

Über neue elektronenmikroskopische Befunde zur peripheren vegetativen Synapse am mesenterialen Lymphgefäß vom Meerschweinchen (*Cavia porcellus*)¹

Im Anschluss an Untersuchungen von HORSTMANN² und MISLIN³⁻⁵ zur Struktur und Funktion des mesenterialen Lymphgefäßes vom Meerschweinchen wurde dieses autonom-rhythmisch tätige Gefäß, dessen Aktivität auch im isolierten Zustand erhalten bleibt, eingehend elektronen-optisch analysiert. Die Untersuchungen bezweckten vor allem die Art der nervösen Endformation mit ihren peripheren synaptischen Endigungen zu klären.

Die Untersuchung beschränkte sich vorwiegend auf juvenile Tiere mit geringfügigem mesenterialen Fettkörper. Zur 2stündigen Fixierung diente 1%ige (gepufferte) OsO₄-Lösung (pH 7,4) nach BENNETT und LUFT⁶. Kontrastierung: im Block während der Dehydrierung mit Uranylacetat und Phosphorwolframsäure; Nachkontrastierung im Schnitt mit Bleinitrat. Ultramikrotom: Modell Porter Blum MT1. Mikroskop: Siemens Elmiskop I.

Die Innervation des mesenterialen Lymphgefäßes geht in der Peripherie von feinen marklosen Sympathicus-fäserchen aus, deren Ursprung in den vom Ganglion coeliacum kommenden Mesenterialnerven zu suchen ist. In der Adventitia der Gefäße enden dieselben in einem mit Methylenblau selektiv darstellbaren Nervenplexus. Die

Elemente dieses den Horstmannschen Muskelmanschetten (HORSTMANN²) zugeordneten nervösen Endapparates sind spindelförmige und trianguläre Lemnoblaster, die vegetative Axone umschliessen.

Zur Gefäßmedia hin werden diese teilweise bis zu 3 μ kolbenartig erweiterten Endabschnitte der Axone zumeist frei entlassen, um mit peripheren oder medialen Plasmafortsätzen der glatten Muskulatur in einen synaptischen Kontakt zu treten (Figur 1). Das fein granulierte allgemein wenig elektronendichte Axoplasma enthält neben vereinzelt Mitochondrien zahlreiche synaptische Bläschen, die in Axonlängsschnitten in linearen Ketten parallel zum Axolemm angeordnet erscheinen. In den peripheren Axonquerschnitten sind diese zumeist cyclisch gruppiert (Figur 1, 2 und 3) und eignen sich daher häufig zur sicheren Identifikation von Axonen, insbesondere

¹ Die Arbeit wurde in dem elektronenmikroskopischen Laboratorium des Pathologischen Institutes Mainz unter Leitung von Priv. Doz. Dr. R. BÄSSLER durchgeführt.

² E. HORSTMANN, Morph. Jahrbuch 97, 483 (1952).

³ H. MISLIN, Rev. suisse Zool. 68, 228 (1961).

⁴ H. MISLIN, Verhdt. dtsch. Zool. Ges. Akad. Verlaganst. Geest u. Portig, Leipzig (1963).

⁵ H. MISLIN und D. RATHENOW, Rev. suisse Zool. 68, 534 (1961).

⁶ H. S. BENNETT und J. H. LUFT, J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 113 (1959).



Fig. 1. Längsschnitt durch ein mesenteriales Lymphgefäß in der Muskelmanschettenregion. Neuromuskuläre Kontaktzone in der Gefäßadventitia zeigt eine direkte plasmatische Beziehung zwischen einem Axon (A) und dem Ausläufer (MA) einer glatten Muskelzelle (MZ). Der Lemnoblast (L) entlässt die Axone frei zur Mediamuskulatur hin. (Synaptic vesicles (SV) in cyclischer Anordnung; collagene Fasern (Kf); Kern eines Fibroblasten (N); Mitochondrien (Mi); (Arch. Nr. 4394; Mikr. Vergr. 10000, Abb. 12260 fach).

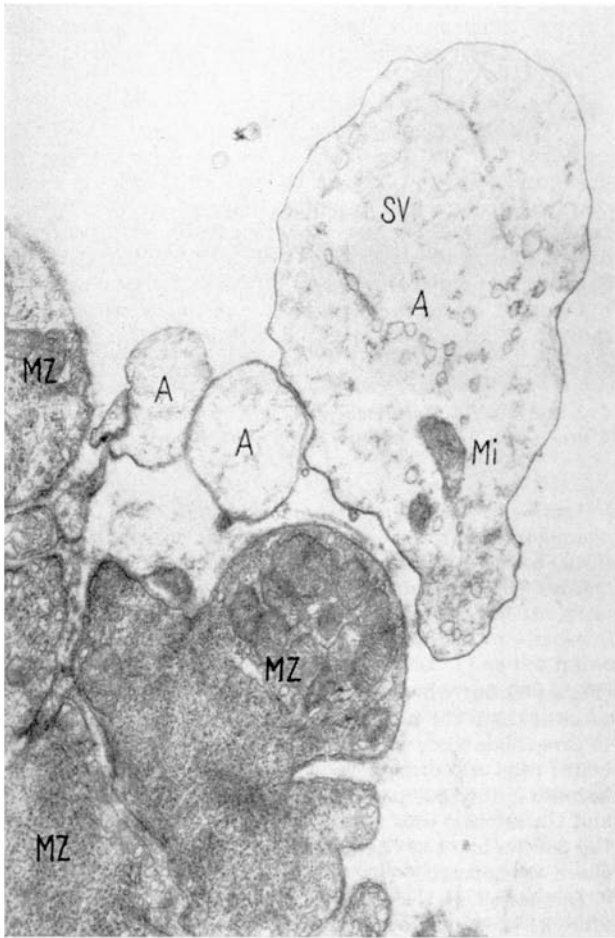


Fig. 2. Freie Axone (A) an der Mediagrenze. Pinocytosereiche Mediamuskelnzellen (MZ); cyclisch gruppierte (synaptic vesicles (SV); Mitochondrien (Mi); (Arch. Nr. 4450; Mikr. Vergr. 10000, Abb. 12260fach).

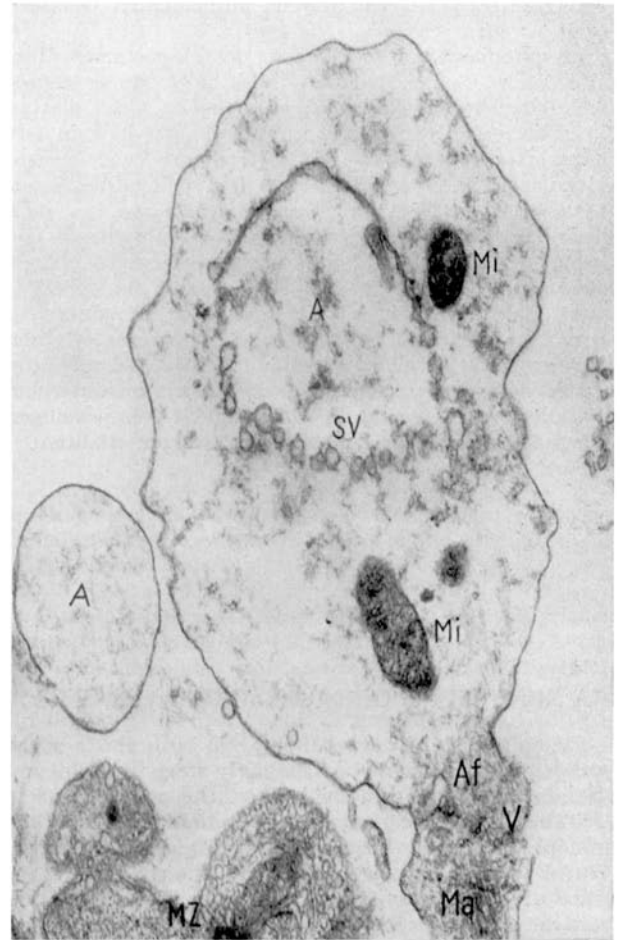


Fig. 3. Gleiche Region wie in Figur 2 in einem Abstand von $0,6 \mu$ geschnitten. Der Axonfortsatz (Af) tritt mit einem Muskelzellausläufer (Ma) in eine direkte plasmatische Beziehung. Beachte die Vesikel (V) an der Axongrenze. Muskelzellen (MZ); «synaptic vesicles» (SV); Mitochondrien (Mi); (Arch. Nr. 4451; Mikr. Vergr. 10000, Abb. 15000fach).

solchen zwischen der Mediamuskulatur, denen meistens eine sichtbare Beziehung zum ergastoplasma- und vakuolenreichen Lemnoblasten fehlt.

Die synaptische Beziehung zwischen den lobopodienartigen Muskelfortsätzen, für die eine gewisse amöboide Beweglichkeit angenommen werden darf und den Endabschnitten der Axone besteht in einem engen Membrankontakt, bei dem der intersynaptische Spalt zwischen der elektronendichten prä- und postsynaptischen Membran eine Weite von etwa $200 \text{ \AA}$ besitzt. Doch scheint eine gezielte Erregungsübertragung humeraler Art von Axon zum Effektor auch über erheblich weitere Distanzen gegeben zu sein. (CAESAR, EDWARDS und RUSKA⁷, RHODIN⁸, BRETTSCHEIDER⁹, u. a.). Es sei in diesem Zusammenhang auf partielle Auflösungsphänomene des Axolemm in unmittelbarer Nachbarschaft pinocytosereicher Muskelfortsätze im mesenterialen Lymphgefäß hingewiesen, wobei unter Ausbildung von Vesikeln an der Axonmembran örtlich begrenzt Poren auftreten. Über diese Befunde wird an anderer Stelle berichtet (SCHIPP¹⁰).

Neuere an Serienschritten erhobene Befunde zeigen, dass neben dem oben skizzierten Modus einer neuromuskulären Kontaktnahme am mesenterialen Lymphgefäß von

Cavia porcellus häufig direkte, engbegrenzte Cytoplasmakontakte zwischen glatten Muskelzellen und vegetativen Axonen bestehen (Figur 1, 2 und 3). Hierbei setzt sich das Axolemm in der Membran des Muskel-Zellausläufers fort. Die trennenden Membranen scheinen sich unter Ausbildung von Vesikeln (WOLFF¹¹) partiell aufzulösen (Figur 1 und 3). Ein Übertritt des Axoplasmas in das Effektorplasma ist nicht zu erkennen, weshalb nicht von einer Plasmakontinuität im Sinne eines syncytiellen Zusammenhanges gesprochen werden kann. Neuroeffektorische Beziehungen dieser Art werden vorwiegend in der adventitiellen neuromuskulären Kontaktzone des Lymphgefäßes beobachtet, wobei sich eine unterschied-

⁷ R. A. CAESAR, G. A. EDWARDS und H. RUSKA, J. Biophys. Biochem. Cytol. 3, 867 (1957).

⁸ J. RHODIN, Phys. Rev. 42, 48 (1962).

⁹ H. BRETTSCHEIDER, Über die Innervation der Muskelgefäße. Bad Oeynhausener Gespräche (Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964), vol. VI, p. 37.

¹⁰ R. SCHIPP, Z. Zellforsch., im Druck (1965).

¹¹ J. WOLFF, Z. Zellforsch. 65, 188 (1965).

liche Häufigkeit in den jeweils untersuchten Gefäßen ergab.

Die cytoplasmatische Struktur der lobopodialen Muskelfortsätze macht deutlich, dass auch diese neuromuskuläre Beziehung von Synapsennatur in der glatten Muskulatur des mesenterialen Lymphgefäßes kein fest verankertes Systemgefüge darstellt, das der neuromuskulären Synapse in der motorischen Endplatte der quergestreiften Muskulatur vergleichbar wäre; zumal durch die ausgeprägte Eigenkontraktilität dieses Gefäßes, mit der erhebliche Lumenschwankungen einhergehen, Unterschiede im Dehnungszustand der verschiedenen Strukturelemente in der Gefäßwand auftreten. Demnach ist anzunehmen, dass die hier dargestellten direkten plasmatischen Verbindungen zwischen Axon und Effektor synaptische Strukturen von transitorischem Charakter sind, die auch in Abhängigkeit vom jeweiligen Erregungszustand der Zellen Veränderungen erfahren.

Eine ausführlichere Darstellung der noch laufenden Untersuchungen zur Frage der peripheren vegetativen Synapse im mesenterialen Lymphgefäß wird folgen.

Summary. Electron microscopic investigations of innervation of the mesenteric lymphatic vessels of *Cavia porcellus* demonstrate that, besides membrane contacts between Axon and smooth muscle cell, a local direct plasmatic connection from the nature of synapses between the nerve and the effector cell have to be considered. From this study it has been concluded that also this neuromuscular junction is a transitoric structure and not a static connection comparable to the synapses in the motor end-plate of the striated muscle.

R. SCHIPP

Institut für Physiologische Zoologie, Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz (Deutschland), 30. November 1964.

A Study on the Ontogeny of Kidney in Chick

The epigenesis of the renal organ in birds starts in the intermediate mesoderm¹ at the early stage of the neural plate formation² and in chick in relation to somites 8 to 15³. The importance of pronephros in the formation of the pronephric duct has been a subject of much controversy (KUME⁴, WADDINGTON⁵, CAMBER⁶), though the dependence of the mesonephros on an inductive stimulation from the pronephric duct has been confirmed by BOYDEN⁷, GRUNWALD⁸ and WADDINGTON⁹. The present experiment deals with the further study of ontogeny of renal organs in chicks with special reference to the tubule-cord relationship. For this, chloramphenicol (manufactured by Parke Davis, India, Ltd., sample number 379), a well-known inhibitor of protein synthesis (GALE and FOLKES¹⁰, FLICKINGER¹¹, WEISBERGER et al.¹²) was injected in two dosages into the albumen of fertilized White Leghorn eggs at various stages of incubation so that every treated egg received either 2.5 mg or 5.0 mg of chloramphenicol. Together with this, some control embryos were also examined. Total number of embryos studied was 20 in each type of experiment.

Observations. When chloramphenicol is injected into non-incubated eggs, the nephric duct does not develop in 90% of the cases examined after 24 and 48 h of incubation (Figure 1), while in others a nephric cord develops with no lumen. Pronephric tubules do not develop even when there is a solid nephric cord. The cells in the intermediate mesoderm are small in number and cytolysed in nature. In the experimented embryos incubated for 72 h, a duct connected with the coelome develops but no tubule is found associated with it. When chloramphenicol is administered to 12 h embryos subsequently incubated up to 48 and 72 h, there is no development of the tubules in the majority of cases, though there is a development of the nephric duct in two cases. When the experimented embryos are incubated up to 72 h, the position does not improve; on the other hand the cells become much cytolysed and disorganized. In the third series of experiments, when chloramphenicol acts on 24 h embryos subsequently incubated up to 48 and 72 h, either a solid nephric duct develops or a duct with a narrow lumen at the anterior end

(Figure 2) but which is solid at the posterior end; but in most of them the nephric tubules do not develop. In two or three cases some pronephric tubules with a limited number of cells are formed. In all the 72 h embryos, the cells become cytolysed, particularly in the mesodermal zone, and the nephric duct and tubules are not visible, though the development of the neural tube and that of the notochord are normal.

Discussion. In the case of birds, the pronephros develop after 24 h of incubation though the cells are determined at a still earlier stage¹. In the experiment, chloramphenicol acts on the cells and also on the nephrotomal mass and thus there is no differentiation of the nephric tubules or duct. Embryonic induction, according to FLICKINGER^{11,12} is a stimulus that promotes protein synthesis in the reacting tissue which may have been impaired by chloramphenicol, and thus there is a failure in the formation of the nephric tubules and the duct. In this connection, it may be taken into consideration that chloramphenicol does not impair primary induction¹³ but, as evidenced from the experiment, it inhibits selectively the synthesis of specific protein for kidney development. In those cases where the pronephric duct develops, it is solid in nature or with a small lumen at the anterior end. This duct cannot carry the inducing substance posteriorwards⁴ and there is no induction of mesonephros. The importance of this inducing substance for morphogenesis of the meso-

¹ A. L. ROMANOFF, *The Avian Embryo* (Macmillan Co., New York 1960), p. 784.

² C. H. WADDINGTON, *J. exp. Biol.* 15, 371 (1938).

³ E. T. ABDEL MALEK, *J. Morph.* 86, 599 (1950).

⁴ M. KUME, *Jap. J. Zool.* 9, 487 (1941).

⁵ R. CAMBER, *Bull. Biol.* 82, 214 (1948).

⁶ E. A. BOYDEN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 24, 572 (1927).

⁷ P. GRUNWALD, *Arch. Entw. Mech. Org.* 136, 786 (1937).

⁸ E. F. GALE and E. J. P. FOLKES, *Biochem. J.* 53, 493 (1953).

⁹ R. FLICKINGER, *Growth* 23, 251 (1959).

¹⁰ A. S. WEISBERGER, S. ARMENTROUT, and S. WOLFE, *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.* 50, 86 (1963).

¹¹ R. A. FLICKINGER, *Biol. Bull.* 115, 201 (1958).

¹² R. A. FLICKINGER, *Int. Rev. Cytol.* 13, 95 (1962).

¹³ U. B. BLACKWOOD, *J. Embryol. exp. Morph.* 10, 315 (1962).