

Aus dem Institut für Hirnforschung der Universität Zürich

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER
PERIKARYENSCHICHT DER CORPORA PEDUNCULATA DER
WALDAMEISE (*FORMICA LUGUBRIS* ZETT.) MIT BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG DER NEURON-GLIA-BEZIEHUNG*

Von

ALEX M. LANDOLT**

Mit 21 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Dezember 1964)

Summary. 1. The supraoesophageal ganglion of a common wood ant species (*Formica lugubris* ZETT.) is separated from the fat and glycogen containing extracerebral tissue by a sheath consisting of a cell-free neural lamella and a layer of perilemma cells.

2. The neurons of the corpora pedunculata form a superficial cortical layer consisting of small perikarya (5—15 μ in diameter), which are assembled in epithelial fashion. They give rise to only one single process (axon) and receive neither dendritic nor axonic synapses. The perikarya contain a relatively poorly differentiated endoplasmic reticulum, yet an abundance of ribosomes preponderantly not organized within a typical ergastoplasmic assembly. Two types of inclusion bodies have been found which seem to be common stock of insect neuronal cytoplasm.

3. The glial cells form a complex mesh of processes surrounding the neurons of the cortical layer. Relatively few cell bodies, outnumbered 10—50 times by the neurons, develop a stupendous surface matching the one of neuronal perikarya. The inner structure is characterized by an electron dense cytoplasm (denser than that of neurons), high content in ribosomes and glycogen granules, occasional gliosomes and a dense, lobated nucleus. The Golgi apparatus of glial cells is less well developed than that of neurons.

4. The neuroglial processes reach within the glycogen packed perilemma cell layer and extend from the dorsal to the ventral surface of the cortex. Its marked glycogen content suggests that the neuroglia forms a link in glycogen transport from the extracerebral storage tissue via perilemma cells to neurons.

5. The neuroglial processes separate the neurons from the tracheal system throughout. Furthermore, conglomerations of glial endings immediately contact the distal portions of the tracheolar system forming the "tracheolar end organs". These observations suggest specific glial functions relative to gas exchange and energy metabolism of the neuron.

6. The plasma membranes of glial cells and neurons consist of "unit membranes" of 90 Å diameter. The interstitial space is conspicuously narrow (30 Å) and can be experimentally expanded by means of hypertonic solutions. No decrease in extracellular space was seen with use of hypotonic fixatives. The role of interstitial space and the interposed meshwork of glial cytoplasm for the mechanism of polarisation and depolarisation of the neuron plasmalemma is discussed in the light of current theory.

Einleitung

Das Interesse der Neurobiologen konzentriert sich in jüngster Zeit vermehrt auf die funktionellen Zusammenhänge zwischen den Neuronen und den sie umgebenden Gliazellen. Die beiden Elemente sind im Vertebratengehirn nicht nur

* Die Arbeit wurde durch einen Kredit (Nr. 2575) des Schweizerischen Nationalfonds für Wissenschaftliche Forschung unterstützt.

** Fr. C. SANDRI sei für ihre unentbehrliche, technische Mitarbeit an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen.

im Ablauf elektrischer Vorgänge gekoppelt (GALAMBOS 1961, VAN HARREVELD und SCHADÉ 1960), sondern auch bei verschiedenen Stoffwechselreaktionen. Dies wurde für den Ribonukleinsäure-Stoffwechsel (HYDÉN und EGYHAZI 1963) und für verschiedene oxydative Prozesse (HYDÉN und LANGE 1960, HAMBERGER 1963, HAMBERGER und HYDÉN 1963) erwiesen. Die funktionelle Partnerschaft zwischen Neuronen und Gliazellen äußert sich auch bei pathologischen Prozessen, in denen z. B. nach einem anfänglichen Entgleisen der Gliafunktion sekundär auch die Tätigkeit der Nervenzellen in Mitleidenschaft gezogen wird (HYDÉN 1964). Solche Zusammenhänge sind bis heute fast ausschließlich an Wirbeltieren untersucht worden. Über die Neuron-Glia-Beziehung ist bei *Insekten*, deren Gehirn wesentlich einfachere Bauverhältnisse aufweist, noch fast nichts bekannt. Eine Ausnahme bilden die lichtmikroskopischen Untersuchungen von WIGGLESWORTH (1960) über den Austausch von Glycogen und Triglyceriden zwischen Glia- und Nervenzellen am Gehirn von *Periplaneta americana*. Seine Arbeit wurde von SMITH und TREHERNE (1963) elektronenmikroskopisch teilweise bestätigt. Dagegen werden die Beziehungen zwischen Neuronen und Gliazellen in den elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Insektennervensystem von HESS (1958), TRUJILLO-CENÓZ (1959, 1952), TRUJILLO-CENÓZ und MELAMED (1962), ASHHURST und CHAPMAN (1962), PIPA, NISHIOKA und BERN (1962) sowie BUCHHOLZ (1964) kaum berücksichtigt. Aus diesem Grunde wollen wir in der vorliegenden Arbeit die strukturellen Gegebenheiten dieser Zusammenhänge im Bereiche der Perikaryonschicht der *Copora pedunculata* im Oberschlundganglion der Ameise darstellen und so eine Grundlage für weitere physiologische Arbeiten schaffen.

Material und Methoden

In einer Kohlendioxydnarkose wurde bei Arbeiterinnen der in der Schweiz häufigsten Ameisenart *Formica lugubris* Zett. (KUTTER 1962) die Kopfkapsel eröffnet und das ganze Tier mit dem anhaftenden Kopf sofort ins Fixationsmittel gebracht. Wir arbeiteten mit folgenden Fixationslösungen:

a) Kaliumpermanganat 3 % in 0,071 mol/l Veronalacetatpuffer, pH 7,4; Gefrierpunktserniedrigung 0,97°C.

b) Osmiumtetroxydlösung nach PALAY, MCGEE-RUSSELL, GORDON und GRILLO (1962) pH 7,4; Gefrierpunktserniedrigung 0,55°C.

c) Osmiumtetroxydlösung nach DALTON (1955) pH 7,4; Gefrierpunktserniedrigung mit 6,6% Saccharose auf 0,95°C gebracht.

d) Vorfixation mit Glutaraldehydlösung 6% in 0,024 mol/l Dinatriumphosphat-Natriumhydroxyd-Puffer pH 9,4; Gefrierpunktserniedrigung 1,32°C, Nachfixation in Osmiumtetroxydlösung nach Dalton (1955); pH 9,4, Gefrierpunktserniedrigung 0,95°C.

e) Vorfixation mit Glutaraldehydlösung 6% in 0,1 mol/l Dinatriumphosphat-Natriumhydroxyd-Puffer pH 9,4; Gefrierpunktserniedrigung 1,80°C, Nachfixation wie bei d).

Um einen Anhaltspunkt betreffend den am Gewebe wirkenden osmotischen Druck der verschiedenen Fixationslösungen zu haben, bestimmten wir deren Gefrierpunktserniedrigung mit Hilfe eines Beckmann-Thermometers in der Anordnung nach DANIELS, MATHEWS und WILLIAMS (1941¹), denn bei den vorliegenden, relativ hohen Konzentrationen folgt dieser Wert nicht mehr dem van 't Hoff'schen Gesetz und ist deshalb nicht mehr proportional der Menge der gelösten Substanz.

Die besten Normal-Präparate wurden mit den in a) und d) beschriebenen Fixationslösungen erhalten. Die übrigen Verfahren erlaubten interessante Einblicke in die Ausdehnungs- bzw. Kontraktionsfähigkeit des Interzellularraumes.

¹ Herrn Dr. U. PIESBERGEN, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich sei für wertvolle Hilfe gedankt.

Nach einstündiger Fixationsdauer konnte das Gehirn vollständig freigelegt und eine zusätzliche Stunde lang weiter fixiert werden. Die Präparate wurden in Epon 812 (LUFT 1961) eingebettet. Die Dünnschnitte (Interferenzfarbe grau bis silberig) wurden mit Hilfe von Glasmessern nach vorhergehender phasenkontrastmikroskopischer Kontrolle von Fixationsqualität und Lokalisation an einem Porter-Blum-Mikrotom hergestellt. Die Schnitte wurden auf mit Formvar- oder Paralodium-Filmen überzogene und kohlebedampfte Kupfernetze gebracht und mit Uranylacetat (WATSON 1958) kombiniert mit Bleihydroxyd (KARNOVSKY 1961, Methode B) kontrastiert. Das Material wurde mit einem Elmiskop I (Siemens) untersucht.

Resultate

1. Hüllschichten des Gehirnes

Die nervöse Substanz des Oberschlundganglions der Waldameise ist von zwei Hüllgewebsschichten überlagert, die weitgehend den analogen Gebilden von *Periplaneta americana* (HESS 1958) entsprechen. Aus diesem Grunde wurden die dort verwendeten Beziehungen übernommen.

Als erste Schicht des Hüllgewebes stellt sich eine mehr oder weniger homogene, zellfreie Neurallamelle („connective capsule“ nach TRUJILLO-CENÓZ 1962) dar, die eine Dicke von 0,8—2,9 μ aufweist (Abb. 1, 2). Nach Osmiumfixation kann man in ihr quergestreifte Fibrillenbündel nachweisen, die an Kollagen erinnern (GRAY 1959, SMITH und TREHERNE 1963). Eine weitere Unterteilung, wie sie HESS (1958) sowie SMITH und TREHERNE (1963) an *Periplaneta americana* gelang, ist in unserm Material nicht möglich.

Unmittelbar an die Neurallamelle anschließend folgt eine einzige Lage von *Perilemmazellen* („perineurium“ nach SCHARRE 1939; „subcapsular glial cells“ nach TRUJILLO-CENÓZ 1962). Diese sind flächenhaft ausgebreitet oder kubisch gebaut und 1—7 μ dick (Abb. 1). Ihr Kern ist meist oval und verglichen mit den Neuronenkernen klein. Das Cytoplasma ist vollgestopft mit großen Mitochondrien, Bläschen verschiedenster Größe, Vakuolen, „dense bodies“ und „multivesicular bodies“. Der Golgi-Apparat unterscheidet sich dem Aussehen nach stark von demjenigen der Neurone (vergleiche Abb. 5a mit Abb. 5b). Die Aggregate der flachen Cysternen sind viel weniger ausgedehnt und werden von einer kleineren Anzahl von größeren Bläschen umgeben. Diese Bläschen zeigen einen nur wenig elektronendichten Inhalt, der oft eine zentrale Aufhellung enthält. Selten kann man auch Zentriolen erkennen (Abb. 5a). Oft trifft man im Cytoplasma der Perilemmazellen sowohl nach Permanganat- wie auch nach Glutaraldehyd-Osmium-Fixation Ansammlungen von Körnern, die nach Kontrastierung mit Bleihydroxyd sehr elektronendicht erscheinen (Abb. 2). Sie besitzen einen Durchmesser von 160—230 Å und sind oft zu größeren, rosettenförmigen Komplexen mit einem Halbmesser von 900—1600 Å zusammengelagert. Größe und Form dieser Körner entsprechen denjenigen, die in den extracerebral gelegenen Zellen des Fettkörpers vorliegen (VON GAUDECKER 1963). Es dürfte sich hier um Glykogen handeln (REVEL, NAPOLITANO und FAWCETT 1960). Da die Schicht der Perilemmazellen bei der Präparation als Verschiebezone zwischen der derben Neurallamelle und der Neuronenlage wirkt, wird sie bei der Präparation oft zerstört.

2. Hirnrinde

a) *Allgemeiner Aufbau.* Die Perikaryonschicht der Neurone wird vom Perilemma von einer oder mehreren Lagen von flachen Gliafortsätzen abgegrenzt

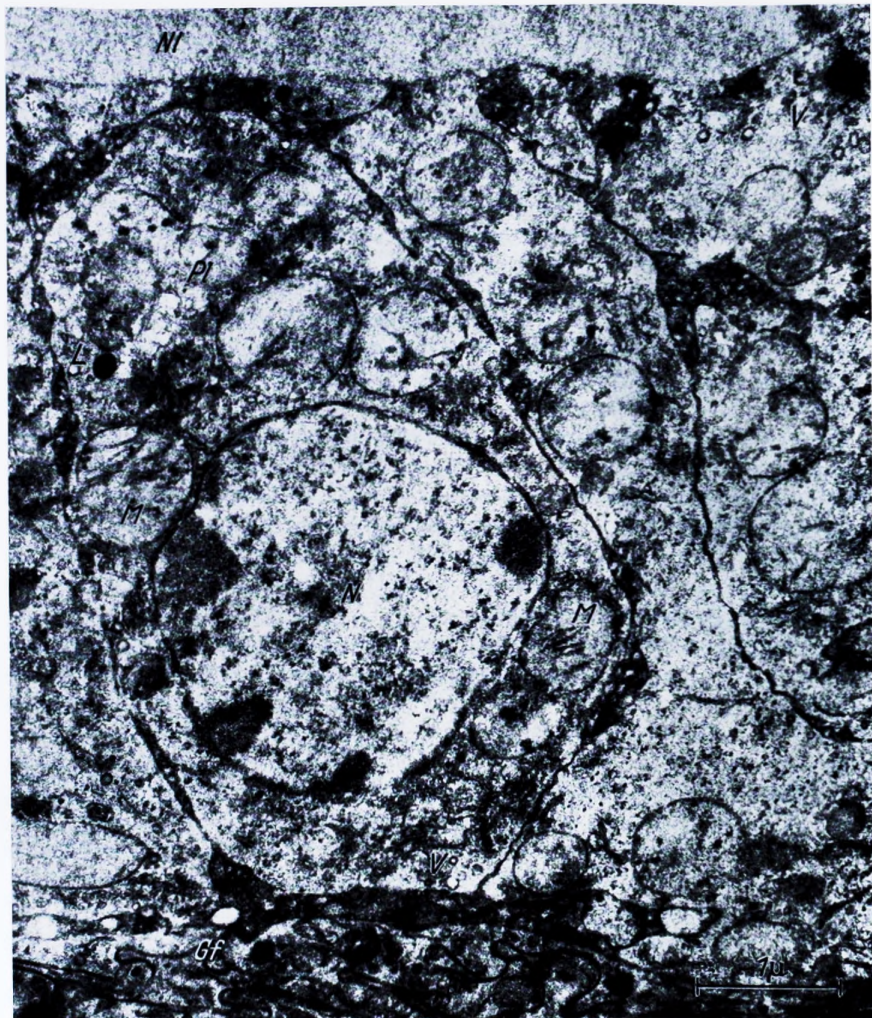


Abb. 1. Die Schicht der Perilemmazellen (*Pl*) wird auf der einen Seite durch die Neurallamelle (*Nf*), auf der anderen durch eine Lage von Gliafortsätzen (*Gf*) begrenzt. Die Zellen enthalten einen großen, runden Kern (*N*), viele große Mitochondrien (*M*), Lipoidtropfen (*L*) und kleine Bläschen (*V*). Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung

(Abb. 2). Sie umfaßt 1—20 Zell-Lagen und ist aus drei Elementen, nämlich den Neuronen, den Gliazellen und den Tracheolenwandzellen aufgebaut. Die Perikaryen der Neurone sind unregelmäßig polygonal geformt und in einem epithelartigen Zellverband zusammengefügt (Abb. 3). Die zwischen den Neuronen noch bestehenden Lücken sind bis auf den letzten Rest von den Gliafortzellsätzen, den Tracheolen und von spärlichen Faserbündeln ausgefüllt. In guten Präparaten sind jedenfalls keine interstitiellen Glialakunen oder Lymphspalten sichtbar. Auffallend ist die im Vergleich zum Wirbeltiergehirn äußerste Armut an Nervenzellfortsätzen im Bereiche der Rinde. Diese steht mit der schon seit KENYON

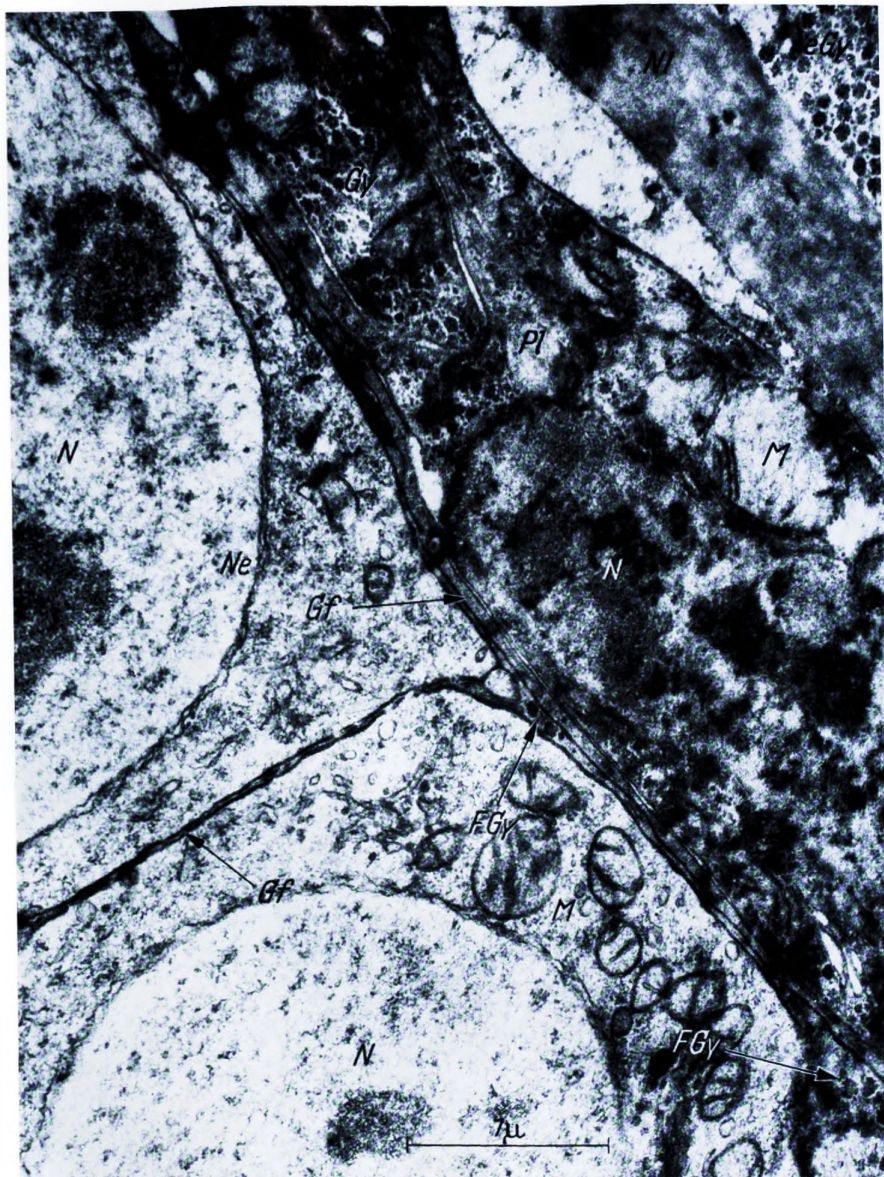


Abb. 2. Oberflächenschichten des Gehirnes: rechts oben die Neurallamelle (N), dann die Perilemmazellen (Pf), die Lage der Gliafortsätze (Gf) und schließlich die äußersten Neurone (Ne). Glycogenanreicherung extracerebral (Ggy), in den Perilemmazellen (Gg) und in den Gliafortsätzen (FGg). Mitochondrien (M) in den Perilemmazellen größer als in den Neurone. N Zellkerne. Fixation mit $KMnO_4$. Doppelkontrastierung

(1896) bekannten Tatsache in Beziehung, daß die Perikaryen der Insektenhirnrinde nur einen einzigen Fortsatz abgeben, der direkt zu den zentralen Fasermassen verläuft und sich erst dort in ein Dendritenbüschel und einen Neuriten aufspaltet. Die Hirnrindenzellen sind also unipolar und die Perikarya sind räumlich von der

darunterliegenden Neuropilschicht getrennt. Diese Befunde sind nun auch elektronenmikroskopisch bestätigt, in dem wir selbst an Hand von Serienschritten nie eine Nervenzelle mit mehr als einem Fortsatz und weder Dendriten noch Synapsen entdecken konnten.

b) *Neurone*. Die Perikaryen der Neurone haben einen Durchmesser von $5-15 \mu$, der größtenteils von einem runden oder leicht ovalen Zellkern ausgefüllt wird (Abb. 3 und 4). Der letztere zeigt im Gegensatz zu demjenigen der Gliazellen nie Einbuchtungen oder Lappungen. In Glutaraldehyd-Osmiumfixierten Präparaten ist das Kerninnere von einem mit dichten Körnern besetzten, feinen Netzwerk aufgebaut, in das größere, elektronendichte Komplexe eingelagert sind, die teils Heterochromatin teils Nukleolen entsprechen. Nach Permanganat-Fixation ist die „Kerngrundsubstanz“ gleichmäßig, fein gekörnt. Das Heterochromatin und der Nukleolus sind aus dichter gelagerten Körnern aufgebaut. Der Kern wird von einer typisch gebauten Kernmembran mit einer 100 bis 400 \AA tiefen, perinukleären Cysterne, die mit den Hohlräumen des endoplasmischen Reticulums in Verbindung steht, umgeben (Abb. 5d). Es finden sich zahlreiche Kernporen, die mit einem Außendurchmesser von ca. $0,1 \mu$ den allgemein anerkannten Werten (DE ROBERTIS, NOWINSKI und SAEZ 1960) entsprechen und von einem typischen Diaphragma verschlossen sind (Abb. 5b). Der enge Cytoplasmahof zeigt ein sehr spärliches und stark gewundenes endoplasmisches Reticulum, das nach Osmiumfixation fast vollständig von den zahlreichen, teils freien, teils angelagerten Ribosomen verdeckt wird (Abb. 4) und nur nach Permanganatfixation klar zur Darstellung gelangt (Abb. 5d). Es kommt nie zur Ausbildung von ergastoplasmatischen Komplexen, was offenbar das Fehlen einer lichtmikroskopisch sichtbaren Nissl-Substanz und das Vorliegen einer diffusen Basophilie im Cytoplasma erklärt. Weiter kann man zahlreiche Mitochondrien und typische Golgiapparate erkennen, die aus einer dichten Zusammenlagerung von meistens drei abgeplatteten Säcken und anschließenden kleinen Bläschen bestehen (Abb. 5b).

Bemerkenswert ist ferner, daß in den Nervenzellen adulter Tiere oft Zentriolen gefunden werden können (Abb. 6a). In etwa der Hälfte der in einem Dünnschnitt getroffenen Neurone kann man verschiedene elektronendichte Körper erkennen, die einen Durchmesser von $0,3-1,5 \mu$ besitzen und von einer $95-110 \text{ \AA}$ dicken „unit membrane“ vollständig umgeben sind (Abb. 3, 5b, 6a, c, 7a—c). Ihrem Aufbau nach können 2 Klassen auseinandergehalten werden, die sich aber sonst weder nach der Größe noch nach der Lokalisation unterscheiden. Der Typus 1 (Abb. 6c, 7a, b) enthält in eine mäßig elektronendichte, körnige Matrix eingebettete $75-95 \text{ \AA}$ dicke „unit membranes“, die mehr oder weniger regelmäßig parallel oder konzentrisch gelagert sind. Der räumliche Anteil der Membrankomplexe in Bezug auf die Matrix wechselt von Granum zu Granum. Der Typus 2 (Abb. 7c) enthält dicht gepackte, in verschiedenen Wirbeln und Knäueln angeordnete, 75 bis 95 \AA dicke „unit membranes“ zwischen denen unregelmäßig begrenzte, runde, weniger elektronendichte Räume liegen. Beide Typen können nebeneinander vorkommen. Es entfallen bei der Kontrolle einer großen Anzahl geschnittener Neurone etwa 4 Grana Typus 1 auf 3 Grana Typus 2. Man kann sehr selten auch Übergangsformen der beiden Typen in einem Granum vereinigt finden (Abb. 15), so daß man eine nahe Beziehung derselben annehmen kann.

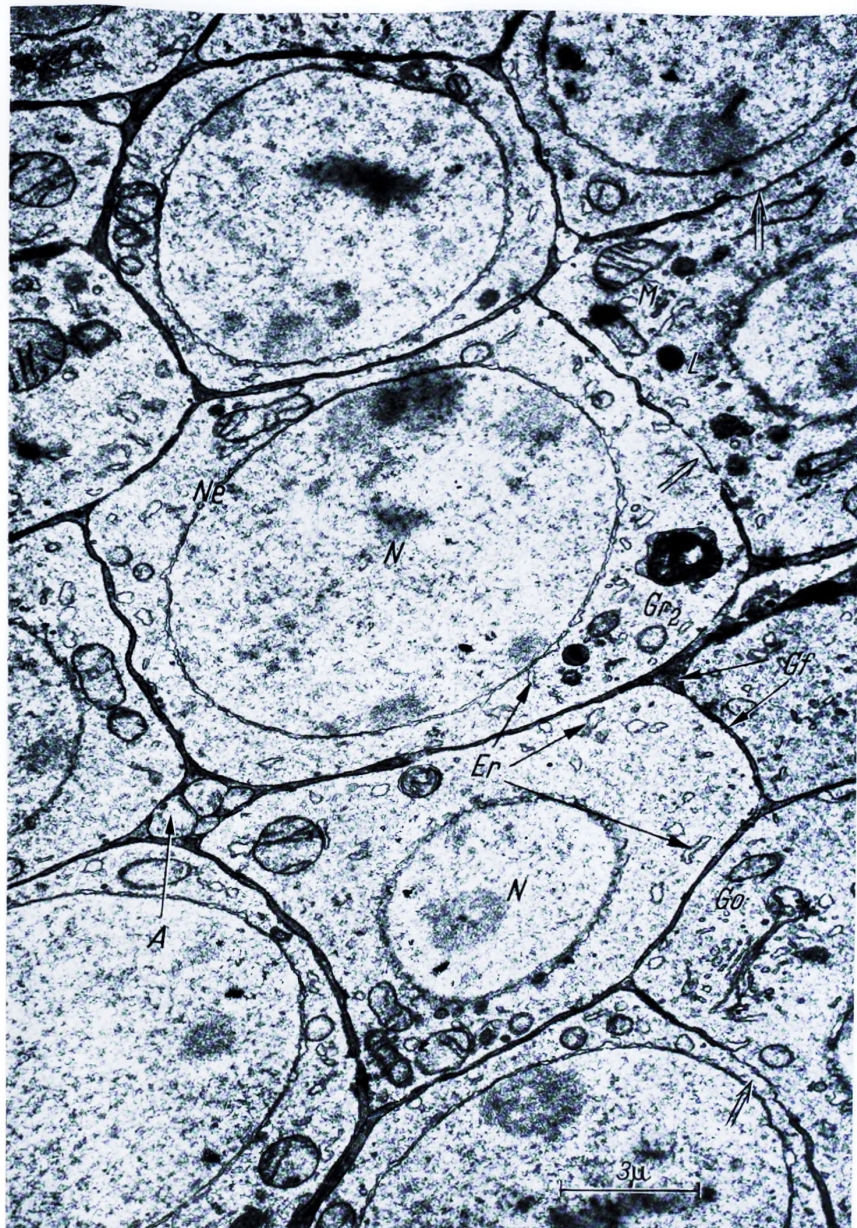


Abb. 3. Bienenwabenartige, dichte Anordnung der kleinen Neuronperikarya (Ne). Sie enthalten einen relativ großen Kern (N), Mitochondrien (M), Golgiapparate (Go), spärliche Schläuche des endoplasmatischen Retikulum (Er) und elektrondichte Grana (hier Typ 2: Gr₂). Der Raum zwischen den Neuronen ist vollständig mit sehr dünnen Gliafortsätzen (Gf) und Axonen (A) ausgefüllt. An einzelnen Stellen treten die Neurone ohne zwischengeschaltete Glialamelle in Kontakt (Doppelpfeil). Fixation mit KMnO₄, Doppelkontrastierung

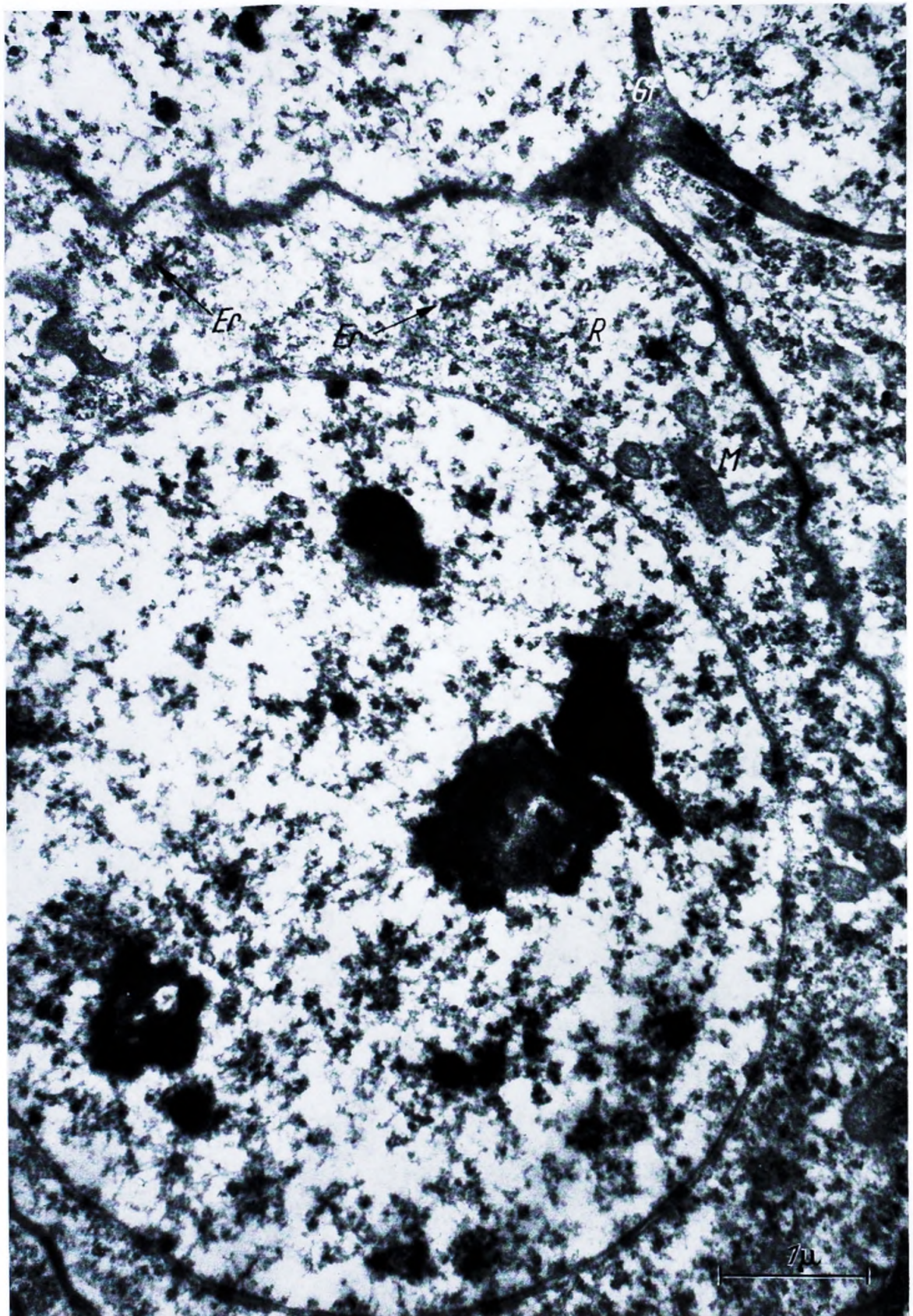


Abb. 4. Neuronperikaryon, von elektronendichteren Gliafortsätzen (*Gf*) umgeben. Im Cytoplasmahof Mitochondrien (*M*), viele freie Ribosomen (*R*) und ein spärliches endoplasmisches Reticulum (*Er*). Fixation mit Glutaraldehyd-OsO₄, Doppelkontrastierung

c) Gliazellen. Gliazellen sind wesentlich weniger zahlreich als die Neurone (das Verhältnis beträgt schätzungsweise 1:10 bis 1:50). Sie sind in der ganzen

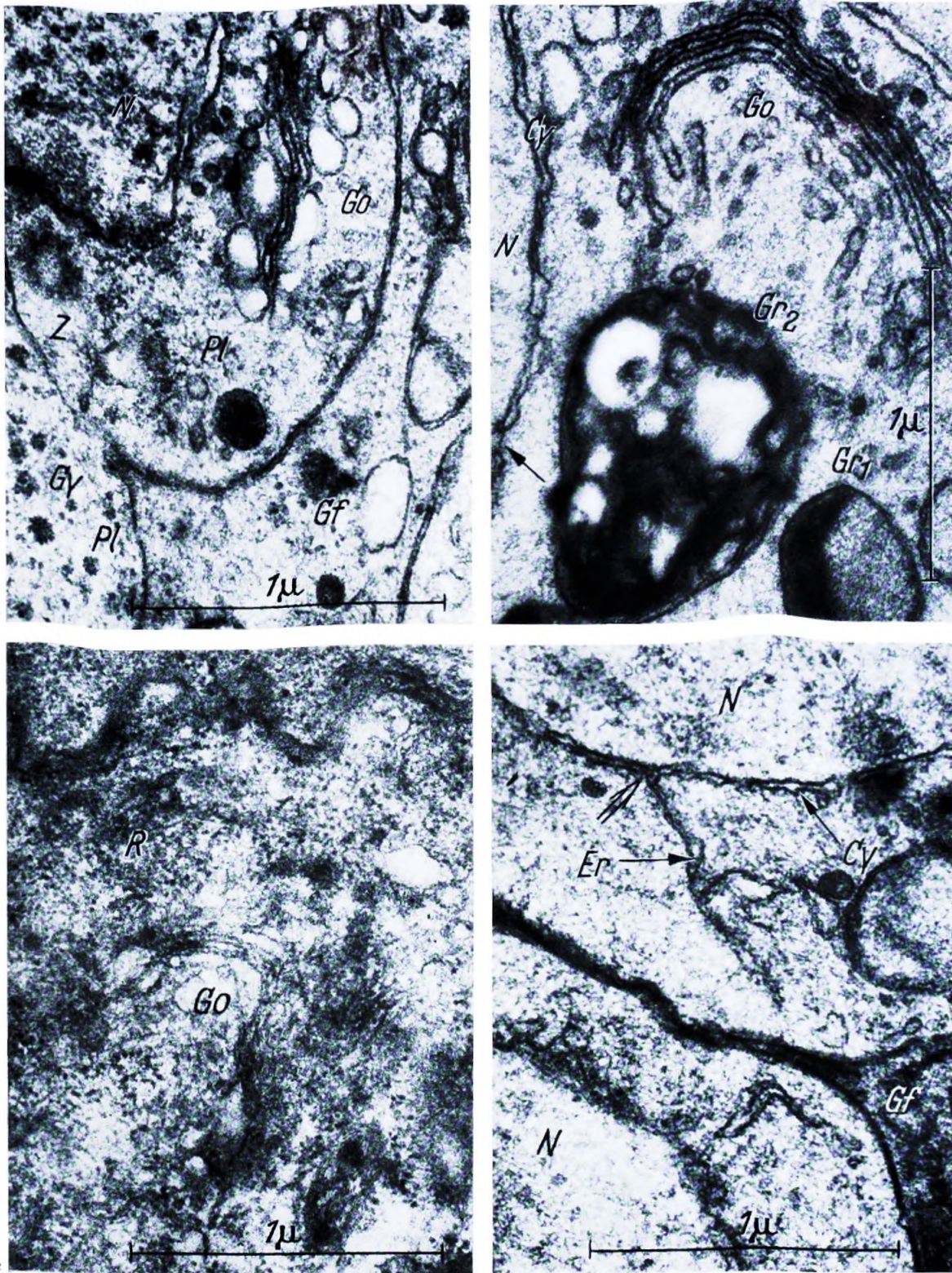


Abb. 5. a Perilemmazellen, deren eine einen Golgiapparat (*Go*) und ein Zentriol (*Z*), deren andere einige Glycogenkörner (*Gy*) enthält. Beide grenzen an einen verzweigten Gliafortsatz (*Gf*). Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrast. b Neuron mit Golgiapparat (*Go*) und elektronendichten Grama, Typ 1 (*Gr*₁) und Typ 2 (*Gr*₂). Der Pfeil verweist auf eine mit einem Diaphragma verschlossene Kernpore, *Cy* perinucleäre Cysterne. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung. c Golgiapparat (*Go*) einer Gliazelle, deren Cytoplasmahof mit freien Ribosomen angefüllt ist. Fixation mit Glutaraldehyd- OsO_4 , Doppelkontrastierung. d Abzweigung (Doppelpfeil) eines Schlauches des endoplasmischen Retikulum (*Er*) aus der perinucleären Cysterne (*Cy*). *N* Zellkern, *Gf* Gliafortsatz. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung

zellulären Rinde verteilt, bevorzugt jedoch an der Grenze zwischen Perikaryonschicht und Neuropil lokalisiert. Die Zellkörper erscheinen meistens etwa gleich

groß wie diejenigen der Neurone. Dagegen zeigen die Kerne die verschiedensten Formen: sie können mehr oder weniger rund oder langgestreckt sein und weisen häufig eine starke Lappung und zahlreiche Einstülpungen auf. In ihrem Formenreichtum gleichen sie durchaus den Gliazellkernen des Corpus cardiacum von *Leucophaea maderae* (B. SCHARRER 1963) oder denjenigen des Nervus opticus von *Octopus* (ROBERTSON 1964). Sie sind sowohl nach Permanganat- als auch nach Glutaraldehyd-Osmium-Fixation dichter als die Neuronenkerne gebaut. Der Cytoplasmahof zeigt eine stark wechselnde Breite; er sendet viele sich aufzweigende Ausläufer zwischen die umliegenden Neuronperikarya und Axone hinein (Abb. 8). Nach Permanganatfixation und Doppelkontrastierung erscheint die Grundsubstanz des Gliazytoplasmas elektronendichter als diejenige der Neurone, was eine willkommene Hilfe bei der Identifikation bedeutet. Auch nach Glutaraldehyd-Osmium-Behandlung weisen die Gliazellen einen stärkeren Kontrast auf. Man kann bei starker Vergrößerung erkennen, daß das einerseits durch eine sehr dichte Anhäufung von Ribosomen andererseits durch die Verdichtung der Grundsubstanz bedingt ist (Abb. 6 d, 9). Nur einige wenige Ribosomen sind an die Membranen des endoplasmischen Reticulums angelagert; der weitaus größte Teil ist frei. Viele freie Ribosomen werden auch in den dünnen Ausläufern der Gliaperikarya angetroffen (Abb. 6d), wo sie in nach REVEL, NAPOLITANO und FAWCETT (1960) typische Reihen zusammengelagert sind.

Im Perikaryon der Gliazellen trifft man Mitochondrien, „multivesicular bodies“, verschiedene Vakuolen und Bläschen. Manchmal kann man auch Zentriolen (Abb. 6b) finden. Ein weiterer, auffälliger Unterschied zu den Neuronen und Perilemmazellen liegt in der Ausbildung des Golgi-Apparates. Dieser besteht nur aus einigen wenigen, stark gewundenen und eng zusammengelagerten Kanälchen des „smooth surfaced endoplasmic reticulum“. Es liegen nur sehr wenige Bläschen in seiner Umgebung (Abb. 6c). Er ist so unauffällig, daß wir zunächst glaubten, daß er in Gliazellen überhaupt nicht existiere, zumal er von B. SCHARRER (1963) in den Gliaelementen des Corpus cardiacum auch nicht festgestellt worden war. Wenn man sein Aussehen mit demjenigen der Golgi-Apparate von Neuronen vergleicht, ist man geneigt anzunehmen, daß er relativ inaktiv ist.

Nur selten findet man Gliosomen (Abb. 7d). Sie haben einen Durchmesser von $0,5-1,2\mu$ und sind von einer 90 \AA dicken „unit membrane“ umgeben. Ihr Inneres besteht aus einer elektronendichten körnigen Matrix. In diese Grundsubstanz sind kubische Komplexe eingebaut, die aus einer regelmäßigen Anordnung von streng parallel gelagerten dunklen Linien mit einer Periode von 170 \AA bestehen.

Bei der Fixation mit saccharosehaltigen Osmiumtetroxydlösungen und nach einer traumatisierenden Präparation der Gehirne zerfallen die Fortsätze der Gliazellen oft und bilden ein System von optisch leeren Lakunen. Aus diesem Grunde sind wir bei der Osmiumfixierung dazu übergegangen, das Gewebe zunächst mit Glutaraldehyd vorzufixieren.

Wenn man die Umgebung einer Gliazelle bei einer 24000fachen Vergrößerung auf viele Einzelbilder aufnimmt und diese dann mosaikartig zusammenfügt, kann man relativ leicht die Umrisse der Gliazelle herauszeichnen (Abb. 10). Man erkennt auf Abb. 10, daß im dargestellten Teil der Umgebung dieses Gliaperikaryons vier Neurone (Ne_1-Ne_4) von seinen Fortsätzen umschlossen werden. Es handelt

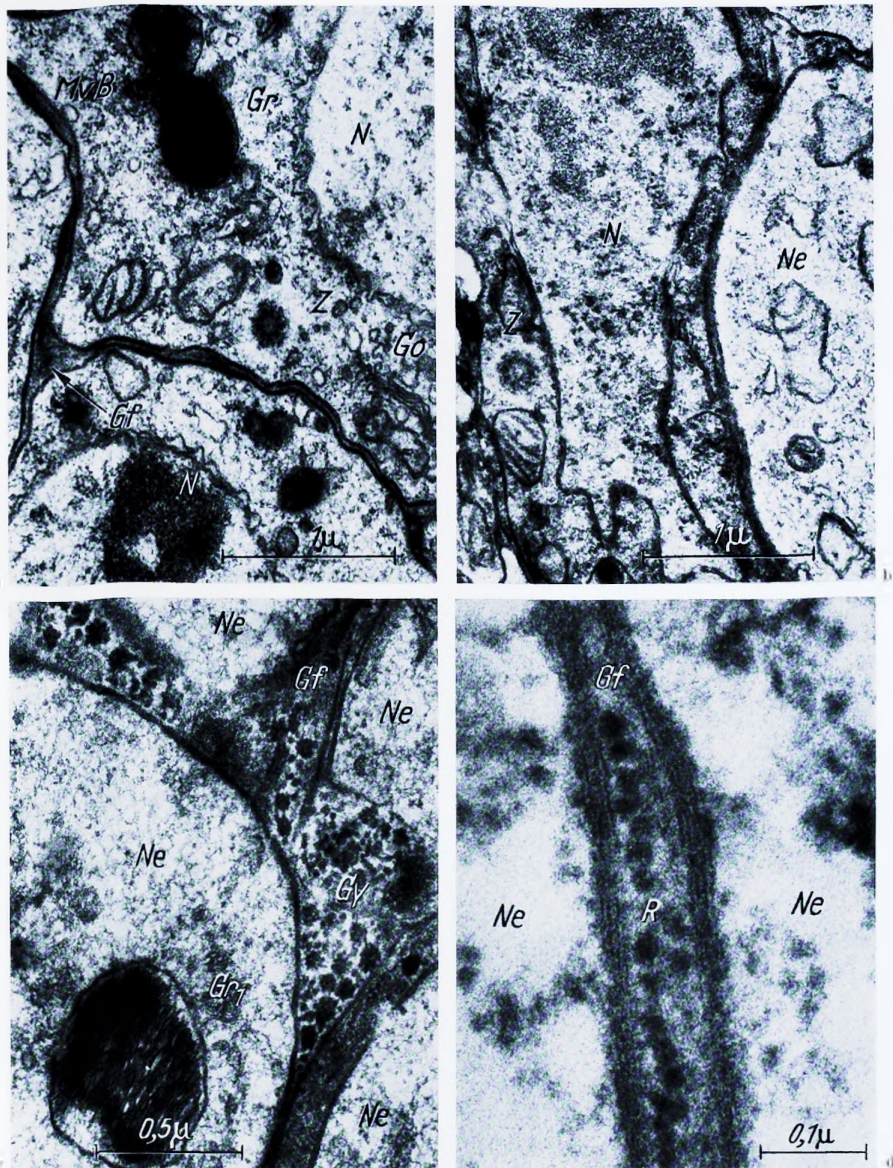


Abb. 6. a Neuron mit Zentriol (Z) und Golgiapparat (Go). Gr elektronendichtes Granum, *MVB* „multivesicular body“, N Zellkern, Gf Gliafortsatz. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung. b Gliazelle mit gelaupem Kern (N) und Zentriol (Z). Ne Cytoplasmahof eines Neurons. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung. c Zwischen verschiedene Neurone (Ne) eingebettete Gliafortsätze (Gf), die Glykogen (Gy) enthalten. Gr, elektronendichtes Granum eines Neurons. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung. d Gliafortsatz (Gf) zwischen zwei Neuronen (Ne), der eine Kette von freien Ribosomen (R) enthält. Man beachte die im Vergleich zu den Neuronen dunklere Grundsubstanz im Gliafortsatz. Fixation mit Glutaraldehyd- OsO_4 , Doppelkontrastierung

sich bei diesen Fortsätzen nicht um rundliche Stränge, sondern um Lamellen, die das Neuron becherartig umfassen und auch das Axon noch auf eine gewisse

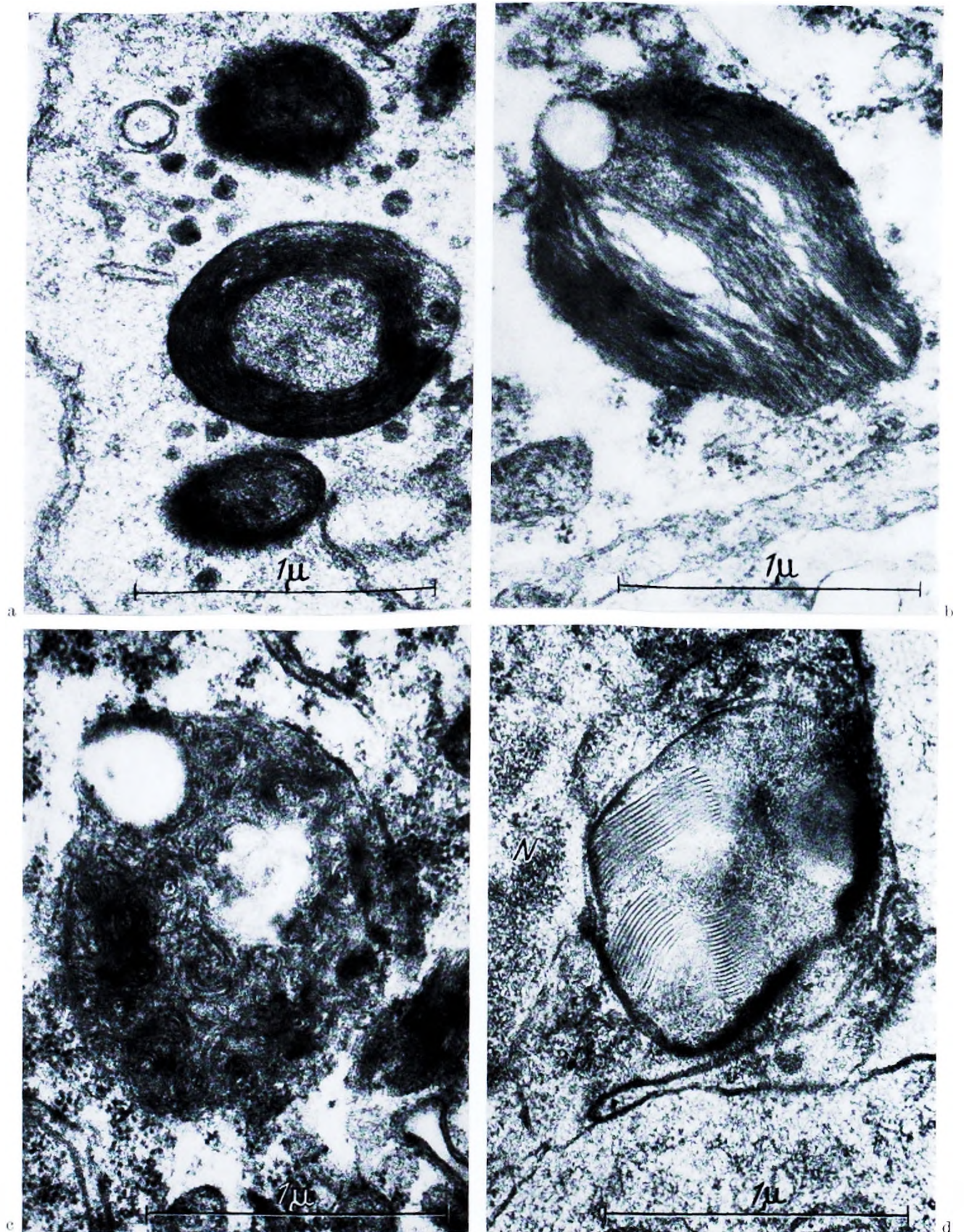


Abb. 7. a Neuron mit elektronendichten Granum Typ 1, zirkuläre Anordnung der Lamellen. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung. b Elektronendichtes Granum Typ 1 in Neuron, parallel gestreckte Anordnung der Membranen. Als Zeichen des Überganges zum Typ 2 liegt bereits eine stark elektronendurchlässige Vakuole vor. Fixation mit Glutaraldehyd- OsO_4 , Doppelkontrastierung. c Neuron mit elektronendichtem Granum Typ 2, Anordnung der Membranen in Wirbeln, stark elektronendurchlässige Vakuolen. Fixation mit Glutaraldehyd- OsO_4 , Doppelkontrastierung. d Glisom, N angeschnittener Kern der Gliazelle. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung

Strecke einhüllen (Abb. 11). Es bleiben eine oder mehrere kleine Öffnungen in diesem Becher (in Abb. 10 bei Neuron 4 getroffen). An diesen Stellen können die

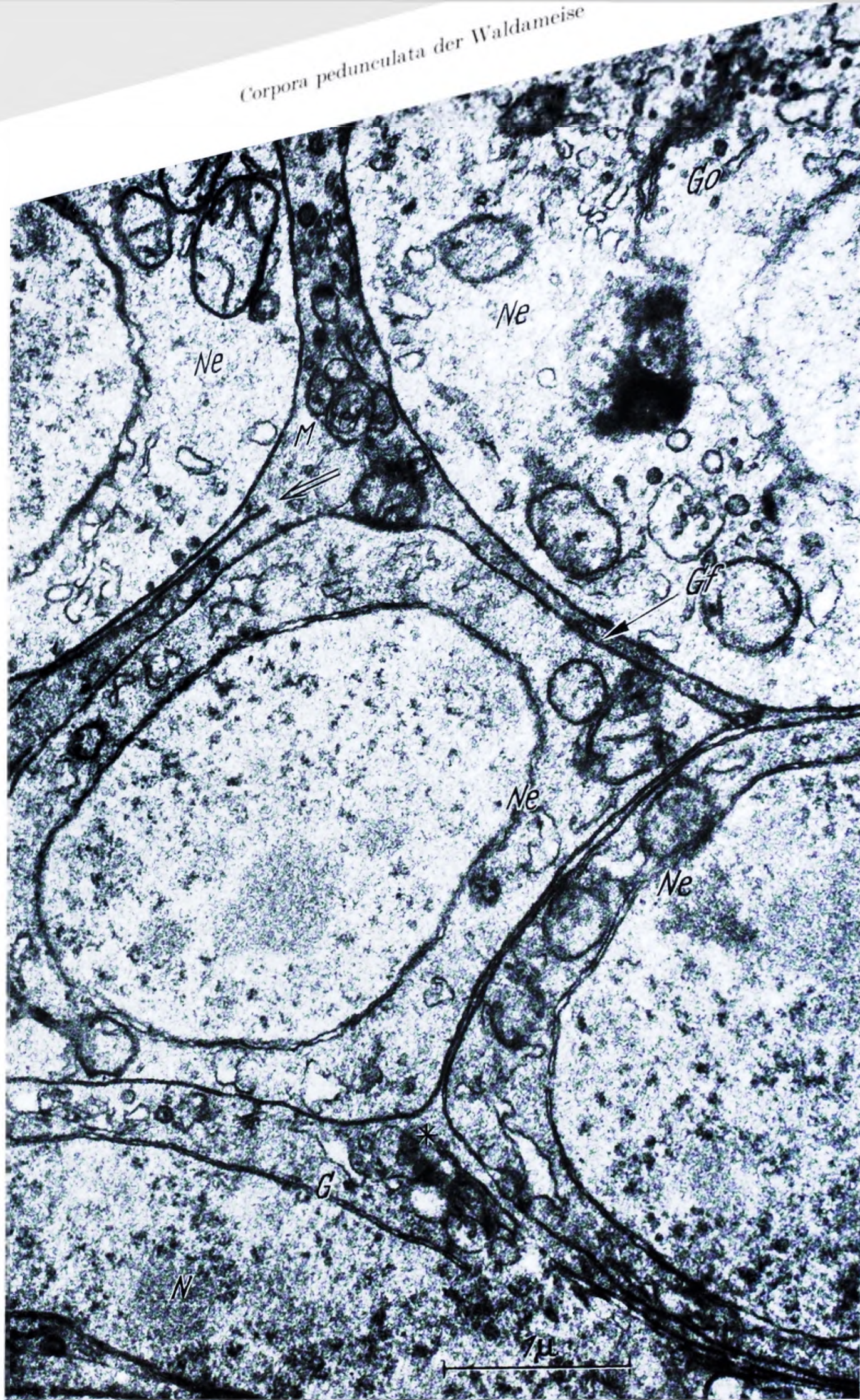


Abb. 8. Ein Gliaperikaryon (G) gibt an der mit einem Sternchen markierten Stelle einen Fortsatz (Gf) ab, der sich zwischen den Neuronen (Ne) verzweigt, dabei seinen Durchmesser stark verändert und stellenweise auch Mitochondrien (M) enthält. Man beachte die Aufzweigung (Doppelpfeil) des einen Gliastes, wobei sich beide Zweige nachher dicht aneinanderlegen. N Kern der Gliazelle. Fixation mit KMnO_4 . Doppelkontrastierung

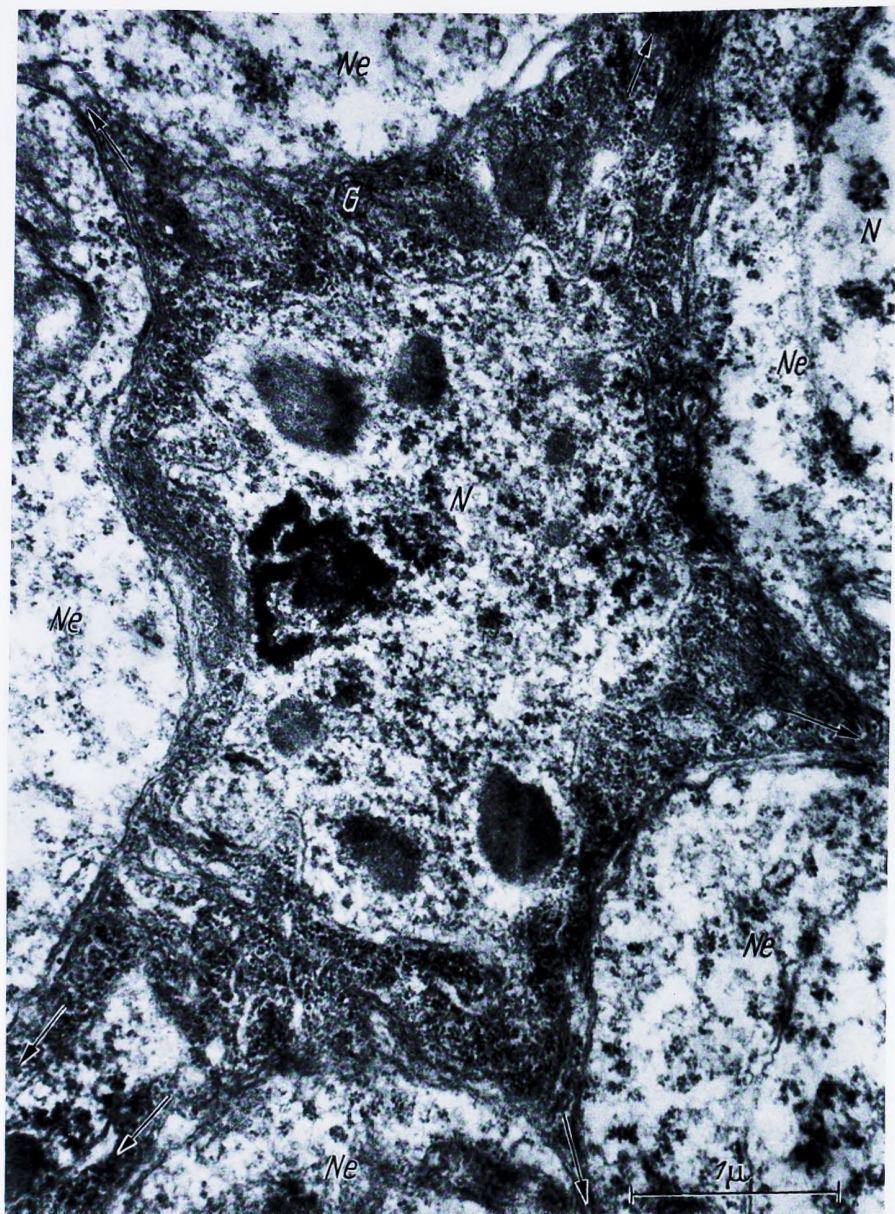


Abb. 9. Einlagerung einer Gliazelle (*G*) zwischen fünf Neurone (*Ne*). Ihr Kern (*N*) ist dichter strukturiert als diejenigen (*Ne*) der Neurone. Dichte Anordnung der freien und an das endoplasmische Reticulum angelagerten Ribosomen (*R*) der Gliazelle (beachte Unterschied zum Neuron!). Die Pfeile bezeichnen abgehende Gliafortsätze. Fixation mit Glutaraldehyd-OsO₄, Doppelkontrastierung

Perikarya der Neurone miteinander in direkten Kontakt treten. Der Durchmesser der Gliafortsätze variiert in weiten Grenzen, er paßt sich immer den lokalen Gegebenheiten an und kann sich — ohne Zellmembran gemessen — von etwa 1 μ bis 80 Å verändern. Es kommt so nie zu einer Lückenbildung zwischen Neuronen und

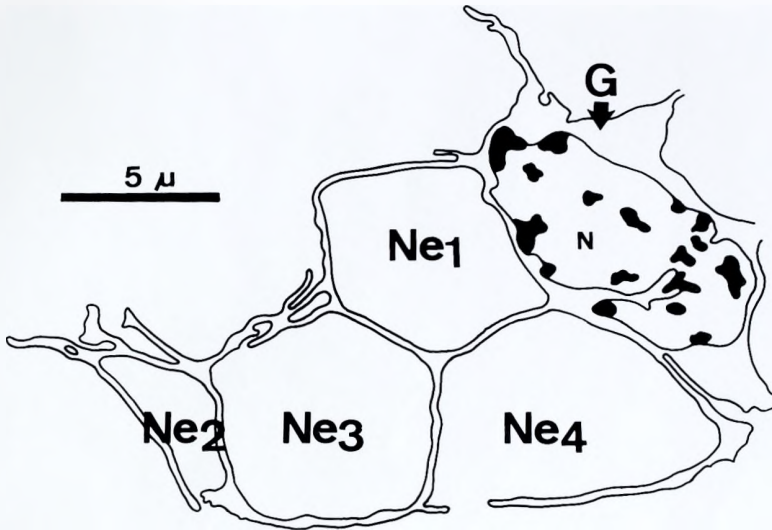


Abb. 10. Gliazelle (G), aus einem großen, aus Teilbildern zusammengesetzten Areal herausgezeichnet. Sie umfaßt mit ihren Fortsätzen vier Neurone (Ne₁—Ne₄). N Kern der Gliazelle

Gliazellen. In den hier dargestellten Rekonstruktionen von Gliazellen werden die Fortsätze im Verhältnis zu den anderen Dimensionen etwas übertrieben dick gezeichnet, da die vorliegenden Übersichts-Vergrößerungen eine Auflösung der Zellmembranen nicht erlaubt hätten. An verschiedenen Stellen sind zwischen zwei Neuronenperikarya (Abb. 8, 15) zwei oder mehr Gliafortsätze eingelagert, die dicht aufeinanderliegen. Manchmal kann man erkennen, daß sie derselben Zelle angehören, manchmal ist der Zusammenhang aber unklar.

d) *Tracheolen*. Das Gehirn der Ameise wird von einem sich stark aufzweigenden System von Tracheolen durchsetzt. Ross und TasseLL (1931) nennen in ihren Untersuchungen an *Locusta* die größeren Luftgefäße Tracheen (Durchmesser 10—20 µ), die kleineren Tracheolen (Durchmesser 1—3 µ). Als weiteres Unterscheidungsmerkmal geben sie an, daß Tracheen an ihrer inneren Oberfläche eine spiralförmige Leistenstruktur enthalten, während die Wand der Tracheolen glatt sei. Bei den Ameisen können wir auch in den feinsten Aestchen immer eine durch erhabene Ringe verstärkte Wand erkennen, sodaß (Abb. 16) der Größe nach alle unsere intracerebralen Luftgefäße zur Klasse der Tracheolen (Durchmesser unter 3,5 µ) gehören. Nur extracerebrale Röhren erreichen eine lichte Weite von 15 µ und können deshalb als Tracheen angesprochen werden.

Das Lumen der Tracheole wird von einer Endotrachealzelle vollständig umschlossen. Der Cytoplasmasaum ist dünn und weitet sich nur an den Stellen aus, wo einer der seltenen Zellkerne eingelagert ist (Abb. 12). Das Cytoplasma enthält verschiedene Bläschen und Mitochondrien. Die Ähnlichkeit mit Kapillarendothelien ist offenkundig. Die beiden das Tracheolenlumen umschließenden Cytoplasmfortsätze dieser Zelle überlappen sich stellenweise, sodaß es zur Bildung eines „Meso“ kommt (Abb. 13). An der lumenwärts gelegenen Fläche der Zelle ist ein elektronendichter 200—400 Å dicker Saum einer homogenen Substanz abgelagert. Die Ringleisten werden vom Cytoplasma und von diesem Saum zusammen gebildet. Um die Endotracheolenzelle herum sind die Fortsätze von

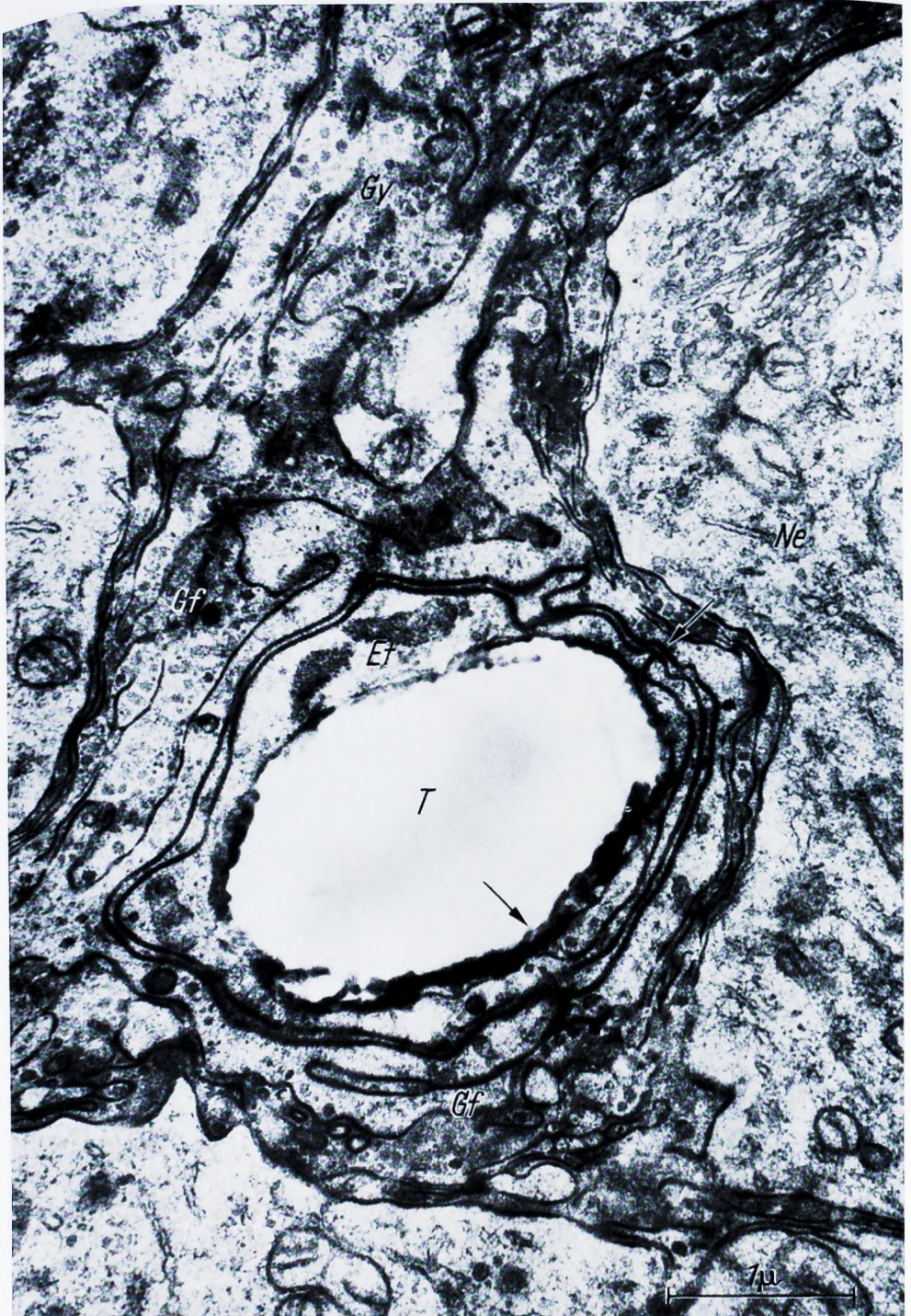


Abb. 13. Endorgan an einer Tracheole (*T*), das sich aus vielen kompliziert verschlungenen, z. T. mit Glykogen (*Gy*) beladenen Gliafortsätzen (*Gf*) zusammensetzt. Die beiden, das Tracheolenlumen umschließenden Fortsätze der Endotracheolezelle (*Et*) überlappen sich so weit, daß es zur Bildung eines Meso (zwischen den beiden Pfeilen ausgespannt) kommt. Fixation KMnO_4 , Doppelkontrastierung

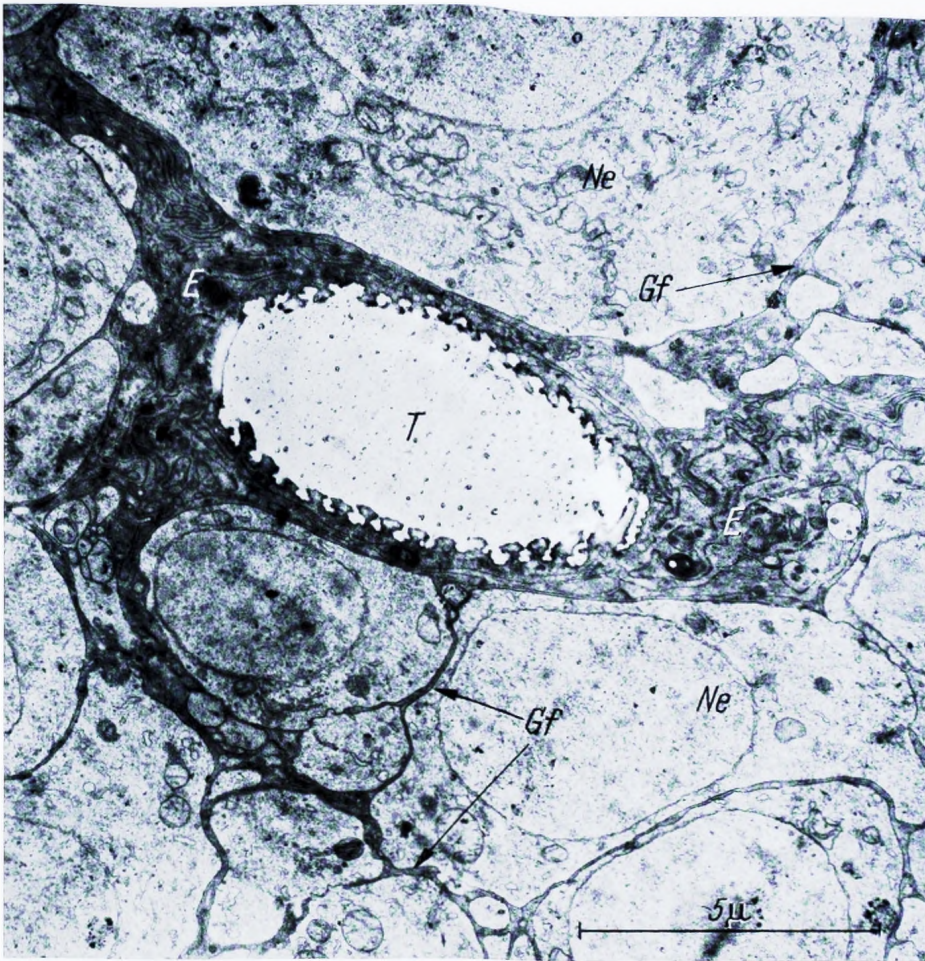


Abb. 14. Größere Tracheole (T) mit sehr ausgedehntem Endorgan (E), an dessen Aufbau sich die zwischen den Neuronen (Ne) liegenden Gliafortsätze (Gf) beteiligen. Fixation KMnO_4 , Doppelkontrastierung

Gliafortsätzen eingelagert (Abb. 2). Diese lassen sich zwischen den Neuronen hindurch in die Tiefe verfolgen, sodaß bei der Untersuchung großer Areale, die mit der erwähnten Mosaikmethode bei sehr starker Vergrößerung untersucht wurden, ein weit verzweigtes Netz von Gliafortsätzen herausgezeichnet werden kann, die alle zu demselben Perikaryon gehören und das durch die ganze Hirnrinde zieht (Abb. 18). Seine äußersten Fortsätze sind an die Schicht der Perilemmazellen angelagert, die innersten dringen bis ins Neuropil am rechten Bildrand. Man kann in mit Permanganat fixierten Präparaten Glycogenkörner sowohl in den der Oberfläche angelagerten (Abb. 2) als auch in allen anderen, in der ganzen Hirnrinde verteilten Gliafortsätzen (Abb. 6c) vorfinden.

Untersucht man die Umgebung einer Tracheole in analoger Weise, so findet sich ein gleichartiges Glianetz, das einerseits Beziehungen mit den Endorganen der Luftgefäße, andererseits mit den Neuronen des ganzen Cortex aufnimmt (Abb. 19). Die beiden Gliazellen G_1 (grau getönt) und G_2 (schwarz gefärbt) senden ihre Fortsätze zum Endorgan (E) (schraffiert gezeichnet) der Tracheole (T). Beide



Abb. 15. Stärker vergrößertes Detail aus Abb. 14. *T* Tracheole, *E* Endorgan mit schlierenartiger Membrantextur, das die Gliafortsätze (*Gf*) erreichen. *Gr₁₋₂* elektronendichtes Granum eines Neurons, das sich aus Membranarrangements von Typ 1 und 2 zusammensetzt. *Ne* Neuron, Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastfärbung

stehen untereinander an einzelnen Punkten in Kontakt. Die Zelle G_2 steht außerdem an 2 Punkten mit einer dritten Gliazelle G_3 (grau gefärbt) in Berührung, die

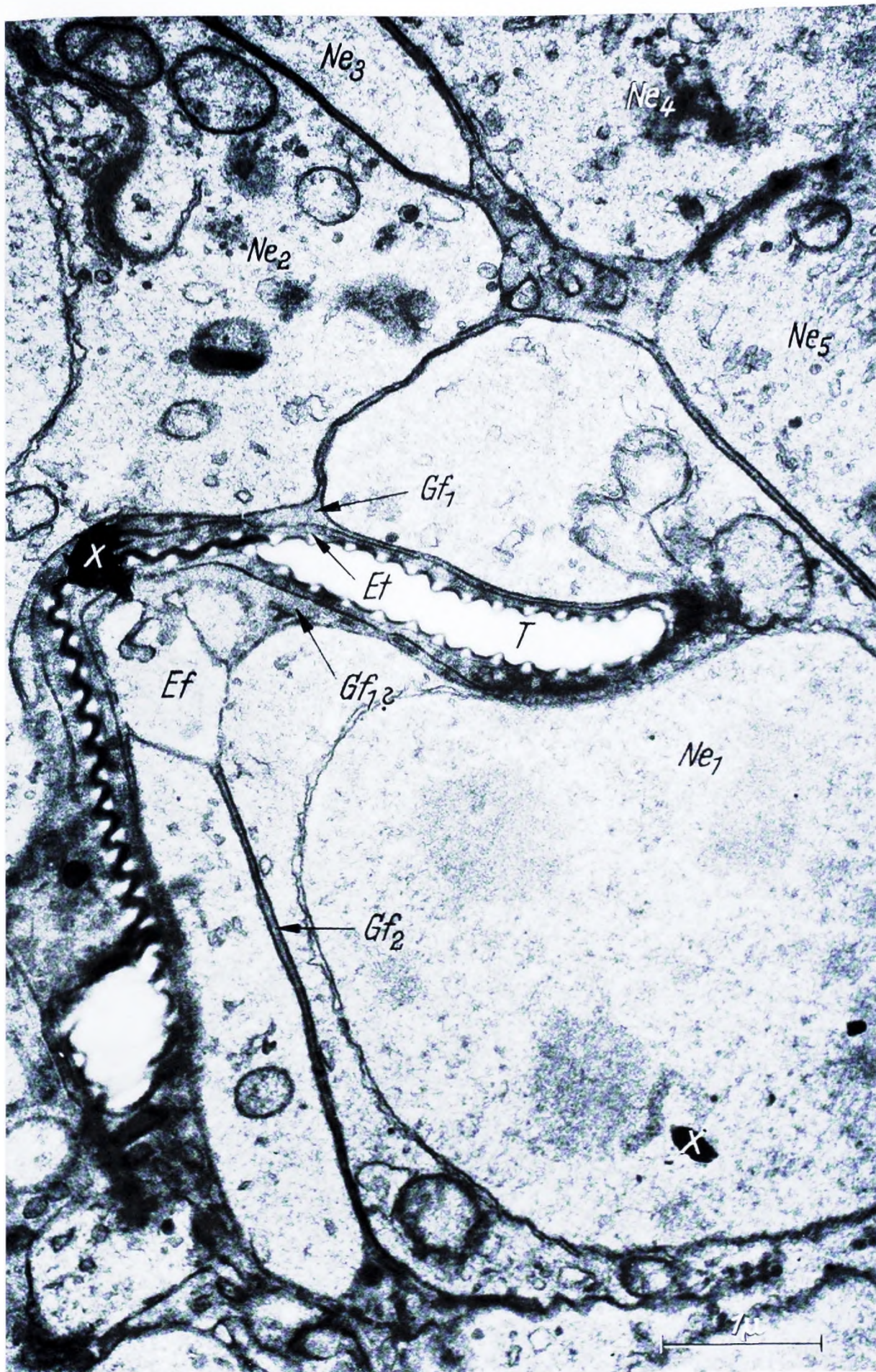


Abb. 16. Einlagerung einer stark abgewinkelten, kleinen Tracheole in ein tief eingebuchtetes Neuron (Ne_1). Die Endotracheolenzelle (Et), die das Lumen (T) allseitig begrenzt, steht an ihrer gesamten äußeren Oberfläche in Kontakt mit einem flach ausgebreiteten Gliafortsatz (Gf_1 , $Gf_1?$), der sie vollständig von den umliegenden Neuronen isoliert. Ein zweiter Gliafortsatz (Gf_2) bildet im Knie der Tracheole einen Endfuß (Ef), in den ein gabelförmiger Ausläufer des direkt an die Endotracheolenzelle grenzenden Gliafortsatzes ($Gf_1?$) eindringt. * Kontamination, Fixation mit $KMnO_4$, Doppelkontrastierung

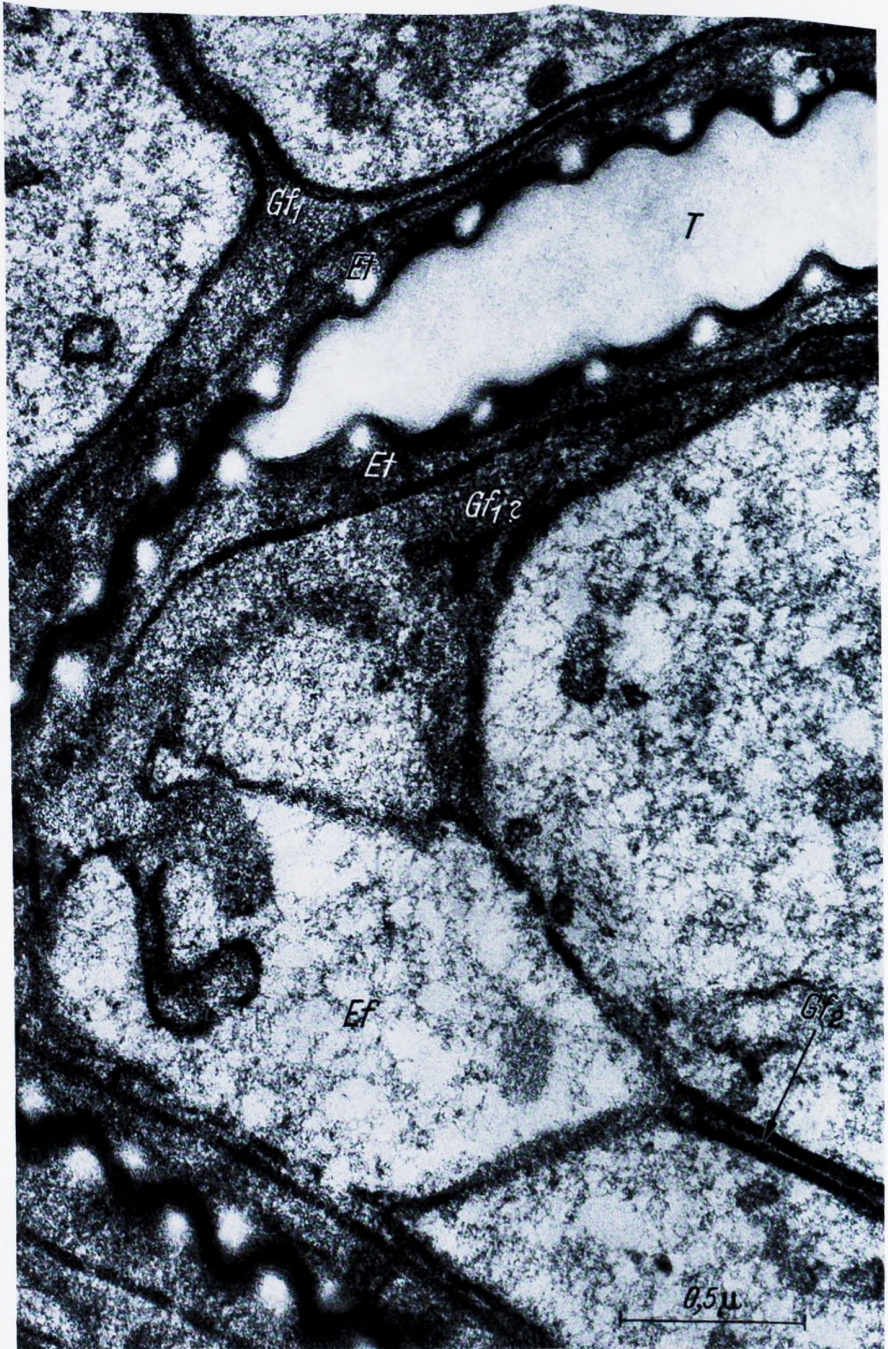


Abb. 17. Stärker vergrößertes Detail aus Abb. 16, gleiche Bezeichnungen

sich ihrerseits in einem weiter entfernten Rindenareal ausbreitet. Eine zweite Tracheole ist auch außerhalb des dargestellten Bezirkes nicht zu finden. Den

Kontakt verschiedener Gliafortsätze mit einer kleinen Tracheole konnten wir an einer Stelle besonders gut analysieren (Abb. 16, 17). Eine knieartig gebogene, längsgeschnittene Tracheole ist in einen tiefen Graben des Neurons Ne_1 eingelagert. Beiderseits des Lumens liegt zunächst eine Schicht des Cytoplasmas der Endotracheolezelle (Et). Anschließend folgt ein Fortsatz einer Gliazelle (Gf_1), der sich zwischen den Neuronen Ne_1 , Ne_2 , Ne_3 , Ne_4 und Ne_5 verzweigt. An der gegenüberliegenden Tracheolenwand ist auf der ganzen Länge auch ein Gliafortsatz ($Gf_1?$) angelagert, der möglicherweise mit Gf_1 zusammenhängt. Er läßt sich leider um keines der beiden Schnittenden der Tracheole absolut sicher verfolgen. Der Fortsatz einer zweiten Gliazelle (Gf_2) erweitert sich im Knie der Tracheole zu einem Endfuß (Ef), dessen Cytoplasma einen wesentlich geringeren Kontrast aufweist und in den ein gegabelter Fortsatz des direkt an der Tracheole gelegenen Gliaausläufers ($Gf_1?$) eindringt. Möglicherweise handelt es sich hier um den Prototyp des komplizierter gebauten Endorgans der größeren Tracheolen (Abb. 14).

4. Interzellularraum

Bei der Betrachtung der vorliegenden Bilder fällt auf, daß auch bei mittelstarker Vergrößerung kaum ein Interzellularspalt sichtbar wird, so daß man oft geneigt ist, den Cytoplasmaraum der Gliafortsätze als Interzellularraum anzusprechen. Wir haben deshalb die Membranverhältnisse mit den fünf erwähnten Fixationsmethoden, deren osmotische Drucke stark variieren, mit Hilfe von Hochauflösungsbildern untersucht. Von den quantitativ ausgewerteten Objektpartien fertigen wir meistens Focusserien an, da nach ROBERTSON (1958) die Distanzen der „unit membrane“ durch Über- und Unterfocussierung verfälscht werden können. Dabei wurde eine Objektivlinse benützt, deren astigmatische Stromdifferenz $\frac{\Delta J_A}{J}$ kleiner als 4×10^{-5} war.

Man kann auf den Bildern der mit Glutaraldehyd-Osmium fixierten Präparate (Abb. 20) erkennen, daß bei der Zusammenlagerung einer Glia- und einer Neuronenmembran ein siebenschichtiger Komplex entsteht, der drei relativ elektronendurchlässige und vier elektronendichte Lagen enthält. Beim zentral gelegenen, hellen Raum handelt es sich um den Interzellularraum, was man an Verzweigungsstellen leicht erkennen kann. Er ist im vorliegenden Material außerordentlich eng und wird auf der einen Seite von der „unit membrane“ des Neurons, auf der anderen von derjenigen der Gliazelle flankiert. Es fällt auf, daß er nach Glutaraldehyd-Osmium-Fixation etwas elektronendichter als die Schicht der nicht polaren Lipoidanteile der „unit membrane“ erscheint. Die beiden dunkler dargestellten Lamellen der „unit membrane“ lassen nach dieser Fixation die durch Osmiumbehandlung bedingte Asymmetrie (ROBERTSON 1961) vermissen. Diese kann aber auch in unserem Material mit den Fixationslösungen nach DALTON (1955) oder nach PALAY, MCGEE-RUSSELL, GORDON und GRILLO (1962) zur Darstellung gebracht werden, wobei sich auch der Interzellularspalt in Bezug auf die Elektronendurchlässigkeit nicht mehr von der helleren Schicht der „unit membrane“ unterscheidet. Nach Permanganatfixation (Abb. 21) sind die beiden elektronendichten Lamellen der „unit membrane“ oft aus symmetrisch angeordneten, feinen Körnchen aufgebaut, welche die dazwischen liegende hellere Schicht manchmal strickleiterartig unterteilen. Nach Fixation mit Osmium konnte ein solches Verhalten nicht gefunden werden. Bei der Ausmessung der Durchmesser

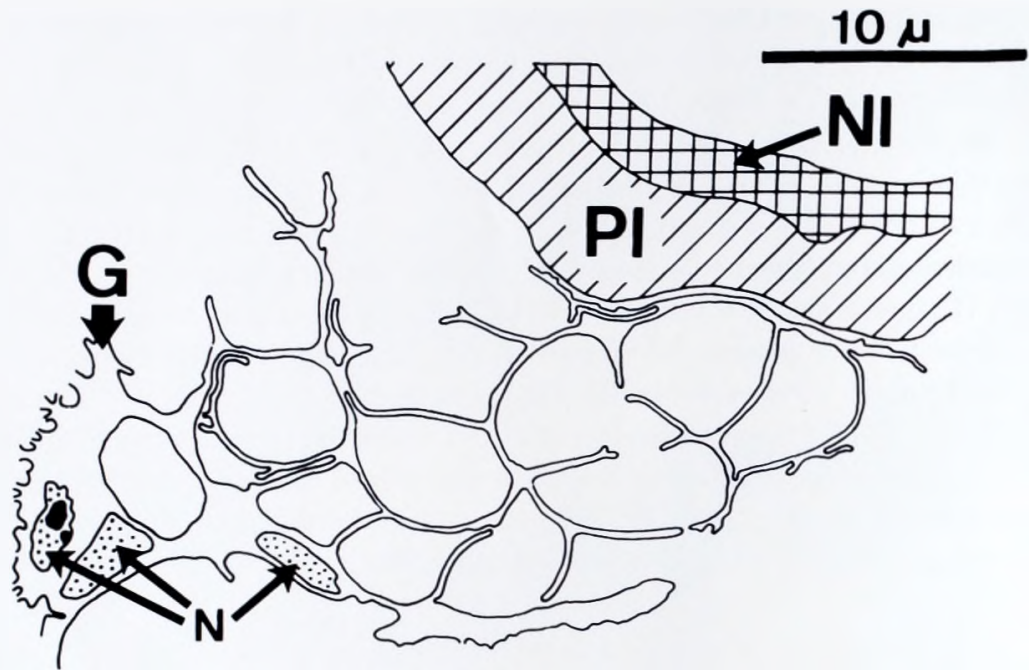


Abb. 18. Großes, von einer einzigen Gliazelle (*G*) mit ihren Fortsätzen durchsetztes Areal, das vom Perilemma (*Pl*) bis zum Neuropil (am linken Bildrand) reicht. Anlagerung eines Gliaausläufers direkt ans Perilemma. *N* Gliazellkern, *NI* Neurallamelle

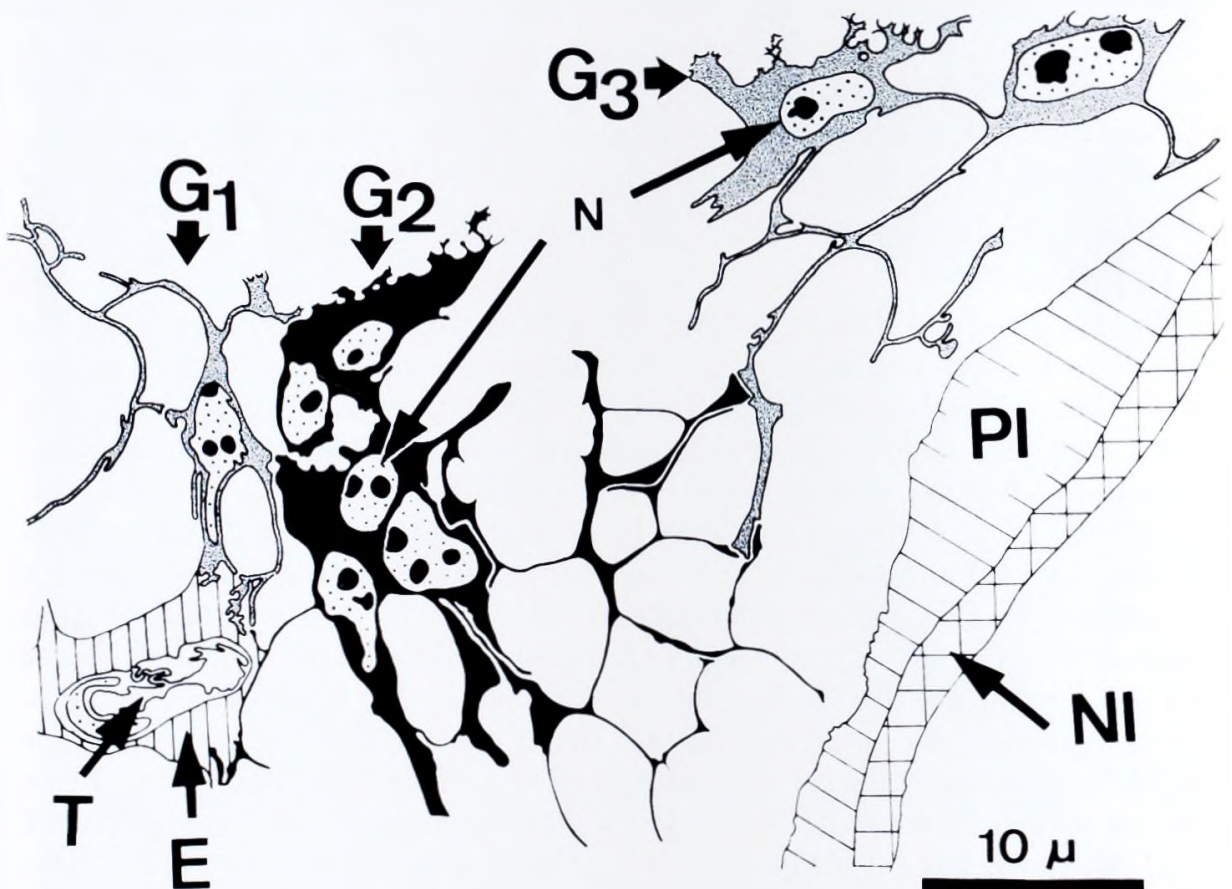


Abb. 19. Tracheole (*T*), von einem Endorgan (*E*) umgeben, an dessen Aufbau sich die Fortsätze der beiden Gliazellen *G*₁ (grau getönt) und *G*₂ (schwarz gezeichnet) beteiligen. *G*₁ und *G*₂ stehen untereinander, *G*₂ außerdem mit *G*₃ (grau getönt) in Kontakt. *N* Gliazellkerne, *Pl* Perilemma, *NI* Neurallamelle

der „unit membrane“ und des Interzellularspaltes mit Hilfe einer Meßlupe und der statistischen Auswertung der Resultate erhalten wir die folgenden Mittelwerte und Standardabweichungen (Tabelle 1). Anzahl der Messungen: $n = 30$.

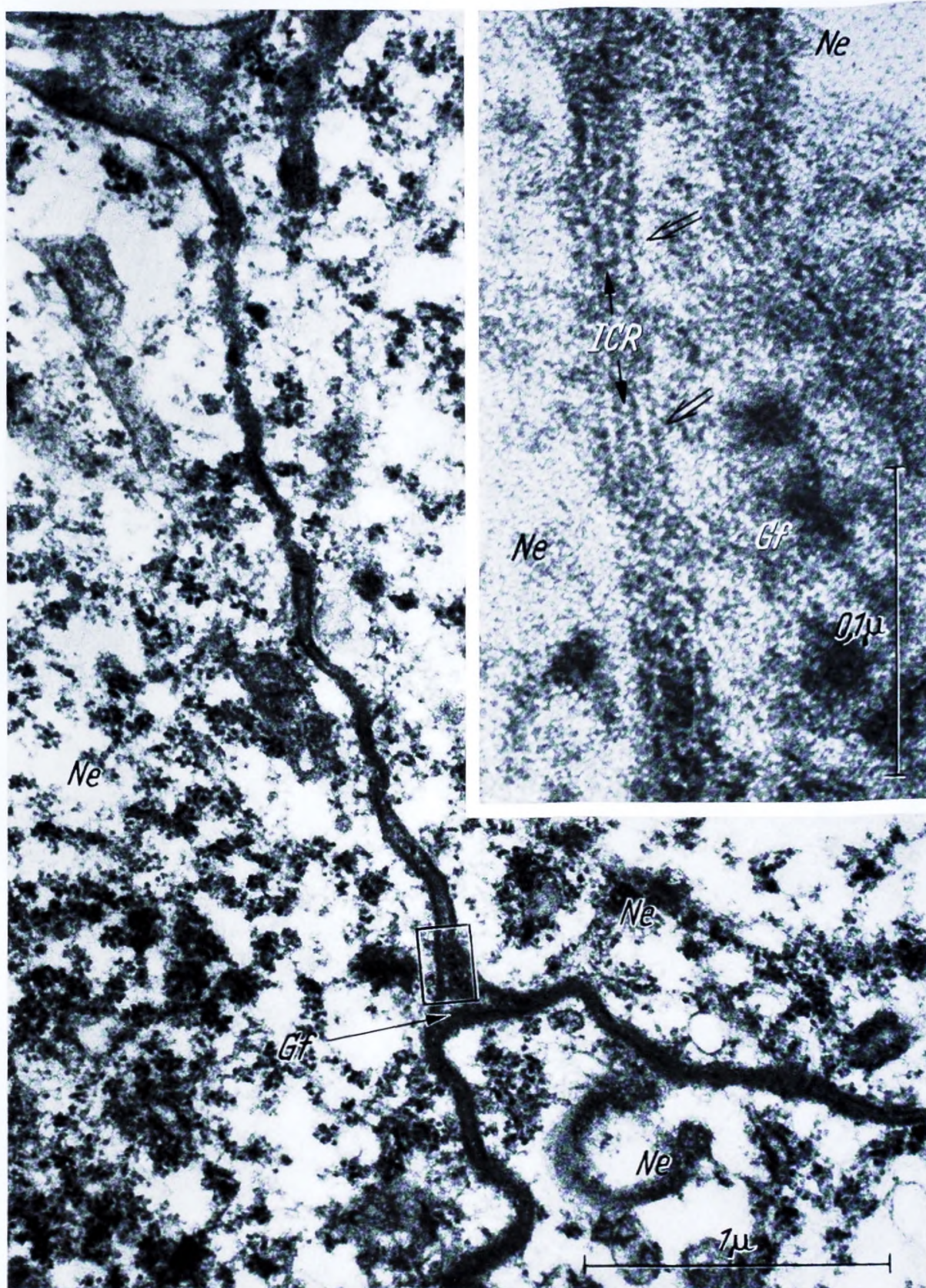


Abb. 20. Gliafortsatz (*Gf*) zwischen drei Neuronen (*Ne*). Eingerahmt ist der im Detailbild stärker vergrößerte Ausschnitt. Die Doppelpfeile weisen auf im Schnitt gut getroffene Stellen. Beachte die relativ dunkle Darstellung des Interzellularräum (*ICR*) und die Symmetrie der „unit membrane“. Fixation mit Glutaraldehyd (Gefrierpunktserniedrigung 1,32° und OsO₄, Doppelkontrastierung

Die Differenzen im Durchmesser der „unit membrane“ nach den verschiedenen Fixationsarten sind nach Anwendung scharfer statistischer Kriterien nicht signifikant (beim t-Test ist immer $P > 0,01$, meistens ist sogar $P > 0,4$). Die Unterschiede

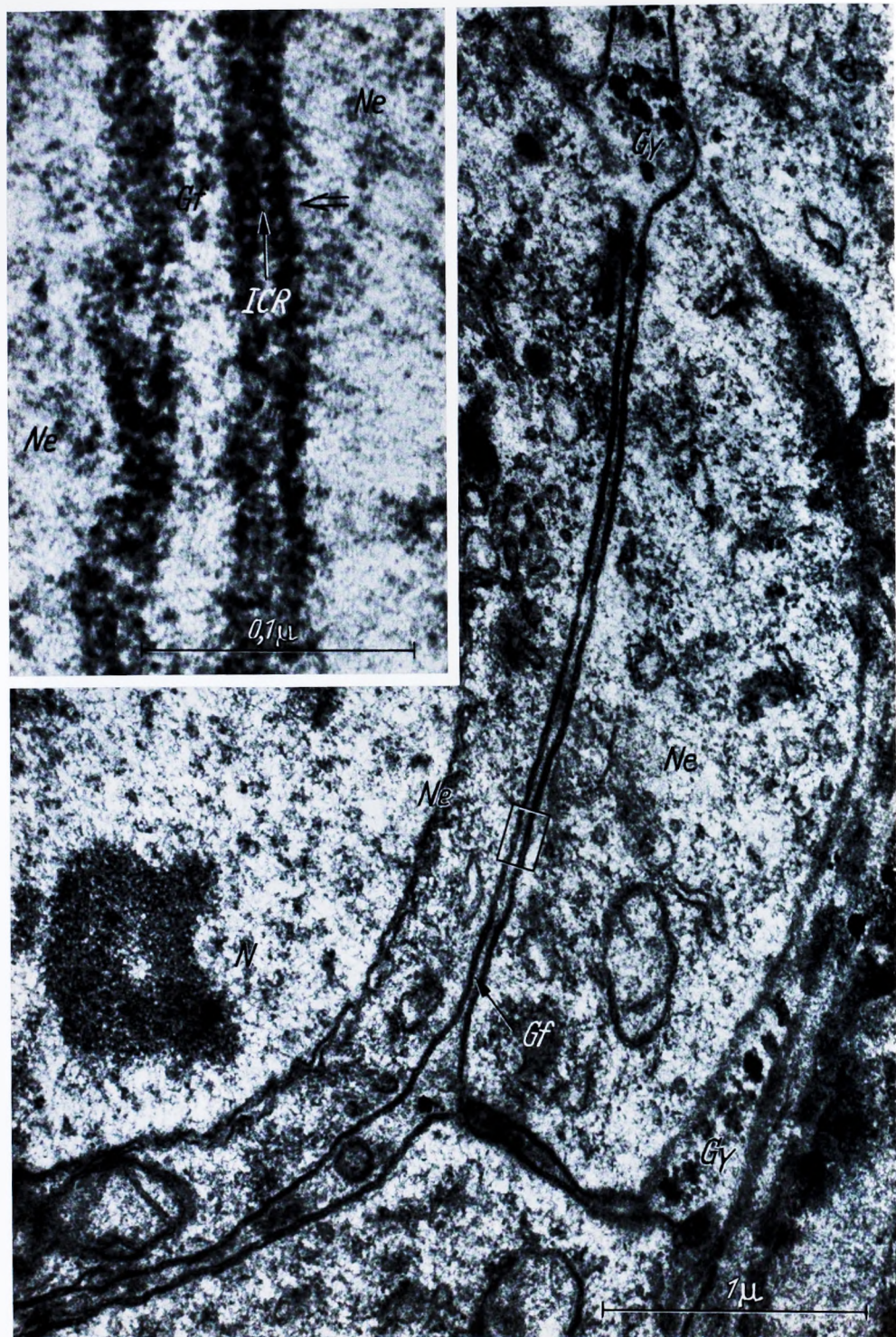


Abb. 21. Gliafortsatz (*Gf*) zwischen zwei Neuronen (*Ne*), *Gy* Glycogen der Gliafortsätze, *N* Zellkern eines Neurons. Eingerahmt ist der im Detailbild stärker vergrößerte Ausschnitt. Hier weist der Doppelpfeil auf eine Stelle, an der man die „unit membrane“ gut erkennen kann. *ICR* Interzellularraum. Fixation mit KMnO_4 , Doppelkontrastierung

Tabelle 1

	Osmium nach PALAY	Chromat- Osmium mit Saccharose	Kalium- Permanganat	Glutaraldehyd, Chromat- Osmium mit Saccharose	Glutaraldehyd, Chromat- Osmium mit Saccharose
Gefrierpunkts- erniedrigung	0,55° C	0,95° C	0,97° C	1,32° C	1,80° C
Durchmesser des Interzellularralles	33 Å	27 Å	32 Å	29 Å	90 Å
Standardabweichung	18 Å	9 Å	16 Å	10 Å	24 Å
Variationskoeffizient	55%	33%	50%	36%	27%
Durchmesser der „unit membrane“	87 Å	87 Å	86 Å	81 Å	86 Å
Standardabweichung	10 Å	11 Å	10 Å	8 Å	13 Å
Variationskoeffizient	11%	13%	12%	10%	15%

in der Darstellung des Interzellularralles sind nur im Falle der Anwendung von Glutaraldehyd-Osmium (Gefrierpunktserniedrigung 1,80°) gegenüber allen andern Werten statistisch hochgradig gesichert ($P < 0,001$); unter den restlichen Werten bestehen wiederum keine Unterschiede (es ist immer $P > 0,1$). Auffallend ist ferner die gute Übereinstimmung der Variationskoeffizienten für die Werte der „unit membrane“ und die Tatsache, daß derselbe Wert für die Interzellularralle immer ca. 2 bis 5 mal größer ist. Die in der Tabelle 1 angegebenen Werte mit einer auf 1 Å genauen Dickenangabe können wegen der durch die starke Streuung bedingten Unsicherheit auf 10 Å genau gerundet werden. Es resultieren dann die folgenden Zahlen:

„Unit membrane“ der Zelloberfläche	90 Å
Interzellularralle	30 Å
Interzellularralle nach stark hypertonischer Fixation	90 Å

Es folgt also, daß bei der Anwendung unserer Fixationsmethoden die Ausdehnung des Interzellularralles nur durch eine stark hypertonische, nicht aber durch eine hypotonische Lösung verändert werden kann.

Diskussion

1. Allgemeiner Aufbau der Hirnrinde

Die allgemeine Organisation im Aufbau des Oberschlundganglions der Waldameise entspricht dem cerebralen Bauplan bei Arthropoden, der auf lichtmikroskopischer Basis schon weitgehend erforscht ist (HANSTRÖM 1928). Das Gehirn wird durch eine zellfreie Membran (Neurallamelle) und durch die Schicht der Perilemmazellen vollständig von den umgebenden Geweben des Kopfes abgetrennt. Ein zwischen dem Innern des Gehirns und dem restlichen Körper verbindendes Lymphspalten- oder Blutgefäßsystem besteht nicht. Nur die Tracheolen, die dem Transport der Atemgase dienen, dringen durch diese beiden Schichten ins Gehirn ein. Die Perikarya der Neurone gruppieren sich zur Hauptsache nahe an der Oberfläche und sind hier zu einem dichten Verband zusammengelagert, den wir als *Perikaryonschicht* der Hirnrinde bezeichnen. Diese Schicht ist außerordentlich faserarm, was dadurch zustande kommt, daß jeder Zelleib nur einen Zellfortsatz entsendet und selbst keine direkten dendritischen oder axonischen Verbindun-

gen von anderen Zellen empfängt. Die entsprechenden Kontakte finden sich ausnahmslos in der nächsten Schicht, welche die Synapsen enthält (HESS 1958; TRUJILLO-CENÓZ 1959, 1962; TRUJILLO-CENÓZ und MELAMED 1962; SMITH und TREHERNE 1963). Ein weiteres Charakteristikum des Insektencortex ist auch bei der Ameise auffällig: Die zahlenmäßige Unterlegenheit der Gliazellen im Vergleich zu den Nervenzellen. Allerdings wird diese Unterlegenheit durch die enorme Oberflächenentwicklung der einzelnen Gliazellen mindestens teilweise wieder wettgemacht.

Diese allgemeinen architektonischen Prinzipien finden sich übrigens nicht nur bei den Arthropoden, sondern auch im Gehirn der Cephalopoden (GERSCHENFELD 1962, ROSENBLUTH 1962, GRAY und YOUNG 1964) und Plathelminthen (GRAY und GUILLERY 1963, GOGGESHALL und FAWCETT 1964) verwirklicht.

2. Bau der Neurone und Gliazellen

Die Neurone der Corpora pedunculata der Waldameise sind außerordentlich klein; sie haben einen Durchmesser von nur 5—15 μ . Dies scheint ein Charakteristikum für diese Region des Oberschlundganglions zu sein, hat doch schon KENYON (1896) in seinen Untersuchungen an der Biene darauf hingewiesen. An der Innenstruktur fallen zwei Merkmale auf: Erstens, daß der Großteil des kleinen Perikaryons durch den Kern eingenommen wird, sodaß nur noch ein spärlicher Cytoplasmasaum verbleibt, und zweitens, daß das endoplasmische Reticulum relativ wenig entwickelt ist. Es besteht zwar aus den üblichen, mit Ribosomen besetzten Schläuchen, die aber nie regelmäßig dicht zusammengelagert sind. Sie verlaufen stark gekrümmt und weit verteilt zwischen sehr vielen freien Ribosomen und bilden nie die beim Wirbeltier als Nissl-Substanz darstellbaren, basophilen Schollen (PALAY und PALADE 1955). Es resultiert so nur die an Insektenneuronen beschriebene, diffuse Basophilie (WIGGLESWORTH 1960, PIPPA 1961 b) des Cytoplasmas. Auch mit der Interferenzmikroskopie konnten bei Invertebraten keine Nissl-Komplexe gefunden werden (DAVID 1964). Wenn daher BUCHHOLZ (1964) in den Neuronen von Calopteryx-Larven Nissl-Substanz beschreibt, so beruht dies auf einem Mißverständnis. In den Bildern dieser Autorin erkennt man nämlich, daß die Differenzierung des endoplasmischen Reticulums und die Anordnung der Ribosomen denjenigen der Ameisen weitgehend entsprechen.

Von Interesse sind ferner die im Cytoplasma häufig anzutreffenden Einschlußkörperchen, die von uns als Grana vom Typus 1 und 2 bezeichnet werden. Solche Grana sind auch in den Nervenzellen anderer Insektenarten schon beobachtet worden. So entsprechen offensichtlich unsere Grana vom Typus 1 mit einem Durchmesser von 0,3—1,5 μ in ihrem Aufbau den „electron dense inclusions“ von ASHHURST und CHAPMAN (1962) in den Neuronen von *Locusta migratoria*, die einen Durchmesser von 0,5—1,0 μ besitzen. In den Neuronen von *Periplaneta americana* existieren nach PIPA (1961 b, 1962) zwei histochemisch unterscheidbare Körper; seine „beta-granules“ entsprechen unsern Einschlußkörpern Typus 1 und 2. Histochemisch lassen sich darin nach diesem Autor Lipide und Glycolipide nachweisen, die mit Proteinen verbunden sind. Unsere Grana Typus 2 entsprechen in mikroskopischer Hinsicht den von v. GAUDECKER (1963) in den Zellen des Fettkörpers von *Drosophila*-Larven beschriebenen Einschlüssen. Die Autorin faßt

diese Körner als umgewandelte Mitochondrien auf und bringt sie mit Eiweiß-Speicherung in Verbindung.

Die *Gliazellen* unterscheiden sich in ihrer Innenstruktur und nach der Oberflächengestaltung grundlegend von den Neuronen. Das Zellinnere weist folgende Merkmale auf: Elektronendicht gebaute, gelappte Kerne, relativ größere Dichte der Cytoplasmagrundsubstanz und dichtere Anordnung der Ribosomen, auffallenden Reichtum an Glycogenkörnern, minimal ausgebildeten Golgiapparat und das Vorkommen von charakteristischen Gliosomen. Bei der Ameise trifft man diese Gliosomen nur selten. Sie wurden bei *Periplaneta americana* (B. SCHARRER 1939, PIPA 1961a, 1962, PIPA, NISHIOKA und BERN 1962), wo sie sehr häufig sind, eingehend untersucht. Nach PIPA und Mitarb. (1962) enthalten sie Glycolipide und Phospholipide, die mit Proteinen verbunden sind. Bei der Ameise erscheint ihr Aufbau viel geordneter als bei der Küchenschabe. Ihre Funktion ist unbekannt.

Auffallender aber als diese Details der Innenstruktur ist die grundverschiedene Gestaltung der Oberfläche. Während das Neuron mehr oder weniger rund oder polyedrisch gebaut ist und nur einen einzigen, im Querschnitt runden Fortsatz besitzt, fallen bei der Gliazelle die zahlreichen und weit verzweigten Ausläufer auf. Daß es sich bei diesen Fortsätzen nicht um pseudopodienartige Gebilde wie bei den Astrocyten der Wirbeltiere handelt, sondern vielmehr um becherartige Hüllfolien, zeigten schon HALLER (1905), der von einem Fachwerk der Gliazellen sprach, und CAJAL (1915), der das wabenartige Gerüst der Gliaausläufer im Gehirn der Bremse (*Tabanus*) deutlich abbildet. Im Dünnschnitt imponieren diese Folien als feinste, interneuronale Trennwände, deren flächenartige Ausdehnung nur durch dreidimensionale Rekonstruktion an Hand von Serie-Schnitten bewiesen werden kann. Diese Form der Gliazellen scheint bei Wirbellosen allgemein verbreitet zu sein, denn sie wurde außer bei Arthropoden (HESS 1958; TRUJILLO-CENÓZ, 1959, 1962; TRUJILLO-CENÓZ und MELAMED 1962; B. SCHARRER 1963) auch bei Plathelminthen (GRAY und GUILLERY 1963) und Cephalopoden (ROBERTSON 1964; GRAY und GRAZIADEI, persönliche Mitteilung) gefunden. Bei den kleinen Neuronenperikarya der *Corpora pedunculata* der Ameise konnten wir nie ein Eindringen der Gliafortsätze in die Nervenzellkörper in Form eines Trophosphongiums (WIGGLESWORTH 1960) feststellen. Diese Strukturen kommen nach unseren Beobachtungen bei der Ameise nur in großen Neuronen anderer Teile des Zentralnervensystems vor.

Die Glia-Hüllfolien der Waldameise enthalten neben Mitochondrien und Glycogenkörnern auch Ribosomen, was im Gegensatz zu den Befunden von TRUJILLO-CENÓZ (1962) bei anderen Arthropoden zu stehen scheint. Die funktionelle Bedeutung des RNA-Reichtums der Ameisenglia in Beziehung zum Stoffwechsel der Neurone ist noch unklar.

3. *Gliazellen und Glycogentransport*

WIGGLESWORTH (1960) konnte lichtmikroskopisch nachweisen, daß bei *Periplaneta americana* ein Konzentrationsgefälle für Glycogen besteht, das für den Transport dieses Kohlenhydrates vom extracerebralen Fettkörper zu den Perilemmazellen und ins Glianetz verantwortlich ist. Seine Befunde wurden von SMITH und TREHERNE (1963) elektronenmikroskopisch bestätigt und decken sich auch mit unsern Beobachtungen. Bemerkenswerterweise sind die Neurone glycogen-

frei, was die Frage aufwirft, ob überhaupt Glycogen in nennenswerten Mengen in die Nervenzellen gelangt. WIGGLESWORTH konnte diese Frage nicht sicher klären; er wies auf die Möglichkeit hin, daß das Glycogen mit scheinbar intraneuronaler Lage möglicherweise in den Trophospongiumfortsätzen der Gliazellen lokalisiert ist. Jedenfalls darf man annehmen, daß das Glycogen — nachdem es vom Fettkörper kommend die Neurallamelle in geeigneter Form passiert hat — durch die Perilemmazellen an die darunterliegenden Gliafortsätze abgegeben wird. Im weiteren übernimmt dann das von uns nachgewiesene Glianetz den Transport in die Tiefe des Gehirns und die Verteilung an die Nervenzellen. Es ist noch unbekannt, in welcher Form die Nervenzellen die Kohlenhydrate erhalten. Das Glycogen dürfte wie andere Nährstoffe, etwa im Elektronenmikroskop nicht darstellbare Kohlenhydrate, Lipide und Proteine, von der Glia bereits teilweise metabolisiert werden (HYDÉN 1960).

Einen ähnlichen Glycogengehalt der Gliazellen konnte ROSENBLUTH (1963) im Viszeralganglion von *Aplysia californica* (mariner Gastropode) sowie EICHNER und THEMANN (1962) in den Müller'schen Zellen der Meerschweinchenretina nachweisen. In der Astroglia der Vertebraten ist Glycogen nur in seltenen Fällen darstellbar. OKSCHE (1961) konnte es im Winterschlaf und nach Unterbrechung des Abtransportes nachweisen. Es scheint also, daß der Glia bei allen höher organisierten Tieren Aufgaben im Rahmen der Nährstoffversorgung der Neurone gestellt sind.

4. Gliazellen und Sauerstofftransport

Unsere Untersuchungen zeigen, daß die Tracheolen des Ameisengehirns nie in direkten Kontakt mit den Neuronen treten. Es ist immer mindestens eine Glia-schicht zwischengelagert. Diese Schicht kann allerdings sehr dünn sein, sodaß sie mit dem Lichtmikroskop nicht mehr aufgelöst werden kann. Das erklärt den Irrtum von HILTON (1911) sowie ROSS und TASSELL (1931), die angaben, daß Tracheolen in die Neuronen eindringen. Da die Tracheolen in der Perikaryonschicht des Gehirnes weit auseinander liegen, drängt sich die Vermutung auf, daß dasselbe Glianetz, welches die Verteilung des Glycogens im Gehirn besorgt, auch für die Vermittlung der Atemgase zwischen den Tracheolen und Neuronen verantwortlich ist. Dies folgt aus zwei Gründen: Erstens fehlt in unseren Präparaten ein Glia-Lakunensystem vollständig, das nach SMITH und TREHERNE (1963) den Gasaustausch zwischen den Neuronen und den Tracheolen besorgt. Ferner sind wir der Ansicht, daß der sehr auffälligen Anordnung der Gliafortsätze um die Tracheolen, bei der es zur Ausbildung spezieller Endorgane kommt, eine funktionelle Bedeutung zukommt. Es scheint naheliegend, daß hier ein Gasaustausch erfolgt. Möglicherweise wird der von der Glia aufgenommene Sauerstoff verwendet, um Glycogen und unter Umständen auch andere Nährstoffe schon weitgehend zu metabolisieren (HYDÉN 1960), sodaß den Nervenzellen nur die letzten Schritte der Energieproduktion und des Stoffwechsels verbleiben. Es ist bekannt, daß die Schwann'schen Zellen von Gastropodennerven (*Loligo*) Zentren von sehr aktiven biochemischen Prozessen sind. Sie sollen in diesem Material für 45% der Atmung verantwortlich sein, obwohl sie zum Trockengewicht nur 27% beisteuern (COELHO, GOODMAN und BOWERS 1960).

An unseren Bildern können wir natürlich nicht erkennen, wie dieser Sauerstofftransport erfolgt. Aber die auffallende Dichte des Grund-Cytoplasmas der

Gliazellen könnte einen Hinweis geben. In diesem Sinn wären folgende zwei Möglichkeiten ins Auge zu fassen: 1. Die Gliazellen enthalten in ihrem Cytoplasma ein schwermetallhaltiges Sauerstoffvehikel analog zum Haemoglobin oder Haemocyanin, das in den Fortsätzen zirkuliert und den größeren Kontrast im Elektronenmikroskop bedingt.

2. Es gibt in den Gliazellen schwermetallfreie Atmungsfermente im weiteren Sinne, die ein geeignetes, kleines Redoxpotential besitzen und bei denen die Aktivierungsenergie (LEUTHARDT 1957) für die Oxydationsvorgänge des vitalen Zustandes und die Reduktion von Kaliumpermanganat und Osmiumtetroxyd bei der Fixation kleiner ist als diejenige des Neuronencytoplasmas. Aus diesem Grunde weisen sie nach der Fixation einen stärkeren Kontrast auf.

5. Die Darstellung der „unit membrane“

Die Diskussion um die molekulare Struktur der Cytomembranen ist bis heute noch nicht abgeschlossen (ROBERTSON 1964; SJÖSTRAND und ELFVIN 1964), sodaß wir unsere Befunde zunächst mit diesen beiden Anschauungen korrelieren wollen.

Das Sjöstrand'sche Modell (1962), bei dem sich die von Kaliumpermanganat und Osmiumtetroxyd geschwärzten Schichten nicht decken, kann in keiner Weise unseren Befunden überlagert werden, da in unserem Material die betreffenden Schichten unabhängig von der Ficationsart genau koinzidieren (wenn man von der durch stark hypertone Lösungen bedingten Erweiterung des Interzellularraumes absieht) und das Vorliegen der 60 Å dicken, globulären Schicht dieses Autors ausschließen. Die körnige Darstellung der „unit membrane“ nach Permanganatfixierung spricht nicht unbedingt für eine globuläre Membranstruktur. Es konnte an einzelnen Membrantypen ein „subunit pattern“ nachgewiesen werden (ROBERTSON 1963, FERNÁNDEZ-MORÁN, ODA, BLAIR und GREEN 1964) das kleine aktive Punkte enthält. Diese aktiven Stellen können zu Zentren grober Niederschläge von Braunstein und Blei werden, sodaß die Größe dieser Körner nicht mehr unbedingt den Dimensionen der organischen Zentren entspricht (SJÖSTRAND und ELFVIN 1964). Auf der anderen Seite läßt sich die von uns gefundene Membrananordnung sehr gut mit dem Robertson'schen Modell (1959) in Zusammenhang bringen. Die Tatsache, daß unser gemittelter Durchmesser der „unit membrane“ mit 90 Å beträchtlich von der klassischen Angabe ROBERTSONS (1959) mit 75 Å abweicht, steht keineswegs im Gegensatz zu dieser Auffassung, da die dreischichtige Grundstruktur der „unit membrane“ eine beachtliche Variation des Durchmessers zuläßt (SCHLOTE und HANNEFORTH 1963; MILLINGTON 1964; ROBERTSON 1964, YAMAMOTO 1963).

Der Einfluß des Glutaraldehydes auf die Darstellung der „unit membrane“ ist noch nicht vollständig geklärt. Es kann offenbar die im Nativzustand der Membran bestehende Differenz der Reaktionsfähigkeit der beiden polaren Schichten gegenüber dem Osmiumtetroxyd durch Anlagerung an die Mucopolysaccharidlage, die ROBERTSON (1961) postuliert, aufheben.

6. Darstellung des Interzellularraumes

Eine gleichartige Veränderung der Affinität zu Osmiumtetroxyd erfolgt nach Glutaraldehydbehandlung auch im Bereiche des Interzellularspaltes. Auch hier wird die Affinität zu Osmiumtetroxyd vergrößert. Der Zwischenzellkitt, der im

Nervensystem von Vertebraten (GRAY und WHITTAKER 1962) und von Invertebraten, (HORRIDGE und CHAPMAN 1964) vermutet wurde, enthält neben Calcium (WHITTAKER 1963; SEDAR und FORTE 1964) auch Mucopolysaccharide (ROBERTSON 1961) wie die äußere Lamelle der „unit membrane“. Der molekulare Aufbau des Zwischenzellkitts ist aber verglichen mit demjenigen der „unit membrane“ nicht so streng geordnet, was sich im wesentlich größeren Variationskoeffizienten widerspiegelt (vergl. Tabelle 1).

Der Durchmesser des Interzellularspaltes verändert sich in unseren Versuchen nur bei Anwendung einer Glutaraldehyd-Lösung mit einer Gefrierpunktserniedrigung von 1,80° C. Wir nehmen an, daß der osmotische Druck der Haemolymphe der Ameisen ungefähr demjenigen anderer Hymenopteren entspricht. Die Gefrierpunktserniedrigung der Wespenhaemolymphe beträgt 0,87° C (ROEDER 1953). Das bedeutet, daß unsere Lösung einen ungefähr doppelten, osmotischen Druck aufwies. Wir glauben, daß die so hervorgerufene Erweiterung des Interzellularspaltes durch Schrumpfung der Zellen bedingt wurde. Diese kann wegen der schon im unveränderten Gewebe bestehenden Variation der Dimension nicht nachgewiesen werden. Zu einer Verkleinerung des Interzellularspaltes kam es weder nach hyper- noch nach hypotoner Fixierung, da der Zwischenzellkitt durch quellende Zellfortsätze offenbar nicht komprimiert werden kann. In Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen stehen die Untersuchungen von VILLEGAS und VILLEGAS (1963) an der Fischretina und von ROBERTSON (1964) am Nervus opticus des Octopus. Die Resultate von ROBERTSON (1958) an unmyelinisierten Nerven der Maus, die ein inverses Verhalten zeigten (Verkleinerung des Interzellularspaltes in hypertoner Lösung, Erweiterung in hypotoner Lösung), bilden eine noch ungeklärte Ausnahme. Es ist aber zu beachten, daß die Gewebe in jenen Versuchen vor der Fixation den osmotisch aktiven Flüssigkeiten ausgesetzt worden sind, während bei den Untersuchungen von VILLEGAS und VILLEGAS (1963a), ROBERTSON (1964) und von uns das Fixationsmittel selbst verschiedene osmotische Drucke aufwies.

Die konstante Größe des Interzellularraumes von 150—200 Å in den verschiedensten tierischen Geweben hat lange Zeit überrascht. So stellte SCHMITT (1959) fest: "I should like to call attention to the fact that not only are the satellite cells separated from the axolemma by a relatively constant distance of about 150 to 200 Å, but the same is true also for the limiting membranes of adjacent cells in various types of tissues as well as for certain infolded cellular membranes. What underlies this constant separation between limiting membranes?" — In neuerer Zeit wurden nun aber immer mehr Ausnahmen von dieser Regel in Form von kleineren Interzellularspalten gefunden (Tabelle 2).

In unserem Untersuchungsgut scheint der 30 Å messende Spalt zwischen Neuronen und Gliazellen kaum durch ein grobes Fixationsartefakt bedingt zu sein, da in denselben Blöcken dieser Durchmesser zwischen den Epithelzellen des Oesophagus 120 Å betrug. Die funktionelle Bedeutung dieser Annäherung der Zellen im Ameisengehirn ist noch unbekannt.

7. Der Interzellularraum als Ionenreservoir

Nach den elektronenmikroskopischen Befunden von HORSTMANN und MEVES (1959) beträgt der gesamte extracelluläre Raum im Bereiche des sog. molekularen

Tabelle 2. Vorkommen von Interzellularräumen mit einem Durchmesser von 100 Å und weniger

Autor	Tierart	Lokalisation	Durchmesser
STAUBESAND, KUHLO und KERSTING (1936)	Regenwurm	Deckzellen der Bauchmarkshülle	100 Å
VILLEGAS und VILLEGAS (1963 a)	Fisch	Retina	60 Å
VILLEGAS und VILLEGAS (1963 b)	Cephalopode	Schwannsche Zellen	60 Å
MERILLES, BURNSTOCK und HOLMAN (1963)	Meerschweinchen	Muskelzellen des Vas deferens	50 Å
VAN DER LOOS (1963)	Kaninchen	Corticale Synapsen	40 Å
HAMA (1959)	Regenwurm	Myelin	35—90 Å

Rindengraues im Vorderhirn des Hundehais 5% des entsprechenden Gewebesvolumens. Dabei betrug der Durchmesser des Interzellularspaltes 150—200 Å. Diese Zahl von 5% ist im Vergleich zu den von VAN HARREVELD und SCHADÉ (1960) mit Hilfe der Impedanz der Hirnrinde gefundenen Werten von ca. 30% viel zu klein. Die Differenz kann nur bereinigt werden, wenn man annimmt, daß die Astrocytenmembran für bestimmte Ionen sehr leicht durchgängig ist und daß das Innere der Astrocyten für diese Ionen — wegen der großen Durchgängigkeit — gleichsam zum Extrazellulärraum gehört. Die Astrocyten stellen dabei ein Ionenreservoir für die Austauschvorgänge bei der Depolarisierung der Neuronenmembran dar. Die gleiche Situation ergibt sich offenbar auch im Bereiche der Stützzellen der Octopusretina (SCHADÉ und COLLEWIJN 1964). Wenn die totale Größe des Extrazellulärraums im Bereiche der Perikaryonschicht des Ameisengehirns nach der Formel von HORSTMANN und MEVES (1959) abgeschätzt wird, so resultiert ein Wert von nur ca. 5%/₀₀, d. h. 10 mal weniger als beim Hai. Falls die Perikarya der Ameisenneurone auch an der Depolarisation ihrer Axone teilnehmen, ist eine analoge Ionenreservoirfunktion für die zwischengelagerten Gliafortsätze zu fordern, da der extrazelluläre Raum für die bei der Depolarisation auftretende Ionenverschiebung zu klein erscheint. Wir glauben deshalb annehmen zu dürfen, daß die Glia in der Hirnrinde der Ameise nicht nur eine ernährende Funktion für die Neuronen hat, sondern daß sie unter Umständen auch an der elektrischen Aktivität der Nervenzellen teilnimmt.

Literatur

- ASHHURST, D. E., and J. A. CHAPMAN: An electron microscopy study of the cytoplasmic inclusion in the neurons of *Locustra migratoria*. *Quart. J. micr. Sci.* **103**, 147—153 (1962).
- BUCHHOLZ, Ch.: Elektronenmikroskopische Befunde am bestrahlten Oberschlundganglion der Odonaten-Larve (*Colopteryx splendens* HAAR.). *Z. Zellforsch.* **63**, 1—21 (1964).
- CAJAL, S. R., y D. SÁNCHEZ: Contribution al conocimiento de los centros nerviosos de los insectos. *Trab. Lab. invest. biol.* **13**, 1—164 (1915) (Abb. 77).
- COELHO, R. R., J. W. GOODMAN, and M. B. BOWERS: Chemical studies of the satellite cells of the squid giant nerve fiber. *Exp. Cell Res.* **20**, 1—11 (1960).
- COGGESHALL, R. E., and D. W. FAWCETT: The fine structure of the central nervous system of the leech, *Hirudo medicinalis*. *J. Neurophysiol.* **27**, 227—289 (1964).
- DALTON, A. J.: A chrome osmium fixative for electron microscopy. *Anat. Rec.* **121**, 281 (1955).

- DANIELS, F., J. H. MATHEWS, and J. W. WILLIAMS: Experimental physical chemistry, 3rd ed. New York: McGraw-Hill Book Co. 1941.
- DAVID, G. B.: Cytoplasmic networks in neurons; in D. RICHTER ed.: Comparative neurochemistry. Proc. 5th internat. neurochem. symp. Oxford: Pergamon Press 1964.
- DE ROBERTIS, E. D. P., W. W. NOWINSKI, and F. A. SAEZ: General Cytology, 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1960.
- EICHNER, D., u. H. THEMANN: Zur Frage des Netzhautglycogens beim Meerschweinchen. Z. Zellforsch. **56**, 231—246 (1962).
- FERNÁNDEZ-MORÁN, H., T. ODA, P. V. BLAIR, and D. E. GREEN: A macromolecular repeating unit of mitochondrial structure and function. J. Cell Biol. **22**, 63—100 (1964).
- GALAMBOS, R.: A glia-neural theory of brain function. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **47**, 129—136 (1961).
- GAUDECKER, B. v.: Ueber den Formwechsel einiger Zellorganelle bei der Bildung der Reservestoffe im Fettkörper von Drosophila-Larven. Z. Zellforsch. **61**, 56—95 (1963).
- GERSCHENFELD, H. M.: Submicroscopic bases of synaptic organization in gastropod nervous system. In: S. S. BREESE (ed.), 5th Internat. Congr. for Electron Microscopy. New York: Academic Press 1962.
- GRAY, E. G.: Electron microscopy of collagen-like connective tissue fibrils of an insect. Proc. roy. Soc. B. **150**, 233—239 (1959).
- , and R. W. GUILLERY: An electron microscopical study of the ventral nerve cord of the leech. Z. Zellforsch. **60**, 826—849 (1963).
- , and J. Z. YOUNG: Electron microscopy of synaptic structure of octopus brain. J. Cell Biol. **21**, 87—103 (1964).
- , and V. P. WHITTAKER: The isolation of nerve endings from brain. An electron-microscopic study of cell fragments derived by homogenization and centrifugation. J. Anat. (Lond.) **96**, 79—88 (1962).
- HALLER, B.: Ueber den allgemeinen Bauplan des Tracheatensyncerebrums. Arch. mikr. Anat. **65**, 181—279 (1905).
- HAMA, K.: Some observations on the fine structure of the giant nerve fibers of the earthworm *Eisenia foetida*. J. biophys. biochem. Cytol. **6**, 61—66 (1959).
- HAMBERGER, A.: Difference between isolated neuronal and vascular glia with respect to respiratory activity. Acta physiol. scand. **58**, Suppl. 203 (1963).
- , and H. HYDÉN: Inverse enzymatic changes in neurons and glia during increased function and hypoxia. J. Cell Biol. **16**, 521—525 (1963).
- HANSTRÖM, B.: Vergleichende Anatomie des Nervensystems der wirbellosen Tiere. Berlin: Springer 1928.
- HARREVELD, A. VAN, and J. P. SCHADÉ: On the distribution and movements of water and electrolytes in the cerebral cortex. In: D. B. TOWER and J. P. SCHADÉ (eds.), Structure and function of the cerebral cortex. Proc. 2nd internat. meeting of neurobiologists. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1960.
- HESS, A.: The fine structure of nerve cells and fibers, neuroglia and sheaths of the ganglion chain in the cockroach. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 731—742 (1958).
- HILTON, W. A.: The structure of the nerve cells of an insect. J. comp. Neurol. **21**, 373—381 (1911).
- HORRIDGE, G. A., and R. A. CHAPMAN: Sheaths of the motor axons of crab *Carcinus*. Quart. J. micr. Sci. **105**, 175—181 (1964).
- HORSTMANN, E., u. H. MEVES: Die Feinstruktur des molekularen Rindengraus und ihre physiologische Bedeutung. Z. Zellforsch. **49**, 569—604 (1959).
- HYDÉN, H.: A microchemical study of the relationship between glia and nerve cells. In: D. B. TOWER and J. P. SCHADÉ (eds.), Structure and function of the cerebral cortex. Proc. 2nd internat. meeting of neurobiologists. Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1960.
- Biochemical and functional interplay between neurons and glia. In: J. WORTIS (ed.) Recent advances in biological psychiatry, vol. VI. New York: Plenum Press 1964.
- , and E. EGYHÁZI: Glial RNA changes during a learning experiment in rats. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **49**, 618—624 (1963).
- , and P. LANGE: Differences in the metabolism of oligodendroglia and nerve cells in the vestibular area. In: S. S. KETY and J. ELKES (eds.) Regional Neurochemistry. Proc. 4th internat. Neurochem. Symp. Oxford: Pergamon Press 1961.

- KARNOVSKY, M. J.: Simple methods for "staining with" lead at high pH in electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 729—732 (1961).
- KENYON, F. C.: The meaning and structure of the so-called „mushroom bodies" of the hexapod brain. *Amer. Naturalist* **30**, 643—650 (1896).
- KUTTER, H.: Bericht über die Sammelaktion schweizerischer Waldameisen der Formica-Rufa-Gruppe 1960/61. *Waldhygiene* **4**, 193—202 (1962).
- LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie, 14. Aufl. Berlin: W. DE Gruyter & Co. 1959.
- LOOS, H. VAN DER: Fine structure of synapses in the cerebral cortex. *Z. Zellforsch.* **60**, 815—825 (1963).
- LUFT, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. biophys. biochem. Cytol.* **9**, 409—414 (1961).
- MERRILLEES, N. C. R., G. BURNSTOCK, and M. E. HOLMAN: Correlation of fine structure and physiology of the innervation of smooth muscle in the guinea pig vas deferens. *J. Cell Biol.* **19**, 529—550 (1963).
- MILLINGTON, P. F.: Comparison of the thickness of the lateral wall membrane and the microvillus membrane of intestinal epithelial cells from rat and mouse. *J. Cell Biol.* **20**, 514—517 (1964).
- OKSCHE, A.: Der histochemisch nachweisbare Glycogenaufbau und Abbau in den Astrocyten und Ependymzellen als Beispiel einer funktionsabhängigen Stoffwechselaktivität der Neuroglia. *Z. Zellforsch.* **54**, 307—361 (1961).
- PALAY, S. L., S. M. MCGEE-RUSSELL, S. GORDON, and M. A. GRILLO: Fixation of neural tissues for electron microscopy by perfusion with solutions of osmium tetroxide. *J. Cell Biol.* **12**, 385—410 (1962).
- , and G. E. PALADE: The fine structure of neurons. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 69—88 (1955).
- PIPA, R. L.: Studies on the hexapod nervous system III. Histology and histochemistry of cockroach neuroglia. *J. comp. Neurol.* **116**, 15—26 (1961a).
- Studies on the hexapod nervous system IV. A cytological and cytochemical study of neurons and their inclusions in the brain of the cockroach, *Periplaneta americana* L. *Biol. Bull.* **121**, 521—534 (1961b).
- A cytochemical study of neurosecretory and other neuroplasmic inclusions in *Periplaneta americana*. *Gen comp. Endocrin.* **2**, 44—52 (1962).
- R. S. NISHIOKA and H. A. BERN: Studies on the hexapod nervous systems. V. The ultrastructure of cockroach gliosomes. *J. Ultrastruct. Res.* **6**, 164—170 (1962).
- REVEL, J. P., L. NAPOLITANO, and D. W. FAWCETT: Identification of glycogen in electron micrographs of thin tissue sections. *J. biophys. biochem. Cytol.* **8**, 575—589 (1960).
- ROBERTSON, J. D.: Structural alterations in nerve fibers produced by hypotonic and hypertonic solutions. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 349—364 (1958).
- Ultrastructure of cell membranes and their derivatives. *Biochem. Soc. Symp.* **16**, 3—43 (1959).
- Ultrastructure of excitable membranes and the crayfish median-giant synapse. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **94**, 339—389 (1961).
- The occurrence of a subunit pattern in the unit membranes of club endings in Mauthner cell synapses in goldfish brain. *J. Cell Biol.* **19**, 201—221 (1963).
- Unit membranes: A review with recent new studies of experimental alterations and a new subunit structure in synaptic membranes. In: M. LOCKE, (ed.), *Cellular membranes in Development*. New York: Academic Press 1964.
- ROEDER, K. D.: *Insect physiology*. New York: John Wiley & Sons 1956.
- ROSENBLUTH, J.: The visceral ganglion of *Aplysia californica*. *Z. Zellforsch.* **60**, 213—236 (1963).
- ROSS, L. S., and R. R. TASSELL: Tracheation of grasshopper nerve ganglia. *J. comp. Neurol.* **52**, 347—352 (1931).
- SCHADÉ, J. P., and H. COLLEWIJN: Neurobiological studies on cephalopods: I. Spreading depression and impedance changes in the retina. *Neth. J. Sea Res.* **2**, 123—144 (1964).
- SCHARER, B.: The differentiation between neuroglia and connective tissue sheath in the cockroach (*Periplaneta americana*). *J. comp. Neurol.* **70**, 77—88 (1939).
- Neurosecretion XIII. The ultrastructure of the corpus cardiacum of the insect *Leucoptera maderae*. *Z. Zellforsch.* **60**, 761—796 (1963).

- SCHLOTE, F.-W., u. W. HANNEFORTH: Endoplasmische Membransysteme und Granatypen in Neuronen und Gliazellen von Gastropodennerven. *Z. Zellforsch.* **60**, 872—892 (1963).
- SCHMITT, F. O.: Diskussion zu K. PORTER: Other membrane-limited structures of cells. In: S. R. KOREY (eds.), *The biology of myelin*. New York: Hoeber-Harper 1959.
- SEDAR, A. W., and J. G. FORTE: Effects of calcium depletion on the junctional complex between oxyntic cells of gastric glands. *J. Cell Biol.* **22**, 173—188 (1964).
- SJÖSTRAND, F. S.: Critical evaluation on ultrastructural patterns with respect to fixation. In: R. J. C. HARRIS (ed.), *The interpretation of ultrastructure*. 1st Symp. internat. Soc. Cell Biol. New York: Academic Press 1962.
- , and L.-G. ELFVIN: The granular structure of mitochondrial membranes and of cytomembranes as demonstrated in frozen-dried tissue. *J. Ultrastruct. Res.* **10**, 263—292 (1964).
- SMITH, D. S., and J. E. TREHERNE: Functional aspects of the organization of the insect nervous system. In: J. W. L. BEAMENT, J. E. TREHERNE, and V. B. WIGGLESWORTH, (eds.), *Advances in insect physiology I*. New York: Academic Press 1963.
- STAUBESAND, J., B. KUHLO u. K. H. KERSTING: Licht- und elektronenmikroskopische Studien am Nervensystem des Regenwurms. I. Mitteilung: Die Hüllen des Bauchmarkes. *Z. Zellforsch.* **61**, 401—433 (1963).
- TRUJILLO-CENÓZ, O.: Study on the fine structure of the central nervous system of *Pholus labruscae* L. *Z. Zellforsch.* **49**, 432—446 (1959).
- Some aspects of the structural organization of the arthropod ganglia. *Z. Zellforsch.* **56**, 649—682 (1962).
- , and J. MELAMED: Electron microscope observations on the calyces of the insect brain. *J. Ultrastruct. Res.* **7**, 389—398 (1962).
- VILLEGAS, G. M., and R. VILLEGAS: Neuron-glia relationship in the bipolar cell layer of the fish retina. *J. Ultrastruct. Res.* **8**, 89—106 (1963a).
- — Morphogenesis of the Schwann channels in the squid nerve. *J. Ultrastruct. Res.* **8**, 197—205 (1963b).
- WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 475—478 (1958).
- WHITTAKER, V. P.: The separation of subcellular structures from brain tissue. *Biochem. Soc. Symp.* **26**, 109—126 (1963).
- WIGGLESWORTH, V. B.: The role of perineurium and glial cells in the mobilization of reserves. *J. exp. Biol.* **37**, 500—512 (1960).
- YAMAMOTO, T.: On the thickness of the unit membrane. *J. Cell Biol.* **17**, 413—421 (1963).

Dr. A. M. LANDOLT
Institut für Hirnforschung
August-Forel-Straße 1, 8008 Zürich