

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 Glioblastomzellen<sup>1</sup>

Neben den bekannten histochemischen Unterschieden zwischen Glioblastomen und Medulloblastomen fanden VIALE und FONDELLI<sup>2</sup> 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 schnellwachsenden 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  $\mu$  dick geschnitten. Die ungefärbten Präparate brachten wir ohne Haftmittel auf planparallele, spannungsfreie und materialmäßig homogene Objektträger auf und entfernten das Paraffin mit Xylol<sup>3</sup>. Die Einzelzellmessungen wurden mit einem Standard-WL-POL-Interferenzmikroskop (Fa. Zeiss) in einem relativ temperaturkonstanten und abgedunkelten Raum ausgeführt, wie von FRANCA und FORAKER<sup>4</sup> und SEHRBUNDT und MÜLLER<sup>5</sup> 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.<sup>6</sup>, SCHRÖDER<sup>7</sup>, 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

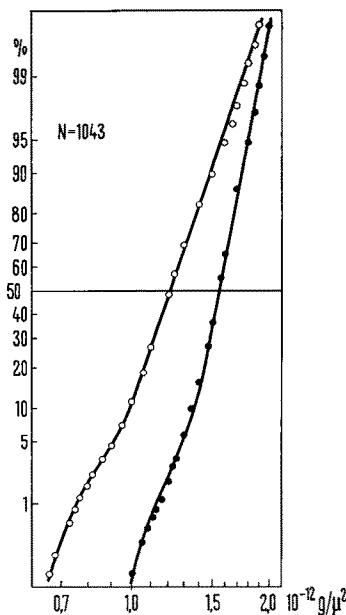


Fig. 1. Summenhäufigkeitsverteilung aller Glioblastomwerte im logarithmischen Wahrscheinlichkeitsnetz. o Cytoplasma, ● Kern.

<sup>1</sup> Mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

<sup>2</sup> G. L. VIALE und A. FONDELLI-RESTELLI, Tumori 53, 533 (1967).

<sup>3</sup> H.-J. SEHRBUNDT, Mitt. Max-Planck-Ges. H. 5, 310 (1966).

<sup>4</sup> L. C. M. FRANCA und A. G. FORAKER, Archs Neurol., Chicago 3, 416 (1960).

<sup>5</sup> H.-J. SEHRBUNDT und W. MÜLLER, Acta Endocr. 57, 374 (1968).

<sup>6</sup> H. G. SCHIEMER, K. BAHR und H. P. LANGE: Frankf. Z. Path. 77, 20 (1967).

<sup>7</sup> R. SCHRÖDER, Acta histochem. 30, 297 (1968).

auch bei den Medulloblastomen feststellen (Figur 2). Hier kommt es nicht nur zu einer Mischung bei niedrigen Werten, sondern auch (besonders beim Cytoplasma) bei hohen. Dies ist durch die abweichenden Werte des Tumors 11020 bedingt.

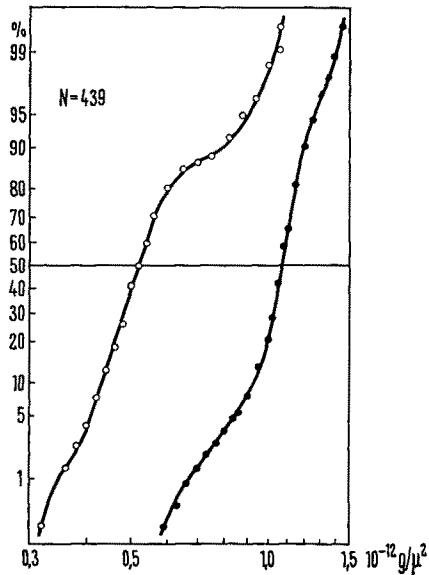


Fig. 2. Summehäufigkeitsverteilung aller Medulloblastomwerte im logarithmischen Wahrscheinlichkeitsnetz. o Cytoplasma, ● Kern.

Tabelle I. Trockengewicht/Fläche (in  $10^{-12} \text{ g}/\mu^2$ ) bei Glioblastomen: Medianwerte

Path. No.	Kern	Cytoplasma	Kern/ Cytoplasma
10964	1,43	1,08	1,33
8870	1,51	1,20	1,26
8183	1,55	1,26	1,23
8595	1,60	1,21	1,32
10861	1,75	1,40	1,25
Medianwerte des summierten Materials	1,55	1,21	1,28

Tabelle II. Trockengewicht/Fläche (in  $10^{-12} \text{ g}/\mu^2$ ) bei Medulloblastomen: Medianwerte

Path. No.	Kern	Cytoplasma	Kern/ Cytoplasma
10174	1,02	0,50	2,04
11197	1,03	0,48	2,15
S 1179	1,12	0,54	2,09
11020	1,16	0,82	1,42
Medianwerte des summierten Materials	1,07	0,52	2,06

Das  $\chi^2$ -Verfahren für unabhängige Stichproben nach BRANDT-SNEDECOR liefert folgende Ergebnisse: Die Werte der Zellkerne sind mit  $\chi^2 = 1255$ , 194 357 und  $f = 3$  Freiheitsgraden bei den Glioblastomen signifikant ( $p \ll 0,0005$ ) grösser als bei den Medulloblastomen. Auch für das Cytoplasma ergeben sich gleichartige signifikante Differenzen für die beiden Tumorarten ( $\chi^2 = 1287$ , 378 698,  $f = 3$ ,  $p \ll 0,0005$ ).

Um die individuellen Unterschiede innerhalb einer Tumogruppe stärker zu berücksichtigen, ist von den Medianwerten der Einzelmessreihen auszugehen. Die Ergebnisse (Tabellen I und II) überlappen sich weder für die Kern- noch für die Cytoplasmamessungen, wenn man beide Tumorarten vergleicht. Nach dem WILCOXON-Rangtest für unabhängige Stichproben sind diese Werte für Kern und für Cytoplasma bei den Glioblastomen mit  $p < 0,05$  grösser als bei den Medulloblastomen. Ebenso liegen die Quotienten der Trockensubstanzkonzentrationen für Kern und Cytoplasma bei den Medulloblastomen sehr hoch.

**Diskussion.** Bei der Bewertung interferenzmikroskopischer Befunde ist die individuelle Variation innerhalb der Tumogruppe zu berücksichtigen (Medulloblastom 11020). Deshalb führten wir mehrere statistische Tests durch; sie ergaben ausreichende Signifikanzen.

Eine weitere Ursache für abweichende Messergebnisse ist die bei gleicher Mikrotomeinstellung nicht ganz einheitliche Schnittdicke (SANDRITTER, persönliche Mitteilung) und das Verhältnis von Objekt und Schnittdicke. Nach planimetrischen Messwerten bei je 2 Glioblastomen und Medulloblastomen ist der Kerndurchmesser in beiden Fällen zu etwa  $7-9 \mu$  (SEHRBUNDT und GENTILE, im Druck) anzunehmen. LANFER<sup>8</sup> erhielt bei 3 anderen Medulloblastomen Durchschnittswerte von  $6-7 \mu$ . Bei der gewählten Schnittdicke von  $5 \mu$  ist also der überwiegende Teil der Zellkerne angeschnitten. Die Cytoplasmamesswerte wurde an solchen Stellen gewonnen, an denen der messende Lichtstrahl in seinem ganzen Verlauf das Cytoplasma einer Zelle passierte.

Daher lässt sich feststellen, dass das Zelltrockengewicht/Flächeneinheit bei Glioblastomen höher ist als bei Medulloblastomen, trotz annähernd gleicher Malignität dieser Tumoren. RADEMACHER<sup>9</sup> konnte allerdings nur an halbquantitativen eiweiss-histochemischen Untersuchungen ein ähnliches Verhalten dieser Tumoren andeuten.

**Summary.** The dry mass per unit area ( $\text{g}/\mu^2$ ) for nucleus and cytoplasm was determined by interference microscope from 1043 glioblastoma cells of 5 various glioblastomas and from 439 medulloblastoma cells of 4 various medulloblastomas. The values obtained from the glioblastoma cells are significantly higher than the values of medulloblastoma cells.

H.-J. SEHRBUNDT und R. SCHRÖDER

Max-Planck-Institut für Hirnforschung,  
Abteilung für Allgemeine Neurologie, Köln-Merheim,  
und Abteilung für Tumorforschung  
und experimentelle Pathologie  
und der Neurochirurgischen Universitätsklinik,  
Köln (Deutschland), 9. Juli 1968.

<sup>8</sup> U. LANFER, Inaugural-Dissertation, Köln (1968).

<sup>9</sup> A. RADEMACHER, Inaugural-Dissertation, Köln (1967).