

Reactive Synthesis of DNA and Mitotic Division in Atrial Heart Muscle Cells Following Ventricle Infarction

It seems that proliferative behaviour of atrial heart muscle cells, contrarily to the ventricular ones¹⁻³, have never attracted any special attention.

In our experiments massive infarctions of left ventricle were obtained in 45 male albino rats (150–200 g) by coronary artery ligation⁴. As a rule, 2 h before fixation, both intact and experimental animals received ³H-thymidine injection (0.8 µC/g of body weight, sp. act. 3.6 C/mM). Hearts were fixed 3, 5, 8, 14, 17, 21 and 40 days after operation. 18 rats with left ventricle infarction, receiving ³H-thymidine injection on the fifth postoperative day, were sacrificed 4–48 h thereafter for determination of the QUASTLER and SHERMAN curve of labelled mitoses⁵. Autoradiographic technique was the same as in ^{1,6}. In most cases 1–2000 (in controls up to 15,000) of randomly selected muscle nuclei, both in left auricle and left ventricle, were examined for evaluation of the index of labelled nuclei (LI) and mitotic index (MI).

In control animals the number of heart muscle cells suspected to be labelled (0.005% in ventricles and 0.02% in auricles) or dividing (near 0.02% in both cases) is too small for accurate determination of LI and MI.

Ishaemic necroses were not observed in the left auricle myocardium but its muscle fibres and nuclei became swollen, sarcoplasmic and nucleolar basophilia accentuated. These changes (possibly due to the relative insufficiency of mitral valves) are accompanied by reactive synthesis of DNA and mitoses in numerous striated muscle cells (Figures 1 and 2) distributed in a rather 'diffuse' manner throughout the left auricle. The number of proliferating cells underwent great individual fluctuations at all postoperative stages studied (Table). Synthesis of DNA and mitoses are slightly activated by the third day; intensification attains its maximum at the fifth day, when values of LI and MI approach those of intensively proliferating new-born rat myocardium cells^{6,7}. In some animals DNA synthesis and mitoses in auricular muscle cells remain still activated even at the 17th, 21st and 40th postoperative days (Table). Mitoses can well pass through all its stages (Figures 2 and 3); they became labelled much more later as compared with stromal ones. When estimated by means of the curve of labelled

mitoses⁵ duration of S and G₂ + M for atrial muscle cells at the fifth postoperative day approaches 13 and 10 h, respectively, while for the stromal elements, 7 and 4 h only. Considerable elongation of mitotic cycle periods and especially that of G₂ + M may underlie an unusually low LI:MI ratio observed in the majority of postoperative

1

P. P. RUMYANTSEV, Folia Histochem. Cytochem. 4, 397 (1966).

2

B. E. WALKER and E. K. ADRIAN, Cardiologia 49, 319 (1966).

3

O. KLINGE, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 80, 488 (1967).

4

H. SELYE, E. BAJUSZ, S. GRASSO and P. MENDELL, Angiology 11, 398 (1960).

5

H. QUASTLER and F. SHERMAN, Expl Cell Res. 17, 420 (1959).

6

P. P. RUMYANTSEV, Folia Histochem. Cytochem. 7, 463 (1963).

7

O. KLINGE und E. STÖCKER, Experientia 24, 167 (1968).

Percentages (mean ± standard error) of ³H-thymidine labelled nuclei (LI) and mitoses (MI) for the left auricle muscle cells at different stages after left ventricle infarction. Adult male rats, 2 h after ³H-thymidine injection

Days after operation	LI	MI	No. of animals studied
Control	< 0.02	< 0.02	6
3	0.22 ± 0.06	0.14 ± 0.09	6
5	3.85 ± 0.57*	2.01 ± 0.25*	10
8	1.45 ± 0.52	0.15 ± 0.06	4
14–21	0.70 ± 0.22	0.37 ± 0.22	9
40	0.79 ± 0.29	0.15 ± 0.09	4

* Different from values for the 3rd, 8th, 17th and 40th days at P < 0.01.

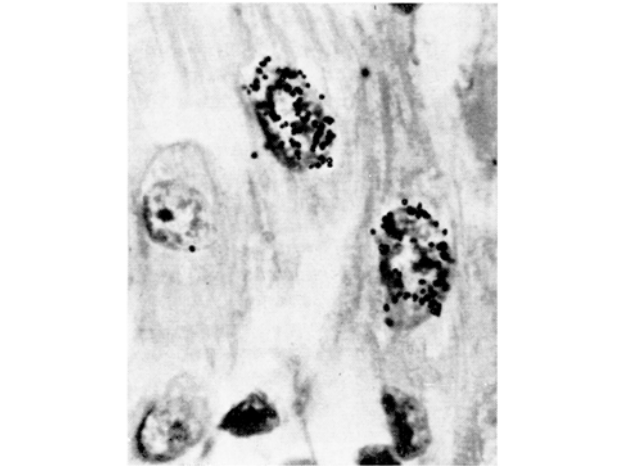


Fig. 1. 2 labelled nuclei in adjacent muscle cells of the left auricle. 5 days after rat left ventricle infarction, 2 h after ³H-thymidine injection. × 1150.

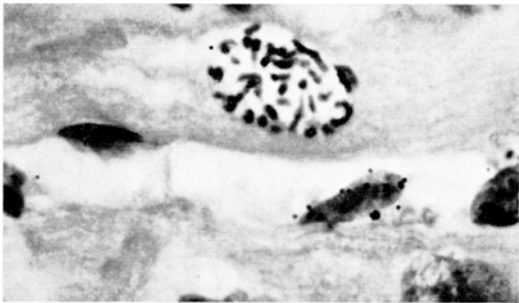


Fig. 2. Unlabelled prophase in left auricle striated muscle fibre. 5 days after rat left ventricle infarction, 8 h after ³H-thymidine injection. × 1150.

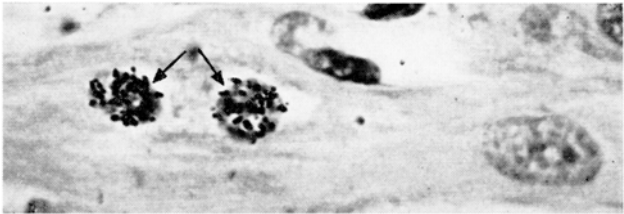


Fig. 3. 2 early postmitotic labelled (arrows) nuclei in left auricle muscle fibre. 5 days after rat left ventricle infarction, 15 h after ³H-thymidine injection. × 1150.

stages – up to 2:1 and even 3:2 (Table) instead of 10:1 reported for growing myocardium^{6,7}.

Contrarily to the above data, only occasional labelled nuclei or mitoses were observed in the muscle fibres surrounding the left ventricle infarcted areas. As a rule LI remained at the zero level or exceeded not more than 0.1–0.3% (MI being even smaller) irrespective of the lapse of time after operation. Only in 2 animals (at the stage of 3 and 17 days) LI and MI for ventricular fibres attained 0.6 and 0.2%, respectively. Discrepancy concerning the number of DNA synthesizing ventricular heart muscle cells observed here and previously reported³ may be due to the difficulties in distinguishing between nuclei of muscle and stromal cells^{1,2}. It seems that there is considerable difference in the proliferative behaviour of atrial and ventricular muscle cells, the synthesis of DNA and

mitoses being much more strongly inhibited in the latter as compared with the former.

Выводы. Инфаркт миокарда левого желудочка приводит к выраженной активации/максимум – 5 – е сутки/синтеза ДНК и митозов в мышечных клетках левого предсердия. Напротив, в окаймляющих зоны некроза мышечных волоконх желудочка эти процессы наблюдаются значительно реже.

P. P. RUMYANTSEV and V. O. MIRAKJAN

Laboratory of Cell Morphology, Institute of Cytology of the Academy of Sciences of the USSR, Leningrad and Laboratory of Cytology, Institute of Cardiology and Cardiac Surgery, Erevan (USSR), 30 July 1968.

Über die Vermehrung der Polkörperchen während der Segmentation von Ratteneiern bei Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung

In der Literatur^{1–3} wird angegeben, dass in befruchteten Eizellen der am häufigsten untersuchten Säugetierarten (Maus, Ratte, Hamster, Meerschweinchen) und des Menschen normalerweise 1–2 Polkörperchen vorhanden sind; die Anzahl von 3 hingegen ist als sehr seltene Ausnahme zu werten. Nur GOERTTLER und WITSCHI⁴ führen eine weitere Teilung des ersten Polkörperchens als Regel an, so dass nach der Befruchtung insgesamt 3 Polocyten vorhanden sein sollen. Neuere elektronenmikroskopische Arbeiten befassen sich vorwiegend mit dem Abschnürungsvorgang der Polkörperchen und dem Auftreten von Nukleolen in ihren Kernen. Vor allem geben sie interessante Hinweise für die Unterscheidung zwischen dem ersten und dem zweiten^{3,5}.

Das erste Polkörperchen ist oft nach erfolgtem Follikelsprung nicht mehr nachzuweisen^{6,7}. Über ihre Auflösung im Verlaufe der Segmentation liegen nur für den Goldhamster Angaben vor^{7,8}. LUDWIG⁷ erwähnt das zweite Polkörperchen bis zum 2-Zellstadium, während SAMUEL und HAMILTON⁸ 2 intakte Polkörperchen bis zum 4-Zellstadium verfolgen konnten. Beim Rhesusaffen findet sich die Zweizahl noch im 8-Zellstadium⁹. Die Möglichkeit einer spontanen oder experimentellen Unterdrückung der Polkörperchenbildung (z.B. durch Hitze oder Colchizin²) ist bekannt, doch ist unseres Wissens kein Fall mit abnorm hohen Polkörperchenzahlen bei Säugetieren in der Literatur beschrieben worden. Im folgenden teilen wir die von uns erhobenen Befunde über die Anzahl der Polkörperchen während der Segmentation von Ratteneiern bei Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung mit.

Material und Technik. Für unsere Untersuchungen standen uns insgesamt 140 geschlechtsreife weibliche Ratten (Stamm Wistar)¹⁰ zur Verfügung. Diese waren auf folgende 5 Gruppen aufgeteilt:

(1) Kontrolltiere I: Sie erhielten normales Standardfutter (Z 101 + Z 102 der Firma F. Hoffmann-La Roche) und Salat.

(2) Vitamin-A-hypervitaminotische Tiere: Sie erhielten normales Standardfutter und Salat wie die Kontrolltiere I. Sobald ein Tier im Schollenstadium war, wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 250 000 IE Vitamin-A-Acetat in 0,5 ml Arachisöl per os verabreicht. Am 2. oder 3. Tag der Dosierung wurde über Nacht gepaart.

(3) Vitamin-A-Mangeltiere: Sie erhielten eine Vitamin-A-freie Diät, wie sie MILIČIĆ¹¹ beschrieben hat. Bei Anzeichen von deutlichen Mangelercheinungen paarte man die Tiere.

(4) Kontrolltiere II: Sie erhielten die gleiche Diät wie die Vitamin-A-Mangeltiere, der jedoch pro kg 30 000 IE Vitamin-A beigemischt worden waren.

(5) Kontrolltiere III: Sie erhielten die gleiche Diät wie die Vitamin-A-Mangeltiere, der jedoch pro kg 60 000 IE Vitamin A beigemischt worden waren.

Die Tiere aller Kontrollgruppen wurden jeweils im Östrus gepaart.

Wenn nach der Paarung in den Vaginalausstrichen Spermien nachzuweisen waren, wurden die Tiere zwischen 10 und 90 h nach der errechneten Ovulation in Äthernarkose getötet (vgl. Tabelle), sofort danach die Tuben freipräpariert und zur Gewinnung der Eier mit Tyrodelösung durchgespült. Sofern der Zona pellucida noch Follikel epithelien anhafteten, wurden diese mit Pronase abgelöst. An den gewonnenen Eiern wurde die Reaktion auf DPNH-Diaphorase durchgeführt; anschliessend wur-

¹ W. RUBASCHKIN, Anatomische Hefte 29, 509 (1905). – R. A. GRESSON, Q. J. microsc. Sci. 83, 35 (1942). – C. R. AUSTIN, J. R. microsc. Soc. 71, 295 (1951).

² C. R. AUSTIN, *The Mammalian Egg* (Blackwell, Oxford 1961).

³ L. ZAMBONI, D. MISHELL, J. BELL und M. BACA, J. Cell Biol. 30, 579 (1966).

⁴ K. GOERTTLER, *Entwicklungsgeschichte des Menschen* (Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950). – E. WITSCHI, *Development of Vertebrates* (Saunders, Philadelphia-London 1956).

⁵ D. L. ODOR und D. F. RENNING, Anat. Rec. 137, 13 (1960).

⁶ J. SOBOTTA, Anatomische Hefte 35, 493 (1908); Z. Anat. Entw. Gesch. 72, 94 (1924). – R. J. BLANDAU, Anat. Rec. 92, 449 (1945).

⁷ D. L. ODOR und R. J. BLANDAU, Anat. Rec. 110, 329 (1951).

⁸ K. S. LUDWIG, Archs Biol., Liège 65, 135 (1954).

⁹ D. M. SAMUEL und W. J. HAMILTON, J. Anat. 76, 204 (1942).

¹⁰ W. H. LEWIS und C. G. HARTMAN, Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 443, Contr. Embryol. 24, 187 (1933).

¹¹ Der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, möchten wir für die Überlassung der Tiere sowie deren Pflege und Wartung unseren besten Dank aussprechen.

¹² M. MILIČIĆ, Acta anat. 50, 312 (1962).