

spectrum of the different type of fibers. The significance of these observations is strengthened by the fact that the 2 categories of fibers (type I and intermediate) are demonstrable as much by planimetric means as by the optical density of the tetrazolium-staining reaction.

Photometric determinations are more critical when dealing with the PAS reaction because of the smaller scale between the 2 extremes of the readings. However, it is apparent that the intermediate size fibers contain more glycogen than the other 2 categories. The functional significance of the intermediate fibers is unknown. It is believed from embryogenesis studies of the chicken muscle that they are precursors of white-muscle fibers¹¹. But even if their exact role remains undetermined, the existence of a third category of fibers in well-differentiated muscle has significant morphologic bearings. Such fibers are distinctive in their size, their weaker reaction to succinic dehydrogenase and a smaller proportion of the large type of mitochondria, and their relatively high glycogen content¹².

Résumé. Les mesures d'intensité de la réaction à la succino-déshydrogénase et de la surface des fibres des muscles quadriceps et solaire chez le rat nous ont permis d'individualiser un groupe de fibres intermédiaires qui se situe entre les fibres rouges (type I) et blanches (type II). Les fibres intermédiaires ont une activité enzymatique et une population mitochondriale distinctes, une taille moyenne et une teneur élevée en glycogène.

J. VINCELETTE and G. JASMIN

Department of Pathology, University of Montreal,
Montreal 3 (Canada), 4 September 1968.

¹¹ N. I. GERMINO, H. d'ALBORA and J. P. WAHRMANN, Acta anat. 62, 434 (1965).

¹² This investigation has been supported by a grant from the Muscular Dystrophy Association of Canada.

Einbau von ^3H -Uridin in Follikelepithezelzellen degenerierender Oozyten beim Zebrafisch, *Brachydanio rerio* (Ham. Buch.)

In Ovarien vieler Tierarten treten regelmässig degenerierende Eizellen auf¹⁻³. An der Resorption dieser Oozyten ist das Follikelepithez aktiv beteiligt, wobei es durch Einfaltung zu mehrschichtigen Zelleisten kommt, die in die Dottermassen hineinragen¹, oder zur Einwanderung von Follikelepithezelzellen⁴. Letzteres ist auch bei *Brachydanio rerio* der Fall. Schon bei Beginn der Degeneration sind im Zytosplasma dieser Zellen histologisch Vakuolen¹ und Kohlenhydrateinschlüsse⁵ und elektronenmikroskopisch abnorme Lamellenstrukturen⁴ nachweisbar, was auf einen grundlegenden Funktionswandel hindeutet. Am Beispiel der RNS-Synthese wurde autoradiographisch untersucht, inwieweit mit der veränderten Funktion der Follikelepithezelzellen eine Stoffwechselumstellung einhergeht.

Ausgewachsenen weiblichen Zebrafischen wurde i.p. ^3H -Uridin (0,025 ml wässrige Tracerlösung = 12,5 μC pro Versuchstier) verabreicht. Nach Inkubationszeiten von 1-12 h wurden die Tiere getötet und von den Ovarien nach histologischer Aufbereitung Autoradiogramme hergestellt (Kodak-Strippingfilm AR 10). Die Expositionszeit betrug 28 Tage.

Nach kurzen Inkubationszeiten (1-4 h) waren in den Autoradiogrammen degenerierender Eizellen vorwiegend die Zellkerne des Follikelepithez markiert, während nach längerer Inkubation zunehmend auch ausserhalb der Kerne Silberkörner lagen. Die Markierung war in allen Fällen um ein Vielfaches höher als in normal sich entwickelnden Follikeln. Figur 1 zeigt das Autoradiogramm einer fast ausgewachsenen Eizelle (Stadium IV⁶) zu Beginn der Degeneration. Die intensive Schwärzung über dem Follikelepithez steht in starkem Kontrast zur geringen Markierung bei normal sich entwickelnden Eizellen. In der Zona radiata sind mehrere Aussparungen deutlich markiert, in denen im histologischen Bild nach feulgen-Färbung Kerne einwandernder Zellen nachweisbar sind. Figur 2 zeigt das Autoradiogramm einer Eizelle in einem fortgeschrittenen Degenerationsstadium. Im Bereich der eingewanderten Zellen, deren Grenzen im histologischen Bild nicht sichtbar sind, deren Kerne aber Feulgen-

positiv erscheinen, findet sich eine starke Markierung, in der Dotterschollenbruchstücke ausgespart sind. Nach zweistündiger RNase-Behandlung bei 37°C (0,5%ige RNase-Lösung, 40 Kunitz-Einheiten/mg) war in den Autoradiogrammen nur noch 10-12% der ursprünglichen Radioaktivität nachweisbar.

Die hohe RNase-empfindliche ^3H -Uridin-Einbaurate ist Ausdruck einer gesteigerten RNS-Synthese in den Follikelepithezelzellen degenerierender Oozyten. Es erfolgt also neben histologisch und elektronenmikroskopisch

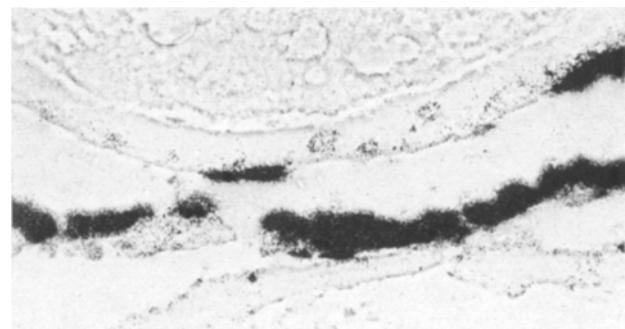


Fig. 1. Autoradiogramm einer degenerierenden Eizelle (Stadium IV⁶) nach zwölfstündiger Inkubation mit ^3H -Uridin. Das stark markierte Follikelepithez ist teilweise durch die Präparation von der Zona radiata gelöst. Dadurch wird die Markierung über einwandernden Zellen auffälliger. $\times 560$.

¹ O. LUSIS, Q. Jl microsc. Sci. 104, 57 (1963).

² J. F. G. WHEELER, Q. Jl microsc. Sci. 68, 641 (1935).

³ W. BURKL, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 58, 369 (1962).

⁴ H. FLÜGEL, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 83, 82 (1967).

⁵ W. ENGELS und K. BIER, Wilhelm Roux Arch. EntwMech. Org. 158, 64 (1967).

⁶ K. H. KORFSMEIER, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 71, 283 (1966).

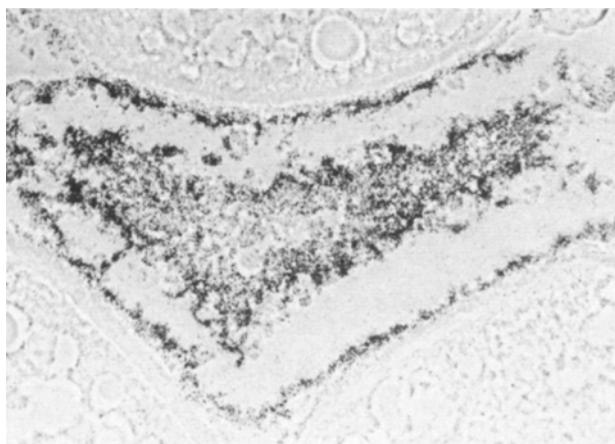


Fig. 2. Autoradiogramm einer Eizelle in fortgeschrittenem Degenerationsstadium nach zwölfstündiger Inkubation mit ^3H -Uridin. Im Bereich eingewanderter Folliklelepithelzellen liegt eine starke Markierung. Die benachbarten, normal sich entwickelnden Eizellen sind weitgehend frei von Radioaktivität. $\times 224$.

sichtbaren Veränderungen eine Stoffwechselumstellung, die wahrscheinlich zur Bildung lytischer Enzyme notwendig ist.

Die Untersuchungen über die Funktion des Folliklelepithels bei der Oozytendegeneration werden fortgesetzt.

Summary. The incorporation of tritiated uridine into the follicular epithelium of degenerating oocytes of the zebrafish, *Brachydanio rerio*, was studied by radioautography. After incubation times from 1–12 h, the labelling of the follicular epithelial cells of degenerating oocytes was several times higher than in normal developing follicles. This indicates an increase of RNA-synthesis, probably necessary for the formation of lytic enzymes.

K.-H. KORFSMEIER

Anatomisches Institut der Universität,
87 Würzburg (Deutschland),
9. September 1968.

Über die Aktivität der Azetylcholinesterase der Rattenretina nach Opticusdurchtrennung

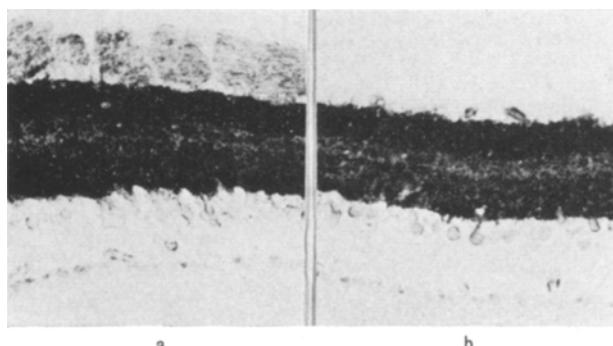
Lichtmikroskopisch-histochemisch¹ lässt sich eine starke Azetylcholinesteraseaktivität in der inneren plexiformen Schicht der Retina der Ratte nachweisen^{2,3}. Die Aktivität ist beim normalen Tier im inneren Drittel und in einer breiten Aussenzone dieser Schicht besonders kräftig, ferner fallen 2-3 stärker hervortretende Streifen in der sonst schwach reagierenden Mittelzone auf; eine mittelstarke Aktivität zeigt die Opticusfaserschicht (Figur a). Während über die physiologische Bedeutung des Enzyms für die Erregungsübertragung weitgehende Einigkeit besteht, ist seine Lokalisation innerhalb der Neuronenketten der Retina umstritten⁴. Einen Hinweis zur Klärung dieser Frage gibt unsere Beobachtung der Azetylcholinesteraseaktivität nach Durchtrennung des Nervus opticus. Die Operation erfolgte in Äthernarkose unter einem Stereomikroskop; der Sehnerv wurde einseitig kurz vor dem Chiasma durchtrennt, so dass die Blutversorgung der Retina intakt blieb. Das Gelingen des Eingriffes wurde durch die fehlende Pupillenreaktion des betroffenen

Auges und die nachträgliche Sektion bestätigt. Als Kontrollen dienten die nichtoperierte Seite sowie die Augen normaler Tiere. In den bisher ausgewerteten Versuchen wurden die Retinen 5 Tage, 8 Tage und 8 Wochen nach der Operation untersucht. Dabei ist in allen Fällen in der inneren plexiformen Schicht mit histochemischer Methodik kein Unterschied in der Verteilung und Aktivität der Azetylcholinesterase erkennbar. Die gleiche Beobachtung wurde bereits beim Kaninchen beschrieben⁴. Die Aktivität der Nervenfaserschicht ist dagegen am 5. und 8. Tag deutlich abgeschwächt, nach 8 Wochen ist diese Schicht verschwunden (Figur b). Soweit lichtmikroskopisch beurteilbar, sind zu dieser Zeit die Opticusganglienzellen zugrunde gegangen bzw. sehr stark alteriert. Der Befund bedeutet, dass die Enzymaktivität keinesfalls in zentrifugalen Opticusfasern und sehr wahrscheinlich auch nicht in den Dendriten der Opticusganglienzellen lokalisiert ist. Als Möglichkeiten kommen die Neuriten der Bipolaren, die Amakrinen und die Horizontalzellen in Frage. Zur weiteren Klärung sind elektronenmikroskopische Untersuchungen im Gange.

Summary. The activity of acetylcholinesterase was demonstrated histochemically at the light microscopic level in the rat retina after unilateral section of the optic nerve. In the nerve fiber layer, the enzyme has disappeared completely 8 weeks after the operation, whereas it seems not affected in the inner plexiform layer.

H. H. WOLFF

Anatomisches Institut der Universität,
87 Würzburg (Deutschland), 18. November 1968.



Gegenüberstellung der beiden Retinen einer Ratte 8 Wochen nach einseitiger Opticusdurchtrennung. (a) Auf der Normalseite starke Reaktion der inneren plexiformen Schicht, mittelstarke der Opticusfaserschicht (oben). (b) Auf der operierten Seite ist die Opticusfaserschicht verschwunden, während die Reaktion der inneren plexiformen Schicht unverändert bleibt.

¹ M. J. KARNOVSKY und L. Roots, *J. Histochem. Cytochem.* 12, 219 (1964).

² D. EICHNER, in *Handbuch der Histochemie*, Vol. 7/2 (Ed. W. GRAUMANN und K. NEUMANN; G. Fischer, Stuttgart 1962).

³ M. NIEMI, in *Neurohistochemistry* (Ed. C. W. M. ADAMS; Elsevier, Amsterdam-London-New York 1965).

⁴ C. W. NICHOLS and G. B. KOELLE, *Science* 155, 477 (1967).