

Sonderdruck — Nicht im Handel

Schweizer Archiv für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie

Archives Suisses de Neurologie, Neurochirurgie et de Psychiatrie

Archivio Svizzero di Neurologia, Neurochirurgia e Psichiatria

Band 100

Heft 2

Wallersche Degeneration im Zentralnervensystem der Ameise

**Elektronenmikroskopische Untersuchungen
am Prothorakalganglion von *Formica lugubris* Zett.**

Von H. E. Lamparter, K. Akert und C. Sandri (Zürich)

Wallersche Degeneration im Zentralnervensystem der Ameise
Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Prothorakalganglion
von *Formica lugubris* Zett.¹

Von H. E. LAMPARTER, K. AKERT und C. SANDRI

Einleitung

Die anterograde Degeneration von Nervenfasern, welche *Waller* (1851) erstmals anhand der Durchschneidung des N. glossopharyngeus beim Frosch demonstrierte, bildet die Grundlage eines Verfahrens, das bis zum heutigen Tage wohl die zuverlässigsten Resultate zur Aufklärung von Verbindungen innerhalb des Nervensystems liefert. Diese Methode wurde schrittweise methodisch verbessert (Marchi-Methode, Nauta-Gygax-Methode usw.), jedoch bis vor kurzem ausschließlich in der Lichtmikroskopie verwendet. Seit einigen Jahren liegen auch elektronenmikroskopische Befunde vor, wobei sowohl die degenerativen Veränderungen der Feinstruktur als auch die detaillierte Einsicht in die synaptische Organisation von größtem Interesse sind.

Zur Hauptsache beziehen sich die bisherigen Arbeiten (*De Robertis* [1956], *Colonnier* und *Gray* [1962], *Gray* und *Hamlyn* [1962], *Walberg* [1963], *Co-*

¹ Mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung (Nr. 3807).

lonnier [1964], Guillery [1965], Ralston [1965], Walberg [1965], Walberg [1966], Alksne et al. [1966], Szentágothai et al. [1966], Dowling and Cowan [1966], Gray [1966], Hamory und Szentágothai [1966], Smith et al. [1966], Westrum [1966]) auf die Verhältnisse beim Wirbeltier. Im ZNS der Wirbellosen (*Periplaneta americana*) hat Hess (1960) elektronenmikroskopische Befunde der Wallerschen-Degeneration mitgeteilt, wobei man hervorheben darf, daß dieser Autor bereits damals auf Veränderungen hinwies, die von nachfolgenden Untersuchern auch im ZNS von Wirbeltieren in analoger Weise vorgefunden wurden. Seither liegen unseres Wissens keine weiteren Untersuchungen über die ultrastrukturellen Veränderungen bei der anterograden Degeneration im ZNS von Insekten vor.

Diese Arbeit bildet die Fortsetzung von Untersuchungen über die Normalstruktur des Prothorakalganglions der Waldameise (*Lamparter* [1966]). Sie soll die Kenntnis über die ultrastrukturellen Veränderungen bei der anterograden Degeneration im ZNS der Insekten mit Hilfe der in der Zwischenzeit verbesserten Fixations- und Einbettungsmethoden erweitern. Spezielles Interesse beanspruchen die Degenerationserscheinungen im Bereich der Synapsen und die gliöse Reaktion.

Material und Methoden

Die Degenerationsstudien wurden am Prothorakalganglion von 43 Arbeiterinnen einer Waldameisenart (*Formica lugubris* Zett.) ausgeführt. Zu diesem Zweck wurde das rechte Prothorakalbein in Höhe des proximalen Drittels der Coxa durch einen Scherenschlag amputiert (Abb. 1). Mit diesem Vorgehen wurden die folgenden Absichten verbunden: a) Die zentripetal verlaufende Degeneration der sensiblen Nervenfasern konnte im intrathorakalen Wurzelbereich des Beinnerven und vor allem im Neuropil der ipsilateralen Ganglionhälfte untersucht werden. b) Die Regeneration der sensiblen Fasern (die nach *Bodenstein* [1957] innert 20–30 Tagen bei Insekten erfolgen kann) wird verhindert. c) Die proximalen Axonstümpfe der motorischen Elemente bleiben intakt und dienen als Kontrolle.

Für die elektronenmikroskopische Analyse wurden total 17 Ganglien mit Degenerationszeiten von 1–35 Tagen untersucht. Die Ganglien wurden in ultradünne Ganzschnitte zerlegt, welche – auf Einloch-Objektträger ausgebreitet – die volle Übersicht über die Gewebestrukturen und damit eine zuverlässige Orientierung gestatteten. Als Kontrollen dienten normale Ganglien (*Lamparter* [1966]) und die seitlichen Abschnitte der kontralateralen Ganglionhälfte, die stets frei von degenerierenden Nerven-elementen blieb. Bei Verwendung von feinmaschigen Objektträgernetzen war die Orientierung schwieriger und mußte in dickeren Nachbarschnitten mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskopes gesichert werden.

Das Untersuchungsmaterial wurde teilweise in KMnO_4 beziehungsweise in Glutaraldehyd/ KMnO_4 (*Lamparter* [1966]) fixiert. Viel bessere Resultate ergab die kombinierte Aldehydfixation nach *Sabatini*, *Bensch* und *Barnett* (1963), deren Adaptation für das Nervengewebe bei Insekten in einer neueren Arbeit ebenfalls eingehend beschrieben worden ist (*Steiger* [1967]).

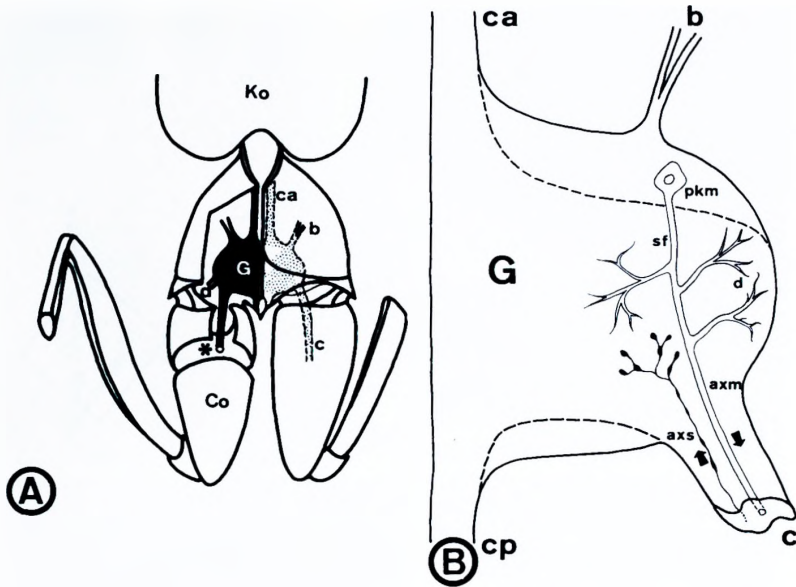


Abb. 1. A: Schema der Versuchsanordnung für die Untersuchung der Wallerischen Degeneration im Prothorakalganglion: Kopf (Ko), Prothorakalsegment im Ganglion (G) und beide Prothorakalbeine in ventraler Ansicht. Links ist der Thorax geöffnet, rechts durchscheinend gezeichnet. Am Ganglion sind die Konnektiven (ca = vordere Konnektiven; cp = hintere Konnektiven) sowie die peripheren Nerven (b, c, d), unter ihnen der Beinnerv (c) zu erkennen. An der mit Stern bezeichneten Stelle ist die Coxa (Co) und damit der Beinnerv durchgetrennt. — B: Schematische Darstellung der sensiblen und motorischen Zellelemente in einer Ganglionhälfte: Das Perikaryon des motorischen Neurons (pkm) gibt einen dicken Stammfortsatz (sf) ab, welcher ins Neuropil zieht und dort feine dendritische Verzweigungen (d) sowie ein motorisches Axon (axm) in den Beinnerven (c) sendet. Der Zellkörper des sensiblen Neurons (nicht gezeichnet) liegt in der Peripherie und bildet ein Axon (axs), welches durch den Beinnerv (c) ins Neuropil eintritt und eine Terminalverzweigung mit stark ausgeprägten Endknöpfen bildet.

Resultate

1. Axonale Degeneration

Die frühesten Veränderungen in den Axonen des Beinnerven werden nach 2 Tagen beobachtet. Das Vollbild, welches auch im Phasenkontrastbild gut sichtbar ist, entwickelt sich nach 3–4 Tagen (Abb. 2). Das Axoplasma hat sich in eine elektronendichte, homogene Masse umgewandelt, welche den gesamten Querschnitt ausfüllt (Abb. 3). Mikrotubuli, die normalerweise achsenparallel verlaufen und einen Gesamtdurchmesser von 200–250 Å haben, lassen sich nicht mehr erkennen. Die Mitochondrien da-

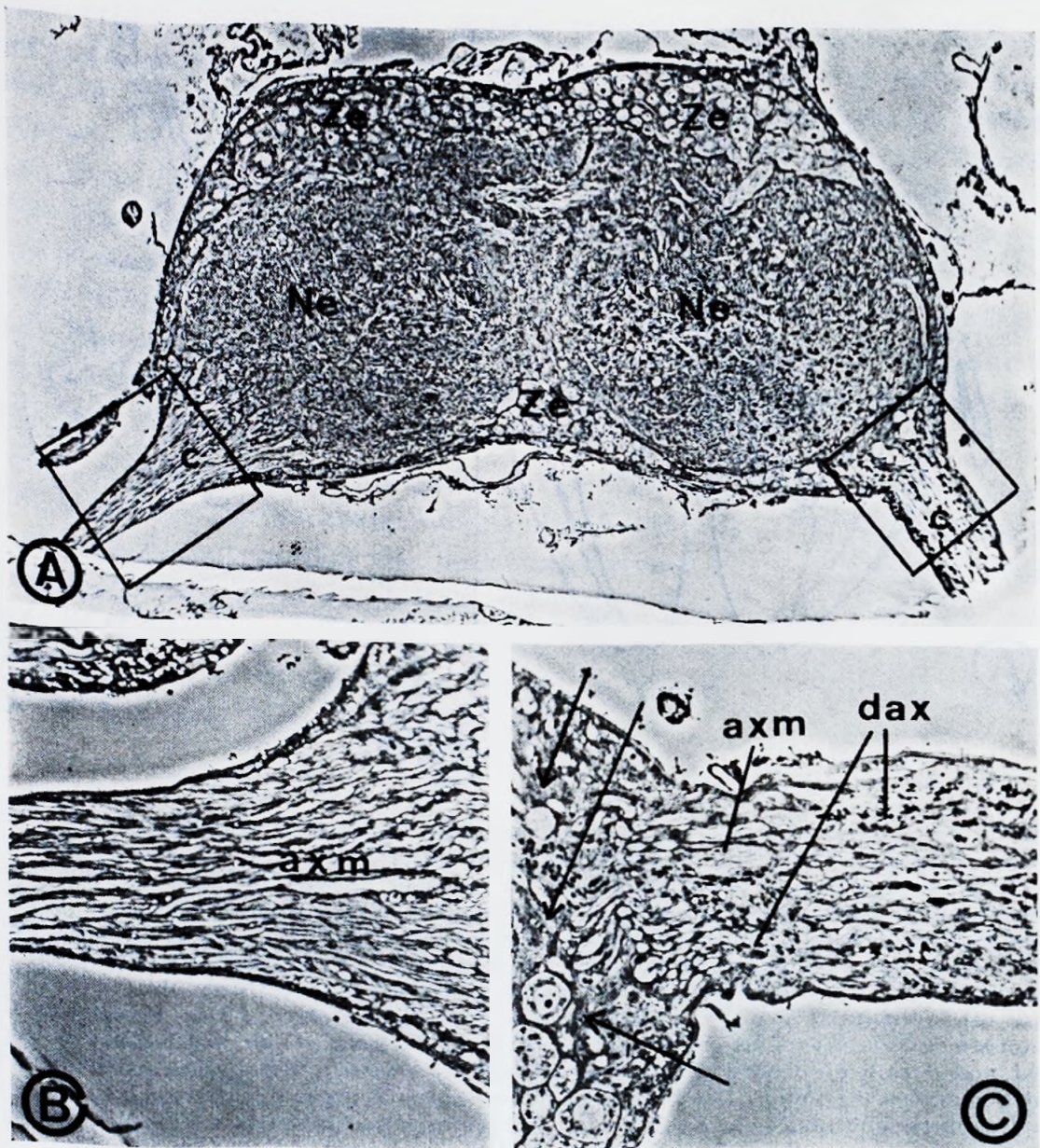


Abb. 2. Bild der einseitigen Wallerschen Degeneration im Überblick. A: 10 Tage Degenerationszeit. Auf dem Horizontalschnitt ist die vordere und hintere Perikaryenschicht (Ze) sowie das zentralgelegene Neuropil (Ne) des Ganglions zu erkennen. Seitlich unten münden die beiden Beinnerven (c) ins Ganglion ein. Die Degeneration, welche durch schwarze Körner (retuschiert) im Beinnerv und Neuropil gekennzeichnet ist, beschränkt sich auf die rechte Ganglienhälfte. Ein der Umrahmung etwa entsprechender Ausschnitt ist unten (Abb. 2B, 2C) stärker vergrößert dargestellt. — B: Eintrittsstelle des linken Beinnerven. Längsschnitte durch normale Axone (axm) mit verschiedenem Kaliber. — C: Rechter Beinnerv enthält zahlreiche, durch schwarze Punkte markierte, degenerierte, feine Axone (dax). Daneben gibt es normal aussehende Fasern. Die Pfeile bezeichnen die durch die Vermehrung von Gliazellen hervorgerufene dunkle Barriere, welche sich an der Wurzel des Beinnerven gebildet hat. Phasenkontrast. Primärvergrößerung: A = $75\times$, B und C = $375\times$.

gegen sind vergrößert und nahezu kugelförmig, zeigen aber gelegentlich auch nach Wochen eine weitgehend erhaltene Innenstruktur. Diese Mito-

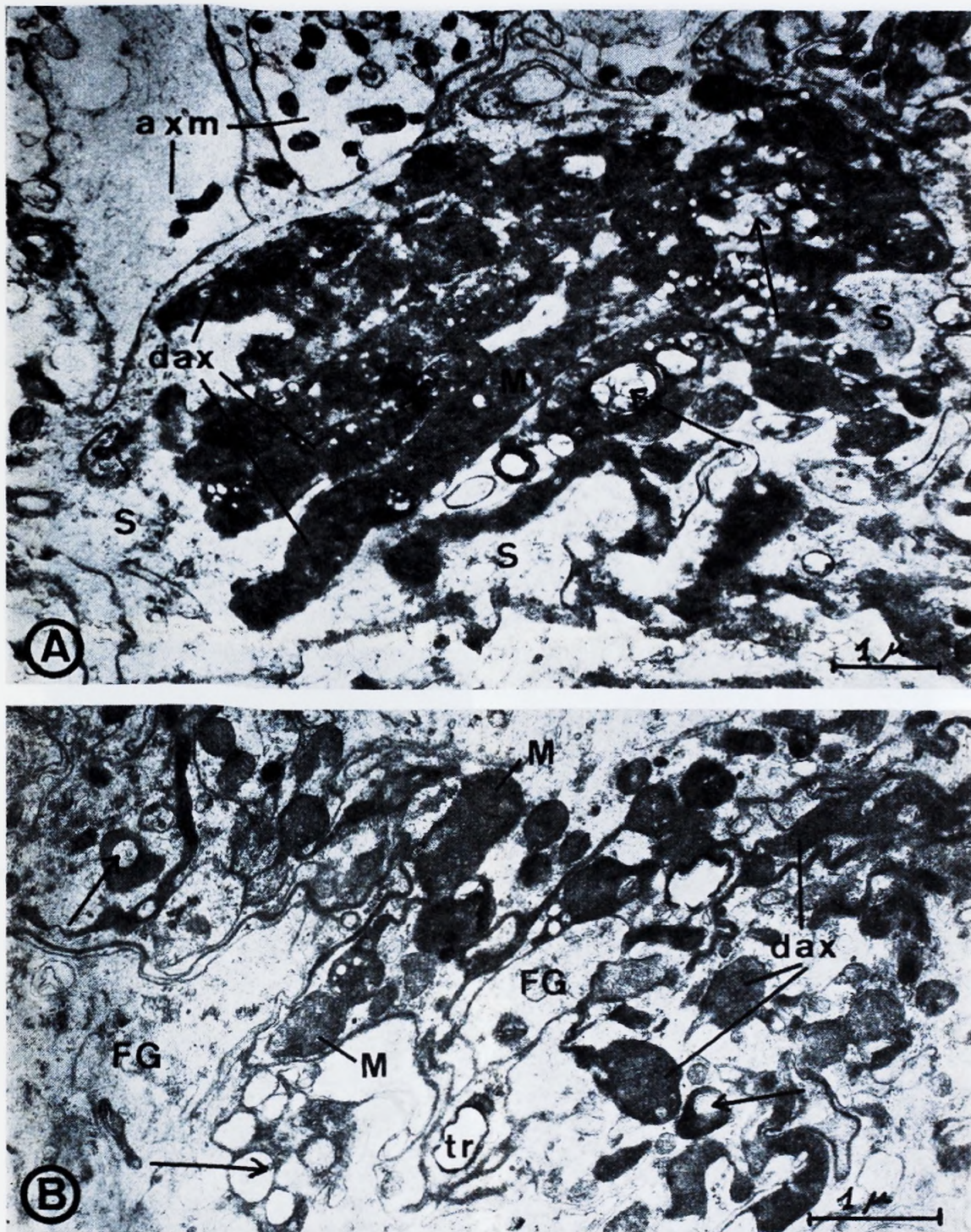


Abb. 3. Axonale Degeneration im Wurzelbereich des Beinerven. A: Degenerationszeit 35 Tage. Längsgetroffene, degenerierte Axone (dax), von Schwannzellzytoplasma (S) umgeben; sie zeigen eine elektronendichte homogene Matrix, in welcher zum Teil noch gut erhaltene Mitochondrien (M) eingebettet sind. Beachte die nicht degenerierten dicken motorischen Axone (axm). An den mit Pfeil bezeichneten Stellen sieht man bereits deutliche Zeichen des Faserzerfalls. Glut./KMnO_4 , Primärvergrößerung: 4800 \times . - B: Degenerationszeit 3 Tage. Degenerierte Axone (dax) an der Eintrittszone ins Neuropil. Die Faserhüllglia (FG) dringt durch Einstülpungen (Pfeile) in die degenerierten Fasern. Mitochondrien (M) im Axoplasma bewirken umschriebene Auftreibung der im übrigen kollabierten Axone, tr = Tracheole. Glut./OsO_4 , Primärvergrößerung 8500 \times .

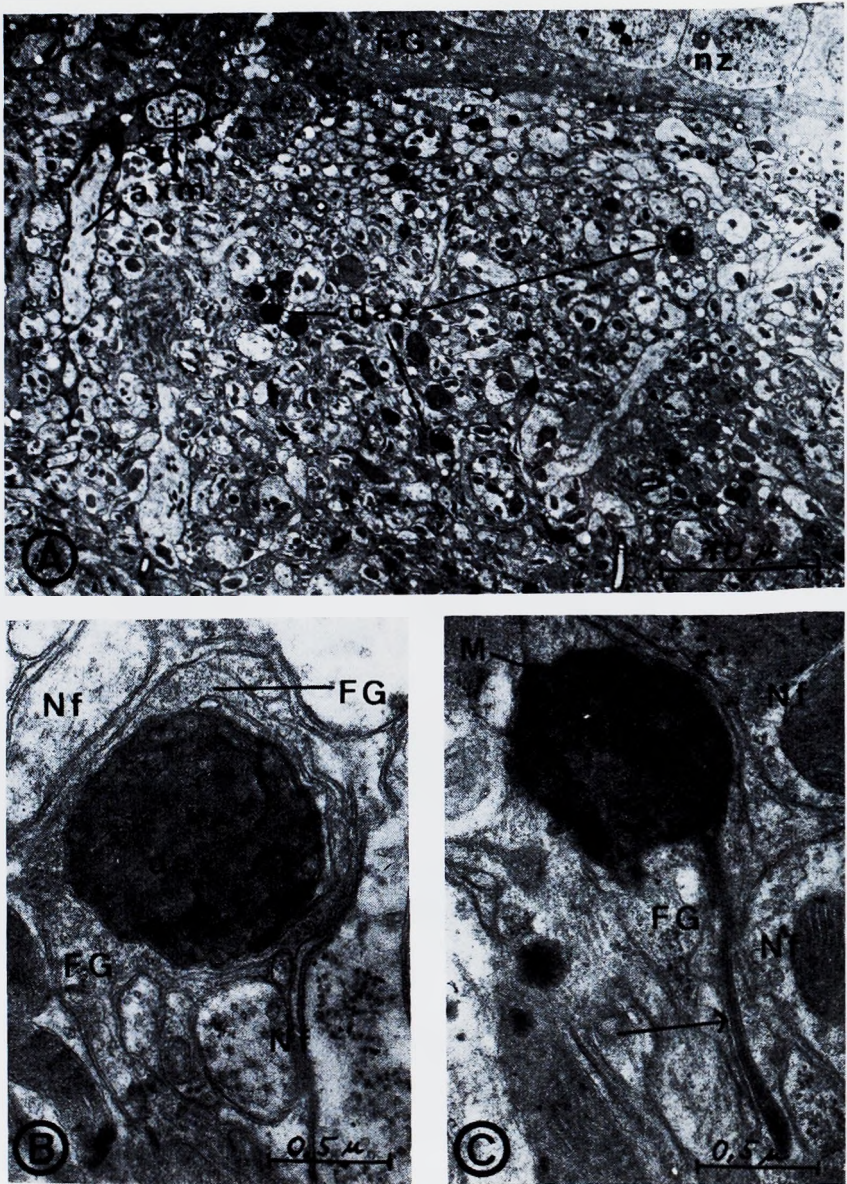


Abb. 4. Axonale Degeneration im Neuropil. A: Degenerationszeit 4 Tage. Übersichtsbild. Von den zahlreichen auf dem Schnitt sichtbaren Nervenfasern heben sich die degenerierten Axone (dax) durch ihre intensiv dunkle Färbung ab. Bei der geringen Vergrößerung sind eventuell vorhandene Synapsen nicht zu erkennen. Links oben sind normale motorische Axone sichtbar (axm). FG = Faserhüllglia; nz = kleine Nervenzellen. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 1000 \times . - B: Degenerationszeit 4 Tage. Quergetroffenes degeneriertes Axon (dax) im Neuropil. Im elektronendichten Axoplasma sind Mitochondrienreste kaum noch zu erkennen. Achte auf die Umhüllung des Axons mit Faserhüllglia (FG), welche ein dicht granuliertes Zytoplasma aufweist. Nf = normale Nervenfasern. Glut./OsO_4 . Primär-

chondrien sind längs des Axons unregelmäßig verteilt. Dort wo sie gehäuft auftreten, erscheint die Nervenfaser aufgetrieben, wogegen die mitochondrienfreien Zwischenstrecken eher kollabiert sind. Somit bietet das degenerierte Axon ein dunkles perlschnurartiges Bild.

2. Präterminale und terminale Degeneration

Die sensiblen Nervenfasern strahlen in das zentralgelegene Neuropil des Ganglions ein, verzweigen sich dort und bilden synaptische Kontakte mit den Dendriten der randständig angeordneten Perikaryen der Ganglienzellen (*Lamparter* [1966]).

Die sensiblen Axone zeigen, in ihrem Verlauf eingeschaltet, etwa 1–2 μ große Auftreibungen, welche große, oft mit spiraligen oder ringförmigen Cristae versehene Mitochondrien enthalten (Abb. 4). Ein Teil dieser Auftreibungen enthält zusätzlich zahlreiche synaptische Bläschen und bildet oft multiple synaptische Kontakte (Abb. 5, 6). Diese Kontakte sind zum Teil als in der Serie geschaltete «en-passant»-Kontakte (Abb. 6A), zum Teil als terminale Kontakte (Abb. 5A) anzusprechen. Beide Formen werden von der Wallerschen Degeneration betroffen.

Die frühesten terminalen Veränderungen konnten an vereinzelt Stellen schon nach 24 Stunden erfaßt werden, während nach 3–4 Tagen die Degeneration deutlich ausgeprägt ist. Diese Veränderungen bestehen wieder in einer Homogenisierung des Zytoplasmas, in welchem sich die synaptischen Bläschen (300–500 Å), zum Teil mit sichtbarer Doppelmembran, als helle Flecken abzeichnen.

Die in den präterminalen und terminalen Auftreibungen liegenden Mitochondrien zeigen dieselben Veränderungen wie die relativ viel kleineren intraaxonalen Mitochondrien. Elektronendichte Körner, welche mit großer Wahrscheinlichkeit als Glykogen anzusprechen sind, finden sich im normalen wie im degenerierten Ganglion in wechselnder Menge in den präsynaptischen Endigungen und in der Glia. Während die Verdichtung der präsynaptischen Membran im elektronendichten degenerierten Zytoplasma nur ausnahmsweise noch zu erkennen ist (Abb. 5), sind die durch eine spezifische Membranapposition sowie durch die zytoplasmatischen Verdichtungen gekennzeichneten postsynaptischen Membranen der Dendriten gut sichtbar.

Überhaupt erweisen sich die Synapsen als der Degeneration gegenüber relativ resistente Strukturen. So können wir aus un-

vergrößerung: 20000 \times . — C: Degenerationszeit 4 Tage. Degeneriertes Axonsegment (dax), welches aus einem kollabierten Abschnitt (Pfeil) und einer Auftreibung besteht. In der Auftreibung, welche von Faserhüllglia (FG) umgeben wird, sind noch Reste eines großen Mitochondriums sichtbar. $\text{Glut.}/\text{OsO}_4$. Primärvergrößerung: 20000 \times .

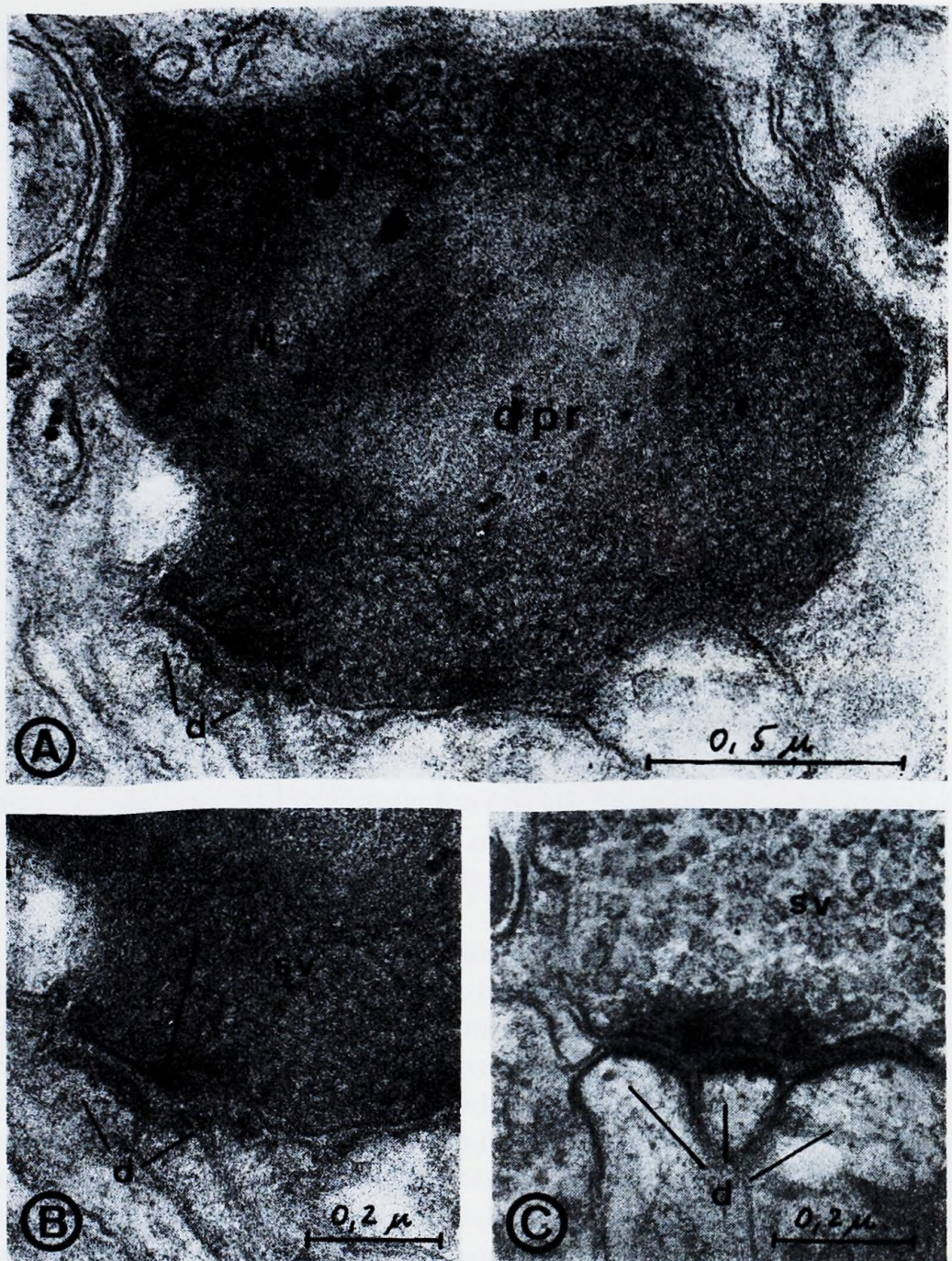


Abb. 5. Terminale Degeneration im Frühstadium. A: Degenerationszeit 4 Tage. Präsynaptischer Endknopf (dpr). In der dunklen Matrix sind synaptische Bläschen (sv) von etwa 300–500 Å sowie die Reste von Mitochondrien (M) noch erkennbar. Die beiden Synapsen (sy) sowie die postsynaptischen Fasern (d) zeigen keine deutlichen Veränderungen. Links oben Übergang zur präterminalen Faser. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 20000 \times . – B: Gut erhaltene synaptische Stelle am degenerierten Bouton, Ausschnitt aus (A). – C: Normale Synapse zum Vergleich. Man erkennt in der normalen wie in der degenerierten Endigung die synaptischen Bläschen (sv), die prä- und postsynaptischen Membranen in regelmäßiger Opposition sowie die postsynaptischen Membranverdichtungen in den angrenzenden Dendriten (d). Ausnahmsweise ist in (B) auch die präsynaptische Verdichtung (Pfeil) im degenerierten Bouton sichtbar. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung für B und C: 40000 \times .

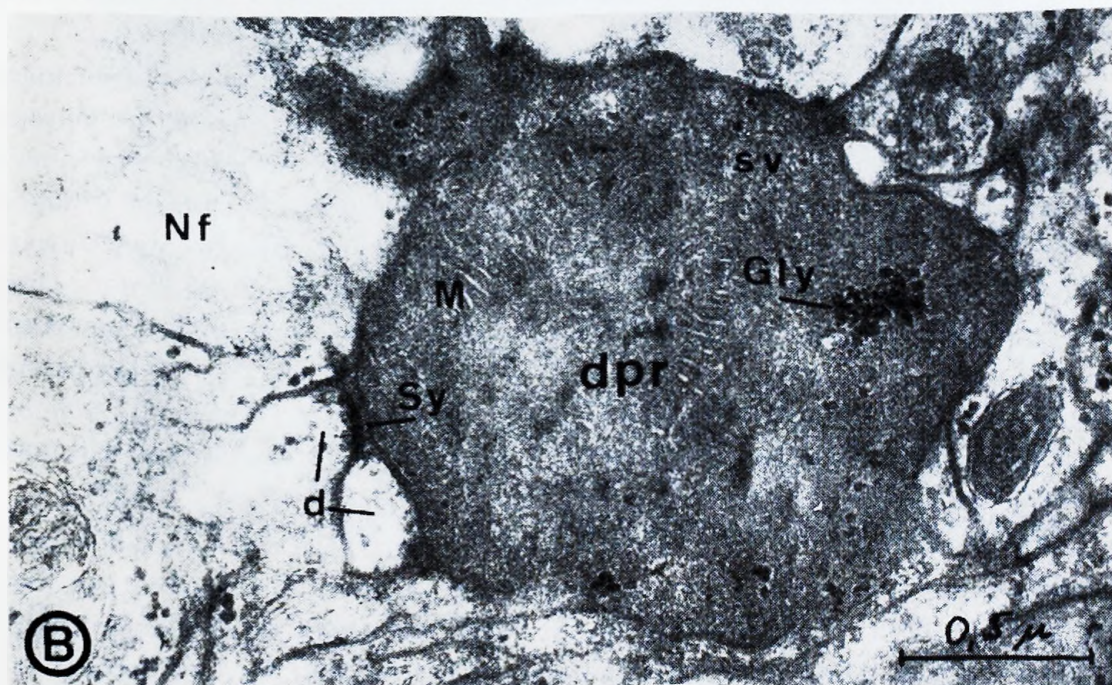
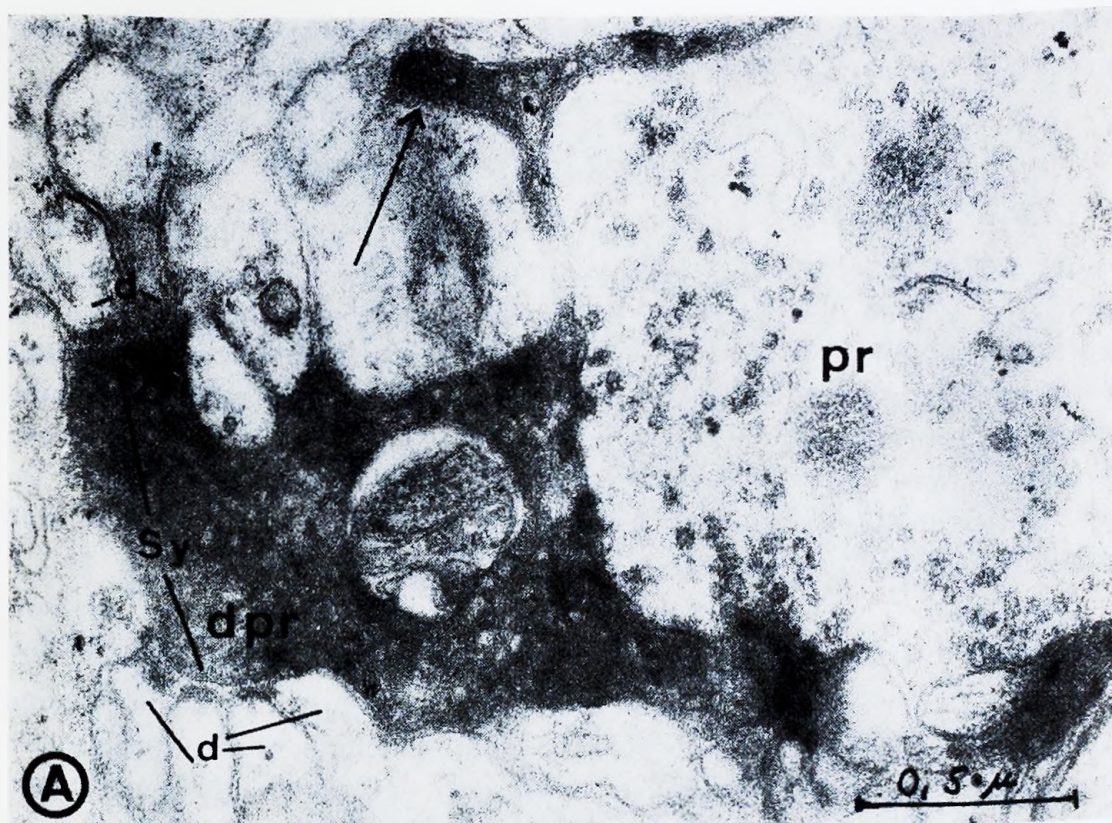


Abb. 6. Terminale Degeneration, «en passant» und endständig. A: Degenerationszeit 4 Tage. Degenerierter Präsynaptischer Endknopf (dpr), welcher mit zahlreichen postsynaptischen Dendriten (d) Synapsen (Sy) bildet. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um einen «en-passant-Kontakt» einer präterminalen Faser, die am oberen Bildrand eine T-förmige Verzweigung aufweist (Pfeil). Endknopf (pr), welcher unmittelbar an die degenerierte Faser anschließt. Glut. (OsO_4 — B: Degenerationszeit 13 Tage. In der degenerierten

serem Bildmaterial die Aussage machen, daß normal erscheinende Synapsen mindestens noch nach 13 Tagen aufzufinden sind (Abb. 6).

3. Gliöse Veränderungen im Neuropil

Bereits nach 3 Tagen findet man Zeichen einer verstärkten gliösen Aktivität: Zunächst erfüllt die Glia mit finger- und wabenförmigen Fortsätzen die durch axonale Schrumpfung freigewordenen Räume. So entstehen unregelmäßige, zum Teil bizarre Formen der Durchdringung von Axoplasma mit proliferierenden Gliaelementen. Dabei sind die Fortsätze der Faserhüllgliazellen zunächst durch ein helles und etwas flockiges organellenarmes Zytoplasma gekennzeichnet (Abb. 3B, 7A, B), in welchem nach einigen Tagen unregelmäßig geformte Bläschen und Säcke sowie Mikrotubuli und Ribosomen auftreten.

Diese gliöse Durchsetzung des Neuropils ist um so auffälliger, als normalerweise die Glia eher ein diskretes und lückenhaftes Grundgerüst bildet.

Über das Verhalten der Glia an den Synapsen können wir keine sicheren Aussagen machen; ihre Aktivität ist jedenfalls nicht besonders prominent. Immerhin legt die Abbildung 7C nahe, daß degenerierende Endigungen durch eine Gliascheide von postsynaptischen Dendriten isoliert werden können.

Verfolgt man die gliöse Aktivität über eine längere Periode, so stellt man frühestens nach etwa 4 Tagen die ersten Fragmentierungserscheinungen an den Axonen fest, die mit Anzeichen der gliösen Phagozytentätigkeit einhergehen. Abb. 8A–D zeigt verschiedene Stufen im Prozeß der gliösen Phagozytose und Verdauung. In der Abb. 8B ist die starke wabenförmige Durchdringung des degenerierten Materials durch Gliafortsätze zu erkennen. Dies führt zusammen mit der Axonfragmentation zu einer weitgehenden Aufteilung des degenerierten Materials. In den Abb. 8A und C sind bereits in Faserhüllglia eingeschlossene Verdauungsvakuolen zu erkennen, welche Degenerationsreste enthalten. Abb. 8D zeigt eine solche Verdauungsvakuole in einer Schwannzelle des Beinnerven.

Daß nicht nur, wie oben beschrieben, die Fortsätze der Gliazellen proliferieren, sondern nach etwa 10 Tagen eine sichere Vermehrung der Gliazellperikaryen festzustellen ist, wird vor allem in Phasenkontrastbildern sichtbar. Diese Vermehrung findet sich vor allem (in Abb. 2 angedeu-

präsynaptischen Auftreibung (dpr) sind Reste von Mitochondrien (M), synaptische Bläschen (sv) sowie Glykogen (Gly) sichtbar. Die Synapse (Sy) mit einem Dendriten (d) scheint völlig intakt zu sein. Nf – intakte Nervenfasern. Glut./OsO₄. Primärvergrößerung für A und B: 20000 ×.

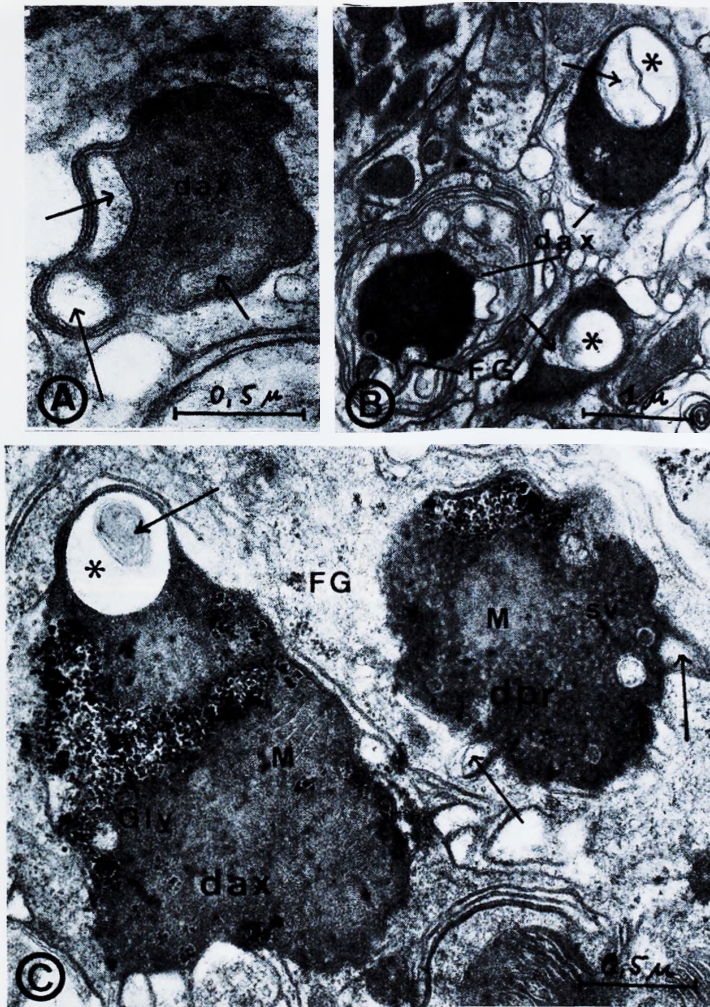


Abb. 7. Gliareaktion im degenerierten Neuropilgebiet. A: Degenerationszeit 4 Tage. Degeneriertes Axon (dax). An den mit Pfeilen bezeichneten Stellen sieht man Einstülpungen der Glia. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 20000 \times . — B: Degenerationszeit 4 Tage. Drei degenerierte Axone (dax). Links unten ist eine degenerierte Faser mehrfach durch Gliafortsätze (FG) umhüllt. An den mit Pfeil bezeichneten Stellen haben Glia-einstülpungen die degenerierten Fasern deformiert. An den mit Stern bezeichneten Stellen hat sich durch Ablösung der Axonplasmamembran eine Erweiterung des Extrazellulärraumes gebildet. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 13000 \times . — C: Degenerationszeit 9 Tage. Ein von breit-leibigen Gliafortsätzen (FG) umgebenes degeneriertes Axon (dax) und ein degenerierter Endknopf (dpr). Die Glia hat sich mehrfach (Pfeile) in die degenerierten Fasern eingestülpt. Der Stern entspricht wie oben einer Erweiterung des Extrazellulärraumes. Der Endknopf (dpr) mit synaptischen Bläschen (sv) scheint von der Glia weitgehend von postsynaptischen Fasern isoliert zu sein. M = Mitochondrium. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 20000 \times .

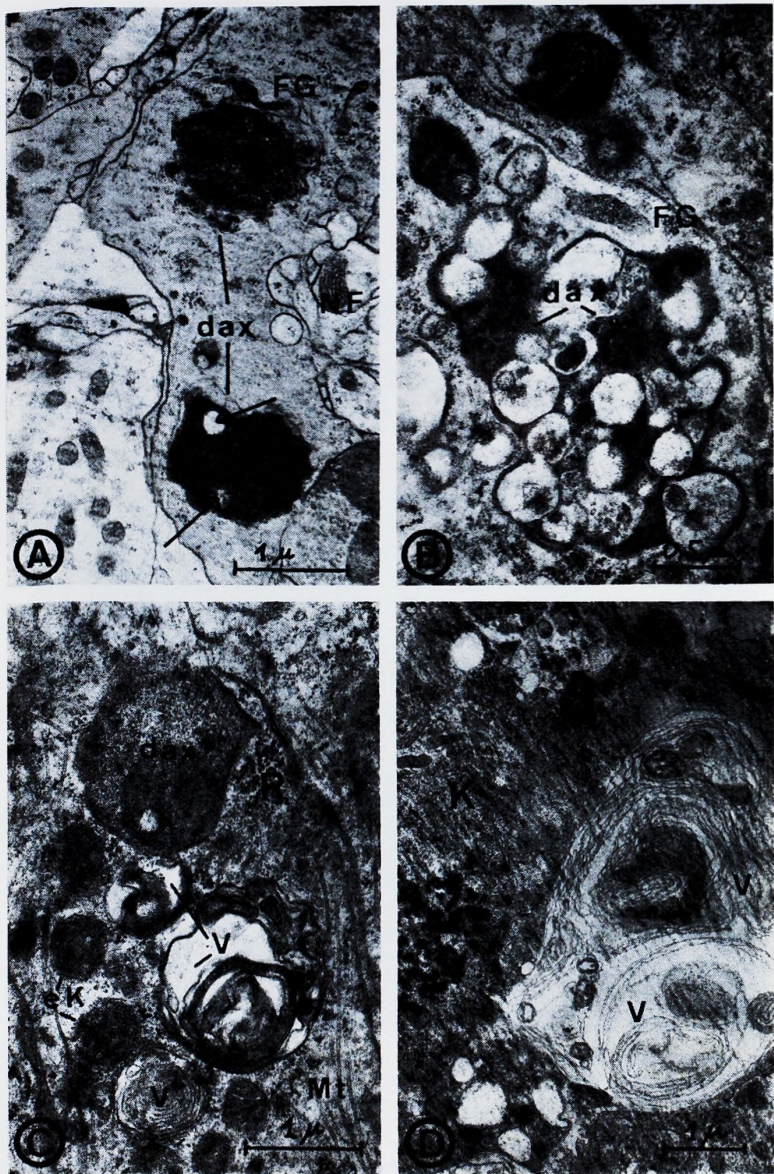


Abb. 8. Phagozytose-tätigkeit der Gliazellen. A: Degenerationszeit 3 Tage. Zwei degenerierte Axone (dax) am Rand des Neuropils von Faserhüllglia (FG) umgeben. Während das untere Axon zwei Gliazinstülpungen (\rightarrow) aufweist, sonst aber noch intakt erscheint, befindet sich das obere Axon in Form eines Fragmentes in einer glösen Verdauungsvakuole (V).

tet) an der Eintrittszone des Beinnerven ins Neuropil, wobei nicht zu entscheiden ist, ob es sich dabei um Schwanzzellen oder Faserhüllglia handelt. Der Prozeß der Axonfragmentierung und gliösen Phagozytose führt zu einer kontinuierlichen Reduktion von Degenerationszeichen im Ganglion. Immerhin sind auch noch nach 3½ Monaten Degenerationszeit im Phasenkontrastbild Degenerationsreste im Ganglion sichtbar.

Diskussion

1. Neuronale Veränderungen

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen und erweitern die aufschlußreichen Befunde, welche *Hess* bereits 1960 am Mesothorakalganglion der Küchenschabe (*Periplaneta americana*) erhoben hat. Dies gilt besonders für die Art und den zeitlichen Verlauf der Veränderung des degenerierenden Axons. Hauptkennzeichen ist die starke Zunahme der Elektronendichte; während die Faser schrumpft, quellen die Mitochondrien und runden sich dabei ab. Zytoplasmamembran, Mitochondrien und synaptische Bläschen bleiben zunächst noch sichtbar.

Diese Veränderungen sind an einigen Axonen schon nach 24 Stunden nachzuweisen, aber erst nach etwa 3-4 Tagen vermehrt vorhanden. Sie sind keineswegs für das Insekten-ZNS spezifisch, sondern finden sich in analoger Form bei der Wallerschen Degeneration im ZNS, im vegetativen Nervensystem und an der motorischen Endplatte der Wirbeltiere. So treffen wir diesen «elektronendichten» Degenerationstyp im Cortex (*Colonnier* und *Gray* [1962], *Colonnier* [1964], *Westrum* [1966]), im Hippocampus (*Andersen* et al. [1966]), in verschiedenen Regionen des Hirnstamms und der Medulla oblongata (*Walberg* [1963, 1965, 1966], *Alksne* et al. [1966]) sowie in der Substantia gelatinosa des Rückenmarks nach Durchtrennung der Hinterwurzel (*Ralston* [1965]). Im peripheren Nervensystem wird er unter ande-

Nf = normale Nervenfasern. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 8000 \times . - B: Degenerationszeit 6 Tage. Zahlreiche Fortsätze der Faserhüllglia (FG) durchdringen degeneriertes Axonmaterial (dax) und führen zu einem wabenförmigen Bild. Die Gliafortsätze enthalten verschiedenartige Bläschen. K = Kern einer Faserhüllgliazelle. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 20000 \times . - C: Degenerationszeit 6 Tage. Abbau von degenerierten Axonfragmenten in Verdauungsvakuolen (V), welche in Faserhüllglia (FG) eingeschlossen sind. Das an Ribosomen (R) und Mikrotubuli (Mt) reiche Zytoplasma der Gliazelle enthält degenerierte Axone in verschiedenen Stadien der Destruktion sowie elektronendichte Körper (eK), welche als Restprodukte der Verdauung gelten dürfen. dax = relativ erhaltenes degeneriertes Axon. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 20000 \times . - D: Degenerationszeit 13 Tage. Schwanzzelle im Beinnerv, welche die Reste degenerierten Materials in großen Verdauungsvakuolen (V) enthält. Beachte das dunkle ribosomenreiche Zytoplasma der Schwanzzelle und die in den Vakuolen auftretenden Membranpakete. K = Kern der Schwanzzelle. Glut./OsO_4 . Primärvergrößerung: 10000 \times .

rem in Endigungen präganglionärer Sympathikusfasern von *Taxi* (1964) und *Hunt* und *Nelson* (1965) beschrieben. An der motorischen Endplatte sind die gleichen Veränderungen am degenerierten Nerven durch *Birks, Katz, Miledi* (1960) festgestellt worden.

Daneben wird bei Wirbeltieren noch eine zweite Reaktionsform beschrieben, welche vor allem durch das Auftreten oder die Vermehrung von Neurofilamenten in den degenerierenden Endigungen gekennzeichnet ist. Dieses Bild wurde zum Beispiel im Tectum oticum des Kükens (*Gray* und *Hamlyn* [1962]), in efferenten Faserendigungen der Cochlea (*Smith* und *Rasmussen* [1965]) und im Kleinhirn (*Smith* et al. [1966]) beobachtet. *Guillery* (1965) deutet diese Reaktionsform als einen abortiven Regenerationsversuch. Über diesen Reaktionstyp existieren allerdings zum Teil sich widersprechende Befunde: Während *Guillery* (1965) nach Entfernung eines Auges bei Affen im Corp. gen. lat. ausschließlich eine neurofilamentöse Reaktion beschreibt, finden *Szentágothai* et al. (1966) nach Durchtrennung der Nn. optici bei Katzen im Corp. gen. lat. zunächst ebenfalls eine Neurofilamentvermehrung, welche aber am Ende des 5. Tages dem «elektronendichten» Degenerationstyp Platz macht. Jedenfalls scheint dieser Typ bei Insekten nicht vorzukommen, um so mehr, als Neurofilamente auch im normalen Insektennervensystem fehlen.

Besondere Beachtung verdient das Verhalten der synaptischen Strukturen bei der Degeneration, über welches *Hess* (1960) bei Periplaneta aus technischen Gründen noch keine Aussagen machen konnte. Die normale Struktur der Synapsen im ZNS der Ameise (Abb. 5C) wurde bereits von *Steiger* (1967) eingehend dargestellt. Wir können nun, übereinstimmend mit den Befunden beim Wirbeltier, feststellen, daß sich auch die Synapse im Insekten-ZNS gegenüber der Wallerschen Degeneration als relativ resistente Struktur erweist. Auch läßt sich die postsynaptische Membran mit ihrer Verdichtung ohne weiteres erkennen.

Über transsynaptische Degeneration, welche im Hinblick auf die Postulate der Neuronentheorie großes Interesse beansprucht und seit *Minakowski* (1920) von einer Reihe von Autoren festgestellt wurde, sind bisher nur wenige elektronenmikroskopische Beobachtungen vorhanden. So beschreiben *Gray* und *Hamlyn* (1962) und *Taxi* (1964) das Verschwinden von postsynaptischen Organellen. Andererseits können *Smith* und *Rasmussen* (1965) noch 30 Tage nach Durchschneidung des olivocochleären Bündels intakte subsynaptische Säcke in den Haarzellen der Cochlea finden, obwohl die präsynaptischen Endigungen bereits völlig verschwunden sind. In unserem Material ist schwer zu entscheiden, ob die normalerweise sehr ausgeprägte postsynaptische Membranverdickung in jedem Fall erhalten bleibt.

Sicher ist, daß wir auch nach 13 Tagen Degenerationszeit noch normal erscheinende Synapsen antreffen.

2. Die Reaktion der Glia

Bereits nach etwa 3 Tagen haben die Faserhüllglia im Neuropil und die Schwanzzellen im peripheren Nerven mit der Durchdringung und vermehrten Umschließung der degenerierten Axone begonnen. Während dem nun folgenden Zerfall des Axons kommt es in den Gliafortsätzen zu einer Vermehrung von zytoplasmischen Strukturen, zur Phagozytose und Verdauung von Axonfragmenten in lysosomalen Vakuolen der Gliazellen. Etwa 10 Tage nach Beginn der Degeneration ist zusätzlich zur Proliferation der Gliafortsätze eine sichtbare Vermehrung der Gliazellzahl festzustellen.

Die elektronenmikroskopischen Arbeiten haben bisher nur wenig Aufschluß über die Gliareaktion bei der Wallerschen Degeneration im Wirbeltier ZNS gegeben. Dies hat wohl verschiedene Gründe: Die Unterscheidung von gliösen und neuronalen Fortsätzen scheint gelegentlich Schwierigkeiten zu bereiten. Oft ist auch anhand eines Zellfortsatzes eine Aussage über seine Zugehörigkeit zu einer bestimmten Gliaorte (Astroglia, Oligodendroglia, Mikroglia) unmöglich. Schließlich gibt es offenbar erhebliche regionale Unterschiede in der Gliorganisation (*Alksne et al. [1966]*).

Auch in unseren eigenen Bildern, vor allem solchen mit mangelhafter Fixation, lassen sich gliöse und neuronale Elemente nicht überall unterscheiden. Möglicherweise liegt darin auch die Erklärung dafür, daß *Hess (1960)* bei *Periplaneta* wohl eine starke Vermehrung der Gliazellen in den durchtrennten Konnektiven, jedoch keine Gliareaktion im Neuropil beschreibt. Die bei der Ameise beobachtete erste Gliareaktion, welche aus einer vermehrten Umhüllung degenerierter Fasern besteht, wurde auch beim Wirbeltier beobachtet (*Colonnier und Gray [1962]*, *Alksne et al. [1966]*). Eine ähnliche Reaktion findet sich bei Schwanzzellen des sympathischen Ganglions nach Durchtrennung der präganglionären Fasern (*Taxi [1964]*, *Hunt und Nelson [1965]*).

Während zum Beispiel im Wirbeltiercortex nach *Colonnier (1964)* Astroglia, Oligodendroglia und Mikroglia an der Phagozytose der degenerierten Endigungen beteiligt sein soll, entfällt im Insektenganglion auf Grund der klaren gliösen Organisation eine Beteiligung der Perikaryenhüllglia an der Wallerschen Degeneration sensibler Fasern. Die Phagozytose degenerierter Fragmente findet ausschließlich durch Schwanzzellen und Faserhüllglia statt.

Die Sonderstellung, welche die neurofilamentöse Reaktion im Wirbeltier ZNS einnimmt, wird auch dadurch betont, daß in keinem Fall eine klare

Gliareaktion beschrieben wird, obwohl auch hier die degenerierten Endigungen verschwinden (*Gray und Hamlyn [1962]*).

Einen besonderen Kommentar verdient noch die Frage, wie sich die Glia gegenüber den synaptischen Verbindungen zwischen degenerierten und normalen Fasern verhält. *Colonnier und Gray (1962)* und *Colonnier (1964)* zeigen Abbildungen, auf welchen degenerierte Endknöpfe mit angehefteter postsynaptischer Membran, ähnlich den «Synaptosomen» von *Gray und Whittaker (1960)*, rings von Glia umschlossen sind. Sie diskutieren die Möglichkeit, daß ein Teil des postsynaptischen Elementes in die Phagozytose der Präsynapse miteinbezogen wird. In unserem Bildmaterial gibt es dafür bisher keine Anhaltspunkte; übereinstimmend mit den Befunden von *Westrum (1966)* nehmen wir an, daß nur das degenerierte Element phagozytiert wird und die Glia damit das Gesetz der neuronalen Diskontinuität respektiert.

Zusammenfassung

Die Wallersche Degeneration wurde mit Hilfe des Elektronenmikroskopes an den sensiblen Nervenendigungen im Neuropil des Prothorakalganglions nach Amputation des entsprechenden Beines bei der Waldameise untersucht. Die Befunde zeigen weitgehende Übereinstimmung mit denjenigen im Nervensystem der Wirbeltiere. Die ersten Veränderungen treten nach 24 Stunden auf und sind nach 3–4 Tagen voll etabliert. Das Axoplasma schrumpft und wird stark elektronendicht; bereits nach etwa 4 Tagen beginnt der Zerfall des zunächst perlschnurförmigen Gebildes. Der Endknopf zeigt die gleiche dunkle Verfärbung, wobei die synaptischen Bläschen als helle Flecken noch lange Zeit erkennbar bleiben. Die synaptischen Strukturen sind allgemein resistent. Transsynaptische Veränderungen konnten nicht festgestellt werden. Die Gliazellen vermehren sich und durchdringen das degenerierende Axon mit proliferierenden Fortsätzen. Nach und nach werden die Axonfragmente durch Vakuolen der umhüllenden Gliazellen phagozytiert. Auch die Gliareaktion macht am synaptischen Spalt Halt. Die Glia scheint nur das degenerierte präsynaptische, nicht das intakte postsynaptische Element anzugreifen.

Summary

The Wallerian degeneration was investigated with the aid of the electron microscope in sensory nerve endings of the prothoracic ganglion of the wood ant following the amputation of the corresponding leg. The findings are similar to those in the vertebrate nervous system. The first changes are seen after 24 hours and are established more fully after 3–4 days. The axoplasm shrinks and appears more electrondense. Fragmentation of the initially beaded axon starts approximately after 4 days. The degenerated

endknob appears equally dark; yet, the synaptic vesicles form bright spots and are preserved for many days. The synaptic structures seem generally quite resistant. No transsynaptic degenerative changes could be observed. The glial cells are numerically increased and penetrate the degenerating axoplasm. The axonal fragments are phagocytosed by vacuoles of the surrounding glial cytoplasm. The glial reaction seems to respect the boundaries of the degenerating neuron.

Résumé

Les processus de dégénérescence Wallérienne chez la fourmi ont été étudiés dans les terminaisons nerveuses sensorielles du ganglion prothoracique après amputation de la patte correspondante. Les résultats de cette étude présentent une grande ressemblance avec les observations faites dans le système nerveux des vertébrés. Les premières modifications apparaissent 24 heures après l'opération et sont plus clairement visibles après 3 à 4 jours. L'axoplasme se rétrécit et devient par la suite plus dense en électrons. Après 4 jours environ l'axone, qui au début avait pris l'aspect d'une chaîne de perles, commence à se décomposer. Le bouton terminal prend aussi une teinte foncée à la coloration, bien que les vésicules synaptiques soient visibles encore longtemps comme des petites taches claires. Les structures synaptiques sont en général résistantes. Aucune modification transsynaptique n'a pu être constatée. Le nombre des cellules gliales augmente et leurs prolongements pénètrent à l'intérieur de l'axone qui dégénère. Peu à peu les morceaux d'axone sont phagocytés par les vacuoles des cellules gliales qui les enveloppent. Cette réaction gliale se limite à l'axone même et s'arrête à la synapse.

Literatur

Alksne J. F., Blackstad T. W., Walberg F., White L. E. jr.: Electron microscopy of axon degeneration: A valuable tool in experimental neuroanatomy. *Erg. Anat. Entw. Gesch.* 39, 1-31 (1966). - *Andersen P., Blackstad T. W. and Lømo T.*: Location and identification of excitatory synapses on hippocampal pyramidal cells. *Exp. Brain Res.* 1, 236-248 (1966). - *Bodenstein D.*: Studies on nerve regeneration in *periplaneta americana*. *J. exp. Zool.* 136, 89-115 (1957). - *Birks R., Katz B., Miledi R.*: Physiological and structural changes at the amphibian myoneural junction in the course of nerve degeneration. *J. Physiol. (Lond.)* 150, 145-168 (1960). - *Colonnier M.*: Experimental degeneration in the cerebral cortex. *J. Anat. (Lond.)* 98, 47-53 (1964). - *Colonnier M., Gray E. G.*: Degeneration in the cerebral cortex. *V. Int. Congr. Electron Microscopy (Ed. S. Broese Jr.)* 2, p. U-3, New York and London: Academic Press (1962). - *Dowling J. E., Cowan W. M.*: An electron microscopic study of normal and degenerating centrifugal fiber terminals in the pigeon retina. *Z. Zellforsch.* 71, 14-28 (1966). - *Gray E. G., Hamlyn L. H.*: Electron microscopy of experimental degeneration in the avian optic tectum. *J. Anat. (Lond.)* 96, 309-316 (1962). - *Gray E. G.*: Problems of interpreting the fine structure of vertebrate and invertebrate synapses. *Int. Rev. Gen. exp. Zool.* 2, 139-170 (1966). - *Gray E. G., Whittaker V. P.*: The isolation of synaptic vesicles from the central nervous system. *J. Physiol. (Lond.)* 153, 35-37P (1960). - *Gray E. G., Guillery R. W.*: Synaptic morphology in the normal and degenerating nervous system. *Int. Rev. Cytol.* 19, 111-182 (1966). - *Guillery R. W.*: Some electron microscopical observations of degenerative changes in central nervous synapses. In: «Degeneration patterns in the nervous system». (M. Singer and J. P. Schädé, ed.) *Progr. Brain Res.* 14, 57-76. Amsterdam-New York 1965. - *Hamori J., Szentgöthai J.*: Identification under the electron microscope of climbing fibers and their synaptic contacts. *Exp. Brain Res.* 1, 65-81 (1966). - *Hess A.*: Experimental anatomical studies of pathways in the severed central nerve cord of the cockroach. *J. Morph.* 103, 479-502 (1958). - *Hess A.*: The fine structure of degenerating nerve fibers, their sheaths, and their terminations in the central nerve cord of the cockroach (*Periplaneta americana*). *J. biophys. biochem. Cytol.* 7, 339-344 (1960). - *Hunt C. C., Nelson P. G.*: Structural and functional changes in the frog sympathetic ganglion following cutting of the presynaptic fibers. *J. Physiol. (Lond.)* 177, 1-20 (1965). - *Lamparter H. E.*: Die strukturelle Organisation

des Prothorakalganglions bei der Waldameise (*Formica lugubris* Zett.). *Z. Zellforsch.* 74, 198–231 (1966). – *Melamed J.* and *Trujillo-Cénoz O.*: Electron microscopic observations on the reaction changes occurring in insect nerve fibers after transection. *Z. Zellforsch.* 59, 851–856 (1963). – *Minkowski M.*: Über den Verlauf, die Endigung und die zentrale Repräsentation von gekreuzten und ungekreuzten Sehnervenfasern bei einigen Säugetieren und beim Menschen. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* 6, 201–252; 7, 268–303 (1920). – *Ralston H. J.*: The organization of the substantia gelatinosa Rolandi in the cat lumbosacral spinal cord. *Z. Zellforsch.* 65, 1–23 (1965). – *Robertis de E.*: Submicroscopic changes of the synapse after nerve section in the acoustic ganglion of the guinea pig. An electron microscope study. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 503–512 (1956). – *Sabatini D. D., Bensch K., Barnett R. J.*: The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell. Biol.* 17, 19–58 (1963). – *Smith C. A., Rasmussen G. L.*: Degeneration in the efferent nerve endings in the cochlea after axonal section. *J. Cell. Biol.* 26, 63–77 (1965). – *Smith K. R., Hudgens R. W., O'Leary J. L.*: An electron microscopic study of degenerative changes in the cat cerebellum after intrinsic and extrinsic lesions. *J. Comp. Neurol.* 126, 15–36 (1966). – *Steiger U.*: Über den Feinbau des Neuropils im Corpus pedunculatum der Waldameise. *Z. Zellforsch.* 81, 511–536 (1967). – *Szentágothai J.*: The use of degeneration methods in the investigation of short neuronal connexions. In: *Degeneration Patterns in the nervous system.* (M. Singer and J. P. Schade, ed.) *Progr. Brain Res.* 14, 1–30, Elsevier, Amsterdam 1965. – *Szentágothai J., Hamori J., Tömböl T.*: Degeneration and electron microscope analysis of the synaptic glomeruli in the lateral geniculate body. *Exp. Brain Res.* 2, 283–301 (1966). – *Taxi J.*: Etude de certaines synapses interneuronales du système nerveux autonome. *Acta neuroveget.* 26, 360–372 (1964). – *Walberg F.*: Role of normal dendrites in removal of degenerating boutons. *Exp. Neurol.* 8, 112–124 (1963). – *Walberg F.*: An electronmicroscopic study of terminal degeneration in the inferior olive of the cat. *J. comp. Neurol.* 125, 205–222 (1965). – *Walberg F.*: The fine structure of the cuneate nucleus in normal cats and following interruption of afferent fibers. An electron microscopical study with particular reference to findings made in Gleys and Nauta sections *Exp. Brain Res.* 2, 107–128 (1966). – *Waller A. V.*: Nouvelle méthode pour l'étude du système nerveux applicable à l'investigation de la distribution anatomique des cordons nerveux. *C. R. Acad. Sci.* 33, 606–611 (1851). – *Westrum L. E.*: Electron microscopy of degeneration in the prepyriform cortex. *J. Anat. (Lond.)* 100, 683–685 (1966).