

Die Anwendung des Elektronenmikroskops in der neuroanatomischen und neuropathologischen Forschung

Die Elektronenmikroskopie hat sich in den letzten Jahren sehr schnell durch den raschen Fortschritt in der Abdruck- und Bedampfungstechnik und in der Entwicklung spezieller präparativer Methoden für die Fixierung, Einbettung und Schnitttechnik ein breites Anwendungsfeld in der biologisch-medizinischen Forschung erobert. Infolge seines starken Auflösungsvermögens dringt das Elektronenmikroskop bis in den Bereich feinsten molekularer Strukturen vor. Es verbessert die Auflösung des Lichtmikroskops um das 300fache, im Extremfall um das 1000fache, und macht dem menschlichen Auge Feinststrukturen direkt sichtbar, welche vorher nur mit indirekten Methoden (z. B. Polarisationsmikroskopie, Phasenkontrastmikroskopie, Röntgenographie) erschlossen oder wahrscheinlich gemacht werden konnten. Das Interesse an feinstrukturellen elektronenoptischen Untersuchungen wurde besonders gefördert durch die Entwicklung von Ultramikrotomen, welche routinemäßig die Herstellung ultradünner Gewebsschnitte mit einer Schnittdicke von 50 bis 250 Å^0 ($1/200\,000$ bis $1/40\,000$ mm) und einer Schnittfläche bis zu $1,5 \text{ mm}^2$ gestatten und damit den Anschluß des elektronenmikroskopischen Bildes an den dem Morphologen vertrauten histologischen Schnitt herbeiführen. Für die routinemäßige Herstellung derartiger ultradünner Gewebsschnitte sind heute genügend geeignete Ultramikrotommodelle in- und ausländischer Fabrikate im Handel. Die „relativ“ großen Übersichtsschnitte ermöglichen unmittelbar den elektronenoptischen Anschluß an die im letzten Jahrhundert gewonnenen Ergebnisse der lichtmikroskopischen Strukturereforchung von Zellen und Geweben.

Brauchbare Elektronenmikroskope werden heute in fast allen Kulturländern hergestellt. Obwohl der Bau von Elektronenmikroskopen von Deutschland durch die Arbeiten von Busch, Knoll,

E. Ruska, v. Borries, Brüche und Mahl seinen Ausgang nahm, ist die praktische Anwendung auf Fragen der Biologie und Medizin im Ausland, vor allem in Amerika, viel stärker intensiviert worden. Das mag bei uns rein äußere Ursachen haben. Die Elektronenmikroskopie erfordert die Bereitstellung größerer Mittel als es allgemein in biologischen oder medizinischen Laboratorien üblich ist, — nicht nur für die Anschaffung der Großgeräte und Zusatzapparaturen, sondern auch in den laufenden Ausgaben für Betriebshaltung und geschultes Personal. Ein elektronenmikroskopisches Laboratorium muß hinsichtlich seiner Mittel genügend Spielraum haben, um sich der schnellen technischen Entwicklung dieses Gebietes anzupassen. In Deutschland sind die Bedingungen hierfür nur an wenigen Stellen vorhanden. Wie dringend notwendig aber die Bereitstellung ausreichender Mittel für dieses noch junge Untersuchungsverfahren ist, um die Anwendung des Elektronenmikroskops auf breiterer Basis auch an den deutschen Hochschul- und Forschungsinstituten zu ermöglichen, läßt sich leicht an dem Stand der elektronenmikroskopischen Erforschung des Nervensystems aufzeigen.

In der gesamten Weltliteratur liegen bisher auf diesem Spezialgebiet kaum 100 Arbeiten vor einschließlich derjenigen, die heute infolge der besseren Untersuchungstechnik schon als überholt angesehen werden müssen. Von diesen Arbeiten entfallen etwa 70% auf anglo-amerikanische Autoren und etwa 20% auf französische, schwedische und schweizerische. In Deutschland finden sich nur Ansätze zu systematischer Arbeitsmöglichkeit auf diesem Gebiet.

Wie in anderen Fachgebieten auch befassen sich die bisher vorliegenden Arbeiten zumeist noch mit normalanatomischen Fragen. Das hat seinen guten Grund, indem die Erfassung krankhafter Veränderungen im Gewebe erst einmal die Kenntnis der normalen elektronenoptischen Feinstruktur voraussetzt. Dazu kommen die vielen funktionell bedingten Strukturvarianten, deren Kenntnis größtenteils noch fehlt und bei einer Fragestellung aus dem Gebiete der Neuropathologie gewöhnlich erst erarbeitet werden muß. Da das Nervensystem aus sehr komplexen Struktureinheiten aufgebaut ist und die Kenntnis der elektronenoptischen Feinstruktur der einzelnen Bauelemente noch sehr in den Anfängen steckt, liegt hier ein gewaltiges Arbeitsfeld vor uns.

In den vergangenen Jahren konnte man beobachten, daß sich die Erforschung der einzelnen Bauelemente des Nervensystems,

ähnlich wie in Geweben anderer tierischer und pflanzlicher Organe, mit den Fortschritten der Präparationstechnik von leichter zu präparierenden Gewebsbestandteilen allmählich präparativ schwierigeren Objekten zugewandt hat. Schon relativ früh hat man die elektronenoptische Feinstruktur von Fasern, wie z. B. kollagener Fasern, Reticulinfasern, elastischer Fasern, von Fibrin- und Gliafasern untersucht und dabei entdeckt, daß alle diese Faserarten eine periodische Querstreifung besitzen. Die dem Histologen aus der normalen Histologie bekannten Faserarten haben elektronenoptisch ihr individuelles Gesicht. Die Fibrinfaser aus menschlichem Aderlaßblut (Abb. 1) hat beispielsweise eine Querstreifung mit einer Periode von 250 Å, die kollagene Faser z. B. einer menschlichen Sehne (Abb. 2) hat eine Querstreifungsperiode von etwa 640 Å¹. Mit Hilfe geeigneter Präparationsverfahren läßt sich die Querstreifung von Fasern noch weiter differenzieren. In Verbindung mit chemischen und physikalischen Behandlungsverfahren ist es möglich, sich noch näheren Einblick in den submikroskopischen Feinbau und die Beteiligung bestimmter chemischer Bausteine in diesem zu verschaffen.

Die in ihrer Feinstruktur elektronenoptisch erforschten Fasern sind im ultradünnen Gewebsschnitt auch als Bestandteile des Hirngewebes wiederzuerkennen, so daß ihre Beziehungen zu anderen Gewebselementen hinsichtlich Lokalisation und womöglich sogar der Art ihrer Entstehung mit Hilfe des Elektronenmikroskops näher studiert werden können. In dem Übersichtsbild eines Hirngewebsschnittes (Abb. 3) sind die kollagenen Fibrillen eines Hirngefäßes durch Herauslösung des Einbettungsmittels aus dem Schnitt und zusätzliche schattengegebende Bedampfung des Präparates mit Platin auch für den Uneingeweihten unschwer zu erkennen.

Mit der verbesserten Schnittechnik hat man sich allgemein in den letzten 5 Jahren dem elektronenoptischen Studium der Zell- und Gewebsorganisation aller möglichen Tierklassen zugewandt. Unsere Kenntnisse über die Feinstruktur von Zellen ist zur Zeit bis zu einem Punkt fortgeschritten, an dem ganz allgemeingültige ultrastrukturelle Kriterien für die Identifizierung vieler Zellkomponenten in dem zunächst schwer zu übersehenden elektronenmikroskopischen Bilde eingesetzt werden können. Bevor die spezielle Situation am Nervensystem besprochen wird, sollen daher

¹ 1 Å = 1 Angström-Einheit = 10⁻⁸ cm = 10⁻⁷ mm = 1/10 000 000 mm.

einige der schon recht gut bekannten ultrastrukturellen Kriterien der allgemeinen Zellorganisation Erwähnung finden.

Eine ganze Anzahl allgemeiner cytoplasmatischer Strukturen kann im elektronenmikroskopischen Bilde klar erkannt werden. Einige von ihnen, wie Mitochondrien, der Golgi-Apparat, Sekret-Granula und Zellmembranen sind aus der Lichtmikroskopie bekannt, während andere, wie das „endoplasmatische Retikulum“ (Abb. 8a) und eine „feingranuläre Komponente des Cytoplasmas“ (Abb. 8a) erst unter Anwendung des Elektronenmikroskops wahrgenommen werden können.

Die in tierischen Zellen (einschl. Mensch) anzutreffenden Mitochondrien besitzen unabhängig von der Tierspezies und unabhängig vom Zelltyp ein charakteristisches Organisationsmuster, an dessen Intaktheit wichtige enzymatische Funktionen, wie z. B. solche des oxydativen Stoffwechsels der Zelle gebunden sind. Die Anzahl der Mitochondrien gibt Anhaltspunkte über Grad und Lokalisation bestimmter Stoffwechselleistungen. Sie werden in Form von Fäden, Stäbchen und Kugeln angetroffen. Jedes Mitochondrion besitzt eine äußere Grenzmembran, eine strukturlose mitochondriale Matrix und ein System von inneren Cristae mitochondriales, die von der inneren Oberfläche in das Innere der Organellen vordringen. In günstigen elektronenoptischen Aufnahmen erscheinen die Mitochondrienmembranen doppelt und die Cristae als Falten der zweiten inneren Mitochondrienmembran. Von anderen Organellen ähnlicher Größe werden sie durch die Anwesenheit der äußeren Grenzmembran und die charakteristischen Falten der inneren Membran unterschieden.

Der Golgi-Apparat (Golgi-Körper, Golgi-Zone) der Zelle bietet elektronenoptisch ein sehr polymorphes Aussehen. Er zeigt sich als diffuse Zone wechselnder Größe und Begrenzung und besteht aus drei Komponenten, aus elektronendichten Doppellamellen, aus leer erscheinenden Vacuolen von beträchtlich wechselnder Größe und Form und aus kleinen Bläschen und Granula.

Das „endoplasmatische Retikulum“ (auch Ergastoplasma oder cytoplasmatische Doppelmembranen genannt) ist ein neuer, erst elektronenoptisch erkannter cytoplasmatischer Bestandteil, der mit der Zellaktivität von einem zum anderen Zelltyp beträchtlichen Formwechsel zeigt (Abb. 8a). Besonders in Drüsenzellen findet er sich als kompliziertes Netzwerk paralleler Membranen, die geschlossene Kanäle und Cisternen wechselnder Weite bilden.

Eine „feingranuläre Komponente“ aus winzigen elektronendichten Punkten, von einer Größe unterhalb der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops (100 bis 150 Å), ist ferner im Cytoplasma häufig entlang den Membranoberflächen des „endoplasmatischen Retikulums“ oder auch frei im Cytoplasma verteilt zu finden (Abb. 8a).

Außer diesen in fast allen Zellarten vorkommenden Komponenten lassen sich in bestimmten Zelltypen elektronenoptisch noch Spezialstrukturen wie Sekretgranula, Cilien, Lipoideinschlüsse, Myo- und Axonfilamente u. a. erfassen.

Die Elektronenmikroskopie des Zellplasmas läßt einen Reichtum von Einzelheiten erkennen, wie er bisher nicht vermutet wurde. Die elektronenmikroskopische Untersuchung der allgemeinen Zellkernstruktur ist dagegen bisher noch sehr enttäuschend.

Das Nucleoplasma besteht elektronenoptisch aus einer Mischung verschieden großer Partikel. Der Nucleolus (Kernkörperchen) zeigt sich als kompaktes Aggregat kleiner Partikel. Die Kernmembran wird dargestellt in zwei elektronendichten Lamellen, die klar durch einen Spalt wechselnder Weite getrennt sind (Abb. 6). Die innere Membran ist die Begrenzung des Nucleoplasmas (Zellkerns), die äußere die des Zellplasmas.

Die elektronenoptischen Untersuchungen der Strukturelemente des Nervensystems, — der Nervenzellen mit ihren Fortsätzen, der die Nervenfasern umhüllenden Markscheiden, der die nervösen Impulse übermittelnden Synapsen und der sogenannten Gliazellen (Nervenkitt-Substanzen) — erfolgten bisher vorwiegend an tierischen Geweben und auch hier aus Gründen präparativer Schwierigkeiten zumeist am peripheren Nervensystem (Ganglien und periphere Nerven), seltener am Rückenmark, Medulla oblongata, an der Groß- und Kleinhirnrinde.

Wie bei jedem für elektronenoptische Untersuchungen in Angriff genommenen Objekt ist besonders an dem strukturell sehr empfindlichen Nervensystem die Gefahr sehr groß, etwa durch präparative Maßnahmen, durch die Austrocknung und Erhitzung des Gewebes im Hochvakuum oder durch das Elektronenbombardement direkt erzeugte Artefakte falsch zu interpretieren als der natürlichen lebenden Gewebsstruktur entsprechend. Es ergibt sich so ein erheblicher Arbeitsaufwand allein schon, um die Realität der Beobachtungen hinsichtlich der Bildung von Kunstprodukten abzusichern.

Die ersten nun schon „historischen“ Arbeiten aus den Jahren 1948 bis 1950 über die elektronenoptische Struktur von Nervenfasern peripherer Nerven beschreiben auch tatsächlich solche typischen Artefaktbildungen oder kämpfen noch mit der Schwierigkeit der Zuordnung beobachteter Strukturen im Reiche dieser kleinsten Dimensionen. So wurden z. B. kollagene Fasern, wie sie natürlich auch im Nervengewebe vorkommen, ernstlich als sogenannte „Neurotubuli“ mißdeutet. Infolge der verbesserten Schnitttechnik ist man aber heute so weit, mit solchen Schwierigkeiten der Zuordnung fertig zu werden. Aus normalanatomischen Untersuchungen des Nervensystems liegen schon eine ganze Reihe gesicherter elektronenoptischer Befunde vor.

Über den submikroskopischen Bau der peripheren markhaltigen Nervenfasern sind wir heute recht gut orientiert. Als wichtigster Beitrag der Elektronenmikroskopie sei hier die elektronenoptisch darstellbare Feinstruktur der Markscheide hervorgehoben. Die Markscheide besteht aus regelmäßig konzentrisch angeordneten dunklen und hellen Lamellen, deren dunkle etwa 25 Å dick sind. Der mittlere Abstand der Lamellen beträgt 120 Å. Die hellen Räume zwischen den dunklen Lamellen werden durch feinste Zwischenlamellen halbiert, die man bei stärkster Auflösung ebenfalls sichtbar machen kann. Die dunklen Hauptlinien (Abb. 4 u. 5) stellen Proteinmembranen dar, welche durch radial orientierte Lipoidmeloküle getrennt sind. Der Abstand zwischen den beiden dunklen Hauptlinien entspricht mit 95 Å etwa der Dicke einer bimolekularen Lipoidschicht. Die auf unseren Abbildungen hier nicht dargestellte Zwischenlinie würde den Enden der Lipoidmoleküle entsprechen, welche in engem Kontakt stehen. Diese Interpretation des elektronenoptischen Bildes steht in guter Übereinstimmung mit den röntgenographischen und polarisationsoptischen Daten. Sie wurde schon mit indirekten Methoden (u. a. von W. J. Schmidt, Gießen) wahrscheinlich gemacht vor ihrer Sichtbarmachung durch das Elektronenmikroskop. Die oben genannten Lamellenabstände variieren unter normalen Bedingungen nur gering innerhalb verschiedener Tierklassen und je nach Art der Präparation. Dickere Markscheiden unterscheiden sich von dünneren aber nur durch die Anzahl der Lamellen, nicht durch deren Breite.

Diese Lamellenstruktur der Markscheide läßt sich auch im zentralen Nervensystem (Gehirn und Rückenmark) nachweisen (Abb. 4 unten). Die dünnen, konzen-

trisch um das Axon (Fortsatz der Nervenzelle) geschichteten Lipoid- und Proteinfilm der Markscheide sind bei der Leitung der nervösen Impulse beteiligt.

Die Abbildungen 4 und 5 zeigen die enorme Quellungs-fähigkeit dieser submikroskopischen Ultrastruktur unter krankhaften Bedingungen (in diesem Fall bei diabetischem Koma). Die Quellungs-fähigkeit betrifft Eiweiß- und Lipoidlamellen. In bezug auf die bekannte, mit Hirnvolumensvermehrung einhergehende lebensbedrohliche Quellfähigkeit der Marksubstanz des Gehirns im Gefolge verschiedenster Krankheitsprozesse erscheinen diese Beobachtungen für die Hirnpathologie auch praktisch wichtig. Die Quellung kann zur Auflösung der submikroskopischen Markstruktur führen (Abb. 5), wobei offenbar die Proteinmembranen eine stärkere Resistenz gegenüber der Desintegration zeigen¹.

Bezüglich der Bildung der peripheren Markscheide sind die elektronenoptischen Studien von Geren (USA) und Robertson (USA) besonders bemerkenswert. Sie machen wahrscheinlich, daß die orientierten Lagen der Markscheide durch Schraubenbewegung der die Nervenzellfortsätze (Axone) einhüllenden Schwann'schen Zellmembranen gebildet werden, indem sie entweder ein Wachstumsmuster der Schwann'schen Zelloberfläche über ein stationäres Axon oder eine Drehbewegung des in die Oberfläche der Schwann'schen Zellen eingesenkten Axons widerspiegeln. Die amerikanischen Autoren konnten zeigen, daß die Außenlamelle der Markscheide durch eine Doppelmembran mit der Oberfläche der Schwann'schen Zelle, die innere Lamelle der Markscheide mit der Axon-Schwann-Membran verbunden ist. Danach bestünde die konzentrisch laminierte Struktur der peripheren Markscheide aus einer Doppelmembran der Schwann'schen Zelloberfläche, welche um das Axon eng wie eine Schnecke gewunden ist.

Die Lamellen der zentralen Markscheide werden von den Plasmamembranen der Gliazellen gebildet. Nach bisher vorliegenden Befunden scheint sich jedoch die Markscheidenbildung im zentralen Nervensystem in mancher Hinsicht von der im peripheren Nerven zu unterscheiden (Luse, USA).

Im Axon, das durch die Markscheide umhüllt wird, wurden elektronenoptisch außer Mitochondrien sogenannte Axonfilamente

¹ Weiteres bei G. Wilke: „Das elektronenoptische Quellungsbild der Markscheide.“ Physikalische Verhandlungen, Physik-Verlag, Mosbach, 1957.

(fädige Proteinkomplexe) mit einem Durchmesser von 100 bis 300 Å und unbestimmter Länge (auch Protofibrillen genannt) gefunden. Ihre Größe liegt unterhalb der Auflösung des Lichtmikroskops.

Für das Vorhandensein von Mitochondrien im Axon hat erst das Elektronenmikroskop den endgültigen Beweis geliefert, nachdem die Existenz von Mitochondrien im Axon bis dahin von einigen Autoren immer wieder als wenig wahrscheinlich angesehen worden war. Da es sich beim Axon der Nervenfasern um Nervenzellfortsätze handelt, die sich allerdings manchmal über weite Strecken des Körpers ausbreiten, ist das Vorkommen von Mitochondrien im Plasma dieser Zellfortsätze gar nicht verwunderlich.

Die sich im Lichtmikroskop nach Silberimprägnation im Axon und in der Nervenzelle zeigenden viel studierten „Neurofibrillen“ sind elektronenoptisch nicht nachweisbar. Die lange Kontroverse über die Praeexistenz von Neurofibrillen, die in vielen Lehrbüchern der Histologie als echte Gebilde geschildert wurden und auf deren Existenz als leitendes Element der Nervenfasern sich manches Lehrgebäude gegründet hat, ist durch die elektronenmikroskopischen Befunde endgültig beseitigt. Die erwähnten, im Axon und im Cytoplasma der Nervenzelle vorkommenden Neurofilamente sind zu klein, um lichtoptisch sichtbar zu werden. Sie werden offenbar erst durch künstliche Aggregation und Verklumpung mit anderen feineren Strukturelementen im Verlaufe der üblichen histologischen Färbe- und Imprägnationsprozeduren zu den im Lichtmikroskop als Neurofibrillen erscheinenden Kunstprodukten (Abb. 7). In Kombination mit der Gewebezüchtung wurde elektronenoptisch versucht, an auswachsenden Nervenfasern die Praeexistenz solcher nach Silberimprägnation lichtoptisch erscheinender „Neurofibrillen“ zu beweisen. Die erhobenen Befunde einer longitudinalen Streifung der wachsenden Nervenfasern in bedampften Präparaten ist aber kein überzeugender Beweis für die reale Existenz von Neurofibrillen als leitendes Element. Man kann sie, wie unsere Abb. 7 zeigt, leicht mit in der lichtmikroskopischen Histologie gebräuchlichen präparativen Verfahren künstlich erzeugen.

In der allgemeinen Cytologie des Neurons sind während der letzten 5 Jahrzehnte die in den Nervenzellen lichtoptisch zu beobachtenden Nissl-Körper (Schollen), der Golgi-Apparat und die Synapse auch immer wieder dahingehend diskutiert worden, ob es sich bei ihnen nur um Fixationsartefakte handele. Die

Fragen konnten durch die neue Untersuchungsmethode der Elektronenmikroskopie infolge ihres besseren Auflösungsvermögens und der größeren Empfindlichkeit für Dichteunterschiede im ultrahistologischen Schnitt neu in Angriff genommen und in mancher Hinsicht geklärt werden.

Es wurden dabei insbesondere neue Einsichten in die Struktur der großen aus der normalen Histologie bekannten basophilen Einschlüsse der Nervenzellen (der Nissl-Schollen) gewonnen. Wie das basophile Material in anderen Geweben (vgl. S. 214) enthält auch die Nissl-Substanz ein kontinuierliches System membranbegrenzter Hohlräume, das ein stark orientiertes „endoplasmatisches Retikulum“ repräsentiert. Auf oder zwischen den Membranen liegen isoliert oder in Haufen feine elektronendichte Granula (Abb. 8).

Diese „feingranuläre Komponente“ ist wie bei den Plasmazellen (Abb. 8a) verantwortlich für die lichtmikroskopische Basophilie der Nissl-Körper. In ihrem submikroskopischen Feinbau ähnelt die Nervenzelle sehr gewissen Protein-sezernierenden Drüsenzellen. Das „granuläre endoplasmatische Retikulum“ der Nissl-Schollen erscheint wichtig für den Proteinstoffwechsel der Zelle.

Man trifft in der Nervenzelle auch noch andere Aggregate enger, paralleler, dichtgepackter Röhren und Cisternen ohne granuläres Material, die den allgemein als Golgi-Apparat beschriebenen Strukturen ähneln. Die Mitochondrien der Nervenzellen haben die übliche Struktur und sind zwischen den Nissl-Körpern konzentriert.

Die Doppelmembran des Kerns (Abb. 6) kann entsprechend dem Funktionszustand der Nervenzelle phasische Strukturveränderungen eingehen mit Ausbildung charakteristischer schwammartiger Poren (Löcher, Knoten, Ringe) während des nucleocytoplasmatischen Stoffaustausches. Das gedrängte Cytoplasma der Nervenzelle kontrastiert elektronenoptisch scharf mit dem relativ offenen Cytoplasma vieler anderer Zelltypen (Abb. 7a).

Das den Neuroanatomen, den Neurophysiologen und den Neuropathologen gemeinsam berührende Problem der synaptischen Übertragung der nervösen Erregung von einem Neuron (Nervenzelle mit Fortsätzen) zum anderen Neuron oder deren Erfolgsorgane (Muskel, Drüsenzelle o. ä.) und die diesem Vorgang dienenden morphologischen Grundlagen der submikroskopischen Synapsen-Struktur ist ein lohn-

des Objekt elektronenoptischer Untersuchungen. Man trifft in den Synapsen Ultrastrukturen, die in enger Beziehung zur Funktion der Synapse stehen, — prae- und postsynaptisches Protoplasma trennende Eiweißmembranen aus orientierten Molekülen und chemische Vermittler, als welche Bläschen und Körnchen im Protoplasma der Endaufzweigungen des Axons angesehen werden müssen. Das Axoplasma der postsynaptischen Fasern erweist sich im allgemeinen elektronendichter mit einer höheren Anzahl axoplasmatischer Filamente gegenüber dem Axoplasma der praesynaptischen Faserendigung. Die das prae- und postsynaptische Protoplasma trennenden Membranen der synaptischen Verbindungen haben eine hohe Elektronendichte und variieren außerordentlich in ihrer Dicke. In der synaptischen Region selbst erscheinen sie durch einen Intermembranspalt getrennt. Die variierende Membrandicke und die Breite der Intermembranspalte haben womöglich Bedeutung für die Passage der nervösen Impulse und die Übertragung von Stoffen, welche bei der synaptischen Transmission eine Rolle spielen.

Die elektronenoptischen Befunde an der Synapse stützen die Konzeption Cajals von der Individualität des Neurons (Nervenzelle mit Fortsätzen), indem sie beweisen, daß kontinuierliche Zellmembranen die prae- und postsynaptischen Elemente trennen. Es finden sich jedoch breite Variationen der synaptischen Morphologie, vielleicht im Zusammenhang mit dem funktionellen Zustand. Das bisher vorliegende Untersuchungsmaterial über die Feinstruktur der Synapse ist noch zu begrenzt, um alle beobachteten morphologischen Details befriedigend zu deuten.

Nach Durchschneidung afferenter Nerven zeigen sich sehr bald an den interneuralen Synapsen die ersten degenerativen Veränderungen an den Nervenenden in Form von Verklumpung oder Auflösung der präsynaptischen Bläschenstrukturen, Lysis der Mitochondrien, Membranveränderungen und schließlich Ablösung der präsynaptischen Enden, während das postsynaptische Cytoplasma nicht verändert ist. Diese elektronenoptischen Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit neurophysiologischen Untersuchungen über frühzeitige Veränderungen der synaptischen Funktion nach Durchschneidung afferenter Nerven.

Die praktisch wichtige Frage der Regeneration von (durch Trauma, Poliomyelitis u. a.) beschädigten Nerven

wurde ebenfalls schon mit Hilfe des Elektronenmikroskops bearbeitet. 24 Stunden nach dem Trauma erscheint im geschädigten peripheren Nerven eine große Zahl kleiner neuer Nervenfasern, welche in die entnervten Schwann'schen Zellkolonnen einwachsen. Das Phänomen ist überall dort zu beobachten, wo degenerierte und intakte Nervenfasern gemischt sind.

Elektronenoptisch konnte bestätigt werden, daß es sich bei der nach Durchschneidung der Axone motorischer Nerven lichtoptisch zu beobachtenden Vermehrung fuchsinophiler Granula in den zugeordneten stimulierten motorischen Nervenzellen um Mitochondrien handelt.

Die Elektronenmikroskopie bietet auch einen neuen lohnenden Zugang zum Studium der Neuroglia. Sie bestätigt viele klassische Konzeptionen von der Struktur der Gliazellen wie z. B. ihren Kerngrößen, ihrer Form und Dichte und der Zahl und Beziehungen ihrer Fortsätze. Alle drei aus der normalen Histologie bekannten Typen von Gliazellen sind elektronenoptisch auf Grund ihrer strukturellen Besonderheiten zu identifizieren (Astrocyten, Oligodendroglia und Mikroglia). Einige Fragen der Neuroglia-Beziehungen werden durch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen ganz neu beleuchtet wie etwa die Beziehungen zur zentralen Myelogenese (Markscheidenbildung). Ferner gibt es z. B. nach den elektronenmikroskopischen Befunden im gesunden Hirngewebe keinen perivaskulären sogenannten Virchow-Robin'schen Raum an den Hirnkapillaren, da das gliale Cytoplasma offenbar eng der Basalmembran der Kapillarwand anhaftet. Die Mikroglia enthält nach den elektronenoptischen Befunden ebenfalls Mitochondrien, die in diesem Zelltyp bisher lichtoptisch nicht nachgewiesen wurden. Die in Astrocyten und Oligodendroglia lichtmikroskopisch beschriebenen „Gliosomen“ erweisen sich auf Grund ihrer elektronenmikroskopischen Struktur als Mitochondrien.

Ein weiteres Objekt elektronenmikroskopischer Forschung ist die sogenannte Bluthirn- bzw. Blutliquorschranke und in Verbindung damit das Studium des Säfte- und Stoffaustausches zwischen Blut und Hirngewebe sowie Blut und Liquor cerebrospinalis.

An den Blutkapillaren bilden die Endothelzellen ganz allgemein zum Gefäßlumen hin eine kontinuierliche Wand. Außer den üblichen Zellkomponenten besitzen die Endothelzellen intrazelluläre Fibrillen und eine große Zahl von Bläschen submikroskopisch-

scher Größe, die besonders unmittelbar unter der Zellmembran nach dem Kapillarlumen und den perikapillären Spalten hin konzentriert sind. Viele dieser Bläschen scheinen sich nach der Oberfläche der Zellmembran zu öffnen. Eine dünne unregelmäßige Lage relativ dichten Materials umgibt die äußere Oberfläche des Endothels. An günstigen Stellen erscheint sie als Filz außerordentlich feiner Fibrillen. Diese Lage entspricht der Basalmembran (Abb. 3). Die elektronenoptisch beobachteten Bläschen werden als Transportsystem gedeutet, das Flüssigkeit durch die Kapillarwand transportiert und für die hohe Permeabilitätsrate der Blutkapillaren verantwortlich ist.

Diese von Palade (USA) im Kapillarendothel des Skelettmuskels, des Herzens, im Darm und Pankreas beobachteten Bläschen wurden auch in den Schwann'schen Zellen, in den Satellitenzellen der Nervenzellen und in den Kapillarendothelien sympathischer Ganglien gefunden. Auch diese Beobachtung läßt vermuten, daß es sich hier um einen Flüssigkeits- bzw. Stofftransport auf submikroskopischer Ebene durch die Kapillarwand, die Schwann'schen Zellen und die Satellitenzellen der Ganglien handelt. Es wird aus diesen Beobachtungen eine Beziehung von Materialaustausch zwischen Nervenzellen und den Interzellularräumen abgeleitet, u. U. mit Umwandlung der Substanzen während des Transportes innerhalb der Zelle. Die Permeabilitätseigenschaften der Zellmembranen sind also sehr komplex.

Auch die wichtige Frage nach der Art und Weise, wie der Liquor cerebrospinalis in seiner Hauptbildungsstätte, dem Plexus chorioideus, entsteht, — entweder durch einfache selektive Filtration oder durch sekretorische Funktion des Plexusepithels — wurde mit Hilfe des Elektronenmikroskops angegangen. An der dem Ventrikel zugewandten Oberfläche des Plexusepithels findet man elektronenoptisch eine labile Struktur eines polypoiden Saumes, die womöglich am Sekretionsvorgang beteiligt sein könnte. An den lateralen Zellgrenzen und der basalen Oberfläche sieht man eine starke Einfaltung der Zellmembranen, die in Analogie zu anderen Epithelien offenbar den Wassertransport und die Diffusion gelöster Stoffe begünstigt. Es sind aber noch umfassendere Studien unter wechselnden physiologischen Bedingungen notwendig, um zu der Frage des Liquors als Sekretions- oder Filtrationsprodukt von morphologischer Seite Stellung zu nehmen.

Als Beispiel eines innersekretorischen Drüsenorgans sei der Vorderlappen des Hirnanhangs (Hypophyse) erwähnt, der elektronenoptisch eine verwirrende Reihe von Zellformen erkennen läßt. Dieses hängt zusammen mit der strukturellen Variabilität seiner Zellen, die eine unter sich verschiedene hormonale Funktion besitzen, aber auch mit dem funktionellen Stadium der Zellen im Augenblick der Fixierung. Die Zellen des Hypophysenvorderlappens können auf Grund der Größe der elektronenoptisch in ihnen zu beobachtenden Sekretgranula eingeteilt und mit den lichtoptischen Befunden und Beobachtungen der Endocrinologie in Beziehung gesetzt werden. Die in den Zellen zu beobachtenden Variationen am Golgi-Apparat, an den Mitochondrien, den Cytoplasmakanälchen und Bläschen (= endoplasmatisches Retikulum) stehen auch hier in Beziehung zu der jeweiligen funktionellen Aktivität der Zelle.

In ähnlicher Weise wurden elektronenoptische Untersuchungen anderer hochdifferenzierter Hirnregionen wie z. B. der submikroskopischen Struktur der Neurohypophyse oder der Photorezeptoren in den Außensegmenten der Stäbchenzellen der Netzhaut in Angriff genommen.

Ein interessantes Anwendungsfeld der Elektronenmikroskopie ist schließlich die Kombination der Fortschritte der Ultrahistologie mit den in der Virologie erworbenen Kenntnissen von der Ultrastruktur und dem Vermehrungsprozeß bestimmter Virusarten.

In Dünnschnitten der Chorioallantoismembran des bebrüteten Hühnereies sind nach experimenteller Infektion mit Herpes simplex Virus intranucleäre Einschlußkörper elektronenoptisch zu identifizieren. Solche Kerneinschlüsse enthalten zahlreiche Partikel einheitlicher Dichte, Form und Größe, bei denen es sich vermutlich um elementare Viruskörper handelt. Die Partikel innerhalb der Kerneinschlüsse sind kleiner als andere Partikel, die auch als Viren angesehen werden und im Cytoplasma und an den Zelloberflächen gefunden werden. Man vermutet, daß sich die Primärpartikel in den Kernen bilden und erst im Cytoplasma einen maximalen Durchmesser von 130 m μ erreichen. Ein weiteres Ansteigen der Größe scheint also nach ihrer Freigabe in das Cytoplasma zu erfolgen. Im Hirngewebe von Kaninchen und Mäusen, die mit Herpes simplex Virus infiziert worden waren, fanden Wyckoff (USA), Croissant und Lepine (Frankreich) in frühen Stadien in dem feinen Netzwerk veränderter Zellkerne (mit randständigem Chromatin) unregelmäßige elektronen-

optisch dichte Partikel. Mit fortschreitender Infektion wurden diese Partikel zahlreicher und verwandelten sich schließlich in etwas kleinere einheitlichere sphärische Partikel, welche vermutlich die elementaren Viruspartikel sind. Im Cytoplasma der Zellen wurden von diesen Autoren virusähnliche Partikel nur in den Endstadien gesehen, wenn ihre Anwesenheit das Resultat von Kernrupturen sein konnte.

An den Zellen der Hirnrinde eines Menschen, der an einer Encephalitis verstorben war (Abb. 8b) konnten wir elektronenoptisch gleiche Veränderungen, wie sie an den Zellen der Chorioallantoismembran des bebrüteten, infizierten Hühnereies und im Kaninchen- und Mäusegehirn nach experimenteller Herpes-Virus-Infektion beobachtet wurden, nachweisen. Offenbar hat es sich hier um eine Herpes-Virus-Encephalitis beim Menschen gehandelt. (Das Hirnmaterial dieses Falles wurde mir freundlicherweise von Herrn Prof. Krücke, Frankfurt am Main, zur Untersuchung überlassen.)

Weniger befriedigend sind bisher die elektronenoptischen Untersuchungsbefunde von Hirn- und Rückenmark bei Poliomyelitis. Einige Zellkerne zeigen bei erkrankten Mäusen statt des normalen Kernnetzes eine große Zahl Partikel von Virusgröße. Man vermutet, daß sich normale Kernnetzpartikel während der Infektion mit dem Poliomyelitis-Virus verwandeln oder durch Virus-Partikel ersetzt werden, die dann womöglich freigesetzt werden nach Desintegration der normalen Zellkernstruktur.

Auch die elektronenmikroskopische Untersuchung der bei Lyssa (Tollwut) in den Nervenzellen vorkommenden cytoplasmatischen Zelleinschlüsse (Negri'sche Körper) hat bisher weder in diesen selbst noch in anderen Zellkomponenten das Vorhandensein einheitlicher Partikel, die als Lyssa-Virus-Einheiten identifiziert werden könnten, aufgedeckt.

Dieser kurze Streifzug durch das Anwendungsgebiet der Elektronenmikroskopie kann natürlich nicht alle Probleme neuroanatomischer und neuropathologischer Forschung aufzeigen, die den Einsatz der Elektronenmikroskopie dringend notwendig machten. Manche Probleme sind zu speziell, um in allgemeiner Form gerechte Würdigung finden zu können. Dieser kurze Überblick demonstriert aber, so hoffe ich, auch dem nicht näher mit der Materie Vertrauten eindringlich, daß sich hier der morphologischen Forschung durch den Gebrauch eines wenn auch recht kost-



Abb. 1: Aufn. 508/1953. Fibrinfasern aus menschlichem Aderlaßblut, formolfixiert, nachfixiert mit Phosphorwolframsäure (0,3%) Vergr. 70 000:1

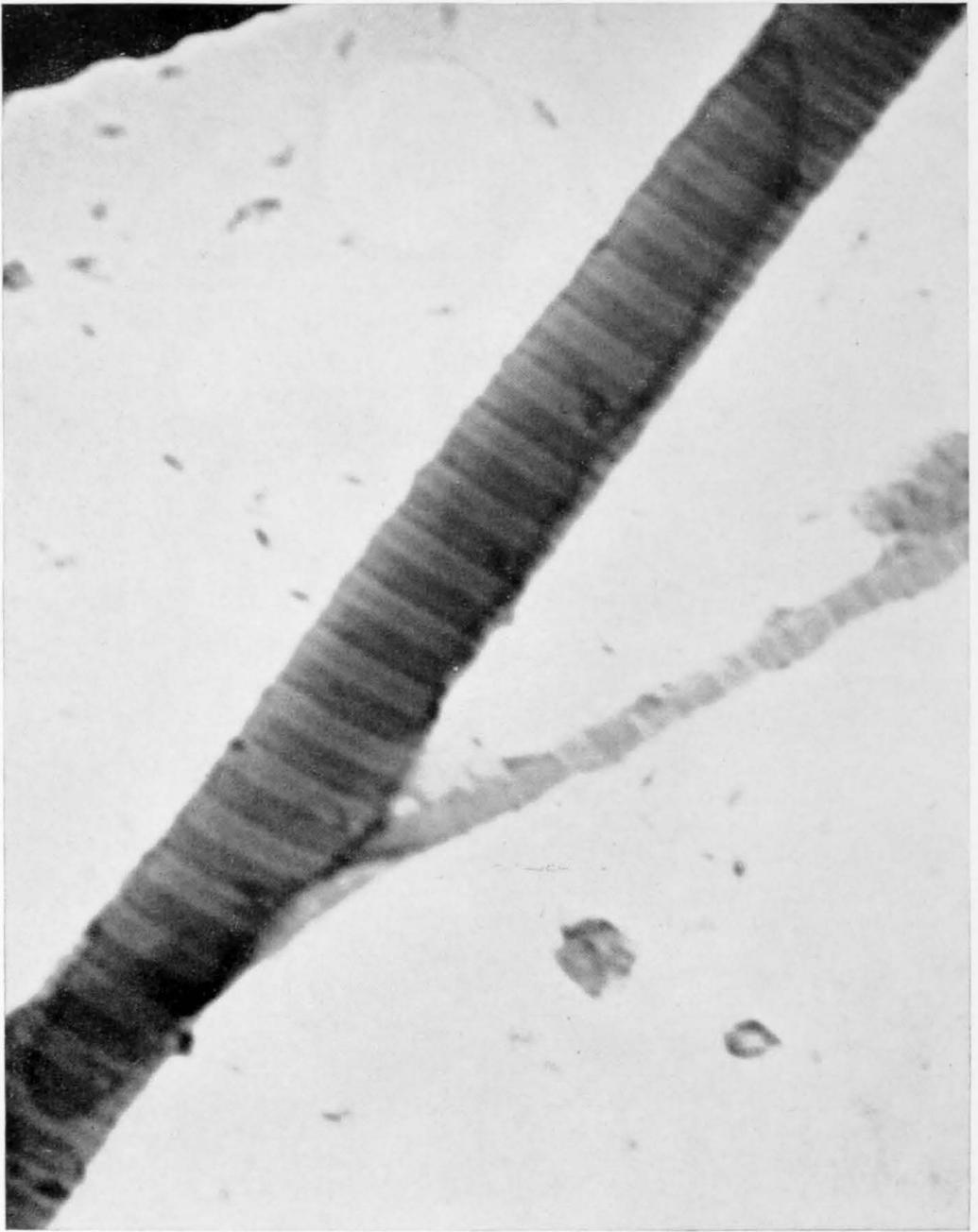


Abb. 2: Aufn. 13/1954. Kollagenfibrille aus einer menschlichen Psoassehne, formolfixiert, ohne Nachfixierung mit Schwermetallen.
Vergr. 150 000:1



Abb. 3: Aufn. 1957, 2/1. Blutgefäß aus dem menschlichen Gehirn, in welchem kollagene Fibrillen als Bestandteil der Gefäßwand zu erkennen sind. L = Gefäßlumen. Er = rotes Blutkörperchen. E = endotheliale Zellauskleidung der Gefäßwand. K = kollagene Fibrillen. BM = Basalmembran. Formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure. Ultradünner Gewebsschnitt, nach Herauslösung des Einbettungsmittels (Plexiglas) mit Platin unter einem Winkel von 15° bedampft. Vergr. 15 000:1



Abb. 4: 1955/7/1. Enorm gequollene Lamellenstruktur der Markscheide einer zentralen Nervenfasern bei Coma diabeticum. A = Axon. M = Markscheide. MA = intakte Markscheide mit Axon. Formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure. Ultradünner Gewebsschnitt. Vergr. 28 400:1

Bildausschnitt links unten: Regelmäßig, konzentrisch angeordnete Lamellen einer benachbarten erhaltenen Markscheide im gleichen Schnitt bei gleicher Vergrößerung (28 400:1)

Bildausschnitt rechts unten: Normale Lamellenstruktur der Markscheide einer zentralen Nervenfasern aus dem Kaninchenrückenmark (Rs V₃ 1956), formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure. Vergr. 28 800:1 (vgl. Text)

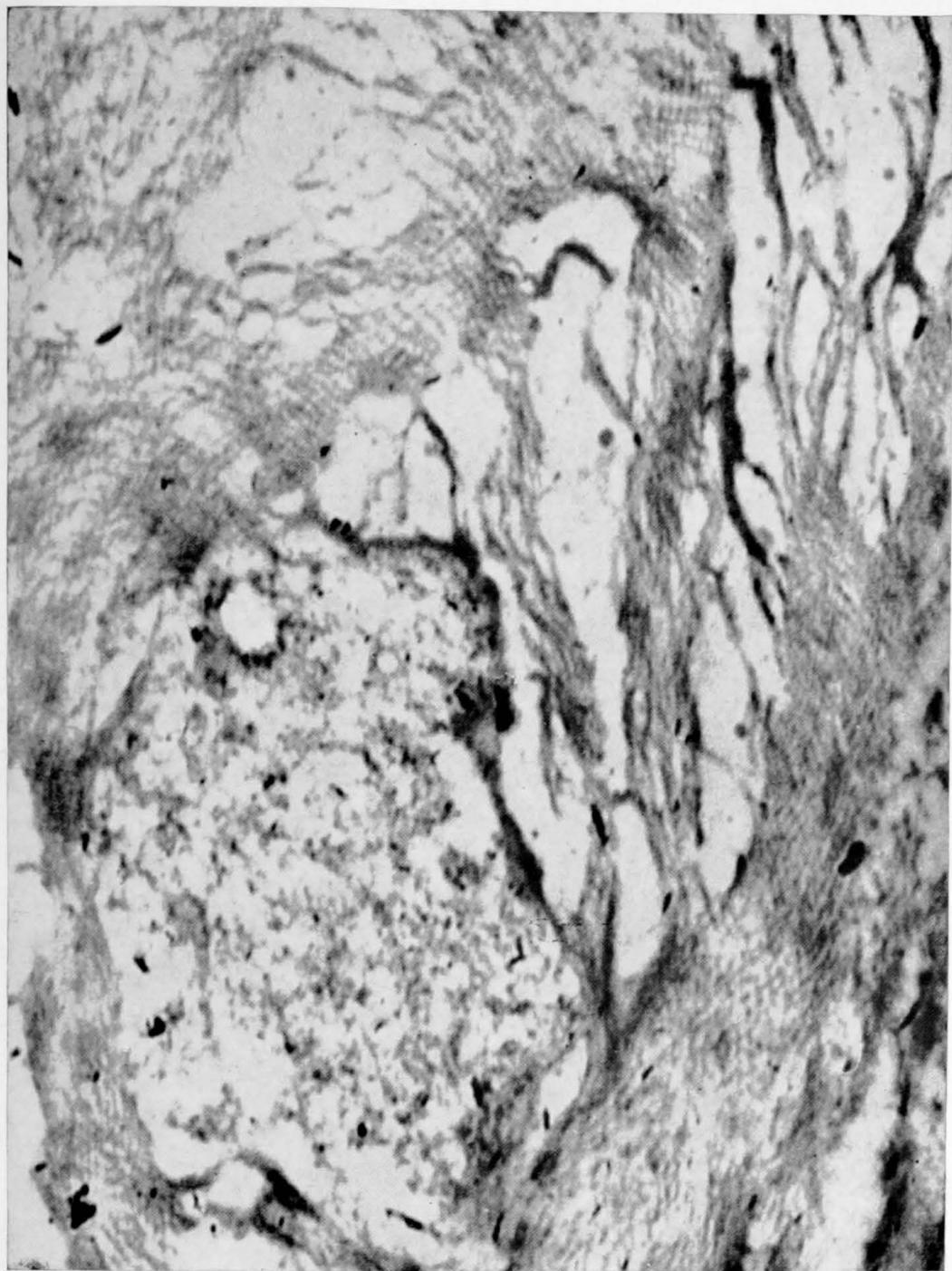


Abb. 5: Fortgeschrittene Quellung einer zentralen Markscheide mit Aufsplitterung der Lamellenstruktur und Erhaltung der Proteinlamellen (vgl. Text). Gleiches Material wie Abb. 4. Vergr. 28 000:1

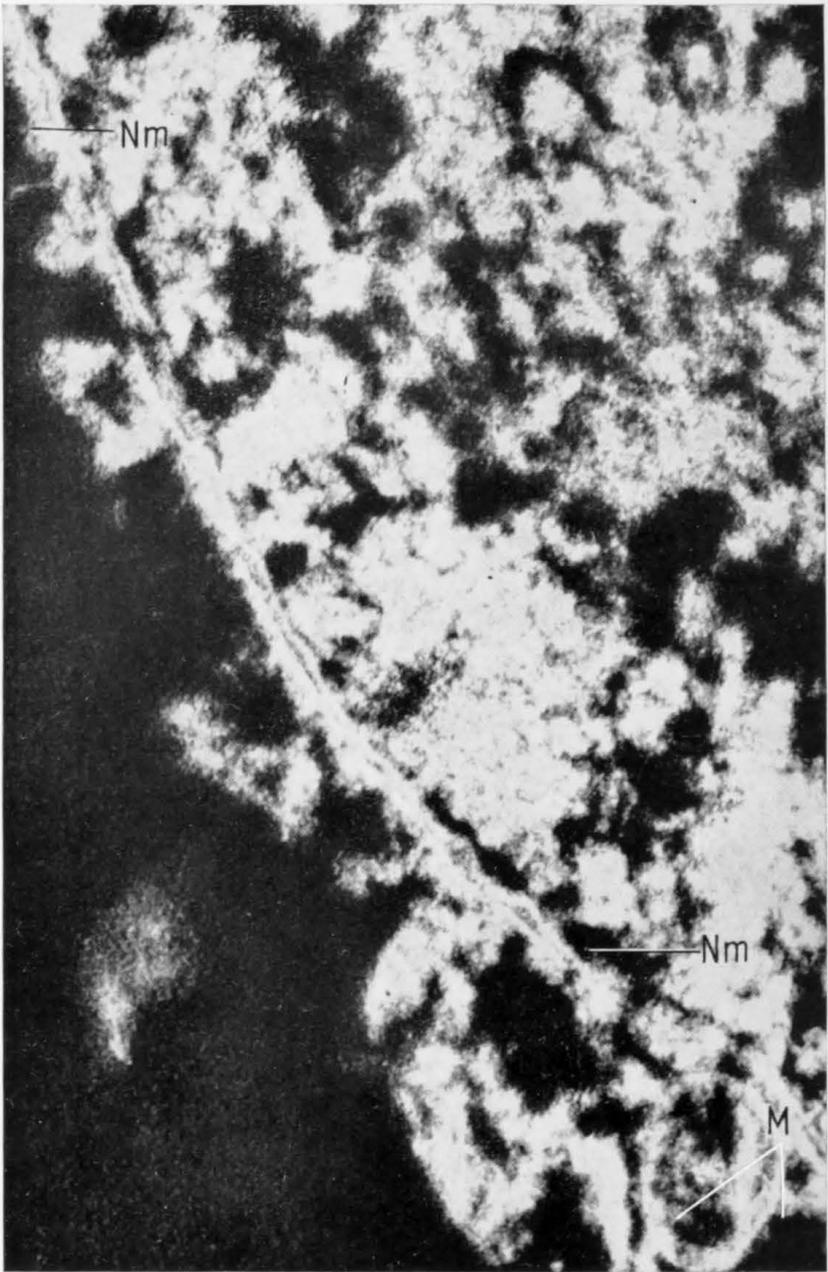
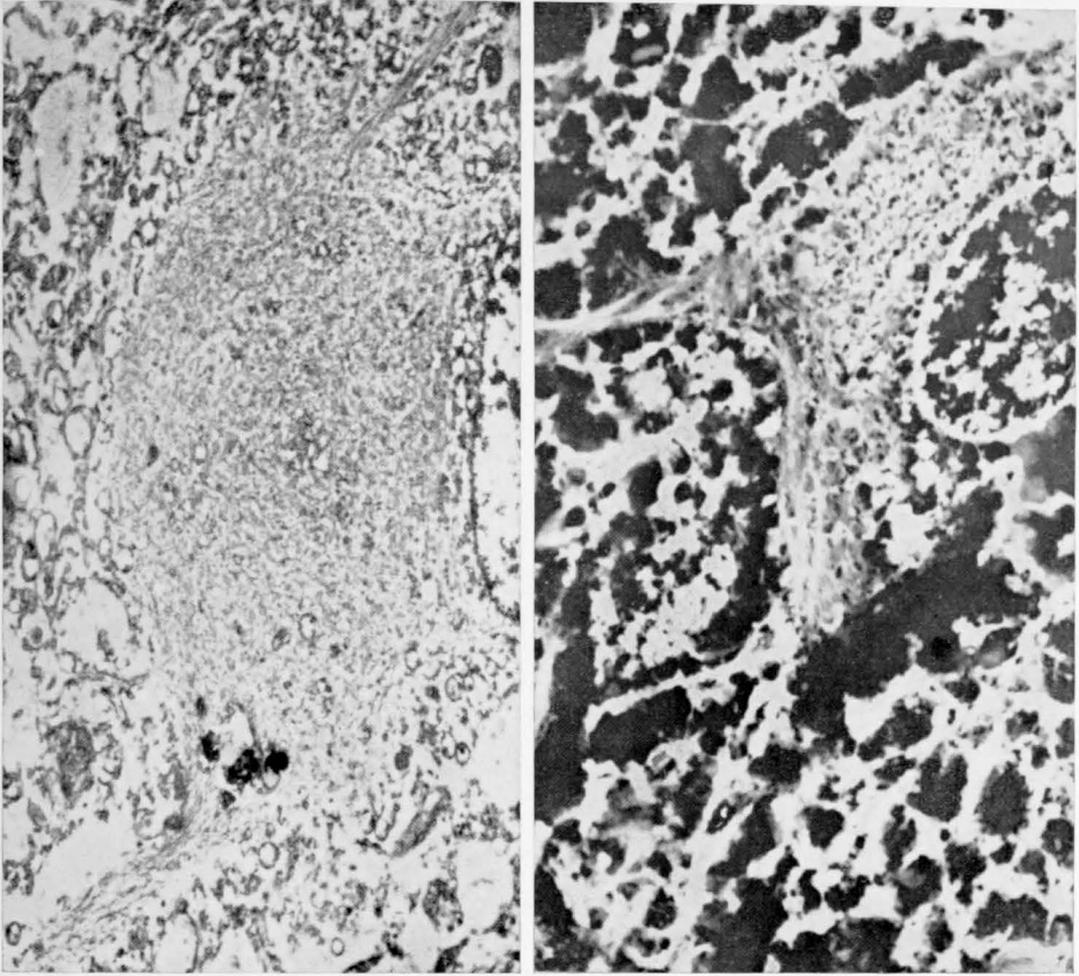


Abb. 6: 1957, 2/2. Kernmembran einer Nervenzelle der menschlichen Hirnrinde, bestehend aus einer inneren Membran, der Begrenzung des Zellkerns (rechts oben) und einer äußeren Membran, der Begrenzung des Zellplasmas (links unten). M = Mitochondrion. Nm = Kernmembran. Formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure und mit Platin unter einem Winkel von 15° bedampft. Vergr. 37 500:1



a)

b)

Abb. 7: 1957, 28/25 und 57, 68/1. Nervenzellen aus der Großhirnrinde des Menschen. Einfluß der Präparation auf die Entstehung sogenannter „Neurofibrillen“ durch künstliche Aggregation feinerer Strukturelemente (vgl. Text). Formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure.

a) Behandlung mit Amylacetat. Axon unten, Dendrit oben im Bild.
Vergr. 4 000:1

b) Behandlung mit Xylol und nachfolgender Bedampfung mit Platin unter einem Winkel von 10° . Vergr. 3 700:1

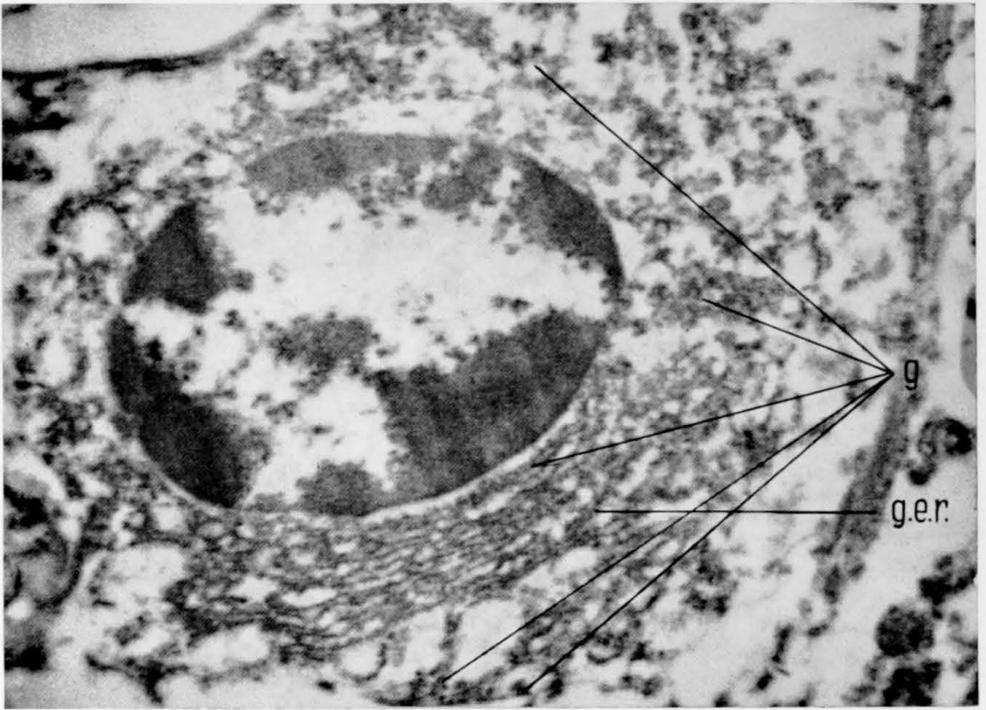


Abb. 8a: Aufnahme 1957, 27/25. Plasmazelle aus einem menschlichen Gehirn bei Encephalitis mit Radspeichenkern und stark entwickeltem, granulärem endoplasmatischem Reticulum, das wichtig ist für den Proteinstoffwechsel der Zelle (vgl. Text). g = Granula. g.e.r. = granuläres endoplasmatisches Reticulum. Formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure. Vergr. 16 000:1

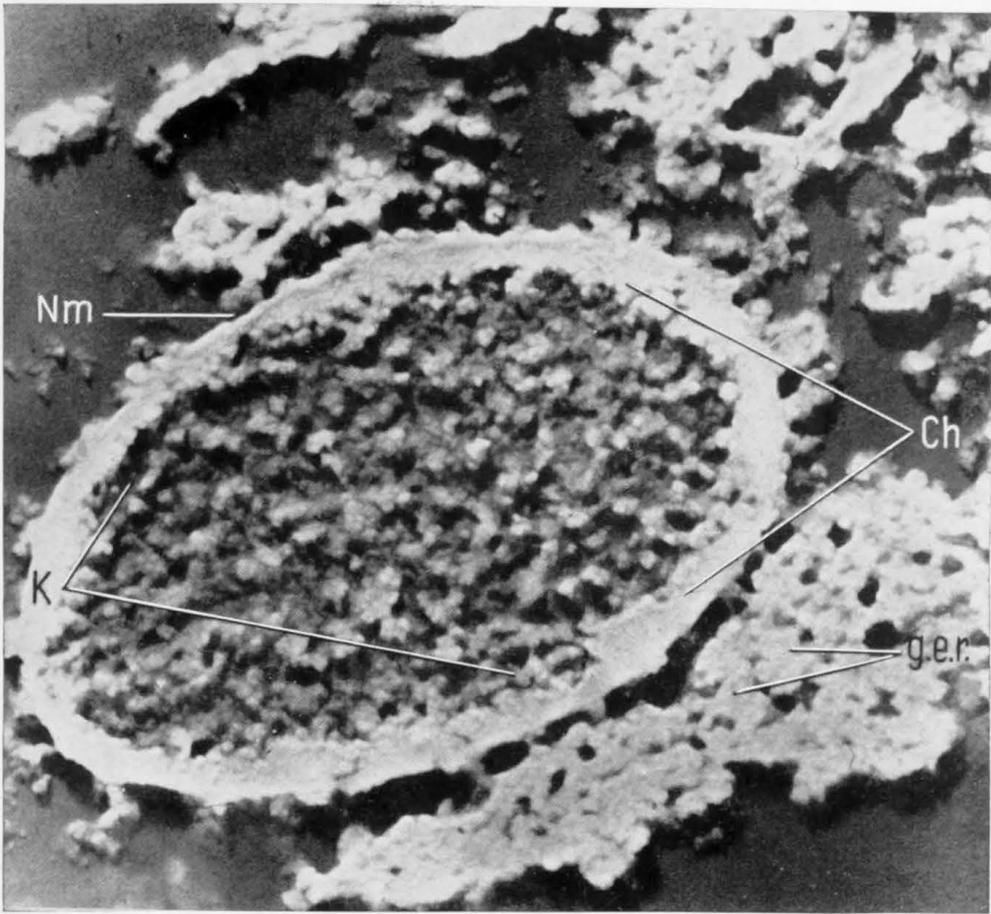


Abb. 8b: 1957, 60/25. Kranke Nervenzelle aus der Hirnrinde eines an Encephalitis verstorbenen Menschen mit randständigem Chromatin und großem Kern-Einschlußkörper. Ähnliche Kernveränderungen können nach experimenteller Herpes-Virusinfektion in der Chorioallantoismembran am infizierten Hühnerei und in Kaninchen- und Mäusegehirnen beobachtet werden. Man vermutet, daß es sich bei den kleineren, einheitlicheren, sphärischen Partikeln im Kerneinschluß um die elementaren Viruspartikel handelt. K = Kerneinschlußkörper. g.e.r. = granuläres endoplasmatisches Reticulum. Ch = randständiges Chromatin. Nm = Kernmembran. Formolfixiert, nachfixiert mit Osmiumsäure. Herauslösung des Einbettungsmittels (Plexiglas) mit Tetrachlorkohlenstoff, mit Siliciumoxyd bedampft unter einem Winkel von 15° . Vergr. 16 000:1

spieligen Handwerkszeugs Wege erschließen, deren Beschreitung seit langen Jahrzehnten diskutierte Probleme schnell einer Lösung näherführen können. Einen solchen Weg zu beschreiten, erfordert in Deutschland heute, allein schon aus äußeren Gründen, immer noch einen hohen Einsatz.

An den oben aufgezeigten, in den letzten Jahren mit dieser jungen Arbeitsmethodik erzielten Ergebnissen hat die deutsche Forschung, soweit es das Spezialgebiet der Neuroanatomie und Neuropathologie betrifft, nur wenig Anteil. Man sollte dieser Tatsache gegenüber die Augen nicht verschließen.

Ganz allgemein möchte ich zum Abschluß noch dem Wunsche Ausdruck geben, daß von offizieller Seite bald ein Rahmen geschaffen werden möge, der auch an den Instituten und Kliniken der wieder neuerstandenen Medizinischen Fakultät der Universität Gießen eine intensive Vertretung dieser Arbeitsrichtung in würdiger Form ermöglicht.

Die Aufnahmen der Abbildungen 7, 8a und 8b erfolgten mit einem PHILIPS-Elektronenmikroskop 75 kV Typ 11981. Der Grundstock zur Anschaffung dieses Kleinmikroskops wurde mir von den Farbenfabriken Bayer, Leverkusen und den Leitz-Werken, Wetzlar, gelegt, wofür ich an dieser Stelle meinen besonderen Dank abstatte. Die restlichen Anschaffungskosten wurden von der Max-Planck-Gesellschaft übernommen. Für die Aufnahme der Abbildung 4 rechts unten stand mir ein PHILIPS EM 75 kV mit eingebautem Stigmator und eingebauter Plattenkamera (Neuentwicklung) der Philips-Werke in Eindhoven, für die Aufnahmen der Abbildungen 1 bis 6 ein SIEMENS-Übermikroskop 100 a-e₂ in den Farbenfabriken Bayer in Leverkusen zur Verfügung. Für die Erlaubnis zur Benutzung der Bedampfungsanlage danke ich Herrn Dr. H. Kircher, Physiker der Farbenfabriken Bayer, Leverkusen, für die Übernahme einiger laufender Ausgaben und Anschaffung von Hilfsapparaturen ferner der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Ein ausführlicher Literaturnachweis kann vom Verfasser angefordert werden. Die Ausführungen stützen sich auf eigene Untersuchungen und auf elektronenmikroskopische Arbeiten folgender Autoren: U.S.A.: E. und T. F. Anderson; L. Antes; R. F. Baker; H. W. Beams; H. S. Bennett; V. L. van Breemen; C. D. Clemente; E. W. Dempsey; D. Duncan; L. Dmochowski; S. A. Ellison; T. C. Evans; M. G. Farquhar; H. S. Gasser; B. B. Geren; I. D. Green; J. F. Hartmann; A. Hess; A. J. Lansing; S. A. Luse; M. Maxfield; D. S. Maxwell; D. H. Moore; C. Morgan; G. E. Palade; S. L. Palay; D. C. Pease; J. Raskind; M. Reissi; A. G. Richards; J. F. Rinehart; L. Roizin; H. M. Rose; G. Rozsa; F. O. Schmitt; A. W. Sedar; H. B. Steinbach; A. Szent-Györgyi;

G. B. Wislocki; J. J. Wolken; R. W. G. Wyckoff. England: G. Causey; J. M. Dawson; J. G. Gall; H. Hoffman; R. Horne; J. Hossack; D. Lacy; H. Meyer; J. W. Millen; J. D. Robertson; G. E. Rogers; G. M. Wyburn; J. Z. Young. Frankreich: W. Bernhard; R. Couteaux; O. Croissant; D. u. M. Danon; F. Haguenaue; P. Lepine. Schweiz: C. A. Baud; J. A. Baumann; E. Pernoux; A. Weber. Schweden: F. S. Sjöstrand; J. B. Finean; E. Steinmann. Uruguay: C. Estable; E. P. de Robertis; C. M. Franchi; I. F. Sotelo. Venezuela: H. Fernandez-Morán. Italien: A. Bairati; D. Ventra. Deutschland: W. Bargmann; H. Brettschneider; H. Gansler; E. Horstmann. Ungarn: B. Horányi; Gy. Hajóssi.