

Aus dem Pathologischen Institut der Dartmouth Medical School,  
Hanover, New Hampshire, USA

## Über Proteineinschlüsse in basalen Trophoblastzellen der reifen menschlichen Placenta \*

Von

GISELA DALLENBACH-HELLWEG und GERDA NETTE

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. März 1963)

Während man früher allgemein annahm, daß den Trophoblastzellen der Basalplatte in der menschlichen Placenta in der zweiten Graviditätshälfte keine Bedeutung mehr zukäme, wies WISLOCKI 1951 erstmals auf eine mögliche hohe Aktivität dieser Zellen gerade am Schwangerschaftsende hin. Er sah die starke Basophilie der basalen Trophoblastzellen als Zeichen für einen Reichtum an Ribonucleinsäuren (RNS) und somit Vorbedingung zur Proteinsynthese an und vermutete die Bildung von Choriongonadotropin in diesen Zellen. ORTMANN fand 1955 große Mengen schollig-granulärer RNS in den basalen Trophoblastzellen und schloß ebenfalls daraus auf eine mögliche Hormonsynthese. BARGMANN und KNOOP (1959) und WEBER (1961) wiesen erneut darauf hin, daß die Trophoblastzellen der Basalplatte wegen ihrer besonderen Struktur in erster Linie für eine Hormonproduktion, wahrscheinlich Gonadotropin, in Frage kämen. Auch THOMSEN und WILLEMSSEN (1959) vermuteten, daß die in diesen Zellen am Schwangerschaftsende nachgewiesenen, auch nach Diastaseverdauung PAS-positiven Substanzen für eine Gonadotropinbildung sprechen könnten. Diese Annahmen wurden kürzlich von MIDGLEY und PIERCE (1962) widerlegt, die das Choriongonadotropin mit der Fluoreszenzmethode nach COONS ausschließlich in das Zottensyncytium lokalisierten, während sie die Basalplatte und die reife Placenta überhaupt frei von Gonadotropin fanden.

Da jedoch gerade am Schwangerschaftsende ein Ansteigen in der Sekretion verschiedener biochemisch in der Placenta bzw. im Placentarblut gefundener Hormone zu beobachten ist, liegt die Annahme nahe, daß in den zur gleichen Zeit nach histologischen Kriterien hochaktiven basalen Trophoblastzellen vielleicht doch das morphologische Substrat einer gesteigerten hormonalen Funktion zu suchen wäre.

### Material und Methode

Wir untersuchten 101 menschliche Placenten aus allen Schwangerschaftsmonaten, vornehmlich jedoch reife, und zwar einerseits durch Spontangeburt, andererseits durch Kaiserschnitt gewonnene Placenten (Tabelle 2). Der in den USA üblicherweise *vor* Einsetzen der Geburtswehen durchgeführte Kaiserschnitt schien uns die Gewähr für eine möglichst weitgehende Erhaltung der Morphologie der reifen Placenta zu bieten, da ja eventuell für den Geburtsakt benötigte Hormone oder andere Wirkstoffe noch nicht ausgeschüttet sein konnten. Zum Vergleich enthält unser Material auch Placenten von einigen *nach* Einsetzen der Wehen und bei primärer Wehenschwäche durchgeführten Kaiserschnitten.

---

\* Diese Arbeit wurde mit Mitteln des United States Public Health Service, Grant GM-09472-02 durchgeführt.

Paraffin- und Gefrierschnitte von größtenteils noch lebenswarm fixiertem Material wurden mit zahlreichen *histologischen* und *histochemischen* Methoden untersucht. Unsere Standardfixierung war 10%iges Formalin; zusätzlich wurden eine Reihe von Gewebstückchen in Bouin, Carnoy, San Felice und basischem Bleiacetat fixiert, je nach den Erfordernissen der histochemischen Technik. Außerdem wurden Placentastückchen für Kryostatschnitte in einem Petroleum-Äther-Bad bei  $-70^{\circ}\text{C}$  gefroren. Der *isoelektrische Punkt* verschiedener Zellstrukturen wurde einerseits am Paraffinschnitt durch Methylenblaubindung und Orange G-Bindung bei abgestuftem  $\text{pH}$  (nach FISCHINGER), andererseits fluoreszenzmikroskopisch mit Acridinorange bestimmt. Dazu wurde die von SCHÜMMELFEDER und STOCK angegebene Methode etwas abgeändert (nach DALLENBACH): zur möglichst weitgehenden Schonung der Zelleiweiße fertigten wir unfixierte Kryostatschnitte an, die nachträglich 3 sec in Carnoy fixiert wurden, um eine kräftigere Anfärbung mit Acridinorange zu erreichen.

### Befunde

I. In allen durch vorzeitigen Kaiserschnitt gewonnenen Placenten unseres Materials finden sich im Cytoplasma einer mehr oder minder großen Anzahl der basophilen Trophoblastzellen in der Basalplatte scharf begrenzte, wachstartig

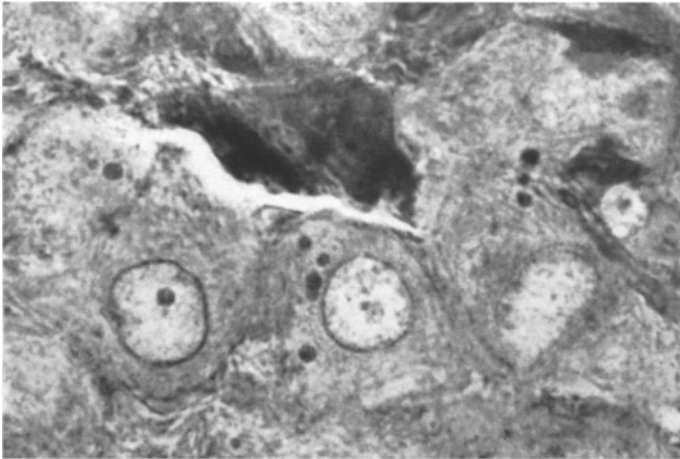


Abb. 1. Durch vorzeitigen Kaiserschnitt gewonnene, reife Placenta. Proteineinschlüsse in Cytoplasma der basalen Trophoblastzellen. Färbung: Azan. Vergr. 1320mal

homogene, stark lichtbrechende *Einschlüsse* (Abb. 1). Ihre Zahl in einer Zelle schwankt von 1 bis etwa 20, ihre Größe von feinsten, lichtoptisch eben wahrnehmbaren Körnchen bis zu über zellkerngroßen (Abb. 2). Die meisten dieser Einschlüsse sind kreisrund, einige aber auch schollig bzw. unregelmäßig begrenzt. Zuweilen liegen sie in einer Vacuole des Cytoplasmas (Abb. 3). Sie sind unregelmäßig über das Cytoplasma verteilt, liegen manchmal vorwiegend in unmittelbarer Umgebung des Kernes, an einer Seite des Kernes oder in Cytoplasmafortsätzen (Abb. 3) und bleiben sowohl im Gefrier- als auch im Paraffinschnitt bei allen angewandten Fixierungen erhalten. Sie heben sich im HE-Schnitt fast gar nicht vom gleichgetönten Cytoplasma ab. Mit Phloxin-Tartrazin (nach LENDRUM) färben sie sich jedoch leuchtend rot auch bei schon gelblich differenziertem Cytoplasma. Auch mit der Trichromfärbung nach MASSON, mit der Azanfärbung nach HEIDENHAIN, mit der Pentachromfärbung nach MOVAT und mit der Chromalaun-Hämatoxylin-Phloxin-Methode nach GOMORI stellen

sie sich kontrastreich rot dar. Mit Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin (nach MALLORY) lassen sie sich tief dunkelblauviolett und mit WEIGERT's Fibrin-

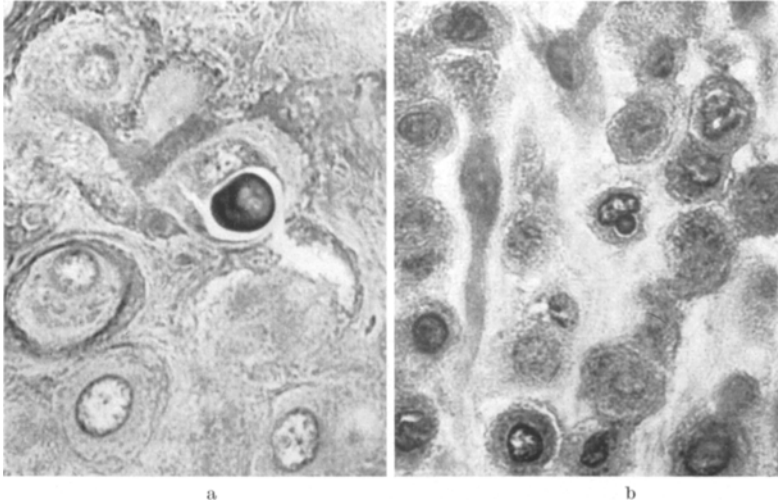


Abb. 2 a u. b. Je ein großer Proteineinschluß in Trophoblastzellen der Basalplatte einer reifen Placenta nach vorzeitigem Kaiserschnitt. Färbung: Phloxin-Tartrazin. Vergr. a 615mal, b 480mal

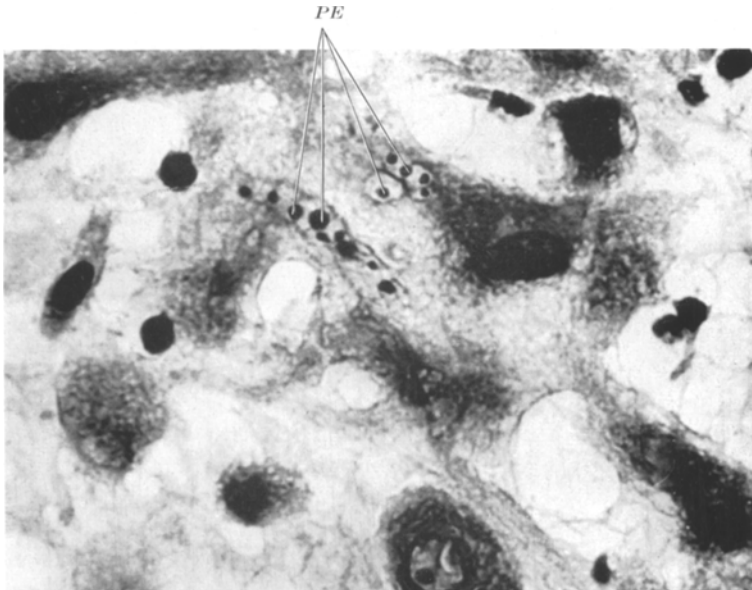


Abb. 3. Reife Placenta nach vorzeitigem Kaiserschnitt. In Vacuolen gelegene Proteineinschlüsse (PE) in Cytoplasmafortsätzen von basophilen Trophoblastzellen der Basalplatte. Färbung: Phloxin-Tartrazin. Vergr. 890mal

Methode tief violett anfärben. In der Gitterfaserdarstellung (nach GOMORI) werden sie von einem ganz zarten schwarzen Häutchen umgeben, während sie sich selbst hellbraun anfärben (Abb. 4). Die Einschlüsse zeigen keine Metachromasie mit Toluidinblau oder Methylenblau; sie reagieren negativ

mit Alcianblau und Astrablau (nach PLOCH), PAS, Galloeyanin, Methylgrün-Pyronin, Feulgen und Lichtgrün. Sie zeigen keine Doppelbrechung und keine Eigenfluoreszenz. Mit Luxolblau-Kernechtrot (nach PEARSE) stellen sie sich unscheinbar hellblau dar und sind nur an ihrer starken Lichtbrechung zu erkennen. Einzelne weisen eine ganz zarte, dunkelblaue „Hülle“ auf. Im Sudanschwarzpräparat sind die Einschlüsse teils negativ, teils färben sie sich schwachgrau an. Die Tetrazoniumreaktion ist deutlich positiv; nach Benzoylierung fällt sie dagegen negativ aus: Die Einschlüsse sind dann hellgelb und im wesentlichen an ihrer starken Lichtbrechung zu erkennen. Der Umlade-

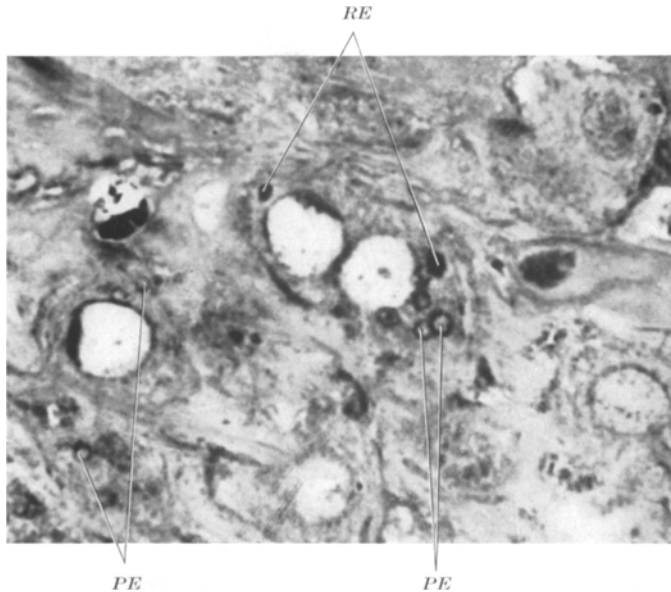


Abb. 4. Schwarz imprägnierte „Reticulumeinschlüsse“ (RE) und helle, von schwarzem Ring umgebene Proteineinschlüsse (PE) im Cytoplasma von basophilen Trophoblastzellen einer reifen Placenta nach vorzeitigem Kaiserschnitt. Gitterfaserdarstellung nach GOMORI. Vergr. 995mal

bereich der Einschlüsse liegt bei der Bestimmung am Paraffinschnitt mit Methylblau und Orange G zwischen  $pH$  4 und 5,2, der daraus errechnete isoelektrische Punkt ( $IEP_m$ ) bei 4,6. Am Kryostatschnitt lassen sich die Einschlüsse mit Acridinorange nur nach Ribonucleaseverdauung erkennen (Methode nach SCHÜMMELFEDER, EBSCHNER und KROGH), da sie sonst von den basophilen und daher stark rotorange fluorchromierenden Ribonucleinsäuren überlagert werden. Mit dieser Methode sind die Einschlüsse bei  $pH$  6 im Cytoplasma als rote Körner eben schwach erkennbar, während sie sich bei  $pH$  4,8 nicht mehr vom gleichgefärbten Cytoplasma abheben. SH-Gruppen lassen sich mit der Methode nach CHÈVREMONT und FRÉDÉRIC nicht in ihnen nachweisen, trotz positiver Reaktion des Fibrins im gleichen Schnitt. Auch die Aldehydfuchsin-Methode (nach HALMI) ist negativ, d. h. die Einschlüsse heben sich durch ihre kräftig gelbe Anfärbung vom heller gelben Cytoplasma ab. Dagegen reagieren die Einschlüsse mit der Methode nach BARNETT und SELIGMAN schwach positiv: sie sind rotviolett bei hellrosa getöntem Cytoplasma. Die Preußischblau-Reaktion auf Eisen ist negativ.

Tabelle 1. Zusammenstellung der histochemischen Reaktionen an den Proteineinschlüssen und Kernkugeln der basophilen Trophoblastzellen und an den Körnchen der endometrialen Körnchenzellen

Chemische Bausteine der Zellen		Histochemische Reaktion	Protein-einschlüsse	Kernkugeln	Granula der endometrialen Körnchenzellen
Fette und Lipide	Neutralfette, Lipoproteide	Sudanschwarz B . . . . .	— (+)	— (+)	—
	Phosphatide	Luxolblau . . . . .	—	—	—
Polysaccharide	Glykogen	PAS . . . . .	—	—	—
	neutrale Mucopolysaccharide	PAS nach Diastase . .	—	—	—
		PAS nach Diastase . .	—	—	—
	saure Mucopolysaccharide	Metachromasie . . . . .	—	—	—
		Basophilie . . . . .	—	—	—
		Alcianblau und Astrablau	—	—	—
Nucleinsäuren	DNS	Feulgen . . . . .	—	—	—
		Basophilie . . . . .	—	—	—
		Gallocyanin-Chromalaun	—	(+)	—
	RNS	Acridinorange bei pH 6 .	rot	rot	rot
		Acridinorange nach Ribonuclease . . . . .	(rot)	grün	(rot)
		Methylgrün-Pyronin . .	—	(+)	—
		Gallocyanin-Chromalaun	—	(+)	—
Proteine		Tetrazonium . . . . .	+	+	+
	Histidin	Tetrazonium nach Benzoylierung . . . . .	—	(+)	(+)
	Tryptophan, Arginin	Tetrazonium nach H-Säure . . . . .	+	+	+
		Phloxin-Tartrazin . . .	rot	rot	rot
	Fibrin	Weigert . . . . .	+	+	+
		PTAH . . . . .	+	+	+
	SH-Gruppen	Barnett und Seligman .	(+)	(+)	+
		Chèvremont und Frédéric	—	—	(+)
		Aldehyd-Fuchsin . . .	—	—	—
	Isoelektrischer Punkt (IEP <sub>m</sub> )	Methylblau und Orange G	pH 4,6	pH 4,6	pH 4,09
Eisen		Preußischblau . . . . .	—	—	—

Nach diesen Ergebnissen (s. Tabelle 1) muß es sich bei den hier beschriebenen Strukturen um *Proteineinschlüsse* (PE) handeln, die möglicherweise von einer dünnen Lipoidhülle umgeben werden.

Ein Teil der basophilen Trophoblastzellen enthält nicht metachromatische alcianblau-positive sowie durch Diastase nicht verdaubare *PAS-positive Körnchen*, die auch nach Größe, Lage und Verteilung von den PE zu unterscheiden sind: sie sind meist sehr klein und dann rund, während die größeren unregel-

mäßig gebuckelt erscheinen. Sie zeigen keine stärkere Lichtbrechung und liegen einzeln oder zu mehreren in kleineren oder größeren Vacuolen des Cytoplasmas. Man findet sie nicht nur im Cytoplasma, sondern zuweilen auch als größere, unregelmäßig begrenzte Einschlüsse im Zellkern.

Von den PE abzugrenzen sind weiterhin gelegentlich im Bereich größerer Fibrinablagerungen vorkommende *Fibrineinschlüsse* im Cytoplasma von Trophoblastzellen. Sie lassen sich von den PE schon durch ihre unscharfe Begrenzung und eher körnige Beschaffenheit leicht unterscheiden. Außerdem färben

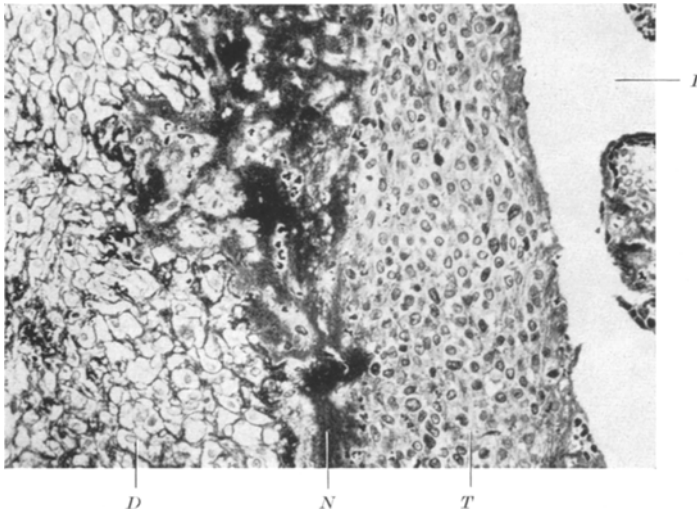


Abb. 5. Basalplatte einer 5 Monate alten Placenta. Deciduazellen (D) und Trophoblastzellen (T) durch Nitabuchschen Fibrinoidstreifen (N) voneinander getrennt. Intervillöser Raum (I). Die jede einzelne Deciduazelle umspinnenden Gitterfasern fehlen den Trophoblastzellen. Gitterfaserdarstellung nach GOMORI. Vergr. 108mal, wurde auf  $\frac{9}{10}$  verkleinert

sie sich im Phloxin-Tartrazin-Präparat weinrot im Gegensatz zu den leuchtend roten PE. Ihr isoelektrischer Punkt liegt am Paraffinschnitt bei  $p_H$  5,2, am Kryostatschnitt bei  $p_H$  6,2 und somit höher als der der PE. Auch lassen sich in den Fibrineinschlüssen mit der Methode von CHÉVREMENT und FRÉDÉRIC SH-Gruppen nachweisen, während sich die PE mit der gleichen Reaktion negativ verhalten.

Nicht mit den PE zu verwechseln sind mit der Gitterfaserdarstellung zuweilen in der gleichen, am zahlreichsten jedoch in schon zugrundegehenden Zellen nachweisbare feine „Reticulumeinschlüsse“ (Abb. 4), die sich färberisch ganz anders verhalten als die PE (DALLENBACH-HELLWEG und NETTE).

*II. Vorkommen der Proteineinschlüsse.* Die PE enthaltenden Zellen sind ziemlich gleichmäßig über die Basalplatte verteilt, jedoch dort am häufigsten, wo die Trophoblastzellen am besten erhalten sind und sich wenig oder gar kein Fibrin bzw. Fibrinoid in ihrer Umgebung findet. An einigen Stellen der Placenta ist der Trophoblastanteil der Basalplatte ausgesprochen „dünn“, d. h. Zotten und Decidua werden nur durch eine schmale Lage aus Fibrin bzw. Fibrinoid mit einzelnen darin eingeschlossenen Trophoblastzellen getrennt.

Diese Trophoblastzellen enthalten so gut wie keine PE, so daß man zur Beurteilung des Gehalts einer Basalplatte an PE in einer Placenta immer mehrere

Tabelle 2. *Mengenmäßiges Vorkommen der Proteineinschlüsse in den basophilen Trophoblastzellen (— bis +++) in Abhängigkeit von Alter der Schwangerschaft und Dauer der Geburtswehen*

Zahl der Fälle	Alter der Gravidität	Art der Graviditätsbeendigung	Wehendauer	Protein-einschlüsse
9	Mens I	Abrasio	—	—
10	Mens II	Abort	?	—
15	Mens III	Abort	?	—
7	Mens IV	Abort	?	—
5	Mens V	Fruchttod	?	—
1	Mens VI	Fruchttod	?	—
2	Mens VIII—IX (32 u. 33 Wochen)	Kaiserschnitt	?	—
1	Mens VIII—IX (34 Wochen)	Zange	?	(+)
1	Mens VIII—IX (35 Wochen)	Kaiserschnitt	vorzeitig	+
1	Mens IX (36 Wochen)	Kaiserschnitt	vorzeitig	+
1	Mens IX	Kaiserschnitt	vorzeitig	++
1	Mens IX—X (37 Wochen)	Kaiserschnitt	vorzeitig	+++
1	Mens IX—X (39 Wochen)	Kaiserschnitt	vorzeitig	++++
4	Ende	Kaiserschnitt	vorzeitig	++++
2	Ende	Kaiserschnitt	vorzeitig	+++
8	Ende	Kaiserschnitt	vorzeitig	++
2	Ende	Kaiserschnitt	4 Std	(+)
1	Mens IX—X (37 Wochen)	Kaiserschnitt	13½ Std	+
1	Ende	Kaiserschnitt	28 Std	(+)
1	Ende	Kaiserschnitt	5 Tage	(+)
4	Ende	Spontangeburt	?	—
3	Ende	Spontangeburt	?	(+)
1	Ende	Spontangeburt	38 min	+
1	Ende	Spontangeburt	1½ Std	(+)
1	Ende	Spontangeburt	2¾ Std	+
1	Ende	Spontangeburt	4½ Std	(+)
1	Ende	Spontangeburt	5 Std	+
1	Ende	Spontangeburt	5 Std	—
1	Ende	Spontangeburt	7 Std	+
2	Ende	Spontangeburt	7 Std	(+)
1	Ende	Spontangeburt	7½ Std	—
1	Ende	Spontangeburt	8½ Std	—
1	Ende	Spontangeburt	11½ Std	+
1	Ende	Spontangeburt	14½ Std	—
1	Ende	Zange	15 Std	—
1	Ende	Zange	24 Std	(+)
1	Ende	Spontangeburt	30¾ Std	++
1	Ende	Spontangeburt	34¼ Std	—
3	Ende	Kaiserschnitt	primäre Wehenschwäche	(+)

Abschnitte aus der Basalplatte untersuchen muß. Dabei lassen sich Trophoblastzellen und Deciduazellen, die sich im HE-Schnitt sehr ähnlich sehen können, in der Gitterfaserdarstellung sehr klar voneinander abgrenzen: den Trophoblastzellen fehlen die jede einzelne Deciduazelle umwickelnden Gitterfasern (Abb. 5). Außerdem sind mütterliche und kindliche Zellschicht durch den Nitabuchschen Fibrinoidstreifen voneinander getrennt.

Die PE kommen in der reifen Placenta außer in den Trophoblastzellen der Basalplatte auch noch in den Resten des Trophoblasten der Inseln und der Placentarsepten vor, jedoch spärlicher als in der Basalplatte. Dagegen sind sie in den vereinzelt am Schwangerschaftsende noch erhaltenen Langhanszellen und auch im syncytialen Trophoblasten des Zottenüberzugs nicht nachweisbar. Die Trophoblastzellen der Chorionplatte und des Chorion laeve enthalten nur in seltenen Fällen vereinzelte PE.

Der junge Syncytio- und Cytotrophoblast des Zottenüberzugs, der Zellsäulen und der chorialen Invasion der ersten Schwangerschaftsmonate läßt keine der-

artigen Einschlüsse erkennen. Vielmehr sind sie erst in der späten Gravidität nachweisbar, wenn die Trophoblastzellen der Basalplatte voll entwickelt sind. Die ersten PE unseres Materials finden sich im basalen Trophoblasten in einer 34 Wochen alten, durch vorzeitigen Kaiserschnitt gewonnenen Placenta. Die PE erreichen ihre größte Zahl unmittelbar vor der Geburt, wie sich aus den Befunden an unseren durch vorzeitigen Kaiserschnitt gewonnenen Placenten schließen läßt (Tabelle 2). In den Placenten des 8. und 9. Monats ist dagegen die Zahl der Kernkugeln (s. unten) besonders groß. Demgegenüber enthalten die basalen Trophoblastzellen der durch Spontangeburt gewonnenen Placenten gar keine oder nur spärliche PE in einigen Zellen, dafür aber zum Teil sehr reichliche Vacuolen am peripheren Cytoplasmasaum. Eine direkte Abhängigkeit der Zahl der PE von der Dauer der Geburtswehen bis zur Ausstoßung der Placenta läßt sich jedoch an unseren Fällen nicht nachweisen. Fünfmal in unserem Material war der Kaiserschnitt nicht vorzeitig, sondern erst 4—120 Std nach Einsetzen der Wehen durchgeführt. Diese Placenten enthalten, ebenso wie die spontan geborenen, spärliche oder keine PE. Die Placenten von drei wegen primärer Wehenschwäche durchgeführten Kaiserschnitten enthalten nur wenige PE in ganz vereinzelt Trophoblastzellen. — Gegenüber den PE sind die diastaseresistenten PAS-positiven Körnchen auch noch in Placenten nach Spontangeburt in mäßiger Zahl nachweisbar.

*III. Das Cytoplasma* der meisten Trophoblastzellen ist stark basophil und auffallend reich an schollig-granulären Ansammlungen von Ribonucleinsäuren (RNS), die sich im Methylgrün-Pyroninschnitt leuchtend rot und mit Gallocyanin-Chromalaun blau darstellen. Nach Fluorochromierung mit Acridinorange am Kryostatschnitt stellt sich das Cytoplasma infolge seines hohen Gehalts an RNS im Bereich von  $p_H$  3,4—7,0 rotorange dar; nach Ribonuclease-Verdauung ist es mit Acridinorange in diesem  $p_H$ -Bereich grau-grün. Die Tetrazonium-Reaktion fällt an den RNS auch nach Benzoylierung noch positiv aus. Diese RNS-Granula liegen vorwiegend in der Zellperipherie oder aber in runden Häufchen an einer Seite des Kerns (Abb. 6) und haben dann fast die gleiche Lokalisation wie die PE. Das Cytoplasma enthält außerdem mehr oder weniger zahlreiche, meist der Zellmembran unmittelbar anliegende Vacuolen, von denen ein Teil kleine PE beherbergt. Bemerkenswert sind ferner esterase-positive Körner im Cytoplasma vieler Trophoblastzellen (Abb. 7).

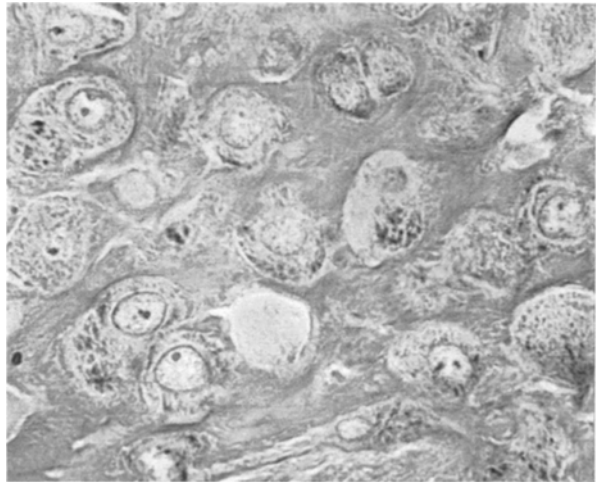


Abb. 6. Reife Placenta nach vorzeitigem Kaiserschnitt. Schollig-granuläre Ansammlungen von RNS im Cytoplasma der basophilen Trophoblastzellen der Basalplatte. Färbung: Methylgrün-Pyronin. Vergr. 553mal



IV. Der Zellkern der basophilen Trophoblastzellen ist groß, bläschenförmig. Seine Feinstruktur läßt sich am klarsten nach Fixierung in San Felice erkennen. Er hat ein zartes Chromatinnetzwerk mit ein oder zwei prominenten Nucleoli. Diese sind pyronin-positiv und fluorochromieren nach Anfärbung mit Acridinorange von  $p_H$  3,4—7,0 im Kryostatschnitt leuchtend orangerot. Zuweilen enthalten die Kerne außerdem runde Einschlüsse, die den größeren Teil des Kernraums ausfüllen können (Abb. 8). Sie reagieren im Gegensatz zu den prominenten Nucleoli acidophil und verhalten sich auch mit den meisten anderen Färbungen ähnlich wie die PE (Tabelle 1), mit denen sie auch die wachsartige

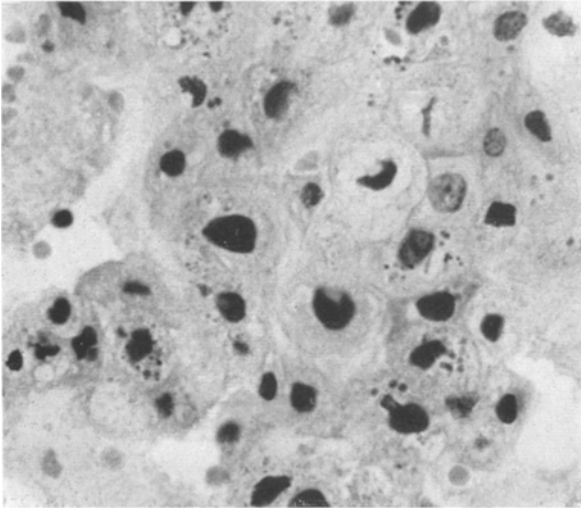


Abb. 7. Reife Placenta nach Spontangeburt. Esterase-positive Körner im Cytoplasma der basophilen Trophoblastzellen der Basalplatte. Esterase-Reaktion mit  $\alpha$ -Naphthylacetat. Vergr. 615mal

Beschaffenheit und die starke Lichtbrechung gemeinsam haben. Die größten reagieren auch, im Gegensatz zu den kleineren, zuweilen mit Sudanschwarz schwach positiv. Besonders auffallend ist ihre blauviolette Anfärbung mit Weigert-Fibrin im Gegensatz zur hellrosafarbenen Tönung der prominenten Nucleolen und übrigen Kernsubstanz. Zwischen den noch deutlich basophilen prominenten Nucleoli und den acidophilen Kernkugeln lassen sich in Größe und färberischem Verhalten Übergänge auf-

finden, so daß eine Grenze manchmal schwer zu ziehen ist. Die prominenten Nucleoli und die Kernkugeln stoßen zuweilen ohne noch erkennbare Kernmembran unmittelbar an das Cytoplasma, so als ob sie in dieses ausgeschleust würden. Außerdem erkennt man in einigen Kernen Vacuolen, die zum Teil kleinere Kernkugeln beherbergen. — Von den oben beschriebenen, in einzelnen Trophoblastzellkernen vorkommenden alcian-blau-positiven Einschlüssen sind die Kernkugeln durch ihr färberisches Verhalten, ihre kreisrunde Form und starke Lichtbrechung sehr leicht zu unterscheiden. Einzelne Trophoblastzellen enthalten auch zwei, ganz selten mehrere Kerne.

V. „Klarzellige“ Trophoblastzellen. Zwischen den die Hauptmasse bildenden, stark basophilen Trophoblastzellen in der Basalplatte finden sich hier und dort Gruppen von Trophoblastzellen, deren Cytoplasma bei den gewöhnlichen histologischen Färbungen wie leer erscheint (Abb. 9). In ihnen lassen sich homogene, kolloidartige, PAS-positive Substanzen in Tropfenform nachweisen, die nach Diastaseverdauung verschwinden, alcianblau-negativ und nicht metachromatisch sind. Die Zellen sind etwas kleiner und abgerundeter als die übrigen Trophoblasten; auch ihre zentral gelegenen Kerne und Nucleolen sind nicht ganz so

groß. Diese Zellen enthalten keine PE, keine Esterase, keine diastase-resistenten PAS-positiven Körner und keine Fibrin- oder Reticulumeinschlüsse. Sie liegen fast immer dicht zusammen ohne breitere Zwischensubstanz. Außer den PAS-positiven lassen sich keine weiteren Substanzen in ihrem Cytoplasma oder Kern nachweisen. Sie enthalten unseren Untersuchungen nach *Glykogen*, und zwar in gleicher Menge in den vor und in den nach Einsetzen der Wehen gewonnenen Placenten. Sie sind auch in der frühen Gravidität, d. h. vom Entstehen der Basalplatte an, schon in dieser nachweisbar und erinnern in ihrer Struktur am ehesten an die jungen, ebenfalls glykogenhaltigen Cytotrophoblastzellen der Zellsäulen.

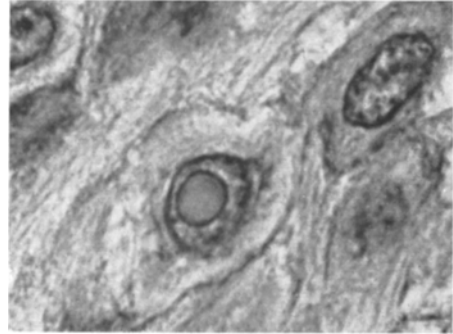


Abb. 8. Große Kernkugel in basaler Trophoblastzelle einer 36 Wochen alten, durch vorzeitigen Kaiserschnitt gewonnenen Placenta. Färbung: Phloxin-Tartrazin. Vergr. 1200mal

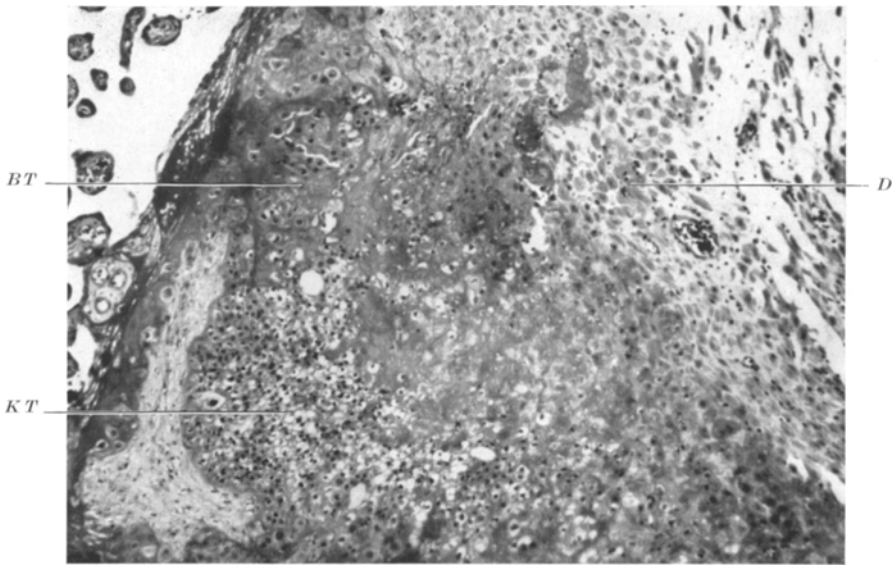


Abb. 9. Basalplatte einer reifen Placenta nach Spontangeburt. Basophile Trophoblastzellen (BT), „klarzellige“ Trophoblastzellen (KT), Deciduazellen (D). Färbung: Phloxin-Tartrazin. Verg. 68mal

### Literaturübersicht

Bei sorgfältiger Durchsicht der Literatur über die menschliche Placenta findet sich nur bei LATT und BEBER (1957) eine Beschreibung von stark lichtbrechenden, mit dem Bennettschen Reagens auf SH-Gruppen rötlichen Granula in Cytoplasma und Kern von Cytotrophoblastzellen der Placenta, jedoch nicht nur in der Basalplatte, sondern auch in der Langhansschicht. Diese Granula waren in der reifen Placenta am häufigsten und wurden, der Hypothese von WISLOCKI folgend, mit der Gonadotropinproduktion in Zusammenhang gebracht. Die von ORTMANN (1955) beschriebenen „Kolloideinschlüsse“ in Cytotrophoblastzellen, die eine intensive Polysaccharidreaktion geben, können nicht mit den hier beschriebenen PE identisch sein, sondern eher mit den auch in unserem Material gesehenen diastase-resistenten, PAS-positiven Einschlüssen in kleineren Gruppen von basophilen Trophoblast-

zellen. Am ehesten vergleichbar mit den PE erscheinen noch die von BERTOLINI im Chorion-epithel des Schweins am Schwangerschaftsende nachgewiesenen, mit der Chromhämatoxylin-Phloxin-Methode von GOMORI rot anfärbbaren Einschlüsse. Des sehr unterschiedlichen Baues der Schweineplacenta wegen ist jedoch ein Vergleich mit den Befunden am Menschen kaum möglich.

Weiterhin wurden bisher folgende Substanzen in den Trophoblastzellen der Basalplatte beschrieben:

Ribonucleinsäuren:	+	(ORTMANN 1949; WISLOCKI 1951; McKAY, HERTIG et al. 1958; WEBER 1961; BLEYL 1962)
Mitochondrien:	+	(WISLOCKI 1951)
Kernkugeln:	+	(ORTMANN 1955)
Proteingebundene SH-Gruppen:	(+)	[WISLOCKI 1953 (Methode von BARNETT und SELIGMAN 1952)]
Alkalische Phosphatase:	Ø	(WISLOCKI 1951; THOMSEN 1955; McKAY, HERTIG et al. 1958)
Saure Phosphatase:	Ø	(WISLOCKI 1951)
	teils Ø, teils +	(THOMSEN 1955)
	(+)	(McKAY, HERTIG et al. 1958)
Esterase:	+	(WISLOCKI 1953; McKAY, HERTIG et al. 1958)
5-Nucleotidase:	+	(THOMSEN und PANKA 1956; McKAY, HERTIG et al. 1958)
Bernsteinsäuredehydrogenase:	+	(WISLOCKI 1953; ORTMANN 1955)
Glykogen:	+	(DRIESSEN 1907; FLESCHE 1911; WISLOCKI 1951; McKAY, HERTIG et al. 1958; THOMSEN 1958)
Diastaseresistente Polysaccharide:	+	(ORTMANN 1949; WISLOCKI 1951)
Mucopolysaccharide:	+	(THOMSEN und WILLEMSSEN 1959; LEWIN 1960)
Fette und Lipide:	Ø	(WISLOCKI 1951)
	(+)	(THOMSEN und LORENZEN 1956)

### Besprechung

Welche Bedeutung könnte den hier beschriebenen PE zukommen? Sind sie Abbauprodukte oder Ausdruck einer spezifischen Zellfunktion? Werden sie in der Zelle gebildet oder von außen aufgenommen? Die die PE enthaltenden Trophoblastzellen sind ihrer morphologischen Struktur nach keine degenerierenden, sondern hochaktive Zellen; sie enthalten einen großen, bläschenförmigen Kern mit prominentem Nucleolus und ein Cytoplasma, das durch seinen Reichtum an RNS die Voraussetzungen für eine Eiweißsynthese bildet. Es enthält außerdem zahlreiche Fermente, vor allem Nucleotidase, Dehydrogenase und Esterase. Da die hier beschriebenen Einschlüsse aller Wahrscheinlichkeit nach ziemlich reine, *höhermolekulare Proteine* darstellen, liegt die Annahme sehr nahe, daß sie intracellulär im Bereich des Ergastoplasma mit Hilfe von RNS-Granula gebildet werden. Der schwach positive Ausfall der Methode von BARNETT und SELIGMAN läßt darauf schließen, daß in diesen Proteinen auch Aminosäuren mit SH-Gruppen vorkommen, wenn auch wahrscheinlich nur in kleiner Zahl, denn die weniger empfindliche Methode von CHÈVREMONT und FRÉDÉRIC war negativ. Mit Aldehydfuchsin war von vornherein kein positives Ergebnis zu erwarten, da diese Methode nur die SH-Gruppen der basophilen Strukturen erfaßt (SCOTT und CLAYTON).

Die stark lichtbrechenden *Kerneinschlüsse*, die auch schon von ORTMANN (1955) gesehen wurden, könnten umgewandelte Nucleoli sein, die als Vorstufen der RNS-Ausschleusung in das Cytoplasma zum Zwecke der Proteinsynthese aufzufassen wären. Ein ähnlicher Vorgang wurde bereits von ALTMANN (1949,

1955) an Zellkernen in Leber und Pankreas bei hoher Beanspruchung des Zellstoffwechsels beschrieben und von GROPP und HUPE (1958) an Mäusefibroblasten auch lebend beobachtet. Bei dem Versuch, die Kernkugeln zu deuten, muß man jedoch auch noch an die Möglichkeit einer Proteinsynthese bereits im Kern denken. Für diese Hypothese spräche unter anderem das ähnliche färberische Verhalten der Kernkugeln und der PE, die gelegentliche Lage auch der Kernkugeln innerhalb von Vacuolen, und die Untersuchungen von SIEBERT und STARK (1954), die z. B. das Gonadotropin auch in der Kernfraktion der Placenta fanden. Auch BARGMANN (1955) hält eine Proteinsynthese im Kern von endokrinen Zellen durchaus für möglich.

Die vorwiegend peripher im Cytoplasma liegenden Vacuolen in den Trophoblastzellen möchten auch wir, wie bereits FUJIMURA, WISLOCKI und ORTMANN, nicht als Zeichen einer Zelldegeneration, sondern eher einer hohen Zellaktivität auffassen. Da ein Teil der PE in Vacuolen liegen, wäre es denkbar, daß die PE auf dem Wege einer Verflüssigung aus der Zelle ausgeschleust würden und sozusagen die Vorstufen eines Sekrets darstellen. Einen ähnlichen Mechanismus nahm bereits FUJIMURA für die Sekretion von Placentazellen an. Außerhalb der Trophoblastzellen haben wir in unseren Präparaten keine intakten PE mehr nachweisen können. Auffallend war in diesem Zusammenhang, daß gerade die Trophoblastzellen in den nach Spontangeburt erhaltenen Placenten mit nur noch spärlichen PE reichliche Vacuolen aufwiesen. Die Annahme, daß die PE enthaltenden basalen Trophoblastzellen *sezernierende Zellen* sind, liegt also ihrer Gesamtstruktur und der Art der Einschlüsse nach sehr nahe (s. auch BARGMANN 1955). Die Tatsache der bloß zeitweiligen morphologischen Nachweisbarkeit der PE spräche dann gegen eine kontinuierliche Sekretabgabe und für eine Aufspeicherung des Sekrets in der Zelle bis zum Augenblick der Ausschüttung, der offenbar zur Zeit der Geburt gekommen ist. In diesem Zusammenhang wird man in erster Linie an ein innersekretorisches Sekret denken.

Von den biochemisch in der Placenta nachgewiesenen *Hormonen* sind bisher nur die Steroide Oestrogen und Progesteron sowie das Eiweißhormon Gonadotropin morphologisch in das Zottensyncytium lokalisiert worden. Der Nachweis erfolgte bei Oestrogen und Progesteron einerseits histochemisch durch die Darstellung von Ketosteroiden (WISLOCKI und BENNETT 1943; DEMPSEY und WISLOCKI 1944; ASHBEL und HERTIG 1952), andererseits durch Oestrogennachweis im umgebenden Medium von in der Augenkammer des Kaninchens (STEWART 1951) und in vitro (DE CLERCK 1958) gezüchtetem Syncytium. Gonadotropin wurde erst kürzlich (MIDGLEY und PIERCE 1962) mit der Fluoreszenzmethode nach COONS im Syncytium nachgewiesen, nachdem vorher auch die Langhansschicht als Bildungsstätte diskutiert worden war (GEY et al. 1938). Biochemisch wurden noch eine Reihe weiterer Hormone im Placentarblut gefunden: Corticosteroide (DE COURCY et al. 1952; JOHNSON und HAINES 1952), Relaxin (ZARROW et al. 1955), ACTH (JAILER und KNOWLTON 1950), Prolactin (DICZFALUSY und TROEN 1961), Vasopressin (BYROM 1951) und ein Melanocyten stimulierendes Hormon (MSH) (VARON 1959). Der morphologische Nachweis eines weiteren Hormons im Placentagewebe ist bisher nicht gelungen. Gegen die Bildung von ACTH, Prolactin, Vasopressin und MSH in der Placenta selbst sprechen eine Reihe klinischer und biochemischer Befunde (DICZFALUSY und TROEN), während die Produktion von Corticosteroiden und Relaxin im Placentagewebe möglich wäre (RYAN 1962). Chemisch handelt es sich bei Relaxin (Molekulargewicht 10000—12000) um ein höher molekulares Protein mit einem isoelektrischen Punkt von 5,4—5,5 (HISAW).

Geht man also von der Annahme aus, daß die PE das morphologische Substrat eines in der Placenta gebildeten Hormons darstellen könnten, so käme der

chemischen Struktur nach am ehesten *Relaxin* in Betracht. Dabei würde die während der Gravidität ständig ansteigende und im Augenblick der Geburt scharf abfallende Konzentration des Relaxins (ZARROW et al.) im Placentarblut unseren morphologischen Befunden sehr wohl entsprechen. Es wäre jedoch ebenso möglich, daß die PE nur die Trägersubstanz des eigentlichen aktiven Sekretionsprodukts darstellen. Die in einigen Färbungen beobachtete, die PE umgebende feine Hülle, die möglicherweise aus Lipoiden besteht, könnte derjenigen entsprechen, die RHODIN und TERZAKIS kürzlich bei ihren elektronenmikroskopischen Untersuchungen über die Morphologie der Hormonbildung in Umgebung der Sekretionsgranula im Cytoplasma des Zottensyncytiotrophoblasten der Placenta sahen.

Auffallend ist die weitgehende histochemische Übereinstimmung und morphologische Ähnlichkeit der PE mit den Körnchen der endometrialen Körnchenzellen HAMPERLS (s. HELLWEG 1956), die sich unseren neueren Befunden nach nur durch einen etwas größeren Gehalt an SH-Gruppen und an Histidin (s. Tabelle 1: Tetrazonium nach Benzoylierung, CHÈVREMONT und FRÉDÉRIC, BARNETT und SELIGMAN) von den PE unterscheiden. Auch die Körnchenzellen könnten eventuell Relaxin enthalten, wurde doch dieses auch im Uterus selbst biochemisch nachgewiesen. Aus diesen Überlegungen heraus führen wir derzeit fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Lokalisierung des Relaxins und anderer Eiweißhormone in der Placenta und im Endometrium durch, über die in einer zweiten Mitteilung berichtet werden soll.

Die diastase-resistenten PAS-positiven Einschlüsse in Cytoplasma und Kern von einzelnen basophilen Trophoblastzellen sind höchstwahrscheinlich Glykoproteide und könnten sehr wohl, wie auch THOMSEN und WILLEMSSEN annahmen, Reste von *Gonadotropin* sein, das von SIEBERT und STARK zu einem Drittel auch in der Kernfraktion der Placenta nachgewiesen wurde. Daß MIDGLEY und PIERCE in der Basalplatte der reifen Placenta fluoreszenzmikroskopisch kein Gonadotropin mehr nachweisen konnten, spricht nicht unbedingt gegen diese Annahme, sondern könnte darauf beruhen, daß die am Schwangerschaftsende, zumal nach Spontangeburt, in der Placenta noch enthaltenen, klinisch ohnehin sehr niedrigen Gonadotropinmengen zu klein sind und sich somit dem Nachweis durch diese Methode entziehen<sup>1</sup>.

### Zusammenfassung

Im Cytoplasma der basalen Trophoblastzellen der reifen menschlichen Placenta wurden stark lichtbrechende, zum Teil in Vacuolen liegende Proteineinschlüsse (PE) nachgewiesen. Sie waren in Placenten, die durch Kaiserschnitt vor Einsetzen der Geburtswehen gewonnen wurden, sehr reichlich, in Placenten aus Spontangeburt dagegen nur sehr spärlich oder gar nicht vorhanden. Die diese Einschlüsse enthaltenden Trophoblastzellen waren sehr reich an RNS; ihre Kerne wiesen neben prominenten Nucleoli zuweilen ebenfalls runde Einschlüsse auf,

<sup>1</sup> Nach Drucklegung dieser Arbeit berichteten THIEDE und CHOATE (14. Ann. Meeting of the Histochemical Society, Washington, D. C., 7.—8. 4. 63) über den fluoreszenzmikroskopischen Nachweis von Gonadotropin im Zottensyncytium, Amnionepithel und in kleinen Mengen auch in den basalen Trophoblastzellen (persönliche Mitteilung) der reifen menschlichen Placenta.

die sich färberisch ähnlich verhielten wie die PE. Aus den histochemischen Befunden und dem zeitlichen Vorkommen der PE wird auf ihren möglichen Zusammenhang mit einer endokrinen Funktion der basalen Trophoblastzellen am Schwangerschaftsende geschlossen. Dabei wäre in erster Linie an eine Produktion von Relaxin zu denken.

### Protein Inclusions in Basal Trophoblastic Cells of the Human Placenta at Term

#### Summary

Strongly refractile cytoplasmic protein inclusions (PE), some of which were within vacuoles, were demonstrated in the basal trophoblastic cells of the mature human placenta. They were very numerous in placentas obtained by elective Caesarian section before the onset of labor, but in placentas from spontaneous deliveries they were rare or absent. The trophoblastic cells containing these inclusions were unusually rich in RNA. Besides the prominent nucleoli in their nuclei there were at times round inclusions which stained similarly to the protein inclusions. Therefore, from the histochemical results and the occurrence of the protein inclusions before birth, it is postulated that the basal trophoblastic cells at the end of pregnancy have an endocrine function. The first such function to come to mind is the production of relaxin.

#### Literatur

- ALTMANN, H. W.: Über die Abgabe von Kernstoffen in das Protoplasma der menschlichen Leberzellen. *Z. Naturforsch.* **4b**, 138 (1949).
- Zur Morphologie der Wechselwirkung von Kern und Cytoplasma. *Klin. Wschr.* **33** 306 (1955).
- ASHBEL, R., and A. T. HERTIG: Histochemical demonstration of ketosteroids in normal, abnormal and neoplastic placenta. *J. nat. Cancer Inst.* **13**, 221 (1952).
- BARGMANN, W.: Die funktionelle Morphologie der Hormonbildungsstätten. *Klin. Wschr.* **33**, 322 (1955).
- , u. A. KNOOP: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Placentarzotten des Menschen. *Z. Zellforsch.* **50**, 472 (1959).
- BARNETT, R. J., and A. M. SELIGMAN: Histochemical demonstration of protein-bound sulfhydryl groups. *Science* **116**, 323 (1952).
- BERTOLINI, R.: Die Zelleinschlüsse des Chorionepithels beim Hausschwein. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **65**, 250 (1959).
- BLEYL, U.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an überlebenden menschlichen Placenten mit Acridinorange. *Z. Zellforsch.* **56**, 404 (1962).
- BYROM, F.: The antidiuretic activity of saline extracts of normal and toxæmic placentae. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* **58**, 1 (1951).
- CLERCK, P. DE: Sécrétion d'oestrogènes par le syncytiotrophoblaste humain en culture. In: J. SNOECK, *Le placenta humain*, p. 515. Paris: Masson & Cie. 1958.
- COURCY, C. DE, CH. GRAY and J. B. LUNNON: Adrenal cortical hormone in human placenta. *Nature (Lond.)* **170**, 494 (1952).
- DALLENBACH, F. D.: Persönliche Mitteilung.
- DALLENBACH-HELLWEG, G., and G. NETTE: Morphological and histochemical observations on trophoblast and decidua of the basal plate of the human placenta at term. (Im Druck.)
- DEMPSEY, E. W., and G. B. WISLOCKI: Observations on some histochemical reactions in the human placenta, with special reference to the significance of the lipoids, glycogen and iron. *Endocrinology* **35**, 409 (1944).
- DICZFALUSY, E., and P. TROEN: In R. S. HARRIS and D. J. INGLE, *Vitam. and Horm.* **19**, 229 (1961).

- DRIESSEN, L. F.: Über Glykogen in der Placenta. *Arch. Gynäk.* **82**, 278 (1907).
- FLESCHE, K.: Glykogen in der menschlichen Placenta. *Möschl. Geburtsh. Gynäk.* **34**, 21 (1911).
- FUJIMURA, G.: Cytological studies on the internal secretory functions in the human placenta and decidua. *J. Morph.* **35**, 485 (1921).
- GEY, G. O., G. E. SEEGER and L. M. HELLMAN: The production of a gonadotrophic substance (Prolan) by placental cells in tissue culture. *Science* **88**, 306 (1938).
- GLICK, D.: Techniques of histo- and cytochemistry. New York and London: Interscience Publishers 1949.
- GROPP, A., u. K. HUPE: Zytologische Beobachtungen am Zellkern und der Kernmembran in Gewebekulturen. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **1958**, 268.
- HALMI, N. S.: Differentiation of 2 types of basophils in the adenohypophysis of the rat and the mouse. *Stain Technol.* **27**, 61 (1952).
- HAMPERL, H.: Über endometriale Granulocyten (endometriale Körnchenzellen). *Klin. Wschr.* **1954**, 665.
- HELLWEG, G.: Untersuchungen zur Charakterisierung der Granula in endometrialen Körnchenzellen. *Virchows Arch. path. Anat.* **329**, 111 (1956).
- HISAW, F. L., and M. X. ZARROW: The physiology of relaxin. In: R. S. HARRIS and K. V. THIMANN, *Vitam. and Horm.* **8**, 151 (1950).
- JAILER, J. W., and A. I. KNOWLTON: Simulated adreno-cortical activity during pregnancy in an addisonian woman. *J. clin. Invest.* **29**, 1430 (1950).
- JOHNSON, R. H., and W. G. HAINES: Evidence of small amount of adrenal cortex hormone activity in human placenta. *Science* **116**, 456 (1952).
- LATTA, J. S., and CH. R. BEBER: The differentiation of a special form of trophoblast in the human placenta. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **74**, 105 (1957).
- LENDRUM, A. C.: The phloxine-tartrazin method as a general histological stain and for the demonstration of inclusion bodies. *J. Path. Bact.* **59**, 399 (1947).
- LEWIN, E.: Histochemische Untersuchungen an Plazenten von Extrauterin graviditäten. *Gynaecologia (Basel)* **149**, 184 (1960).
- McKAY, D. G., A. T. HERTIG, E. C. ADAMS and M. V. RICHARDSON: Histochemical observations on the human placenta. *Obstet. and Gynec.* **12**, 1 (1958).
- MIDGLEY, A. R., and G. B. PIERCE: Immunohistochemical localization of human chorionic gonadotropin. *J. exp. Med.* **115**, 289 (1962).
- MOVAT, H. Z.: Demonstration of all connective tissue elements in a single section. *Arch. of Pathol.* **60**, 289 (1955).
- ORTMANN, R.: Über Kernsekretion, Kolloid- und Vacuolenbildung in Beziehung zum Nucleinsäuregehalt in Trophoblastriesenzellen der menschlichen Plazenta. *Z. Zellforsch.* **34**, 562 (1949).
- Histochemische Untersuchungen an menschlicher Plazenta mit besonderer Berücksichtigung der Kernkugeln (Kerneinschlüsse) und der Plasmalipoideinschlüsse. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* **119**, 28 (1955).
- PEARSE, A. G. E.: *Histochemistry, theoretical and applied*. Boston: Little, Brown & Co. 1961.
- Copper phthalocyanins as phospholipid stains. *J. Path. Bact.* **70**, 554 (1955).
- PROCH, W.: Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau. *Virchows Arch. path. Anat.* **330**, 337 (1957).
- PRISCHINGER, A.: Die Lage des isoelektrischen Punktes histologischer Elemente als Grundlage ihrer verschiedenen Färbbarkeit. *Z. Zellforsch.* **3**, 169 (1926).
- RHODIN, J. A. G., and J. TERZAKIS: The ultrastructure of the human full-term placenta. *J. Ultrastruct. Res.* **6**, 88 (1962).
- ROMEIS, B.: *Mikroskopische Technik*. München: Leibniz 1948.
- RYAN, K. J.: Hormones of the placenta. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **84**, 1695 (1962).
- SCHÜMMELFEDER, N.: Die Fluorochromierung des lebenden, überlebenden und toten Protoplasmas mit dem basischen Farbstoff Acridinorange und ihre Beziehung zur Stoffwechselaktivität der Zelle. *Virchows Arch. path. Anat.* **318**, 119 (1950).
- K. J. EBSCHNER u. E. KROGH: Die Grundlage der differentiellen Fluorochromierung von Ribon- und Desoxyribonukleinsäure mit Acridinorange. *Naturwissenschaften* **44**, 467 (1957).
- , u. K. F. STROCK: Die Bestimmung des Umladebereiches (Isoelektrischer Punkt) von Gewebeelementen mit dem Fluorochrom Acridinorange. *Z. Zellforsch.* **44**, 327 (1956).

- SCOTT, H. R., and B. P. CLAYTON: A comparison of the staining affinities of aldehyde-fuchsin and the Schiff reagent. *J. Histochem. Cytochem.* **1**, 336 (1953).
- SIEBERT, G., u. G. STARK: Intrazelluläre Verteilung von Choriongonadotropin in der Placenta des Menschen. *Klin. Wschr.* **32**, 732 (1954).
- STEWART, H. L.: Hormone secretion by human placenta grown in eyes of rabbits. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **61**, 990 (1951).
- THOMSEN, K.: Über die Aktivität der alkalischen Phosphatase in der menschlichen Placenta. *Arch. Gynäk.* **187**, 1 (1955).
- Histochemische Untersuchungen über die saure Phosphatase in der menschlichen Placenta. *Arch. Gynäk.* **187**, 264 (1955).
- Studien zur Histochemie der Placenta. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* **18**, 354 (1958).
- , u. CH. LORENZEN: Untersuchungen über die Lokalisation sudanophiler Substanzen der menschlichen Placenta. *Arch. Gynäk.* **187**, 462 (1956).
- , u. R. PANKA: Über die Aktivität der Nucleotidase in der menschlichen Placenta. *Arch. Gynäk.* **188**, 95 (1956).
- , u. R. WILLEMSSEN: Histochemische Untersuchungen über die Produktionsorte der Choriongonadotropine. *Acta endocr. (Kbh.)* **30**, 161 (1959).
- VARON, H. H.: MSH-like substance from human placenta. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **100**, 609 (1959).
- WEBER, J.: The site of production of gonadotrophin in the placenta at term. *Acta obst. et gynec. Scand.* **40**, 139 (1961).
- WISLOCKI, G. B.: The histology and cytochemistry of the basal plate and septa placentae of the normal placenta delivered at full term. *Anat. Rec.* **109**, 359 (1951).
- Succinic dehydrogenase, esterases and protein-linked sulfhydryl groups in human placenta. *Anat. Rec.* **115**, 380 (1953).
- , and H. S. BENNETT: The histology and cytology of the human and monkey placenta, with special reference to the trophoblast. *Amer. J. Anat.* **73**, 335 (1943).
- ZARROW, M., E. HOLMSTROM and H. SALHANICK: The concentration of relaxin in the blood serum and other tissues of women during pregnancy. *J. clin. Endocr.* **15**, 22 (1955).

Doz. Dr. GISELA DALLENBACH-HELLWEG,  
Dept. of Pathology, Dartmouth Medical School, Hanover,  
New Hampshire, USA