

An Electron Microscopic Observation on Diplococcus-Shaped Vesicles in Papillary Muscle of Rat Heart

During a study on the sub-microscopic appearance of the papillary muscle of rat, we observed well-defined vesicle-like structures. Each one was usually made up of 2 hemispherical vesicles, measuring about 1400 Å in diameter, 800 Å in radius, with their flat surfaces parallel. Their aspect was reminiscent of diplococci (Figure 1). The wall of each hemispherical vesicle was about 40 Å thick and appeared more electron-dense at the flat portion of the vesicles. In each diplococcus-shaped structure, the 2 opposite flat surfaces were separated by a 160 Å wide interspace, which appeared to be subdivided again by a 20 Å thick discontinuous membrane. Within the vesicles, a low electron-opaque, evenly dispersed material was observed. Depending on the section plane, each diplo-

coccus-shaped structure appeared as a round body or a single vesicle containing differently osmiophilic material. Intermingled with the diplococcus-shaped structures, empty vesicles larger in size could occasionally be found. They very likely represent a later evolutionary stage of the diplococcus-like vesicles. No morphological difference was observed when osmium tetroxide 2% buffered with veronal-acetate (pH 7.4) or 6% glutaraldehyde at pH 7.4 in 0.1M sodium cacodylate were used as fixatives.

Diplococcus-shaped structures lay scattered in the narrower spaces between neighbouring cardiac cells inside the transverse tubular system, and could fill the focal areas of dilatations occurring along the intercalated discs (Figure 2). Such intercellular gaps, when cut obliquely,

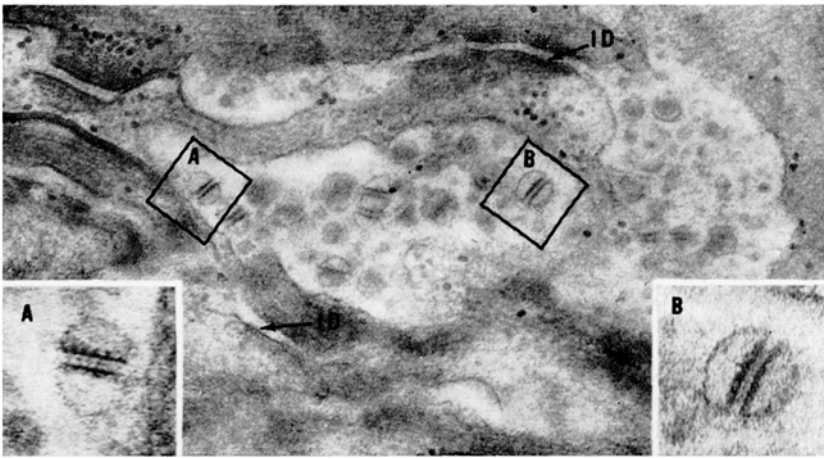


Fig. 1. Diplococcus-shaped vesicles within a narrow interstitial space between 2 heart muscle cells. ID, intercalated disc. $\times 60,000$. The insets show a typical diplococcus-shaped structure at higher magnification: (a) cut perpendicularly, (b) cut tangentially. $\times 124,400$.

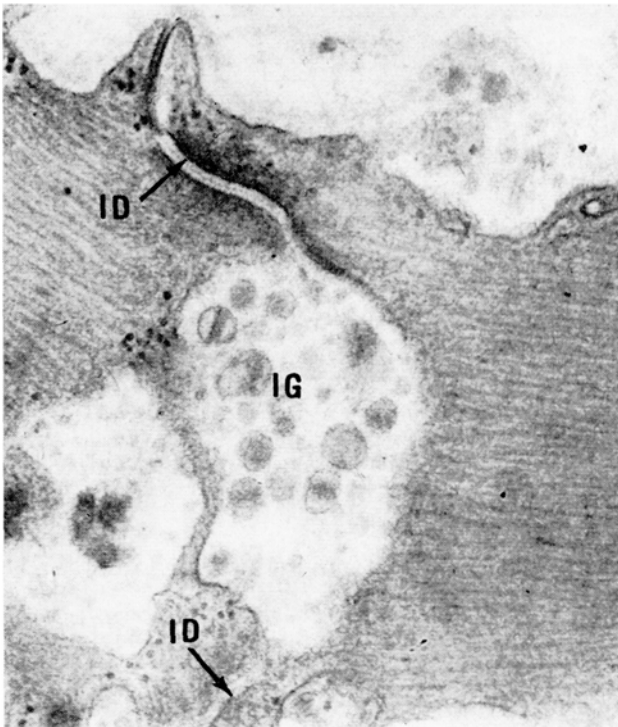


Fig. 2. Diplococcus-shaped structures filling an intercellular gap (IG) at the intercalated disc (ID). $\times 66,000$.

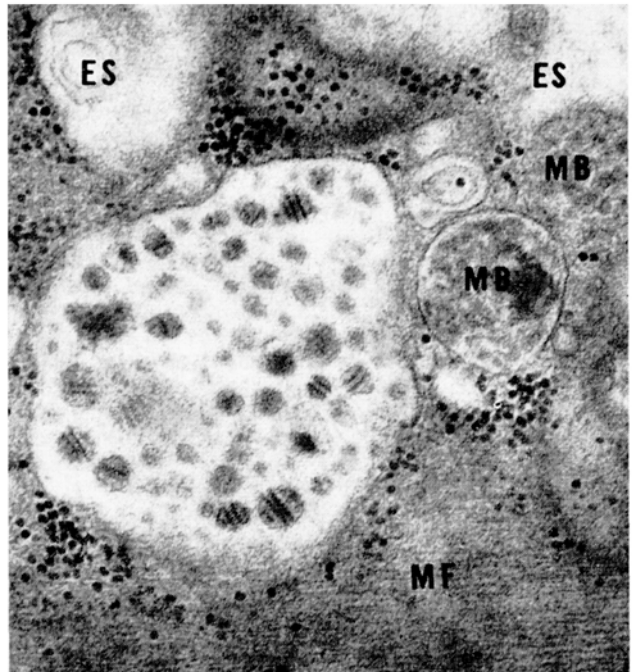


Fig. 3. Electron micrograph showing several diplococcus-shaped vesicles encircled by membrane and located in close contact with 2 multivesicular bodies (MB) at the cell periphery. ES, extracellular space; MF, myofibrils. $\times 50,000$.

lost their clear contact with the intercalated disc and appeared in form of intracellular saccules incompletely surrounded by membrane and showing vesicular structures inside.

Although the origin of the diplococcus-shaped vesicles is still unknown, some morphological observations were made which favour a close relationship between such type of structures and the multivesicular bodies. Membrane-bound bodies with diplococcus-shaped structures inside were frequently found immediately beneath the plasma membrane near the multivesicular bodies (Figure 3). Furthermore, transitional bodies containing diplococcus-shaped structures, together with smaller vesicles not unlike those in multivesicular bodies, occurred at the cell periphery. It would therefore seem conceivable to conclude that as the multivesicular bodies reach the extreme

periphery of the cell, their vesicular structures increase in size and after assuming the aspect of 'diplococci' they are discharged through the membrane.

Zusammenfassung. Vesikelartige Gebilde wurden in Papillarmuskeln von Ratten beobachtet. Diese wie Diplokokken aussehenden Doppelvesikel lagen an der Zelloberfläche, innerhalb der transversalen Tubuli und im Zwischenraum der Glanzstreifen. Die Ergebnisse lassen eine enge Beziehung zwischen diesen diplokokkenartigen Vesikeln und den sogenannten Zystisomen vermuten.

ANNA M. NOVI

*Istituto di Patologia Generale, 56100 Pisa (Italy),
29 July 1968.*

Interferenzmikroskopische Untersuchungen an Medulloblastom- und Glioblastomzellen¹

Neben den bekannten histochemischen Unterschieden zwischen Glioblastomen und Medulloblastomen fanden VIALE und FONDELLI² Hinweise für Verschiedenheiten in der RNS-Zusammensetzung beider Tumorarten. Da die RNS die Proteinsynthese entscheidend steuert, soll mit einer quantitativen Methode, der Interferenzmikroskopie, an Zellen von 2 im Wachstumsverhalten und Malignitätsgrad ähnlichen Tumorarten untersucht werden, ob signifikante Unterschiede zwischen Kern- und Cytoplasmatrockengewichten bei diesen schnellwachsenen Geschwülsten bestehen.

Material und Methode. Die untersuchten Tumoren (5 Glioblastome und 4 Medulloblastome) wurden sofort nach der operativen Entnahme in Alkohol fixiert, in Paraffin eingebettet und 7 μ dick geschnitten. Die ungefärbten Präparate brachten wir ohne Haftmittel auf planparallele, spannungsfreie und materialmässig homogene Objektträger auf und entfernten das Paraffin mit Xylol³. Die Einzelmessungen wurden mit einem Standard-WL-POL-Interferenzmikroskop (Fa. Zeiss) in einem relativ temperaturkonstanten und abgedunkelten Raum ausgeführt, wie von FRANCA und FORAKER⁴ und SEHRBUNDT und MÜLLER⁵ angegeben. Nach der Art der Vorbehandlung werden mit dieser Methode hauptsächlich Proteinstrukturen erfasst. Als spezifisches Refraktionsinkrement benutzten wir den Wert 0,18. Auf die Problematik dieses allgemein in der Interferenzmikroskopie benutzten Inkrementes haben wir an anderer Stelle ausführlich hingewiesen (SEHRBUNDT und GENTILE, im Druck und SEHRBUNDT, SCHRÖDER und UHLENBRUCK, im Druck). Die gemessenen Werte setzten wir in die in der Interferenzmikroskopie üblichen Formeln ein; es wurden 1043 Glioblastom- und 439 Medulloblastomzellen ausgewertet.

Ergebnisse. Für die Einzelmeßserien war eine Entscheidung über die statistische Verteilungsart nicht zu treffen; es handelt sich offensichtlich um Mischverteilungen. Zur Berechnung der Signifikanz benutzten wir deshalb verteilungsfreie Verfahren und bildeten aus den Einzelmesswerten für Cytoplasma und Kern jedes Tumors neue Summenhäufigkeitsverteilungen. Da bei interferenzmikroskopischen Messreihen vielfach logarithmisch-normale Verteilungen auftreten (SCHIEMER et al.⁶, SCHRÖDER⁷, SEHRBUNDT et al., im Druck), wurde ein Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmischer Abszisse benutzt.

Figur 1 zeigt, dass die Steigung der Geraden bei den Kernwerten viel grösser ist als bei denen des Cytoplasmas, so dass die Trockensubstanzkonzentration in Cytoplasma stärker variiert als im Kern. Das lässt sich

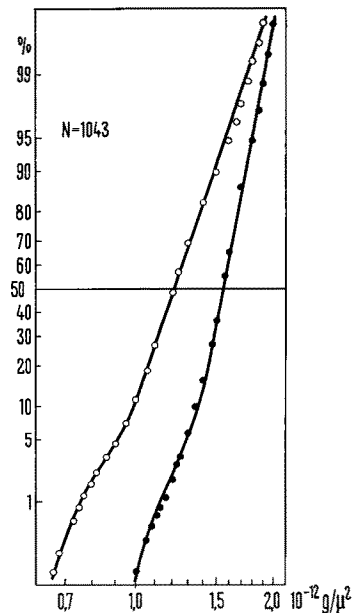


Fig. 1. Summenhäufigkeitsverteilung aller Glioblastomwerte im logarithmischen Wahrscheinlichkeitsnetz. o Cytoplasma, ● Kern.

- ¹ Mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.
- ² G. L. VIALE und A. FONDELLI-RESTELLI, Tumori 53, 533 (1967).
- ³ H.-J. SEHRBUNDT, Mitt. Max-Planck-Ges. H. 5, 310 (1966).
- ⁴ L. C. M. FRANCA und A. G. FORAKER, Archs Neurol., Chicago 3, 416 (1960).
- ⁵ H.-J. SEHRBUNDT und W. MÜLLER, Acta Endocr. 57, 374 (1968).
- ⁶ H. G. SCHIEMER, K. BAHR und H. P. LANGE: Frankf. Z. Path. 77, 20 (1967).
- ⁷ R. SCHRÖDER, Acta histochem. 30, 297 (1968).