

# Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen

## IX. Zur Kerngrösse der Mäusefibroblasten *in vitro*<sup>1)</sup>

Von

ADRIAN VON ARX (Lausanne)

(Mit 3 Textabbildungen)

Aus dem Histologisch-Embryologischen Institut der Universität Lausanne  
(Direktor: Prof. Dr. med. O. BUCHER)

### A. Einleitung und Fragestellung

Kernmessungen an Gewebekulturen im allgemeinen sind bis heute — abgesehen von O. BUCHER und seinen Schülern — nur sehr selten und dazu meistens noch mit ungeeigneter Methodik und unzuverlässiger statistischer Auswertung, solche an Mäuse-Fibroblastenkulturen überhaupt nicht durchgeführt worden. BUCHER und GATTIKER (1950, II. und III. Mitt.) haben auf Grund eines sehr grossen Zahlenmaterials über die Kerngrössenverhältnisse in Bindegewebekulturen von verschiedenen Tieren (Hühnchen, Kaninchen, Meerschweinchen, Maus) und des Menschen berichtet und gezeigt, dass die Kerngrössen verschiedener Tierarten *in vitro* grundsätzlich die gleichen Proportionen beibehalten wie *in vivo*. Die kleinsten Kerne fanden sie in den Hühner-Fibroblastenkulturen, die grössten im Bindegewebe des Meerschweinchens und

---

<sup>1)</sup> Inauguraldissertation der Medizinischen Fakultät der Universität Lausanne.

des Menschen. In den dazwischenliegenden Bereich fallen die Mäuse-Fibroblastenkerne. Gerade in bezug auf die Mäusekerne war aber das Resultat der genannten Autoren, wie sie selbst ausführten, nicht ganz befriedigend, da sie bei den Kerngrössen-Frequenzkurven aus den verschiedenen Mäuse-Bindegewebekulturen eine aussergewöhnlich grosse Variabilität erhalten haben, welche sie nicht erklären konnten. Es ist nun die Aufgabe der vorliegenden Veröffentlichung, im Rahmen der Serie von «Karyometrischen Untersuchungen an Gewebekulturen» die Frage der Kerngrössen in den Mäuse-Fibroblastenkulturen weiter abzuklären.

## B. Untersuchungsmaterial und Methodik

Wir haben Bindegewebe von 4 Mausembryonen von 15 bis 20 mm Länge explantiert und die Deckglaskulturen im allgemeinen am 3. Tag in CARNOYscher Flüssigkeit fixiert und mit Eisenhämatoxylinlack nach VON MÖLLENDORFF (Z. Zellforsch. 3, S. 517—519) gefärbt. Das Züchtungsmedium bestand einheitlich aus 1 Tropfen Kaninchenplasma und 1 Tropfen Mäuseembryonalextrakt (aus dem gleichen Wurf). Die montierten Totalpräparate wurden dann bei 1500facher Vergrößerung projiziert und die dabei gezeichneten Kerne nachher planimetriert. Insgesamt haben wir für diese Arbeit 4200 Kerne ausgewertet.

Die von O. BUCHER und seinen Mitarbeitern (R. GATTIKER, B. HORISBERGER) ausgearbeitete Methodik ist in den früheren Mitteilungen in allen Einzelheiten publiziert, so dass wir hier nur das Prinzip zu erwähnen brauchen. Die Hauptschwierigkeit bei der Messung von Bindegewebekernen liegt in ihrer abgeplatteten, geometrisch nicht genau definierten Form. So hält z. B. W. PFUHL (1932) solche Messungen überhaupt für unausführbar, da die Kernform zu wechselnd und Grössenberechnungen ohne genaue Kenntnis des dritten Durchmessers zwecklos seien. Diese Schwierigkeit ist nun aber von BUCHER und HORISBERGER (1950) in eleganter Weise umgangen worden, indem sie zeigen konnten — was durch die späteren Mitteilungen immer wieder bestätigt wurde —, dass der dritte Durchmesser bei einer Vergrößerung des Zellkernes proportional zu den beiden anderen Durchmessern zunimmt; damit kann er rechnerisch eliminiert werden. Wir bekommen so zwar nie die absolute Volumengrösse, jedoch können wir jederzeit ermitteln, wie sich bei einem bestimmten Verhältnis der von uns gezeichneten Projektionsflächen der Kerne die zugehörigen Volumina verhalten müssen und umgekehrt. Verhalten sich nämlich zwei Kernvolumina  $V_1$  und  $V_2$  wie 1:2, dann verhalten sich die planimetrisch bestimmten Projektionsflächen, die in den Deckglaskulturen der grössten optischen Schnittebene der Kerne entsprechen, wie 1:1, 5875.

O. BUCHER (VII. Mitt., 1953) hat unlängst für ein Kernmaterial von rund 20 000 Kernen zusammengestellt, wieviel der durchschnittliche Fehler zwischen den empirischen und den theoretischen Werten beträgt, und ist dabei nach Abzug des Zeichnungs- und Planimetrierungsfehlers auf etwa 2% gekommen. Er hat aber immer wieder betont, dass die für Deckglaskulturen von

Bindegewebezellen in bezug auf das Verhalten des dritten Durchmessers gemachte Voraussetzung nicht wahl- und kritiklos auf irgendwelche Gewebe mit anderen, z. B. mehr kugeligen Kernformen (wie in vielen Epithelien) übertragen werden darf.

BUCHER und GATTIKER (II. Mitt., 1950) haben gezeigt, dass in den Fibroblastenkulturen hinsichtlich ihrer Kerngrößenverhältnisse zwei Zonen unterschieden werden müssen: eine Innenzone und eine Aussenzone. Die Kerngrößen-Frequenzkurve aus der Innenzone stimmt grosso modo überein mit der aus Häutchenpräparaten von subkutanem Bindegewebe, welche das Verhalten in vivo repräsentiert. Die durchschnittliche Kerngröße der Aussenzone ist bei Hühnchen-, Kaninchen-, Meerschweinchen- und Menschen-Fibroblastenkulturen das Doppelte der der Innenzone, was höchstwahrscheinlich auch für die Mäusegewebekulturen zutreffen dürfte, jedoch noch zu beweisen sein wird. Eine Fehlermöglichkeit besteht darin, dass die beiden Zonen beim Zeichnen der Kerne nicht genügend auseinander gehalten werden. Ist das jedoch zufriedenstellend geschehen, so resultiert aus der Innen- wie aus der Aussenzone eine eingipflige, bei einer genügend grossen Menge von Messresultaten gut symmetrische Kurve (vgl. auch unsere Abb. 1), die im Prinzip einer Normalverteilung entspricht.

Von allergrösster Bedeutung ist nun eine zweckmässige statistische Verarbeitung des Zahlenmaterials, worüber ebenfalls BUCHER und GATTIKER (V. Mitt., 1952) eine sehr aufschlussreiche Arbeit veröffentlicht haben. Es ist klar, dass die erhaltenen Messresultate zur statistischen Auswertung in Klassen zusammengefasst werden müssen und dass das Einteilungsprinzip (und damit die Graduierung der Abszisse, auf der die Kerngrößen aufgetragen werden) nur ein logarithmisches sein kann, wie von E. HINZSCHE (1945, 1946) und O. BUCHER und ihren Schülern immer wieder betont worden ist. Nur dann sind z. B. die Schritte von  $K_1$  zu  $K_2$  und von  $K_2$  zu  $K_4$  gleichwertig, wie sie auch biologisch gleichwertig sind (Verdoppelung)! Nur dann nimmt mit der Kerngröße auch die Klassenbreite entsprechend zu! Nur dann kann die Kurve symmetrisch werden! Nur in diesem Fall kann man auch die Kurvenelemente und die dem empirischen Zahlenmaterial entsprechende Normalverteilung berechnen.

GEBELEIN und HEITE (1951) nennen diese Normalverteilungen, die dem GAUSSschen Fehlergesetz entsprechen, «Normalverteilungen erster Art». Zu den asymmetrischen Kurven, die bei Anwendung des linearen Einteilungsprinzipes der Kerngrößen zustande kommen, kann — auf etwas kompliziertere Weise — eine sogenannte «Normalverteilung zweiter Art» berechnet werden. BUCHER und GATTIKER (l. c. S. 83—86) geben ein Beispiel einer solchen Berechnung. Selbstverständlich kann jede «Normalverteilung zweiter Art» durch Aufzeichnen in ein Koordinatensystem mit logarithmischer Abszissenskala sekundär in eine Normalverteilung erster Art umgewandelt werden.

Es hat sich nun gezeigt, dass die Wahl der Klasseneinteilungstypen das Bild der Variationskurven nicht unwesentlich beeinflussen kann (O. BUCHER, 1950, Abb. 2; BUCHER und GATTIKER, V, Abb. 2 bis 4). Letztere haben nun, um «die Eigenschaften der Ausgangskurve trotz der Unsicherheit in der Wahl der

Klassentypen möglichst rein zu erhalten», die sogenannte Mittelwertskurve vorgeschlagen und an verschiedenen Beispielen mit mathematisch definiertem Zahlenmaterial gezeigt, dass bei Anwendung dieser Methode die (in diesem Fall natürlich genau bekannte) Ausgangskurve ohne statistische Abweichungen wiedergegeben wird.

Wir haben deshalb diese Auswertungsmethode auch auf unser Zahlenmaterial angewandt. Praktisch sind wir so vorgegangen, dass wir für alle Kulturen die Messwerte in die in der oben genannten Arbeit in Tabelle 2 angegebenen sechs Standardklassentypen einteilten, dann die so für jede Zahlengruppe erhaltenen «Standardkurven» sinngemäss aufeinanderlegten und die zu jedem Abszissenpunkt (Kerngrösse) gehörende Ordinate (Frequenz) als arithmetisches Mittel aus den entsprechenden Ordinaten der sechs verschiedenen «Standardkurven» berechneten. So heben sich manche aus den verschiedenen Klasseneinteilungen resultierende Zufälligkeiten des Kurvenverlaufs, die nicht durch das Zahlenmaterial (beziehungsweise das ihm zugrunde liegende biologische Substrat), sondern einzig und allein durch die statistische Verarbeitung, d. h. in unserem Falle durch die Klasseneinteilung und die Diskordanz der Messgenauigkeit und der Lage der Klassengrenzen bedingt sind, gegenseitig wieder auf.

### C. Eigene Untersuchungen

Die aus den 14 Kulturen ermittelten Kerngrössen-Frequenzkurven, für welche wir aus Innen- und Aussenzone je 150 Kerne ausgewertet haben, wurden zuerst einzeln aufgezeichnet. Zunächst ergibt sich daraus einmal mehr, dass das Kernmaterial in den Kulturen nicht immer so homogen ist, als dass schon aus einer relativ geringen Anzahl von Messresultaten eine stetige Kurve erhalten wird. Die erwähnten Kurven sind deshalb nicht selten sogar mehrgipflig (vgl. BUCHER und GATTIKER, III. Mitt., Abb. 3), was jedoch nicht biologisch, sondern statistisch durch die allzukleine Stichprobe bedingt ist. Bei genauerer Analyse zeigt sich jedoch, dass die untersuchten Mäuse-Fibroblastenkulturen in bezug auf ihre Kerngrössenverhältnisse in 2 Gruppen eingeteilt werden können. In der einen Gruppe liegt das geometrische Mittel der Kerne von Innen- und Aussenzone in der Regelklasse  $K_1$ , beziehungsweise  $K_{2.}$ ; in der anderen Gruppe fällt es in die nächst kleinere Mittelklasse. Es drängt sich deshalb auf, wie das bereits O. BUCHER (1951) für die Kaninchen-Bindegewebekulturen getan hat, auch bei unserem Material Regelklassentypen («R-Typen») und Mittelklassentypen («M-Typen») zu unterscheiden. Sechs Kulturen mit 900 Kernen pro Zone repräsentieren den R-Typ, 8 Kulturen mit je 1200 Kernen den M-Typ.

Es ist letzten Endes eine Definitionsangelegenheit, welche Kulturen man als R-Typ und welche als M-Typ bezeichnen will. Bei den oben zitierten, an einem grösseren Kernmaterial durchgeführten Untersuchungen von BUCHER war der R-Typ weit häufiger vertreten, und nur in jeder vierten bis fünften Kultur fielen die Frequenzmaxima auf die (kleinere) Mittelklasse. Wir haben für unsere Untersuchungen die gleiche Nomenklatur verwendet. Auf den Unterschied in der biologischen Interpretation werden wir bei der Besprechung der Ergebnisse noch zurückkommen.

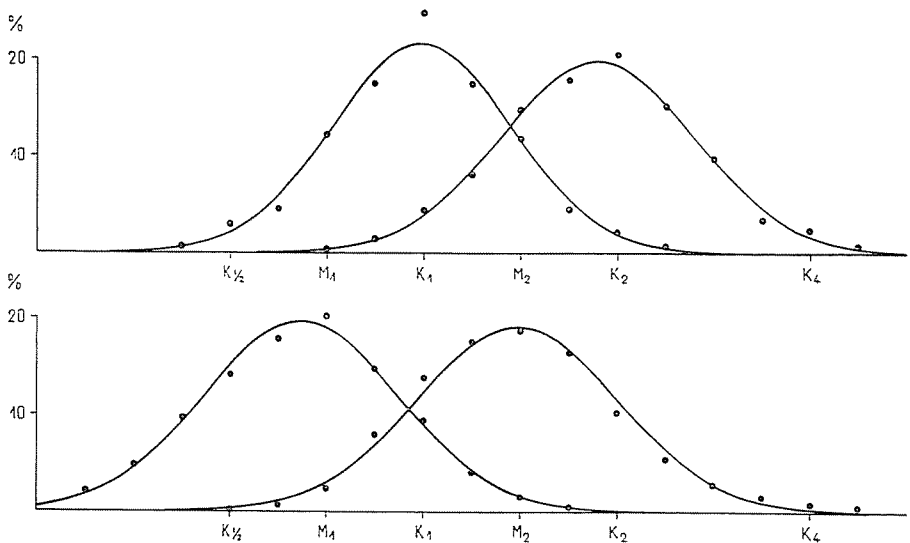


Abb. 1 Kerngrößen-Frequenzkurven aus Innen- (links) und Aussenzone (rechts) von experimentell unbeeinflussten Mäuse-Fibroblastenkulturen. Die um die entsprechenden Normalverteilungen streuenden empirischen Werte sind durch ausgefüllte Kreise dargestellt. Oben: R-Typen, unten: M-Typen.

Im weiteren haben wir dann aus den Kernen der R-Typen und denen der M-Typen für Aussen- und Innenzone je die sogenannte Mittelwertskurve berechnet. Das Prinzip dieses Verfahrens haben wir im Abschnitt über die Methodik bereits angegeben; Einzelheiten können bei BUCHER und GATTIKER (V. Mitt., 1952) nachgelesen werden. Die auf diese Weise erhaltenen empirischen Kurven sind in Abb. 1 durch ausgefüllte Kreise dargestellt. Für beide Typen ist die Variationskurve aus der Innenzone (links) höher als die aus der Aussenzone (rechts), was einer allgemeinen Regel zu entsprechen scheint (vgl. O. BUCHER, VII. Mitt., 1953). Im übrigen ist es deshalb nicht von besonderem Interesse, den Verlauf dieser Kurven im einzelnen zu beschreiben, weil in der eben angeführten Arbeit gezeigt worden ist, dass alle diese Kerngrößen-Frequenzkurven aus unbeeinflussten Bindegewebe-Deckglaskulturen, bei Verarbeitung eines genügend grossen Zahlenmaterials, Normalverteilungen entsprechen. Wie weit das für unser Untersuchungsgut der Fall ist, werden wir noch nachzuprüfen haben.

Um die Kurven mathematisch zu charakterisieren und die für die Berechnung der Normalverteilungen notwendigen Unterlagen zu haben, wurden nach dem Beispiel von E. HINTZSCHE (1946) sowie von BUCHER und GATTIKER (1950, 1952) einige Kurvenelemente ermittelt.

Für Einzelheiten dieser Berechnung vgl. CH. WILLIGENS (1932, 1933), A. SCHWARZ (1952) oder BUCHER und GATTIKER, V. Mitt., S. 71—75.

Das Ergebnis der Berechnung der Kurvenelemente unserer in Abb. 1 dargestellten Kurven geht aus der folgenden Tabelle hervor.

	R-Typen		M-Typen	
	I	A	I	A
Schiefe $a$	+0,11	-0,17	+0,08	-0,21
mittlere Abweichung $s$	1,85	2,01	2,03	2,08
Flächensymmetrie $\frac{a}{s}$	+0,06	-0,08	+0,04	-0,10
Wölbungskoeffizient $\beta_2$	3,24	2,92	2,78	3,00
Für obige Berechnungen benützte Frequenzen	99,9 %	99,5 %	99,9 %	99,0 %

Um ein zuverlässigeres Resultat zu erhalten, haben wir nach dem Vorschlag von O. BUCHER (1953) sowohl am aufsteigenden wie am absteigenden Schenkel der Kurve ein bis zwei der periphersten Werte weggelassen, denn diese sind bei der geringen Zahl der hier noch klassierten Kerne recht zufällig und daher statistisch unzuverlässig. Zudem werden sie noch mit der ersten bis vierten Potenz der Stufe multipliziert, wodurch sie unverhältnismässig ins Gewicht fallen können. Wie man aus der Tabelle ersieht, haben wir jedoch nie weniger als 99 % (2mal sogar 99,9 %) der Frequenzen benützt.

Die mittlere Abweichung ( $s$ ) ist der Abstand der Wendepunkte (in diesen Punkten gehen die Kurvenschenkel von konkavem in konvexen Verlauf über) von der Symmetrieachse der Kurve. Sie liegt in der Nähe von 2,0 und ist, wie das nach den zitierten früheren Untersuchungen aus dem histologisch-embryologischen Institut Lausanne zu erwarten war, in der Aussenzone etwas grösser als in der Innenzone. Die mittlere Abweichung spielt, wie wir noch sehen werden, auch eine Rolle bei der Berechnung der Normalverteilung. Die Schiefe ( $a$ ) stellt den Abstand der Ordinate des Frequenzmaximums vom Nullpunkt der gewählten Stufenskala dar (sie ist bei allen genau flächensymmetrischen Kurven gleich Null). Ist die Schiefe negativ (positiv), so ist die Symmetrieachse der Kurve nach links (beziehungsweise rechts) verschoben. Um die Bedeutung einer solchen Verschiebung besser zu erfassen, setzt man den Wert für die Schiefe in Beziehung zur mittleren Abweichung; so erhält man ein Mass für die Symmetrie ( $\frac{a}{s}$ ) — es handelt sich natürlich immer um die Flächensymmetrie — der Kurve. Für Schiefe ( $a$ ) und Symmetrie ( $\frac{a}{s}$ ) sind bei allen unseren Kurven die Werte gut, so dass auch die Berechnung des PEARSONSchen Wölbungskoeffizienten ( $\beta_2$ ) einen Sinn hat. Dieser ist ein Mass für die relative Abplattung einer Variationskurve. Werte um 3,0 sind charakteristisch für eine Normalverteilung. Die von uns erhaltenen Zahlen sprechen in diesem Sinne.

Im weiteren können wir nun, genau wie das BUCHER und GATTIKER (1952, S. 79 ff.), R. GATTIKER (1952) und O. BUCHER (1953) bei ihren Kerngrössenuntersuchungen getan haben, die unseren empirischen Kurven entsprechen

chenden Normalverteilungen berechnen. Die betreffenden Normalkurven sind in Abb. 1 eingezeichnet. Weitere Einzelheiten können von Interessenten auch in dem aufschlussreichen Buch über «Statistische Urteilsbildung» von H. GEBELEIN und H. J. HEITE (1951) nachgelesen werden.

In Abb. 1 sieht man, wie die empirischen Werte um die Normalverteilung herum streuen. Aus dem Aspekt allein ist nicht ohne weiteres zu sagen, ob diese Abweichungen zufällig oder statistisch signifikant sind. Objektiv lässt sich das zum Beispiel durch Berechnung des  $\chi^2$  feststellen. Ein Beispiel einer solchen Berechnung findet man ebenfalls in der V. Mitteilung von BUCHER und GATTIKER, S. 67, weitere Einzelheiten in jedem Statistikbuch, so dass wir uns hier mit der Angabe der Ergebnisse begnügen können: Am schlechtesten fällt das Resultat für die Frequenzkurve aus der Innenzone der R-Typen aus, doch ist der Unterschied in keinem der vier Fälle gesichert. Die aus unserem Kernmaterial erhaltenen Häufigkeitsverteilungen entsprechen also Normalverteilungen.

Viel evidenter wird das, wie O. BUCHER in seinem VII. Beitrag der «Karyometrischen Untersuchungen an Gewebekulturen» gezeigt hat, wenn wir die Variationskurven nicht in üblicher Weise, sondern als kumulative Häufigkeitsverteilungen oder *Summenkurven* darstellen. Dann sind die Frequenzen zu addieren und alle erhaltenen Zwischenresultate — auf Prozente umgerechnet — aufzuzeichnen. Allerdings nützt es uns nicht viel, diese Kurve auf gewöhnliches Millimeterpapier zu zeichnen. Ein für den Nichteingeweihten fast verblüffendes Resultat erhält man indessen dann, wenn sogenanntes Wahrscheinlichkeitspapier dazu benützt wird. Hier ist die Ordinate so eingeteilt (nach dem Wahrscheinlichkeitsintegral), dass die Summenkurve jeder Normalverteilung zu einer Geraden wird, und nun ist es sehr leicht zu beurteilen, wie stark unsere empirische Punktfolge von einer solchen Geraden abweicht (Abb. 2).

Bevor wir dazu Stellung nehmen, wollen wir noch hervorheben, dass eine gute Übereinstimmung der empirischen und der theoretisch ermittelten Werte in dem Bereich zwischen 10 % und 90 % genügt, und dies aus zwei Gründen: Einmal weil die Grenzbereiche der empirischen Kurve, wie schon oben erwähnt, wegen der geringen Anzahl der hier eingereichten Messresultate ohnehin weniger zuverlässig sind (deshalb haben wir sie ja bei der Berechnung der Kurvenelemente zum Teil weggelassen). Dann aber auch, wie ein Blick auf die Ordinatenskala zeigt, weil hier die Einteilungseinheiten mit zunehmendem Abstand von der Ordinatenmitte immer grösser geworden sind und damit schon relativ kleine Abweichungen ungewöhnlich stark hervortreten.

In Abb. 2 sind die empirischen Werte der kumulativen Verteilung aus Innen- und Aussenzone der M-Typen durch Ringe, die der R-Typen durch ausgefüllte Kreise dargestellt. Die dazu berechneten normalen Summenkurven, die den in Abb. 1 eingezeichneten Normalverteilungen entsprechen, sind gestrichelt für das Kernmaterial der M-Typen, ausgezogen für dasjenige der R-Typen (Innenzone links, Aussenzone rechts). Betrachten wir nun die Übereinstim-

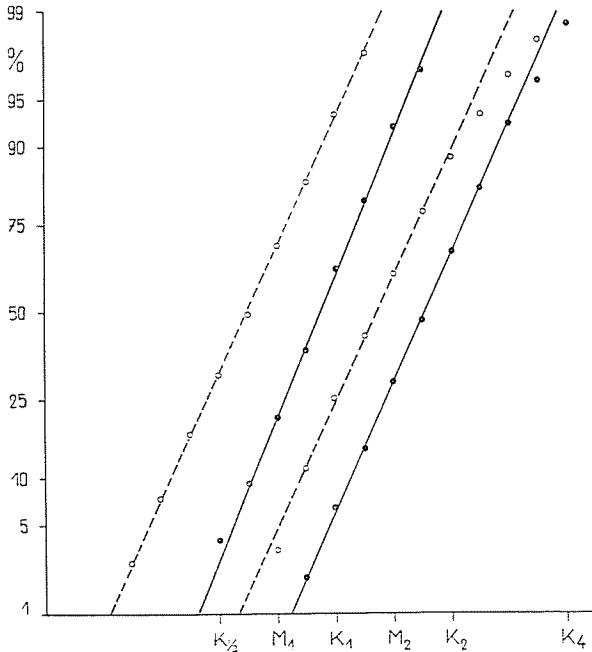


Abb. 2 Darstellung der Variationskurven als kumulative Häufigkeitsverteilungen (Summenkurven) auf Wahrscheinlichkeitspapier. Die empirischen Werte aus Innen- und Aussenzone der M-Typen sind durch Ringe, die der R-Typen durch ausgefüllte Kreise markiert; die dazu berechneten normalen Summenkurven sind gestrichelt für das Kernmaterial der M-Typen, ausgezogen für dasjenige der R-Typen (Innenzone links, Aussenzone rechts).

mung der praktisch erhaltenen und der theoretisch ermittelten Werte in dem aktuellen Bereich zwischen 10 % und 90 %, so sehen wir, dass sie sogar sehr gut ist — viel besser als man nach der üblichen Darstellung (Abb. 1) anzunehmen gewagt hätte. Damit ist der Beweis erbracht, dass es sich auch bei den aus Mäuse-Fibroblastenkulturen ermittelten Kerngrössen-Frequenzkurven um normale Verteilungen handelt.

Dem sorgfältigen Beobachter mag bereits aufgefallen sein, dass die Summenkurven sich durch eine etwas verschiedene Neigung unterscheiden. Die Erklärung ergibt sich sofort aus der schematischen Abbildung 6 in der oben zitierten Arbeit von O. BUCHER. Die Steilheit der Kurven ist abhängig von der mittleren Abweichung  $s$ , d. h. je kleiner  $s$ , um so steiler ist der Verlauf der Kurven. Im konkreten Fall sehen wir z. B., dass die kumulative Verteilung aus der Innenzone der R-Typen die steilste, die aus der Aussenzone der M-Typen die am wenigsten steile Gerade ergibt. Und in der Tat, aus unserer Tabelle (S. 162), in welcher wir die Resultate der Berechnung der Kurvenelemente zusammengestellt haben, ersehen wir, dass im ersten Fall  $s$  mit 1,85 den kleinsten, im letzteren Fall mit 2,08 den grössten Wert aufweist; die beiden übrigen Werte liegen dazwischen.



### D. Besprechung der Resultate

In Ergänzung der Versuche von BUCHER und GATTIKER (III. Mitt., 1950) können wir nun sagen, dass die aus Mäuse-Fibroblastenkulturen unter möglichst einheitlichen Züchtungsbedingungen erhaltenen Kerngrößen-Frequenzkurven eine wesentlich geringere Variabilität aufweisen, als aus jenen allerersten Versuchen hervorzugehen schien (l. c., Abb. 3). Es lassen sich, wie wir

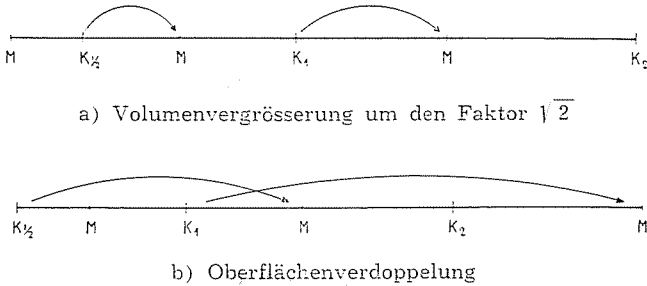


Abb. 3 Schematische Darstellung der Wachstumsschritte. Für Einzelheiten vergleiche Text.

gesehen haben, zwei Typen herauschälen, die wir mit O. BUCHER (1951) als R- beziehungsweise M-Typen bezeichnet haben.

Wie schon kurz angedeutet, wäre allenfalls zu diskutieren, welches der R- beziehungsweise der M-Typ ist, weil die Interpretation des Kernwachstums damit anders ausfallen könnte.

Betrachten wir zunächst (Abb. 3a) die Kulturen mit den grösseren Kernen als Regelklassentypen. Die Mitte von  $K_1$  (als Regelklasse der Innenzone) entspricht etwa einem geometrischen Mittel des Kernmaterials (Projektionsfläche gezeichnet bei 1500facher linearer Vergrößerung) von — in runden Zahlen — 160 mm<sup>2</sup>, die von  $K_2$  etwa von 260 mm<sup>2</sup>. Die Frequenzmaxima der M-Typen würden dann auf die nächst kleineren Mittelklassen fallen. Um diese Grösse zu erreichen, wäre ein Kern  $K_{\frac{1}{2}}$  oder  $K_1$  nur um den Faktor  $\sqrt{2}$  gewachsen, statt, wie beim R-Typ, sich zu verdoppeln. Es ist nun von verschiedenen Autoren (z. B. WERMEL und PORTUGALOW, 1935, neuerdings H. KRANTZ, 1952) die Vermutung ausgesprochen worden, dass das Kernwachstum in zwei Schritten, jedesmal um den Faktor  $\sqrt{2}$ , erfolgen könnte. Bei den M-Typen wäre in diesem Fall nur der erste Schritt ausgeführt worden (vgl. auch O. BUCHER, VII, 1953).

Eine ganz andere Erklärungsmöglichkeit ergäbe sich indessen dann (Abb. 3b), wenn die Kulturen mit den kleineren Kernen als R-Typen angenommen würden. Dann fallen nämlich die Frequenzmaxima der M-Typen auf die nächst grösseren Mittelklassen. Ein Kern, der von der Grösse  $K_{\frac{1}{2}}$  (beziehungsweise  $K_1$ ) zur Grösse  $M_{1-2}$  (beziehungsweise  $M_{2-4}$ ) heranwächst, hätte nun nicht sein Volumen, sondern seine Oberfläche verdoppelt, wie BUCHER

und GATTIKER (II, S. 434/35) abgeleitet haben. Damit ergäbe sich ein rhythmisches Kernwachstum durch Oberflächenverdoppelung, wie es z. B. von G. HERTWIG (1939) beschrieben worden ist. Ohne auf Grund unseres Untersuchungsmaterials Stellung nehmen zu können, wollten wir doch die beiden Möglichkeiten zur Diskussion stellen.

Vergleichen wir die Grösse der Fibroblastenkerne der Maus mit der aus Bindegewebekulturen einiger anderer Tiere, so ergibt sich, dass die Mäuse-Zellkerne (R-Typen) etwas grösser sind als die des Hühnchens, jedoch kleiner als die des Kaninchens (Explantate von jungen Tieren, nicht von Föten) und insbesondere die des Meerschweinchens und des Menschen. In bezug auf die Veröffentlichung von BUCHER und GATTIKER (II, 1950) ergäbe sich auf Grund des nun zur Verfügung stehenden grösseren Untersuchungsmaterials insofern eine Korrektur, als die *in vitro* gezüchteten Mäuse-Bindegewebezellen kleinere Kerne haben als die des Kaninchens, sofern R-Typen mit R-Typen und M-Typen mit M-Typen verglichen werden. Es ist recht interessant, diese Befunde auch mit den Ergebnissen der Untersuchungen von W. JACOB (1931), O. BIRKENMAIER (1934) und G. SAUSER (1936) an Leberzellkernen zu vergleichen.

Herr Professor BUCHER bittet mich, bei dieser Gelegenheit gleich noch eine weitere Korrektur anbringen zu wollen. BUCHER und GATTIKER haben in ihren früheren Arbeiten (1950 bis 1952) immer wieder darnach getrachtet, Unterschiede zwischen verschiedenen Kerngrössen-Frequenzkurven mathematisch, d. h. objektiv, zu erfassen und zu zeigen, dass sich verschiedene Kurven «nicht nur in ihrer Lage zur Abszisse, sondern in ihren Charakteren» unterscheiden können. Dass z. B. die mittlere quadratische Abweichung — und im Zusammenhang damit die Höhe der Scheitelordinate und die Breite der Kurve — in sehr typischer Weise variieren kann, daran ist nicht zu zweifeln. Dagegen haben neuere Untersuchungen gezeigt, und unsere eigenen Befunde stützen diese Auffassung, «dass die aus gut wachsenden, experimentell unbeeinflussten Bindegewebekulturen ermittelten Variationskurven, sowohl für das Kernmaterial der Innenzone wie für das der Aussenzone, Normalverteilungen entsprechen» (O. BUCHER, VII, 1953). Die von den genannten Autoren auf Grund der Berechnung des PEARSONSchen Wölbungskoeffizienten gemachten Angaben von übernormalen und unternormalen Verteilungen sind durch die Verarbeitung eines grösseren Untersuchungsgutes und die verbesserte statistische Auswertung (insbesondere die Einführung der sogenannten «Mittelwertskurve») überholt.

Bei den Mäuse-Fibroblastenkernen ist, sowohl bei den R-Typen wie bei den M-Typen, die Variationskurve aus der Innenzone etwas höher und dafür etwas schmaler (kleinere mittlere quadratische Abweichung) als die aus der Aussenzone, wie das auch bei den *in vitro* gezüchteten Bindegewebezellen anderer Tiere und des Menschen der Fall ist und was als der variationsstatistische Ausdruck einer weiter fortgeschrittenen Ausreifung der betreffenden Zellen gedeutet werden könnte (W. JACOB, 1942, u. a.).

### E. Zusammenfassung

Die vorliegende Mitteilung befasst sich mit karyometrischen Untersuchungen an experimentell unbeeinflussten Deckglaskulturen von Mäuse-Fibroblasten. Es wurden dafür nach der von O. BUCHER in Zusammenarbeit mit R. GATTIKER und B. HORISBERGER ausgearbeiteten Methodik 4200 Kerne gezeichnet, planimetriert und variationsstatistisch ausgewertet.

Es ergeben sich dabei zwei Typen von Kerngrößen-Frequenzkurvenpaaren (Abb. 1) — ein Partner des Paares repräsentiert die Kerngrößenverhältnisse der Innenzone, der andere die der Aussenzone des Randschleiers —, die in Anlehnung an O. BUCHER (1951) als «R-Typen» und als «M-Typen» bezeichnet werden.

Alle erhaltenen Variationskurven entsprechen im Prinzip Normalverteilungen, was wohl am demonstrativsten aus der Darstellung der Summenkurven auf Wahrscheinlichkeitspapier hervorgeht (Abb. 2). Im einzelnen unterscheiden sich die erhaltenen Kurven etwas durch die mittlere quadratische Abweichung und die Höhe der Scheitelpunktkordinate.

Die eigenen Befunde werden mit den Ergebnissen der Untersuchungen anderer Autoren diskutiert.

### Résumé

La communication en question s'occupe de recherches caryométriques concernant des cultures sur lamelles de fibroblastes de souris non influencées expérimentalement. On a dessiné et planimétré 4200 noyaux et calculé leurs variations statistiques selon la méthode élaborée par O. BUCHER, en collaboration avec R. GATTIKER et B. HORISBERGER.

On observe deux types de courbes de fréquences nucléaires (fig. 1) qui, selon O. BUCHER (1951), sont désignés «Type R» et «Type M». La courbe de gauche exprime les comportements des grandeurs nucléaires de la zone interne, celle de droite ceux de la zone externe du voile marginal.

Toutes nos courbes de variations correspondent en principe à des distributions normales, ce qui ressort d'une façon particulièrement démonstrative de la représentation de la fréquence cumulative sur papier de probabilité (fig. 2). En détail, les courbes obtenues se distinguent quelque peu par leur écart-type et la hauteur de l'ordonnée du sommet.

Les résultats personnels sont discutés et comparés à ceux d'autres auteurs.

### Literaturverzeichnis

- BIRKENMAIER, O.: Vergleichend-anatomische Untersuchungen über die Zellkerngröße im Wirbeltierstamm. *Z. Anat.* 102, 794—818, 1934.
- BUCHER, O.: Zur Methodik karyometrischer Untersuchungen an Gewebekulturen. *Mikroskopie* 5, 124—131, 1950.
- Kernmessungen an Bindegewebekulturen. *Verhandl. Anat. Ges.* 1951, 86—92.
  - Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. VII. Ist die aus Bindegewebekulturen in vitro ermittelte Kerngrößen-Frequenzkurve eine Normalverteilung? *Z. Zellforsch.* 38, 455—471, 1953.

- BUCHER, O.: Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. VIII. Einige grundsätzliche Bemerkungen zur experimentellen Beeinflussung der Kerngrößen-Frequenzkurven. *Z. Anat.* 117, 20—25, 1953.
- Qu'est-ce que la caryométrie? Buts et applications de la mesure des noyaux et de leurs rapports dimensionnels. *Bull. Histol. appl.*, 2<sup>e</sup> série, 3, 1953 (sous presse).
- BUCHER, O. und GATTIKER, R.: Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. II. Die Kerngrößenverhältnisse in der unbehandelten Fibrozytenkultur. *Acta anat.* 10, 430 bis 460, 1950.
- — Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. III. Weitere Untersuchungen über die Kerngrößen in Kulturen von verschiedenen Geweben und von Geweben verschiedener Tiere. *Rev. Suisse Zool.* 57, 769—788, 1950.
- — Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. V. Beitrag zur statistischen Verarbeitung des Zahlenmaterials. *Z. Zellforsch.* 37, 56—88, 1952.
- BUCHER, O. und HORISBERGER, B.: Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. I. Zur Methodik der Kerngrößenmessung in Deckglaskulturen. *Acta anat.* 9, 258—278, 1950.
- GATTIKER, R.: Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. VI. Der Einfluss von Trypaflavin und Urethan auf die Kerngrößenverhältnisse. *Z. Zellforsch.* 37, 467—493, 1952.
- GEBELEIN, H. und HEITE, H. J.: Statistische Urteilsbildung. Berlin, 1951.
- HERTWIG, G.: Abweichungen von dem Verdoppelungswachstum der Zellkerne und ihre Deutung. *Anat. Anz.* 87, Erg. H., 65—73, 1939.
- HINTZSCHE, E.: Statistische Probleme aus der Kerngrößenforschung. *Experientia* 1, 103—110, 1945.
- Über Normalkurven der Kerngrößenverteilung. *Mitt. Naturforsch. Ges. Bern, Neue Folge* 4, 19—27, 1946.
- JACOB, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. *Arch. für Entwicklungsmechanik* 106, 124—192, 1925.
- Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellkerngröße. *Anat. Anz.* 72, Erg. H., 236—247, 1931.
- Die verschiedenen Arten des gesetzmässigen Zellwachstums und ihre Beziehung zu Zellfunktion, Umwelt, Krankheit, maligner Geschwulstbildung und innerem Bauplan. *Arch. für Entwicklungsmechanik* 141, 584—692, 1942.
- KRANTZ, H.: Ist der Begriff der «Protomeren» heute noch verwendbar? *Morph. Jb.* 92, 29—59, 1952.
- VON MÖLLENDORFF, W. und M.: *Z. Zellforsch.* 3, 503—601, 1926; zitiert nach BUCHER und GATTIKER (1950).
- PFUHL, W.: Die Zellen des normalen lockeren Bindegewebes, unter besonderer Berücksichtigung der Clasmatozyten. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 31, 18—107, 1932.
- SAUSER, G.: Die Grösse der Zellkerne in verschiedenen Tierklassen unter Berücksichtigung des Geschlechtes, der Domestikation und Kastration. *Z. Zellforsch.* 23, 677—700, 1936.
- SCHWARZ, A.: Über den Umgang mit Zahlen. München, 1952.
- WERMEL, E. M. und PORTUGALOW, W. W.: Studien über Zellgrösse und Zellenwachstum. XII. Über den Nachweis des rhythmischen Zellenwachstums. *Z. Zellforsch.* 22, 185—194, 1935.
- WILLIGENS, CH.: Methode zur Bestimmung der wichtigsten Merkmale einer statistischen Zahlenreihe. *Z. schweiz. Statistik u. Volkswirtsch.* 68, 445, 1932; 69, 125, 1933.