

Untersuchungen an Strahlenchimären zur Frage der Herkunft der Gewebseosinophilen im Uterus der Maus*

H. E. SCHAEFER und R. FISCHER

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Eingegangen am 27. September 1965

In vorausgegangenen Untersuchungen (FISCHER u. SCHAEFER) konnte gezeigt werden, daß einerseits das histochemisch erfaßbare Enzymmuster der *Gewebseosinophilen im Uterus* von Ratte und Maus völlig mit der Fermentausstattung in den eosinophilen Blutzellen der jeweiligen Tierart übereinstimmt, daß andererseits aber zwischen den eosinophilen Leukocyten der Ratte und Maus ein wesentlicher, speciesbedingter Unterschied besteht: Während nämlich bei der Ratte die Gewebseosinophilen — ebenso wie die entsprechenden Zellen im Blut und Knochenmark — über eine starke Aktivität an alkalischer Phosphatase verfügen, fehlt dieses Enzym in den Eosinophilen der Maus. Durch diese enzymhistochemischen Kriterien können also gewissermaßen eosinophile Gewebeleukocyten vom „*Rattentyp*“ und „*Mäusetyp*“ unterschieden werden. Diese Befunde und das Fehlen sog. Übergangsformen zwischen ortsständigen Bindegewebszellen und Gewebseosinophilen sprachen für eine hämatogene Herkunft der eosinophilen Leukocyten im Uterus der Nager und stehen somit im Gegensatz zu einer Reihe auch neuerer Untersuchungen, nach denen ein histiogener Ursprung dieser Zellen angenommen wird (Lit. bei FISCHER u. SCHAEFER). Eine weitere Möglichkeit zur Klärung dieser Frage sahen wir in Untersuchungen an sog. *Strahlenchimären*, d.h. *Mäusen*, die nach letaler Röntgenganzkörperbestrahlung eine heterologe Knochenmarkübertragung durch intravenöse Injektion einer Suspension von Knochenmarkzellen der *Ratte* erhalten und so einige Zeit lebensfähig sind. Das zerstörte Knochenmark dieser Tiere wird durch myelopoetische Zellen der Ratte ersetzt (FORD u. Mitarb.; NOWELL u.a.) und besitzt dementsprechend jetzt in den eosinophilen und neutrophilen Granulocyten die für diese Tierspecies charakteristische intensive alkalische Phosphataseaktivität (NOWELL u. Mitarb.).

Bei den vorliegenden Untersuchungen sollte geprüft werden, ob bei solchen Strahlenchimären unter *Oestrogeneinwirkung* im Uterusstroma der Maus eosinophile Leukocyten auftreten und welcher Tierspecies sie nach ihren enzymhistochemischen Eigenschaften entsprechen. Bei einer hämatogenen Herkunft dieser Zellen waren Eosinophile vom „*Rattentyp*“, bei der Bildung aus ortsständigen Zellen solche vom „*Mäusetyp*“ zu erwarten.

Material und Methodik

I. Tierversuche

35 ausgewachsene weibliche N.M.R.I.-Mäuse wurden in Gruppen von jeweils 8 Tieren (in einem flachen Plastikkasten) einer letalen *Röntgenganzkörperbestrahlung* von 925 r (100 r

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

pro Minute; 250 kV; 0,5 mm CuFilter; Abstand: 50 cm) ausgesetzt¹. Zwei Mäuse waren 16 Tage vor der Bestrahlung beidseitig ovarioktomiert worden.

Bei 32 Mäusen wurde 2—4 Std nach der Röntgenganzkörperbestrahlung eine *Transplantation von Knochenmark* ausgewachsener männlicher und weiblicher *Wistar-Ratten* durchgeführt. Nach Tötung der Ratten durch Decapitation wurden beide Femura und Tibiae freipräpariert und die Epiphyse mit einer kräftigen Schere abgetrennt, so daß der Markraum der Diaphyse nach beiden Seiten hin eröffnet war.

Zur Gewinnung des Knochenmarks diente ein von uns entwickeltes *Markextraktionsgerät* (Abb. 1): Die markhaltige Diaphysenröhre (C) wurde in einen durchbohrten, möglichst weichen Gummistopfen gesteckt und dicht abschließend in den Kopf des Glasteiles B eingesetzt. Die in den Glasteil A hineinragende Diaphysenöffnung wurde mit einigen ml TCM-Lösung (MORGAN u. a.) überstrichen. Durch die Erzeugung eines etwa 30 sec dauernden Unterdrucks (60—360 Torr) im Gefäß D wurde die TCM-Lösung durch die Diaphysenröhre angesaugt und zusammen mit dem Markinhalt als Suspension im Glaszyylinder E aufgefangen. Bei diesem Vorgehen gelingt es, das Knochenmark auch noch aus den feinsten Spongiosazwischenräumen zu gewinnen. Die so erhaltene Rohsuspension von Rattenmark wurde anschließend in Injektionspritzen durch Kanülen zunehmend engeren Kalibers (Nr. 1—20) gepreßt und von vereinzelten Bindegewebsfetzen bzw. kleinsten Knochensplittern befreit.

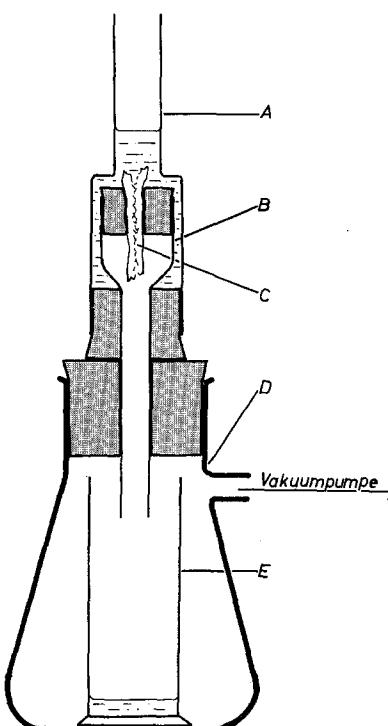


Abb. 1. Extraktionsgerät zur Gewinnung von Knochenmark der Ratte zur Transplantation (Erläuterung s. Text)

Die Versuchstiere wurden zwischen 1—6 Tagen nach der Oestrogengabe (bzw. 8—13 Tage nach der Bestrahlung) durch Decapitation getötet. Einzelne Mäuse starben spontan.

II. Histologische und histochemische Methoden

An 8 μ dicken Kryostatschnitten aus verschiedenen Höhen des Uterus sowie an Blut- und Knochenmarkausstrichen wurden die Reaktionen zum histochemischen Nachweis folgender Enzyme durchgeführt: alkalische Phosphatase, Naphthol ASD-Chloroacetat-Esterase, Myeloperoxidase (mit und ohne Hemmung durch Meerrettichperoxydase bzw. Katalase) und Cytochromoxydase.

Zur Darstellung der eosinophilen Granula diente die Färbung mit Biebricher Scharlach (SPICER u. LILLIE). Außerdem wurden Paraffinschnitte von Uterus, Vagina, Ovar, Leber, Milz und Sternum (nach Versenentkalkung) hergestellt und neben den üblichen histologischen

¹ Herrn Privatdozent Dr. A. Düx (Medizinische Univ.-Klinik Bonn) sind wir für die Durchführung der Bestrahlungen sehr zu Dank verpflichtet.

Färbungen die Eosinophilen-Färbung mit Biebricher Scharlach sowie der Nachweis der Naphthol ASD-Chloracetat-Esterase durchgeführt.

Angaben zur Methodik der durchgeführten Färbe- und Fermentmethoden finden sich in einer früheren Arbeit (SCHAEFER u. FISCHER).

Ergebnisse

I. Blut- und Knochenmarkbefunde

Bei 23 von 32 ganzkörperbestrahlten Mäusen, die eine Transplantation von Rattenmark erhalten hatten, konnte eine wieder in Gang gekommene Myelopoese nachgewiesen werden: Das Knochenmark dieser Tiere zeigte eine dichte Durchsetzung mit neutrophilen und eosinophilen Granulocyten aller Entwicklungsstadien (Abb. 2a). Nicht selten wurden Promyelocyten und Myelocyten in Mitose angetroffen.

Granulopoesenester fanden sich regelmäßig auch in der Milz, seltener in der Leber.

Der Grad der Ausschüttung von reifen neutrophilen und eosinophilen Granulocyten in das periphere Blut zeigte bei diesen Tieren eine relativ große Schwankungsbreite: Bei den meisten Mäusen bestand in dem beobachteten Zeitraum (7—13 Tage nach der Bestrahlung und Transplantation) eine deutliche Granulocytopenie. Nur wenige Tiere wiesen eine etwa normale Granulocytenzahl im peripheren Blutausstrich auf.

Enzymhistochemisch entsprachen die Blut- und Knochenmarkzellen dieser Versuchstiere völlig den neutrophilen und eosinophilen Granulocyten vom „Rattentyp“: Sie besaßen sowohl im Knochenmark (Abb. 2 b) als auch im peripheren Blut eine hohe Aktivität der alkalischen Phosphatase. Die Neutrophilen wiesen ferner im Vergleich zu den Mäuse-neutrophilen eine stärkere Reaktion beim Nachweis der Naphthol ASD-Chloroacetat-Esterase auf. Die eosinophilen Leukocyten zeigten reichlichere und gröbere Granula, die kräftiger mit Eosin oder Biebricher Scharlach anfärbbar waren als die normalerweise bei der Maus vorkommenden Eosinophilen. Der Zelldurchmesser der neutrophilen und eosinophilen Granulocyten im Ausstrichpräparat war größer als bei den Mäusegranulocyten.

Bestrahlte Mäuse, denen entweder kein Rattenmark übertragen oder bei denen das Transplantat verworfen worden war, zeigten nach spätestens 7 Tagen die typischen Knochenmarksveränderungen nach letaler Röntgenbestrahlung: Es fand sich ein weitgehend „leeres“ Mark mit weitgestellten Sinus, Ödemseen und nur spärlichen lymphoiden und bisweilen mehrkernigen retikulären Zellelementen (Abb. 2 c). In peripheren Blutausstrichen waren spätestens vom 7. Tag nach der Bestrahlung an praktisch keine leukocytären Zellen mehr nachweisbar. Weder in Präparaten des Knochenmarks (Abb. 2 d) noch im peripheren Blut konnten bei diesen Tieren, die im allgemeinen zwischen dem 7. und 14. Tag nach der Bestrahlung verstarben, alkalische Phosphatase-positive Granulocyten beobachtet werden.

II. Befunde am Uterus der bestrahlten Mäuse

Während Uterus und Vagina der ganzkörperbestrahlten Mäuse nach 7 Tagen alle morphologischen Kriterien eines durch die Strahlenkastration bedingten Dioestrus aufwiesen, konnte durch die einmalige Gabe von Oestradiolvalerinat ein wegen der Depotwirkung des Präparates wenigstens 6 Tage andauernder Oestrus ausgelöst werden.

Bei allen bestrahlten und mit Rattenmark transplantierten Mäusen, bei denen es zu einer *funktionsfähigen Myelopoese vom „Rattentyp“* gekommen war, traten nach Oestrogeninjektion im Uterusstroma und zwischen den glatten Muskelzellen eosinophil granulierte, ringkernige Zellen auf, die eine starke Aktivität der alkalischen Phosphatase (Abb. 3a) sowie eine kräftige Peroxydasereaktion zeigten. Von

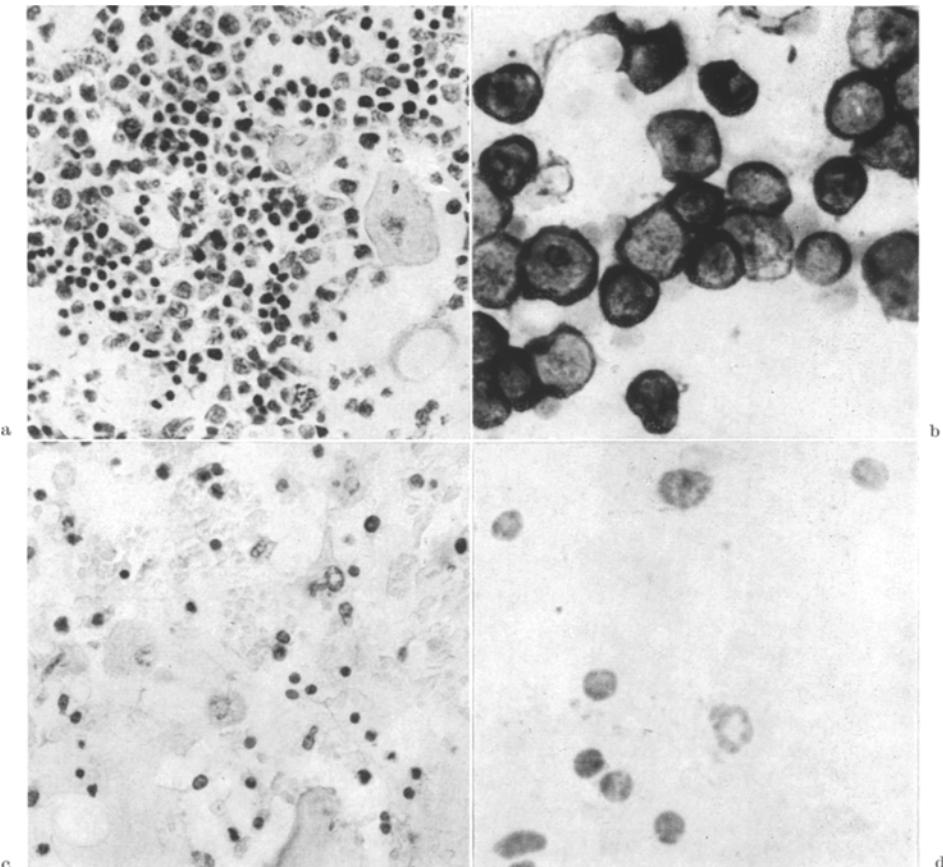


Abb. 2a—d. Schnitt- und Ausstrichpräparate von Knochenmark letal röntgenbestrahlter Mäuse (13 Tage nach der Bestrahlung). a und b Nach Transplantation von Knochenmark der Ratte: a H.-E.-Färbung (Paraffinschnitt): Dichte Infiltration der Spongiosaräume mit myeloischen Zellen vom „Rattentyp“. b Alkalische Phosphatase (Ausstrichpräparat): Starke Aktivität der neutrophilen und eosinophilen Granulocyten und ihrer Vorstufen. c und d Keine heterologe Marktransplantation: c H.-E.-Färbung (Paraffinschnitt): Weitgehend „leeres“ Mark mit nur verstreut liegenden lymphoiden und retikulären Zellen. d Alkalische Phosphatase (Ausstrichpräparat): Keine alkalische Phosphatase-positiven Granulocyten. Nur ganz vereinzelt regressiv veränderte ringkernige Zellen

den normalerweise im Uterus der Maus vorkommenden Geweb eosinophilen unterschieden sich diese Zellen durch einen etwas größeren Zelldurchmesser sowie durch eine stärkere Anfärbbarkeit der dichter liegenden Granula mit Eosin bzw. Biebricher Scharlach. Die Dichte der Infiltration mit Geweb eosinophilen war wechselnd, im allgemeinen geringer ausgeprägt als im physiologischen Oestrus normaler Mäuse. Sie entsprach in der Regel dem Grad der Proliferation des Knochenmarks und der Ausschüttung von Granulocyten in das periphere Blut.

Bei einzelnen Tieren traten daneben im Uterusstroma oder in Drüs enlichtungen vereinzelt auch *neutrophile Leukocyten vom „Rattentyp“* auf: Sie besaßen ebenfalls eine deutliche

alkalische Phosphatase- und Peroxydaseaktivität, darüber hinaus aber noch eine — im Gegensatz zu den Eosinophilen — positive Naphthol-ASD-Chloroacetat-Esterasereaktion.

Bei ganzkörperbestrahlten Mäusen mit *funktionsfähiger Myelopoese* vom „Rattentyp“ traten *ohne Oestrogengabe* keine alkalische Phosphatase-positiven eosinophilen Leukocyten im Uterusstroma auf.

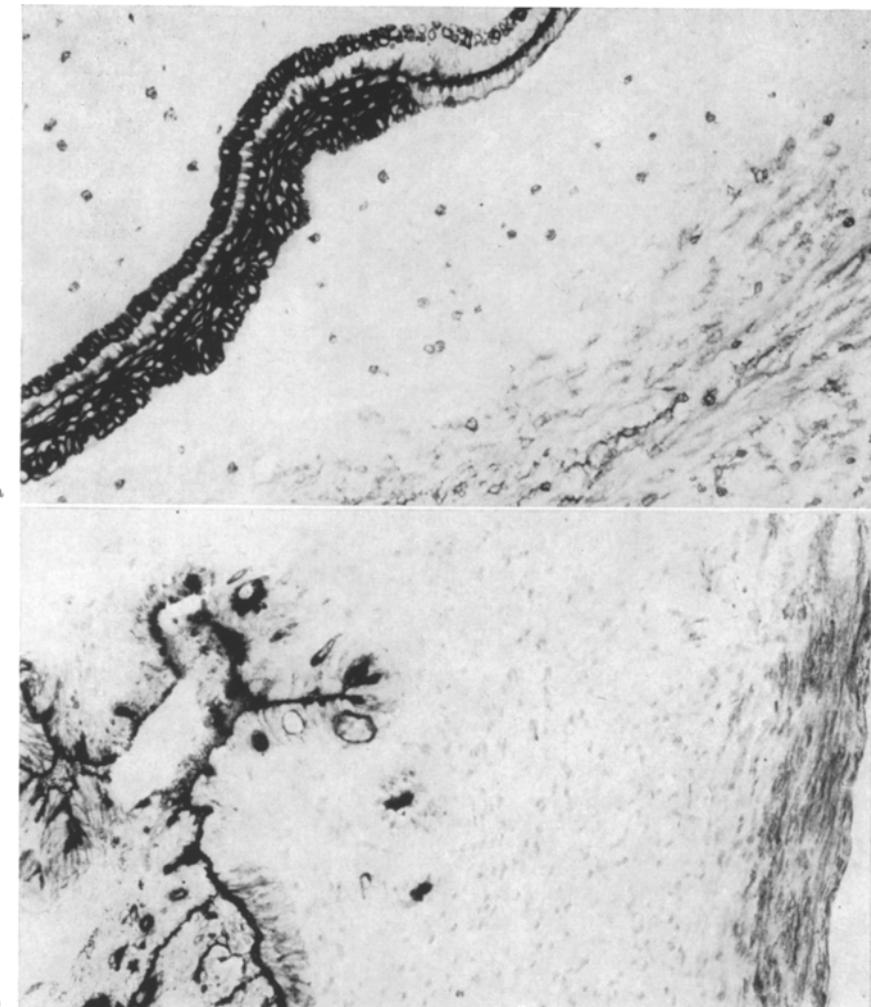


Abb. 3a u. b. Nachweis der alkalischen Phosphatase am Uterus der Maus, 13 Tage nach letaler Röntgenbestrahlung und 6 Tage nach Oestrogengabe. a Nach Transplantation von Rattenmark: Infiltration des Uterusstromas mit alkalische Phosphatase-positiven Eosinophilen. Starke Aktivität des teilweise metaplastisch veränderten Drüseneipithels. b Keine heterologe Knochenmarktransplantation: Enzympositive Eosinophile fehlen. Deutlicher Oestrogeneffekt mit starker Enzymaktivität des Drüseneipithels

Ebenso fehlte eine Durchsetzung mit alkalische Phosphatase-positiven eosinophilen Leukocyten bei Versuchstieren *ohne funktionstüchtige Myelopoese*, — d.h. bei Mäusen, die entweder kein Rattenmark erhalten hatten oder bei denen die Blutbildung nicht in Gang gekommen war, gleichgültig, ob eine Oestrogeninjektion gegeben worden war (Abb. 3b) oder nicht. Nach Oestrogengabe zeigten jedoch auch die Uteri dieser Tiere die übrigen typischen morphologischen und

Tabelle. Das Vorkommen alkalische Phosphatase-positiver eosinophiler Leukocyten bei der Maus unter verschiedenen Versuchsbedingungen

	Normal	Bestrahlung + Rattenmark-transplantation	Bestrahlung + Rattenmark-transplantation + Oestrogen	Bestrahlung ohne Rattenmark-transplantation	Bestrahlung ohne Rattenmark-transplantation + Oestrogen
Knochenmark	—	+	+	—	—
Peripheres Blut	—	+	+	—	—
Uterusstroma	—	—	+	—	—

+=alkalische Phosphatase-positive Eosinophile vorhanden. —=alkalische Phosphatase-positive Eosinophile fehlen.

enzymhistochemischen Veränderungen des Oestrus: eine Größenzunahme des Uterus, eine ödematöse Durchtränkung des Stomas und der Muskulatur, Mitosen in Stroma- und Epithelzellen sowie eine starke alkalische Phosphataseaktivität der Schleimhaut und der Muskulatur (Abb. 3b).

In keinem Fall trat bei den bestrahlten Tieren eine Infiltration mit eosinophilen Leukocyten auf, die in ihren morphologischen und enzymhistochemischen Eigenschaften den Gewebseosinophilen im Uterus normaler Mäuse entsprechen. Bei den oben geschilderten Versuchsgruppen waren im Uterusstroma lediglich ganz vereinzelt kleinere, deutlich regressiv veränderte Zellelemente mit einer schwächeren Peroxydaseaktivität und einer mit Biebricher Scharlach eben anfärbbaren, mit der üblichen H.-E.- oder Giemsafärbung jedoch nicht mehr darstellbaren eosinophilen Granulation nachweisbar. Solche Zellen fehlten jedoch in den Uteri von Mäusen, bei denen 16 Tage vor der Bestrahlung eine Kastration durchgeführt worden war.

Diskussion

Überblickt man die in der Tabelle zusammengefaßten Untersuchungsbefunde, so ergeben sich für die Frage nach der Herkunft der Gewebseosinophilen im Uterus der Maus folgende wichtige Rückschlüsse: Bei den Strahlenschimären infiltrieren während der durch Oestrogengabe hervorgerufenen Brunst eosinophile Leukocyten das Uterusstroma, die in ihren morphologischen und histochemischen Eigenschaften völlig mit den Eosinophilen der Ratte übereinstimmen. Sie sind im Gegensatz zu den bei normalen Mäusen im Uterus auftretenden Eosinophilen vor allem durch eine starke alkalische Phosphataseaktivität gekennzeichnet. Diese eosinophilen Leukocyten vom „Rattentyp“ können nur von den transplantierten Rattenknochenmarkzellen stammen, die sich in den Markräumen der ganzkörperbestrahlten Mäuse angesiedelt haben.

Demgegenüber haben diese Experimente keine Anhaltspunkte dafür gegeben, daß Zellen des ortsständigen Bindegewebes oder der glatten Muskulatur im Uterus eosinophile Gewebeleukocyten bilden, wie es von einer Reihe von Autoren (Lit. bei FISCHER u. SCHAEFER) angenommen wird. Es wäre dann nämlich zu erwarten gewesen, daß solche lokal entstandenen Zellen ein den Eosinophilen vom „Mäusetyp“ entsprechendes Aussehen und Enzymmuster besitzen. Dieses Unvermögen der Fibroblasten oder glatten Muskelzellen, eosinophile Leukocyten zu bilden, kann auch nicht auf die hier vorliegenden besonderen experimentellen Bedingungen, nämlich auf eine Strahlenschädigung dieser Zellen im Uterus zurückgeführt werden. Kommt es doch auch bei den Strahlenschimären nach Oestrogengabe zu den sonst charakteristischen Veränderungen der Brunst: Die Uteri

nehmen an Größe und Gewicht zu. Es zeigen sich vermehrt Mitosen in Stroma- und Epithelzellen. Die endometrialen Drüsen besitzen die für die Oestrogenwirkung charakteristische starke alkalische Phosphataseaktivität.

Das Auftreten alkalische Phosphatase-positiver eosinophiler Leukocyten im Uterusstroma der mit Oestrogen behandelten Strahlenchimären kann auch nicht auf eine extramedulläre Granulopoese zurückgeführt werden, wie sie bei diesen Tieren etwa in der Milzpulpa nachweisbar war. Während dort nämlich die Granulopoesenester aus herdförmigen Ansammlungen eosinophiler und neutrophiler Granulocyten aller Reifungsstufen vom „Rattentyp“ zusammengesetzt waren, entsprachen die im Uterus verstreut liegenden Leukocyten mit starker alkalischer Phosphatase nur *reifen* eosinophilen Granulocyten, die aus der Blutbahn emigriert sein müssen.

Bei den Strahlenchimären konnte unter den verschiedenen Versuchsbedingungen in keinem Fall eine Infiltration des Uterusstromas mit typischen Mäuse-eosinophilen beobachtet werden. Die im Uterus bestrahlter Mäuse vereinzelt nachweisbaren leukocytären Zellen mit *fehlender* alkalischer Phosphataseaktivität, schwächerer Peroxydasereaktion und nur geringer Eosinophilie der spärlichen Granula müssen als regressiv veränderte Eosinophile vom „Mäusetyp“ angesehen werden, die noch *vor* der Zerstörung des Knochenmarks der Wirtstiere gebildet wurden und in das Uterusstroma emigrierten. Dort haben sie einen mindestens 7 Tage währenden Alterungsprozeß durchgemacht, in dessen Verlauf sie ihre spezifische Anfärbbarkeit weitgehend eingebüßt haben, während die Peroxydaseaktivität offenbar noch länger erhalten bleibt. Auch bei unseren Untersuchungen an den Uteri nichtbestrahlter, kastrierter Mäuse konnten bis 14 Tage nach der Ovariextomie immer noch vereinzelte peroxydasepositive, regressiv veränderte Gewebseosinophile nachgewiesen werden (FISCHER u. SCHAEFER). In jüngster Zeit hat auch ROQUÉ eine offenbar unspezifische Dehydrogenasereaktion zum Nachweis gealterter, färberisch nicht mehr deutlich eosinophiler Leukocyten angegeben. Die Annahme, daß es sich bei den erwähnten Zellen um gealterte Mäuse-eosinophile handelt, steht auch in Übereinstimmung mit Angaben von OSGOOD u. Mitarb., RYTÖMAA sowie BROWAEYS u. WALLON, die mit unterschiedlichen Methoden zeigen konnten, daß die Eosinophilen im Gegensatz zu den Neutrophilen physiologischerweise im Gewebe 8—14 Tage, im Blut aber nur Stunden verweilen. Für die Richtigkeit dieser Deutung spricht schließlich auch der Befund an den Uteri der Strahlenchimären, die 16 Tage vor der Bestrahlung kastriert worden waren, bei denen also mindestens 3 Wochen bis zur Tötung vergangen waren: In den Uteri dieser Tiere konnten zum Zeitpunkt des Todes keine eosinophilen Leukocyten vom „Mäusetyp“ mehr nachgewiesen werden.

Die in Fortführung vorausgegangener Untersuchungen (SCHAEFER u. FISCHER; FISCHER u. SCHAEFER) hier mitgeteilten experimentellen Befunde scheinen uns ein weiterer Beleg für eine hämatogene Herkunft der sog. Gewebseosinophilen zu sein. Die in der Literatur gebräuchlichen Bezeichnungen, wie „Bluteosinophile“ und „Gewebseosinophile“ würden demnach nur einen Hinweis auf die unterschiedliche Lokalisation von gleichen Zellen myeloischen Ursprungs geben.

Zusammenfassung

Durch heterologe Knochenmarktransplantation von Ratten auf letal röntgenbestrahlte weibliche Mäuse wurden Chimären erzeugt, deren myelopoetisches System den Spendertieren entstammte. Die bei diesen Mäusen nach Oestrogengabe

im Uterusstroma auftretenden eosinophilen Leukocyten stimmten, ebenso wie die entsprechenden Zellen in Blut und Knochenmark, in ihren morphologischen und enzymhistochemischen Eigenschaften völlig mit den Eosinophilen vom „Sendertyp“ überein: Sie besaßen eine intensive alkalische Phosphataseaktivität, die den normalen Mäuseeosinophilen fehlt. Mit Oestrogen behandelte, röntgenbestrahlte Mäuse, die kein Rattenmark erhalten hatten oder bei denen das Transplantat verworfen worden war, zeigten keine Infiltration des Uterusstromas mit alkalische Phosphatase-positiven Eosinophilen vom „Rattentyp“. Die Ergebnisse der vorliegenden Experimente liefern einen weiteren Beleg für eine hämatogene Herkunft der sog. Gewebseosinophilen.

On the Origin of the Tissue Eosinophiles in the Uterus of the Mouse. A study on Radiation-Chimeras

Summary

By means of heterologous transplantation of rat bone marrow into lethally x-irradiated, female mice, chimeras were produced whose myelopoietic system came from the donor. The eosinophilic leucocytes in the oestrogen stimulated mouse uterus and the corresponding cells appearing in the blood and bone marrow were identical in their morphological and enzyme histochemical qualities to the eosinophiles of the "donor type": They showed a strong alkaline phosphatase activity, normally absent in the mouse eosinophiles. If oestrogen injected, x-irradiated mice received no rat bone marrow or if their grafts were rejected, no infiltration of the uterus stroma by alkaline phosphatase-positive eosinophiles of "rat type" could be observed. The present results provide further proof for the hematogenous origin of the so-called tissue eosinophiles.

Literatur

- BROWAEYS, J., et D. WALLON: Eosinophilies tissulaires du rat à l'état normal et dans les éosinopénies sanguines. *Sang* **29**, 686—695 (1958).
- FISCHER, R., u. H. E. SCHAEFER: Vergleichende enzymhistochemische Untersuchungen an den Gewebseosinophilen im Uterus von Ratte und Maus. *Virchows Arch. path. Anat.* **340**, 231—242 (1966).
- FORD, C. E., J. L. HAMERTON, D. W. H. BARNES, and J. F. LOUTIT: Cytological identification of radiation-chimeras. *Nature (Lond.)* **177**, 452—454 (1965).
- MORGAN, J. F., H. J. MORTON, and R. C. PARKER: Nutrition of animal cells in tissue cultures. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **73**, 1—8 (1950).
- NOWELL, P. C., L. J. COLE, J. G. HABERMAYER, and P. L. ROAN: Growth and continued function of rat marrow cells in x-irradiated mice. *Cancer Res.* **16**, 258—261 (1956).
- OSGOOD, E. E., A. J. SEAMAN, H. TIVEY, and D. A. RIGAS: Duration of life and of different stages of maturation of normal and leukemic leukocytes. *Rev. Hémat.* **9**, 543—553 (1954).
- ROQUÉ, A. L.: A histochemical enzyme reaction of eosinophil leucocytes (Abstr.). *J. Histochem. Cytochem.* **13**, 13 (1965).
- RYTÖMÄÄ, T.: Organ distribution and histochemical properties of eosinophil granulocytes in rat. *Acta path. microbiol. scand.* **50**, Suppl. 140, 1—118 (1960).
- SCHAEFER, H. E., u. R. FISCHER: Enzymhistochemische Untersuchungen an den Gewebeleukocyten im Vergleich zu Blut- und Bindegewebszellen bei Maus und Ratte. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 130—142 (1964).
- SPICER, S. S., and R. D. LILLIE: Histochemical identification of basic proteins with Biebrich scarlet at alkaline pH. *Stain Technol.* **36**, 365—370 (1961).