

Aus dem Institut für Neuropathologie der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. G. KERSTING) und dem Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie der Medizinischen Akademie Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. H. RUSKA)

## **Elektronenmikroskopische Befunde an normalen und pathologischen Nervenzellkernen**

Von

**JORGE CERVÓS-NAVARRO**

Mit 8 Textabbildungen

*(Eingegangen am 16. Juli 1962)*

Die Struktur des Cytoplasmas der Zelle zeigt einen hochorganisierten Aufbau mit zahlreichen Membranen, die verschiedene Mischphasen voneinander trennen und deren multimakromolekularer Organisation entsprechen. Daher beschäftigt sich die Mehrzahl der elektronenmikroskopischen Arbeiten mit cytoplasmatischen Strukturen. Demgegenüber bietet der Zellkern ein anscheinend eintöniges granuläres Aussehen, das seiner unimakromolekulären Konstitution besser entspricht (DANIELLI 1959). Dies bedeutet eine gewisse Schwierigkeit bei der Erhebung differenzierter elektronenmikroskopischer Befunde des Kerninhalts, weil die den funktionellen Grundeinheiten entsprechenden Strukturen in einer Größenordnung liegen, die auch für die Elektronenmikroskopie an der Grenze des Auflösungsvermögens steht. In dem für die Mehrzahl elektronenmikroskopischer Untersuchungen gebrauchten osmiumfixierten Material stellt sich zunächst die Aufgabe der Zusammenstellung einer genügenden Anzahl von Bildern, die es erlaubt, das Äquivalentbild des fixierten Kerninhaltes zu beurteilen. Dazu müssen die elektronenmikroskopischen Strukturen mit Befunden anderer Forschungsmethoden—insbesondere denen der Ultraviolettspektrographie, der Histochemie und der Automikroradiographie—in Beziehung gebracht werden. Alle diese Forschungsrichtungen sind aufeinander bezogen und endgültige Resultate liegen in keiner vor. In der Elektronenmikroskopie vor allem deswegen, weil die Befunde über den Kerninhalt in verschiedenen Untersuchungsobjekten erhoben wurden, bei denen die angewandten präparatorischen Maßnahmen oftmals in geringerem, manchmal jedoch auch in größerem Ausmaß voneinander abweichen. Darüber hinaus fehlt es an genügenden Untersuchungen von Serienschnitten, die allein zu einer richtigen räumlichen Darstellung des Kerninhalts führen können. Im Einzelschnitt wird eine dünne Schicht dargestellt, deren Dicke um 100 m $\mu$  liegt und daher nur sehr schwer mit den größeren Maßen von mehreren

Mikron Dicke vergleichbar ist, die die vorher erwähnten Methoden erfassen.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Mitosekernen (BEERMANN u. BAHR 1954; WESSEL u. BERNHARD 1957; ROTH, OPTZ u. DANIELS 1960; YASUZUMI, PAPPAS, YAMAMOTO u. TSUBO 1961) konnten bei den Chromosomen keine regelmäßige Strukturorganisation, sondern nur eine Verdichtung granulärer und fädiger Strukturen darstellen. Einen aufschlußreicherem Beitrag zur morphologischen Grundlage der Mitosen haben die elektronenmikroskopischen Befunde an Centriolen (DE HARVEN u. BERNHARD 1956; AMANO 1957; BESSIS, BRETON-GORIUS u. THIÉRY 1958) sowie die Darstellungen der fibrillären Verbindungen zwischen Centriolen und Chromosomen (RUTHMANN 1958; BERNHARD u. DE HARVEN 1960) geliefert. Da reife Nervenzellen unter normalen Umständen keine Mitose durchmachen und wir dementsprechend auch über keine Befunde am Mitosekern verfügen, bleibt dieses Problem unberücksichtigt.

Elektronenmikroskopische Beobachtungen am Zellkern in der Interphase haben wichtige Kenntnisse über die Kernmembranen erbracht, über die circumnukleäre Cisterne, die sogenannten Kernporen und über die auf Grund elektronenmikroskopischer Bilder anzunehmenden Beziehungen zwischen Kern und Cytoplasma einerseits und zwischen der circumnukleären Cisterne und dem endoplasmatischen Reticulum andererseits (AFZELIUS 1955; WATSON 1955; TURIAN u. KELLENBERGER 1956; BEAMS, DAHMISIAN, DEVINE, ANDERSON 1957; WIESCHNITZER 1958; WATSON 1959; YASUZUMI 1959; PALAY 1960). Diese Befunde demonstrieren, daß der Kern von einer etwa  $10 \text{ m}\mu$  dicken Membran, der karyoplasmatischen Kernmembran gegenüber einem circumnukleären Raum abgegrenzt wird. Zwischen der circumnukleären Cisterne und der cytoplasmatischen Matrix findet sich eine etwas dünnere Membran von etwa  $8 \text{ m}\mu$ , die cytoplasmatische Kernmembran. An einzelnen Stellen erkennt man eine direkte Verbindung der circumnukleären Cisterne mit den Räumen des endoplasmatischen Reticulums, so daß die äußere Grenzmembran des circumnukleären Raumes und die des endoplasmatischen Reticulums kontinuierlich miteinander verbunden sind. Diese strukturelle Anordnung ändert sich an den Kernporen, wo Nucleo- und Cytoplasma direkt miteinander kommunizieren.

Viel spärlicher sind die Ergebnisse bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen über den Kerninhalt, der aus Granula und fädigen Strukturen besteht. Die Granula zeigen eine Größe zwischen 10 und  $50 \text{ m}\mu$  (AMANO, DOHI, THAMAKA, UCHINO u. HANAOKA 1956; FAWCET 1956; MOSES 1956; RIS 1957; SOTELO u. TRUJILLO-CENÓZ 1958). Die fädigen Strukturen weisen zum Teil eine spirale Form und eine Länge bis zu  $300 \text{ m}\mu$  auf. Die Anordnung der nucleären Strukturen variiert in den verschiedenen Zellen, je nach der Art des Gewebes und des untersuchten Tieres. Während in einigen Zellen eine homogene Verteilung durch das gesamte Nucleoplasma erkennbar wird, lassen sich bei anderen Zellen eindeutige Verdichtungszonen nachweisen. Das Kernkörperchen stellt sich als eine Ansammlung granulärer Elemente dar, die wegen ihrer Dichte und ihres starken Kontrastes im elektronenmikroskopischen Bild nach Osmiumfixierung von dem Rest des Nucleoplasmas und den vorher erwähnten Verdichtungszonen zu unterscheiden sind. Innerhalb des Nucleolus findet man Aufhellungen verschiedener Größe, die eine gleiche Struktur und Kontrastarmut wie die des Nucleoplasmas der übrigen Kerne zeigen. Darüber hinaus unterscheiden einige Autoren im Kernkörperchen ein strukturiertes Netzwerk, das sogenannte Nucleolonema, und einen amorphen Teil, der als eine Art diffuse Matrix dargestellt wird, in der das strukturierte Nucleolonema eingebettet ist (BORYSKO u. BANG 1951; BERNHARD, BAUER, GROPP, HAGENAU u. OBERLING 1955).

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über Untersuchungen an Kernen von Nervenzellen des Spinalganglions der Ratte und der parietalen Hirnrinde des Kaninchens. Berücksichtigt werden dabei neben normalen Nervenzellen, die gesunden Tieren entnommen wurden, auch Spinalganglienzellen nach Durchtrennung des peripheren Nervs. Die infolge dieses Eingriffes hervorgerufenen Veränderungen im Kern und Kernkörperchen zeigen keine qualitativen strukturellen Unterschiede gegenüber dem gesunden Kern, sondern lediglich Veränderungen in der Größe und räumlichen Verteilung der sonst in normalen Zellkernen vorhandenen Strukturen. Allerdings waren diese Unterschiede im Gegensatz zu ANDRES (1961 b) in den von uns untersuchten retrograd veränderten Spinalganglienzellen deutlich zu erkennen (CERVÓS-NAVARRO 1959, 1961, 1962).

### Material und Methoden

Für unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden 22 Ratten und 18 Kaninchen verwendet. Die Tiere wurden mit Nembutal (Abbot) narkotisiert, operiert, und das *in vivo* entnommene Material wurde sofort in isotonischer Lösung mit 1% Osmiumtetroxyd und 1% Kaliumbichromat (pH 7,2) für ca. 1–3 Std fixiert. Die Entwässerung erfolgte über die Acetonreihe. Ein Teil des Materials wurde einer Nachkontrastierung im Block mit 0,5%igem Uranylacetat und 1%iger Phosphor-Wolfram-Säure (nach WOHLFAHRT-BOTTERMANN 1957) unterzogen. Die retrograd veränderten Nervenzellen wurden aus Spinalganglien von Ratten gewonnen, deren Nervi ischiadici 4–14 Tage vor Materialentnahme unterhalb oder oberhalb des Foramen ischiadicum durchschnitten wurden. Die Einbettung der Gewebe erfolgte in Vestopal W.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden mit dem Siemens-Elektronenmikroskop UM 100 nach RUSKA und v. BORRIES durchgeführt.

### Ergebnisse

Der Kern der Nervenzellen erscheint im einzelnen Schnitt als eine vorwiegend granuläre Struktur. Er wird gegenüber der circumnucleären Cisterne durch eine Membran abgegrenzt. Die circumnucleäre Cisterne ihrerseits wird durch eine zweite Membran von dem Cytoplasma abgegrenzt. Der Abstand zwischen beiden Membranen variiert von einer Zelle zur anderen und sogar in einer und derselben Zelle. Wenn die Räume des endoplasmatischen Reticulums erweitert sind, findet man in der Regel auch eine Erweiterung der circumnucleären Cisterne (Abb. 1). Der Inhalt der circumnucleären Cisterne ist kontrastarm und stellt sich elektronenmikroskopisch strukturlos dar. Das Aussehen entspricht völlig demjenigen anderer Teile der inneren Phase des endoplasmatischen Reticulums. In unmittelbarer Nähe der äußeren Kernmembran findet man Ribosomen, die gruppenweise oder reihenartig angeordnet sind (Abb. 1 und 2). An einigen Stellen grenzt der Kerninhalt scheinbar mit einer einzigen Membran an das Cytoplasma (Abb. 1, 2 und 3), an anderen geht er ohne Grenze in das Cytoplasma über (Abb. 3). In beiden Fällen handelt es sich um Kernporen, die einmal nur von einer Schnittebene, das andere Mal von beiden Schnittebenen des Gewebeschnittes getroffen sind. In den Nervenzellen des Spinalganglions und der Hirnrinde waren verhältnismäßig wenig Kernporen zu beobachten; meistens traten sie an einigen Stellen der Kernmembran gehäuft auf, während sie in dem Rest derselben sehr spärlich anzutreffen waren. Die Kernporen wiesen einen verhältnismäßig konstanten Durchmesser um 100 m $\mu$

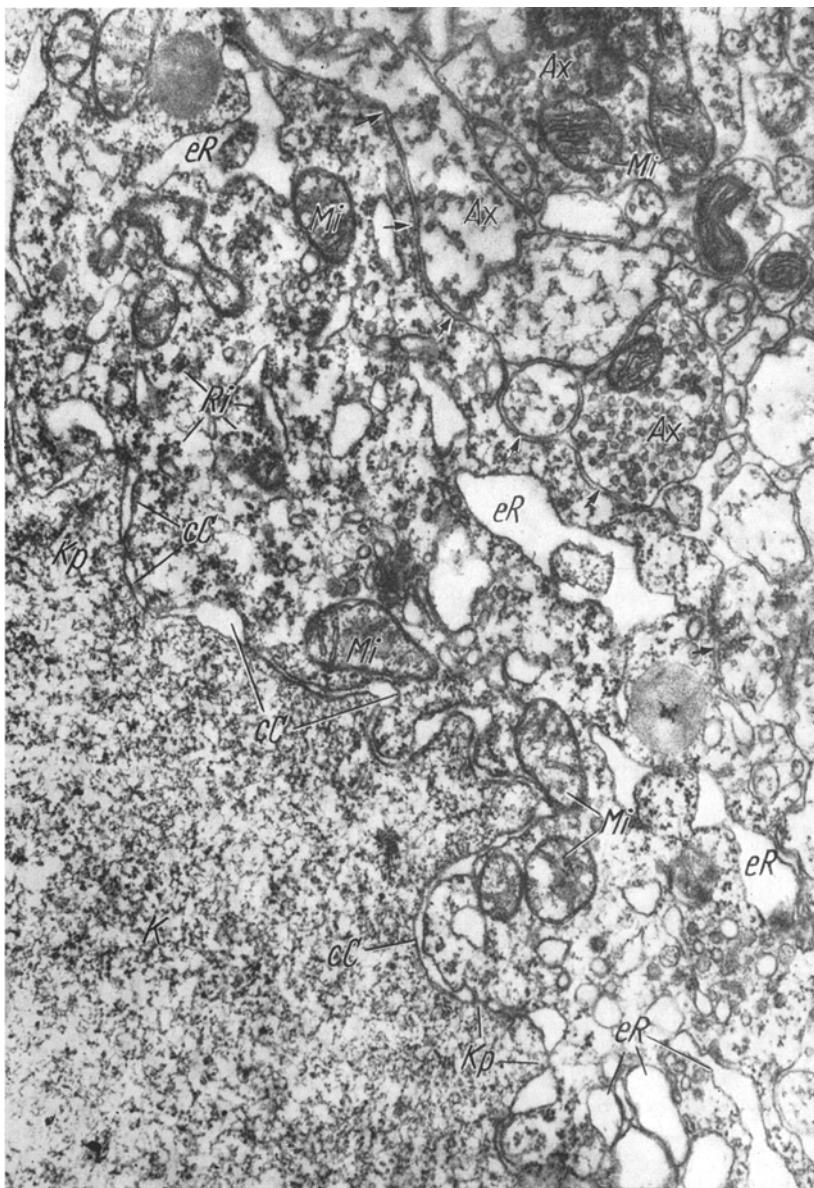


Abb. 1. Teilansicht einer Nervenzelle der parietalen Hirnrinde des Kaninchens. Kern (K). Die zwischen innerer und äußerer Kernmembran gelegene circumnucleäre Cisterne (cC) ist an einigen Stellen von Kernporen (Kp) überbrückt. Entsprechend der Erweiterung der Räume des endoplasmatischen Reticulums (eR) findet man an einigen Stellen ebenfalls eine Erweiterung der circumnucleären Cisterne. Ribosomen (Ri). Mitochondrien (Mi). Die Nervenzelle wird gegen das Neuropil von ihrer Plasmamembran abgegrenzt (→). Die Achsenzylinder (Ax) zeigen zahlreiche axoplasmatische Bläschen. Elektronenbild 7900:1, Abb. 20000:1

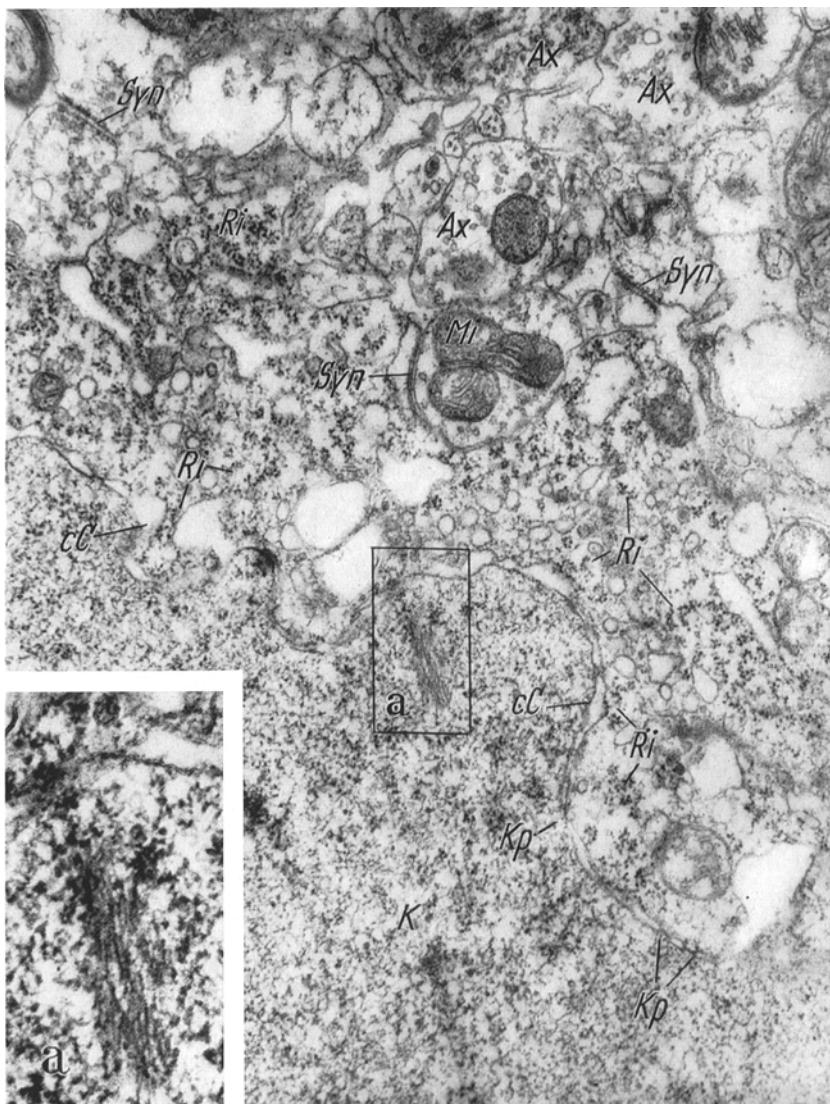


Abb. 2. Teilansicht einer Nervenzelle der parietalen Hirnrinde des Kaninchens. Die Ribosomen (*Ri*) finden sich teilweise unmittelbar der äußeren Membran der circumnucleären Cisterne (*cc*) anliegend. Kern (*K*) mit Kernporen (*Kp*). Bei *a* parallel laufende, lineare Kernstrukturen. Achsenzylinder (*Ax*) mit axoplasmatischen Bläschen. Mitochondrien (*Mi*). Synaptische Stellen (*Syn*). Elektronenbild 8300:1, Abb. 17500:1, a 41500:1

auf. Wenn der Nervenzellkern zwischen den Schnittebenen tangential und sekantial an der Kernmembran getroffen wurde, stellten sich die Kernporen als ringförmige, wenig dichte Gebilde dar, deren innerer Durchmesser wiederum ca. 100  $\mu\text{m}$  erreicht (Abb. 4).

Der gestreckte Verlauf der Kernmembranen in den Spinalganglienzellen zeigt nur teilweise eine leichte Fältelung; ausgeprägte cytoplasmatische Einstülpungen innerhalb des Kernes haben wir nur an retrograd veränderten Spinalganglienzellen finden können. Die Kernmembran der Nervenzellen der Hirnrinde zeigt in der Regel einen gewellten Verlauf.

Innerhalb des Kerns erkennt man eine inhomogene Verteilung kontrastierender Strukturen in Zonen verschiedener Größe und Dichte. Durch die allgemein lockere Strukturanordnung im Nervenzellkern — im Gegensatz zu anderen Zellkernen —

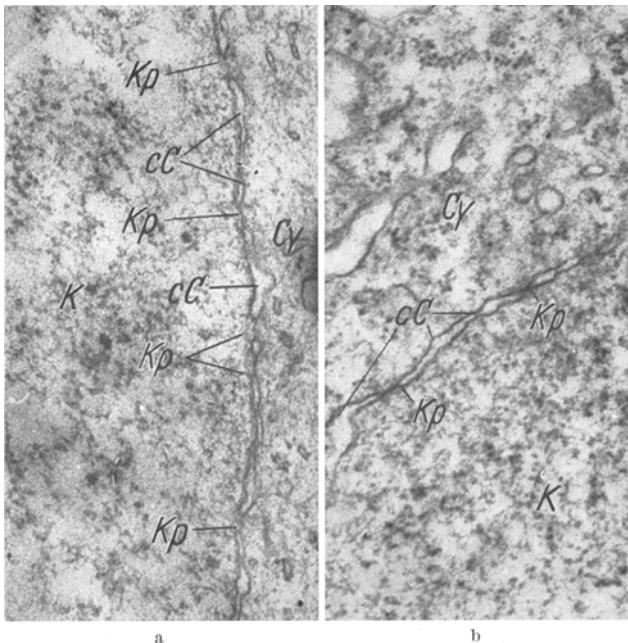


Abb. 3a und b. Teilsicht zweier Nervenzellen aus dem Spinalganglion der Ratte (a) und der Hirnrinde des Kaninchens (b). Die circumnukleären Cisternen (cc) werden durch mehrere Kernporen (Kp) überbrückt. Elektronenbild a 8000:1, b 8300:1, Abb. a 40000:1, b 41500:1

treten diese Verdichtungszonen des Karyoplasmas in den Nervenzellen besonders deutlich hervor; sie sind unregelmäßig über den gesamten Kern verteilt, liegen also nicht wie bei vielen anderen Zellen bevorzugt an der Peripherie des Kernes. Auch sind die Verdichtungszonen der Nervenzellkerne weniger dicht und scharf begrenzt als die Chromatinmassierungen, die in der Mehrzahl der Interphasenkerne anderer Zellarten zu finden sind.

Im Zentralnervensystem ist eine solche lockere Strukturierung des Kerninhalts — außer in den Nervenzellen — auch in astrocytären Elementen zu erkennen. Die Oligodendrogliakerne und die Satellitenzellen des Spinalganglions sowie die Kerne mesenchymaler Anteile des Zentralnervensystems und peripheren Nervensystems zeigen dagegen eine viel dichtere und eintönigere Verteilung granulärer Strukturen.

Die Darstellung der Strukturen des Karyoplasmas wird durch kleine Schwankungen in der Schnittdicke sowie durch die Dauer der Fixierung und Anwendung nachkontrastierender Substanzen stark beeinflußt. Bei Schnitten, die 1 Std in

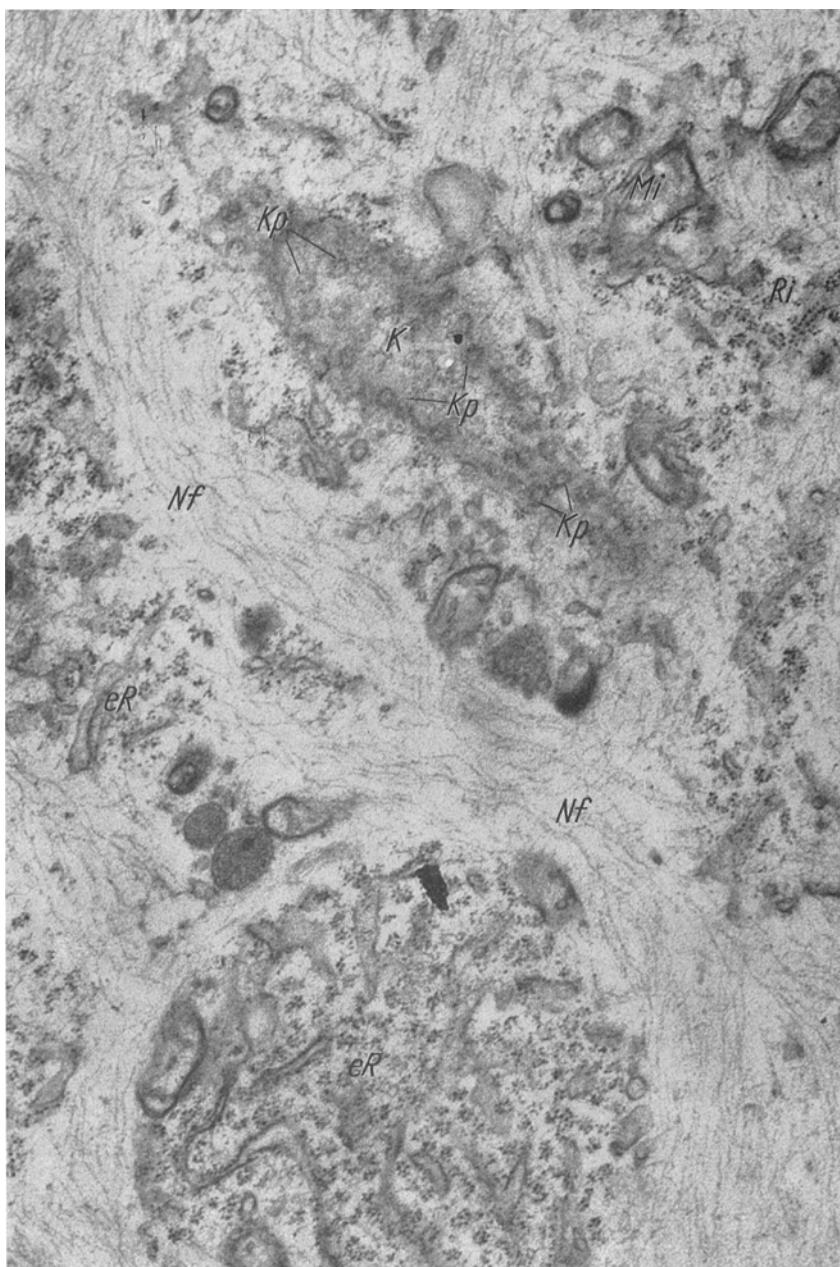


Abb. 4. Teilansicht des Cytoplasmas einer Spinalganglienzelle mit Anschnitt des Kernes (K). Die Kernporen (Kp) stellen sich hierbei als ringförmige Strukturen dar. Mitochondrien (Mi). Endoplasmatisches Reticulum (eR) mit Ribosomen (Ri). Neurofilamente (Nf). Elektronenbild 7900:1, Abb. 81 600:1

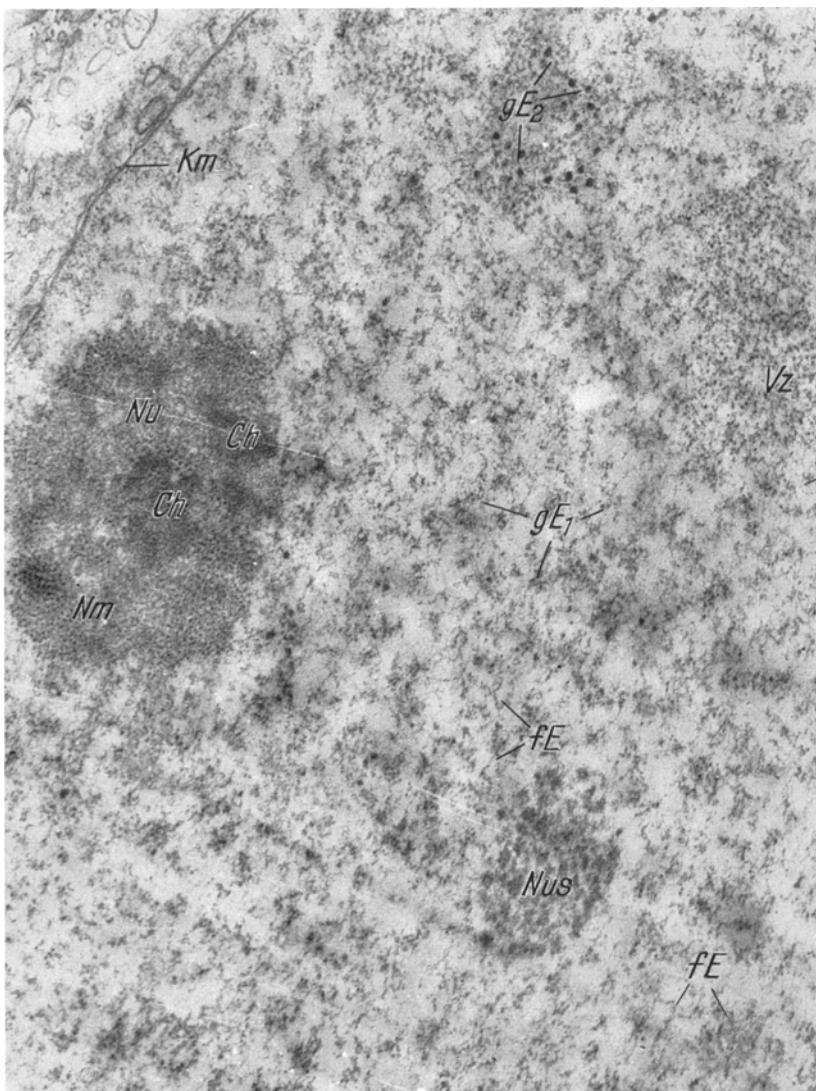


Abb. 5. Teilansicht des Kerns einer retrograd veränderten Spinalganglienzelle (14 Tage nach Durchschneidung des peripheren Nervs). Der Nucleolus (*Nu*) ist zur Kernmembran gerückt und zeigt deutliche Chromozentren (*Ch*), die zentral gelegen sind. Im Nucleoplasma fädige (*fE*) und granuläre Elemente (*gE*<sub>1</sub> und *gE*<sub>2</sub>) verschiedener Größe. Die Verdichtungszonen (*Vz*) sind unscharf und nur im Vergleich mit dem Rest des Kerninhalts als dicht zu bezeichnen. Ein Nucleolarsatellit (*NuS*) ist frei im Karyoplasma gelegen. Elektronenbild 8000:1, Abb. 26000:1

Osmiumtetroxyd fixiert wurden und keine Nachkontrastierung erfuhren, erkennt man, daß der größte Teil des Kerns aus kontrastarmen, feinfädigen Strukturen von ca. 6  $\mu$  Dicke besteht, die innerhalb des Schnittes eine Länge bis zu 200  $\mu$  aufweisen können (Abb. 5). In den Verdichtungszonen überwiegt die granuläre

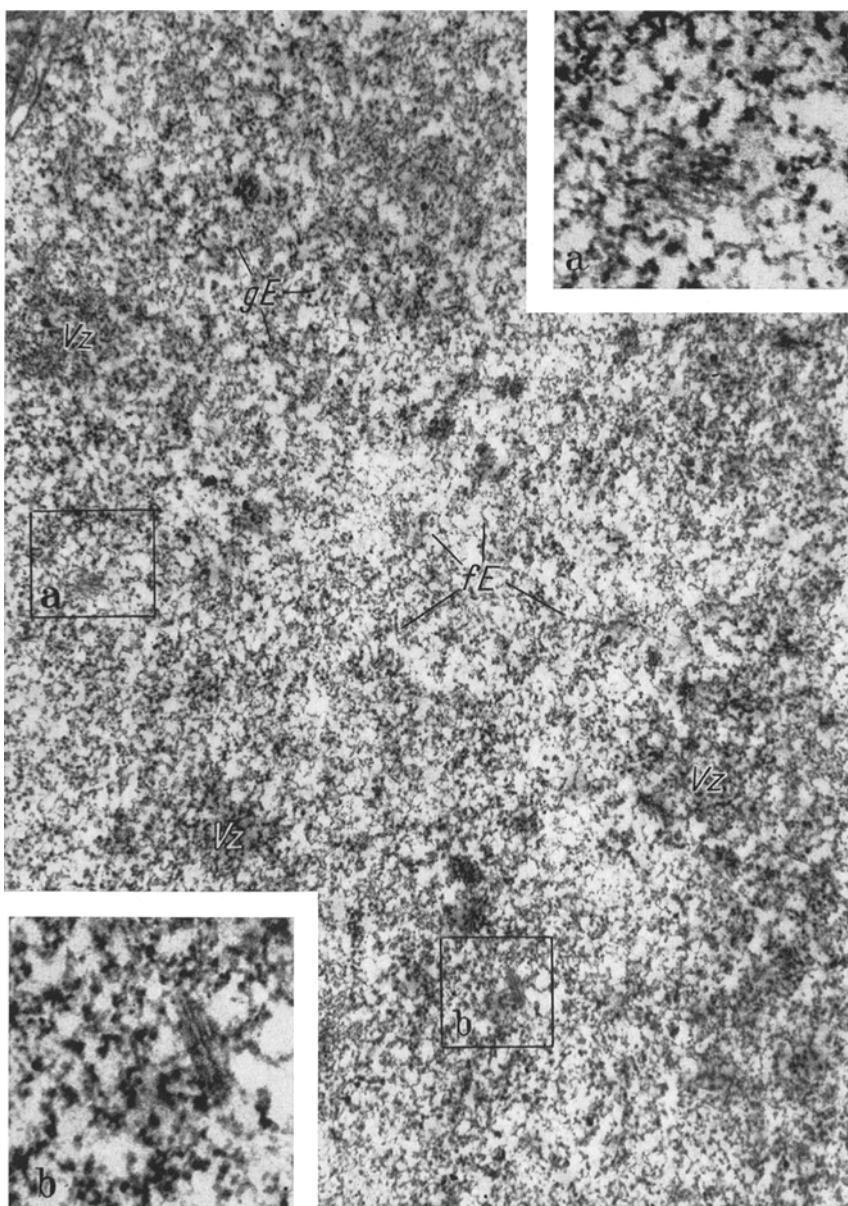


Abb. 6. Teilansicht des Kerns einer Nervenzelle der Hirnrinde des Kaninchens. Verdichtungszonen ( $Vz$ ) sowie fädige ( $fE$ ) und granuläre Elemente ( $gE$ ) im Karyoplasma wahllos verteilt. Bei  $a$  und  $b$  parallel verlaufende, lineare Strukturen. Elektronenbild 8000:1, Abb. 16400:1,  $a$  und  $b$  50000:1

Komponente, deren Elemente eine Größe von 12—20  $m\mu$  haben. Innerhalb der Verdichtungszonen — lockerer angeordnet oder vereinzelt im Karyoplasma —

findet man kontrastreichere Granula, die eine Größe von  $50 \text{ m}\mu$  erreichen (Abb. 5). Im Untersuchungsmaterial, bei dem eine Nachkontrastierung mit Phosphor-Wolfram-Säure und Uranylacetat vorgenommen wurde, zeigen sich alle Strukturen kontrastreicher, und die verschiedenen Elemente des Karyoplasmas lassen keinen so markanten Kontrastunterschied wie in dem nur mit Osmium fixierten Material erkennen (Abb. 6). Man kann aber auch nach dieser Behandlung fädige und granuläre Komponenten unterscheiden. Beide zeigen hier eine Zunahme der Dicke, die auf die Nachkontrastierung zurückzuführen ist. In den Nervenzellkernen der Hirnrinde finden sich hin und wieder mehrere parallel verlaufende, lineare Strukturen (Abb. 2 und 6), die eine Länge von  $400 \text{ m}\mu$  erreichen können und etwa die gleiche Dicke wie die im Rest des Kerns verteilten fädigen Strukturen aufweisen. Bei höheren Vergrößerungen lassen sich die linearen Strukturen als eine Anreihung von Granula erkennen. Sie können in der Nähe der Kernmembran, aber auch im zentral gelegenen Gebiet des Karyoplasmas nachgewiesen werden.

Das Kernkörperchen stellt sich als ein Bereich dar, in dem die granulären Komponenten in einer Größe von  $8-20 \text{ m}\mu$  eine dichtere Ansammlung erkennen lassen als im übrigen Teil des Kerns (Abb. 5, 6 und 8). Zwischen Kernkörperchen und Kern lässt sich niemals eine begrenzende Membran erkennen. Der größte Teil des Nucleolus wird von granulären und linearen Strukturen gebildet. Die Granula haben eine Größe von  $12-20 \text{ m}\mu$ , während die Dicke der linearen Strukturen um etwa  $5 \text{ m}\mu$  liegt. Meistens kann man eine reihenartige Anordnung der granulären Elemente erkennen. Sehr oft laufen zwei benachbarte Granulareihen parallel nebeneinander und werden durch eine hellere Zwischenschicht von ca.  $6 \text{ m}\mu \varnothing$  voneinander getrennt. Manchmal ist eine der beiden parallel verlaufenden Strukturen eines der vorher erwähnten linearen Elemente, während die andere aus einer Reihe einzelner Granula besteht. In einigen Kernkörperchen der Nervenzellen — besonders häufig bei retrograd veränderten Spinalganglienzellen — lassen sich Verdichtungszonen nachweisen, die teilweise als kleine Höcker an der Oberfläche des Kernkörperchens hervortreten, andererseits aber auch innerhalb des Kernkörperchens zu finden sind (Abb. 5 und 7). Die granulären Elemente in den nucleolären Verdichtungszonen zeigen eine Größe von nur ungefähr  $8 \text{ m}\mu$ . In etwas dickeren Schnitten kann man die dicht nebeneinander gelegenen kleinen Granula nicht mehr trennen; sie zeigen vielmehr ein amorphes Aussehen. Manchmal kann eine solche Verdichtungszone mitten im Zentrum des Kernkörperchens gelegen sein (Abb. 5). Dadurch entsteht eine Schichtung des Kernkörperchens, die zentral durch eine dunklere Zone und peripher durch eine hellere Schicht gebildet wird.

In den nucleolären Verdichtungszonen können die granulären Elemente so wie im übrigen Kernkörperchen reihenartig angeordnet sein, aber wegen der Dichte werden die Strukturen nicht so deutlich wie im Rest des Kernkörperchens erkannt. Innerhalb des Kernkörperchens der Nervenzellen von Hirnrinde und Spinalganglion können oft Aufhellungen festgestellt werden. Diese Aufhellungen werden gegen den Rest des Kernkörperchens nicht durch Membranen begrenzt; ihr Inhalt zeigt eine ähnlich spärliche Strukturierung wie die Matrix des Karyoplasmas (Abb. 7).

In Anlehnung an das Kernkörperchen findet sich bei vielen Nervenzellen des Spinalganglions der Ratte eine Zone von ca.  $1 \mu \varnothing$ , die aus einer Ansammlung größerer und lockerer angeordneter Körnchen zusammengesetzt ist (Abb. 8). Die einzelnen Körnchen sind größer als die  $50 \text{ m}\mu$ -Granula des Nucleoplasmas ( $gE_2$ ) und können bis  $100 \text{ m}\mu$  erreichen, und zwar in dem mit Osmiumtetroxyd fixierten Material ohne Nachkontrastierung. Sie sind aber nie so kontrastreich wie die  $50 \text{ m}\mu$ -Granula, und bei höherer Vergrößerung erkennt man, daß sie aus kleineren granulären Subeinheiten von nur etwa  $5 \text{ m}\mu$  Dicke zusammengesetzt

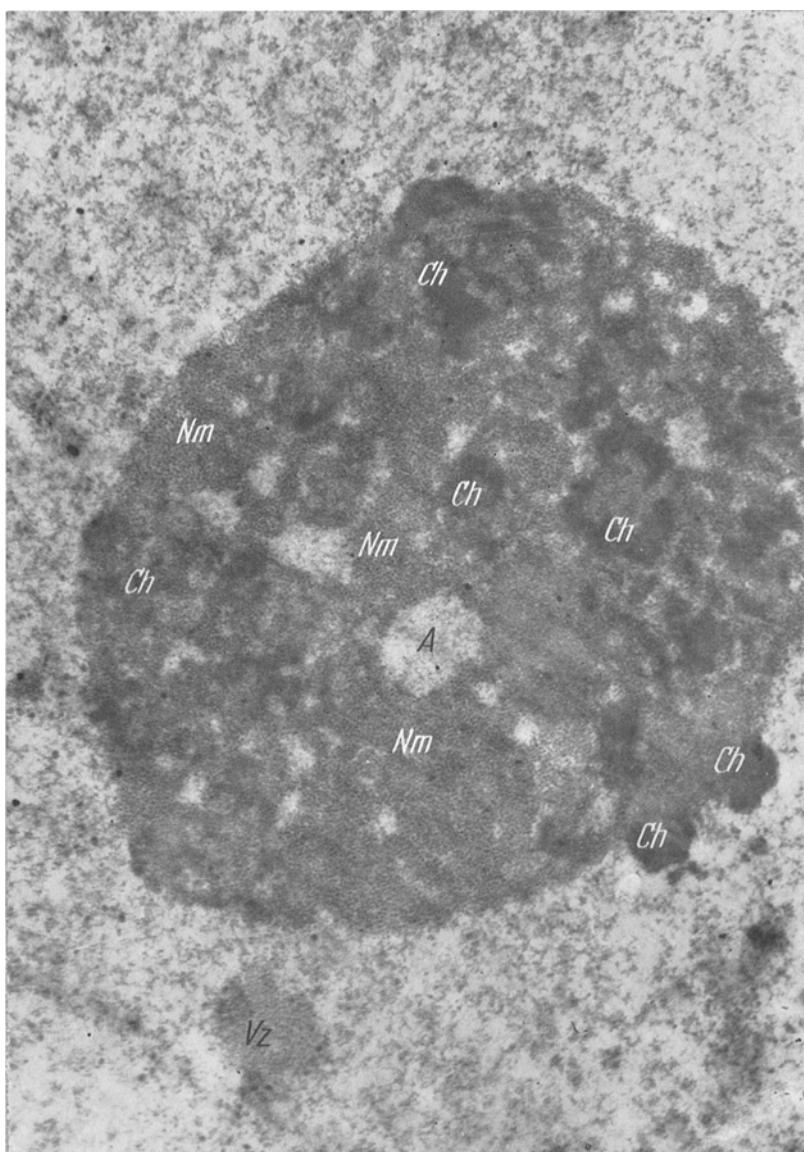


Abb. 7. Teilansicht des Kerns einer retrograd veränderten Spinalganglienzelle (14 Tage nach Durchschneidung des peripheren Nervs). Der Nucleolus enthält zahlreiche Chromozentren (*Ch*), die sich gegenüber dem Nucleolonema (*Nm*) durch ihre Dichte abheben. Die Aufhellungen (*A*) zeigen eine dem Nucleoplasma ähnliche Struktur. Verdichtungszone (*Vz*) innerhalb des Nucleoplasmas, Elektronenbild 8000:1, Abb. 20000:1

sind. Diese submikroskopische Struktur, die unseres Erachtens dem „Nucleolar satellit“ der Lichtmikroskopie entspricht, wird oftmals in Verbindung mit dem

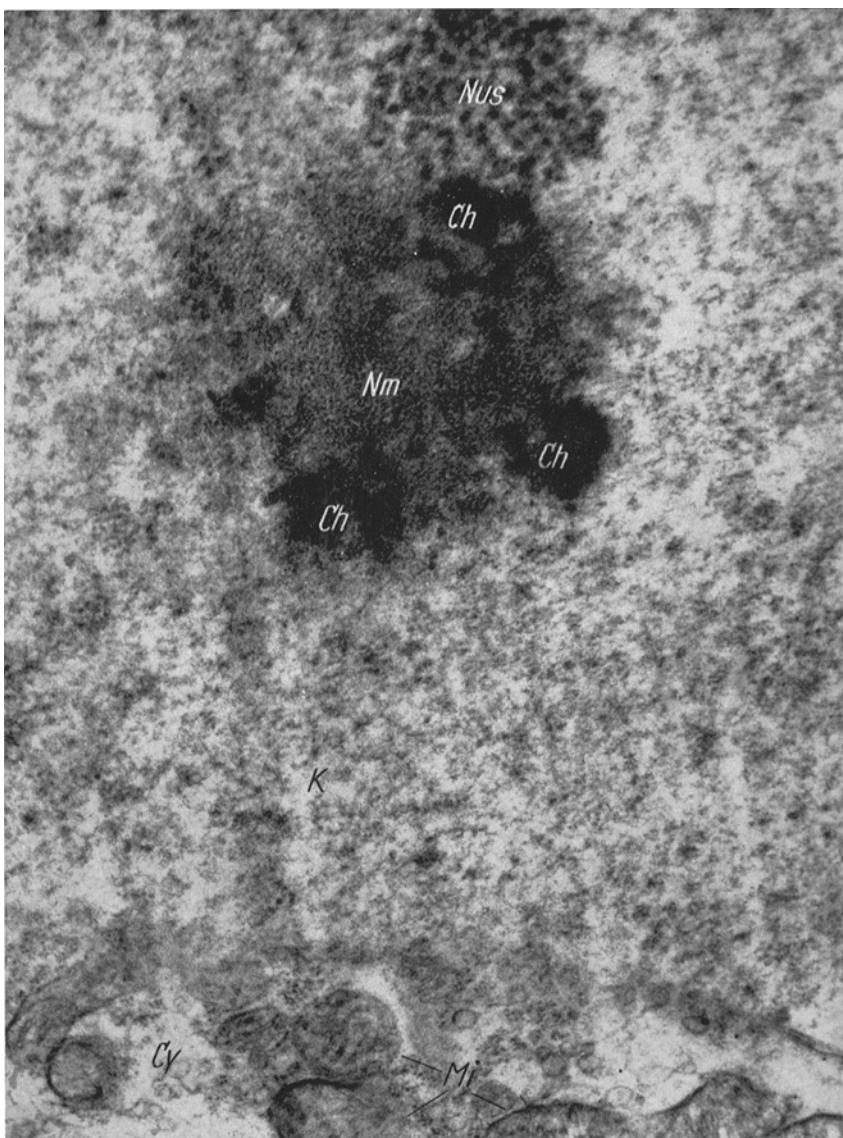


Abb. 8. Teilansicht einer normalen Spinalganglienzelle. Zwischen Kern (K) und Cytoplasma (Cy) lässt sich wegen der tangentialen Schnittrichtung keine kontinuierliche circumnukleäre Cisterne (eC) nachweisen. Im Kernkörperchen kann man das Nucleolomema (Nm) und die Chromozentren (Ch) erkennen. Der Nucleolarsatellit (NuS) ist unmittelbar dem Kernkörperchen anliegend.  
Elektronenbild 8000:1, Abb. 82000:1

Kernkörperchen angetroffen, kann jedoch auch — besonders in retrograd veränderten Zellen — frei innerhalb des Kerns gelegen sein (Abb. 5).

In beiden Fällen ist die Struktur des Satelliten von anderen Verdichtungszonen innerhalb des Karyoplasmas zu unterscheiden.

### Besprechung der Befunde

Die im Lichtmikroskop als Kernmembran erscheinende Struktur ist nicht einfach eine Grenzschicht zwischen zwei Mischphasen, und auch nicht eine doppelt konturierte Membran, sondern ein von zwei verschiedenen Membranen gegenüber Karyo- und Cytoplasma abgegrenzter Spalt-raum, die sogenannte circumnucleäre Cisterne von WATSON (1955). Da es an Epithelzellen des Darmes und anderen Zellen gelingt, die äußere Membran von der inneren Kernmembran abzuheben, indem man die Zelle Wasser aufnehmen läßt, kann daraus geschlossen werden, daß die circumnucleäre Cisterne eine wäßrige Mischphase enthält (RUSKA 1961). Die circumnucleäre Cisterne ist als Bestandteil des gleich reagierenden endoplasmatischen Reticulums aufzufassen und spielt eine entscheidende Rolle im Kern-Plasma-Kreislauf. In den von uns untersuchten Nervenzellen fanden sich verhältnismäßig wenige Überbrückungen der circumnucleären Cisterne durch Kernporen. Es gibt bis heute noch keine zusammenfassende Darstellung der Häufigkeit und Art der Kernporen in verschiedenen Zellarten. Aus der Tatsache, daß die Kernmembran der Erythrocyten von Fischen sehr wenige Poren zeigt, schließen MIRSKY u. OSAWA (1961) auf eine direkte Beziehung zwischen der Kernporenzahl und der Aktivität des Kernes.

Seit CALLAN u. TOMLIN (1950), die Poren an der äußeren Kernmembran beschrieben haben, sind zahlreiche Mitteilungen über die Kernporen an den verschiedensten tierischen und pflanzlichen Zellarten erfolgt (BARRATTI u. LEHMANN 1952; HARRIS u. JAMES 1952; BAHR u. BEERMANN 1954; GALL 1954; WATSON 1955; REBHUN 1956; SWIFT 1956; AFZELIUS 1957; MERRIAM 1959; WATSON 1959; CLARK 1960; MERRIAM 1961). Während ein Teil der Autoren eine unmittelbare Kontinuität zwischen Karyoplasma und Cytoplasma, d. h. echte Poren, beschrieben hat, hielten HAGUENAU u. BERNHARD (1955) sowie POLICARD u. COLLET (1958) die „echten“ Poren für eine Ausnahme, da in der Regel die sogenannten Kernporen von einer dünnen Membran geschlossen seien. An den Nervenzellen konnte HARTMANN (1953) keine Kernporen beobachtet. In späteren Arbeiten (DE ROBERTIS 1954; PALAY u. PALADE 1955; ANDRES 1961) wurden jedoch oftmals Verbindungen der Kernmembranen mit echten Poren dargestellt. Es handelt sich bei der Sichtbarkeit der Poren vor allem darum, daß beide Schnittebenen des Gewebechnittes innerhalb des Porenbereiches liegen müssen, wenn erkannt werden soll, daß die Poren frei durchgängig sind (BARNES u. DAVIS 1959; WATSON 1959). Die Kernporen der von uns untersuchten Nervenzellen zeigen einen größeren Durchmesser als von der Mehrzahl der Autoren für die Kernporen angegeben wird. Diese Unterschiede möchten wir auf die geringere

Schrumpfung des Vestopals gegenüber dem Methacrylat bei der Polymerisierung zurückführen.

Schwieriger als die rein morphologischen Befunde in Übereinstimmung zu bringen ist es, zu entscheiden, welche Rolle den Kernporen für die Wechselwirkung zwischen den Kernen und dem Cytoplasma einzuräumen ist. Bis jetzt konnte in den Nervenzellen kein Anhaltspunkt für die Ausschleusung von Kernmaterial durch die Bildung von Vesikeln gefunden werden, wie das in einigen anderen Zellen der Fall ist (CLARK 1960). Es bleiben drei Möglichkeiten übrig: 1. der Materialwechsel erfolgt durch beide intakte Kernmembranen an der Kernoberfläche, 2. durch die karyoplasmatische Kernmembran in die circumnucleäre Cisterne und von dieser in das Cytoplasma über das gesamte endoplasmatische Reticulum, 3. durch die Kernporen.

Während für den ersten Weg die elektronenmikroskopischen Befunde keinen entscheidenden Hinweis erbringen konnten, wurde die Möglichkeit der beiden anderen Mechanismen erst durch die Elektronenmikroskopie erkannt. Insbesondere konnte die circumnucleäre Cisterne mit ihren über den ganzen Zellkörper verteilten Beziehungen zu dem endoplasmatischen Reticulum als Organelle für den Kern-Plasma-Austausch betrachtet werden. Dabei muß man berücksichtigen, daß die in dem Cytoplasma der Nervenzellen besonders zahlreichen Ribosomen außerhalb der Räume des endoplasmatischen Reticulums im Grundplasma liegen. Einer Wanderung von Kernmaterial zum Grundplasma durch die Kernporen würden am ehesten die Vorstellungen entsprechen, die auf zahlreichen lichtmikroskopischen Befunden beruhen. Für einen solchen Transportmechanismus sprechen elektronenmikroskopische Beobachtungen unter anderem von PALADE (1955) in der Leber, von WATSON (1955) bei mehreren Zellarten von Säugetieren von ecto-, meso- und endodermaler Herkunft und von ANDERSON u. BEAMS (1956) in den Ammenzellen der Wanze (*Rhodhium prolixus*). Diese Autoren haben eine Häufung granulärer Elemente innerhalb der Kernporen und in deren unmittelbarer Nähe sowohl im Karyoplasm als auch im Grundplasma beschrieben. Als vierte Möglichkeit muß noch die von RUSKA (1962) vertretene Auffassung hervorgehoben werden, daß es keinen Kern-Plasma-Austausch mit gegensinnigen Bewegungen durch eine Kernmembran gibt. Vielmehr handelt es sich um einen Kern-Plasma-Kreislauf mit gerichteten Bewegungen durch transportaktive Membranen, die dem Eintritt für niedermolekulare Bausteine und Energieträger dienen sollen, während der Austritt makromolekularer Produkte durch Poren in das Cytoplasma erfolgt.

Eine deutliche Verdichtung von karyo- bzw. cytoplasmatischem Material auf beiden Seiten der Kernporen konnte jedoch in den Nervenzellen bis heute nicht deutlich beobachtet werden. Bei unseren Untersuchungen zeigte sich um einige Kernporen eine wolkenartige Ansammlung von

kontrastarmen und strukturlosem Material. Es handelt sich hierbei jedoch um ganz seltene Befunde, die auch an der cytoplasmatischen Matrix der Kernmembran und an anderen Stellen, die in keiner Beziehung zu den Kernporen stehen, vorkommen können. Hinzu kommt, daß sehr oft — besonders in den Nervenzellen der Hirnrinde — von uns im Gegensatz zu PALAY u. PALADE (1955) Ansammlungen von Ribosomen in der Nähe der äußeren Kernmembran gefunden wurden. Diese Strukturen waren nie in der unmittelbaren Umgebung der Kernporen zu sehen. In Schnitten, bei denen die circumnucleäre Cisterne annähernd tangential getroffen worden war, stellten sich die Kernporen als ringförmige, dichte Strukturen dar (Abb. 4). Innerhalb dieser Strukturen kann man keine Ansammlung von Ribosomen finden, aber die Frage nach ihrem Austritt durch die Poren kann aus dem fixierten Bild überhaupt nicht beurteilt werden, weil es nicht nur auf die Anwesenheit der Partikel in der Pore, sondern ebenso sehr auf die Geschwindigkeit ihrer Bewegung durch die Pore ankommt.

Im Vergleich mit anderen Zellarten, die ebenfalls in Hirn- und Spinalganglienzellschnitten dargestellt werden, hat der Kerninhalt der Nervenzellen im elektronenmikroskopischen Bild ein lockeres Aussehen. Da bei den Präparationsmaßnahmen ein erheblicher Verlust der Trockensubstanzen des Kernes der Nervenzellen eintreten kann (siehe HYDÉN 1960) und unseres Wissens keine ausführlichen vergleichenden Untersuchungsergebnisse vorliegen, die uns zeigen könnten, ob ein solcher Substanzverlust in allen Zellen denselben Prozentsatz erreicht, müssen wir zunächst von einer über das rein Morphologische hinausgehenden Interpretation dieser Befunde absehen. Es muß aber doch betont werden, daß sich die Kerne gegenüber dem Phasenkontrastbild in der lebenden Zelle bei der elektronenmikroskopischen Präparation nicht verändern. Das Karyoplasma der Nervenzellen zeigt im elektronenmikroskopischen Bild dieselben Grundstrukturen wie die Interphasenkerne der übrigen Zellarten, nämlich fädige und granuläre Elemente. Allerdings können wir bei den im Schnittpräparat erscheinenden Granula nie wissen, ob es sich um einzelne Granula handelt oder um quer getroffene Fäden. Andererseits stellen sich bei höheren Vergrößerungen die fädigen Strukturen als eine Anreihung von Granula dar. Wichtig ist auch die Tatsache, daß die elektronenmikroskopisch dargestellten Strukturen nicht ausschließlich aus Ribonucleinsäuren respektiv Desoxyribonucleinsäuren bestehen, sondern vielmehr aus Proteinen, denen die Ribonuclein- bzw. Desoxyribonucleinsäuren anhaften. Reine Nucleinsäuren sind nicht osmophil (KLEINSCHMIDT 1960). Solange wir nicht genau wissen, ob die an die Ribonucleinsäure bzw. Desoxyribonucleinsäure gebundenen Proteine einheitliche und spezifische Moleküle darstellen, ist eine chemische Identifikation der im elektronenmikroskopischen Bild sichtbaren Makromoleküle nicht möglich.

Die Verdichtungszonen innerhalb des Karyoplasmas sind oft als chromosomatisches Material aufgefaßt worden. Wenn die Verdichtungszonen besonders deutlich werden, vermutet BERNHARD (1959), daß es sich um die Bildung der Prophasenchromosomen handelt. Letzteres kann bei den Nervenzellen, die sich bei erwachsenen Tieren ständig in der Interphase befinden, nicht angenommen werden, so daß wir von vornherein bei den Nervenzellkernen keine so ausgeprägten und scharfen Verdichtungszonen wie in anderen Zellen zu erwarten haben. Ob die im Karyoplasma der Nervenzellen zu beobachtenden Verdichtungszonen chromosomatisches Material darstellen, ist bei Nervenzellen schwer zu entscheiden, bei anderen dagegen könnte die Tatsache sprechen, daß gerade in den Verdichtungszonen die granulären Strukturen überwiegen, während die fädigen Elemente wahllos im gesamten Karoyplasma verstreut häufiger vorkommen.

Ein Teil der Autoren hat bei dem Chromosomenchromatin fadenförmige Grundstrukturen beschrieben, deren Längen zwischen 20 und 50  $\mu$  liegen. Nach RIS (1956) sollen die von ihm beschriebenen spiralartigen Mikrofibrillen von 20  $\mu$  einen gleichbleibenden Wert innerhalb aller Tiergattungen darstellen. Für PORTER (1960) dagegen wechselt die Größe und Länge von einer Zellart zur anderen, und nur innerhalb einer derselben Tiergattung zeigt sich eine gewisse Konstanz. In der Tat läßt das Chromatin mancher Tierarten eine hochorganisierte Strukturierung erkennen, die von einer Gattung zur anderen verschieden ist, so z. B. in der Amoeba proteus (PAPPAS 1956) und Tocophyra infusionum (RUDZINSKA 1956). Vor allem zeigen die Prophasenkerne der primären Spermatocyten von ganz verschiedenen Tiergattungen (MOSES 1956; FAWCET 1956; GIBBONS u. BRADFIELD 1956; SOTELO u. TRUJILLO-CENOZ 1958) eine von anderen Zellarten abweichende Organisation ihres Chromatinmaterials, bei der sich in linearen Strukturen angeordnete Desoxyribonucleoproteide finden, die erheblich länger und dicker sind als die fädigen Elemente in anderen Kernen. Diese Unterschiede zeigen, wie schwierig es ist, durch den Vergleich mit Befunden an anderen Zellarten eine endgültige Aussage über die Natur der elektronenmikroskopischen Strukturen zu erhalten.

Die von uns untersuchten Nervenzellen gehören zu der Gruppe der Somatochrome (NISSL), deren Kerne von der Lichtmikroskopie her als relativ chromatinarm bezeichnet wurden. ALTMANN (1952) führt diese Tatsache auf eine „stärkere Entfaltung“ der Chromosomen im Kernraum zurück. Wenn man bedenkt, daß die großen Nervenzellkerne nicht mehr als die für jede Körperzelle konstante Menge von Desoxyribonucleinsäuren enthalten, ist die Auffassung ALTMANNS gerechtfertigt. Sie wäre durch die starke Auflockerung der karyoplasmatischen Strukturen, die in den elektronenmikroskopischen Bildern der Nervenzelle zur Dar-

stellung kommt, bestätigt. Osmiophile Verdichtungszonen können außer zum Chromosomenmaterial auch zu den sogenannten „Emissionen“, d.h. zu den Stoffen gehören, die vom Nucleolus ausgehen und bis zur Kernmembran verfolgt werden können (HYDÉN 1943). Diese von VOGT (1947) als Nucleolarapparat bezeichneten Strukturen sollten seiner Meinung nach den Weg zeigen, den entlang die im Kern synthetisierten und im Kernkörperchen angelagerten (HARTMANN 1952) bzw. umgebauten (HERTL 1955) Ribonucleoproteide zum Cytoplasma wandern. Ob die in einigen Kernen beobachteten Züge linearer Strukturen (Abb. 6) von der Schnittrichtung besonders günstig getroffene Verdichtungszonen darstellen oder als Strukturen besonderer Art aufzufassen sind, können wir noch nicht beantworten.

In der Elektronenmikroskopie haben einige Autoren die ursprünglich lichtmikroskopische Nomenklatur von ESTABLE u. SOTELO (1952) übernommen und den größten Teil des Nucleolus als Nucleolonema bezeichnet. Über die genaue elektronenmikroskopische Struktur der Nucleolonemata besteht keinerlei Übereinstimmung. So sind sie für BERNHARD (1955) und HORSTMANN u. KNOOP (1957) granuläre Elemente. YASUZUMI (1958) bezeichnet sie als spiralig-fibrilläre Elemente (allerdings ist die Möglichkeit der Verwechslung mit Verunreinigungen hierbei nicht ausgeschlossen), während PORTER (1960) diese Strukturen als optisch schwer auflösbar beschreibt. In unseren Untersuchungen konnten wir sowohl granuläre als auch fädige Strukturen erkennen. Ein großer Teil der granulären Strukturen zeigte eine gesetzmäßige Anordnung. Wir konnten auch Gruppierungen von parallel verlaufenden Elementen beobachten. Sie bestehen meistens aus zwei benachbarten Granulareihen, die parallel nebeneinander herlaufen und durch eine nicht osmiophile, hellere Zwischenschicht voneinander getrennt werden. Eine der Granulareihen kann durch ein lineares Element vertreten sein. Daraus ergibt sich eine gewisse gerüstartige Anordnung der Strukturen des Nucleolonemas. Daß ein solches Netzwerk jedoch die von ESTABLE u. SOTELO bereits lichtmikroskopisch beschriebene retikuläre Struktur darstellt, scheint bei der unterschiedlichen Größenordnung unwahrscheinlich zu sein.

In den Nervenzellen haben wir nucleoläre Verdichtungszonen gefunden, die aus dichtgelagerten, feineren granulären Elementen bestehen. Die kleinen Granula liegen so dicht nebeneinander, daß sie sehr oft gegenüber dem Rest des Kernkörperchens ein mehr amorphes Aussehen zeigen. Diese Gebiete entsprechen unseres Erachtens den schon von NISSL (zitiert nach SPIELMEYER 1922) beschriebenen, dem Kernkörperchen der Nervenzellen anliegenden Polkörperchen. Sie erhielten von LEVI (1897) den Namen „Zolle peripheriche“, durch CAJAL (1910) die Bezeichnung „Gru-mos basófilos“ und werden bei C. u. O. VOGT (1947) „Randkörperchen“ genannt. Diese Autoren hatten die Randkörperchen schon mit basischen

Anilinfärbungen, die das ganze Kernkörperchen intensiv tingieren, beobachten können. Eine viel bessere Darstellung der Randkörperchen gelang mit der Feulgen-Methode (OLSZEWSKI 1947, 1954/55; BEHEIM-SCHWARZBACH 1954/55, 1955/56), bei der die Randkörperchen sich intensiv färben, während der Rest des Nucleolus nicht dargestellt wird. Bei der Methylgrünpyroninfärbung werden auch die Randkörperchen, die grün angefärbt sind, gegenüber dem rotgefärbten Nucleolus besonders deutlich. Diese Färbungen zeigten, daß die Randkörperchen im Gegensatz zum Nucleolus Desoxyribonucleinsäuren enthalten und dem von LEWIS (1940) und von HAMBERGER u. HYDÉN (1954) beschriebenen Nucleolus-assoziierten Chromatin bzw. den Chromozentren entsprechen (HEITZ 1931; HYDÉN 1943). HERTL (1957) hat sie „perinucleoläre Feulgen-positive Körperchen“ genannt.

ANDRES (1961) hat an den Spinalganglienzellen der Ratte drei verschiedene Zonen im Kernkörperchen beschrieben. Die von ihm als a-Zonen bezeichneten Gebiete entsprechen — wie unsere Befunde — den Chromozentren. ANDRES ist aufgefallen, daß die von ihm beschriebenen a-Zonen auch als protuberanzartige Vorwölbungen der Oberfläche des Kernkörperchens zu erkennen sind, ohne daß er diese Befunde in Beziehung zu den bekannten Randkörperchen der Lichtmikroskopie gebracht hat.

In unseren elektronenmikroskopischen Befunden erkennt man, daß die Randkörperchen nicht nur als Auflagerungen an der Kernkörperchenoberfläche — wie von der Lichtmikroskopie her bekannt ist —, sondern auch innerhalb des Nucleolus liegen können. Daher haben wir die Bezeichnung „Chromozentren“ von HEITZ und HYDÉN vorgezogen, die keinen lokalisatorischen Inhalt hat.

BEHEIM-SCHWARZBACH bezeichnet als „Chromozentren“ sämtliche körnige Desoxyribonucleotid-haltige Gebilde (thymochromatische Strukturen) und unterscheidet damit die Randkörperchen (nucleoläre Chromozentren), die Menbranchromozentren und die im „Kernsaft“ verstreuten Chromozentren. Wir haben für diese letzten Strukturen die rein deskriptive Bezeichnung „Verdichtungszonen“ behalten und als Chromozentren lediglich die nucleolären Verdichtungszonen bezeichnet. Diese Bezeichnung soll aber keine Deutung im Sinne einer Abstammung dieser Strukturen aus heterochromatischen Chromosomenabschnitten darstellen. Die Tatsache, daß die Chromozentren in den Interphasenkernen der Nervenzellen oft anzutreffen sind und mitunter sogar eine sehr starke Ausbildung zeigen, scheint es unwahrscheinlich zu machen, daß sie als von den Chromosomen herstammende Nucleolusorganisatoren nur zur Bildung des Nucleolus beitragen (VOGT 1947). Es scheint vielmehr so zu sein, daß sie für die laufende Synthese von Ribonucleoproteiden verantwortlich sind, so daß der Nucleolus dadurch nicht nur als ein Depot (ALTMANN 1949, 1952, 1955; GRUNDMANN 1954; ALTMANN u. GRUNDMANN 1955)

von Ribonucleinsäure, sondern als eine chemisch tätige Kernorganelle (HERTL 1957) angesehen werden könnte.

BARR u. Mitarb. (BARR 1951, 1954; BARR u. BERTRAM 1949; BARR, BERTRAM u. LINDSAY 1950; GRAHAM 1954; GRAHAM u. BARR 1952; MOORE, GRAHAM u. BARR 1953; MOORE u. BARR 1953, 1954) haben bei dem Kernkörperchen weiblicher Tiere eine Feulgen-positive Struktur von  $0,7-1\ \mu$  Größe gefunden, welche sie als Nucleolarsatellit bezeichnet und mit dem Geschlechtschromatin in Beziehung gebracht haben. CROUCH u. BARR (1954) beschrieben das Verhalten der Nucleolarsatelliten während der retrograden Zellveränderung, die nach Achsenzylinder-durchtrennung vorkommt. Der Satellit wandert dabei zur Kernmembran und vergrößert sich deutlich. In der Erholungsphase kehrt er wieder zur Normallage zurück. Er ist unserer Auffassung nach nicht mit dem nucleolären Chromozentrum identisch, worauf noch eingegangen wird. ANDRES (1961) hat dagegen bei dem Kernkörperchen der Spinalganglienzellen der Ratte eine Struktur als Satellit angesprochen, die dieselbe Beschaffenheit aufweist wie die von ihm als a-Zonen des Kernkörperchens bezeichneten Gebilde. Wir haben schon erwähnt, daß wir der Meinung sind, die a-Zonen entsprechen den Chromozentren. In den eigenen Untersuchungen wurden bei mehreren Nervenzellen des Spinalganglions weiblicher Ratten wiederholt Strukturen von ca.  $1\ \mu\varnothing$  beobachtet, die dem Kernkörperchen anlagen (Abb. 8). Diese Gebiete bestehen aus größeren und lockerer angeordneten Körnchen als die Chromozentren und lassen zudem bei stärkerer Vergrößerung nicht mehr genau meßbare Subeinheiten erkennen. Wir glauben, daß die Beobachtung der Wanderung dieser Struktur in der retrograd veränderten Spinalganglienzelle von dem Kernkörperchen weg (Abb. 5) besonders beweisend für die Identität dieser Struktur mit dem Nucleolarsatellit von BARR u. BERTRAM ist. Wichtig ist ferner, daß der Nucleolarsatellit elektronenmikroskopisch eine von den Chromozentren deutlich zu unterscheidende Strukturierung zeigt. Eine ähnliche Struktur ist von uns in der elektronenmikroskopischen Literatur nirgendwo gefunden worden.

In der Neurohistologie hat man oft die zunächst von SPIELMEYER eingeführte Bezeichnung „Kristalloid“ für vacuolenartige Aufhellungen im Nucleolus gebraucht. In unserem Material konnte als elektronenmikroskopisches Äquivalent für das Kristalloid von SPIELMEYER gelegentlich eine etwas größere Aufhellung innerhalb des Kernkörperchens gefunden werden. Die Aufhellungen innerhalb des Kernkörperchens werden jedoch gegen den Rest des Nucleolus keineswegs von einer Membran abgegrenzt, so daß sie nicht mehr als Vacuolen bezeichnet werden sollten. Bei genügender Größe könnten sie das Äquivalent der in der Lichtmikroskopie wiederholt beschriebenen Vacuolisierung des Kernkörperchens darstellen. Die Aufhellungen sind in sehr verschiedenen

Objekten elektronenmikroskopisch beschrieben worden. Abgesehen von dem Befund, daß sie keine Membranbegrenzung zeigen, wurden keine neuen Aufschlüsse über die Bedeutung dieser Aufhellungen erbracht, insbesondere auch nicht darüber, ob das Auftreten von „Vacuolen“ im Nucleolus zum funktionellen Verhalten des Kerns in Beziehung gebracht werden kann, wie C. u. O. VOGT (1947) angenommen haben. Die retrograd veränderten Spinalganglienzellen zeigten eine Zunahme an Größe und Zahl der Aufhellungszonen im Kernkörperchen. Es handelt sich jedoch nur um geringgradige Unterschiede gegenüber den gesunden Spinalganglienzellen, und sie sind nicht bei allen retrograd veränderten Elementen festzustellen.

#### Zusammenfassung

Es wird über Untersuchungen an Kernen von Nervenzellen der parietalen Hirnrinde des Kaninchens und von normalen und primär gereizten Spinalganglienzellen der Ratte berichtet.

Die circumnucleäre Cisterne und die Kernporen der Nervenzellen werden beschrieben und die Möglichkeiten eines Kern-Plasma-Austausches bzw. Kern-Plasma-Kreislaufes diskutiert. Im Vergleich zu anderen Zellarten hat der Kerninhalt der Nervenzellen im elektronenmikroskopischen Bild ein lockeres Aussehen. Die osmiophilen Verdichtungszonen des Karyoplasmas können sowohl Chromosomenmaterial als auch „Nucleolar-Emissionen“ darstellen. Die nucleoläre Struktur wird aus granulären und fädigen Elementen gebildet. Die Verdichtungszonen innerhalb des Kernkörperchens sind dem Randkörperchen von VOGT sowie den perinucleolären Feulgen-positiven Körperchen von HERTL gleichzustellen. Da sie nicht nur als Auflagerungen an der Kernkörperchenoberfläche, sondern auch innerhalb des Nucleolus liegen können, ist die Bezeichnung „Chromozentren“ von HEITZ und HYDÉN vorzuziehen, die keinen lokalisatorischen Inhalt hat.

Bei mehreren Zellen des Spinalganglions weiblicher Ratten wurden wiederholt Zonen von ca.  $1 \mu$  Ø beobachtet, die aus einer Ansammlung größerer und lockerer angeordneter Körnchen bestehen und dem Kernkörperchen anliegen. Die Beobachtung der Wanderung dieser Gebilde in der retrograd veränderten Spinalganglienzelle von dem Kernkörperchen weg ist unseres Erachtens besonders beweisend für die Identität dieser Struktur mit dem Nucleolarsatellit von BARR u. BERTRAM. Hervorzuheben ist, daß der Nucleolarsatellit elektronenmikroskopisch eine von den Chromozentren deutlich unterschiedene Struktur zeigt.

Die Aufhellungen innerhalb eines Kernkörperchens entsprechen den von der Lichtmikroskopie beschriebenen Vacuolen, darunter auch dem Kristalloid von SPIELMEYER. Sie werden jedoch gegen den Rest des Nucleolus nicht von einer Membran abgegrenzt, so daß sie nicht mehr als Vacuolen zu bezeichnen sind.

## Literatur

- AFZELIUS, B. A.: The ultrastructure of the nuclear membrane of the sea urchin oocyte as studied with the electronmicroscope. *Exp. Cell Res.* **8**, 147 (1955).
- AFZELIUS, B. A.: Electron microscopy on the basophilic structures of the sea urchin egg. *Z. Zellforsch.* **45**, 660 (1957).
- ALTMANN, H. W.: Über die Abgabe von Kernstoffen in das Protoplasma der menschlichen Leberzelle. *Z. Naturforsch.* **4b**, 138 (1949).
- ALTMANN, H. W.: Morphologische Bemerkungen zur Funktion des Ganglienzellkerns. *Naturwissenschaften* **39**, 348 (1952).
- ALTMANN, H. W.: Zur Morphologie der Wechselwirkung von Kern und Cytoplasma. *Klin. Wschr.* **1955**, 306.
- ALTMANN, H. W., u. E. GRUNDMANN: Phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen zur Vitalstruktur tierischer Zellkerne. *Beitr. path. Anat.* **115**, 113 (1955).
- AMANO, S.: The structure of the centrioles und spindle body as observed under the electron and phase contrast microscopes. *Cytologia (Tokyo)* **22**, 193 (1957).
- AMANO, S., S. DOHI, H. TANAKA, F. UCHINO and M. HANAOKA: The structure of the nucleus studied by electron microscope in ultrathin sections with special reference to the chromonema. An advocacy of "subchromonema" and "protochromonema". *Cytologia (Tokyo)* **21**, 241 (1956).
- ANDERSON, E., and H. W. BEAMS: Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of the nuclear membrane. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 439 (1956).
- ANDRES, K. H.: Untersuchungen über den Feinbau von Spinalganglien. *Z. Zellforsch.* **55**, 1 (1961).
- ANDRES, K. H.: Untersuchungen über morphologische Veränderungen in Spinalganglien während der retrograden Degeneration. *Z. Zellforsch.* **55**, 49 (1961).
- BAHR, G. F., and W. BEERMANN: The fine structure of the nuclear membrane in the larval salivary gland and midgut of chironomus. *Exp. Cell Res.* **6**, 519 (1954).
- BAIRATI, A., u. F. E. LEHMANN: Über die submikroskopische Struktur der Kernmembran bei Amoeba proteus. *Experientia (Basel)* **8**, 60 (1952).
- BARNES, B. G., and J. M. DAVIS: The structure of nuclear pores in mammalian tissue. *J. Ultrastruct. Res.* **3**, 131 (1959).
- BARR, M. L.: Interim note on application of skin biopsy test of chromosomal sex to hermaphrodites. *Surg. Gynee. Obstet.* **99**, 184 (1954).
- BARR, M. L., and E. G. BERTRAM: A morphological distinction between neurons of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature (Lond.)* **163**, 676 (1949).
- BARR, M. L., and E. G. BERTRAM: Behaviour of nuclear structures during depletion and restoration of Nissl material in motor neurons. *J. Anat. (Lond.)* **85**, 171 (1951).
- BARR, M. L., E. G. BERTRAM and H. LINDSAY: The morphology of the nerve cell nucleus according to sex. *Anat. Rec.* **107**, 283 (1950).
- BEAMS, H. W., T. N. TAHMISIAN, E. ANDERSON and R. DEVINE: Studies on the fine structure of ultracentrifuged spinal ganglion cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **8**, 793 (1960).
- BEERMANN, W., and G. F. BAHR: The submicroscopic structure of the Balbiani-Ring. *Exp. Cell Res.* **6**, 195 (1954).
- BEHEIM-SCHWARZBACH, D.: Lebensgeschichte der melaninhaltigen Nervenzellen des N. coeruleus. *J. Hirnforsch.* **1**, 61 (1954).
- BEHEIM-SCHWARZBACH, D.: Morphologische Beobachtungen an Nervenzellkernen. *J. Hirnforsch.* **2**, 1 (1955).

- BERNHARD, W.: Ultrastructural aspects of the nucleocytoplasmic relationship. *Exp. Cell Res.* **6**, 17 (1959).
- BERNHARD, W., et E. DE HARVEN: L'ultrastructure du nucléole de cellules normales et cancéreuses. IV. *Internat. Kongr. f. Elektronenmikroskopie*, **2**, S. 217. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1960.
- BERNHARD, W., A. BAUER, A. FR. HAGUENAU et CH. OBERLING: L'ultrastructure du centriole et d'autres éléments de l'appareil achromatique. *Exp. Cell Res.* **9**, 88 (1955).
- BESSIS, M., J. BRETON-GORIUS et J. P. THIERY: Centriole, corps de GOLGI et aster des leucocytes. Etude au microscope électronique. *Rev. Hémat.* **13**, 363 (1958).
- BORYSKO, E., and F. B. BANG: Structure of the nucleolus as revealed by the electron microscope. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **89**, 468 (1951).
- CAJAL, S. R.: El nucleo de las celulas piramidales del cerebro humano y de algunos mamíferos. *Trabajos del Lab. Inv. Biol.* **8**, 27 (1910).
- CALLAN, H. G., and S. G. TOMLIN: Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of nuclear membrane by means of the electron microscope. *Proc. roy. Soc. Ser. B* **137**, 367 (1950).
- CERVÓS-NAVARRO, J.: Primäre retrograde Veränderungen an Spinalganglienzellen. 9. Tagg. Dtsch. Ges. f. Elektronenmikroskopie, Freiburg 1959.
- CERVÓS-NAVARRO, J.: Elektronenmikroskopische Befunde an Spinalganglienzellen der Ratte nach Ischiadikotomie. München 1961.
- CERVÓS-NAVARRO, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an retrograd veränderten Spinalganglienzellen. *Fortschr. Med.* **80**, 151 (1962).
- CLARK, W. H., jr.: Electron microscope studies of nuclear extrusion in pancreatic acinar of the rat. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 345 (1960).
- CROUCH, Y. F., and M. L. BARR: Behaviour of the sex chromatin during axon-reaction. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **13**, 353 (1954).
- DANIELLI, J. F.: Some theoretical aspects of nucleocytoplasmic relationship. *Exp. Cell Res.* **6**, 252 (1958).
- ESTABLE, C., y J. R. SOTELO: Una nueva estructura celular: el Nucleolonema. *Publ. Inst. Invest. Ciencias Biol.* **1**, 105 (1951).
- FAWCETT, DON W.: The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 403 (1956).
- GALL, J. G.: Observations on the nuclear membrane with the electron microscope. *Exp. Cell Res.* **7**, 197 (1954).
- GIBBONS, I. R., and J. R. G. BRADFIELD: The fixations of nuclei in locust testis, p. 108. *Elec. Micr. Proc. Stock., Confer.* (1956).
- GIBBONS, I. R., and J. R. G. BRADFIELD: The fine structure of nuclei during sperm maturation in the locust. *J. biophys. biochem. Cytol.* **3**, 133 (1957).
- GRAHAM, M. A.: Sex chromatin in cell nuclei of cat from early embryo to maturity. *Anat. Rec.* **119**, 469 (1954).
- GRAHAM, M. A., and M. L. BARR: Sex difference in morphology of metabolie nuclei in somatic cells of cat. *Anat. Rec.* **112**, 709 (1952).
- HAGUENAU, F., et W. BERNHARD: Particularités structurales de la membrane nucléaire. Etude au microscope électronique de cellules normales et cancéreuses. *Bull. Ass. franç. Cancer* **42**, 537 (1955).
- HARRIS, F., and T. W. JAMES: Electron microscope study of the nuclear membrane of Amoeba proteus in thin sections. *Experientia (Basel)* **8**, 384 (1952).
- HARTMANN, J. F.: Electron microscopy of nuclei in nerve cells. *Anat. Rec.* **112**, 340 (1952).
- HARTMANN, J. F.: An electron optical study of sections of central nervous system. *J. comp. Neurol.* **99**, 201 (1953).

- HARVEN, E. DE, et W. BERNHARD: Etude au microscope électronique de l'ultra-structure du centriole chez les vertébrés. *Z. Zellforsch.* **45**, 378 (1956).
- HEITZ, E.: Die Ursache der gesetzmäßigen Zahl, Lage, Form und Größe pflanzlicher Nucleolen. *Planta (Berl.)* **12**, 775 (1931).
- HERTL, M.: Über den Nukleolarapparat der Nervenzellen im Hypothalamus der weißen Maus. *Z. Zellforsch.* **41**, 217 (1955).
- HERTL, M.: Zum Nucleus-Problem. *Z. Zellforsch.* **46**, 18 (1957).
- HORSTMANN, E., u. A. KNOOP: Zur Struktur des Nucleolus und des Kernes. *Z. Zellforsch.* **46**, 100 (1957).
- HYDÉN, H.: Die Funktion des Kernkörperchens bei der Eiweißbildung in Nervenzellen. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **54**, 96 (1943).
- LEVI, G.: Richerche citologiche comparata sulla cellula nervosa dei vertebrati. *Riv. patol. nerv. e ment.* **2**, 193 (1897).
- LEWIS, K. R.: Chromosome structure and organisation in *Pellia epiphylla*. *Phyton* **11**, 29 (1958).
- MERRIAM, R. W.: Permeability and structural characteristics of isolated nuclei from chaetopteruseggs. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 353 (1959).
- MERRIAM, R. W.: On the fine structure and composition of the nuclear envelope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 559 (1961).
- MIRSKY, A., and S. OSAWA: The interphase nucleus. *Cell* **2**, 667 (1961).
- MOORE, K. L., and M. L. BARR: Morphology of nerve cell nucleus in mammals with special reference to the sex chromatin. *J. comp. Neurol.* **98**, 213 (1953).
- MOORE, K. L., and M. L. BARR: Nuclear morphology, according to sex, in human tissues. *Acta anat. (Basel)* **21**, 197 (1954).
- MOORE, K. L., M. A. GRAHAM and M. L. BARR: Detection of chromosomal sex in hermaphrodites from skin biopsy. *Surg. Gynec. Obstet.* **96**, 641 (1953).
- MOSÉS, M. J.: Studies on nuclei using correlated cytochemical, lieght, and electron microscope techniques. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 397 (1956).
- OLSZEWSKI, J.: Zur Morphologie und Entwicklung des Arbeitskerns. *Biol. Zbl.* **66**, 265 (1947).
- OLSZEWSKI, J.: Über die Gestaltung der Randkörperchen der Nucleoli einiger menschlicher Nervenzellen. *J. Hirnforsch.* **1**, 206 (1954).
- PALADE, G.: A small particulate component of the cytoplasma. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 59 (1955).
- PALAY, S. L.: On the appearance of absorbed fat droplets in the nuclear envelope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 391 (1960).
- PALAY, S. L., and G. PALADE: The fine structure of neurons. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 69 (1955).
- PAPPAS, G. D.: Helical structures in the nucleus of *Amoeba proteus*. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 221 (1956).
- POLICARD, A., et A. COLLET: Apropós du problème des pores nucléaires. *Bull. Mier. Appl.* **8**, 74 (1958).
- PORTER, K. R.: Problems in the study of nuclear fine structure. IV. *Internat. Kongr. f. Elektronenmikroskopie* **2**, S. 186, 1960.
- REBHUN, L. I.: Electron microscopy of basophilic structures of some invertebrate oocytes. II. Fine structure of the yolk nuclei. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 159 (1956).
- RIS, H.: A study of chromosomes with the electron microscope. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 385 (1956).
- ROBERTIS, E. DE: Nucleo-cytoplasmic relationship and basophilic substance (ergastoplasm) of nerve cells. Electron microscope observations. *J. Histochem. Cytochem.* **2**, 341 (1954).

- ROTH, L. E., S. W. OPITZ and E. W. DANIELS: Electron microscopic studies of mitosis in amoebae. I. Amoeba proteus. *J. biophys. biochem. Cytol.* **8**, 207 (1960).
- RUDZINSKA, M. A.: Further observations on the fine structure of the macronucleus in Tokophyra infusionum. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 425 (1956).
- RUSKA, C.: Die Zellstrukturen des Dünndarmepithels in ihrer Abhängigkeit von der physikalisch-chemischen Beschaffenheit des Darminhalts. *Z. Zellforsch.* **52**, 748 (1960).
- RUTHMANN, A.: The fine structure of the meiotic spindle of the crayfish. *J. biophys. biochem. Cytol.* **5**, 177 (1959).
- SOTELO, J. R., and O. T. TRUJILLO-CÉNOZ: Submicroscopic structure of meiotic chromosomes during prophase. *Exp. Cell Res.* **14**, 1 (1958).
- SPIELMEYER, W.: Histopathologie des Nervensystems. Berlin: Springer 1922.
- SWIFT, H. J.: The fine structure of annulate lamellae. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 415 (1956).
- TURIAN, G., et E. KELLENBERGER: Ultrastructure du corps paranucléaire, des mitochondries et de la membrane nucléaire des gamètes d'Allomyces macrogynus. *Exp. Cell Res.* **11**, 417 (1956).
- VOGT, C., u. O. VOGT: Lebensgeschichte, Funktion und Tätigkeitsregulierung des Nucleolus. *Ärztl. Forsch.* **1**, 7, 43 (1947).
- WATSON, M. L.: The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 257 (1955).
- WATSON, M. L.: Further observations on the nuclear envelope of the animal cells. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 147 (1959).
- WESSEL, W., u. W. BERNHARD: Die vergleichenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Ehrlich- und Yoshida-Ascitiszellen. *Z. Krebsforsch.* **62**, 140 (1957).
- WOHLFAHRT-BOTTERMANN, K. E.: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. *Naturwissenschaften* **44**, 287 (1957).
- YASUZUMI, G.: A comparative electron microscopic study on developing spermatid nuclei of various animals. IV. Intern. Kongr. f. Elektronenmikroskopie, S. 164. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1958.
- YASUZUMI, G.: Electron microscopy of the nuclear membrane in prophase and telophase in yoshida sarcoma cells. *Z. Zellforsch.* **50**, 110 (1959).
- YASUZUMI, G., G. I. PAPPAS, G. O. YAMAMOTO and I. TSUBO: Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of Cambaroides japonicus. *Z. Zellforsch.* **53**, 141 (1961).

Priv.-Doz. Dr. J. CERVÓS-NAVARRO,  
53 Bonn, Institut für Neuropathologie der Universität