

the isolated stained cell layer¹⁻³ showing that the optical irregularities have more than a superficial structural basis. Continued observation shows that these markings are undergoing continual changes in form, as are the cell boundaries to a lesser extent in certain places.

This has a particular significance because the endothelium is believed to be the site of an active fluid transport mechanism which controls the corneal hydration^{4,5}. There is suggestive evidence that the intercellular spaces, which are involved in considerable infoldings on the basal surface of the cells, are implicated in this transport mechanism⁶⁻⁸, and that membrane-bound vesicles may also play a part in the process. Until the nature of these markings can be established by comparison with electron micrographs, their relationship to the transport process must remain speculative, and this study is presently being undertaken.

Zusammenfassung. Die direkte Beobachtung des Hornhautendothels wird mit einem speziellen Mikroskop mög-

lich. Formveränderungen der Zellen, besonders ihrer Oberflächenmembranen, lassen sich zeigen.

D. M. MAURICE⁹

Department of Physiology, Institute of Ophthalmology, London, W.C.1 (England), 4 April 1968.

- 1 E. ZANDER and G. WEDDELL, *J. Anat.* **85**, 68 (1951).
- 2 J. S. SPEAKMAN, *Br. J. Ophthalm.* **43**, 139 (1959).
- 3 K. E. SKRZYPASK, *Acta ophthalm.* **41**, 377 (1963).
- 4 S. MISHIMA and T. KUDO, *Invest. Ophthalm.* **6**, 329 (1967).
- 5 D. M. MAURICE, in *The Eye* (Ed. H. DAVSON; Academic Press, New York and London 1962; 2nd edn in press).
- 6 G. I. KAYE and G. D. PAPPAS, *J. Cell Biol.* **12**, 457 (1962).
- 7 G. I. KAYE, G. D. PAPPAS, A. DONN and N. MALLETT, *J. Cell Biol.* **12**, 481 (1962).
- 8 S. HODSON, *Expl Eye Res.* **7**, 221 (1968).
- 9 Present address: Division of Ophthalmology, Stanford Medical School, Palo Alto, Calif. 94305.

Elektronenmikroskopische Beobachtungen bei experimenteller Poliomyelitis

Bei einem Javaneraffen (*Cynomolgus irus*), der nach einer i.m. Poliovirus-Inokulation (hochvirulenter Stamm vom Typ III¹; 2×10^7 TCD₅₀ in 2 ml Gewebekulturrüberstand) eine schwere Tetraplegie entwickelt hatte, wurden 6 Tage post infectionem mehrere Gewebsstückchen aus den Vorderhörnern der Lumbalintumescenz unter Anwendung gebräuchlicher Fixierungs- und Einbettungsmethoden (Glutaraldehyd, Osmiumtetroxyd, Epon 812) mit dem Elektronenmikroskop (Zeiss EM 9A) untersucht. Die übrigen Anteile des Rückenmarks dienten für lichtmikroskopische und fluoreszenz-immunologische Kontrollen.

In den histologischen Präparaten waren ein erheblicher Ausfall von spinalen Motoneuronen sowie eine herdförmige bis diffuse Infiltration der Vorderhörner mit vornehmlich mononukleären Zelltypen zu erkennen. Polymorphkernige Granulozyten traten verhältnismässig spärlich in Erscheinung. Immunhistochemisch liess sich Poliovirus-Antigen in den Wänden der meisten intraspinalen Blutgefässen und in zahlreichen mononukleären Elementen nachweisen. Elektronenmikroskopisch konnten in den Perikaryen von Endothelzellen intraspinaler Kapillaren und Venen wiederholt Ansammlungen von rundlichen, ziemlich dichten Partikeln beobachtet werden. Diese Teilchen wiesen einen einheitlichen Durchmesser von ungefähr 27 nm auf und waren überwiegend in Form kristallgitterartiger Gefüge mit hexagonalem oder quadratischem Verteilungsmuster angeordnet (Figur 1). Solche intrazytoplasmatische Partikelaggregate trafen wir weiterhin überaus häufig in Zellen mit den feineren Strukturmerkmalen von Monozyten, Histiozyten und Makrophagen an (Figur 2). In polymorphkernigen Granulozyten sowie in Nervenzellen, Astrozyten und Oligodendrogliazellen bekamen wir sie eigentümlicherweise bisher niemals zu Gesicht. Die kristalloiden Partikelansammlungen, deren dreidimensionale Ausdehnung sich an Hand von Serienschnittaufnahmen leicht feststellen liess, lagen meist ohne Membranbegrenzung im Grundzytoplasma, vereinzelt aber auch innerhalb von Zisternen des endoplasmatischen Retikulums. Hervorzuheben ist, dass sie sich weder bei den Endothelien noch

bei den mobilen Zelltypen innerhalb von Phagosomen oder Restkörpern vorkamen.

Die von uns festgestellte Abmessung der Einzelpartikel stimmt weitgehend mit den Grössenangaben überein, die andere Autoren für komplett Polioviren gemacht haben²⁻⁸. Außerdem zeigen die Partikelanordnungen grosse Ähnlichkeit mit Polioviruskristallen, wie sie in Viruspräparationen von hoher Reinheit⁹⁻⁷, in Elementen infizierter Zellkulturen⁸⁻¹² und in Zellen von infizierten Versuchstieren^{13,14} zur Beobachtung gekommen sind. Für die Identität der Partikel mit Polioviren sprechen nicht zuletzt auch unsere bereits oben erwähnten fluoreszenzimmunologischen Untersuchungsergebnisse.

Es dürfte wohl kaum einem Zweifel unterliegen, dass für die intrazelluläre Bildung von Viruskristallen in der Hauptsache eine hohe örtliche Konzentration relativ reiner Viren erforderlich ist. Somit kann das gehäufte Vorkommen von Polioviruskristallen in den Endothelzellen intraspinaler Blutgefässen und in verschiedenen

- 1 D. MAGRATH und Mitarb., Manuskript in Vorbereitung.
- 2 A. B. SABIN, W. A. HENNESSEN und J. WARREN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **85**, 359 (1954).
- 3 C. E. SCHWERTZ, R. C. WILLIAMS, W. M. STANLEY, F. L. SCHAFER und M. E. MCCLAIN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **86**, 310 (1954).
- 4 C. E. SCHWERTZ und F. L. SCHAFER, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **61**, 740 (1955).
- 5 A. R. TAYLOR und M. J. MCCORMICK, *Yale J. Biol. Med.* **28**, 589 (1956).
- 6 R. L. STEERE und F. L. SCHAFER, *Biochim. biophys. Acta* **28**, 241 (1958).
- 7 F. S. SJÖSTRAND und A. POLSON, *J. Ultrastruct. Res.* **1**, 365 (1958).
- 8 D. C. STUART und J. FOGH, *Expl Cell Res.* **18**, 378 (1959).
- 9 J. FOGH und D. C. STUART, *Virology* **11**, 308 (1960).
- 10 D. C. STUART und J. FOGH, *Virology* **13**, 177 (1961).
- 11 H. D. MAYOR und L. E. JORDAN, *Virology* **16**, 325 (1962).
- 12 S. DALES, H. J. EGGLERS, I. TAMM und G. E. PALADE, *Virology* **26**, 379 (1965).
- 13 K. MANNWEILER und O. PALACIOS, *Z. Naturf.* **16b**, 705 (1961).
- 14 M. KANAMITSU, A. KASAMAKI, M. OGAWA, S. KASAHARA und M. IMAMURA, *Jap. J. med. Sci. Biol.* **20**, 175 (1967).

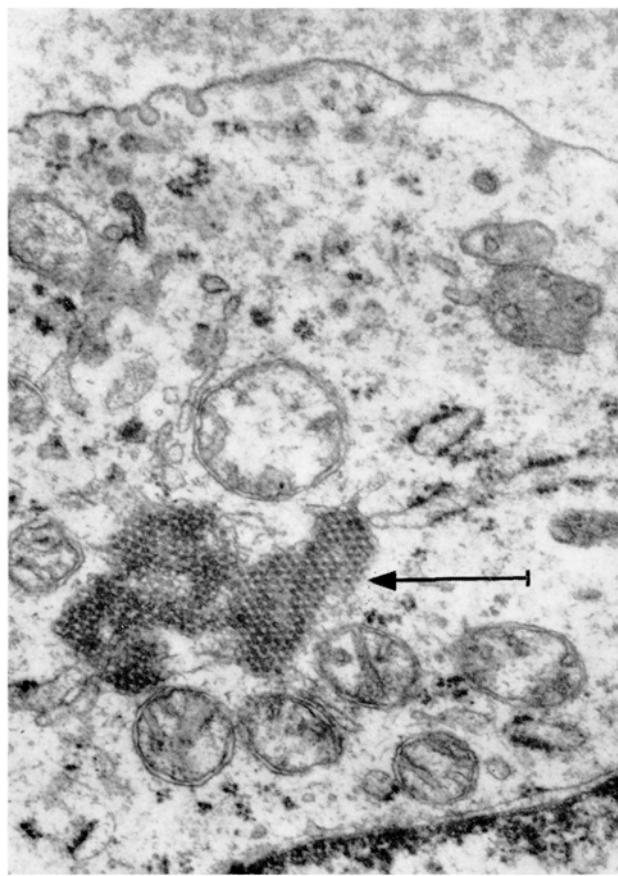


Fig. 1. Polioviruskristall (Pfeil) im Zytoplasma einer Endothelzelle von einer intraspinalen Vene. $\times 36000$.

mononukleären Zelltypen als Ausdruck einer besonders massiven Virusanziehung innerhalb dieser Elemente gewertet werden. Da die kristallgitterartig angeordneten Polioviruspartikel ausschließlich im Grundzytoplasma oder im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert waren, liegt die Annahme nahe, dass sie von den genannten Zellen nicht phagozytiert, sondern durchweg neu synthetisiert worden sind. Der Virusreplikation in den Endothelien von intraspinalen und intrazerebralen Kapillaren dürfte wohl eine ganz besondere pathogenetische Bedeutung beizumessen sein. Sie bildet wahrscheinlich die wesentliche Voraussetzung dafür, dass die auf dem Blutweg ins Rückenmark und Gehirn gelangenden Polioviren die sog. Blut-Hirn-Schranke zu durchbrechen und in das eigentliche zentralnervöse Gewebe einzudringen vermögen. In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, dass MANNWEILER und PALACIOS¹³ bei Rhesusaffen, die mit Poliovirus vom Typ I infiziert worden waren, bereits in der präparalytischen Phase Viruskristalle im Endothel von intrazerebralen Blutgefäßen beobachtet haben. Für die Verbreitung der Polioviren innerhalb des Neurons scheinen nach unseren bisherigen Befunden vor allem die zur Ortsveränderung durch amöboide Eigenbewegungen befähigten mononukleären Zellelemente (Monozyten, Histiozyten, Makrophagen bzw. progressive Mikrogliazellen) verantwortlich zu sein. Ob in bestimmten Stadien des entzündlichen Prozesses auch polymorphe Granulozyten zur Dissemination des Poliovirus im Zentralnervensystem beitragen, wird sich erst nach weiteren elektronenmikroskopischen Untersuchungen sicher ent-

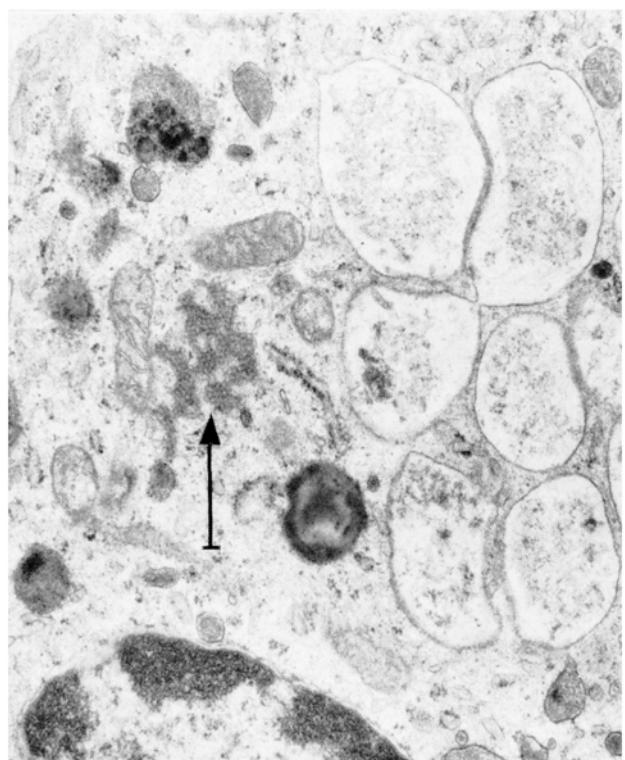


Fig. 2. Teilbild eines Makrophagen. In seinem Plasmaleib kann man neben Mitochondrien, Lysosomen und Phagozytosevakuolen ein kristalloides Poliovirusaggregat (Pfeil) erkennen. $\times 18000$.

scheiden lassen. Bemerkenswerterweise haben NELSON et al.^{15,16} im Gehirn von Mäusen, die mit dem zur Paralytikgruppe gehörenden MM-Polioenzephalitisvirus infiziert worden waren, des öfteren kristalloide Virusaggregate im Zytoplasma von neutrophilen Leukozyten vorgefunden.

Summary. The lumbar motor columns of a cynomolgus monkey which had become tetraplegic after infection with a highly virulent strain of type 3 poliovirus were examined by electron microscopy. Within the cytoplasm of many endothelial cells of intraspinal blood vessels, as well as within the perikarya of numerous mononuclear inflammatory cells, there occurred regular arrays of dense particles which, on the basis of morphological evidence, could be identified as poliovirus crystals. The possible significance of viral replication by endothelial and mononuclear cells for poliovirus spread within the central nervous system is briefly discussed.

K. BLINZINGER, J. SIMON,
D. MAGRATH und L. BOULGER

Max-Planck-Institut für Psychiatrie,
8 München 23 (Deutschland) und
Medical Research Council Laboratories,
London (England), 25. Juli 1968.

¹⁵ E. NELSON, H. HAGER und E. Kovács, *Science* 139, 499 (1963).

¹⁶ E. NELSON, H. HAGER und E. Kovács, *Am. J. Path.* 44, 29 (1964).