

PROGRESS IN BRAIN RESEARCH

VOLUME 6

TOPICS IN BASIC NEUROLOGY

W. BARGMANN

AND

J.P. SCHADÉ

PROGRESS IN BRAIN RESEARCH
VOLUME 6

TOPICS IN
BASIC NEUROLOGY

EDITED BY

W. BARGMANN

Anatomisches Institut der Universität Kiel, Kiel (Deutschland)

AND

J. P. SCHADÉ

Central Institute for Brain Research, Amsterdam (The Netherlands)



ELSEVIER PUBLISHING COMPANY

AMSTERDAM / LONDON / NEW YORK

1964

ELSEVIER PUBLISHING COMPANY
335 JAN VAN GALENSTRAAT, P.O. BOX 211, AMSTERDAM

AMERICAN ELSEVIER PUBLISHING COMPANY, INC.
52 VANDERBILT AVENUE, NEW YORK 17, N.Y.

ELSEVIER PUBLISHING COMPANY LIMITED
12B, RIPPLESIDE COMMERCIAL ESTATE
RIPPLE ROAD, BARKING, ESSEX

This volume contains a series of lectures delivered during a symposium on
TOPICS IN BASIC NEUROLOGY
which was held as part of the Third International Meeting of Neurobiologists
at the Anatomisches Institut der Universität Kiel, Kiel, Deutschland
from 26-29 September, 1962.
This meeting was organized by
W. Bargmann, K. Fleischhauer and A. Oksche

LIBRARY OF CONGRESS CATALOG CARD NUMBER 63-19823

WITH 136 ILLUSTRATIONS AND 6 TABLES

ALL RIGHTS RESERVED
THIS BOOK OR ANY PART THEREOF MAY NOT BE REPRODUCED IN ANY FORM,
INCLUDING PHOTOSTATIC OR MICROFILM FORM,
WITHOUT WRITTEN PERMISSION FROM THE PUBLISHERS

List of Contributors

- V. C. ABRAHAMS, The National Institute for Medical Research, Mill Hill, London.
- K. BLINZINGER, Abteilung für Elektronenmikroskopie der deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie, Max-Planck-Institut, München (Deutschland).
- J. L. BROWN, Department of Physiology, University of Zurich, Zurich (Switzerland).
- A. S. V. BURGEN, Department of Physiology, McGill University, Montreal (Canada).
- E. C. CROSBY, University of Michigan, Ann Arbor, Mich. (U.S.A.).
- J. DROOGLEEVER FORTUYN, Department of Neurology, University of Groningen, Groningen (The Netherlands).
- H. EDERY, The National Institute for Medical Research, Mill Hill, London.
- T. EDINGER, Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, Mass. (U.S.A.).
- B. GRAFSTEIN, Department of Physiology, McGill University, Montreal (Canada).
- H. HAGER, Abteilung für Elektronenmikroskopie der deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie, Max-Planck-Institut, München (Deutschland).
- U. HOLMGREN, Zoological Institute, University of Uppsala, Uppsala (Sweden).
- R. W. HUNSPERGER, Department of Physiology, University of Zurich, Zurich (Switzerland).
- R. JUNG, Abteilung für klinische Neurophysiologie der Universität, Freiburg i/Br. (Deutschland).
- H. KAPP, Abteilung für klinische Neurophysiologie der Universität, Freiburg i/Br. (Deutschland).
- D. KARCHER, Laboratory of Neurochemistry, Neurological Department, Institute Bunge, Berchem-Antwerp (Belgium).
- H. KUHLENBECK, Department of Anatomy, Woman's Medical College of Pennsylvania, Philadelphia, Pa. (U.S.A.).
- M. W. LASALLE, Newberry State Hospital, Newberry, Mich. (U.S.A.).
- H. J. LEHMANN, Clinic for Mental and Nerve Diseases, University of Kiel, Kiel (Germany).
- A. LOWENTHAL, Laboratory of Neurochemistry, Neurological Department, Institute Bunge, Berchem-Antwerp (Belgium).
- J. METUZALS, Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa.
- R. ORTMANN, Anatomisches Institut der Universität Köln, Köln (Deutschland).
- P. L. PARMEGGIANI, Institute of Physiology, University of Zurich, Zurich (Switzerland).
- H. E. ROSVOLD, Department of Physiology, University of Zurich, Zurich (Switzerland).

- R. SPEHLMANN, Abteilung für klinische Neurophysiologie der Universität, Freiburg i/Br. (Deutschland).
- D. SPINELLI, Kerckhoff Laboratories of the Biological Sciences, California Institute of Technology, Pasadena, Calif. (U.S.A.).
- H. SPULER, Department of Experimental Neurology, Temple University Medical School, Philadelphia, Pa. (U.S.A.).
- E. G. SZÉKELY, Department of Anatomy, Woman's Medical College of Pennsylvania, Philadelphia, Pa. (U.S.A.).
- W. M. TREFF, Institut für Hirnforschung und allgemeine Biologie, Neustadt/Schwarzwald (Deutschland).
- G. ULE, Department of Pathology, University of Kiel, Kiel (Germany).
- H. VAN DER LOOS, Department of Anatomy, The Johns Hopkins University, School of Medicine, Baltimore, Md. (U.S.A.).
- A. VAN HARREVELD, Kerckhoff Laboratories of the Biological Sciences, California Institute of Technology, Pasadena, Calif. (U.S.A.).
- M. VAN SANDE, Laboratory of Neurochemistry, Neurological Department, Institute Bunge, Berchem-Antwerp (Belgium).
- F. WALBERG, Anatomical Institute, University of Oslo, Oslo.

Other volumes in this series:

Volume 1: *Brain Mechanisms*
Specific and Unspecific Mechanisms of Sensory Motor Integration
Edited by G. Moruzzi, A. Fessard and H. H. Jasper

Volume 2: *Nerve, Brain and Memory Models*
Edited by Norbert Wiener and J. P. Schadé

Volume 3: *The Rhinencephalon and Related Structures*
Edited by W. Bargmann and J. P. Schadé

Volume 4: *Growth and Maturation of the Brain*
Edited by D. P. Purpura and J. P. Schadé

Volume 5: *Lectures on the Diencephalon*
Edited by W. Bargmann and J. P. Schadé

Volume 7: *Slow Electrical Processes in the Brain*
by N. A. Aladjalova

Volume 8: *Biogenic Amines*
Edited by Harold Himwich and Williamina Himwich

Volume 9: *The Developing Brain*
Edited by Williamina Himwich and Harold Himwich

Volume 10: *Structure and Function of the Epiphysis Cerebri*
Edited by J. Ariëns Kappers and J. P. Schadé

Volume 11: *Organization of the Spinal Cord*
Edited by J. C. Eccles and J. P. Schadé

Volume 12: *Physiology of Spinal Neurons*
Edited by J. C. Eccles and J. P. Schadé

Volume 13: *Mechanisms of Neural Regeneration*
Edited by M. Singer and J. P. Schadé

Volume 14: *Degeneration Patterns in the Nervous System*
Edited by M. Singer and J. P. Schadé

Contents

List of contributors	V
Introduction	
E. C. Crosby (Ann Arbor, Mich.)	1
Über die chemische Spezifität von Neuronensystemen	
R. Ortman (Köln, Deutschland)	4
Brain stem electrical activity and the release of acetylcholine	
V. C. Abrahams and H. Edery (London)	26
Protein fractions and lactico-dehydrogenase isozyme distribution in normal and pathological nervous tissue (man and animal)	
M. Van Sande, D. Karcher and A. Lowenthal (Antwerp, Belgium)	37
Similarities and dissimilarities in submicroscopical morphology of interneuronal contact sites of presumably different functional character	
H. Van Der Loos (Baltimore, Md.)	43
Further electron microscopical investigations of the inferior olive of the cat	
F. Walberg (Oslo)	59
Ultrastructure of Ranvier's node in central fibres, analysed in serial sections	
J. Metzuzals (Ottawa)	76
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Feinstruktur ruhender und progressiver Mikrogliazellen im ZNS des Goldhamsters	
K. Blinzinger and H. Hager (München, Deutschland)	99
Geometrical properties of the neurons in general and of the lateral geniculate body of the rabbit in particular	
J. Droogleever Fortuyn (Groningen, The Netherlands)	113
Pattern of optic nerve connections following retinal regeneration	
B. Grafstein and A. S. V. Burgen (Montreal, Canada)	126
Numerische und Volumenzelldichte im Caudatum Mediale: Mit besonderer Berücksichtigung des quantitativen Auswertungsfehlers bei Zellzählung	
W. M. Treff (Neustadt/Schwarzwald, Deutschland)	139
Recent advances in paleoneurology	
T. Edinger (Cambridge, Mass.)	147
Notes on the caudal neurosecretory system of teleost fishes	
U. Holmgren (Uppsala, Sweden)	161
Electrophysiological findings and structural changes in circumscribed inflammation of peripheral nerves	
H. J. Lehmann and G. Ule (Kiel, Germany)	169
Mechanisms of the extensor rigidity caused by spinal cord asphyxiation	
A. Van Harreveld and D. Spinelli (Pasadena, Calif.)	174
A study on the central representation of sleep behaviour	
P. L. Parmeggiani (Zurich, Switzerland)	180
Combined stimulation in areas governing threat and flight behaviour in the brain stem of the cat	
R. W. Hunsperger, J. L. Brown and H. E. Rosvold (Zurich, Switzerland)	191
Observations on the EEG of a hydranencephalic 'decorticate' child in the resting condition and upon stimulation	
H. Kuhlenbeck, E. G. Székely and H. Spuler (Philadelphia, Pa.)	198
Some implications of the concept of physiological induction	
M. W. Lasalle (Newberry, Mich.)	207
Acetylcholin-Aktivierung von Neuronen des visuellen Cortex durch Mikro-elektrophorese	
R. Spehlmann, H. Kapp und R. Jung (Freiburg i./Br., Deutschland)	215
Author Index	241
Subject Index	246

Introduction

E. C. CROSBY

University of Michigan, Ann Arbor, Mich. (U.S.A.)

A meeting such as this international Symposium obviously offers one of the best ways for an exchange of information and for a discussion of the means of attack on the many problems that beset all of us in our investigations of the nervous system. Structure in all the implications of the term obviously must be related to function in all its various manifestations. Yet the accomplishment of this goal presents many difficulties. These difficulties are of various sorts, but most frequently they are inherent in the infinite complexity of nervous system structure and function. Unfortunately function and structure in the nervous system often do not bear a direct and simple relation to each other. The correlation of all available information – embryological, macroscopic, microscopic, and ultramicroscopic – and an understanding of the interlocking of endocrine and nervous functions are necessary for a thorough understanding of the problems involved. A few illustrations of such types of problems are presented.

Difficulties in interpreting experimental data or clinical lesions often arise from the fact that the results obtained from destruction or stimulation of a particular brain area – perhaps most especially a cortical area – frequently do not give a true picture of the functions of that area. Stimulation of any area emphasizes those particular functions of it which are mediated by neurons susceptible to the strength, the frequency, and the voltage of the stimulating current used, yet may leave unrevealed activities of equal importance carried on by other neurons of that same area which have different thresholds. When an unanesthetized animal is employed in an experiment, sensations of discomfort (such as those resulting, for example, from the ear plugs of the stereotaxic apparatus) may be carried to the cortex over multisynaptic reticular synapses in the dorsal thalamus. Emotions of fear, anger, or curiosity may be set up in rhinencephalic and frontal cortices by the unusual situation and relayed from these areas to cortical as well as to basal regions. Such extraneous sensations or emotions may produce an inhibition or accentuation of cortical discharges to basal centers beyond the recognition or the controllability of the experimenter who wishes to determine the functions of a cortical area by its stimulation or ablation. On the contrary, if an anesthetic is employed, then the depth of the anesthesia becomes of major importance. Many motor responses obtainable at a satisfactory anesthetic level are only partly elicitable or wholly unobtainable under deep anesthesia. Here the criteria established by those trained in animal experimentation can be invaluable.

The significance of the so-called 'patterns' demonstrable at various cortical, sub-cortical, and basal brain areas is often misunderstood. The tonotopic pattern assigned to auditory cortex or the somatotopic pattern on the somesthetic cortex is characteristic of the whole pathway from the peripheral end-organ to (and including) the appropriate cortical area and not a special attribute of the cortex itself. The motor pattern described for area 4 likewise represents functions of the whole arc from the origin of the appropriate fibres of the pyramidal system in the motor cortex to the final termination of the peripheral motor nerve fibres on the muscle(s). Alteration in any part of the peripheral distribution, such as transplantation of the facial nerve into the spinal accessory nerve, changes the pattern (including the cortical pattern) throughout, for that particular response, in the absence of any direct brain lesion. A real understanding of a cortically elicited motor response from area 4 then requires the correlation of many anatomical and experimental techniques.

It may be emphasized further, that stimulation of a cortical region may even bring out functions of some relatively distantly located cortical area rather than those of the cortical area directly activated, if the two regions are interrelated by association systems. Thus, irritative lesions in the cingulate gyrus or on the orbital surface of the frontal lobe may give the olfactory aura (the smelling of objects not present) usually associated with irritative lesions in uncinate cortex.

An irritative lesion in the orbital area of the frontal lobe may produce visual hallucinations, so that the patient has the illusion of seeing objects that appear familiar but are too large or too small or otherwise distorted and which are actually not at hand. Such visual hallucinations are usually regarded, of course, as indicative of temporal lobe rather than frontal or cingulate lesions. Here the clinical observer plays his part in the over-all contribution to our knowledge of the interrelations of the nervous system – for what experimental animal other than man could recount visual hallucinations?

Partial overlap of the functions of one brain area by those of other brain areas often makes it difficult to assess the results of an ablation or of a clinical lesion if such effects are to be used as evidence of the functions of the destroyed area. The overlap in function between the vestibular system, the reticular system, and the cerebellum in the maintenance of equilibrium is generally recognized but many other illustrations of this partial reduplication of function – and it almost invariably is partial – might be given. Thus, a monkey with a total hemicortectomy may walk quite well again, although he will have a homonymous hemianopia, will have lost the ability to perform very delicate movements on the side opposite to the lesion and will be unaware of the position of his fore and hind limbs contralateral to the decorticate hemisphere. Obviously, his postoperative behavior does not reflect all of the functions of the areas destroyed but indicates some of them.

As a final example of the complexity of the problems which face him who would venture to do research on the nervous system, it might well be pointed out that many centers of the nervous system – in addition to serving, each in itself, as a receptive, a correlative, and an efferent area – are also parts of highly complex balancing mechanisms. Such balancing systems have their bases in anatomic connections at

many brain and cord levels and in constantly shifting physiological interrelations. The establishment of stability of response and proper tonus are due to the balancing of impulses at many levels. For reflex levels, this balancing is in the peripheral arcs and in the regulation of these arcs from brain and cord levels. The movements often associated with intelligent behavior depend also for their tonus and much of their stability upon a balancing of discharges from efferent centers of the cerebral cortex against those from the cerebellum. But this balancing is based again on interrelations between the discharges from these areas at many nervous system levels – such as midbrain, thalamus, basal ganglia, cerebral cortex, and spinal cord. Destructive or irritative lesions in the proper location at any one of these levels may result in pathological changes in tonus and, in many cases, in various types of involuntary movements. The site of the involvement is indicated by characteristic dysfunctions if one can recognize them. Experimental lesions in animals or surgical lesions in man in appropriate portions of any one of several of these areas often produce a better over-all response – a stabilizing of body movements and/or a reduction of the hypertonicity – even though the amount of brain injury is increased.

The various problems that have been mentioned – the technicalities in experimentation, the establishment of patterns of response in the cerebral cortex as functions of complete neuron arcs, the substitutions, the supplementations, and the transference of responses from the areas of excitation to other cortical areas, the complicated mechanisms underlying the over-all balancing phenomena characteristic of many brain functions – represent an exceedingly small part of the difficulties of analyzing and assessing the results of experimental or clinical lesions. Yet the investigator must attempt such an analysis and assessment for his particular problem if he is to correlate the structure with the activity of even a small part of the nervous system.

The examples cited merely stress again a generally recognized need for the understanding and the correlation of the results from the many fields of research dealing with the nervous system. As has been said before, for the furthering of such coordination and correlation there is no better place than a small meeting of the type of this conference at the University of Kiel.

Über die Chemische Spezifität von Neuronensystemen

R. ORTMANN

Anatomisches Institut der Universität Köln (Deutschland)

Erste Vermutungen über chemische Unterschiede von Nervenzellen findet man bei Weiss (1950) und Bodian (1950), doch handelt es sich hier eher um Schlüsse aus dem verschiedenen Verhalten etwa bei der ontogenetischen Differenzierung oder der spezifischen Anfälligkeit gegenüber Erregern, als um den Nachweis spezifischer Substanzen. Für die Charakterisierung einer *Chemoarchitektur* des Zentralnervensystems liegen heute hinreichend breite Unterlagen vor (Elliot *et al.*, 1955; Waelsch, 1955; Korey und Nurnberger, 1956/57; Richter, 1957; McIlwain, 1959; Ortman, 1961). Beim Versuch einer Kennzeichnung chemisch spezifischer *Neurone* oder Neuronensysteme wird unsere Basis wesentlich schmaler, weil eine ganze Reihe von Untersuchungsmethoden eine Begrenzung auf einzelne Nervenzellen nicht ermöglicht. So kann z.B. der Isocortex mit seiner Schichtenstruktur eine deutliche Chemoarchitektur haben (Lowry *et al.*, 1954; Robins *et al.*, 1956; Pope, 1960), aber der Nachweis chemisch spezifischer Neurone ist hier bisher nicht zu führen. Noch befinden wir uns im Stadium erster tastender Versuche. Das gestellte Thema entspricht mehr einem Programm als der Sichtung eines ausgedehnten Wissensgutes.

GRENZEN DES BEGRIFFES EINER 'CHEMISCHEN SPEZIFITÄT'

Wer ein Bild der neurosekretorischen Bahn in der Chromhämatoxylin-Färbung oder eine Zinkdarstellung des Ammonshornes zum ersten Male sieht, verfällt leicht in den Irrtum, dass hier Substanzen dargestellt sind, die im übrigen Nervensystem nicht vorkommen. Bei genauerem Studium zeigt sich, dass auch in anderen Gebieten des Zentralnervensystems entsprechende Körper vorkommen, das heißt, dass sie nicht aus dem Rahmen des allgemeinen Nervenzellstoffwechsels fallen. Es ist kaum zu erwarten, dass sich die chemische Spezifität der Neurone auf Stoffe gründet, die anderen Neuronen völlig fremd sind. Die Spezifität beruht daher in erster Linie auf quantitativen Unterschieden. Andererseits ist es fraglich, ob jede Differenz irgendwelcher Metaboliten dazu berechtigt, von einer chemischen Spezifität zu sprechen. Zwischen der Forderung nach sonst im Nervensystem unbekanntem Stoffen einerseits und den ubiquitären quantitativen Unterschieden andererseits liegt der goldene Mittelweg, der unter chemischer Spezifität einen zukunftsfruchtigen Gedanken-Rahmen bietet. Chemische Spezifität ist hier so verstanden, dass sie sich auf den morphologisch sichtbar

zu machenden Gehalt an speziellen chemischen Stoffen bezieht. Eine spezifische Reaktion *mit* bestimmten chemischen Körpern oder die biologische Reaktion *auf* bestimmte chemische Substanzen berührt sich zwar mit dem hier besprochenen Kapitel sehr eng, gehört aber eher in das Arbeitsgebiet des Pharmakologen und bleibt hier unberücksichtigt.

Die Analyse einer chemischen Charakterisierung von Neuronen darf nicht übersehen, dass der jeweilige Funktionszustand die chemische Konstitution des Neurons erheblich beeinflussen kann (Axonreaktion, Reizung motorischer oder sensibler Neurone (Hydén, 1943, 1959)). Die altbekannte Chromatolyse ist ja nichts anderes als eine derartige funktionsbedingte chemische Zustandsänderung der Ribonucleinsäuren der Nervenzellen. In gleicher Weise sind Veränderungen des Trockengewichtes, der Gesamt-Aminosäuren-Konzentration (Hamberger und Hydén, 1949), der Cytochromoxydase- und Succino-oxydase-Aktivität (Hydén und Pigon, 1960), des Lipoidgehaltes sowie der Ribonucleinsäure-Konzentration der Nucleolen (Edström und Eichner, 1958) bekannt. Die Frage, wie weit chemische Unterschiede innerhalb einer Gruppe von Nervenzellen (Spinalganglienzellen, Purkinjezellen, Hydén, 1943) einer echten Spezifität oder nur einem verschiedenen Funktionszustand entspricht, ist schon von Hydén (1960) angeschnitten worden. Sie kann im Einzelfall nicht immer mit Sicherheit entschieden werden, da eine Art Messung des Funktionszustandes verschiedener Neurone im normalen Nervensystem kaum möglich ist, allenfalls über den Vergleich mit einem Zustand nach experimenteller Veränderung versucht werden kann. Es wird daher gut sein, die heranzuziehenden Beispiele so zu wählen, dass eine Beeinflussung durch einen momentanen Funktionszustand möglichst ausgeschaltet wird.

TECHNIK

Drei Gruppen von Untersuchungsmethoden scheinen geeignet, Aussagen zu einer chemischen Spezifität von Neuronen machen zu können:

- (1) Mikrochemische Analysen einzelner isolierter Ganglienzellen.
- (2) Cytochemische Methoden mit ihren beiden Hauptgruppen, einmal der lichtspektroskopischen und röntgenspektroskopischen Analyse von Schnitten (Caspersson, 1950; Hydén, 1950; Engström, 1962), andererseits der Histochemie.
- (3) Verwendung von Isotopen.

Zu (1). Trotz der grossartigen Entwicklung der mikrochemischen Analysen liegt für vorliegendes Thema eine nicht unerhebliche Wertminderung der Methode darin, dass sie sich auf den präparatorisch fassbaren Zellkörper mit mehr oder minder grossen Anteilen der Fortsätze beschränken muss. Schon nach den Arbeiten von Lowry *et al.* (1954) ist nicht damit zu rechnen, dass sich alle Zellteile chemisch gleich verhalten. Weiter gründet sich eine gewisse Reserve gegenüber den Ergebnissen dieser Untersuchungstechnik darauf, dass bei der Präparation auch umgekehrt mehr als die zu isolierende Ganglienzelle der Untersuchung zugeführt wird, so ist z.B. an die den Zellkörper besetzenden Neuritenendigungen anderer Neurone, die sicher chemisch spezialisiert sind, zu denken. Selbst eine mikroskopische Kontrolle bietet in dieser Hinsicht keine absolute Sicherheit.

Zu (2). Die Fehler cytochemischer Analysen sind bei Hydén (1960) präzise zusammengefasst. Für die optischen Methoden sei nur erinnert an das Problem der optischen Homogenität und der Dickenmessungen, für die Histochemie an die Probleme der Definition des Ausgangszustandes des zu untersuchenden Materiales bei der Vorbereitung (Lösung, Diffusion, Fällung), der Beeinflussung durch die Stoffe der Umgebung und der Spezifität der Reaktionen. Für die ersten tastenden Versuche werden wir uns vielfach mit groben Vergleichen oder Relativzahlen begnügen dürfen.

Zu (3). Wenn die zur chemischen Charakterisierung der Neurone herangezogenen Stoffe dem Stoffwechsel unterliegen – und das werden sie in mehr oder weniger starkem Masse alle tun – kann man von der Heranziehung der Isotopenmethoden für unser Thema Erfolg erwarten, da die Lokalisationsfeinheit in die Grössenordnung von Neuronen hineinreicht. Die Elektronenmikroskopie kann nur indirekt zum vorliegenden Problem beisteuern, da die ersten Versuche einer histochemisch-elektronenoptischen Analyse in unserem Gebiet noch in den Anfängen stecken.

Es soll versucht werden, in fünf Kapiteln eine chemische Spezifität von Neuronen zu demonstrieren:

- (A) am Ammonshorn.
- (B) am hypothalamo-hypophysären System.
- (C) unter Heranziehung der Oxydo-reduktasen.
- (D) an cholinergen Neuronen.
- (E) an adrenergen Neuronen.

(A) Die Ganglienzellen des Ammonshornes

Maske (1955) hat in einer kurzen Mitteilung auf den besonders konzentrierten Zinkgehalt im Ammonshorn bei verschiedenen Nagern und der Katze hingewiesen.

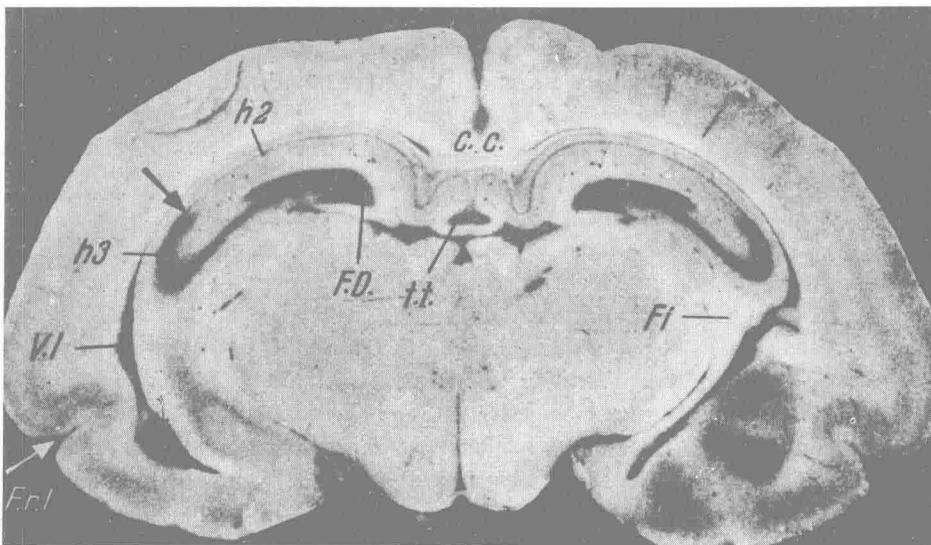


Fig. 1. Dithizonreaktion auf Zink am Ammonshorn des Kaninchens (aus Fleischhauer und Horstmann, 1957).

Er benutzte die Dithizon-Reaktion und sicherte die Spezifität durch Spektrophotometrische und Emissionsspektrophotometrische Untersuchungen. Fleischhauer und Horstmann (1957) ergänzten die Beobachtungen in verschiedener Richtung: (1) Submammalia zeigen keine entsprechenden Befunde. (2) Der Zinkreichtum betrifft die Gegend der Perikarya der Pyramiden- und Körnerschicht der Ammonshornregion. (3) Am Ammonshorn ist die Lokalisation auf das Feld H 3 beschränkt (Fig. 1).

Die von den Autoren mitgeteilte geringe Dithizonfärbung im Ncl. Amygdalae und im Striatum zeigt, dass auch in diesem Falle keine absolut spezifische Lokalisation vorliegt.

Die Zinknatur wird hier noch infrage gestellt und zum ersten Mal in Beziehung zur Karboanhydrase diskutiert. Durch eine Veränderung der Dithizon-Technik und den Einsatz der Sulfid-Silber-Methode konnte Timm (1958) eine wesentlich bessere Lokalisation erreichen. Obwohl eine genaue Zuordnung der Sulfid-Silber-Niederschläge wie auch der Dithizonkristalle zu speziellen Zellformen in Text und Bildern bei Timm nicht völlig klar entnommen werden kann, so scheint nach bisher vorliegenden Befunden soviel sicher, dass zumindest ein Teil der Reaktionsprodukte im Zellplasma sowohl der Pyramiden- wie der Körnerzellen liegt, was schon daraus hervorgeht, dass sich bei der von Timm verwendeten Dithizon-Technik auch die Nucleolen darstellen. Das Maximum der Reaktion scheint aber der Lamina multiformis mit den wesentlich grösseren Zellen zuzugehören, die sich auch mit ihren Fortsätzen daran beteiligen. Wie weit auch eine epizelluläre oder eine interzelluläre Reaktion ('im Grundgewebe') vorliegt, kann nur am Originalpräparat geklärt werden*. Die offensichtlich gut übereinstimmende Lokalisation der Carboanhydrase-Reaktion nach Häussler (1958) kann wegen des Zinkgehaltes des Fermentes als stützendes Argument herangezogen werden. Wenn allerdings Giacobini (1961) am Ncl. Deiters mit Hilfe von mikrochemischen Analysen von Einzelzellen feststellt, dass an diesem Objekt die Nervenzelle nur 1/6 des Fermentbestandes einer Gliazelle enthält, so tauchen bei der Auswertung der Befunde am Ammonshorn die warnenden Worte von Pearse (1961) über die unsichere Spezifität der histochemischen Methode auf. Häussler (1962) teilt aber mit, dass das Ammonshorn auch bei biochemischer Untersuchung eine erhebliche Aktivität an Carboanhydrase aufweist, die in den alten Arbeiten von Ashby (1944) offensichtlich übersehen worden war.

Die Bilder von Shimizu, Morikawa und Okada (1959) zur Demonstration der Monoaminoxidase-Aktivität im Nervensystem zeigen am Ammonshorn – zumindest im Vergleich mit den übrigen Regionen des Telencephalon – eine deutlich hervortretende Aktivität. Die von den Autoren hervorgehobene negative Kennzeichnung der Kernbänder der Körnerzellen und der Pyramidenzellen spricht wegen der Dichte der

* Die von Von Euler und Mc Lardy während der Tagung gezeigten bisher noch nicht gedruckt veröffentlichten Bilder von Befunden mit der Sulfid-Silber-Methode machen es sehr wahrscheinlich, dass die Perikarya der Pyramiden- und Körnerzellen so gut wie nicht beteiligt sind, was allerdings im Gegensatz zu dem von Timm angegebenen Befund der mit Dithizon angefärbten Nucleolen steht. Zu welchen Neuronen- oder auch Gliaanteilen die Reaktion zuzuordnen ist, lassen allerdings auch diese ausgezeichneten Darstellungen nicht mit Sicherheit erkennen. Der von Von Euler geführte Gegenbeweis einer vermehrten Einlagerung radioaktiven Zinkes in das Ammonshorn ist in diesem Zusammenhang besonders erfreulich (Von Euler, 1961).

Zellkerne nicht gegen die Aktivität der Neurone. Die Zonen der Dendriten (Stratum oriens und besonders Stratum moleculare im Ammonshorn) sind so einheitlich positiv, dass an die besondere Beteiligung der Ammonshornpyramiden mit ihren Dendriten schon gedacht werden muss, wenn auch genaue cytologische Lokalisation noch nicht möglich ist. Desgleichen sind die Pyramiden- und Körnerzellen des Ammonshornes ausgezeichnet durch einen starken Einbau schwefelhaltiger Aminosäuren (Richter, Cohn und Gaitonde (1954), MacLean *et al.* (1955/56), Gaitonde und Richter (1956), Flanigan *et al.* (1957), Oehlert *et al.* (1958), Ford *et al.* (1961)), sowie das Auftreten von Aneurin-pyrophosphatase. Beide Reaktionen sind völlig scharf im engsten Bereich des Perikaryons lokalisiert (Fig. 2). Wie weit hier aber eine echte Differenz zu anderen



Fig. 2. Radioautographie des Ammonshornes des Kaninchens mit ^{35}S -Methionin (aus Maurer, 1960).

Ganglienzellen vorliegt, lässt sich nach den vorliegenden Angaben der Autoren nicht sicher sagen, weil die dichte Kernlage sehr leicht die Aktivität überschätzen lässt. Die Untersuchungen von Mess und Kolousek (1962) über die Methionin-Speicherung des Gehirns und seine entsprechende Verarmung nach Methionin-sulfoximin lassen an einen spezifischen Zusammenhang denken, zumal diese Methionin-Verarmung zu epileptischen Anfällen führt, die nach Methionin-Gaben sistieren.

(B) Die hypothalamo-neurohypophysären Neurone

Die sekretorischen Nervenzellen des Hypothalamus mit ihren Axonen zum Hypophysenhinterlappen bei Vertebraten, können als chemisch ausgezeichnet angesehen werden. Ihre Spezifität kann sicher nicht von den meist angewandten Färbungs-

methoden mit Chromhämatoxylin und Aldehydfuchsin abgeleitet werden, wenn auch ein Zusammenhang ihrer Färbungsergebnisse mit der spezifischen Anreicherung von Sulfhydrylgruppen, wie sie von Gabe (1955) sowie Müller (1957) vermutet wurde, sehr wahrscheinlich ist. Der histochemische Nachweis von Sulfhydrylgruppen wurde zunächst von Barnett (1954) und Barnett und Seligman (1954) mit Dihydroxy-dinaphthyl-disulfid, sodann von Sloper (1955) mit Thioglycollat-ferricyanid, dann von Adams und Sloper (1956) mit der Perameisensäure-Alcian-Blue-Technik, endlich von Schiebler (1958) und Sterba (1961) mit den metachromatisch reagierenden Pseudoisocyaninen geführt. Von den erprobten Methoden gilt nach Pearse (1961) die Perameisensäure-Alcian-Blue-Reaktion als zwar nicht sehr empfindlich, dafür aber als besonders spezifisch. Der Nachweis der Sulfhydrylgruppen muss in engem Zusammenhang mit dem reichlichen Cystingehalt des Oxytocin-Octopeptid betrachtet werden, wenn auch Oxytocin selber nach Oxydation keine metachromatische Reaktion mit Pseudoisocyaninen zeigt (Schiebler und Schiessler, 1959; Sterba, 1961). Der Nachweis einer Verschiebung radioaktiven Cystins aus dem Hypothalamus in die Neurohypophyse ist jüngst durch Ford und Mitarb. (1961) erbracht worden.

Wie charakteristisch die Thiolgruppen bei neurosekretorischen Neuronen sind, mag an ein paar vergleichenden Befunden erläutert werden. Die in vielen Punkten den hypothalamo-hypophysären Neuronen ähnlichen neurosekretorischen Zellen der Neurophysis spinalis caudalis bei Knochenfischen unterscheiden sich von ihnen durch den Mangel an Sulfhydrylgruppen im Neurosekret (Sano, 1958; Romeu, 1962; siehe auch folgenden Vortrag von Holmgren). Dagegen sind bei einigen Evertebraten unter mehreren verschiedenen Formen von neurosekretorischen Zellen auch solche mit sulfhydryl-reichem Neurosekret nachgewiesen, so z.B. bei *Leukophaea maderae* (Sloper, 1957), *Blabera fusca* (Brousse *et al.*, 1958) oder in den a-Zellen von *Periplaneta americana* (Pipa, 1962). Parallel zu dem Nachweis der Thiolgruppen erscheint dann bei diesen Formen auch die Färbungsaffinität zu Chromhämatoxylin und Aldehydfuchsin. Bei anderen Evertebraten wird wieder der Nachweis von Sulfhydrylgruppen vermisst (z.B. *Ephestia*, Rehm, 1955). Nicht alle, aber bestimmte neurosekretorische Elemente lassen sich somit auf diese Weise charakterisieren, wobei die Gemeinsamkeit dieses Kennzeichens bei systematisch so extrem entfernten Organismen vielleicht für eine gewisse fundamentale Bedeutung dieser Charakteristika spricht.

(C) Kennzeichnung durch Fermentsysteme, speziell Oxydo-reduktasen

Viele verschiedenartigste Fermentnachweise der Phosphatasen, der Carbohydrasen, der Transglykolasen, insbesondere der Oxydo-reduktasen werden auch am Nervensystem – sei es in Mikroanalysen mehr oder weniger isolierter und mehr oder weniger vollständiger Neurone, sei es in histochemischer Methodik – angewandt (Übersichten siehe bei Colmant, 1961; Friede, 1961). Immer findet sich die eine oder andere, die für irgend ein Neuron charakteristisch ausfällt. So kennzeichnen sich die Faserkörbe der Purkinjezellen besonders in einer 5-nucleotidase-Reaktion (Colmant, 1961) und Glykogendarstellung (Gentshev, 1961) oder es erscheint die 1,4- bzw. 1,6-transglucosidase im Bulbus olfactorius (Takeuchi, 1958) oder die Cytochromoxydase (Bielschowski und Rose, 1927) und die Succinodehydrogenase (Ortmann, 1957) be-

sonders in bestimmten Zonen des Ammonshornes (Fig. 3). Im allgemeinen reichen die Reaktionsdifferenzen nicht aus, um auf grund eines einzigen Fermentes bestimmte Neurone zu kennzeichnen (Fig. 4). Wird aber eine grössere Anzahl von Fermenten berücksichtigt, so ergibt sich, dass sie zwar allen untersuchten Neuronen gemeinsam zukommen, aber durch ihre quantitativ verschiedene Kombination in der Lage sind,

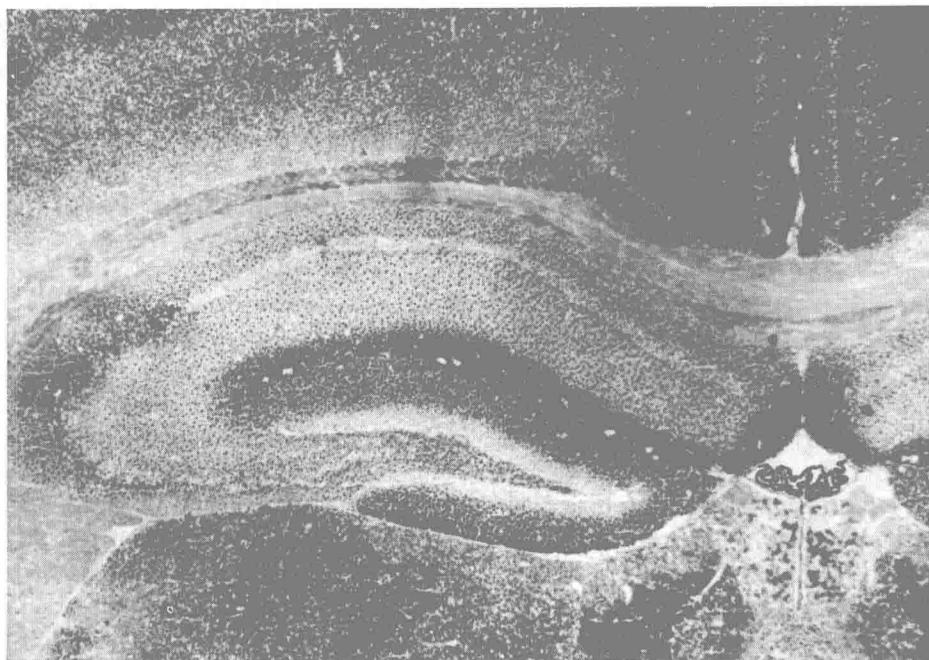


Fig. 3. Reaktion auf Succinodehydrogenase am Ammonshorn der Maus (aus Ortmann, 1961).

einzelne Neuronensysteme spezifisch zu charakterisieren. Als Beispiel seien die vergleichenden Untersuchungen an Einzelzellen im Vorderhorn und im Spinalganglion angeführt (Tabelle I übernommen aus Robins, 1960). Die gute Übereinstimmung der Fermentanalysen an Vorderhornzellen der Ratte einerseits und 'beim Affen' andererseits spricht für die Sicherheit der Methode. Insbesondere ist der Vergleich der Vorderhornzellen mit den Bestandteilen des Stratum radiatum des Ammonshornes, dem wohl im wesentlichen Dendriten entsprechen, interessant. Der Fermentreichtum der im ganzen untersuchten Vorderhornzellen (mit spärlichen Resten ihrer Fortsätze) ist bei allen untersuchten Fermenten (zwischen 80 und 3%) geringer als der der Dendritenabschnitte und zugehörigen Synapsen (!) des Ammonshornes, wobei sich sicher teilweise die intraneuronale Verteilung dem interneuronalen Vergleich superponiert. Dendriten-Regionen sind nach den Ergebnissen von Lowry *et al.* (1954) und Ortmann (1957) meist fermentreicher. Instrukтив ist auch der Vergleich von Vorderhornzellen und Spinalganglienzellen (Tabelle II), wobei der Fermentbestand der Spinalganglienzellen durchweg höher ist.