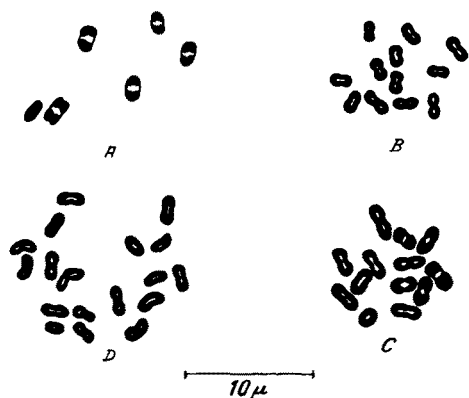


18 are simple multiples. Claims of the existence of polyploid series among bisexual animals are generally rejected on the ground that the observed numbers are not exact multiples of any basic number (WHITE¹). In the present instance, too, it will be argued that the existence of $n = 13$ in *Branchinecta* points to mechanisms other than polyploidy (structural changes or simple aneuploidy), which must have been at work among the Anostraca.

It has been shown (GOLDSCHMIDT²), that the higher polyploid races of *Artemia salina* Leach tend to accumulate extra chromosomes in fluctuating numbers. STEBBINS³ points out that in plants, aneuploidy superimposed on polyploidy may obscure the original multiple numbers. The Figure, illustrating the meiotic sets of the four species, does not lend itself too easily to an interpretation based on "fragmentation" or "fusion". It is hard to visualize the structural changes which might have converted the 6 bivalents of *Lepidurus* into the 18 elements of comparable size present in *Streptocephalus*, or vice versa.



Diakinesis stages of males, aceto-orcein squashes.

A *Lepidurus? productus* Bosc. B *Chirocephalus bairdi* Br.
C *Branchinecta ferox* M. Edw. D *Streptocephalus torvicornis* Waga

Most authors maintain that polyploidy in animals occurs mainly in conjunction with parthenogenesis ("MULLER's principle", WHITE⁴). Males were common in all the four species collected in different localities in Israel. The need for fertilization in the three Anostracan species was confirmed by keeping isolated females in the laboratory. Their eggs, in contradistinction to the eggs of females which are allowed to copulate, are blocked indefinitely in the oviduct, their development being arrested at metaphase of the first reduction division. – *Lepidurus* is stated (WESENBERG-LUND⁵), to reproduce by parthenogenesis in many regions, where males are absent or rare. Further observations are needed on its mode of reproduction in this country where males occur regularly.

Since bisexual reproduction is the rule, at least in some Euphyllipods, and since polyploidy may possibly have been involved in their evolution, their sex determining mechanism deserves especial interest. PAI⁶ describes an X-O mechanism in *Chirocephalus nanki-*

nensis. A careful search was therefore made for univalents at meiosis in the present material. No odd chromosomes, nor any distinctly unequal bivalents were found in males of any of the species. In the three Anostraca the females were examined, and their complements agreed in number with those of the males.

ELISABETH GOLDSCHMIDT

Department of Zoology, Hebrew University, Jerusalem, Israel, October 24, 1952.

Zusammenfassung

Die Chromosomenzahlen bei vier Euphyllipoden aus Israel betragen $n = 6$ (*Lepidurus productus* Bosc.?), $n = 12$ (*Chirocephalus bairdi* Br.), $n = 13$ (*Branchinecta ferox* M. Edw.) und $n = 18$ (*Streptocephalus torvicornis* Waga). Die höheren Zahlen, mit Ausnahme von 13, sind genaue Vielfache von 6. Das Beispiel von *Artemia salina* hat gezeigt, dass Aneuploidie im Gefolge von Polyploidie auftreten kann. In polyploiden Reihen muss daher mit möglichen Abweichungen von den genauen Vielfachen der Grundzahl gerechnet werden. – Im Gegensatz zu *Chirocephalus nankinensis*, bei dem PAI¹ einen X-O-Mechanismus beschreibt, besaßen alle hier behandelten Arten gerade Chromosomenzahlen im männlichen Geschlecht.

³ S. PAI, Exp. Cell Res. Suppl. 1, 143 (1949).

N-Lost- (N-mustard-)Wirkung und chromonemaler Spiralisationsgrad

Eine Analyse der Zellkernveränderungen in Lymphknoten-Serienpunktaten während klinischer Behandlung mit N-Lost bei Lymphogranulomatose, Lymphosarkomatose und lymphatischer Leukämie ergab folgende morphologisch fassbare Zellreaktionen¹:

1. Die Mitosen können im Stadium der Umordnung der Chromosomen in die Metaphaseplatte und während des Aufenthaltes in dieser gebremst werden. Daraus resultiert ein Anstieg der absoluten Metaphasehäufigkeit (zytostatische Wirkung). Diese Reaktion hat *keinen* fassbaren Einfluss auf das Krankheitsbild.

2. Den Beginn der Remission (Rückgang der Drüsen-schwellungen) kennzeichnen: a) Schwere Chromosomenzerstörungen vor allem in der Meta- und Anaphase (totale Pyknose aller Chromosomen) als Folge einer vor Beginn der eigentlichen Mitose gesetzten Schädigung («Ruhekerngiftstörung» MARQUARDT²). b) Primäre, das heisst *ohne vorangegangene Zellteilung* auftretende charakteristische Reaktionen der Ruhekerne: Massenzunahme und Vermehrung der Nukleoli, Hyper- und Hypochromasien und schliesslich vollständige vakuoläre Entartung im Bereich des Chromatinnetzes unter längerem Erhaltenbleiben der Nukleolen.

Das zytomorphologische Substrat der klinischen N-Lost-Wirkung betrifft also nicht die Kernteilungen, sondern die sogenannten «Ruhekerne». Die Tatsache, dass die typischen «Mitosegifte»³ (zum Beispiel Colchicin) keine fruchtbringende klinische Anwendung gefunden haben, lässt an der praktischen Bedeutung des rein zytostatischen Prinzips etwa durch Suche nach einem «krebsspezifischen Mitosegift» überhaupt zweifeln. Dass die Hemmung der Mitose oder die während der Teilung

¹ M. J. D. WHITE, Amer. Nat. 80, 610 (1946).

² E. GOLDSCHMIDT, Fluctuation in chromosome number in *Artemia salina* J. Morph. 91, 111 (1952).

³ G. L. STEBBINS, Variation and Evolution in Plants (Oxford University Press, 1950), pp. 328 and 458.

⁴ M. J. D. WHITE, Amer. Nat. 80, 610 (1946).

⁵ C. WESENBERG-LUND, Biologie der Süßwassertiere (Springer-Verlag, Wien, 1939).

⁶ S. PAI, Exp. Cell Res. Suppl. 1, 143 (1949).

¹ E. GRUNDMANN, Z. exper. Med. 118, 489 (1952).

² H. MARQUARDT, Exper. 5, 31 (1949).

³ R. J. LUDFORD, Arch. exper. Zellforsch. 18, 411 (1936). – H. LETTRE, Naturwissenschaften 33, 75 (1946) u. a.

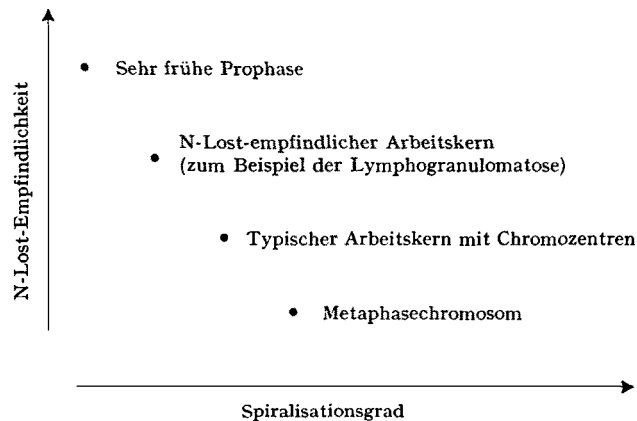
erfolgenden Zerstörungen der Zellen nicht für den klinischen Effekt verantwortlich zu machen sind, zeigten ferner die massiven Harnsäureausscheidungen¹ und der oft verzögerte, aber dann dramatisch einsetzende Schwund der Lymphknotenschwellungen.

Die Betonung der Ruhekerngift-Eigenschaft im strengen Sinne steht im Gegensatz zu den vielen Befunden, die eine ganz besondere Empfindlichkeit des Zellteilungsgeschehens gegen N-Lost bewiesen haben. Auch wir konnten auf Mitosehemmung und -störung hinweisen, wenn auch keine Beziehung zum klinischen Effekt herzustellen war. Immerhin sind schwere Eingriffe durch die N-Lost-Therapie in rasch proliferierenden Geweben (Knochenmark, Hoden) Tatsache (Proliferationsgift)². N-Lost hat also zwei einander anscheinend widersprechende Eigenschaften: 1. Diejenigen normalen Gewebe sind am empfindlichsten, die am meisten Zellteilungen aufweisen. 2. Vom Blickpunkt der Zelle aus ist allein der Ruhekerngift-Effekt entscheidend.

Im Bemühen um das beide Eigenschaften verbindende Prinzip ergibt sich folgende These für die *chromonemale Wirkungsabhängigkeit* des N-Losts:

Voran ist festzustellen, dass ein bestimmtes Zellkernstadium in einem mitotischen Gewebe mit den N-Lost-empfindlichen Ruhekernen strukturelle Gemeinsamkeiten aufweist: die sehr frühe Prophase, also das Stadium vorübergehender maximaler Entspiralisierung aller Chromosomenteile. Im sogenannten «Ruhe-», «Arbeits-» oder «Interphasekern» sind zwar auch die Chromosomen entspiralisiert vorzustellen, aber zur Erfüllung der spezifischen Zellaufgaben in einer für jeden Zelltyp spezifischen Weise: An verschiedenen Stellen erscheinen Chromatinverdichtungen (Chromozentren), Leitbahnen für nukleoläres Material werden sichtbar, ja der gesamte Arbeitskern ist, wie ALTMANN und MENY³ gezeigt haben, im Sinne eines «Funktionsformwechsels» in stetem Gestaltwandel begriffen. Dies ist aber nach unseren heutigen Vorstellungen eng an Kondensations- bzw. Spiralisationschwankungen geknüpft, das heisst, die Chromonemen des Arbeitskernes sind nicht völlig entspiralisiert, sondern stets zu einem grossen Teil kondensiert. Dieser Funktionsformwechsel sistiert in der Prophase: In einem bestimmten, sehr frühen Stadium, ehe die Chromosomen sichtbar werden, besteht der Kernraum bei guter Fixierung aus feinen, gleichmässig verteilten Chromatinpünktchen. Die gleiche Struktur hat aber das Kernbild zum Beispiel der typischen Lymphogranulomatose, ja die gleichmässige Granulierung dient im Verein mit den intensiv färbbaren Nukleolen geradezu als zytologisches Charakteristikum dieser Zellen, die ihrerseits klinisch besonders lichtsensibel sind. Auch die Zellkerne der beiden von uns genauer analysierten Lymphosarkomatosen zeigten das gleiche Strukturprinzip. Diese Zellkerne zeichnet also eine bestimmte Funktionsstruktur aus, die auffällige Gemeinsamkeiten mit der ganz frühen Prophase aufweist. Da man analog dem Angriff der ionisierenden Strahlen die Hauptschädigung, die sich in der nächsten Teilung manifestiert, in die sehr frühe Prophase legen muss, lässt sich in der Folge: sehr früher Prophasekern → N-Lost-empfindlicher Funktionskern → typischer Arbeitskern, ein ansteigender Kondensations- bzw. Spiralisationsgradient auffinden, der umgekehrt proportional der N-Lost-Sensibilität verläuft. Der maximale Spiralisationsgrad der Chromonemen als

Metaphasechromosomen ist, wie wir aus der Röntgenpathologie der Mitose wissen, mit einer relativ hohen Unempfindlichkeit des Chromosoms als solchen für diese Teilung gekoppelt, so dass sich dieses Schema durchaus in dieser Richtung ergänzen lässt. So ergibt sich die schematische Darstellung der Abbildung. – Jede Entspiralisierung der Chromatiden ist aber mit einer Hydratation verbunden, die wiederum die Wirkung der N-Lost-Moleküle begünstigen muss, wahrscheinlich erst ermöglicht. BUTLER und Mitarbeiter¹ folgern aus ihren neuen biochemischen Analysen einen direkten Angriff des N-Lost am Desoxyribonukleoprotein-Molekül, dessen hochpolymere Ketten entweder in ihre Strukturkomponenten zerlegt werden oder zerbrechen.



Schematische Darstellung der umgekehrten Proportionalität von Spiralisationsgrad der Chromonemen und N-Lost-Empfindlichkeit.

Die These von der umgekehrten Proportionalität zwischen Spiralisationsgrad der Chromonemen und N-Lost-Sensibilität erklärt: 1. die bevorzugte Empfindlichkeit aller Zellteilungen, da sie ja mit der ganz frühen Prophase, die möglicherweise mit der energetisch wichtigen «Antephase» BULLOUGHs² identisch ist, ein besonders empfindliches Stadium durchlaufen. Damit wird aber der Therapie meist die entscheidende Grenze gesetzt (Leukopenie usw.). Sie erklärt ferner 2. die N-Lost-Resistenz der überwiegenden Mehrzahl der Karzinome; denn die Voraussetzung für einen klinischen Erfolg ist die Zerstörung der Ruhekern, die elektiv in den malignen Zellen nur möglich ist, wenn ihr Spiralisationsgrad und damit ihr Hydratationsgrad dem der frühen Prophase normaler Somazellen ähnelt, und die meisten Karzinomzellen zeichnen sich gerade durch eine chromozentrenreiche, also den Ruhekernen der meisten Somazellen ähnelnde Struktur aus. – Die Beziehung zwischen N-Lost-Sensibilität und dem chromonemalen Spiralisationsgrad bedingt weiterhin 3. die neuerdings wieder von BILLERBECK³ in den Vordergrund gerückte Schädigung des gesamten retikulo-endothelialen Zellsystems; denn auch die typische RES-Zelle besitzt ein feingranuläres Kerngerüst wie etwa die Lymphogranulomazelle, ist also ebenfalls durch ein im Verhältnis zu den anderen Somazellen stark entspiralisiertes und dehydratisiertes Chromonemengerüst ausgezeichnet. Die These vermag noch nicht die Frage nach den Ursachen der unterschiedlichen Empfindlichkeit gleichbenannter pathologischer Gewebe zu beantworten.

¹ H. E. BOCK, R. GROSS und H. U. RIETHMÜLLER, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 1949, 389.

² H. E. BOCK, Strahlenther. 84, 77 (1951).

³ H. W. ALTMANN und R. MENY, Naturwissenschaften 39, 138 (1952).

¹ J. A. V. BUTLER et. al., Nature 167, 844 (1951) und 168, 985 (1951).

² W. S. BULLOUGH, J. Endocrinol. 6, 350 (1950).

³ K. BILLERBECK, Zbl. Path. 88, 25 (1951).

Diese Abhängigkeit der klinischen N-Lost-Wirkung vom chromonemalen Spiralisationsgrad macht aber weiterhin verständlich, warum bei niedriger therapeutischer Dosierung eine Leukopenie auch ohne Effekt am malignen lymphatischen Gewebe auftreten kann. Die Dosis reichte in einem solchen Falle wohl aus, diejenigen normalen und pathologischen Zellen aller Organe zu schädigen, die sich gerade in der frühen Prophase befanden, nicht aber um die Ruhekerne des malignen Gewebes zu zerstören. Je nach dem Spiralisations- und damit Hydratationsgrad, in dem die Ruhekerne-Chromonemen des malignen Gewebes vorliegen, tritt mit Dosiserhöhung der therapeutische Erfolg ein. Er wird aber nur dann möglich, wenn der chromonemale Hydratationsgrad der Kerne der malignen Zellen wesentlich unter dem der normalen Somakerne liegt. Denn eine noch höhere Dosis muss die normalen Somazellen schädigen, allen voran die durch lockere, stark hydratisierte Chromonemen ausgezeichneten RES-Zellen.

Die morphologisch fassbaren frühesten Reaktionen der Ruhekerne (Zunahme von Grösse und Farbintensität der Nukleolen) könnten das Äquivalent einer gesteigerten Kerntätigkeit darstellen, denn nach CASPERSSON¹ stellen derartige Veränderungen eine Bereitschaft zu erhöhter Eiweissproduktion des Zellkerns dar. Damit wäre bei sehr niedrigen Dosen sogar eine Anregung der an die RES-Zellen gebundenen Immunitätsreaktionen des Organismus möglich. Andererseits kann es sich bei der Zunahme der Nukleolenmasse aber auch um eine Hemmung der Abgabe nukleolärer Substanz in das Zytoplasma handeln, die sich nach den Befunden ALTMANN² auf chromosomalen oder chromonemalen Wegen vollzieht, intakte Chromonemen also voraussetzt. Diese Frage muss weiteren Untersuchungen überlassen bleiben.

E. GRUNDMANN

Medizinische Klinik der Universität Marburg a.d. Lahn*, den 1. September 1952.

* Jetzt: Pathologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.

Summary

From caryological tests on the lymph nodules punctate during N-mustard cure, it is concluded that the destruction of the resting nuclei without subsequent mitosis is solely responsible for the clinical action. Between N-mustard sensitivity and the condensation or spiralisation grade of the chromosomes, there seems to be an inverse proportionality which explains the special sensitivity of the very early prophase and certain forms of the resting nuclei.

¹ T. CASPERSSON, *Cell Growth and Cell Function* (Norton-Co., New York, 1950).

² H. W. ALTMANN, *Naturwissenschaften* 39, 348 (1952).

The Lamellated Structure of the Nerve Myelin Sheath as Revealed by High Resolution Electron Microscopy

Great numbers of thin membranes were originally isolated from peripheral nerves by means of fragmentation by SJÖSTRAND¹, using a technique similar to the one applied for isolating the unit discs of the retinal rod

outer segments¹. As these membranes besides collagen fibrils represented the mayor part of the material obtained and the polarisation optical and X-ray data indicated the existence of concentrically arranged alternating protein lipid layers, it was assumed that they represented myelin sheath elements.

The justification of this assumption was further supported by FERNÁNDEZ-MORÁN's observations on sections². In thin fragments of the myelin sheath he was able to demonstrate series of parallel lines with a regular spacing of 80–90 Å in rat and cat nerves. As his specimens represented rather small fragments he was not able to see whether these lines were concentrically arranged around the whole nerve fiber. Neither could he conclude whether this arrangement was uniform through the entire myelin sheath.

In ultra-thin sections of the osmium fixed mouse sciatic nerve, embedded in N-butyl-metacrylate, and using an improved technique³, it has been possible to obtain high resolution pictures of complete cross sections of myelinated nerve fibres. The Figure shows a part of such a complete cross section at 160,000 times magnification.

An extremely regularly arranged system of concentric lines running continuously all around the entire myelin sheath has been observed. These lines are rather uniformly spaced through the whole myelin sheath.

In addition to these lines, characterized by their high contrast, there appears a thin line (indicated by the arrows in the figure) with less contrast between each of these principal lines. In connection with these intermediate lines minute dots of high contrast are regularly seen. These dots represent more opaque regions within the intermediate lines.

The spacing between the thicker, principal lines was found to be 119 ± 1.5 when measured on 20 cross-sectioned nerve fibres. This value represents the mean value for about 1200 spacings included in the measurements. The coefficient of variation was 6%. The thickness of these lines varies considerably with the focusing of the objective lens. It is therefore necessary to measure the thickness on in-focus pictures of through-focus series. Such measurements give a thickness of about 25 Å, which measure corresponds to the resolution of the EMG's obtained during this study⁴.

The intermediate line is located half way in between adjacent principal lines, thus dividing the ca. 95 Å wide space in between the adjacent principal lines into two equal parts.

Both the principal and the intermediate lines appear granular. This appearance, the slightly irregular course of the lines and their behaviour at minor artificial cracks of the myelin sheath, show that we are not dealing with a diffraction effect but a true image.

The principal lines presumably form the basic structure of the thin membranes originally observed in fragmented material. The more opaque dots obviously correspond to the opaque dots observed on these isolated membranes, where the dots are arranged in groups.

The principal lines presumably represent protein membranes separated by the radially orientated lipid molecules. The distance between the principal lines cor-

¹ F. S. SJÖSTRAND, *J. Appl. Phys.* 19, 1188 (1948); *J. Cell. and Comp. Physiol.* 33, 383 (1950).

² H. FERNÁNDEZ-MORÁN, *Exp. Cell Res.* 1, 309 (1950); *Exp. Cell Res.* 3, 282 (1949).

³ F. S. SJÖSTRAND, *J. Cell and Comp. Physiol.* (in press).

⁴ This figure for the resolution is based on measurements, 25 Å representing the shortest distance between two image points being resolved.

¹ F. S. SJÖSTRAND, *Proc. Conf. Electr. Micr. Delft 1949*, 144 (1950); *Nature* 165, 482 (1950).