

However, the tumor cell count dropped significantly on the third passage. At this time it was felt that for the ascites transplant, some should have also been inoculated s.c. with the same fluid. Consequently 10 rats were inoculated i.p. with 2 ml of ascitic fluid, and 10 more were inoculated s.c. with 1 ml of ascitic fluid. The tumor did not grow in any of the animals inoculated i.p. It did however grow s.c. in all animals. After about 2 weeks, 1 animal bearing the solid tumor was sacrificed and the mass was resected and placed in a Petri dish with saline. The tumor mass appeared to be composed of blood red material. Again about 10 g of this tumor was homogenized in the same manner as previously reported, and 2 ml of the suspension was inoculated i.p. to each of 10 young rats. The ascites grew in all the animals, and since then it has been carried by serial transplants in our Institute.

The ascitic form of the Walker 256 resembles the carcinomatous variant in that it is composed mainly of so-called 'principal cells'. The principal cell is polygonal, round or oval, and has a distinct cell membrane. The cytoplasm is granular, basophilic, and often vacuolated. There is usually 1 centrally located nucleus that may be round or oval and sometimes indented. Occasionally 2 or 3 nuclei are present. The deeply stained nuclear membrane encloses a fine mesh and 1-4 small clumps of chromatin. There is generally 1 large eosinophilic nucleus. Three or 4 mitotic figures, often tripolar, may be found in nearly every field. The individual principal cells are often found to be in various stages of degeneration, necrosis and resorption (Figure 2).

**Discussion and conclusions.** A method of transplanting the carcinosarcoma Walker 256 to the ascitic form has been described. This tumor grows in about 90-100% of the animals, and kills the host in about 2 weeks. The fluid in the peritoneal cavity becomes apparent in 5-6 days, and at 10 days may reach the amount of 20-30 ml or more. Tumor cell counts vary, but the normal limits are 5-6 million/ml.

It is felt that this tumor may be a useful tool, especially for the investigation and study of the circulating cancer cells in the blood and metastases<sup>12</sup>.

**Riassunto.** Una serie di ricerche per ottenere tumori in forma ascitica usando materiale cellulare di tumori solidi sono state eseguite. Un omogenato del carcinosarcoma di Walker 256 è stato iniettato in cavità peritoneale e si è avuto lo sviluppo di forme tumorali ascitiche che è stato possibile trapiantare nelle successive generazioni di ratti.

D. AGOSTINO and E. E. CLIFFTON

*Department of Experimental Surgery and Physiology, Memorial-Sloan-Kettering Cancer Center, and Cornell University Medical College, New York 21 (New York, USA), 8 September 1967.*

<sup>12</sup> Supported in part by grant No. Ca-08748 from the National Cancer Institute and Institutional Funds.

## Die DNS-Synthese im Rattenherzen als Funktion des Lebensalters. Autoradiographische Untersuchungen mit <sup>3</sup>H-Thymidin

Im hypertrophierenden Herzmuskel<sup>1</sup> und in der Randzone von Herzinfarkten<sup>2</sup> konnten tierexperimentell DNS-synthetisierende Herzmuskelkerne nachgewiesen werden. Für das unversehrte Herz bestehen einheitliche Aussagen nur, soweit sie sich auf das wachsende Organ verschiedener Tierarten beziehen<sup>3-12</sup>. Jenseits des 2. Lebensmonats sind synthetisierende Herzmuskelkerne zwar gelegentlich beobachtet<sup>6-8,11</sup>, aber nicht quantitativ erfasst worden.

Deshalb injizierten wir Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 7, 12, 18, 24 und 30 Tagen, 2, 4, 8, 12, 18, 24 und 27 Monaten 1 h vor Tötung durch Dekapitation im Ätherrausch jeweils zwischen 09.00 und 10.00 Uhr i.p. 500 µCi <sup>3</sup>H-Thymidin, spez. Akt. 6,0 Ci/mM (Schwarz Bio Research, N.Y.). Fixation der Herzen für 48 h in neutralem Formalin unter Zusatz von inaktivem Thymidin. Waschen (1 h) der entparaffinierten 5 µ dicken Schnitte in hochkonzentrierter Lösung inaktiven Vorläufers zum Austausch freien <sup>3</sup>H-Thymidins. Exposition der Autoradiogramme (stripping film, Kodak AR 10) für 8-12 Tage. Nachfärben mit Hämalaun. Für den 7.-18. Lebenstag standen je 4 Tiere, für die späteren Zeitpunkte 2 Tiere zur Verfügung; lediglich der 24. Tag war mit nur 1 Tier besetzt. Ausgewertet wurden pro Tier 60 000 bis 80 000 Herzmuskelkerne und 70 000 bis 95 000 Bindegewebskerne, unabhängig von ihrer Zugehörigkeit zu Kapillaren oder Interstitium. Die Mittelwerte markierter und in Teilung begriffener Kerne sind - wegen der geringen Ausbeute - in % kurvenmässig dargestellt. Stärkere Abweichungen ergaben sich im abfallenden Kurvenschenkel.

Die Zahl DNS-synthetisierender Herzmuskelkerne beträgt am 7. Lebenstag der weissen Ratte etwa 90%/<sub>00</sub> (Figur a). Dieser Wert stimmt überein mit den Ergebnissen von RUMYANTSEV<sup>9</sup>, der überdies zum Zeitpunkt der Geburt noch etwa doppelt soviel markierte Herzmuskelkerne ermittelt hat. Bis zum 30. Lebenstag fällt die Zahl markierter Kerne in unserer Versuchsreihe auf 10%/<sub>00</sub> aller Zellen stark ab und sinkt auch im weiteren Verlauf noch deutlich über 1,2%/<sub>00</sub> zu Beginn des 2. Lebensmonats auf Minimalwerte zwischen 0,2 und 0,6%/<sub>00</sub>, die für den Rest der geprüften Versuchszeit aufrechterhalten bleiben. Es besteht also bei der unvorbehandelten Ratte zu allen

<sup>1</sup> G. WEGNER und E. MÖLBERT, Virchows Arch. path. Anat. Physiol. 341, 54 (1966).

<sup>2</sup> O. KLINGE, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 80, 488 (1967).

<sup>3</sup> R. A. MACDONALD and G. K. MALLORY, Lab. Invest. 8, 1547 (1959).

<sup>4</sup> B. MESSIER and C. P. LEBLOND, Am. J. Anat. 106, 247 (1960).

<sup>5</sup> H. R. OVERY and R. E. PRIEST, Lab. Invest. 15, 1100 (1966).

<sup>6</sup> S. R. PELC, Expl Cell Res. 29, 194 (1963).

<sup>7</sup> S. R. PELC, J. Cell Biol. 22, 21 (1964).

<sup>8</sup> R. O. PETERSON and R. BASERGA, Expl Cell Res. 40, 340 (1965).

<sup>9</sup> P. P. RUMYANTSEV, Folia histochem. cytochem. 1, 463 (1963).

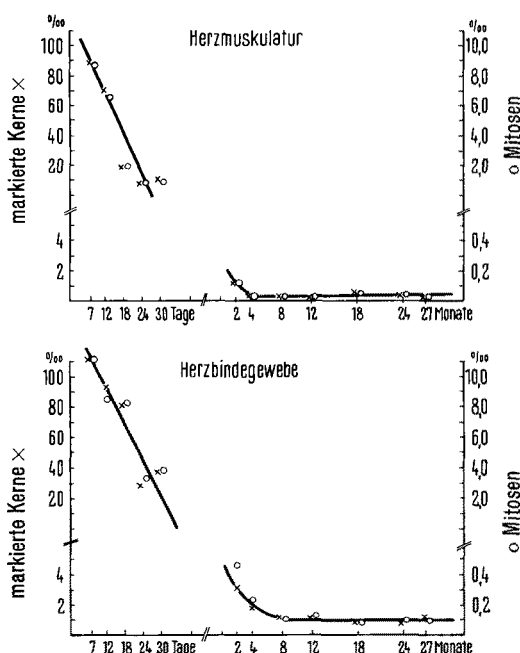
<sup>10</sup> P. P. RUMYANTSEV, Archs Anat. Histol. Embryol. 47, 59 (1964), zit. nach: Ber. Biol. 257, 14 (1966).

<sup>11</sup> R. G. SHORTER and J. L. TITUS, Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 37, 669 (1962).

<sup>12</sup> K. WEGENER, S. HOLLWEG und W. MAURER, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 63, 309 (1964).

Zeitpunkten des Lebens – denn eine wesentliche Änderung dürfte sich jenseits des zuletzt untersuchten 27. Lebensmonats nicht mehr ergeben – eine DNS-Synthese auch in nicht alterierten Herzmuskeln. Freilich ist die Zahl DNS-synthetisierender Herzmuskelkerne verschwindend gering und mit den unter gleichen Bedingungen gewonnenen Normalwerten der sogenannten stabilen Elemente in Leber und Niere<sup>13</sup> vergleichbar. Auch der Kurvenabfall als Funktion des Alters der Ratte ist im Herzmuskel prinzipiell dem in Niere und Leber ähnlich.

Die Übereinstimmung betrifft nicht nur die Muskulatur, sie erstreckt sich auch auf die DNS-Synthese der Bindegewebekerne. Die diesbezügliche Kurve (Figur b) fällt



Zahl markierter Kerne (x) und Mitosen (o) – in % – im Rattenherzen als Funktion des Lebensalters. Für die Kerne (x) gilt die linke Ordinate, für die Mitosen (o) die rechte.

nur wenig schwächer – also in bezug auf das Alter verzögert – ab. Ihr unterer Wert liegt allerdings mit ca. 1% knapp über dem Minimum DNS-synthetisierender Muskelkerne.

Die Zahl der Mitosen ist im Mittel etwa 10mal kleiner als die markierter Kerne, was auch für das Rattenherz in der pränatalen und unmittelbar postnatalen Periode nachgewiesen wurde<sup>9,10</sup>. Die Dauer der Mitose ist demnach ca. 10mal kürzer als die der S-Phase. Die Beobachtung stellt für das Bindegewebe keine Besonderheit dar, ist aber für die als nicht teilungsfähig geltende Herzmuskelzelle zunächst unerwartet. Jedoch handelt es sich bei allen Teilungsbildern von Herzmuskelkernen jenseits des 30. Lebensstages um schwer gestörte und kollabierte Mitosen, die selten zur Bildung doppelkerniger Zellen, nie aber zur Zellteilung Anlass geben (vgl.<sup>2</sup>). Dagegen kommen zu früheren Zeitpunkten auch weniger stark alterierte Mitosen und am 7. postnatalen Lebenstag auch einzelne gehörig gestaltete Teilungsfiguren vor. Ihr Anteil an der Zunahme doppelkerniger Herzmuskelzellen während der frühen extrauterinen Entwicklungsphase wird überprüft<sup>14</sup>.

**Summary.** The percentage of DNA-synthesising heart muscle nuclei of white rats (<sup>3</sup>H-thymidine, autoradiography) decreases rapidly during the first month of life reaching a minimum at the fourth month. From then up to 27 months the number of labelled muscle nuclei remains rather constant. Also in nuclei of connective tissue the <sup>3</sup>H-thymidine labelling index decreases as a function of the rats age. The number of mitotic figures is always about 10 times lower than labelled nuclei. Mostly in heart muscle cells they occur as collapsed mitoses never leading to cytoplasmic division<sup>14</sup>.

O. KLINGE und E. STÖCKER

*Pathologisches Institut der Universität Würzburg (Deutschland), 30. August 1967.*

<sup>13</sup> E. STÖCKER, E. TEUBNER und G. ROSENBUSCH, Verh. dt. Ges. Path. 48, 295 (1964).

<sup>14</sup> Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

## Elektronenmikroskopischer Nachweis von Langerhansschen Zellen im Epithel normaler menschlicher Vagina

Die Langerhansschen Zellen sind bisher nur in der Epidermis (<sup>1-4</sup> u.a.) und kürzlich auch im gingivalen Epithel<sup>5</sup> des Menschen elektronenmikroskopisch dargestellt worden. Die Frage ihrer Herkunft ist noch nicht endgültig geklärt<sup>2-4,6-8</sup>, obwohl ein Zusammenhang mit Melanocyten als wahrscheinlich anzunehmen ist<sup>1-4</sup>.

Im Epithel der menschlichen Vagina hat ZWILLENBERG<sup>9</sup> nach Vergoldung dendritische Zellen nachgewiesen, die er mit Langerhansschen Zellen identifizieren möchte. Entsprechende elektronenmikroskopische Befunde liegen nach unserem Dafürhalten noch nicht vor.

Beim Studium des Vaginalepithels geschlechtsreifer Frauen haben wir in verschiedenen Höhen des Stratum spinosum mehrmals die in der Abbildung dargestellte Zelle beobachten können. Sie hat einen eingekerbten, manchmal V- oder W-förmig erscheinenden Kern und

kontrastarmes Cytoplasma. Desmosomale Verbindungen mit benachbarten Zellen sind nicht vorhanden. Im Cytoplasma fanden sich regelmässig für Langerhanssche Zellen

<sup>1</sup> A. S. BREATHNACH, J. Anat. 98, 265 (1964).

<sup>2</sup> A. S. BREATHNACH, Int. Rev. Cytol. 18, 1 (1965).

<sup>3</sup> Y. MISHIMA, J. Cell Biol. 30, 417 (1966).

<sup>4</sup> A. S. ZELICKSON, J. invest. Derm. 44, 201 (1965).

<sup>5</sup> J. P. WATERHOUSE und C. A. SQUIER, Archs oral Biol. 12, 341 (1967).

<sup>6</sup> J. FERREIRA-MARQUES, Archs Derm. Syph. 193, 191 (1951).

<sup>7</sup> R. RICHTER, Arch. Klin. exp. Derm. 202, 466 (1956).

<sup>8</sup> K. WOLFF, R. K. WINKELMANN und K. HOLUBAR, XIII. Int. Derm. Congr. 126 (1967).

<sup>9</sup> L. O. ZWILLENBERG, Acta anat. Suppl. 35 ad Vol. 37, 1 (1959).