

Aus dem Anatomischen Institut
Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger
und aus dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Universität Basel

ZUR ULTRASTRUKTUR DER
BLATTZOTTENEPITHELIIEN IN DER PLACENTA
DES INDISCHEN PANZERNASHORNS
(*RHINOCEROS UNICORNIS* L.)*

Von K. S. LUDWIG und W. VILLIGER

Einleitung

Das Allantochorion der Placenta des indischen Panzernashorns (*Rhinoceros unicornis* L.) besitzt zwei verschiedene Zottenarten, die Blatt- und die Faltenzotten; die Epithelzellen der beiden Zottenarten zeigen lichtmikroskopisch und histochemisch charakteristische Unterschiede (Ludwig und Müller [1965], Dolinar, Ludwig und Müller [1965]).

Wir hatten nun Gelegenheit, Stückchen aus der Placenta eines am 12. Juni 1964 im Zoologischen Garten Basel geborenen Panzernashorns sofort nach der Geburt an Ort und Stelle zu fixieren**. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über elektronenmikroskopische Befunde an den Epithelzellen der Blattzotten.

Technik

Kleine Gewebstückchen der Placentaroberfläche wurden in nach Palade gepufferter 2%iger Osmiumtetroxyd-Lösung (pH 7,3) bei einer Temperatur von etwa 2-4°C fixiert. Anschließend erfolgte die Entwässerung in einer aufsteigenden Acetonreihe und die Einbettung in Epon 812. Die Härtung der Blöcke wurde im Heizschrank bei 60°C während etwa 55 Stunden vorgenommen. Sämtliche Dünnschnitte wurden mit Bleiacetat nach Millonig [1961] nachkontrastiert.

Die Herstellung lichtoptischer Präparate und die Ausführung der histochemischen Reaktionen wurden nach den Angaben von Dolinar, Ludwig und Müller [1965] durchgeführt.

* Herrn Prof. Dr. G. Töndury mit den besten Wünschen zum 60. Geburtstag überreicht.

** Herrn PD Dr. E. M. Lang, Direktor des Zoologischen Gartens Basel, sowie seinem wissenschaftlichen Assistenten, Herrn Dr. H. Wackernagel, sprechen wir für ihr Entgegenkommen sowie die Überlassung des Materials unseren herzlichsten Dank aus.

Befunde

Lichtoptisch (vgl. Abb. 1) besteht der Epithelüberzug der sekundären und tertiären Blutzotten aus leicht abgeplatteten bis kubischen Zellen. Weder Zellgrenzen noch Schlußleisten lassen sich nachweisen. Der Zellapex ist an seiner Oberfläche nicht ganz scharf begrenzt. Die Kapillaren des Stromas wölben sich stellenweise gegen das Epithel hin vor, so daß die für die Blutzotten charakteristischen Epithelplatten entstehen.

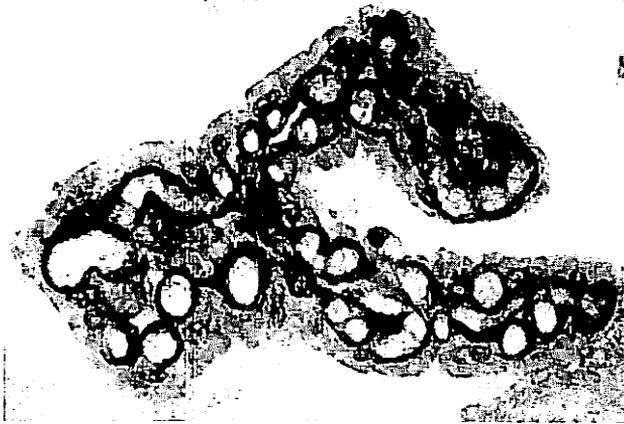


Abb. 1. Querschnitt einer sekundären Blutzotte. Fixation: Carnoy, Färbung: Azan, lichtoptisch, Vergr. 510 \times . Die Zelloberflächen sind unscharf begrenzt, Zellgrenzen lassen sich nicht erkennen.

Elektronenoptisch besteht der Epithelüberzug aus einzelnen Epithelzellen, deren Zellgrenzen ineinander verschlungen und durch Desmosomen miteinander verbunden sind (Abb. 2, 3, 4 a). An denjenigen Stellen, an welchen die Epithelzellen breitflächig zusammenstoßen, finden sich entlang der Zellmembran feine fibrilläre Strukturen, die jeweils in der Umgebung der Desmosomen dichter werden (Abb. 3, 4 a). An der Zellbasis sind die Zellgrenzen besonders stark ineinander verschlungen (Abb. 5). Von den der Zellbasis anliegenden Kapillaren sind die Epithelzellen durch eine relativ kräftige Basalmembran getrennt (Abb. 2, 5).

In einer Zelle sind auffallend häufig zwei Zellkerne in einem Schnitt getroffen (Abb. 2, 3). Doch läßt sich ohne Serienschnitte nicht mit Sicherheit entscheiden, ob tatsächlich zwei Zellkerne vorhanden sind oder nur ein einziger, welcher wegen seiner leicht nierenförmigen

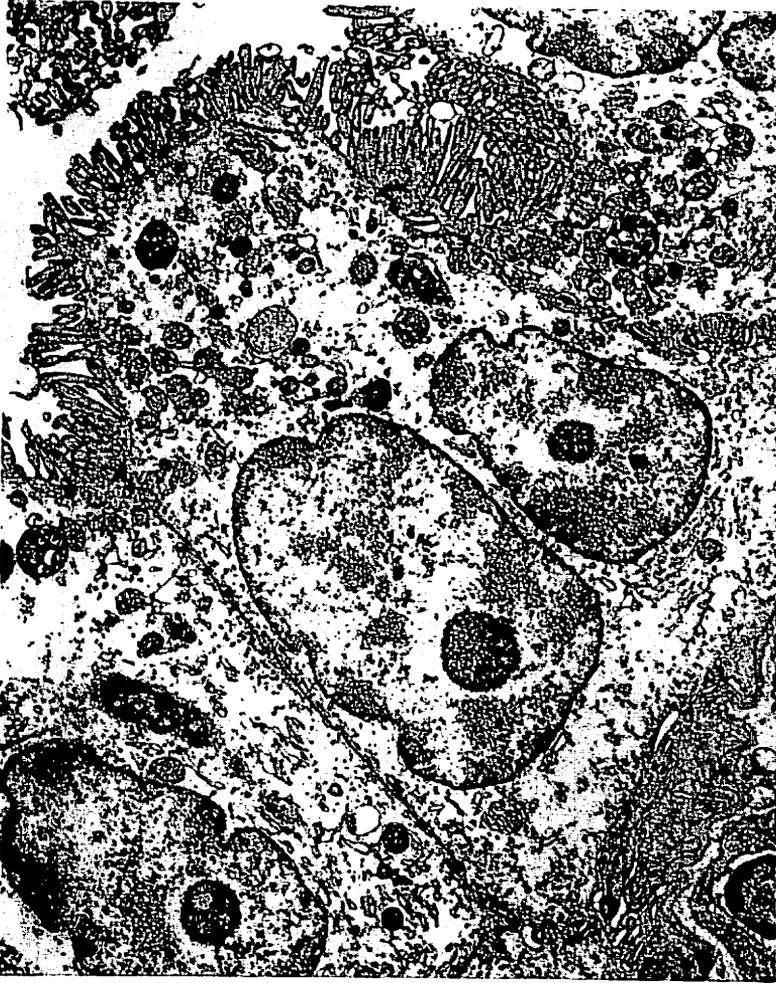


Abb.2. Epithelzellen einer Blutzotte. Vergr. 7000 \times . Microvilli an den Zelloberflächen, Zellgrenzen mit Desmosomen. Die Zellen sitzen einer Basalmembran auf.

Form, die in lichtoptischen Präparaten vereinzelt beobachtet werden kann (vgl. Abb.1,6), zweimal getroffen wurde (vgl. Abb.2,3).

Der Zellapex trägt schlanke, ziemlich dicht gestellte Microvilli (Abb.2,3). Diese enthalten feine, parallel zu ihrer Längsachse angeordnete Fibrillen, welche ins apikale Cytoplasma einstrahlen (Abb.2,3). Direkt unter der Zelloberfläche findet sich im Cytoplasma kein kontinuierlicher Faserfilz, der mit den Fibrillen in den Microvilli zusammenhängen würde (Abb.3).



Abb. 3. Apikaler Teil einer Epithelzelle. Vergr. 12000 \times . Die Microvilli mit feinfibrillären Strukturen, Mitochondrien und «dense bodies». In Kernnähe Golgi-Lamellen.

Zwischen der apikalen Zelloberfläche und den Zellkernen finden sich Mitochondrien, einige «dense bodies» und ein nicht sehr gut ausgebildetes vesikuläres Ergastoplasma (Abb. 2, 3, 4 a, 7). In der Nähe der Zellkerne, besonders lateral von ihnen, sind einige Golgi-Lamellen zu erkennen (Abb. 3). Die Mitochondrien besitzen eine Vielzahl von Cristae mitochondriales (Abb. 2, 3, 4 a, 7). Der positive Ausfall der histochemischen Reaktionen auf DPNH-Diaphorase, einem in den Mitochondrien enthaltenen Fermentsystem, ist besonders stark im Zellapex, stimmt also gut mit der topographischen Lage der Mitochondrien überein (Abb. 8; vgl. mit Abb. 2 und 7). Die «dense bodies»

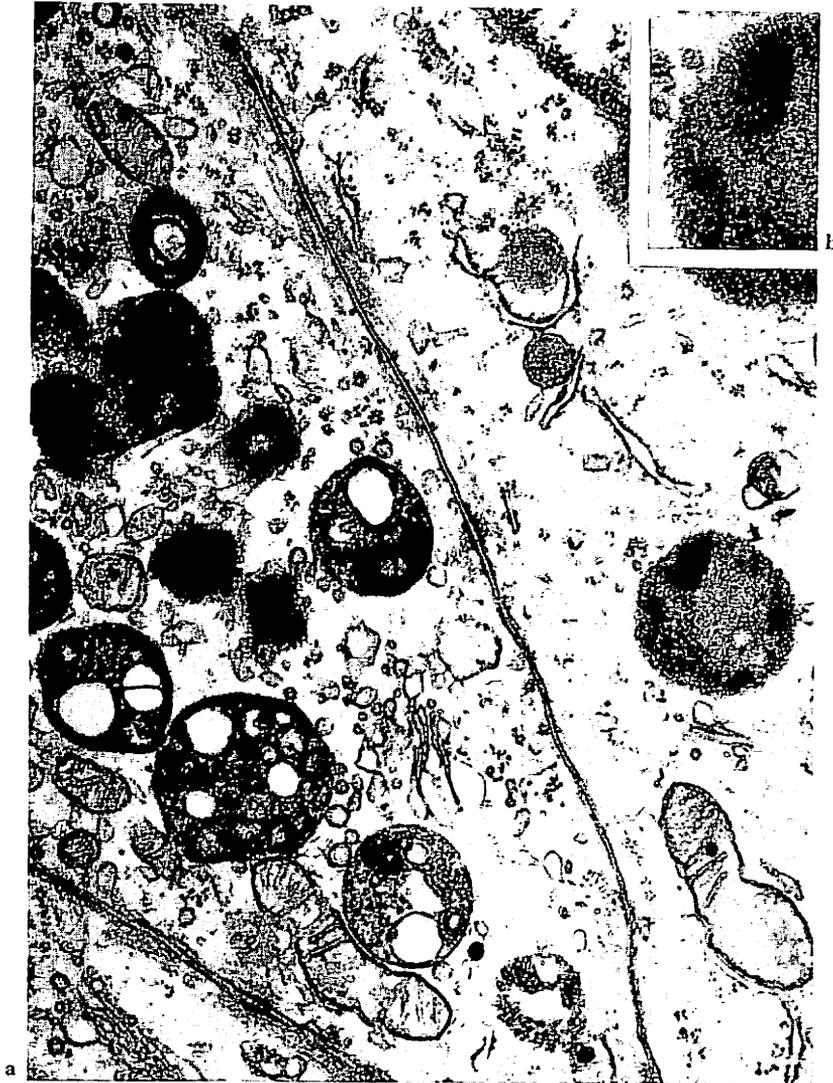


Abb. 4. Detail aus dem apikalen Zellbereich. – Abb. 4a: Vergr. 29000 \times . Zellgrenzen mit Desmosomen. «Dense bodies», Mitochondrien und Golgi-Lamellen. – Abb. 4b: Vergr. 56000 \times . Ausschnitt aus einem «dense body» mit lamellärer Struktur.

haben einen polymorphen Inhalt, teils mit vesikulären Einschlüssen (Abb. 2, 3, 4 a, 7). Öfters treten in den «dense bodies» lamelläre Strukturen auf, die an Abdrücke von Fingerhautleisten erinnern (Abb. 4b).

In der Zellbasis, d.h. zwischen den Zellkernen und der Basal-



Abb. 5. Basaler Teil der Epithelzellen. Vergr. 22000 \times . Die Zellgrenzen sind stark ineinander verschlungen. Eine der Zellen besitzt ein kräftig ausgebildetes Ergastoplasma.

Abb. 6. Querschnitt einer sekundären Blutzotte. Fixation: Carnoy, Färbung: Methylgrün-Pyronin, lichtoptisch, Vergr. 510 \times . Die Epithelplatten sind kaum angefärbt. Rechts neben der oben abgebildeten Epithelplatte ein Diplokaryont, der durch sein stark basophiles Cytoplasma auffällt. Die übrigen Epithelzellen zeigen höchstens in ihren basalen Teilen eine mäßige Basophilie.

Abb. 7. Detail aus dem apikalen Zellbereich. Vergr. 29000 \times . Zahlreiche Mitochondrien, «dense bodies».



6



7



Abb. 8. Ausschnitt aus einer sekundären Blutzotte. Kryostatsschnitt, DPNH-Diaphorase-Reaktion, lichtoptisch, Vergr. $510\times$. Die Epithelplatten sind negativ. Die apikalen Teile der übrigen Epithelzellen reagieren positiv.



Abb. 9. Epithelplatten mit Gefäßen. Vergr. $7000\times$. Im Cytoplasma zwischen den Epithelplatten Mitochondrien, Vakuolen und Ergastoplasma.



Abb. 10. Detail aus einer Epithelplatte. Vergr. 20 000 \times . Kurze, plumpe Microvilli, Zellgrenzen mit Desmosomen. Zahlreiche pinocytotische Bläschen, auch im Cytoplasma der Endothelzelle.

membran, ist in den meisten Zellen ein mäßig entwickeltes, zum Teil vesikuläres Ergastoplasma vorhanden (Abb. 2). In einigen Zellen dagegen findet sich in der Zellbasis ein sehr gut ausgebildetes Ergastoplasma (Abb. 5). Dies stimmt mit der lichtoptisch zu beobachtenden Tatsache überein, daß in einigen Zellen eine deutliche Basophilie nachzuweisen ist (Abb. 6).

Lichtoptisch sind die Epithelplatten mit basischen Farbstoffen kaum anfärbbar (Abb. 6). In ihrem Bereich fällt auch die histochemische Reaktion auf DPNH-Diaphorase negativ aus (Abb. 8). Dies stimmt mit dem elektronenoptischen Befund überein: In den Epithelplatten findet sich kein Ergastoplasma, und es können keine Mitochondrien nachgewiesen werden (Abb. 9, 10). Die Microvilli sind auf den Epithelplatten weniger zahlreich und stehen weiter auseinander als auf den übrigen Oberflächen der Epithelzellen (Abb. 9, 10; vgl. mit Abb. 2, 3). Sie sind relativ kurz und plump (Abb. 10). Zellgrenzen mit Desmosomen können im Bereich der Epithelplatten nachgewiesen werden (Abb. 10). Sie sind immer stark ineinander verschlungen. Im Cytoplasma, welches seitlich an die Epithelplatten angrenzt,

finden sich zahlreiche Mitochondrien und ein gut ausgebildetes Ergastoplasma (Abb. 9). In diesen Cytoplasmaabschnitten können auch einzelne Vakuolen enthalten sein (Abb. 9). Die Epithelplatten sind von den anliegenden Endothelzellen der Gefäßwand durch eine typische Basalmembran getrennt (Abb. 9, 10). Das an diese Basalmembran angrenzende Cytoplasma sowohl der Epithelzellen wie auch der Endothelien enthält viele pinocytotische Bläschen (Abb. 10).

Diskussion

Von den Placenten der Ordnung Perissodactyla ist einzig die Equidenplacenta elektronenoptisch genauer von *Björkman* [1965 a] beschrieben worden. Er untersucht die Ultrastruktur der maternofetalen Verbindung bei einer Pferdeplacenta aus dem 7. Trächtigkeitsmonat. Da in diesem Zeitpunkt die Pferdeplacenta ihren definitiven Bau erreicht hat, sind die Befunde *Björkmans* [1965 a] mit denjenigen, die wir an der Geburtsplacenta des Panzernashorns erheben konnten, direkt vergleichbar.

Die Zottenepithelien der Pferdeplacenta sind in der Regel einkernig. In der Panzernashornplacenta scheinen sie oft zweikernig zu sein. Sicher zweikernig sind die Diplokaryonten (*Ludwig und Müller* [1965]). Die topographische Lage von Zellkern, Mitochondrien und Ergastoplasma innerhalb einer Epithelzelle stimmt in beiden Placenten überein. Die ineinander verschlungenen Zellgrenzen mit der apikalen Häufung der Desmosomen finden sich, wie wir aus den von *Björkman* [1965 a] veröffentlichten Abbildungen entnehmen können, ebenfalls bei der Equidenplacenta. Dies erklärt die bekannte Tatsache, daß der Epithelüberzug auf den Blutzotten der Panzernashornplacenta (*Dolinar, Ludwig und Müller* [1965]) sowie der Equidenplacenta (vgl. *Ludwig* [1962]) lichtoptisch scheinbar keine Zellgrenzen besitzt.

Björkman [1965a] beschreibt in den Epithelzellen der Pferdeplacenta «multivesicular bodies». Leider bildet er sie nicht ab. Wir glauben aber, daß diese «multivesicular bodies» mit den von uns in der Panzernashornplacenta beschriebenen «dense bodies» identisch sind. Die von uns beschriebenen «dense bodies» besitzen einen lysosomalen Charakter, da die Reaktion auf saure Phosphatase im apikalen Zellteil positiv ausfällt, in dessen Bereich auch diese Körper gelegen sind.

In der Pferdeplacenta gehen, wie auch in derjenigen des Panzer-

nashorns, die in den Microvilli der Zottenepithelzellen vorhandenen fibrillären Strukturen in ein fibrilläres Maschenwerk über, welches sich unter der Zelloberfläche befindet (*Björkman* [1965 a]). Ob dieses Maschenwerk aber ein Kontinuum darstellt oder ob es diskontinuierlich ist wie in der Panzernashornplacenta, wird nicht angegeben.

Aus dem bis jetzt Gesagten kann der Schluß gezogen werden, daß die Epithelzellen der Blattsotten in der Panzernashornplacenta mit denjenigen auf den Zottenbüscheln der Pferdeplacenta in ihrer Ultrastruktur übereinstimmen. Lichtoptisch ist diese Gleichheit schon von *Dolinar, Ludwig* und *Müller* [1965] festgestellt worden.

Eine Ausnahme machen nur die Diplokaryonten, die zwischen den Epithelien der Blattsotten der Panzernashornplacenta, sehr oft direkt anschließend an die Epithelplatten gelegen sind (*Ludwig* und *Müller* [1965], *Dolinar, Ludwig* und *Müller* [1965]). Lichtoptisch sind sie durch ihre Zweikernigkeit, ihre ausgeprägte Basophilie und die Intensität gewisser histochemischer Reaktionen charakterisiert. Wir erwähnen hier nur die besonders stark positive DPNH-Diaphorase-Reaktion (vgl. *Ludwig* und *Müller* [1965]). Diese Diplokaryonten dürften denjenigen Epithelzellen entsprechen, bei denen wir elektronenoptisch ein kräftig ausgebildetes Ergastoplasma gefunden haben, was ihre ausgesprochene Basophilie erklärt. Gerade neben den Epithelplatten finden wir ein ausgeprägtes Ergastoplasma und besonders viele Mitochondrien, was wiederum im Vergleich zu den lichtoptischen Befunden für die Diplokaryonten, auch in Hinblick auf ihre topographische Lage, charakteristisch ist. In der Pferdeplacenta scheinen nach den elektronenoptischen Befunden von *Björkman* [1965 a] keine ähnlichen Zellen vorhanden zu sein.

Auf Grund ihrer histochemischen Eigenschaften haben *Ludwig* und *Müller* [1965] die Diplokaryonten auf den Blattsotten der Panzernashornplacenta mit denjenigen in der Bovidenplacenta homologisiert. Die Gleichheiten waren auch der Anlaß, diesen spezialisierten Zellen in der Panzernashornplacenta den gleichen Namen wie in den Bovidenplacenten zu geben (vgl. *Ludwig* und *Müller* [1965]). Daß diese Homologisierung zu Recht erfolgte, geht aus dem Vergleich unserer elektronenoptischen Befunde mit denjenigen hervor, welche *Björkman* [1965 b] an den Diplokaryonten der Schafsplacenta, einer Bovidenart, erheben konnte. Dieser Forscher hat gefunden, daß die Diplokaryonten durch ein sehr kräftig ausgebildetes Ergastoplasma gekennzeichnet sind.

Die im Bereich der Epithelplatten sowohl im Cytoplasma der

Epithelzellen wie auch in demjenigen der Endothelzellen zahlreich vorhandenen pinocytotischen Bläschen könnten darauf hinweisen, daß hier Material durch die Zellen durchgeschleust wird, ohne daß dieses durch Zellfermente wesentlich verändert wird. Diese Befunde erweitern und ergänzen die auf Grund lichtoptischer Untersuchungen aufgestellte Hypothese, daß die Epithelplatten diejenigen Orte darstellen, in welchen Diffusionsvorgänge stattfinden (vgl. Dolinar, Ludwig und Müller [1965]).

Zusammenfassung

Die Ultrastruktur der Epithelzellen auf den Blattzotten der Panzernashornplacenta wird beschrieben. Aus den Befunden ergibt sich, daß diese Epithelzellen der Blattzotten mit denjenigen auf den Zottenbüscheln der Equidenplacenten identisch sind. Eine Ausnahme bilden die Diplokaryonten, die elektronenoptisch durch die große Zahl von Mitochondrien und das in der Zellbasis besonders stark ausgebildete Ergastoplasma charakterisiert sind. Im Bereich der Epithelplatten finden sich viele pinocytotische Bläschen, die auf einen intensiven Stofftransport schließen lassen.

Summary

The ultrastructure of the epithelial cells on the foliate-villi of the rhinoceros placenta is described. The findings show that these epithelial cells of the foliate-villi are identical with those on the villus-tufts of the placentas of the Equidae. One exception are the Diplokaryons which are electronmicroscopically characterised by the large number of mitochondria and the especially well developed Ergastoplasm. In the area of the epithelial plate there are many pinocytotic vesicles which give inference to an intensive transport of material.

Résumé

Description de l'ultrastructure des cellules épithéliales recouvrant les villosités frondiformes du placenta chez le Rhinocéros unicolore. Ces cellules épithéliales sont identiques à celles que l'on trouve à la surface des frondaisons placentaires chez les Equidés. Les diplokaryontes font exception; ils présentent au microscope électronique un grand nombre de mitochondries et un ergastoplasme particulièrement développé dans les portions basales de la cellule. Les plaques épithéliales renferment de nombreuses vésicules de pinocytose, ce qui fait admettre des phénomènes de transport très actifs.

LITERATUR

- Björkman, N.: The fine morphology of the area of foetal-maternal apposition in the equine placenta. *Z. Zellforsch.* 65: 285-289 (1965 a). – Fine structure of the ovine placentalome. *J. Anat., Lond.* 99: 283-297 (1965 b).
- Dolinar, Z. J.; Ludwig, K. S. und Müller, E.: Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Placenten der Ordnung Perissodactyla: zwei Geburtsplacenten des indischen Panzernashorns (*Rhinoceros unicornis* L.). *Acta anat.* 61: 331-354 (1965).

Ludwig, K. S.: Zur Kenntnis der Geburtsplacenten der Ordnung Perissodactyla. *Acta anat.* 49: 154–167 (1962).

Ludwig, K. S. und Müller, E.: Zur Histochemie der Placenta des Panzernashorns (*Rhinoceros unicornis* L.). *Anat. Anz.* 115: Erg. H. 155–159 (1965).

Millonig, G.: A modified procedure for lead staining of thin sections. *J. biophys. biochem. Cytol.* 11: 736–739 (1961).

Eingegangen 14. Mai 1965

Adresse der Autoren: Prof. Dr. K. S. Ludwig, Anatomisches Institut der Universität Basel, Pestalozzistraße 20, Basel (Schweiz); W. Villiger, Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Universität Basel, Pestalozzistraße 20, Basel (Schweiz)