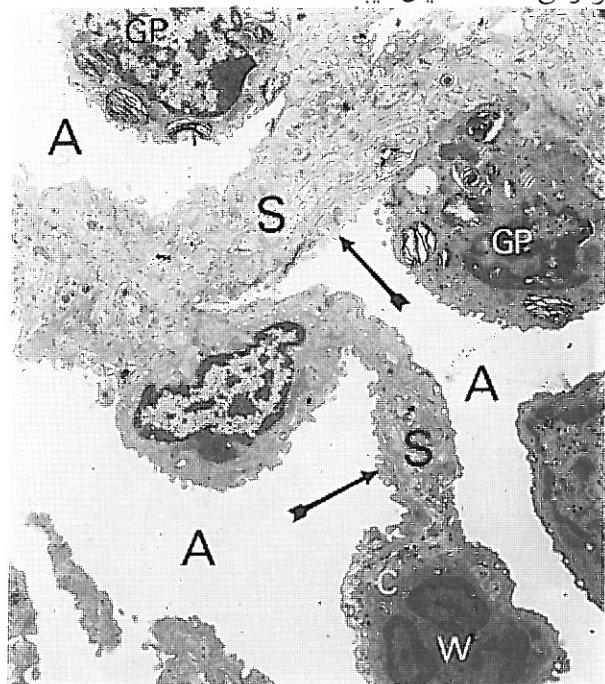


بررسی پارانشیم ریه با میکروسکپ الکترونیك

تحقیق و نوشته

دکتر حمیرا موسوی

مشکل از دیواره‌های ظریف آلونئی که محتوی مویرگهای فراوانی هستند نمایان میباشد .



تصویر شماره ۱ : در این تصویر نمای کلی پارانشیم که سطح داخلی مویرگ (۲۵) را میپوشاند و در تماس ریه در مطالعه بامیکروسکوپ الکترونیك دیده میشود . فضا های آلونئی (A) توسط دیواره هائی (S) از یکدیگر جدا شده اند . قسمت اعظم فضای آلونئی توسط سیتوپلاسم طویل میرانوس نوموسایتها (پیکان سیاه) و ندرتاً توسط گرانولار نوموسایتها (GP) مفروش شده است در قاعده این تصویر يك مویرگ آلونئی (C) دیده میشود که فضای داخل آن توسط يك گلبول سفید پولی مورف (W) اشغال شده است . (۷۵۰۰×)

بررسی زیر جهت مطالعه ساختمان پارانشیم ریه بوسیله میکروسکپ الکترونیك انجام گرفته است. بدین منظور قطعاتی از ریه شش نوزاد که بعللی غیر از عوارض تنفسی در گذشته بودند استفاده شد. در کلیه موارد بعد از توراکتومی بیوپسی های کوچک و متعددی از ریه چپ بعمل آمد . هر يك از این قطعات بر روی ورقه‌ای از پلاک قرار داده شد و بوسیله تیغه مخصوص به قطعاتی بسیار کوچک به مساحت يك میلی متر مربع تقسیم گردید . این قطعات بداخل شیشه محتوی گلوترالدیاید (۱) با حرارت ۴ درجه سانتی گراد که قبلاً با ورنال استیت (۲) مخلوط شده و $PH = 7.4$ داشت منتقل گردید و بمدت ۱۲ ساعت در حرارت ۴-۲ درجه سانتی گراد نگاهداری شد .

نسوج ثابت (۳) شده به طریق الذکر بوسیله مخلوط سوکروزایزوتونیک و ورنال استیت با $PH = 7.4$ بمدت ۱۲ ساعت شسته شد . سپس بافتها در محلول يك درصد آزمیوم تتراکساید (۴) در حرارت ۴ درجه سانتی گراد بمدت یکساعت قرار داده شد (Post fixation) . شش قطعه نسج از ریه هر يك از نوزادان انتخاب و در اتانل دهیدراته شد . برشهای بسیار نازک خاص میکروسکپ الکترونیك بوسیله اولتراتوم L.K.B. و چاقوی کریستال تهیه شد . نسوج در روی صفحات بنام Copper Grids قرار داده بوسیله « الکاهالیک یورانیل استیت » (۵) و سپس بوسیله « لیدستیریت » رنگ آمیزی شدند از میکروسکپ الکترونیك نوع A.E.I.E.M. 6B جهت آزمایش نسوج تهیه شده استفاده گردید و از ساختمان هر نسج عکس های متعددی تهیه شد .

نتایج :

با درشت نمائی ضعیف منظره تیپیک پارانشیم ریه

* بخش آسیب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه لیورپول

- | | |
|------------------------------|----------------------|
| 1 - Glutaraldehyde | 3 - Fix |
| 2 - Veronal acetate | 4 - Osmium Tetroxide |
| 5 - Alcoholic uranyl Acetate | |

دستگاه گلژی و اندوپلاسمیک (۱۰) رتیكولوم بررسی میشود (تصویر شماره ۲).

درحد واسط سلول های طویل تیپ I سلول های گرد یا بیضی دیده میشوند که بنام تیپ II یا گرانولار نوموسایت خوانده میشوند (تصاویر شماره ۱ و شماره ۳). این سلولها بداخل فضای آلئولی برجستگی پیدا کرده و معمولاً قسمتی از سیتوپلاسم آنها بوسیله سلول های تیپ I پوشانده میشود. لبه آزاد این سلولها محتوی میکروویلیهای کوتاه میباشد. علامت مشخصه این سلولها وجود گرانول های بزرگ گرد



تصویر شماره ۳ : در این تصویر یک گرانولار نوموسایت دیده میشود که قسمتی از دیواره یک آلئول ریوی را پوشانده است. Microvilli لبه آزاد سلول (V)، میتوکندریها (M)، لاملار بادی های محتوی سورفکتانت (L) و هسته سلول (N) با این درشت نمایی قابل تشخیص میباشد (× ۱۲۵۰۰).

یا بیضی است (تصاویر ۱ و ۳ و ۴) و بهمین علت است که بنام گرانولار نوموسایت نامیده میشوند.

این گرانولها محتوی ماده لایه و تیره رنگی (۱۲) میباشد ولی ندرتاً ممکن است که خالی بنظر برسند. این گرانولها بنام لاملار بادی (۱۳) نامیده میشوند. سلولهای تیپ II دارای میتوکندریهای گرد، بیضی و یادرازی هستند که محتوی تعداد زیادی شاخک (۱۴) بوده و ماتریکس این

اجزاء سازنده دیواره آلئول های ریه عبارتند از :

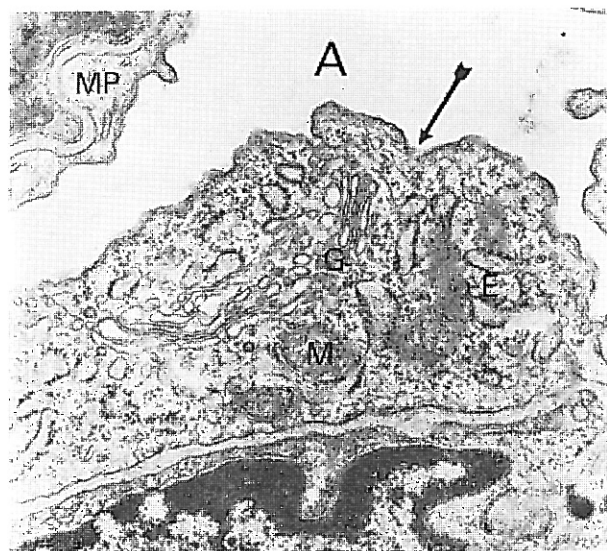
- ۱ - سلول اپیتلیال مفروش کننده فضاهای آلئولی
- ۲ - ماکروفاژهای پولونر
- ۳ - مویرگها

۱ - سلولهای اپیتلیال مفروش کننده فضاهای آلئولی :

این سلولها که در تماس مستقیم با هوای داخل آلئولهای ریه هستند بنام نوموسایت (۷) نامیده میشوند. نوموسایتها بر دو نوع بوده و تاکنون به نامهای مختلفی نامیده شده اند. مشهورترین این اسامی عبارتند از :

- ۱ - سلول تیپ I یا ممبرانوس نوموسایت (۸)
- ۲ - سلول تیپ II یا گرانولار نوموسایت (۹)

ممبرانوس نوموسایتها (تصویر شماره ۱) سلولهایی بسیار طویل و کم ضخامت میباشند (وجه تسمیه) که قسمت اعظم دیواره آلئول و همچنین مویرگهای آلئولی را میپوشانند طول هر ممبرانوس نوموسایت آنقدر زیاد است که بندرت ممکن است هسته سلول دیده شود سیتوپلاسم این سلولها ساختمان بخصوصی ندارد و فقط در نواحی که اندکی ضخامت پیدا کرده باشند محتویات سیتوپلاسمی آنها مانند میتوکندریها،



تصویر شماره ۴ : در این تصویر قسمتی از یک فضای آلئولی (A) دیده میشود که توسط ممبرانوس نوموسایت پوشیده شده است. این نوع نوموسایت اکثراً بسیار کم ضخامت بوده (MP) ولی اگر در یک ناحیه اندکی ضخامت پیدا کند (پیکان سیاه) اجزاء داخل سیتوپلاسم آن مانند میتوکندری (M)، دستگاه گلژی (G) و اندوپلاسمیک رتیكولوم (E) قابل تشخیص میشود (× ۵۰۰۰۰).

- 6 - Lead Citrate
- 7 - Pneumocytes
- 8 - Type I Cell or Membranous Pneumocyte
- 9 - Type II Cell or Granular Pneumocyte
- 10 - Endoplasmic Reticulum

- 11 - Microvilli
- 12 - Electron Dense
- 13 - Lamellar Bodies
- 14 - Cristae

در هر دو فیکساتیو ساختمان یکنواختی داشتند . او بدین ترتیب ثابت کرد که لمالاربادیها نمیتوانند از میتوکندریها مشتق شده باشند .

در سال ۱۹۵۵، Pattle اول کسی بود که کشش سطحی بسیار اندک مایعات آلؤل های ریه را کشف نمود Clements در ۱۹۵۷ وجود سورفکتنت (۱۷) را در مایعات آلؤلای شرح داد و اندک بودن کشش سطحی این مایعات را باعث وجود این ماده دانست . از آنجائیکه منبع سازنده سورفکتنت در ریه و همچنین فونکسیون حقیقی لمالاربادی های گرانولار نوموسایت ها معلوم نبود تجربیات بسیاری بمنظور نشان دادن ارتباط بین این دو مجهول انجام شد . از آنجمله مطالعه با میکروسکوپ الکترونیک نشان داد که لمالاربادی ها در ریه نزد موش تا قبل از هجدهمین روز Gestation که برابر بایک روز قبل از Parturation است وجود ندارند .

(Woodside and Dalton, ۱۹۵۸) . از طرف دیگر اندازه گیری کشش سطحی عصاره ریه همین حیوانات نشان داد که در هجدهمین روز Gestation همزمان با پیدایش لمالاربادی ها در گرانولار نوموسایت ها یک نزول ناگهانی در کشش سطحی عصاره ریه ایجاد میشود . عبارت دیگر بمنظور انجام عمل تنفس میبایستی کشش سطحی مایعات داخل آلؤل های ریه کاهش یابد و سورفکتنت که مسئول این کاهش کشش سطحی است توسط لمالاربادی های گرانولار- نوموسایت ها به داخل فضاهای آلؤلای ترشح میشود .

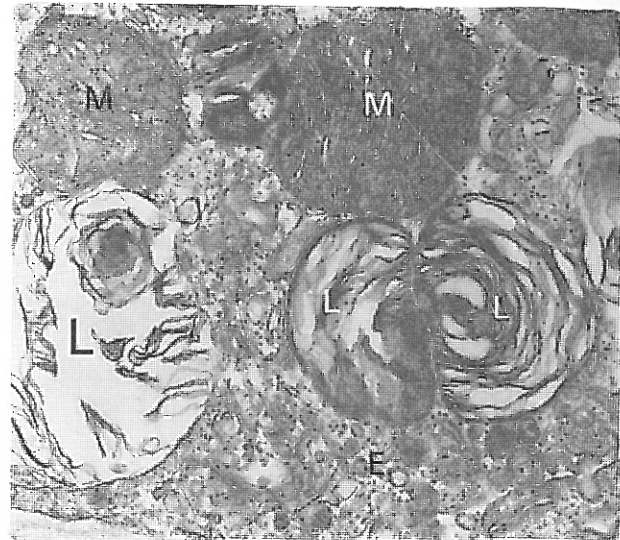
مطالعه ساختمان شیمیائی سورفکتنت نشان داد که این ماده یک فسفولیپید است که بصورت «دای پالمیتیل لستین» (۱۸) در ریه وجود دارد . اندازه گیری مقدار لستین موجود در نسج ریه و فضاهای آلؤلای ریه خرگوش در ۱۹۶۷ توسط Kikkawa, Gluck Motoyama نشان داد که قبل از تولد لستین بیشتر در داخل نسج ریه متمرکز بوده بمحض شروع تنفس، یک تخلیه شدید لستین از نسج بداخل فضاهای آلؤلای صورت میگیرد و این مساله همراه با خالی شدن محتویات لمالاربادی های گرانولار نوموسایت ها میباشد . بنابراین از نظر شیمیائی نیز مساله ترشح سورفکتنت توسط لمالاربادی ها مسلم میگردد .

تحتیقات بیوشیمیائی در مورد (چگونگی سنتز - سورفکتنت در گرانولار نوموسایت ها توسط

Buchingham, Heinemann, Sommers McNary

در ۱۹۶۶ انجام شد . این محققین «پالمیتیت» (۱۹) نشانه گذاری شده را به خرگوش تزریق کردند و در «اتورادیوگرافها» (۱۹) ریه ملاحظه نمودند که حداکثر رادیو اکتیویته در سینتوپلاسم گرانولار - نوموسایت ها متمرکز است نه در لمالاربادی ها . این مساله

میتوکندریها از سینتوپلاسمی که آنها را احاطه کرده تیره تر بنظر میرسد (تصاویر ۳ و ۴) . لیزوزم و اکتول در این سلولها بهیچ وجه وجود ندارد .



تصویر شماره ۴ : قسمتی از یک گرانولار نوموسایت را درشت نمائی بیشتر نشان میدهد . تفاوت ساختمان لامالاربادی ها (L) و میتوکندریها (M) در این تصویر بخوبی نمایان است . در سینتوپلاسم سلول اندوپلاسمیک رتیکولوم (E) بسیار فراوان دیده میشود (× ۵۰۰۰۰) .

در ۱۵ سال اخیر ساختمان گرانولار نوموسایت ها مورد مطالعه دقیق و وسیعی قرار گرفته است . در سال ۱۸۴۷ یکی از اولین کسانی که متوجه وجود سلول های مکعبی در ساختمان دیواره آلؤل های ریه پستانداران شد Reinhardt بود .

امروزه ثابت شده که آن سلول های مکعبی همین گرانولار نوموسایت ها میباشد . در سال ۱۹۵۴ Schlipkoter اولین کسی بود که وجود لمالاربادی را در این سلول ها شرح داد . در سال ۱۹۵۹ Schulz نام گرانولار نوموسایت را بر این سلولها گذاشت .

او معتقد بود که لمالاربادیها از میتوکندریهای تغییر شکل یافته بوجود میآیند . محققین پیرو این مکتب بودند تا زمانی که تحتیقات تجربی بر روی این سلولها بوسیله Campiche در ۱۹۶۰ در ریه نژاد موش صحرائی (۱۵) انجام شد . اوریبه این حیوانات را در دو فیکساتیو مختلف : آزیموم تتراکساید و پتاسیم پرمنگنیت (۱۶) قرارداد و ملاحظه کرد که ساختمان لایه مواد موجود در گرانول های گرانولار نوموسایت ها فقط در نسوجی دیده میشوند که در آزیموم تتراکساید ثابت شده بودند حال آنکه میتوکندریها

15 - Rat

17 - Surfactant

16 - Potassium Permanganate

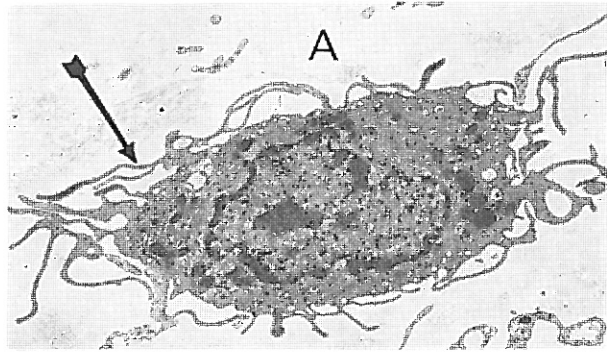
18 - Dipalmitol Lecithin

19 - Labelled Palmitate = برای ایجاد سورفکتنت میباشد

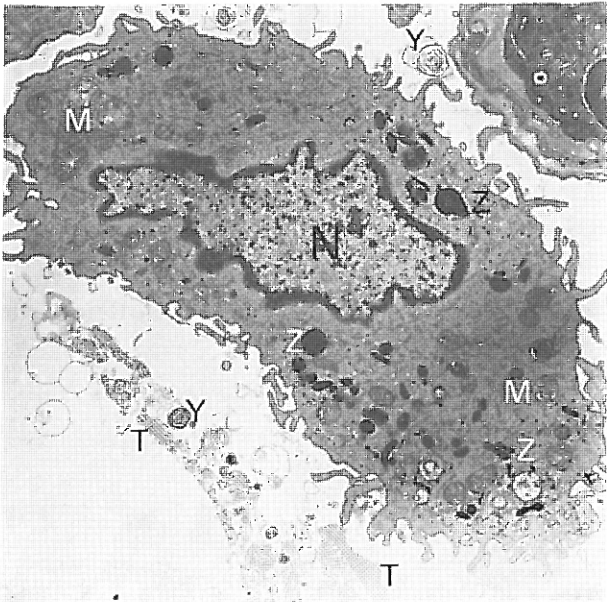
20 - Autoradiographs

۲ - ماکروفازهای پولمونری :

سلول هائی هستند دوبرابر اندازه گرانولارنوموسایت ها که بطور آزاد در داخل فضا های آلوئالی دیده میشوند. این سلول ها شکل خاصی نداشته دارای تعداد زیادی پاهای کاذب میباشند (تصاویر شماره ۵ و ۶). گاهی آنچنان در تماس نزدیک بادیواره آلوئالها هستند که بنظر میرسد در حال



تصویر شماره ۵ : در این تصویر یک ماکروفاز پو-
لمونری در داخل فضای آلوئالی (A) دیده میشود. این سلولها
پاهای کاذب فراوانی دارند (پیکان سیاه) (۷۵۰۰x).



تصویر شماره ۶ : یک ماکروفاز پولمونری بادرشت-
نمائی بیشتر در داخل فضای آلوئالی نشان میدهد. لیزوزمهای
برنگ تیره و باشکال مختلف (Z)، میتوکندریهای گرد یا
بیضی (M)، هسته سلول (N) و بالاخره پاهای کاذب متعدد سلول
قابل توجه میباشند. در فضای آلوئالی سورفکتانت ترشح شده
بصورت اجسام Lattice به شکل چهارخانه
Myelin Figures, T)

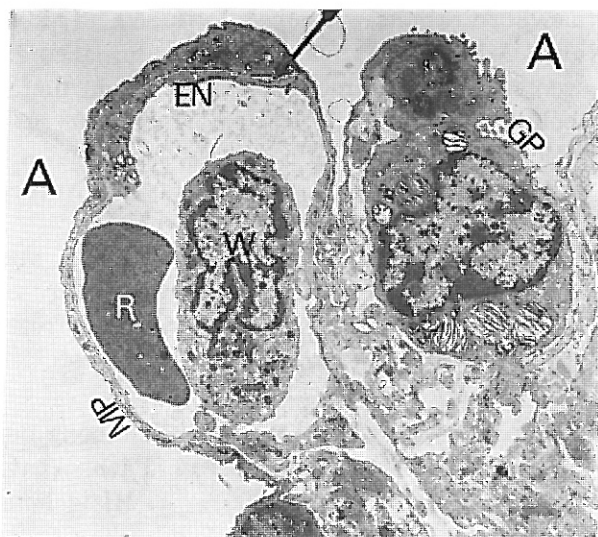
شکل مارپیچ (Y) دیده میشوند.

نشان داد که لمالاربادیها اعضاء ذخیره کننده سورفکتانت هستند نه سازنده آن، ولی بعات دارا بودن خاصیت ترشچی در مواقع لزوم محتویات خود را بداخل فضاهای آلوئالی رها میسازند. مطالعه تغییرات پاتولوژیک ریه نیز خاصیت ترشچی

گرانولارنوموسایت هارا نشان میدهد در سال ۱۹۶۴ Bensch, Schaefer, Avery تعدادی خو کچه هندی را در معرض محیطی با فشار زیاد قرار داده و بدین ترتیب ایجاد اسیدوز تنفسی در حیوانات مذکور نمودند. مطالعه ساختمان ریه این حیوانات بامیکروسکپ الکترونیکی نشان داد که در مرحله اسیدوز تنفسی لمالاربادیها محتویات خود را بداخل فضاهای آلوئالی رها کرده و خود بصورت حفرات خالی نمایان میشوند حال آنکه در مرحله Recovery ساختمان عادی خود را باز مییابند. مطالعه ریه نوزادان نارس مبتلا به سندروم

Idiopathic Respiratory Distress بوسیله میکروسکوب الکترونیکی که بود تعداد گرانولارنوموسایت ها را نشان میدهد. امروز عقیده محتملترین بر این است که ائکتنازی ریه این نوزادان بعات کمبود پولموناری (۲۱) سورفکتانت میباشد.

رها شدن سورفکتانت از لمالاربادیها تحت اثر کنترل سیستم عصبی انجام میشود. چنانچه موش صحرائی را Vagotomised کنیم بلافاصله یک نقصان دانسته در لمالاربادیها بوجود میآید. این مساله با کلاپس ریه بعات فتدان سورفکتانت همراه میباشد. در ۱۹۶۷ Niden پیشنهاد کرد که پولموناری «سورفکتانت در کلاپسها» (۲۲) ساخته میشود. Conning, Etherton در سال ۱۹۷۱ پالمپیت رادیو اکتیو را به موش صحرائی تزریق کرده چگونگی تمرکز این ماده را بوسیله اتورادیوگرافی در ریه نشان دادند. این مطالعه نشان داد که قسمت اعظم ماده رادیواکتیو در کلاپسها فقط مقدار کمی از آن در گرانولارنوموسایتها متمرکز میشود. همچنین کلاپسها حداکثر رادیواکتیویتی را در دقیقه دوم بعد از تزریق نشان داده این رادیواکتیویتی در عرض ۶۰ دقیقه به صفر میرسد. حال آنکه گرانولارنوموسایتها حداکثر رادیواکتیویتی را در دقیقه چهارم بعد از تزریق نشان داده این رادیواکتیویتی بتدریج افزایش پیدا میکند ولی هرگز به میزان ملاحظه شده در کلاپسها نمیرسد. این تجربه نشان میدهد که پولموناری سورفکتانت در کلاپسهای اپیتلیوم مجاری هوایی داخل ریوی ساخته شده و در داخل گرانولارنوموسایتها ذخیره میشوند. در موارد لزوم مثلا در زمان تولد تحت تاثیر عصب واگ لمالاربادیها محتویات خود را که همان پولموناری سورفکتانت میباشد به داخل آلوئالهای رها ساخته کشتش سطحی داخل این فضاها را پائین میآورند و بدین ترتیب ریه از حالت کلاپس خارج شده و محتوی هوا میگردد.



تصویر شماره ۷ : در این تصویر یک مویرگ آلوئولی دیده میشود که بداخل فضای آلوئول (A) برجستگی پیدا کرده است و ساختمان سه لایه سازنده جدار مویرگ را بخوبی نشان میدهد. خارجی ترین لایه مربوط است به یک ورقه نازک سیتوپلاسم ممبرانوس نوموسایت (MP) داخلی ترین لایه مربوط است به سیتوپلاسم سلول های اندوتیال مویرگ (EN) و لایه حد واسط مربوط است به ممبران بازال (پیکان سیاه). این مویرگ محتوی یک گلبول قرمز (R) و یک گلبول سفید (W) میباشد. در گوشه راست تصویر یک گرانولار نوموسایت (GP) دیده میشود (X۷۵۰۰).

لایه در حد واسط بین اپتیلیوم و اندوتلیوم قرار گرفته و عبارتست از یک ماده هموزن که دو لایه اپتیلیوم و اندوتلیوم را بیکدیگر متصل میکند و بنام ممبران بازال نامیده میشود. بنابراین دیواره حدواسط خون مویرگ آلوئول و هوای داخل آلوئول بسیار نازک بوده مثلاً در مویرگی که در تصویر شماره ۷ نشان داده شده این دیواره ضخامتی برابر ۱۵۰ میکرون دارد.

Summary

In this paper many of the principal structure of the Moral Lung were studied with the help of Electron Microscopy. Detailed description was given of Granular Pneumocytes, Membranous Pneumocytes, Macrophages, and Alveolar Capillaries. A discussion followed on the form and function of Granular Pneumocytes.

Acknowledgements

I am grateful to the Reza Shah Pahlavi Foundation for its generous support of this study, and to Dr. S. C. McDonald for his advice in this paper.

مهاجرت از این دیواره به داخل فضای آلوئول میباشد. این سلولها محتوی میتوکندریهای گرد و بیاضی هستند ولی هرگز میتوکندریهای بسیار طولی در آنها دیده نمیشود. دانسیته مواد داخل میتوکندریها مساوی دانسیته سیتوپلاسم اطراف میباشد و بدین جهت در مطالعه بامیکروسکوپ الکترویک تفاوت رنگ چندانی بین سیتوپلاسم سلول و ماتریکس میتوکندریها دیده نمیشود. از مشخصات بارز این سلولها وجود یک دستگاه گلژی بسیار نزدیک به هسته وجود واکتولها و لیزوزمهای متعدد در سیتوپلاسم میباشد. لیزوزمها گرد، بیضی و یا هلالی بوده محتوی ماده آمورف تیره ای هستند و بوسیله یک ممبران محدود میشوند (تصویر شماره ۶).

سورفکتنت بصورت اجسام ماریچی بنام Myelin Figures

و یا بصورت اجسام چهارخانه ای بنام اجسام Attice

در فضا های آلوئول دیده میشود. ماکروفاژهای پولمولوزاین مواد را بوسیله پاهای کاذب خود محاصره کرده و در لیزوزمهای خود که محتوی آنزیم های متعددی هستند هضم مینمایند.

بیشتر از آنزیم های موجود در ماکروفاژهای سایر نقاط بدن است. این تفاوت را میتوان بدین صورت توجیه کرد که چون میوان دبری (۲۳) و اجسام خارجی در داخل آلوئول های ریه بیشتر از سایر نقاط بدن است و ماکروفاژها مسئول فاگوسیتوز این اجسام میباشد لذا این سلولها مایبستی محتوی آنزیم بیشتری باشند تا عمل هضم جذب ذرات نامبرده را بخوبی انجام دهند. مطالعات (Pratt Smith Ladman, Finley) در سال ۱۹۷۱ نشان داد که ماکروفاژهای آلوئولی افراد معتاد به دخانیات دارای لیزوزم بیشتری بوده و این لیزوزمها اشکالی کاملاً Bizarre دارند. حال آنکه در افراد غیر معتاد به دخانیات تعداد لیزوزمهای ماکروفاژهای آلوئولی بسیار کمتر بوده دارای شکل مشخصی میباشد. عبارت دیگر ماکروفاژهای نسوج مختلف از نظر خاصیت فاگوسیتیک و فعالیت لیزوزمی کاملاً بایکدیگر متفاوت بوده آلهائی که محتوی تعداد بیشتری لیزوزم هستند فعالتر میباشد.

۳ - مویرگهای آلوئولی :

تعداد بسیار زیادی مویرگ در دیواره آلوئول های ریه دیده میشود که بداخل فضا های آلوئولی برجستگی پیدا کرده اند (تصویر شماره ۷). دیواره هر مویرگ آلوئولی از سه لایه تشکیل شده است. خارجی ترین لایه عبارتست از یک ورقه نازک سیتوپلاسم سلولهای اپتیلیال که سطح مویرگ را در تماس (۲۴) با هوا مینشانند. این سیتوپلاسم اکثراً مربوط به سلول های تیپ 1 یا ممبرانوس نوموسایت و بندرت مربوط به سلول های تیپ 11 یا گرانولار نوموسایت میباشد. داخلی ترین لایه عبارتست از سیتوپلاسم یک ردیف سلول های اندوتیال مستقیم با خون میباشد. هسته این سلولها گاهی بچشم میخورد که عمیقاً در داخل دیواره آلوئول قرار دارد. آخرین

R E F E R E N C E S

- Bensch, K., Schaeper, K. and Avery, M. E., (1964). Granular pneumocytes; electron microscopic evidence of their exocrine function. **Science**, **145**, 1318.
- Buckingham, S., Heinemann, H. O., Sommers, S. C. and McNary, W. F. Jr., (1966). Phospholipid synthesis in the large pulmonary alveolar cell. Its relation to lung surfactants. **Amer. J. Path.**, **48**, 1027-1041.
- Campiche, M. (1960). Les inclusions lamellaires des cellules alvéolaires dans le poumon du rat. **J. Ultrastruct. res.**, **3**, 302-312.
- Clements, J. A. (1957). Surface tension of lung extracts. **Proc. Soc. exp. biol. med.**, **95**, 170-172.
- Conning, D. M. and Etherton, J. E. (1971). The secretion of pulmonary surfactant in the mouse: an investigation using radio-active palmitic acid. Proceedings of Pathological Society of Great Britain and Ireland. **J. Path.**, P. IV.
- Kikkawa, Y., Motoyama, E. K. and Gluck, L. (1968). Study of the lungs of foetal and newborn rabbits. **Amer. J. Path.**, **52**, 177-209.
- Niden, A.H. (1967). Bronchiolar and large alveolar cell in pulmonary phospholipid metabolism. **Science**, **158**, 1323-1324.
- Pattle, R. E. (1955). Properties, function, and origin of the alveolar lining layer. **Nature Lond.**, **175**, 1125-1126.
- Pratt, S. A., Smith, M. H., Ladman, A. J. and Finlay, T. N. (1971). The ultrastructure of alveolar macrophages from human cigarette smokers and non-smokers. **Lab. invest.**, **24**, 331-338.
- Reinfardt, B. (1847). Ueber die entstehung der kornchenzellen. **Virchow Arch. Path. Anat.**, **1**, 20; after sorokin (1966). **J. Histochem. cytochem.**, **14**, 884.
- Schlipkötter, H. W. (1954). Elektronenoptische untersuchungen ultradünner lungenschmitte. **Deutsche. Metd. wschr.**, **79**, 1658.
- Schulz, H. (1959). The submicroscopic anatomy and pathology of the lung. Springer - Verlag, Berlin.
- Woodside, G. L. and Dalton, A. J. (1958). The ultrastructure of lung tissue from newborn and embryo mice. **J. Ultrastruct. res.**, **2**, 28-54.