

- Kirkman, H.: A comparative morphological and cytochemical study of globule leucocytes (Schollenleukozyten) of the urinary tract, and of possibly related cells. *Amer. J. Anat.* 86: 91-131 (1950).
- Luft, J.H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. biophys. biochem. Cytol.* 9: 409-414 (1961).
- Weill, P.: Etudes sur les leucocytes. I. Les cellules granuleuses des muqueuses intestinale et utérine. *Arch. Anat. micr.* 17: 77-82 (1920).
- Zetterqvist, H.: The ultrastructural organisation of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum (Godvil, Stockholm 1956).

Received May 4th, 1964

Author's address: Dr. Peter G. Toner, Department of Anatomy, University of Glasgow, Glasgow, W. 2. (Scotland)

Acta anat. 61: 331-354 (1965)

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger

EIN WEITERER BEITRAG ZUR KENNTNIS
DER PLACENTEN DER ORDNUNG
PERISSODACTYLA:
ZWEI GEBURTSPLACENTEN DES INDISCHEN
PANZERNASHORNS
(*RHINOCEROS UNICORNIS* L.)¹

Von Z. J. DOLINAR; K. S. LUDWIG und EDITH MÜLLER²

Einleitung

In der Literatur finden sich bis in die jüngste Zeit keine Angaben über die Placenten der Rhinocerotidae (vgl. Starck [1959]). Erst 1961 erschien eine Arbeit über die Amnionperlen in den Eihäuten des afrikanischen zweihörnigen Nashorns (*Diceros bicornis* L.) (Naaktgeboren und Zwillenberg [1961]). Aus derselben Placenta erhielt einer von uns ein Stück Chorion, über dessen Bau er 1962 berichtete (Ludwig [1962 a]).

Wir hatten nun Gelegenheit, zwei geburtsreife Placenten des indischen Panzernashorns (*Rhinoceros unicornis* L.)³ zu untersuchen. Zum Vergleich zogen wir die Präparate der sich in unserem Besitz befindlichen Placenten der Equidae und des zweihörnigen afrikanischen Nashorns heran (vgl. Ludwig [1962 a], Dolinar, Ludwig und Müller [1963]).

Daß die beiden Panzernashornplacenten mit Recht als geburtsreif bezeichnet werden dürfen, ergibt sich aus den Tragzeiten. Die Tragzeit für das am 31. 8. 1962 geborene Jungtier betrug 479 Tage und war damit um fünf respektive einen Tag länger als diejenigen der früher geborenen Geschwister (vgl. Lang [1961]). Die Tragzeit für das am 9. 3. 1963 geborene Jungtier betrug 486 Tage und war damit zwei Tage kürzer wie die längste bis jetzt beobachtete (vgl. Lang [1961]).

Verarbeitung des Materials

Wir hatten Gelegenheit, der Geburt des am 31. 8. 1962 geborenen Jungtiers beizuwohnen. Sobald die Placenta ausgestoßen worden war, entnahmen wir aus

¹ Herrn Prof. Dr. K. Bernhard mit den besten Wünschen zum 60. Geburtstag überreicht.

² Forschungslaboratorien der J. R. Geigy A.G., Basel/Schweiz.

³ Herrn PD Dr. E. M. Lang, Direktor des Zoologischen Gartens Basel, sowie seinem wissenschaftlichen Assistenten, Herrn Dr. H. Wackernagel, sprechen wir für die Überlassung der Placenten der im hiesigen Garten am 31. August 1962 und am 9. März 1963 geborenen Tiere unseren herzlichsten Dank aus.

2064

jedem Horn des Allantochorion einige kleine Stückchen, wobei wir darauf achteten, daß das entnommene Material sowohl beide Zottenarten wie auch Teile der zottenfreien Straßen enthielt. Das für die histologische Weiterverarbeitung bestimmte Material wurde an Ort und Stelle in die verschiedenen Fixationsgemische eingelegt. Weitere Stückchen wurden in Kohlensäureschnee eingefroren, damit sie in einem Kryostaten (System Dittes-Duspiva) weiter verarbeitet werden konnten.

Nachdem das Material für die histologische und histochemische Untersuchung entnommen worden war, wurde die Placenta makroskopisch inspiziert und gewogen. Die Nabelschnur und das Amnion mit der Omphaloplacenta fixierten wir anschließend in der für die Eselplacenta (Dolinar, Ludwig und Müller [1963]) angegebenen Art. Der verbleibende größte Teil des Allantochorion wurde dem Muttertier überlassen.

Die Fixation des Materials und seine Verarbeitung zu histologischen Präparaten führten wir in der für die Giraffenplacenta (Ludwig [1962b]) beschriebenen Weise durch. Die Kryostatenschnitte wurden nach den Angaben für die Eselplacenta (Dolinar, Ludwig und Müller [1963]) weiterverarbeitet.

Die Fermentreaktionen wurden ebenfalls nach den bei der Eselplacenta angegebenen Vorschriften durchgeführt mit Ausnahme der Reaktion auf alkalische Phosphatase, bei der als Diazosalz an Stelle des Echtblausalzes BB das Echtrotsalz TRA verwendet wurde. Zum Teil wurden die Präparate mit Hämalaun nach Mayer gegengefärbt. Zusätzlich zu den bei der Eselplacenta angegebenen Reaktionen wurde noch die Reaktion auf Adenosintriphosphatase (ATPase) nach der Vorschrift von Wachstein und Meisel [1957] durchgeführt.

Die Placenta des am 9.3.1963 geborenen Tieres wurde sofort nach ihrer Ausstoßung von Herrn PD Dr. E. M. Lang photographiert (vgl. Abb. 1). Anschließend wurden wie bei der ersten Placenta verschiedene Stücke entnommen und sofort in die verschiedenen Fixierungsmittel eingelegt. In diesem Fall war es nicht möglich, Material für die Weiterverarbeitung im Kryostaten zu gewinnen. Das entnommene Material wurde entsprechend den Angaben für die erste Placenta weiterverarbeitet.

Eigene Befunde

Die gesamten Eihäute des am 31.8.1962 geborenen, 68 kg schweren männlichen Tieres hatten ein Gewicht von 4960 g. Das Allantochorion wog 4550 g, das Allantoamnion mitsamt der Nabelschnur 410 g. Leider war es aus technischen Gründen nicht möglich, die Placenta des am 9.3.1963 geborenen männlichen, 59 kg schweren Tieres zu wägen.

A. Das Allantochorion

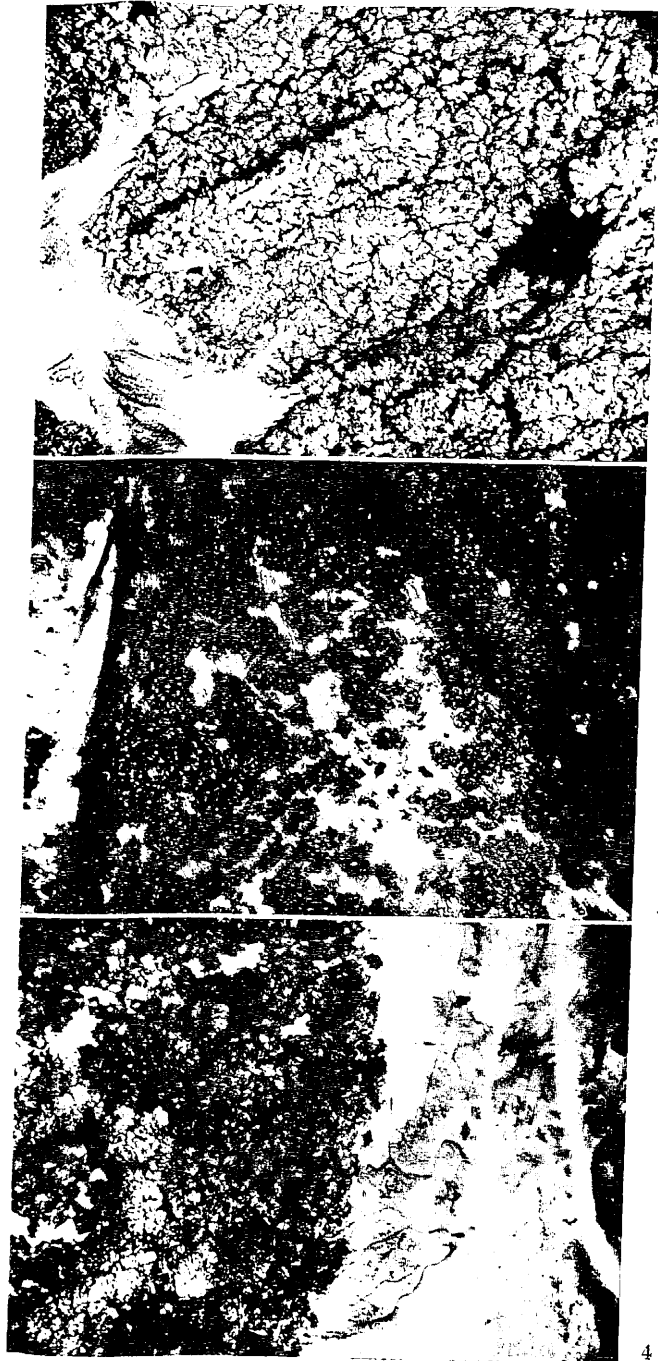
1. Makroskopische und Lupen-Befunde

Das Allantochorion stellt einen zweizipfligen Sack dar (vgl. Abb. 1). Ein Zipfel ist deutlich weiter und größer als der andere. Deshalb bezeichnen wir den größeren als «großes Horn», den kleineren als



Abb. 1. Placenta des Panzernashorns, $\frac{1}{22}$ natürl. Größe (Aufnahme PD Dr. E. M. Lang). Oben das große Horn von der Allantois-Seite her. Man erkennt die großen allantochorialen Gefäßstämme entlang der kleinen Krümmung und die arkadenartig abgehenden Äste. Unten das kleine Horn von der chorialen Fläche her. Gerade oben an das kleine Horn angrenzend die Nabelschnur.

«kleines Horn». Die Gesamtform ist magenförmig, so daß wir von einer großen und kleinen Krümmung sprechen dürfen. Die Nabelschnur inseriert im Bereich der kleinen Krümmung an der Basis des großen Horns.

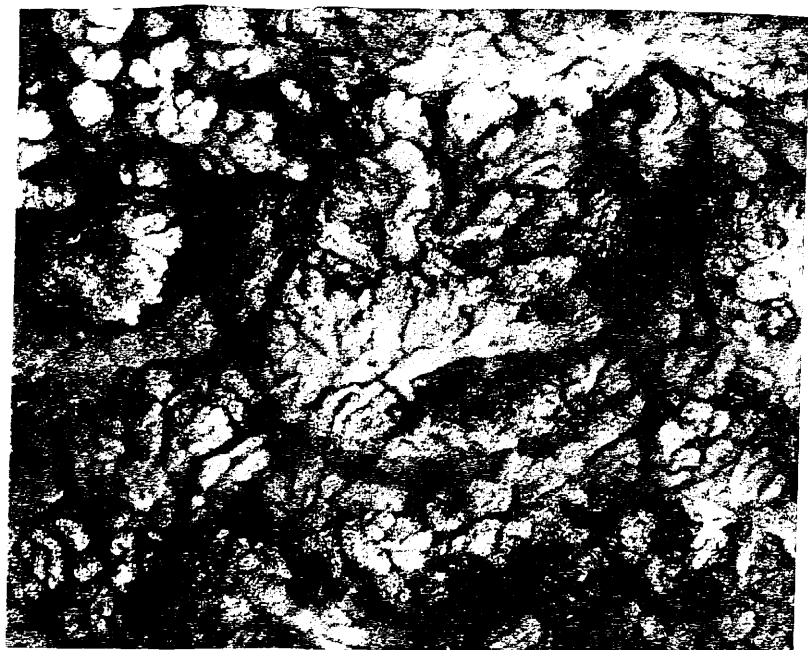


Die *Allantois* ist in allen Abschnitten der Placenta mit dem Chorion zum Allantochorion verwachsen. Die Allantois selbst ist glatt, dünn, halb durchsichtig und von leicht grau-weißlicher Farbe. Die Verbindung mit dem Chorion wird durch zahlreiche, außerordentlich feine, weißliche Fäserchen hergestellt, die aber einer künstlichen Ablösung der Allantois vom Chorion keinen nennenswerten Widerstand entgegensetzen. Die verbindenden Fäserchen sind elastisch; sie lassen sich bis zu 6 mm Länge ausziehen, bevor sie reißen. In der Verwachsungszone zwischen Allantois und Chorion verlaufen die Nabelschnurgefäße.

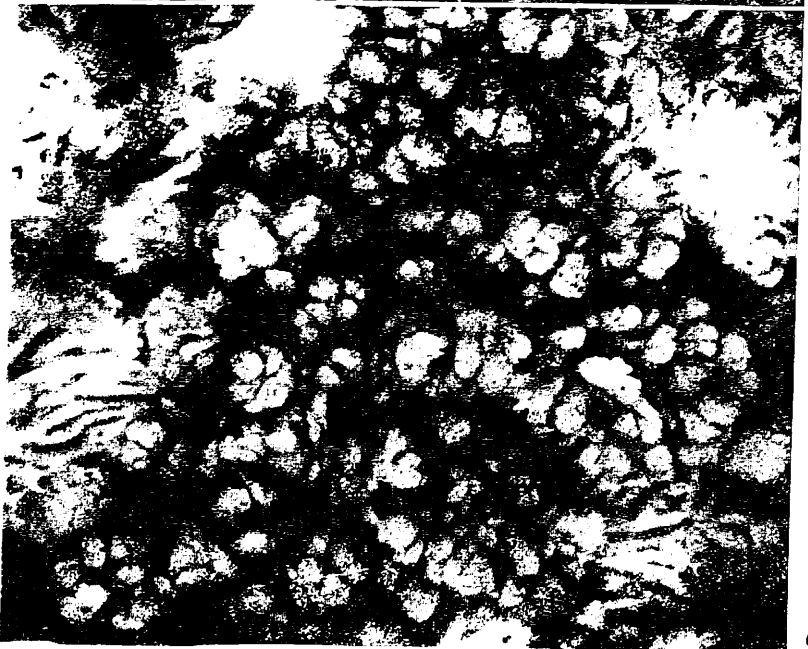
Die *Verteilung und die Größe der Zottenbüschel* auf der Chorionaußenfläche sind im Bereich der beiden Hörner der Panzernashornplacenta verschieden (vgl. Abb. 2, 3, 4, 5 und 6). Auf dem kleinen Horn sind die einzelnen Zottenbüschel breiter und höher sowie stärker verzweigt als auf dem großen Horn (vgl. Abb. 2, 4 und 5 mit Abb. 3 und 6). Besonders dicht stehen die Zottenbüschel entlang den Gefäßen auf dem großen Horn; auf dem kleinen Horn sind sie gleichmäßig dicht gepackt (vgl. Abb. 2 und 3). Die einzelnen Zottenbüschel werden durch Furchen voneinander getrennt. Diese Furchen reichen jedoch nur an solchen Stellen bis zur Chorionplatte (Abb. 2, 3, 4, 5 und 6), an welchen die Zottenbüschel weit auseinander stehen.

Auf den ersten Blick lassen sich *zwei verschiedene Arten* von Zottenbüscheln unterscheiden (Abb. 2, 3, 4, 5, 6), die wir *Blattzotten* und *Faltenzotten* genannt haben (Ludwig und Müller [1965]). Das einzelne Büschel der Blattzotten besteht aus einem auf der Membrana chorii sitzenden Zottenstamm, der sich sehr bald in Sekundär- und Tertiärzotten verzweigt. Diese Sekundär- und Tertiärzotten haben blattförmige Gestalt, d. h. sie sind sehr viel breiter wie dick (Abb. 5, 6). Die Faltenzotten stellen meist längliche Gebilde dar, die nicht die Höhe der sie umgebenden Blattzotten erreichen (Abb. 3, 5). Sie bestehen aus vorwiegend längslaufenden Falten, zwischen denen aber auch Querverbindungen bestehen können (Abb. 6). Sie finden sich häufiger im Bereich des großen Horns, seltener auf dem kleinen Horn. Neben diesen einzelnen kleinen Faltenzotten kommen ganze Falten-

Abb. 2. Oberflächenansicht des kleinen Horns, Vergr. 1,7 \times . Die Zotten stehen sehr dicht. Links im Bild über der Aufzweigung von Gefäßen ein nur aus Faltenzotten bestehendes Areal. – Abb. 3. Oberflächenansicht des großen Horns, Vergr. 1,7 \times . Zwischen den Blattzotten (im Bild dunkler) liegen viele einzelne Faltenzotten. – Abb. 4. Oberflächenansicht einer zottenfreien Straße entlang den großen Allanto-chorialgefäßen; kleines Horn, Vergr. 1,7 \times .



5



6

komplexe besonders über den Verzweigungen von mittelgroßen Gefäßen vor (Abb. 2).

Sehr charakteristisch für die Placenta des Panzernashorns sind die 10–16 cm breiten *zottenfreien glatten Streifen*, welche sich im Bereich der kleinen Krümmung entlang den großen Ästen der Gefäße des Allantochorions finden (Abb. 4). Außer den großen Gefäßen, die unter diesen zottenfreien Chorionstreifen verlaufen, findet sich in der Membrana chorii ein feines Gefäßnetz, das in dieser Art nur in diesen zottenfreien Gebieten anzutreffen ist (Abb. 4). Die Grenze zwischen diesen zottenfreien Gefäßstraßen und den zotenträgenden Regionen ist scharf (Abb. 4). Auf dem großen Horn finden sich ab und zu kleine, nur wenige Millimeter große narbenartige Stellen (Abb. 3). Polnarben, wie sie bei Equidenplacenten recht häufig angetroffen werden, haben wir an den beiden uns vorliegenden Panzernashornplacenten nicht nachweisen können.

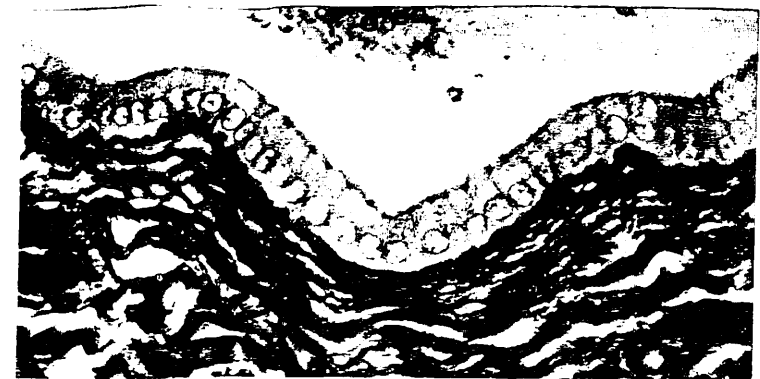
2. Mikroskopische Befunde

Die Blatt- und Faltenzotten sitzen mit einem kurzen Stamm auf der Membrana chorii. Sein Durchmesser ist von der Gesamtgröße des betreffenden Zottenbüschels abhängig. Diese Stämme splitteln sich in die Sekundärzotten auf, die erst den typischen Bau von Blatt- oder Faltenzotten zeigen. Wenn sich ein Zottenstamm in typische Faltenzotten aufzweigt, so ist eine weitere tertiäre Aufsplitterung in Blattzotten möglich. Das umgekehrte Verhalten, das heißt, daß sich die typischen Blattzotten tertiär in Faltenzotten aufzweigen, haben wir nirgends gefunden. Das Epithel auf der Membrana chorii und auf den Zottenstämmen zeigt einen einheitlichen Bau (vgl. Abb. 7, 8, 9), so daß wir diese Epithelien zusammen besprechen wollen. Anschließend werden wir die typischen Epithelübergänge der Blatt- und Faltenzotten besprechen. Schließlich ist noch die Oberfläche der zottenfreien Straßen zu schildern.

a) Das Epithel der Membrana chorii und der Zottenstämme

Die Epithelien besitzen eine hochprismatische Form (Abb. 7, 8, 9). Die Zellkerne sind ovoid, hochgestellt und liegen gegen die Zellbasis hin. Die Zellen sitzen einer relativ dicken, PAS-positiven Basal-

Abb. 5. Oberflächenansicht des kleinen Horns, Vergr. 16x. Zwischen den Blattzotten finden sich einzelne Faltenzotten. Links im Bild erkennt man eine Faltenzotte, von welcher sekundär Blattzotten abgehen. – *Abb. 6.* Oberflächenansicht des großen Horns, Vergr. 16x. Die Form der Blatt- und Faltenzotten läßt sich sehr gut erkennen.



7

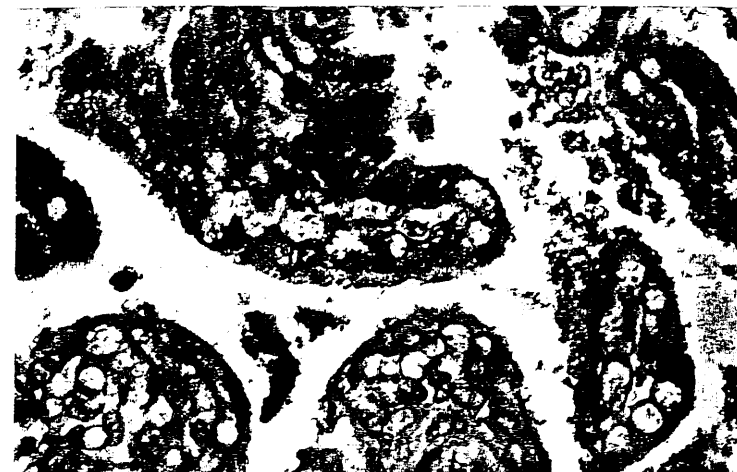


8



9

Abb. 7. Zylinderepithel auf der Membrana chorii. Fixation: Davidson, Färbung: Azan, Vergr. 470 \times . Der Bürstensaum und die Schlußleisten treten deutlich hervor. Über dem Zellkern erkennt man das Trophospongium. – Abb. 8. Schnitt durch einen Blutzottenabgang. Fixation: Carnoy, Färbung: Azan, Vergr. 470 \times . Der Epithelübergang vom Zylinderepithel auf dem Zottenstamm in das platte Epithel der sekundären Blutzotten zeigt deutlich den Wandel des Epithelcharakters. – Abb. 9. Schnitt durch einen Faltenzottenabgang. Fixation: Gendre, Färbung: Azan, Vergr. 470 \times . Auch hier ist der Wandel des Epithelcharakters deutlich zu erkennen.



10



11

Abb. 10. Schnitt durch sekundäre Blutzotten. Fixation: Carnoy, Färbung: PAS-Reaktion, Vergr. 470 \times . Die Epithelplatten sowie die unscharfe Epitheloberfläche sind deutlich zu erkennen. – Abb. 11. Schnitt durch sekundäre Blutzotten. Fixation: Carnoy, Färbung: Methylgrün-Pyronin, Vergr. 470 \times . Das Protoplasma der Epithelzellen ist im Bereich der Epithelplatten kaum pyroninophil, während sich die um die Zellkerne gelegenen Regionen kräftig mit Pyronin anfärben, besonders stark in einzelnen Zellen der basale Zellteil.

membran auf. Diese hochprismatischen Epithelien tragen an ihrer Oberfläche einen typischen Bürstensaum (Abb. 7, 8, 9) oder lange feine fadenartige Cytoplasmfortsätze. Apical vom Zellkern liegt eine etwas hellere Stelle im Cytoplasma, die dem Trophospongium ent-

spricht (Abb. 7). Es findet sich ein deutliches Schlußleistennetz (Abb. 7, 8, 9).

Die Epithelzellen enthalten apical und basal relativ viel pyroninophiles Material. Glykogen ließ sich in ihnen nicht nachweisen. Auch die Eisenreaktion ist negativ. Ab und zu findet sich in einer Zelle etwas PAS-positives Material. Das Trophospongium läßt sich selektiv mit Sudanschwarz anfärben.

Diese hochprismatischen Epithelzellen auf der Membrana chorii und den Zottenstämmen grenzen bei der Aufzweigung in die Sekundärzotten an die typischen Epithelüberzüge der letzteren (Abb. 8, 9).

b) Das Epithel der Blattzotten

Der Epithelüberzug der Blattzotten besteht aus kubischen bis leicht abgeplatteten Zellen (Abb. 8, 10). Zellgrenzen lassen sich lichtoptisch nicht nachweisen (Abb. 10), ebenso finden sich keine Schlußleisten. Der Apex der Zellen färbt sich etwas kräftiger an und zeigt eine nicht ganz scharfe Begrenzung der Oberfläche. Im Stroma der Blattzotten sind reichlich Kapillaren vorhanden. Diese wölben sich stellenweise gegen das Epithel hin vor, so daß typische Epithelplatten entstehen (Abb. 10, 11). Direkt an die Epithelplatten angrenzend finden sich öfters zweikernige Riesenzellen, die wir Diplokaryonten (*Ludwig und Müller [1964]*) nennen. Ihre beiden Zellkerne besitzen eine bläschenförmige Struktur und sind dann deutlich größer als diejenigen der angrenzenden Epithelzellen. Manchmal sind die Zellkerne der Diplokaryonten kompakt, chromatinreich und dann kleiner als diejenigen der angrenzenden Epithelien.

Die Epithelplatten färben sich nicht mit Pyronin an, dagegen sind die Diplokaryonten sehr stark pyroninophil (Abb. 11). Die übrigen kubischen Epithelzellen werden durch Pyronin nur leicht angefärbt: ab und zu zeigt jedoch die Zellbasis eine sehr kräftige Färbung mit diesem Farbstoff (Abb. 11). Glykogen konnten wir im Bereich der Blattzotten nirgends nachweisen. PAS-positives Material findet sich ab und zu in den Diplokaryonten, besonders wenn sie dichte, chromatinreiche Zellkerne besitzen. Das PAS-positive Material liegt dann in Form von kleinen Tröpfchen oder vereinzelt größeren Schollen vor.

c) Das Epithel der Faltenzotten

Der Epithelüberzug der Faltenzotten besteht aus großen hochprismatischen Zellen, deren Oberflächen weit nach außen vorgewölbt sind (Abb. 12, 13). Doch tragen diese Zellen keine Bürstensäume. Die



12



13



14

Abb. 12. Schnitt durch sekundäre Faltenzotten. Fixation: Davidson, Färbung: Azan, Vergr. 360 \times . Das Zylinderepithel besitzt domförmige Vorwölbungen. Epithelplatten finden sich keine. – Abb. 13. Schnitt durch sekundäre Faltenzotten. Fixation: Carnoy, Färbung: Methylgrün-Pyronin, Vergr. 360 \times . Das Protoplasma der Epithelzellen ist besonders um den Zellkern und im basalen Teil kräftig durch Pyronin angefärbt. – Abb. 14. Tangential angeschnittenes Zylinderepithel der Faltenzotten. Fixation: Davidson, Färbung: Azan, Vergr. 470 \times . Die Kittleisten treten deutlich in Erscheinung. In den Zellen finden sich kräftig gefärbte Zelleinschlüsse.

Zellgrenzen sind deutlich. Ein typisches Schlußleistennetz läßt sich nachweisen (Abb. 14). Epithelplatten haben wir im Bereich der Faltenzotten keine gefunden. Die Kerne der Epithelzellen sind rundlich oder ovoid hochgestellt. Sie liegen gegen die Zellbasis hin. Die Zellen sitzen einer dicken PAS-positiven Basalmembran auf.

Mit Pyronin läßt sich besonders der basale Teil dieser Zellen intensiv anfärben (Abb. 13). Der Zellapex ist bei der Methylgrün-Pyronin-Färbung kaum tingiert. PAS-positives Material, das auch im Azan-Präparat kräftig rot angefärbt wird, findet sich ab und zu im Cytoplasma in Form von mittelgroßen Tröpfchen oder von großen Schollen (Abb. 14). Die Glykogen- und die Eisenreaktionen sind negativ.

d) Die zottenfreien Straßen

Angrenzend an die zottenbesetzten Teile des Chorions findet sich auf den zottenfreien Straßen ein schmaler Streifen, der von einem kubischen Epithel überzogen ist. Dieses verliert sich aber sehr bald, so daß der größte Teil der zottenfreien Straßen an ihrer äußeren Oberfläche keinen Epithelüberzug mehr besitzt (Abb. 15, 16). Das Bindegewebe der Membrana chorii ist in diesen epithelfreien Regionen besonders dicht und reich an Interzellulärsubstanz. Dies gilt vor allem für die oberflächlichste Schicht, die sehr kräftig angefärbt wird (Abb. 15). Die in dieser Schicht vorhandenen Zellen sind abgeplattet und mit ihrem Längsdurchmesser parallel zur Oberfläche angeordnet (Abb. 16).

Unter der Membrana chorii folgt, wie übrigens in allen Regionen des Allantochorions, eine lockere Gefäßschicht, die in den Präparaten Spalten aufweist (Abb. 15). Dann schließt sich das Bindegewebe der Allantois an, dem gegen die Allantoishöhle ein kubisches einschichtiges Epithel aufliegt (Abb. 15).

3. Histochemische Befunde an Kryostatschnitten

Die Reaktion auf Adenosintriphosphatase (ATPase) ist an der Epitheloberfläche der Blattzotten sehr stark positiv (Abb. 17), so daß eine Unterscheidung von speziellen Stellen wie der Epithelplatten oder der Diplokaryonten nicht möglich ist. Dieses stark positiv reagierende Epithel der Blattzotten ist scharf gegenüber dem nur ganz leicht positiven hochprismatischen Epithel auf der Membrana chorii abgegrenzt (Abb. 17 a). Am Epithel der Faltenzotten findet sich auch



Abb. 15. Membrana chorii im Bereich einer zottenfreien Straße. Fixation: Gendre, Färbung: Azan. Vergr. 130 \times . Unten im Bild das Allantoisepithel. Zwischen Chorion- und Allantoisbindegewebe die Gefäßschicht.

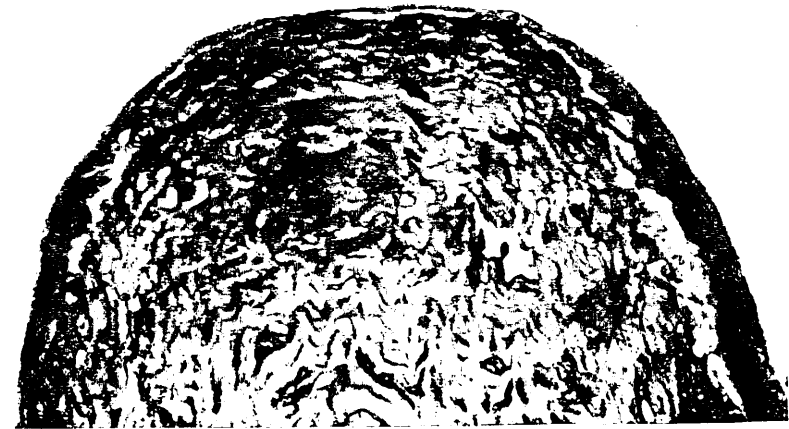


Abb. 16. Ausschnitt aus der Abb. 15. Vergr. 520 \times . An der Oberfläche der Membrana chorii sind die Zellen abgeplattet, parallel zur Oberfläche angeordnet. Ein epithelialer Überzug fehlt.



Abb. 17 und 18. Kryostatenschnitte. Vergr. 100 \times . Abb. 17. Reaktion auf Adenosintriphosphatase (ATPase). Links in Abb. 17a die Membrana chorii und ein Blattzottenstamm; an der Oberfläche der Zylinderepithelien ist die Reaktion nur schwach positiv. Im Gegensatz zu den Blattzotten, deren Epitheloberflächen sehr stark positiv reagieren. In Abb. 17b ein Schnitt durch eine Faltenzotte, deren Epithel-

nur eine ganz leicht positive Reaktion (Abb. 17b). Die im Stroma der Membrana chorii und der Faltenzotten liegenden Gefäße zeigen andeutungsweise eine positive Reaktion (vgl. Abb. 17).

Die Reaktion auf Succinodehydrogenase fällt im gesamten Epithel der Blattzotten mäßig positiv aus (Abb. 18). Nur die Diplokaryonten treten als intensiv positive Elemente in Erscheinung (Abb. 18). Die Epithelplatten sind bei dieser Reaktion völlig negativ. Das Epithel der Faltenzotten reagiert im apicalen Zellteil etwas stärker positiv; der basale Zellteil zeigt eine gleiche, mäßig positive Reaktion wie die Epithelien der Blattzotten (Abb. 18b). Die Epithelzellen an den Zottenstämmen und auf der Membrana chorii dagegen sind deutlich stärker positiv als diejenigen der beiden Zottenarten. Dabei reagiert gleich wie bei den Faltenzotten der apicale Zellteil besonders stark positiv (Abb. 18a). Im Bindegewebe der Membrana chorii zeigen einzelne Zellen eine positive Reaktion (Abb. 18a).

Die Reaktion auf DPN-H-Diaphorase ist im Epithel der Blattzotten mit Ausnahme der Epithelplatten positiv (Abb. 19). Besonders stark positiv reagieren die Diplokaryonten, die als intensiv gefärbte Stellen aus dem übrigen Zellverband hervorstechen (Abb. 19). Sehr stark positiv reagieren auch die Epithelien auf der Membrana chorii und den Zottenstämmen sowie an den Faltenzotten (Abb. 19). In diesen Epithelzellen bleiben nur die Zellkerne ausgespart (Abb. 19). Auch bei dieser Reaktion ist die Grenze zwischen dem Zylinderepithel auf der Membrana chorii und auf den Zottenstämmen gegenüber dem kubischen bis platten Epithel der Blattzotten scharf (Abb. 19b). Die Gefäßendothelien im Bereich der Membrana chorii und des Zottenbindegewebes reagieren mäßig positiv. Zudem finden sich im Bindegewebe des gesamten Chorions Zellelemente, die eine mäßig positive Reaktion zeigen (Abb. 19).

Die Reaktion auf alkalische Phosphatase ist an der Oberfläche der Zylinderepithelien auf der Membrana chorii und den Zottenstämmen stark positiv (Abb. 20a). Die Epithelien der Blattzotten sind negativ. Dadurch wird die Grenze zwischen dem Zylinderepithel und

oberflächen nur eine ganz schwach positive Reaktion geben. — Abb. 18. Reaktion auf Succinodehydrogenase. In Abb. 18a links das stark positive Zylinderepithel auf der Membrana chorii und den Blattzottenstämmen. Die Epithelien der Blattzotten reagieren nur ganz schwach positiv mit Ausnahme einzelner Zellen, den Diplokaryonten, die stark positiv reagieren. In Abb. 18b ist eine Faltenzotte getroffen. Ihr Epithel reagiert stärker positiv als dasjenige der Blattzotten. Besonders der Apex der Faltenzottenepithelien ist sehr stark positiv.



Abb. 19. Kryostatschnitte. Reaktion auf DPN-H-Diaphorase, Vergr. 100 \times . In Abb. 19 a unten das Allantoisepithel, das leicht positiv reagiert. Oben die Membrana chorii und Blattzottenstämme: die Zylinderepithelien reagieren alle stark positiv, nur die Stellen mit den Zellkernen bleiben ausgespart. Die Blattzotten reagieren nur leicht positiv mit Ausnahme der Diplokaryonten, die sehr stark positiv sind. In Abb. 19 b ist eine Faltenzotte getroffen, deren Epithelzellen sehr stark positiv reagieren.

dem kubischen bis platten Epithel der Blattzotten sehr auffällig (Abb. 20 a). Die zylindrischen Zellen der Faltenzotten sind leicht positiv (Abb. 20 b), ebenso die Diplokaryonten in den Blattzotten. Die Endothelien der Choriongefäße sind negativ.

Die Reaktion auf unspezifische Esterasen ist im Epithel der Blattzotten nur sehr leicht positiv mit Ausnahme der Diplokaryonten, die etwas stärker positiv reagieren (Abb. 21). Die Epithelplatten sind negativ. Das Zylinderepithel auf der Membrana chorii und an den Zottenstämmen reagiert etwas stärker positiv als die Epithelien der Blattzotten. Damit ist der Übergang vom Zottenstamm in die Sekundärzotten nicht so deutlich wie bei den Reaktionen auf ATPase, Succinodehydrogenase, DPN-H-Diaphorase und alkalische Phosphatase (vgl. Abb. 21 a mit den Abb. 17 a, 18 a, 19 und 20 a). Das Epithel der Faltenzotten reagiert stark positiv (Abb. 21 b), wobei wie bei der

Succinodehydrogenase besonders der apicale Zellteil intensiver reagiert.

Die Reaktion auf saure Phosphatase gibt die gleichen Bilder wie die Reaktion auf unspezifische Esterasen.

4. Das Allantoisepithel

Das Epithel, das die Allantois auskleidet, ist ein typisches kubisches und hochprismatisches Epithel, das deutliche Schluobleisten besitzt (Abb. 22). Eine spezielle Differenzierung an der Zelloberfläche ist nicht nachweisbar. Zwischen der Basalmembran und dem Zellkern finden sich in sehr vielen Zellen Glykogeneinlagerungen (Abb. 23). Die Reaktionen auf unspezifische Esterasen und auf DPN-H-Diaphorase fallen im Allantoisepithel positiv aus (Abb. 19 a). Ganz leicht positiv ist auch die Reaktion auf Succinodehydrogenase.

B. Das Amnion

Das Amnion stellt einen pflaumenförmigen, glattwandigen Sack dar, dessen Inhalt etwa 78 Liter beträgt. An einer Stelle findet sich eine kegelförmige Aufwölbung in die Amnionhöhle hinein. Aus der Spitze des Kegels ragt der etwa 6 cm lange Teil der Nabelschnur, der vom Amnion überzogen wird. Das Amnion ist im Bereich dieser kegelförmigen Aufwölbung glatt, insbesondere finden sich hier keine Amnionperlen. Hippomanes haben wir ebenfalls keine gefunden.

Das Amnion ist mit dem inneren Blatt der Allantois zum Allantoamnion verwachsen, mit Ausnahme der kegelförmig erhabenen Stelle, an der die beiden allantoamnioten Gefäße aus den Nabelschnurgefäßen abgehen und in einem fast rechten Winkel auseinanderweichen, so daß hier ein Raum zwischen Allantois und Amnion zustande kommt, den wir als allanto-amniote Tasche bezeichnen. In dieser Tasche liegt die Nabelblase, die fest mit dem Amnion verwachsen ist. Die paarigen allanto-amnioten Hauptgefäße umgrenzen diese allanto-amniote Tasche an derjenigen Stelle, an welcher Amnion und Allantois auseinanderweichen. Dadurch kommt ein Gefäßring zustande, aus dem nach allen Seiten radiär die weiteren Gefäßäste zum Amnion ziehen. Die Nabelblase liegt im Zentrum dieses Gefäßringes.

C. Die Nabelschnur

Die Nabelschnur (Funiculus umbilicalis) besitzt einen Teil, der vom Amnion umhüllt wird, die Amnionportion, und einen Teil, der



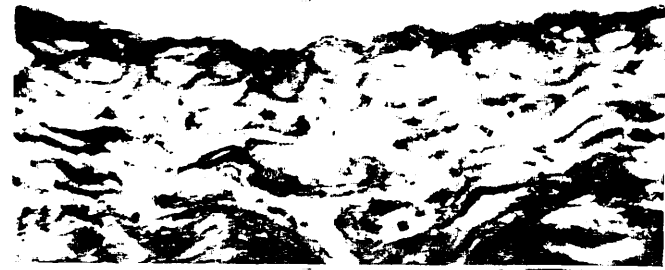
20a

20b



21a

21b



22



23

Abb. 22 und 23. Allantoisepithel. Fixation: Carnoy, Vergr. 520 \times . — *Abb. 22.* Färbung: Azan. Die Epithelien besitzen sehr chromatinarme Kerne mit einem deutlichen Nucleolus. An der Oberfläche ein feines, aber deutliches Schlußleistennetz. — *Abb. 23.* Glykogen-Reaktion nach Bauer. Die meisten Epithelzellen der Allantois enthalten in ihrem basalen Cytoplasma Glykogen, das auf der Abbildung tiefschwarz in Erscheinung tritt.

nur in der Allantois verläuft, die Allantoisportion. Die Amnionportion enthält drei Gefäße, eine Vene und zwei Arterien. Die Allantoisportion dagegen besitzt vier Gefäße, zwei Venen und zwei Arterien. Die Amnionportion ist sehr kurz. Bei dem einen Präparat, bei dem wir die Nabelschnur unverletzt erhalten konnten, mißt die Amnionportion 6,2 cm. Die Allantoisportion dagegen ist relativ lang. Wir

Abb. 20 und 21. Kryostatschnitte, Vergr. 100 \times . — *Abb. 20.* Reaktion auf alkalische Phosphatase, Gegenfärbung mit Hämalan nach Mayer. An der Membrana chorii und an den Blutzottenstämmen ist die Reaktion stark positiv, wie dies *Abb. 20a* zeigt. In *Abb. 20b* ist eine Faltenzotte getroffen, deren Epithelien leicht positiv reagieren. — *Abb. 21.* Reaktion auf unspezifische Esterasen. Links in *Abb. 21a* die Membrana chorii und ein abgehender Blutzottenstamm. Die Zylinderepithelien auf diesen beiden Gebilden sind etwas stärker positiv wie die Epithelien auf den Blutzotten. Die Diplokaryonten treten als stark positive Stellen deutlich hervor. In *Abb. 21b* ist eine Faltenzotte getroffen, deren Zylinderepithelien, besonders im apicalen Zellteil, stark positiv reagieren.

konnten an dem uns zur Verfügung stehenden intakten Präparat eine Länge von 57.8 cm feststellen. Damit beträgt das Verhältnis der Amnionportion zur Allantoisportion 1:9. Die Maße für das zweite Präparat dürften sich um ähnliche Werte bewegen, wie aus den Resten der Nabelschnur gefolgert werden darf.

An der Reißstelle ist die Nabelschnur sehr dünn. Die drei Umbilicalgefäße sind in diesem Bereich verengt. Dieses Verhalten dürfte die Tatsache erklären, daß bei der Geburt nur einige wenige Tropfen Blut an der Reißstelle ausgetreten sind.

Diskussion

Die Form und die äußere Fläche des Allantochorion zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Befunden, die *Schauder* [1929, 1944] an der Placenta des amerikanischen Tapirs erheben konnte. So besitzt der Tapir wie das Panzernashorn eine zweizipflige Placenta, deren Zipfel verschieden groß sind. Entlang der kleinen Curvatur findet *Schauder* [1929, 1944] ebenfalls die zottenfreien Straßen.

Auch die Verteilung der Zotten auf der Außenfläche des Allantochorion stimmt beim Panzernashorn und Tapir überein. *Schauder* [1929] beschreibt beim Tapir zwei Zottenarten. Er hat zwischen den gewöhnlichen Zottenbüscheln, die wir beim Panzernashorn als Blattzotten bezeichnet haben, unregelmäßig große Stellen gefunden, die mit kleinen warzenartigen Erhebungen besetzt sind. Nach den Abbildungen, die *Schauder* [1929] von diesen eigenartigen Stellen gibt, glauben wir, daß es sich dabei um diejenigen Zotten handelt, die wir als Faltenzotten beschrieben haben.

Nach dem uns vorliegenden Material der Placenta eines zweihörnigen afrikanischen Nashorns (vgl. *Ludwig* [1962 a]) zu schließen, dürften die Placenten der beiden Nashornarten weitgehend übereinstimmen. Dies gilt nicht nur für die Oberflächenbetrachtung, sondern auch für den histologischen Bau der Zotten. So haben wir bei beiden Nashornarten die Blatt- und Faltenzotten gefunden (vgl. *Ludwig* [1962 a]).

Die Placenten der Equiden dagegen (vgl. *Ludwig* [1962 a], *Dolinar*, *Ludwig* und *Müller* [1963]) besitzen eine dreizipflige Placenta. Das Chorion trägt nur eine Zottenart, die mit den Blattzotten der Nashornplacenta zu vergleichen ist. Ein Homologon für die Faltenzotten haben wir bei den Placenten der Equidae nicht gefunden. Auch die zottenfreien Straßen entlang den großen allantochochialen Gefäßen sind bei den Equidenplacenten nicht vorhanden.

Dagegen zeigt das Zylinderepithel auf der Membrana chorii und auf den Zottenstämmen bei Placenten der Equidae und Rhinocerotidae eine weitgehende Übereinstimmung. Diese Übereinstimmung erstreckt sich auch auf den Ausfall der histochemischen Reaktionen (vgl. *Dolinar*, *Ludwig* und *Müller* [1963]). Wir glauben uns daher berechtigt, der Membrana chorii und den Zottenstämmen in den Placenten aller Perissodactyla eine gleichartige Funktion zuschreiben zu dürfen. Da bei den Equidae diese Stellen über den Mündungen der Uterindrüsen liegen (*Drieux* und *Thiéry* [1949], *Amoroso* [1961]), nehmen wir an, daß das Zylinderepithel für die Resorption der Uterinmilch spezialisiert ist. Daß dasselbe auch für die Placenten der Nashörner Geltung haben dürfte, schließen wir aus der Ähnlichkeit mit den Placenten der Tapire, bei denen *Schauder* [1929] die Mündungen der Uterindrüsen ebenfalls an der Membrana chorii gefunden hat. Die histochemischen Befunde stützen unsere Annahme.

Die Blattzotten der Nashornplacenten und die fingerförmigen Zotten der Equidenplacenten stimmen in ihrem Bau, wenn wir von der Zottenform absehen, weitgehend überein. So sind diese Zotten die Träger der Epithelplatten, denen wir in Übereinstimmung mit *Tafari* [1886] den Stoffaustausch durch Diffusion zuschreiben (vgl. auch *Amstutz* [1960]). Diese Auffassung wird gestützt durch die Tatsache, daß der Ionenaustausch einen Prozeß darstellt, der sehr viel Energie benötigt, welche durch die Spaltung von Adenosintriphosphat geliefert wird (*Judah* und *Ahmed* [1964]). Die außerordentlich starke Reaktion auf Adenosintriphosphatase in den Blattzotten findet damit ihre Erklärung.

Da wir vermuten, daß die Faltenzotten eine Spezialisierung des Trophoblasten darstellen, welche für die Resorption von höhermolekularen Verbindungen dient, haben wir sie mit den Areolae der Bovidenplacenten verglichen. Sowohl die Zellform wie auch die histochemischen Ergebnisse stimmen sehr gut mit den Befunden überein, die *Björkman* [1954] in den Areolae der Placenta des Rindes erheben konnte (vgl. *Ludwig* und *Müller* [1965]). Da gewisse Unterschiede, besonders in morphologischer und histochemischer Hinsicht zwischen den Faltenzotten und den Zylinderepithelien auf der Membrana chorii bestehen, muß durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden, ob in diesen beiden Stellen eine tieferreichende Spezialisierung auf gewisse resorbierbare Stoffe in der Placenta der Rhinocerotidae stattgefunden hat.

Die Diplokaryonten auf den Blattzotten stimmen histochemisch

sehr gut mit den Diplokaryonten in der Rinderplacenta überein, wie sie von Björkman [1954] beschrieben worden sind. Diese Tatsache hat uns ja auch bewogen, ihnen den gleichen Namen zu geben (vgl. Ludwig und Müller [1965]). Doch sind die Ergebnisse unserer Untersuchungen noch nicht ausreichend, um eine Hypothese über die Funktion der Diplokaryonten aufzustellen.

Über die Natur der einzelnen Bindegewebszellen, die in der Membrana chorii gelegen sind und eine positive Succinodhydrogenase- und DPN-H-Diaphorase-Reaktion zeigen, können wir nichts sagen.

An der Nabelschnur fällt der relativ kurze Amnionteil gegenüber dem langen Allantoisteil auf. Das Verhältnis der beiden Teile zueinander beträgt 1:9. Beim Tapir hat Schauder [1929] ein Verhältnis von 1:3 gefunden. Bei den Equiden ist die Amnionportion entweder gleichlang oder länger als die Allantoisportion (Dolinar, Ludwig und Müller [1963]). Die Tapiridae und Rhinocerotidae weichen in dieser Beziehung sehr charakteristisch von den Equiden ab. Dabei scheinen die Nashörner die kleinste Amnionportion zu besitzen, die man bis heute bei den Perissodactyla kennt.

Zusammenfassung

Die Geburtsplacenta des Panzernashorns ist zweizipflig. Ein Zipfel, das große Horn, ist weiter und länger als der zweite, das kleine Horn. Die Zottenbüschel sind über das ganze Chorion verteilt mit Ausnahme von breiten zottenfreien Straßen entlang den großen Gefäßstämmen des Allantochorion. Die Zotten selbst treten in zwei Formen auf: als Blattzotten und als Faltenzotten. Die Blattzotten stimmen in ihrem mikroskopisch-anatomischen Bau und in bezug auf ihre histochemischen Reaktionen mit den fingerförmigen Zotten der Equidenplacenten überein. Des weiteren findet sich zwischen ihren gewöhnlichen Epithelien ein zweikerniger Zelltyp, dessen histochemische Eigenschaften mit denen der Diplokaryonten der Bovidenplacenten übereinstimmen. Wir nennen sie daher ebenfalls Diplokaryonten. Die Faltenzotten zeigen denselben Bau und dieselben histochemischen Reaktionen wie die Areolae der Bovidenplacenten. Wir halten sie deshalb für die entsprechenden funktionellen Homologa. Die Placenta des Panzernashorns nimmt damit eine Zwischenstellung zwischen den Placenten der Equiden einerseits und denjenigen der Boviden andererseits ein.

Summary

The full-term placenta of the rhinoceros is bicornate. One excrescence, the large horn, is wider and longer than the second, the small horn. The villi are distributed over the entire chorion with the exception of wide villus-free "streets" along the large vascular trunks of the allantochorion. The villi occur in two forms: as leaf-villi

and plicate villi. With respect to their microscopic-anatomic structure and their histochemical reactions, the leaf-villi conform with the finger-like villi of the placentas of the Equidae. Furthermore, along with the usual epithelium, one finds cell types with two nuclei, whose histochemical characteristics conform with those of the diplokaryon of the bovine placentas. We call them Diplokaryons. The plicate villi exhibit the same structure and the same histochemical reactions as the Areolae of the bovine placentas. We consider them as the corresponding functional homolog. The placenta of the rhinoceros therefore assumes an intermediate position between the placentas of the Equidae of the one hand and those of the Bovinae on the other hand.

Résumé

Chez *Rhinoceros unicornis* L. le placenta à terme présente un aspect bicolore; l'une des cornes est plus longue et plus large («grande corne») que l'autre («petite corne»). Les villosités sont réparties uniformément sur tout le chorion sauf le long du trajet des gros vaisseaux de l'allanto-chorion, où elles font défaut. Les villosités se présentent sous deux formes: les villosités frondiformes et les villosités en replis. Les premières correspondent, par leur structure histologique et les réactions histo-chimiques qu'elles présentent, aux villosités digitées du placenta des Equidés. De plus, elles montrent entre leurs cellules épithéliales ordinaires des cellules binucléées, dont les propriétés histo-chimiques correspondent à celles des diplokaryontes du placenta des Bovidés. Nous les nommons pour cette raison également diploka-ryontes. Les villosités en replis montrent la même structure et les mêmes réactions histo-chimiques que les «areolae» du placenta des Bovidés: c'est pourquoi nous pensons qu'elles représentent les homologues fonctionnels de ces formations. Le placenta du rhinocéros unicolore se place ainsi dans une position intermédiaire entre celui des Equidés d'une part et celui des Bovidés d'autre part.

LITERATUR

- Amoroso, E. C.: Placentation: in "Marshall's Physiology of Reproduction", 3rd Ed., ed. A. S. Parkes, vol. 2, pp. 127-397 (Longmans, Green & Co., London/New York/Toronto 1961).
- Amstutz, E.: Beobachtungen über die Reifung der Chorionzotten in der menschlichen Placenta mit besonderer Berücksichtigung der Epithelplatten. Acta anat. 42: 12-30 (1960).
- Björkman, N.: Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. Acta anat. Suppl. 22 = 2 ad vol. 22 (1954).
- Dolinar, Z. J.; Ludwig, K. S. und Müller, E.: Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Placenten der Ordnung Perissodactyla: eine Geburtsplacenta von *Equus asinus* L. Acta anat. 53: 81-96 (1963).
- Drieux, H. et Thiéry, G.: Placentation chez les Mammifères domestiques. Placenta des Equidés. Rec. Méd. vét. 125: 197-214 (1949).
- Judah, J. D. and Ahmed, K.: The biochemistry of sodium transport. Biol. Rev. 39: 160-193 (1964).

- Lang, E. M.: Beobachtungen am Indischen Panzernashorn (*Rhinoceros unicornis*). Zool. Garten NF 25: 369-409 (1961).
- Ludwig, K. S.: Zur Kenntnis der Geburtsplacenta der Ordnung Perissodactyla. Acta anat. 49: 154-167 (1962a). - Beitrag zum Bau der Giraffenplacenta. Acta anat. 48: 206-223 (1962b).
- Ludwig, K. S. und Müller, E.: Zur Histochemie der Placenta des Panzernashorns (*Rhinoceros unicornis* L.). Anat. Anz. 115: Erg. H. 155-159 (1965).
- Naaktgeboren, C. und Zwillenberg, H. H. L.: Untersuchungen über die Auswüchse am Amnion und an der Nabelschnur bei Walen und Huftieren. mit besonderer Berücksichtigung des europäischen Hausrindes. Acta morph. neerl.-scand. 4: 31-60 (1961).
- Schauer, W.: Über Anatomie, Histologie und Entwicklung der Embryonalanhänge des Tapirs. Morph. Jb. 60: 106-178 (1929). - Zur vergleichenden Anatomie der inneren weiblichen Geschlechtsorgane, embryonalen Anhangsorgane und Placenta des Pferdes und Tapirs. Baum-Festschrift pp. 273-283 (1929). - Der gravide Uterus und die Placenta des Tapirs im Vergleich von Uterus und Placenta des Schweines und Pferdes. Morph. Jb. 89: 407-456 (1944).
- Starck, D.: Ontogenie und Entwicklungsphysiologie der Säugetiere: in *Kükenthal's* Hdb. d. Zoologie, 8. Band, 22. Lieferung, Teil 9, Beitrag (7) (Walter de Gruyter & Co., Berlin 1959).
- Tafani, A.: Sulle condizioni utero-placentali della vita fetale (Pubb. R. Ist. Stud. sup., Firenze 1886): cit. *Hermann-Schwalbe's* Jber. Fortschr. Anat. Physiol., 1. Abt. 15: 602-607 (1886).
- Wachstein, M. and Meisel, E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiological pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. Amer. J. clin. Path. 27: 13-23 (1957).

Eingegangen 2. Mai 1964

Adresse der Autoren: Dr. Z. J. Dolinar und Prof. Dr. K. S. Ludwig, Anatomisches Institut der Universität Basel, Pestalozzistrasse 20, Basel (Schweiz);
Erl. Dr. E. Müller, Forschungslaboratorien der J. R. Geigy AG, Basel (Schweiz)

Institut d'anatomie humaine normale d'histologie et d'embryologie générale
de l'Université de Gênes
Directeur: Prof. F. Rossi

ACTIVITÉS ENZYMATIQUES DANS LES ÉBAUCHES DES DEUX GONADES FEMELLES DE *GALLUS DOMESTICUS* PENDANT L'ONTOGÉNÈSE ET APRÈS L'ÉCLOSION

Par J. P. DELFORGE et MARIA SCHIPPERS

Au XXIII^e Congrès de la «Società Italiana di Anatomia» (octobre 1963), dans une communication préliminaire sur l'étude du développement de la gonade femelle de *Gallus dom.*, effectuée avec différentes réactions enzymatiques, nous avons rap-
pelé que dans cette espèce, les deux gonades évoluent d'une façon différente pendant l'ontogénèse. La gonade gauche seule se différencie et accomplira ses fonctions ovariennes dans la vie post-embryonnaire. La gonade droite n'arrivera pas à maturité et subira une involution plus ou moins complète. Ce phénomène intéressant qui a attiré l'attention des chercheurs (par exemple: *Loisel* [1903], *Sonnenbrodt* [1908], *Swift* [1914, 1915], *Firket* [1914, 1920], *Brode* [1928], *Dantschakoff* [1932], *Witschi* [1935], *Stanley et coll.* [1940], *Marin* [1956], *Simon* [1960], *Hughes* [1963]) depuis le siècle dernier, a été l'objet d'études dans différents genres d'oiseaux mais n'ont que rarement été effectuées avec des techniques histoenzymologiques.

Nous nous sommes proposés d'étudier l'évolution des activités enzymatiques dans ces gonades au cours de leur morphogénèse précoce et de leur différenciation ultérieure. L'apparition des cordons germinatifs et des gonocytes, la comparaison entre l'ébauche gauche et l'ébauche droite, le processus involutif de l'ovaire droit, l'évolution de la médullaire de l'ébauche gauche, la formation des follicules primaires et leur développement ultérieur méritent d'être analysés.

Les études préliminaires auxquelles nous avons procédé à quelques étapes du développement embryonnaire ont mis en évidence des localisations particulières d'activités enzymatiques. Cela nous a permis d'organiser une étude systématique, qui débute au premier stade où apparaît l'ébauche gonadique jusqu'à la naissance: et en étudiant aussi les différentes étapes du développement postnatal jus'au 35^e jour.

Une analyse sommaire de la littérature nous permettra de considérer l'état actuel de nos connaissances concernant le développement de la gonade de *Gallus*. Cette analyse peut être divisée en deux parties:

Ces recherches embryologiques d'histochimie enzymologique, exécutées par les Docteurs *Jean Pierre Delforge* (Belgique) et *Maria Schippers* (Pays Bas), ont été financées par le C.N.R.I. (Rossi).