsilateraler Reizung verglichen.

In Abbildung 72A wird dies für Interneuron E1 gezeigt. Es wurden Reizgeschwindigkeiten von 250°/s und höher (Stufenreize, Reizgeschwindigkeit >>250°/s) getestet. Die kürzeste feststellbare Latenz bei kontralateraler fCO−Reizung betrug in E1 10,1± 0,9ms (n=20) während der fCO−Dehnung mit Stufenreizen. Im gleichen Neuron betrug die Latenz zwischen ipsilateraler fCO−Reizung und Reaktion in E1 6,6± 1,7ms (n=9), und war damit deutlich kürzer als bei kontralateraler Reizung. Sie war vergleichbar mit den von Büschges (1990) gemessenen Latenzen nichtspikender Interneurone.

Zwischen verschiedenen Tieren konnte kein signifikanter Unterschied der Latenzen, weder während kontralateraler, noch während ipsilateraler fCO−Reizung gefunden werden (jeweils P>0,2;

Die Latenzen zwischen kontralateraler fCO−Dehnung und der Reaktion fast aller nichtspikenden Interneurone und des SETi−Motoneurons aus verschiedenen Tieren unterschieden sich nicht signifikant voneinander (jeweils P>0,2; gemessen bei 250°/s; Latenz von E1 signifikant größer als Latenz von E5/6 (P<0,05; Abbildung ###C). Alle gemessenen Latenzen bei kontralateraler Reizung lagen im Mittel zwischen 16ms und 25ms und waren damit jeweils signifikant höher als die Latenzen bei ipsilateraler Reizung (jeweils P<0,001).

4.3.5 Ergebnisse der Ein−Elektroden−Stromklemme nichtspikender Interneurone

Wie kommt es zu den reizbezogenen Veränderungen in den Membranpotentialverläufen der Interneurone während der Reizung des kontralateralen fCOs? Die Potentialänderungen könnten z.B. aus einer Zunahme oder einer Abnahme von reizbezogenen Eingängen zu den Interneuronen resultierten. Dies würde sich in Veränderungen des relativen Eingangswiderstands der Neurone zeigen. Es wurde daher intrazellulär mit der Technik der Ein−Elektroden−Stromklemme abgeleitet, und negative Strompulse mit einer Dauer von 100ms und unterschiedlichen Amplituden (−0,1nA bis −1nA) appliziert. Die Amplituden der resultierenden Spannungssprünge wurden gemessen und in den relativen Eingangswiderstand umgerechnet.

In diesen Versuchen ergab sich in allen getesteten Interneuronen bei reizinduzierten Veränderungen des Membranpotentials eine Abnahme des Eingangswiderstands, die auf das zusätzliche Öffnen von Ionenkanälen hinweist. Die reizbezogenen Veränderungen der Membranpotentialverläufe der Interneurone wurden daher durch eine Zunahme von reizbezogenen synaptischen Ströme verursacht.

Im Einzelnen wurden die nichtspikenden Interneurone E1, E7, E8, I1, I2? und I4 (jeweils eine Ableitung) untersucht. Die Ergebnisse der Versuche sind im folgenden für die einzelnen Neurone aufgeführt.

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E1

In einer Ableitung in der Ein−Elektroden−Stromklemme des Interneurons E1 wurden Strompulse mit einer Amplitude von −1nA appliziert (Abbildung 73A). Bei Reizung des ipsilateralen fCOs nach PCT−Applikation nahmen die Amplituden der ausgelösten Spannungssprünge während der fCO−Dehnung und damit auch der errechnete Eingangswiderstand signifikant ab ($P<0,001$; Abbildung ###B). Die Depolarisation in E1 wurde also durch eine Zunahme erregender Eingänge ausgelöst. Bei einem Vergleich zwischen dem Eingangswiderstand ohne fCO−Reiz vor und nach PCT−Applikation ergab sich kein Unterschied. Der Eingangswiderstand bei ipsilateraler fCO−Dehnung nahm dagegen nach PCT−Applikation signifikant ab ($P<0,001$, Abbildung ###B).

Die Dehnung und Relaxation des kontralateralen fCOs verminderte ebenfalls die Amplitude der Spannungssprünge. Beide Depolarisationen bei kontralateraler fCO−Reizung wurden also von einer Zunahme der exzitatorischen Eingänge zu E1 getragen. Der errechnete relative Eingangswiderstand des Neurons nahm während der Dehnung und Relaxation des kontralateralen fCOs im Vergleich zum Eingangswiderstand ohne fCO−Reiz signifikant ab ($P<0,001$; Abbildung ###C). Zwischen fCO−Dehnung und Relaxation zeigte sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied ($P<0,05$; Abbildung ###C).

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E7

In der Ableitung des Interneurons E7 in der Ein−Elektroden−Stromklemme in Abbildung 74A wurde das fCO sowohl ipsi− als auch kontralateral gereizt. Während ipsilateraler fCO−Dehnung waren die von den Strompulsen (−1nA) induzierten Spannungssprünge im Vergleich zu den anderen Reizphasen und der Ausgangslage des ipsilateralen fCOs in ihrer Amplitude vermindert. Dies bedeutet, daß die Hyperpolarisation bei ipsilateraler fCO−Dehnung durch eine Zunahme an inhibitorischen Eingängen getragen wurde.

Während kontralateraler fCO−Dehnung und Relaxation nahm der Eingangswiderstand des Neurons ab. Die Depolarisation bei kontralateraler fCO−Dehnung und Relaxation beruhte damit auf einer Zunahme der exzitatorischen synaptischen Eingänge auf E7. Die jeweiligen Unterschiede sind signifikant ($P<0,001$; Abbildung ###B).

Exzitatorisches nichtspikendes Interneuron E8

Interneuron E8 wird während ipsilateraler fCO−Dehnung und Relaxation hyperpolarisiert. Nach PCT−Applikation wird es bei Dehnung depolarisiert (Abbildung ###A). Bei kontralateraler fCO−Dehnung zeigte dieses Neuron als einziges eine reizbezogene Hyperpolarisation nach PCT−Applikation. Um zu testen, ob diese Hyperpolarisation auf einer Zunahme der hemmenden Eingänge zu E8 beruht, wurde auch dieses Neuron in der Ein−Elektroden−Stromklemme abgeleitet und Strompulse von −1nA appliziert (Abbildung 75A).

Sowohl bei ipsilateraler, als auch bei kontralateraler fCO−Dehnung nahmen die Amplituden der ausgelösten Spannungssprünge (Pfeile) ab. Der errechnete Eingangswiderstand während der kontralateralen fCO−Dehnung war signifikant geringer als in der fCO−Ausgangslage ($P<0{,}05$; Abbildung ###B). Interneurone des Typs E8 zeigen also nach PCT−Applikation eine Zunahme inhibitorischer Eingänge während der Dehnung des kontralateral liegenden fCOs. Die sensorische Information des kontralateralen fCOs wird daher über Neurone, die inhibitorische Ausgangssynapsen besitzen, an Interneuron E8 übertragen. Es wird ein inhibitorischer Ionenstrom ausgelöst, der offensichtlich nicht PCT−sensitiv ist und somit von PCT nicht geblockt werden kann. Dies deutet darauf hin, daß die reizbezogene Hyperpolarisation in E8 nicht durch GABAerge Chloridströme getragen wird.

Inhibitorisches nichtspikendes Interneuron I4

Während kontralateraler fCO−Dehnung, sowie während ipsilateraler fCO−Dehnung und Relaxation nach PCT−Applikation verminderten sich die Amplituden der ausgelösten Spannungssprünge (Pfeile in Abbildung 76A) im Vergleich zur fCO−Ausgangslage. Der Eingangswiderstand von I4 nahm, im Vergleich zur Ausgangslage der Tibia, während der ipsilateralen fCO−Dehnung und Relaxation signifikant ab ($P<0{,}001$; Abbildung ###B). Der Eingangswiderstand während der fCO−Relaxation war dabei signifikant höher als der Eingangswiderstand während fCO−Dehnung ($P<0{,}001$; Abbildung ###B).

Der Eingangswiderstand von I4 während der kontralateralen fCO−Dehnung war ebenfalls signifikant geringer als der Eingangswiderstand während der Ausgangslage des fCOs ($P<0{,}001$; Abbildung ###B).

Die im inhibitorischen Interneuron I4 ausgelösten Depolarisationen bei ipsi− und kontralateraler fCO−Dehnung wurden also ausgelöst durch eine Zunahme an erregenden synaptischen Eingängen zu I4.

Inhibitorische nichtspikende Interneurone I1 und I2?

Auch Interneurone I1 und I2? wurden in der Ein−Elektroden−Stromklemme abgeleitet (Abbildung 77; Abbildung 78). Ähnlich der Situation in Interneuron I4 verringerten sich die Amplituden der ausgelösten Spannungssprünge bei kontralateraler fCO−Dehnung bzw. Relaxation. Die reizkorrelierten Depolarisationen wurden also auch in diesem Falle durch eine Zunahme erregender Eingänge ausgelöst.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß alle identifizierten Typen von nichtspikenden Interneuronen im FT−Regelkreis, mit Ausnahme des Interneurons E2, bei einer Reizung des kontralateralen fCOs geschwindigkeitssensitive Veränderungen ihres Membranpotentials nach einer PCT−Applikation zeigten. Die entsprechenden De− bzw. Hyperpolarisationen waren, zumindest in den darauf getesteten Neuronen, abhängig von der Geschwindigkeit das fCO−Reizes und wurden durch eine Öffnung von Ionenkanälen und der entsprechenden Zunahme von Ionenleitfähigkeiten in den jeweiligen Neuronen ausgelöst. Einige der nichtspikenden Interneurone zeigten auch eine positionssensitive Komponente in ihrer Reaktion während kontralateraler fCO−Reizung (Typen E1, E5/6, E7).

4.3.6 Der Einfluß kontralateraler fCO−Reizung auf spikende Interneurone

Im Femur−Tibia−Regelkreis der Stabheuschrecke gibt es neben den nichtspikenden Interneuronen noch eine unbekannte Anzahl spikender, also aktionspotentialbildender, Interneurone. Bisher sind nur wenige dieser Neurone morphologisch und physiologisch charakterisiert (Büschges, 1989; Driesang, 1994). Die spikenden Interneurone reagieren mit Veränderungen ihres Membranpotentials und/oder ihrer Aktionspotentialfrequenz auf eine fCO−Reizung. Die jeweiligen Reaktionen können sehr unterschiedlich ausfallen; spikende Interneurone können daher bezüglich ihrer Reaktion während ipsilateraler fCO−Reizung in mindestens 6 verschiedene Typklassen eingeordnet werden (Dörr, persönliche Mitteilung). Die Interneurone verschalten, möglicherweise indirekt via nichtspikende Interneurone (Zusammenfassung: Büschges, 1995a), entweder exzitatorisch oder inhibitorisch, auf die Extensor−Motoneurone.

Es stellte sich die Frage, ob solche Neurone auch an der Übertragung sensorischer Information des fCOs zu den kontralateralen Extensor−Motoneuronen beteiligt sind. Im folgenden werden prämotorische spikende Interneurone vorgestellt, die jeweils mindestens 2 mal abgeleitet wurden und nach PCT−Applikation sensorische Informationen des kontralateralen fCOs verarbeiten und an die Motoneurone weiterleiten. Es wurde wiederum intrazellulär im rechten mesothorakalen Halbganglion abgeleitet, das fCO des rechten Mittelbeins gereizt und der zugehörige F2−Nerv mit den Extensor−Motoneuronen abgeleitet, um die Neurone zu charakterisieren. Danach wurde auch das kontralaterale fCO des linken Mittelbeins gereizt, um die mögliche Reaktion der spikenden Interneurone bei kontralateraler fCO−Reizung festzustellen. Die Interneurone wurden mit Strominjektionen unterschiedlicher Amplitude de− bzw. hyperpolarisiert, und dabei sowohl die Aktivitäten der rechten als auch die der ebenfalls extrazellulär abgeleiteten linken Extensor−Motoneurone beobachtet. Somit konnten funktionelle Verschaltungen auf die jeweiligen Motoneurone ermittelt werden.

Exzitatorische spikende Interneurone

Ein erstes Beispiel für ein spikendes Interneuron ist in der Ableitung von Abbildung 79A gezeigt. Eine Dehnung des fCOs des ipsilateralen Mittelbeins rief eine Depolarisation in diesem Neuron hervor, ebenso eine fCO−Relaxation. Die Depolarisation während fCO−Relaxation übertraf in ihrer Amplitude die der fCO−Dehnung, konnte aber keine Aktionspotentiale auslösen. Wenn das Neuron mit einer Strominjektion künstlich depolarisiert wurde, konnten Aktionspotentiale ausgelöst werden. Selbst eine geringe Zunahme der Aktionspotentialfrequenz des Interneurons bewirkte dabei eine Erhöhung der Aktivität des SETi−Motoneurons.

Während einer Dehnung des kontralateralen fCOs zeigte sich eine Depolarisation des Neurons (Abbildung ###A, links, Pfeil).

Nach PCT−Applikation nahmen die Depolarisationen während der ipsilateralen fCO−Dehnung und

Relaxation an Amplitude zu, und erreichten während der fCO−Relaxation auch die Spikeschwelle, so daß Aktionspotentiale ausgelöst wurden. Auch während der Dehnung des kontralateralen fCOs erhöhte sich die Amplitude der Depolarisation nach PCT−Applikation (Abbildung ###A, rechts, Pfeile). Hinzu kam während fCO−Relaxation eine Depolarisation kleinerer Amplitude. Die Amplitude der Depolarisation während fCO−Dehnung nahm mit zunehmender Reizgeschwindigkeit zu. Bei hoher Reizgeschwindigkeit (250°/s) erreichte die Depolarisation die Spikeschwelle und löste Aktionspotentiale aus (Abbildung ###A, rechts).

Neurone dieses Typs können zur Übertragung kontralateraler sensorischer Information beitragen, weil sie nach einer PCT−Applikation während kontralateraler fCO−Dehnung überschwellig aktiviert werden, und somit den motorischen Ausgang unterstützen. Insgesamt wurden 4 Neurone abgeleitet, die gleiche Reaktionen bei kontralateraler fCO−Reizung zeigten und erregend auf SETi verschaltet waren.

Im Versuch der Abbildung ###B wurde ein anderes Interneuron dieses Typs nach PCT−Applikation in der Ein−Elektroden−Stromklemme abgeleitet. Dehnung und Relaxation des ipsilateral zur Ableitstelle liegenden fCOs bewirkte eine Verringerung der Amplitude der von den Strompulsen (−1nA) hervorgerufenen Spannungssprünge (Abbildung ###B, Pfeile), was auf eine zusätzliche Öffnung von Ionenkanälen schließen ließ.

Bei Dehnung des fCOs des kontralateralen Mittelbeins verminderte sich ebenfalls die Amplitude der Spannungssprünge im Vergleich zu den Amplituden ohne fCO−Reizung. Auch die Verarbeitung sensorischer Information in diesem Typ Neuron wurde daher durch eine Zunahme der erregenden Eingänge ausgelöst.

Abbildung 80 zeigt die intrazelluläre Ableitung eines anderen Typs exzitatorischer spikender Interneurone. Bei Injektion depolarisierenden Stroms erhöhten sich die Aktivitäten der ipsilateralen Extensor−Motoneurone SETi und FETi. Auch die Aktivität des kontralateralen SETi−Motoneurons erhöhte sich während der Strominjektion (Abbildung ###, links, µ). Die Strominjektion in dieses Neuron, welches im rechten Halbganglion abgeleitet wurde, erregte also die Extensor−Motoneurone beider Mittelbeine. Wenn in kurzen Zeitabständen Strom gleicher Amplitude (+5nA) in die Zelle injiziert wurde, zeigten die kontralateralen Motoneurone eine geringer werdende Aktivität (Abbildung ###, links, µ µ). Die mittlere Aktivität der Extensor−Motoneurone der ipsilateralen Seite waren unabhängig von der zeitlichen Abfolge der Strominjektionen (µ µ µ).

Das Interneuron wurde bei Dehnung und Relaxation des fCOs des rechten Mittelbeins nach einer PCT−Applikation depolarisiert und überschwellig aktiviert. Die Amplitude der Depolarisation während der fCO−Dehnung übertraf die während der fCO−Relaxation. Eine qualitativ gleiche Reaktion wurde durch eine Reizung des kontralateralen fCOs ausgelöst.

Insgesamt wurden 3 spikende Interneurone abgeleitet, die die beschriebenen Reaktionen während ipsi− und kontralateraler fCO−Reizung zeigten, und die Extensor−Motoneurone beider Mittelbeine erregten. Aufgrund dieser Eigenschaft könnten sie zum beidseitigen Informationsaustausch zwischen den FT−Regelkreisen der Mittelbeine beitragen.

Inhibitorische spikende Interneurone

Im FT−Regelkreis wird fCO−Information von spikenden Interneuronen über inhibitorische Synapsen zu den nichtspikenden Interneuronen übertragen. (Zusammenfassung: Büschges, 1995a). Diese spikenden Interneurone sind bisher nur anhand ihrer physiologischen Auswirkungen auf die nichtspikenden Interneurone beschrieben. Im FT−Kontrollsystem der Wanderheuschrecke sind auch inhibitorische, monosynaptische Verbindungen zwischen spikenden Interneuronen und Motoneuronen gezeigt (Zusammenfassung: Burrows, 1996).

In Abbildung 81A ist eine Ableitung eines spikendes Interneurons, welches die ipsilateralen Extensor−Motoneurone hemmt, dargestellt. Dieses Neuron wies eine relativ hohe Spontanaktivität auf und wurde durch eine Dehnung des ipsilateralen fCOs depolarisiert, was zu einer Zunahme der Aktionspotentialfrequenz führte (auch vor einer PCT−Applikation, nicht gezeigt), während es bei einer fCO−Relaxation hyperpolarisiert wurde und keine Aktionspotentiale mehr bildete. Wenn depolarisierender Strom in die Zelle appliziert wurde, verminderte sich die Aktivität des ipsilateralen SETi (Abbildung 81B). Insgesamt wurden Neurone diesen Typs, die der Generierung des lokalen Widerstandsreflexes aufgrund ihrer Eigenschaften widersprachen, 3 mal abgeleitet.

Bei Dehnung und Relaxation des fCOs des kontralateralen linken Mittelbeins wurde dieses Neuron ebenfalls überschwellig depolarisiert (Abbildung ###A, rechts). Während fCO−Relaxation zeigte sich eine Depolarisation mit kleinerer Amplitude als während fCO−Dehnung und folglich auch eine geringere Zunahme der Aktionspotentialfrequenz während dieser Reizphase. Dieses Neuron widersprach also auch der Aktivität der ipsilateral zur Ableitstelle liegenden Extensor−Motoneurone bei kontralateraler fCO−Reizung.

Während der Dehnung des ipsi− und kontralateralen fCOs, sowie bei Relaxation des ipsilateralen fCOs nahm der Eingangswiderstand des Neurons ab. Dies zeigte sich in einer Ableitung in der Ein−Elektroden−Stromklemme in einer Verminderung der Amplitude der Spannungssprünge während dieser Reizphasen im Vergleich zur Amplitude ohne fCO−Reizung (Abbildung ###C, Pfeile). Während der Relaxation des kontralateralen fCOs konnte keine Veränderung des Eingangswiderstands gefunden werden.

Auch in inhibitorischen spikenden Interneuronen scheint die Verarbeitung kontralateraler sensorischer Information in einer Zunahme der synaptischen Eingänge zu diesen Neuronen begründet zu sein.

Ein anderer Typ von spikenden Interneuronen, welcher inhibitorisch auf die ipsilateralen Extensor−Motoneurone verschaltet war, ist in Abbildung 82 dargestellt. Dieses Neuron wurde zwei mal (einmal vor und einmal nach PCT−Applikation) abgeleitet und mit einer Lucifer−Yellow−Injektion gefärbt. Das Soma lag anterior zwischen nervus cruris und nervus anterior, und das Neuron besaß ein in das ipsilaterale Konnektiv zum Metathorakalganglion descendierendes Axon, könnte also u.a. auf Neurone im metathorakalen Ganglion verschalten (Abbildung ###A). Seine Aktionspotentialfrequenz erhöhte sich vor PCT−Applikation nur während ipsilateraler fCO−Dehnung (Abbildung ###B).

Nach PCT−Applikation wurde das Neuron während der Dehnung und der Relaxation des kontralateralen fCOs hyperpolarisiert; in anderen Reizphasen zeigte sich keine Veränderung der Aktionspotentialfrequenz (Abbildung ###B).

Dieses Neuron unterstützte also, da es während fCO−Dehnung und Relaxation gehemmt wurde, den ipsilateralen motorischen Ausgang bei Reizung des kontralateralen fCOs durch eine Disinhibition.

Spikende Interneurone, die das kontralaterale CI_1−Motoneuron erregen

Insgesamt 2 mal wurden spikende Interneurone nach PCT−Applikation abgeleitet, welche bei Injektion depolarisierenden Stroms den CI_1 des kontralateralen Mittelbeins erregten (Abbildung 83, µ), aber keinen Effekt auf die ipsilateral zur Ableitstelle liegenden Extensor−Motoneurone hatten.

Während der Dehnung des ipsilateralen fCOs zeigte das Neuron eine biphasische Antwort: Es wurde zuerst hyperpolarisiert, und dann depolarisiert. Während der Haltephase des ramp−and−hold Reizes fiel das Membranpotential unter den Wert ohne fCO−Reizung und die Aktionspotentialfrequenz verminderte sich.

Eine Dehnung des kontralateralen fCOs löste nur eine geringe Abnahme der Aktionspotentialfrequenz des Neurons aus, und während der anderen Reizphasen konnte kein Unterschied der Aktionspotentialfrequenz im Vergleich zur fCO−Ausgangslage gemessen werden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß spikende Interneurone, die die Motoneurone der FT−Gelenke beeinflussen konnten, an der Verarbeitung sensorischer Information des kontralateralen fCOs nach PCT−Applikation beteiligt waren. Es wurde sowohl sensorische Information des fCOs übertragen, die die kontralaterale Kopplung in der Aktivität der Extensor−Motoneurone unterstützte als auch antagonistische Information.

An der Verarbeitung sensorischer Information des kontralateralen fCOs nach PCT−Applikation sind also sowohl spikende, als auch nichtspikende Interneurone und die Motoneurone beteiligt.

Sensorische Information des fCOs wird nach PCT−Applikation anscheinend von spikenden Interneuronen, nicht aber von nichtspikenden, zu den FT−Gelenken ipsi− und kontralateral liegender Vorder− und Hinterbeine und zur kontralateralen Ganglionseite übertragen. Dort wird sie über exzitatorische und inhibitorische Synapsen mit einer Latenz von minimal 10ms auf einzelne nichtspikende prämotorische Interneurone verschaltet, die Positions− und Geschwindigkeitsinformation dann parallel und antagonistisch an die Motoneurone weiterleiten. Eine direkte Weiterleitung der fCO−Information über ipsilateral liegende spikende Interneurone auf die kontralateralen Extensor−Motoneurone konnte indes aber nicht ausgeschlossen werden.

4.4 Diskussion der Versuche zum Austausch sensorischer Information zwischen verschiedenen Beinen

4.4.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der extrazellulären Ableitungen

Die Versuche mit extrazellulären Ableitungen der Extensor−Motoneurone zeigten, daß die Information des fCOs des rechten Mittelbeins nach PCT−Applikation die Extensor−Motoneurone aller Beine erreicht.

In Abhängigkeit von der Reizgeschwindigkeit wurden alle Extensor−Motoneurone der nicht gereizten Beine erregt, wobei in vielen Fällen die Reaktion auf Dehnungsreize höher war als auf gleich schnelle Relaxationsreize. Positionsinformation wirkte so, daß eine gebeugte Stellung des FT−Gelenkes des rechten Mittelbeins eine Erhöhung der SETi− und FETi−Aktivität des ipsilateralen Vorder− und Hinterbeins erzeugte. Gleichzeitig wurde die SETi− und FETi−Aktivität aller kontralateralen Beine erniedrigt. Eine gestreckte Stellung des FT−Gelenkes des rechten Mittelbeins erzeugte jeweils die gegenteilige Wirkung.

An der Veränderung der SETi− und FETi−Frequenz des kontralateralen Mittelbeins waren, mit einer Ausnahme (E2), alle kontralateralen nichtspikenden Interneurone beteiligt, die auch die Information ihres "eigenen" fCOs verarbeiten.

4.4.2 Sind re−afferente Einflüsse denkbar?

Die Versuche wurden an Tieren mit intakter Sensorik durchgeführt. Es wäre also denkbar, daß der durch die Reizung des fCOs ausgelöste Widerstandsreflex andere sensorische Organe aktiviert, die wiederum die geschilderten, ipsi− und kontralateralen Effekte erzeugten.

Es wurde unter der Prämisse gearbeitet, daß die gemessenen Effekte primär von der ipsilateralen fCO−Reizung ausgelöst wurden (siehe 2.2; Bässler, 1983a; Büschges, 1989). Die Effekte wurden immer ursächlich durch die fCO−Reizung ausgelöst, auch wenn sie unter Umständen sekundär über re−afferente Einflüsse übertragen wurden. Für die Beschreibung der induzierten Reaktionen in den Motoneuronenpools anderer Beine spielt diese Einschränkung keine entscheidende Rolle. Für die Interpretation der Konnektivität zwischen dem Sinnesorgan (fCO) und den Informationswegen, den Parametern der sensorischen Information und der Beteiligung identifizierter Neurone an der Informationsübertragung ist diese Frage aber sehr wohl von Bedeutung. Da diese Einschränkung für die meisten bisherigen Untersuchungen am FT−Gelenk gültig ist (z.B. Laurent, 1986; 1987; Büschges, 1989; 1990; Bässler und Büschges, 1990; Brunn und Dean, 1994; Driesang und Büschges, 1996; Sauer et al., 1996; 1997) sollen im folgenden einige Argumente aufgeführt werden, die gegen einen bedeutenden Einfluß der re−afferenten Effekte auf die Versuchsergebnisse sprechen:

(1) Die geschilderten Effekte waren spezifisch von der Geschwindigkeit, bzw. der Position des ipsilateralen fCO−Reizes abhängig. Es wurden also tatsächlich Informationen über den jeweiligen fCO−Reiz selbst übertragen. (2) Sinnesorgane, die Bewegungen anderer Beingelenke messen (z.B. im Coxa−Trochanter−Gelenk: Haarsinneszellen (Zusammenfassung: Bässler, 1983a); Strand−Rezeptoren (Bräunig 1982a,b)) konnten in dieser Präparation nicht aktiviert werden, da das gereizte Bein mit all seinen Gelenken fixiert worden war somit keine Gelenkbewegungen möglich waren. (3) Die unterschiedlichen Sinnesorgane im Femur (mulitpolare Sinneszellen (Zusammenfassung: Bässler, 1983a), Apodeme−Receptor / Tension−Receptor bzw. Muskel−Rezeptor−Organe (siehe z.B. Bässler, 1977), sowie der Strand−Rezeptor des Femurs (Bräunig, 1982a; Pflüger und Burrows, 1987)) des gereizten Beins konnten ebenfalls nicht aktiviert werden, da sich die motoneuronale Aktivität während eines Widerstandsreflexes durch das Entfernen des Extensor−Muskels und die Durchtrennung von Flexor−Muskel und Flexor−Nerv nicht auf diese Sinnesorgane auswirkte. (4) Eine re−afferente Aktivierung der campaniformen Sensillen durch eine Spannungserhöhung im gereizten Bein erscheint unwahrscheinlich, da weder Extensor− noch Flexor−Tibiae−Muskel Kraft produzierten und somit auch keine Kräfte auf die Kutikula übertragen werden konnten (siehe 2.1.2). Außerdem würde die erzeugte Kraft eine rampenförmige fCO−Reizung um eine gewisse Zeit überdauern (Bässler, 1983a), und nicht unmittelbar nach Rampenende abfallen, wie die kontralaterale Aktivität hier. Eine Reizung von campaniformen Sensillen eines Beins würde im kontralateralen Bein ein Beugen des FT−Gelenkes erzeugen (Bässler, persönliche Mitteilung), und kein Strecken, wie hier in allen Fällen während der Reizung beobachtet. Außerdem habituiert die SETi−Spontanaktivität aller Beine meistens rasch bei unspezifischen Wirkungen der Reizungen einzelner Sinnesorgane (Bässler, persönliche Mitteilung), was hier nicht beobachtet wurde.

Die Information des gereizten fCOs könnte die Muskeln anderer Beingelenke des gleichen Beins über die funktionelle Verschaltung von nichtspikenden Interneuronen des FT−Regelkreises auf die Muskeln anderer Beingelenke (z.B. Interneuron E4, Büschges, 1995b) erreichen. Dort könnten wiederum re−afferent Sinnesorgane (z.B. Krabbe: Muskel−Rezeptor−Organe; Skorupski et al., 1992) aktiviert werden, die Veränderungen z.B. der Muskelspannung messen und dann die geschilderten Effekte in den anderen Beinen bewirken. Dies ist, zumindest für die kontralateralen Effekte, sehr unwahrscheinlich, da die hier gemessenen Latenzen zwischen fCO−Reizung und kontralateraler Neuronenantwort bei hoher Reizgeschwindigkeit mit mindestens 10ms zu kurz für den beschriebenen Weg erscheint.

4.4.3 Vergleich der Ergebnisse von Sinus− und ramp−and−hold Reizung

Der Einfluß der fCO−Reizung auf die FT−Gelenke der verschiedenen Beine wurde jeweils mit Sinusreizen und ramp−and−hold Reizen am rechten Mittelbein untersucht. Beide Meßmethoden ergaben scheinbar widersprüchliche Ergebnisse. Zum Beispiel wurden die Extensor−Motoneurone des rechten Vorderbeins nach einer PCT−Applikation bei ramp−and−hold Reizung sowohl während fCO−Dehnung als auch während fCO−Relaxation aktiviert, während sie bei Sinusreizung nur bei der fCO−Dehnung, nicht aber bei der Relaxation aktiviert wurden. Dieser scheinbare Widerspruch läßt sich erklären, wenn man beachtet, daß die Reizgeschwindigkeit bei einer Sinusreizung mit 1 Hz Reizfrequenz und einer Amplitude von 40° FT−Winkel zwischen 0°/s (an den Maxima und Minima der Sinusreizung) und maximal ± 40°/s (beim Nulldurchgang des Sinusreizes) variiert. Die in den Motoneuronen auftretenden Aktivitäten während der Reizung des kontralateralen fCOs sind positions− und geschwindigkeitsabhängig. Bei einer Reizgeschwindigkeit von maximal 40°/s werden die Motoneurone nur schwach aktiviert. Außerdem reagieren sie bevorzugt auf Dehnung. Dieser Aktivierung überlagert sind die positionsabhängigen Einflüsse, die bei einer Sinusreizung mit gleicher Amplitude wie die ramp−and−hold Reize die Motoneurone zusätzlich nur in einer Reizrichtung aktivierten. So wurden die Extensor−Motoneurone des rechten Vorderbeins durch diesen Positionseinfluß während fCO−Dehnung zusätzlich aktiviert, während sie während fCO−Relaxation schwächer aktiviert wurden. Dies führte dazu, daß die jeweiligen Beine bei Sinusreizung am rechten Mittelbein nur in jeweils einer Bewegungsrichtung Aktivitäten bzw. Kräfte zeigten.

4.4.4 Ankopplung der extrazellulären Aktivität der Vorder− und Hinterbeine – funktionelle Bedeutung der Kopplungen

Bei einer Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins konnte ohne Picrotoxin−Applikation keine Beeinflussung der FT−Gelenkstellungsregelkreise der Vorder− und Hinterbeine gefunden werden. Dies bestätigt frühere Befunde (Bässler, 1974) im inaktiven Tier. Nach der Applikation des Pharmakons war ein starker Einfluß sensorischer fCO−Information zu erkennen. Da PCT ein nicht−kompetitiver Blocker GABAerger Chloridkanäle ist, deutet dies darauf hin, daß im ruhenden, unbehandelten Tier die neuronalen Wege, die sensorische Information zu anderen Beinen übertragen, gehemmt werden. Solche neuronalen Bahnen sind z.B. für die Koordination der verschiedenen Beine beim Laufen erforderlich.

Ob die hier gefundenen Einflüsse auf andere Beine denen beim Laufen entsprechen könnten, soll als erstes diskutiert werden. Koordinierende Bahnen im laufenden Tier wurden in verschiedenen Arbeiten untersucht. Bässler (1972b) erhielt erste Hinweise, daß der Endpunkt der Schwingphase eines Beines abhängig ist von der Stellung des davorliegenden Beines. Solche Einflüsse wurden auch von Dean und Wendler (1983) und Cruse (1979) gefunden. Sie benötigen eine Positionsinformation vom jeweils anterioren Bein zum dahinterliegenden ipsilateralen. Im inaktiven Tier wurden drei Interneurontypen (für jedes der Hauptbeingelenke eines) gefunden, die solche Informationen vom Mittel− zum Hinterbein leiten (Brunn und Dean, 1994). Sie sind wahrscheinlich nicht die einzigen, denn Koch et al. (1992) konnten allein 49 Axone im pro−mesothorakalen Konnektiv finden, die bei einer Reizung des ipsilateralen Vorderbein−fCOs aktiviert wurden. Auch Büschges (1989) beschrieb solche Neurone.

Koordinierende Einflüsse zwischen benachbarten Beinen wurden aus Experimenten geschlossen, in denen Stabheuschrecken frei, an einem Laufrad oder über einer mit zähem Silikonöl beschichteten Glasplatte liefen. Es wurden dabei entweder einzelne Beine amputiert (z.B. von Buddenbrock, 1921; Wendler, 1964; Graham, 1972), einzelne Konnektive durchtrennt (z.B. Dean, 1989), die Bewegung einzelner Beine behindert (z.B. Graham, 1977; Graham und Bässler, 1981; Cruse, 1980; Cruse und Epstein, 1982; Dean und Wendler, 1982; Cruse und Schwarze, 1988) oder einzelnen Beinen eine abweichende Schrittfrequenz aufgezwungen (z.B. Foth und Graham, 1983a,b; Foth und Bässler, 1985a,b). Aus den Veränderungen der Bewegungsweise der anderen (nicht beeinträchtigten) Beine konnte dann auf gewisse koordinierende Informationskanäle geschlossen werden. Es handelt sich dabei um folgende Einflüsse: (1) Solange ein Bein in der Schwingphase ist, kann das davorliegende Bein nicht in die Schwingphase eintreten. (2) Hat ein Bein während der Stemmphase eine bestimmte Position erreicht, wird der Beginn der Schwingphase im dahinterliegenden Bein erleichtert. (3) Beginnt ein Bein eine Stemmphase, wird im davorliegenden Bein der Beginn einer Schwingphase erleichtert. (4) Erhöht sich die Belastung in einem Bein, erhöht sich auch die Kraft in den anderen Beinen. Alle vier Arten von Einflüssen wirken auch zwischen kontralateralen Beinen, allerdings schwächer als zwischen benachbarten ipsilateralen.

Ein anderer Ansatz, Einflüsse zwischen verschiedenen Beinen zu untersuchen, bestand darin, nur ein oder zwei Beine laufen zu lassen und entweder die Kräfte zu messen, die von den anderen (stehenden) Beinen auf den Untergrund ausgeübt wurden (Cruse und Saxler, 1980a,b) oder die motoneuronale Aktivität der anderen, deafferentierten Ganglien zu registrieren (Bässler et al., 1987). Auch in diesen Fällen wurden Oszillationen des motorischen Ausgangs der nicht laufenden Beine gefunden, die mit der Bewegung der laufenden Beine koordiniert waren. Daß es sich bei diesen Oszillationen tatsächlich um den Ausdruck koordinierender Einflüsse zwischen den Beinen handelt, folgt aus der Tatsache, daß es einen gleitenden Übergang zwischen ihnen und wirklichen Laufbewegungen gibt (Bässler, 1979).

Die beschriebenen koordinierenden Einflüsse (1), (2) und (3) führen zu einer Gegenphase−Kopplung benachbarter Beine, so wie sie in dieser Arbeit für die Beeinflussung der Extensor−Motoneurone der Vorder− und Hinterbeine durch sinusförmige Reizung des fCOs des rechten Mittelbeins beschrieben wurde.

Das kontralaterale Mittelbein wurde allerdings in Phase zu der signalisierten Bewegung des gereizten Mittelbeins (allerdings in Gegenphase zum motorischen Ausgang in diesem Bein) aktiviert. Das ist eine andere Art von Koordination als beim Laufen.

Die vom gereizten fCO signalisierte Bewegung erzeugt dagegen in allen anderen Beinen (nicht aber im eigenen Bein) einen motorischen Ausgang, der dem beim Schaukeln entspricht (Bässler und Wegner, 1983).

Die in einem aktiven Tier (*Carausius morosus*) während einer sinusförmigen Reizung eines Mittelbein−fCOs in einer ähnlichen Situation wie hier auftretenden Einflüsse auf andere Beine sind ebenfalls etwas anders. In festgelegten Tieren wurde das fCO eines Mittelbeins sinusförmig gereizt und die Kräfte gemessen, die die Tibien der benachbarten ipsi− und kontralateralen Beine auf je einen Kraftmesser ausübten. In aktiven dezerebrierten Tieren zeigten die Maxima der Beugekräfte in allen drei Beinen ein schwaches Häufigkeitsmaximum, das ungefähr in Phase zu der signalisierten Bewegung des gereizten Mittelbeines war (Bässler, 1974). Das ist, mindestens für die ipsilateralen Vorder− und Hinterbeine, das Gegenteil der hier gemessenen Phasenbeziehungen.

Die Unterschiede könnten daher kommen, daß in den hier geschilderten Versuchen das lokale Netzwerk im inaktiven Zustand blieb, und lokale fCO−Information also im Sinne eines Widerstandsreflexes verarbeitetet wurde. In den obigen Versuchen aber befanden sich die Netzwerke im aktiven Zustand, und verarbeiteten daher die fCO−Information im Sinne der Generierung einer "Aktiven Reaktion".

Zu dieser Sicht paßt, daß nach Befunden von Pflüger (1977) die FT−Kontrollsysteme während der Schaukelbewegungen möglicherweise im inaktiven (Widerstandsreflex generierenden) Zustand sind. Jedenfalls verhalten sich Beine mit "gekreuzter Rezeptorsehne" während des Schaukelns genauso wie im ruhenden Tier (Bässler, 1967).

Man kann also zusammenfassend sagen, daß die hier auftretenden Einflüsse auf andere Beine eher zu Schaukelbewegungen als zu Laufbewegungen passen, daß dieser Unterschied aber möglicherweise auf den unterschiedlichen Zustand der lokalen Regelkreise zurückzuführen ist.

4.4.5 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse der intrazellulären Ableitungen

Im FT−Regelkreis wird sensorische Information des femoralen Chordotonalorgans von den Afferenzen im fCO auf ipsilaterale nichtspikende und spikende Interneurone verschaltet. Diese verarbeiten die Information und leiten sie zu den Motoneuronen weiter. Sensorische Information des fCOs des kontralateralen Beins wird im ruhenden, unbehandelten Tier in nur wenigen dieser Neurone verarbeitet (Beispiel: NSI E1; spikende Interneurone), und diese reagieren immer schwächer auf einen kontralateralen Reiz als auf den gleichen Reiz von der ipsilateralen Seite.

Nach einer PCT−Applikation verarbeiteten auch die Extensor−Motoneurone Informationen des kontralateralen fCOs. Sowohl SETi als auch FETi wurden während der fCO−Dehnung und Relaxation depolarisiert; CI_1 zeigte eine biphasische Antwort. Die Depolarisation der exzitatorischen Motoneurone während der fCO−Dehnung wurde dabei durch eine Zunahme reizbezogener, exzitatorischer Ionenströme ausgelöst.

Nach einer PCT−Applikation zeigten auch unterschiedliche nichtspikende Interneurone unterschiedliche, aber für jeden Typ spezifische Antworten bei Reizung des kontralateralen fCOs. Es wurde dabei sowohl Information über die Geschwindigkeit, als auch über die Position des kontralateralen fCO−Reizes verarbeitet. Während der ramp−and−hold Reizung des kontralateralen fCOs konnten die unterschiedlichen Typen nichtspikender Interneurone de− (E1, E3, E4, E5/6, E7, I1, I2?, I4) bzw. hyperpolarisiert (E8) werden. Einige Interneurone antworteten dabei stärker auf einen kontralateralen Reiz, als auf einen ipsilateralen (z.B. Interneuron I4; 4.3.4)

In allen in der Ein−Elektroden−Stromklemme getesteten nichtspikenden Interneuronen wurden die von der kontralateralen fCO−Reizung ausgelösten Veränderungen des Membranpotentials durch eine Öffnung von Ionenkanälen in der Membran der Neurone erzeugt. In keinem Fall wurde eine Abnahme von Ionenleitfähigkeiten während der Reizung des kontralateralen fCOs festgestellt. PCT scheint daher vorhandene Bahnen, die im inaktiven, unbehandelten Tier unterdrückt werden, zu aktivieren, die dann reizbezogene Information an das kontralaterale Bein vermitteln und in den betreffenden NSIs Ionenkanäle aktivieren.

Keines der nichtspikenden Interneurone des FT−Regelkreises konnte die Extensor−Motoneurone des kontralateralen FT−Gelenkes beeinflussen. Bei künstlicher Depolarisation konnte keine Veränderung in der Extensor−Aktivität des kontralateralen Beins gesehen werden. Wenn nichtspikende Interneurone an der Übertragung der fCO−Information beteiligt sind, dann vermitteln sie diese jedoch nicht direkt, sondern über andere, z.B. spikende Interneurone auf die kontralaterale Seite.

4.4.6 Welche Neurone übertragen fCO−Information zu den FT−Regelkreisen der anderen Beine?

Bei einer Reizung des fCOs perzipieren die Afferenzen des fCOs u.a. Informationen über Position und Geschwindigkeitkeit des Reizes. Diese Informationen werden nach PCT−Applikation zu den FT−Regelkreisen des kontralateralen Mittelbeins und der anderen Beine übertragen. Welche Neurone sind an dieser Übertragung beteiligt? Die Afferenzen ziehen nicht über die Mittellinie des Ganglions hinweg (Schmitz et al., 1991b; Büschges, 1994), und können daher nicht direkt auf kontralaterale Motoneurone verschalten. Eine direkte Projektion auf kontralaterale nichtspikende Interneurone (mit Ausnahme vielleicht von E4 und I4, die die Mittellinie kreuzen (siehe Büschges, 1990; Sauer et al., 1996), und daher direkte synaptische Verbindungen mit den Afferenzen besitzten könnten) scheidet ebenfalls aus. Die Afferenzen des fCOs leiten fCO−Informationen zu ipsilateralen spikenden und nichtspikenden Interneuronen (Büschges, 1989; 1990; Sauer et al., 1995; 1996). Da eine künstliche Depolarisation nichtspikender Interneurone aber keinen Einfluß auf die Aktivität kontralateraler Motoneurone hatte, scheint der Informationsfluß zur kontralateralen Seite schon vor den nichtspikenden Interneuronen abzuzweigen. Zum Beispiel könnten spikende Interneurone, von denen einige die Mittellinie des Ganglions kreuzen (z.B. Büschges, 1989), die Information der fCO−Afferenzen an kontralaterale Motoneurone vermitteln. Dies wäre auch mit den wenigen Befunden unter 4.3.6 vereinbar, die zeigen, daß die Aktivität einiger im ipsilateralen Halbganglion abgeleiteter spikender Interneurone die Aktivität der kontralateralen Motoneurone beeinflussen konnte. Das Soma dieser Neurone könnte dabei durchaus im kontralateralen Hemiganglion zu finden sein.

Es wurden auch intersegmentale spikende Neurone beschrieben, die Informationen zwischen mesothorakelem und pro− bzw. metathorakalem Ganglion übertragen könnten (Büschges, 1989; Brunn und Dean, 1994). So ist bei Büschges (1989) die Physiologie und Morphologie mehrerer Typen ascendierender und descendierender spikender Interneurone im Mesothorakalganglion beschrieben. Diese Neurone werden von einer Reizung des fCOs des Mittelbeins im inaktiven Tier spezifisch beeinflußt, beispielsweise von Positionsreizen am fCO. Das Soma dieser Neurone liegt im ipsilateralen Hemiganglion und sie besitzen Verzweigungen im ipsi− und kontralateralen Bereich des Ganglions. Ihre Ausläufer ziehen sowohl ascendierend, als auch descendierend nur durch die kontralateralen Konnektive. Ob diese Neurone Ausgangssynapsen in den anderen Ganglien besitzen, ist unbekannt. Könnten solche Neurone zur intersegmentalen Informationsübertragung beitragen? Die beschriebenen Eigenschaften dieser Neurone passen gut zu den Ergebnissen, die in der vorliegenden Arbeit nach PCT−Applikation gewonnen wurden. Information über die Position des fCOs wurde nämlich an Vorder− und Hinterbeine übertragen. Die Versuche, bei denen das kontralateral zur Reizung des Mittelbeins liegende Konnektiv zum Vorderbein durchtrennt wurde, weisen zusätzlich darauf hin, daß der kontralaterale Informationsweg für die Übertragung der Positionsinformation zum kontralateralen Vorderbein von besonderer Bedeutung ist. Die von Büschges (1989) beschriebenen intersegmentalen Interneurone besitzen Ausläufer zum Pro− und Metathorakalganglion, und könnten daher gleichzeitig fCO−Information zu diesen Ganglien übermitteln. Dies könnte auch erklären, warum die Vorder− und Hinterbeine einer Seite nach einer PCT−Applikation jeweils gleich von Positionsreizen aktiviert wurden.

Doch wie wird die Information über die Position des fCOs an das ispilaterale Vorder− bzw. Hinterbein gemeldet? Dean und Brunn (1994) beschrieben ebenfalls intersegmentale Interneurone, die sensorische Informationen des Mittelbeins an das Hinterbein übertragen könnten. Von den 3 charakterisierten Interneuronen, die alle durch das ipsilaterale Konnektiv zum Metathorakalganglion descendieren, kodierte nur eines die Position der Tibia des Mittelbeins. Dieses Neuron wäre ein guter Kandidat für die in dieser Arbeit beschriebene Übertragung von Positionsinformation an das ipsilaterale Hinterbein. Die Tatsache, daß Brunn und Dean (1994) nur ein lokales prämotorisches Interneuron im Metathorakalganglion entdeckten, das Positionsinformation des Mittelbeins verarbeitete, deckt sich mit Befunden der vorliegenden Arbeit, daß nur nach einer PCT−Applikation die Gelenkstellungsregelkreise, bzw prämotorischen Interneurone der unterschiedlichen Beine von verschiedenen Positionen des fCOs des Mittelbeins beeinflußt wurden.

Auch für die Übertragung von Geschwindigkeitsinformation an die anderen Beine, wie sie nach PCT−Applikation gezeigt wurde, gibt es Hinweise auf neuronale Korrelate. Büschges (1989) beschrieb auch intersegmentale Neurone, deren Reaktion von fCO−Dehnung und Relaxation anhängt, aber nicht von der fCO−Position. Es handelt sich dabei um verschiedene morphologische Typen, deren Ausläufer durch die ipsi− oder kontralateralen Konnektive ascendieren oder descendieren. Neurone dieser Art könnten daher durchaus an der nach PCT−Applikation beschriebenen Übertragung von Geschwindigkeitsinformation über ipsi− und kontralaterale Konnektive beteiligt sein.

Aus den genannten Untersuchungen kann jedoch nicht geschlossen werden, daß diese Neurone die einzigen sind, die auch in einem aktiv laufenden oder in einem schaukelnden Tier fCO−Informationen an die anderen Beine melden. Da alle Untersuchungen im inaktiven Tier durchgeführt wurden, ist eine Aktivierung zusätzlicher Informationswege im aktiven Tier möglich.

4.4.7 Vergleich mit anderen Systemen

Bei der Koordinierung von Bewegungen können prinzipiell zwei verschiedene Situationen des Informationsaustausches unterschieden werden. Zum einen ein Informationsaustausch zwischen zentralen Elementen der Nervensysteme (wie z.B. verschiedener Mustergeneratoren): Die gegenseitige Verschaltung solcher zentralen neuronalen Netze ist inzwischen in vielen Systemen untersucht (Neunauge: Grillner at al., 1991; Matsushima und Grillner, 1992; Egel: Kristan und Calabrese, 1976; Friesen, 1989; Friesen und Pearce, 1993; Krebs: Ikeda und Wiersma, 1964; Sillar et al., 1987; Wanderheuschrecke: Ryckebusch und Laurent, 1994). Zum anderen ist die Übertragung sensorischer Information zur Koordination von Bewegungen, wie auch in der vorliegenden Arbeit, Ziel der Untersuchungen (Schabe: z.B. Ritzmann et al., 1991; Krebs: Sillar et al., 1987; Nagayama et al., 1993; Neunauge: Lansner und Ekeberg, 1994; Wanderheuschrecke: Laurent, 1991). Oftmals können bei diesen Versuchen zentrale Einflüsse nicht ausgeschlossen werden. Im Krebs beispielsweise beeinflußt das TCMRO (thoracic−coxal muscle receptor organ) eines Beins in einer isolierten, nicht−rhythmischen Präparation die Motoneurone anderer ipsilateraler Beine (Sillar et al., 1987). Diese

Effekte führen aber erst in einer rhythmisch aktiven Präparation zu einer überschwelligen Aktivierung der Motoneurone. In der Schabe dagegen werden rein sensorische Informationen der Cerci, die z.B. von Windreizen ausgelöst werden, von intersegmentalen Interneuronen (vGIs) auf thorakale prämotorische Interneurone und Motoneurone der verschiedenen Beine übertragen und unterstützen damit die Fluchtreaktion (Zusammenfassung: Camhi, 1993). Das lokale prämotorische Netzwerk ist hier, wie auch in der vorliegenden Arbeit nach PCT−Applikation, an der Verarbeitung nicht−lokaler sensorischer Information beteiligt. Dies ist auch beim Austausch sensorischer Information zwischen einem Mittelbein und dem ipsilateralen Hinterbein der Wanderheuschrecke der Fall (Zusammenfassung: Laurent, 1991). Es wurde dort u.a. die Konnektivität intersegmentaler Interneurone, deren Soma ipsilateral zum gereizten Bein im Mesothorakalganglion liegen und deren Axone in das ipsilaterale Konnektiv descendieren, mit intrazellulären Ableitungen untersucht. Die Neurone erhalten sensorische Eingänge über die Geschwindigkeit einer passiven oder aktiven Tibiabewegung und deren Position (wohl über das fCO), aber auch von anderen Sinnesorganen der Beine, wie Haarsinneszellen und campaniforme Sensillen (Laurent, 1986; 1987). Einige dieser intersegmentalen Interneurone innervieren monosynaptisch lokale prämotorische nichtspikende Interneurone im Metathorakalganglion, die an der Gelenkstellungskontrolle des Hinterbeins beteiligt sind (Laurent und Burrows, 1989). Ein intersegmentales Interneuron kann dabei auf mehrere lokale Interneurone verschalten. Gleichzeitig innervieren die intersegmentalen Interneurone monosynaptisch die Motoneurone des FT−Gelenks des Hinterbeins. Diese Neurone passen somit sehr gut zu den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Effekten lokaler fCO−Stimulation auf die Motoneuronenpools anderer Beine und der Aktivierung von prämotorischen nichtspikenden Interneuronen. Anscheinend werden die prämotorischen Netzwerke bei der Verarbeitung sensorischer Information anderer Beine miteinbezogen. Nichtspikende Neurone scheinen dabei eine wichtige Rolle zu spielen, denn Laurent und Burrows (1989) fanden keine Ausgangssynapsen der intersegmentalen Interneurone auf lokale spikende Interneurone. Interessanterweise scheinen die intersegmentalen Interneurone der Wanderheuschrecke neben exzitatorischen Ausgangssynapsen nur GABAerge inhibitorische Ausgangssynapsen zu besitzen (Watson und Laurent, 1990). Wenn diese von PCT blockiert werden, wäre eine inhibitorische Übertragung auf nichtspikende Interneurone, wie im Falle des E8 in der vorliegenden Arbeit, nicht möglich. Diese Inhibition müßte daher in der Stabheuschrecke über andere Neurone vermittelt werden, oder diese Neurone sind dort nicht GABAerg (oder die Hemmung nicht PCT−sensibel). Die Untersuchungen an der Wanderheuschrecke beschränkten sich auf die Charakterisierung der Konnektivität der Neurone (Zusammenfassung: Laurent, 1991). Obwohl die neuronalen Wege zwischen Sensorik des Mittelbeins und den Motoneuronen des Hinterbeins dargestellt wurde, konnte in diesen Motoneuronen keine überschwellige Reaktion bei einer Reizung des Mittelbeins gefunden werden. Laurent (1986) spekulierte daher, daß zur effektiven Ansteuerung der Motoneurone des Hinterbeins eine zusätzliche allgemeine Aktivierung zu den Inter− oder Motoneuronen geleitet werden müsse. Picrotoxin könnte einen ähnlichen Effekt auslösen. Da die intersegmentalen Interneurone GABAerge Eingänge von lokalen spikenden Interneuronen des Mesothorakalganglions erhalten (Laurent, 1988; Watson und Laurent, 1990), könnte eine Blockade dieser Eingänge mit PCT die Inhibition der intersegmentalen Interneurone verringern und damit eine effektive Übertragung sensorischer Information zum Hinterbein gewährleisten.

4.4.8 Welche Neurone verarbeiten Information des kontralateralen fCOs?

Nach den Ergebnissen der Kapitel 4.3 erreicht die vom kontralateralen fCO kommende Information die lokalen, nichtspikenden Interneurone. Erstaunlicherweise zeigten die den Widerstandsreflex und die "Aktive Reaktion" unterstützenden Neurone E3 und I1 (Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1996) nur relativ schwache Reaktionen auf einen Reiz am kontralateralen fCO. Im Gegensatz dazu scheinen die dem Widerstandsreflex während fCO−Dehnung widersprechenden Neurone I4 (Sauer et al., 1996) und die der "Aktiven Reaktion" widersprechenden Neurone E4 (Driesang, 1994; Driesang und Büschges, 1996), die auch bei der Reflexumkehr ihre Reaktion nicht in eindeutiger Weise ändern (E4: Driesang und Büschges, 1996), relativ starke Eingänge während kontralateraler fCO−Reizung zu erhalten. Diese Beeinflussung erfolgt meist durch zusätzliche exzitatorische synaptische Eingänge. Diese beiden Neuronentypen sind nicht nur zu den Extensor−Motoneuronen verschaltet, sondern auch zu den Motoneuronen−Pools anderer Beingelenke des gleichen Beins (Büschges et al., 1994; Büschges, 1995b). Es ist daher möglich, daß nach einer PCT−Applikation Informationen des gereizten fCOs nicht nur die Motoneurone der ipsi− und kontralateralen FT−Gelenke, sowie der proximalen Beingelenke des ipsilateralen Beins beeinflussen, sondern auch die

Motoneurone proximaler Beingelenke des kontralateralen Beins.

Interneurone des Typs E8 stellen eine Besonderheit dar, weil sie reizbezogene Hyperpolarisationen erhielten, die durch eine Öffnung inhibitorischer Ionenkanäle ausgelöst wurden. Da die Hyperpolarisationen nach PCT−Applikation auftraten, scheinen sie nicht von PCT−sensitiven Chloridkanälen vermittelt zu werden.

Die nichtspikenden Interneurone erregen, bzw. hemmen die Extensor−Motoneurone des gleichen Beins (Büschges, 1990; Sauer et al., 1996). Nach einer PCT−Applikation verarbeiten sie auch Information des fCOs des kontralateralen Beins. Da eine Reizung des kontralateralen fCOs unterschiedliche Interneurone unterschiedlich beeinflußt, wird die Information des kontralateralen fCOs parallel und antagonistisch an die Motoneurone weitergeleitet. Es werden gleichzeitig mehrere in Gegenphase zur Bewegung des kontralateralen Mittelbeins koordinierende Einflüsse und mehrere koordinierende Einflüsse, die in Phase mit der kontralateralen Beinbewegung sind, übertragen (Tabelle 3). Das "einfache" Bild von der Übertragung einer bestimmten Information von einem Bein zum nächsten (oder zum gegenüberliegenden) erscheint daher viel komplexer. Ähnlich der Verarbeitung ipsilateraler sensorischer Information wird auch kontralaterale sensorische Information parallel und teilweise antagonistisch verarbeitet und formt damit den Gesamteinfluß eines Beines auf ein anderes.

Von den Experimenten her ist nicht auszuschließen, daß es zusätzlich zu den Einflüssen auf nichtspikende Interneurone auch kontralaterale Einflüsse auf lokale spikende Interneurone oder direkt auf die Motoneurone gibt.

Die nichtspikenden Interneurone sind wesentlich an der Bildung der "Aktiven Reaktion" beteiligt (Bässler und Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1996). Wenn diese Neurone die wesentlichen "Eingangspforten" für kontralaterale Information sind, heißt das, daß diese Information im aktiven Tier bei der Bildung der "Aktiven Reaktion" mit einbezogen wird und damit in einem aktiv laufenden Tier eventuell andere Wirkungen auf den motorischen Ausgang hat als in den hier geschilderten Versuchen.

In diesem Zusammenhang ist besonders Interneuron E4 interessant, das während kontralateraler fCO−Dehnung ähnlich stark depolarisiert wurde wie während ipsilateraler fCO−Dehnung. In einem aktiv laufenden Tier scheint E4 den Übergang von der Stemm− zur Schwingphase des Mittelbeins zu unterstützen (tripode Gangart; Büschges et al., 1994), weil E4 zu dieser Phase des Laufrhythmus maximal depolarisiert wird. Allerdings wird E4 während einer ipsilateralen fCO−Reizung im aktiven Tier nicht in eindeutiger Weise beeinflußt (Driesang und Büschges, 1996). Wenn E4 nun im aktiven Tier depolarisierende Eingänge während der kontralateralen Tibiabeugung erhält, also zu Beginn der Stemmphase bzw. während der Stemmphase des kontralateralen Beins, könnte dies die Depolarisation in E4 erhöhen und damit zum Umschalten von Stemm− zur Schwingphase des ipsilateralen Beins beitragen.

Da E4 und der ähnlich stark von der kontralateralen fCO−Dehnung beeinflußte I4 auch Einfluß auf die Aktivität der ipsilateralen Motoneurone des Subcoxal− und des Coxa−Trochantergelenks haben (Büschges et al., 1994; Büschges, 1995b; Hess und Büschges, 1997), könnten diese Neurone auch am Stemm−Schwingphasen−Übergang anderer Beingelenke beteiligt sein.

Die Tatsache, daß die kontralaterale Information im aktiven Tier möglicherweise zu etwas anderen Veränderungen des motoneuronalen Ausgangs führt als in hier untersuchten Tieren, würde auch erklären, warum die hier gefundenen Kopplungen nur teilweise mit den im laufenden Tier gefundenen übereinstimmen (siehe 4.4.4).

5 Gesamtdiskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Verarbeitung sensorischer Information des femoralen Chordotonalorgans (fCO), dem Fühler des Femur−Tibia (FT)−Regelkreises der Stabheuschrecke, in verschiedenen Verhaltenskontexten untersucht. Im ersten Teil der Arbeit wurden im lokalen Regelkreis Motoneurone, nichtspikende und spikende Interneurone sowie Afferenzen des fCOs in verschiedenen Verstärkungszuständen des durch die fCO−Reizung ausgelösten Widerstandsreflexes abgeleitet. Es wurde untersucht, wie sich die Informationsverarbeitung in diesem neuronalen System ändert. Im zweiten Teil war die Verarbeitung der fCO−Information in den FT−Regelkreisen anderer Beine nach einem pharmakologisch herbeigeführten Austausch sensorischer Information Ziel der Untersuchungen. Die im unbehandelten, inaktiven Tier nicht nachweisbaren Verarbeitungswege wurden durch Applikation von Picrotoxin aktiviert und führten zu einer Aktivierung der Extensor−Motoneurone anderer Beine während der Reizung des lokalen fCOs.

Es wurde das FT−Gelenk der Stabheuschrecke benutzt, weil in diesem Tier definierte Verhaltenszustände charakterisiert sind (Bässler, 1983a). Wenn durch eine fCO−Dehnung im lokalen FT−Gelenk ein Widerstandsreflex ausgelöst wird, befindet sich das Tier im "inaktiven" Verhaltenszustand. Der inaktive Verhaltenszustand wurde in beiden untersuchten Situationen beibehalten, auch nach pharmakologischer Beeinflussung (Stein, 1995; Sauer et al., 1997), obwohl in diesem Fall das makroskopisch beobachtbare Verhalten der Katalepsie (Bässler, 1983a), welchem der Widerstandsreflex zugrunde liegt, nicht mehr beobachtet werden kann (Stein, 1995; Sauer et al., 1997).

In beiden Verhaltenskontexten veränderte sich die Aktivität der Extensor−Motoneurone. Bei einer Verstärkungszunahme erhöhte sie sich während der ipsilateralen fCO−Dehnung, bei der pharmakologischen Beeinflussung während der kontralateralen fCO−Dehnung und Relaxation. Es stellte sich nun die Frage, welche Mechanismen diesen zustandsabhängigen Änderungen zugrunde liegen. Dabei gilt es zwei prinzipielle Möglichkeiten zu unterscheiden. Zum einen könnte dies durch eine Rekrutierung zusätzlicher Neurone zu dem bisher bekannten neuronalen Netzwerk geschehen. Bei einer Verstärkungserhöhung könnten zusätzliche Neurone unter Umgehung des bekannten Netzwerks fCO−Information zu den Extensor−Motoneuronen übertragen und so einen stärkeren Einfluß dieser Information auf die Aktivität der Motoneurone bewirken. Nach einer pharmakologischen Beeinflussung mit Picrotoxin könnten zusätzlich rekrutierte Neurone die Information des gereizten fCOs direkt zu den Motoneuronen der anderen Beine leiten. Eine solche Rekrutierung zusätzlicher Neurone für die kontextabhängige Verarbeitung sensorischer Information wurde beispielsweise in der Wanderheuschrecke aufgrund von Untersuchungen der Konnektivität von sensorischen Neuronen und Motoneuronen vermutet (Burrows, 1987). Eine derartige Änderung der Informationsverarbeitung in einem neuronalen Netzwerk scheint auch im Flußkrebs verwirklicht zu sein (Skorupski, 1992). Die ausgelösten Widerstandsreflexe werden dort hauptsächlich monosynaptisch an die Motoneurone vermittelt, während die Reflexumkehr ("assisting reflex") durch zusätzlich aktivierte, polysynaptische, interneuronale Wege generiert wird (z.B. El Manira et al., 1991).

Zum anderen könnten solche zustandsabhängigen Änderungen der neuronalen Verarbeitung unter Beibehaltung des ursprünglichen neuronalen Netzwerks durch veränderte Gewichtung vorhandener synaptischer Eingänge realisiert werden. Diese Art der kontextabhängigen Veränderung eines neuronalen Systems ist in der Stabheuschrecke gut untersucht. Zum Beispiel wird der Widerstandsreflex in den FT−Gelenken des inaktiven Tiers im aktiven Tier durch die "Aktive Reaktion", einer Reflexumkehr, ersetzt (Bässler, 1976; 1983a). Eine Dehnung des fCOs führt nun zu einer Hemmung der Extensor−Motoneurone. Die Untersuchungen der neuronalen Basis der Reflexumkehr (Bässler und Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1996) haben gezeigt, daß im wesentlichen das gleiche neuronale Netz, das für die Generierung des Widerstandsreflexes verantwortlich ist, auch an der Reflexumkehr beteiligt ist. Dabei spielen vor allem die prämotorischen nichtspikenden Interneurone eine zentrale Rolle. Die Gewichtung derer synaptischen Eingänge wird während der "Aktiven Reaktion" zum Teil so geändert, daß die reizbezogene Reaktion der Neurone vollständig umgekehrt werden kann. So führt zum Beispiel eine fCO−Dehnung in Interneuron E3 nicht mehr zu einer Depolarisation, sondern zu einer Hyperpolarisation (Driesang und Büschges, 1996).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß in beiden Kontexten das bekannte lokale neuronale Netzwerk in die Verarbeitung der zusätzlichen fCO−Information involviert wurde. In beiden untersuchten Verhaltenskontexten gibt es spikende und nichtspikende Interneurone, die an der Verarbeitung der sensorischen Information des fCOs beteiligt sind, und den jeweiligen motorischen Ausgang unterstützen. Ein besonderes Augenmerk galt dabei den synaptischen Eingängen zu den identifizierten nichtspikenden Interneuronen, die entscheidend an der Steuerung des FT−Gelenkes beteiligt sind (Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1993; 1996; Driesang, 1994; Sauer et al., 1996). Es stellte sich heraus, daß sich diese synaptischen Eingänge in Abhängigkeit von der jeweiligen experimentellen Situation verändern und es damit ermöglichen, den motorischen Ausgang (die Aktivität der Motoneurone) kontextabhängig zu verändern. Bei der Erhöhung der Regelkreisverstärkung wurden so in einigen Interneuronen vorhandene synaptische Eingänge erhöht oder abgeschwächt. Bei der Etablierung des Informationsflusses zwischen den FT−Gelenken verschiedener Beine wurden die prämotorische Interneurone für die Verarbeitung der fCO−Information anderer Beine benutzt. Die nichtspikenden Interneurone stellen also in den genannten Situationen eine zentrale Verarbeitungsstelle der sensorischen Information des fCOs dar.

Es konnte in den Versuchen dieser Arbeit nicht unterschieden werden, ob die in den Motoneuronen gesehene Zunahme erregender synaptischer Eingänge nur aufgrund der veränderten Aktivität der nichtspikenden Interneurone (also als Resultat der Änderung der synaptischen Eingänge auf die NSIs) oder zusätzlich auch aufgrund von Veränderungen der Informationsübertragung zwischen NSIs und Motoneuronen erreicht wurden. Dazu wären simultane intrazelluläre Ableitungen der NSIs und der Motoneurone in den jeweiligen Verhaltenskontexten nötig.

Die genaue Untersuchung der synaptischen Eingänge zu den nichtspikenden Interneuronen hat gezeigt, daß es bemerkenswerte Unterschiede zwischen den verschiedenen nichtspikenden Interneuronen in Bezug auf zustandsabhängige Änderungen in deren Reaktion gab. So zeigten sich bei Verstärkungsänderungen nur in einem Teil der Interneurone Änderungen der reizbezogenen synaptischen Eingänge, während andere von den Verstärkungsänderungen unbeeinflußt blieben. Auch bei den Versuchen zum Austausch sensorischer Information zwischen den FT−Gelenken kontralateraler Beine zeigten sich Unterschiede. Ein Teil der nichtspikenden Interneurone erhielt vom kontralateralen Sinnesorgan nur vergleichsweise schwache Eingänge, während andere stärkere Eingänge als vom ipsilateralen Sinnesorgan erhielten. Diese Ergebnisse werfen die Frage auf, ob diese Unterschiede eventuell mit einer unterschiedlichen Funktion dieser Neurone einhergehen. Man könnte die nichtspikenden Interneurone in 2 Gruppen einteilen: (1) Neurone, die vor allem an der Verarbeitung lokaler sensorischer Information beteiligt sind, und die wesentlich an der Generierung von Widerstandsreflex (Büschges, 1990; Driesang, 1994; Sauer et al., 1996) und der "Aktiven Reaktion" (Bässler und Büschges, 1990; Driesang, 1994; Driesang und Büschges, 1996) beteiligt sind. (2) Neurone, die zwar sensorische Information des fCOs verarbeiten aber auch (zumindest einige davon) fCO−Informationen an die Gelenkstellungsregelkreise anderer Beingelenke weiterleiten können (u.a. Interneurone E4 und I4; Büschges et al., 1994; Büschges, 1995b). Bisher unterschied man in Anlehnung an das "parlamentarische Prinzip" (Zusammenfassung: Bässler, 1993) zwischen den Widerstandsreflex oder die "Aktive Reaktion" unterstützenden oder widersprechenden Neuronen. Folgende Gründe sprechen aber mehr für die obige Einteilung: (1) Die Neurone der 1. Gruppe sind deutlich an der Generierung von Verstärkungsänderungen beteiligt. Ihre reizbezogene Reaktion ändert sich in Abhängigkeit von der Regelkreisverstärkung (Tabelle 1). Interneuron E3 zum Beispiel zeigt eine Zunahme der reizbezogenen Depolarisation bei einer Verstärkungszunahme, Interneuron I1 eine Abnahme der reizbezogenen Hyperpolarisation. Die Neurone der 2. Gruppe dagegen zeigen sich bei Änderungen der Regelkreisverstärkung "unbeeindruckt", und sind daher nicht direkt an der Generierung von verschiedenen Verstärkungszuständen beteiligt (zum Beispiel Interneuron E4 zeigt keine Abhängigkeit seiner Depolarisation von der Regelkreisverstärkung, Tabelle 1). (2) Die Interneurone der 1. Gruppe scheinen hauptsächlich an der Verarbeitung lokaler sensorischer Information des fCOs beteiligt zu sein, denn sie verarbeiten im Vergleich zur lokalen sensorischen Information nur zu geringem Maß die sensorische Information der fCOs anderer Beine. Die Interneurone der 2. Gruppe dagegen scheinen sehr stark an der Verarbeitung sensorischer Information der fCOs anderer Beine beteiligt zu sein und einige davon sind an Zwischengelenksreflexen beteiligt (Hess und Büschges, 1997). (3) Die Neurone der 1. Gruppe verarbeiten bevorzugt die für den Widerstandsreflex relevanten fCO−Informationen der Position und Geschwindigkeit (Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1993; Sauer et al., 1996), während

Untersuchungen zur Sensitivität der Interneurone für Vibrationenreize am fCO darauf hindeuten, daß in Neuronen der 2. Gruppe auch Informationen über Beschleunigung und Vibration des fCOs verarbeitet werden (Sauer und Stein, in prep.). (4) Schließlich innervieren Neurone der 1. Gruppe exklusiv die Extensor−Motoneurone des FT−Gelenkes, und ändern ihre reizbezogene Reaktion bei der Reflexumkehr (Bässler und Büschges, 1990; Driesang und Büschges, 1996), während einige Neurone der 2. Gruppe ihre reizbezogene Reaktion bei der Reflexumkehr nicht in eindeutiger Weise ändern (Driesang und Büschges, 1996).

Die verschiedenen nichtspikenden Interneurone scheinen daher unterschiedliche Funktionen bei der Verarbeitung sensorischer Information zu haben. Weitere Untersuchungen müssen daher zeigen, ob sich diese Unterschiede auch in der Konnektivität dieser Neurone widerspiegelt, zum Beispiel in einer seriellen Verschaltung einiger nichtspikender Interneurone, und ob dies zu einer Erweiterung der Rolle einiger nichtspikende Interneurone im neuronalen System der Stabheuschrecke führt.

Literaturverzeichnis

Bässler, U. (1967). Zur Regelung der Stellung des Femur–Tibia–Gelenkes bei der Stabheuschrecke *Carausius morosus* in der Ruhe und im Lauf. *Kybernetik* 4:18–26.

Bässler, U. (1972a). Der Regelkreis des Kniesehnenreflexes bei der Stabheuschrecke *Carausius morosus*: Reaktionen auf passive Bewegungen der Tibia. *Kybernetik* 12:8–20.

Bässler, U. (1972b). Zur Beeinflussung der Bewegungsweise eines Beines von *Carausius morosus* durch Amputation anderer Beine. *Kybernetik* 10:110–114.

Bässler, U. (1973). Zur Steuerung aktiver Bewegungen des Femur–Tibia–Gelenkes der Stabheuschrecke *Carausius morosus*. *Kybernetik* 13:38–53.

Bässler, U. (1974). Vom femoralen Chordotonalorgan gesteuerte Reaktionen bei der Stabheuschrecke *Carausius morosus*: Messung der von der Tibia erzeugten Kraft im aktiven und inaktiven Tier. *Kybernetik* 16:213–226.

Bässler, U. (1976). Reversal of a reflex to a single motoneuron in the stick insect *Carausius morosus*. *Biol.Cybern.* 24:47–49.

Bässler, U. (1977). Sense organs in the femur of the stick insect and their relevance to the control of position of the femur–tibia–joint. *J.comp.Physiol.A* 121:99–113.

Bässler, U. (1979). Interaction of central and peripheral mechanism during walking in first instar stick insects, *Extatosoma tiaratum*. *Physiol.Entomol.* 4:193–199.

Bässler, U. (1983a). *Neural basis of elementary behavior in stick insects*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.

Bässler, U. (1983b). The neural basis of catalepsy in the stick insect *Cuniculina impigra*. 3. Characteristics of the extensor motor neurons. *Biol.Cybern.* 46:159–165.

Bässler, U. (1986a). Afferent control of walking movements in the stick insect *Cuniculina impigra*. *J.comp.Physiol.A* 158:345–349.

Bässler, U. (1986b). Afferent control of walking movements in the stick insect *Cuniculina impigra*. II. Reflex reversal and the release of the swing phase in the restrained foreleg. *J.comp.Physiol.A* 158:351–362.

Bässler, U. (1987). Timing and shaping influences on the motor output for walking in stick insects. *Biol.Cybern.* 55:397–401.

Bässler, U. (1988). Functional principles of pattern generation for walking movements of stick insect forelegs: The role of the femoral chordotonal organ afferences. *J.exp.Biol.* 136:125–147.

Bässler, U. (1992). Variability of femoral chordotonal organ reflexes in the locust *Locusta migratoria*. *Physiol.Entomol.* 17:208–212.

Bässler, U. (1993). The femur–tibia control system of stick insects – a model system for the study of the neural basis of joint control. *Brain Res.Rev.* 18:207–226.

Bässler, U. und Büschges, A. (1990). Interneurones participating in the ‘active reaction’ in stick insects. *Biol.Cybern.* 62:529–538.

Bässler, U. und Foth, E. (1982). The neural basis of catalepsy in the stick insect *Cuniculina impigra*. 1. Catalepsy as a characteristic of the femur−tibia−control−system. *Biol.Cybern.* 45:101−105.

Bässler, U. und Nothof, U. (1994). Gain control in a proprioceptive feedback loop as a prerequisite for working close to instability. *J.comp.Physiol.A* 175:23−33.

Bässler, U. und Stein, W. (1996). Contributions of structure and innervation pattern of the stick insect extensor tibiae muscle to the filter characteristics of the muscle−joint system. *J.exp.Biol.* 199:2185−2198.

Bässler, U. und Storrer, J. (1980). The neural basis of the femur−tibia−control−system in the stick insect *Carausius morosus*. I. Motoneurons of the extensor tibiae muscle. *Biol.Cybern.* 38:107−114.

Bässler, U. und Wegner, U. (1983) Motor output of the denervated thoracic ventral nerve cord in the stick insect *Carausius morosus*. *J.exp.Biol.* 105:127−145.

Bässler, U., Dübner, C. und Fahrig, T. (1987). Motor output oscillations in denervated thoracic ganglia of walking stick insects. *Zool.Jb.Physiol.* 91:393−401.

Bentley, D. und Konishi, M. (1978). Neural control of behavior. *Ann.Rev.Neurosci.* 1, 35−59.

Bräunig, P. (1982a). Strand receptors with central cell bodies in the proximal leg joints of orthopterous insects. *Cell Tissue Res.* 222(3):647−654.

Bräunig, P. (1982b). The peripheral and central nervous organization of the locust coxo−trochanteral joint. *J.Neurobiol.* 13(5):413−433.

Brunn, D.E. und Dean, J. (1994). Intersegmental and local interneurons in the metathorax of the stick insect *Carausius morosus* that monitor leg position. *J.Neurophys.* 72:1208−1219.

Buddenbrock, v.W. (1921). Der Rhythmus der Schreitbewegungen der Stabheuschrecke *Dyxippus*. *Biol.Zentralbl.* 41:41−48.

Burrows, M. (1987). Parallel processing of proprioceptive signals by spiking local interneurons and motor neurons in the locust. *J.Neurosci.* 7:1064−1080.

Burrows, M. (1989). Processing of mechanosensory signals in local reflex pathways of the locust. *J.exp.Biol.* 146:209−227.

Burrows, M. (1994) The influence of mechanosensory signals on the control of leg movements in an insect. In: *Neural Basis of behavioral adaptations. Fortschritte Zoologie Vol.39*, edited by Schildberger, K. and Elsner, N. Stuttgart, Jena, New York: Gustav Fischer Verlag, p. 145−165.

Burrows, M. (1996). *The Neurobiology of an insect brain.* Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press.

Burrows, M. und Laurent, G. (1993). Synaptic potentials in the central terminals of locust proprioceptive afferents generated by other afferents from the same sense organ. *J.Neurosci.* 13:808−819.

Burrows, M. und Matheson, T. (1994). A presynaptic gain control mechanism among sensory neurons of a locust leg proprioceptor. *J.Neurosci.* 14:272−282.

Büschges, A. (1989). Processing of sensory input from the femoral chordotonal organ by spiking interneurones of the stick insect. *J.exp.Biol.* 144:81−111.

Büschges, A. (1990). Non−spiking pathways in a joint−control loop of the stick insect *Carausius morosus*, *J.exp.Biol.* 151, 133−160.

Büschges, A. (1994). The physiology of sensory cells in the ventral scoloparium of the stick insect femoral chordotonal organ. *J.exp.Biol.* 189, 285−292.

Büschges, A. (1995a). Plasticity in neuronal networks controlling posture and movement of insect leg joints. *Verh.dt.zool.Ges.* 88.2, 139−151.

Büschges, A. (1995b). Role of nonspiking interneurones in the generation of rhythmic motor activity in the stick insect. *J.Neurobiol.* 21:488−512.

Büschges, A. und Wolf, H. (1995). Nonspiking local interneurones in insect leg motor control. I. Common layout and species−specific response properties of femur−tibia joint control pathways in stick insect and locust. *J.Neurophys.* 73, 1843−1860.

Büschges, A. und Wolf, H. (1996). Gain changes in sensorimotor pathways of the locust leg. *J.exp.Biol.* 199, 2437−2445

Büschges, A., Kittmann, R. und Schmitz, J. (1994). Identified nonspiking interneurones in leg reflexes and during walking in the stick insect. *J.comp.Physiol.A* 174:685−700.

Bush, B.M.H., Vedel, J.P. und Clarac, F. (1978). Intersegmental reflex actions from a joint sensory organ (CB) to a muscle receptor (MCO) in decapod crustacean limbs. *J.exp.Biol.* 73:47−63.

Byrne, J., Castellucci, V. und Kandel, E. (1978b). Contribution of individual mechanoreceptor sensory neurons to defensive gill−withdrawal reflex in *Aplysia. J.Neurophys.* 41(2):418−431.

Byrne, J., Castellucci, V., Carew, T. und Kandel, E. (1978a). Stimulus−response relations and stability of mechanoreceptor and motor neurons mediating defensive gill−withdrawal reflex in *Aplysia. J.Neurophys.* 41(2):402−417.

Camhi, J.M. (1993). Neural mechanisms of behavior. *Current Opinion in Neurobiology.* 3:1011−1019.

Casagrand, J.L. und Ritzmann, R.E. (1992). Biogenic amines modulate synaptic transmission between identified giant interneurones and thoracic interneurones in the escape system of the cockroach. *J.Neurobiol.* 23, 644−655.

Cruse, H. (1979). The control of the anterior extreme position of the hindleg of a walking insect *Carausius morosus*. *Physiol.Entomol.* 4:121−124.

Cruse, H. (1980). A quantitative model of walking incorporating central and peripheral influences. II. The connections between the different legs. *Biol.Cybern*. 37:137−144.

Cruse, H. (1990). What mechanisms coordinate leg movement in walking arthropods. *TINS* 13:15−21.

Cruse, H. und Epstein, S. (1982). Peripheral influences on the movement of the legs in a walking insect *Carausius morosus*. *J.exp.Biol.* 101:161−170.

Cruse, H. und Saxler, G. (1980a). Oscillations of force in the standing legs of a walking insect (*Carausius morosus*). *Biol.Cybern*. 36, 159−163.

Cruse, H. und Saxler, G. (1980b). The coordination of force oscillations and of leg movement in a walking insect (*Carausius morosus*). *Biol.Cybern*. 36, 165−171.

Cruse, H. und Schwarze, W. (1988). Mechanisms of coupling between the ipsilateral legs of a walking insect (*Carausius morosus*). *J.exp.Biol.* 138:455−469.

Cruse, H., Schmitz, J., Braun, U. und Schweins, A. (1993). Control of body height in a stick insect walking on a treadwheel. *J.exp.Biol.* 181:141−155.

Cruse, H., Dean, J., Kindermann, T. und Schmitz, J. (1997). Simulation komplexer Bewegungen mit Hilfe künstlicher neuronaler Netze. *Neuroforum* 4/97: 133−139.

Dean, J. (1989). Leg coordination in the stick insect *Carausius morosus*: Effects of cutting thoracic connectives. *J.exp.Biol.* 145:103−131.

Dean, J. und Wendler, G. (1982). Stick insects walking on a wheel: Perturbations induced by obstruction of leg protraction. *J.comp.Physiol.* 148:195−207.

Dean, J. und Wendler, G. (1983). Stick insect locomotion on a walking wheel: Interleg coordination of leg position. *J.exp.Biol.* 103:75−94.

DiCaprio, R.A. und Clarac, F. (1981). Reversal of a walking leg reflex elicited by a muscle receptor. *J.exp.Biol.* 90:197−203.

Dixon, W.J. und Massey, F.J. (1969). *Introduction to statistical analysis (3rd ed.)*. McGraw Hill, New York.

Driesang, R.B. (1994). *Mechanismen der Informationsverarbeitung im ZNS der Stabheuschrecke Carausius morosus*. Dissertation, Fachbereich Biologie, Universität Kaiserslautern.

Driesang, R.B. und Büschges, A. (1993). The neural basis of catalepsy in the stick insect. IV. Properties of nonspiking interneurons. *J.comp.Physiol.A* 173:445−454.

Driesang, R.B. und Büschges, A. (1996). Physiological changes in central neuronal pathways contributing to the generation of reflex reversal. *J.comp.Physiol.A* 179:45−57.

Eidmann, H. (1956). Über rhythmische Erscheinungen bei der Stabheuschrecke *Carausius morosus* Br. *Z.Vgl.Physiol* 38:370−390.

El Manira, A. und Clarac, F. (1991). GABA−mediated presynaptic inhibition in crayfish primary afferents by non−a, non−b GABA−receptors. *Europ.J.Neurosci.* 3:1208−1218.

El Manira, A., Cattaert, D. und Clarac, F. (1991). Monosynaptic connections mediate resistance reflex in crayfish *(Procambarus clarkii)* walking legs. *J.comp.Physiol.A* 168:337−349.

Forssberg, H., Grillner, S. und Rossignol, S. (1975). Phase dependent reflex reversal during walking in chronic spinal cats. *Brain Res.* 85: 103−107.

Foth, E. und Bässler, U. (1985a). Leg movements of stick insects walking with five legs on a treadwheel and with one leg on a motor−driven belt. I. General results and 1:1−coordination. *Biol.Cybern.* 51:313−318.

Foth, E. und Bässler, U. (1985b). Leg movements of stick insects walking with five legs on a treadwheel and with one leg on a motor−driven belt. II. Leg coordination when step−frequencies differ from leg to leg. *Biol.Cybern.* 51:319−324.

Foth, E. und Graham, D. (1983a). Influence of loading parallel to the body axis on the walking coordination of an insect. 1. Ipsilateral effects. *Biol.Cybern.* 47:17−23.

Foth, E. und Graham, D. (1983b). Influence of loading parallel to the body axis on the walking coordination of an insect. 2. Contralateral changes. *Biol.Cybern.* 48:149−157.

Friesen, W.O. (1989). Neuronal control of leech swimming movements. In: *Cellular and Neuronal Oscillators*, edited by J.W. Jacklet. New York: Dekker, p. 269−316.

Friesen, W.O. und Pearce, R.A. (1993). Mechanisms of intersegmental coordination in leech locomotion. *Seminars in the Neuroscience*. 5:41−47.

Füller, H. und Ernst, A. (1973). Die Ultrastruktur der femoralen Chordotonalorgane von *Carausius morosus* BR. *Zool.Jb.Anat.* 91:574−601.

Godden, D.H. (1974). The physiological mechanism of catalepsy in the stick insect *Carausius morosus* Br. *J.comp.Physiol.* 89:251−274.

Godden, D. und Goldsmith, T.H. (1972). Photoinhibition of arousal in the stick insect *Carausius*. *Z.vergl.Physiologie* 76:135−145.

Graham, D. (1972). A behavioural analysis of the temporal organisation of walking movements in the 1st instar and adult stick insect (*Carausius morosus*). *J.comp.Physiol.* 81:23−52.

Graham, D. (1977). The Effect of amputation and leg restraint on the free walking co−ordination of the stick insect *Carausius morosus*. *J.comp.Physiol.* 116:91−116

Graham, D. und Bässler, U. (1981). Effects of afference sign reversal on motor activity in walking stick insects (*Carausius morosus*). *J.exp.Biol.* 91:179−193.

Grillner, S., Wallén, P., Brodin, L. und Lanser, A. (1991). Neuronal network generating locomotor behavior in lamprey: circuitry, transmitters, membrane properties, and simulation. *Annu.Rev.Neurosci.* 14:169−199.

Harris−Warrick, R.M., Marder, E., Selverston, A. und Moulins, M. (1992). *Dynamic biological networks.* The MIT Press; Massachussetts Institute of Technology; Cambridge Massachusetts.

Hedwig, B. und Burrows, M. (1996). Presynaptic inhibition of sensory neurons during kicking movements in the locust. *J.Neurophys.* 75:1221−1232.

Hess, D. und Büschges, A. (1997). Sensorimotor pathways involved in interjoint reflex action of an insect leg. *J.Neurobiol.* 33:891−913.

Hofmann, T. und Koch, U.T. (1985). Acceleration receptors in the femoral chordotonal organ of the stick insect, *Cuniculina impigra*. *J.exp.Biol.* 114:225−237.

Hofmann, T., Koch, U.T. und Bässler, U. (1985). The physiology of the femoral chordotonal organ in the stick insect, *Cuniculina impigra*. *J.exp.Biol.* 114:207−223.

Ikeda, K. und Wiersma, C.A. (1964). Autogenic rhythmicity in the abdominal ganglia of the crayfish: the control of swimmeret movements. *Comp.Biochem.Physiol.* 12:107−115.

Kalmus, H. (1938). Tagesperiodisch verlaufende Vorgänge an der Stabheuschrecke *Dixippus morosus*. *Z.vgl.Physiol.* 25:494−508.

Kittmann, R. (1991). Gain control in the femur−tibia feedback system of the stick insect. *J.exp.Biol.* 157:503−522.

Kittmann, R. (1997). Neural mechanisms of adaptive gain control in a joint control loop: Muscle force and motoneuronal activity. *J.exp.Biol.* 200:1383−1402.

Kittmann, R. und Schmitz, J. (1992). Functional specialization of the scoloparia of the femoral chordotonal organ in stick insects. *J.exp.Biol.* 173:91−108.

Koch, U.T., Hoock, C. und Brunner, M. (1992). Single−unit isolation from multiunit nerves by dedicated recording and computation methods. *Met.Neurosci* 10:32−47.

Kristan, W.B. Jr. und Calabrese, R.L. (1976). Rhythmic swimming activity in neurones of the isolated nerve cord of the leech. *J.exp.Biol.* 65:643−688.

Lansner, A. und Ekeberg, Ö. (1994). Neuronal network models of motor generation and control. *Current Opinion in Neurobiology.* 4:903−908.

Laurent, G. (1986). Thoracic intersegmental interneurones in the locust with mechanoreceptive inputs from a leg. *J.comp.Physiol.A* 159:171−186.

Laurent, G. (1987). The morphology of a population of thoracic intersegmental interneurones in the locust. *J.comp.Neurol.* 256:412−429.

Laurent, G. (1988). Local circuits underlying excitation and inhibition of intersegmental interneurones in the locust. *J.comp.Physiol.A* 162:145−157.

Laurent, G. (1991). Intersegmental interneurones and interactions between local centres of integration in the locust central nervous system. In: *"Locomotor neural mechanisms in arthropods and vertebrates"* Armstrong, Bush editors; pp. 11−24.

Laurent, G. und Burrows, M. (1989). Distribution of intersegmental inputs to nonspiking local interneurons and motor neurons in the locust. *J.Neurosci.* 9(9):3019−3029.

Leitch, B. und Pitman, R.M. (1995). Modulation of transmitter release from the terminals of the locust wing stretch receptor neuron by muscarinic antagonists. *J.Neurobiol.* 28:455−464.

Matheson, T. (1997). Octopamine modulates the responses and presynaptic inhibition of proprioceptive sensory neurons in the locust *Schistocerca gregaria. J.exp.Biol.* 200:1317−1325

Matsushima, T. und Grillner, S. (1992). Neural mechanisms of intersegmental coordination in lamprey: local excitability changes modify the phase coupling along the spinal cord. *J.Neurophysiol.* 67:373−388.

Murphy, P., Stein, R. und Taylor, J. (1984). Phasic and tonic modulation of impulse rates in c−motoneurons during locomotion in premammillary cats. *J.Neurophys.* 52(2):228−243.

Nagayama, T., Isogai, Y., Sato, M. und Hisada, M. (1993). Intersegmental ascending interneurons controlling uropod movements of the crayfish *Procambarus clarkii. J.comp.Neurol.* 332(2):155−174.

Orchard, I., Loughton, B.G. und Webb, R.A. (1981). Octopamine and shortterm hyperlipaemia in the locust. *Gen.comp.Endocrinol.* 45:175−180.

Pasztor, V.M. und Bush, B.M.H. (1989). Primary afferent responses of a crustacean mechanoreceptor are modulated by proctolin, octopamine, and serotonin. *J.Neurobiol.* 20:234−254.

Pearson, K.G. (1995). Reflex reversal in the walking systems of mammals and arthropods. In: *Neural control of movement*, edited by Ferrell, W.R. and Proske, U. New York: Plenum Press, p. 135−141.

Pearson, K.G. und Collins, D.F. (1993). Reversal of the influence of group Ib afferents from plantaris on activity in medial gastrocnemius muscle during locomotor activity. *J.Neurophys.* 70:1009–1017.

Pflüger, H.–J. (1977). The control of the rocking movements of the phasmid *Carausius morosus* Br. *J.comp.Physiol.* 120:181–202.

Pflüger, H.–J. und Burrows, M. (1987). A strand receptor with a central cell body synapses upon spiking local interneurones in the locust. *J.comp.Physiol.A* 160(3):295–304.

Ramirez, J.–M., Büschges, A. und Kittman, R. (1993). Octopaminergic modulation of the femoral chordotonal organ in the stick insect. *J.comp.Physiol.A.* 173:209–219.

Ritzmann, R.E., Pollack, A.J., Hudson, S.E. und Hyvonen, A. (1991). Convergence of multi–modal sensory signals at thoracic interneurons of the escape system of the cockroach, *Periplaneta americana. Brain Res*. 563:175–183.

Robertson, R.M. und Pearson, K.G. (1985). Neural circuits in the flight system of the locust. *J.Neurophys.* 53:110–128.

Ryckebusch, S. und Laurent, G. (1994). Interactions between segmental leg central pattern generators during fictive rhythms in the locust. *J.Neurophysiol.* 72(6):2771–2785.

Sauer, A.E. (1996). Neuronal mechanisms of intersegmentally induced gain changes in a joint control network of the stick insect mesothoracic ganglion. *Proceed. of the 24th Göttingen Neurobiol. Congress*, *Vol. II*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart and New York.

Sauer, A.E. und Stein, W. (in prep). The processing of vibration information in the femur–tibia control loop of the stick insect.

Sauer, A.E., Büschges, A. und Stein, W. (1997). The role of presynaptic inputs to proprioceptive afferents in tuning sensorimotor pathways of an insect joint–control network. *J.Neurobiol.* 32(4):359–376.

Sauer, A.E., Driesang, R.B., Büschges, A. und Bässler, U. (1995). Information processing in the femur–tibia control loop of stick insects 1. The response characteristics of two nonspiking interneurones result from parallel excitatory and inhibitory inputs. *J.comp.Physiol.A* 177, 145–158.

Sauer, A.E., Driesang R.B., Büschges, A. und Bässler, U. (1996). Distributed processing on the basis of parallel and antagonistic pathways. Simulation of the femur–tibia control system in the stick insect. *J.comput.Neurosci.* 3, 179–198.

Schmitz, J., Delcomyn, F. und Büschges, A. (1991a). Oil and hook electrodes for en passant recording from small nerves. In *'Methods in neuroscience 4' (ed. Conn, P. M.).* Academic Press, San Diego New York Boston, pp. 266–278.

Schmitz, J., Dean, J. und Kittmann, R. (1991b). Central projections of leg sense organs in *Carausius morosus* (Insecta, Phasmida). *Zoomorphology* 111:19–34.

Schmitz, J., Büschges, A. und Kittmann, R. (1991). Intracellular recordings from nonspiking interneurons in a semiintact, tethered walking insect. *J.Neurobiol.* 22(9):907–921.

Selverston, A.I. und Moulins, M. (1987). *The crustacean stomatogastric system.* Springer Verlag.

Sillar, K.T. und Roberts, A. (1992). The role of premotor interneurons in phase−dependent modulation of a cutaneous reflex during swimming in *Xenopus laevis* embryos. *J.Neurosci.* 12:1647−1657.

Sillar, K.T., Clarac, F. und Bush, B.M.H. (1987). Intersegmental coordination of central neural oscillators for rhythmic movements of the walking legs in crayfish, *pacifastacus leniusculus. J.exp.Biol.* 131:245−264.

Skorupski, P. (1992). Synaptic connections between nonspiking afferent neurons and motor neurons underlying phase−dependent reflexes in crayfish. *J.Neurophys*. 67(3):664−679.

Skorupski, P. und Sillar, K.T. (1986). Phase−dependent reversal of reflexes mediated by the thoracocoxal muscle receptor organ in the crayfish, *Pacifastacus leniusculus*. *J.Neurophys.* 55:689−695.

Skorupski, P., Rawat, B.M. und Bush, B.M.H. (1992). Heterogeneity and central modulation of feedback reflexes in crayfish motor pool. *J.Neurophysiol.* 67(3):648−663.

Stein, W. (1995). *Pharmakologisch erzeugte Änderungen im Femur−Tibia Regelkreis der Stabheuschrecke Cuniculina impigra und deren Einfluß auf das Verhalten.* Diplomarbeit, Fachbereich Biologie, Universität Kaiserslautern.

Steininger, F. (1933). Die Erscheinung der Katalepsie bei Stabheuschrecken und Wasserläufern. *Z.Morphol.Ökol.Tiere* 26:592−708.

Watson, A.H.D. und Laurent, G. (1990). GABA−like immunoreactivity in a population of locust intersegmental interneurones and their inputs. *J.comp.Neurol.* 302:761−767.

Weidler, D.J. und Diecke, F.P. (1969). The role of cations in conduction in the central nervous system of the herbivorous insect *Carausius morosus*. *Z.vergl.Physiologie* 64:372−399.

Weiland, G. und Koch, U.T. (1987). Sensory feedback during active movements of stick insects. *J.exp.Biol.* 133:137−156.

Weiland, G., Bässler, U. und Brunner, M. (1986). A biological feedback control system with electronic input: The artificially closed femur−tibia control system of stick insects. *J.exp.Biol.* 120:369−385.

Wendler, G. (1964). Laufen und Stehen der Stabheuschrecke *Carausius morosus*: Sinnesborstenfelder in den Beingelenken als Glieder von Regelkreisen. *Z.vergl.Physiologie* 48:198−250.

Wolf, H. (1991). Sensory feedback in locust flight patterning. In: *Locomotor neural mechanism in arthropods and vertebrates.* Edited by Armstrong, D.M. and Bush, B.M.H. Manchester:Manchester Univ.Press, p. 134−148.

Wolf, H. (1992). Reflex modulation in locusts walking on a treadwheel −intracellular recordings from motoneurons. *J.comp.Physiol.A* 170:443−462.

Wolf, H. und Burrows, M. (1995). Proprioceptive sensory neurons of a locust leg receive rhythmic presynaptic inhibition during walking. *J.Neurosci.* 15:5623−5636.

Yang, J. und Stein, R. (1990). Phase−dependent reflex reversal in human leg muscles during walking. *J.Neurophysiol.* 63(5):1109−1117.