

Elektronenmikroskopischer Nachweis spezifischer Grana in den Sympathicoblasten der Grenzstrangganglien von Hühnerembryonen

Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen zum Studium der Entwicklung sympathischer Ganglien von Hühnern sind wir in den Sympathicoblasten auf charakteristische osmiophile Grana gestossen, die in dieser Form weder die Neuroblasten des Zentralnervensystems¹⁻³, noch die Neuroblasten der Spinalganglien⁴ zeigen. Untersucht wurden der primäre und sekundäre Grenzstrang im Lumbosakralbereich bei 4 $\frac{1}{2}$, 5 $\frac{1}{2}$, 6, 6 $\frac{1}{2}$, 7, 8 $\frac{1}{2}$ und 9 Tage alten Hühnerembryonen, ausserdem geschlüpfte Tiere und 3, 4 und 7 Wochen alte Küken.

Methode. Vorfixierung des Gewebes für 5–15 min in gepuffertem 5%igem Glutaraldehyd, Nachfixierung mit 1%iger Osmiumsäure-Kaliumbichromat-Lösung⁵, Einbettung in Vestopal W, Aufnahmen Zeiss EM 9.

Die *Sympathicoblasten des primären Grenzstranges*⁶ sammeln sich in segmentalen Ganglienhaufen dorsal der Aorta ab dem 3-Tagestadium. Von dort wandern sie zwischen dem 4. und 6. Bebrütungstag ventralwärts zu den inneren Organen und liefern die peripheren vegetativen Ganglien. Die Sympathicoblasten zeigen perikaryell und im Bereich der Primärfortsätze noch keine reife, sondern eine für Embryonalzellen recht typische Plasmafeinstruktur: es dominieren freie Ribosomen, das endoplasmatische Retikulum tritt zurück. Mitochondrien sind relativ zahlreich, der Golgi-Apparat ist klein. Die Kerne sind rundlich und haben grosse Nucleolen. Von besonderem Interesse sind die in wechselnder Zahl im Zytoplasma anzutreffenden *osmiophilen Grana* (Figur 1a). Sie sind von einer Membran umschlossen, haben einen gleichmässigen osmiophilen Inhalt, wobei zwischen dem osmiophilen Kern und der Aussenmembran ein schmaler heller Hof auftreten kann (Figur 1b). Die Grösse der Grana schwankt, der Durchmesser reicht von 600–1200 Å.

Der *sekundäre (definitive) Grenzstrang*⁶ entsteht bei Hühnerembryonen etwa am 6. Bebrütungstag. Der Zelleib der multipolaren Sympathicoblasten vergrössert sich. Elektronenmikroskopisch sieht man den Auf- und Ausbau des granulären endoplasmatischen Retikulums parallel zur Nissl-Schollenbildung. Auch die Nervenzellen der Grenzstrangganglien von 6–9 Tage alten Embryonen enthalten im Perikaryon und den Primärfortsätzen nach Struktur und Grösse vergleichbare *osmiophile Grana* in wechselnder Zahl (Figur 2). Neben reifen Grana sieht man kleinere Vorstufen (Figur 2b). Die Befunde an jungen Küken zeigen, dass mit der Differenzierung und Reifung der multipolaren Neuroblasten der sympathischen Ganglien die Grana aus dem Perikaryon verschwinden. In den marklosen Nervenfasern sind sie selten zu sehen. Dagegen haben wir sie relativ häufig, wenn auch nicht regelmässig, in den Synapsen der sympathischen Ganglien beobachtet, wo sie neben den viel zahlreicheren einfachen Synapsenbläschen liegen.

Zusammenfassend wurde gezeigt, dass auch die Sympathicoblasten vegetativer Ganglien eine embryonale

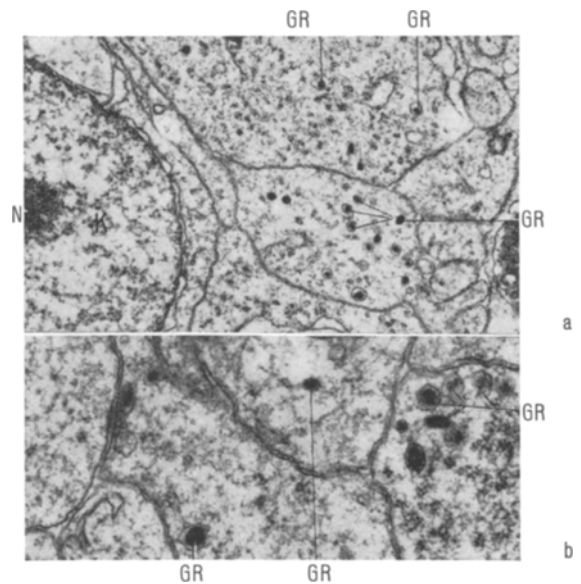


Fig. 1. Ausschnitt des primären sympathischen Grenzstranges, 4 $\frac{1}{2}$ Tage alter Hühnerembryo. Osmiophile Grana (GR) im Perikaryon und in den Primärfortsätzen. K Kern, N Nucleolus. a) $\times 17000$, Nr. 13645, b) $\times 35000$, Nr. 13649.)

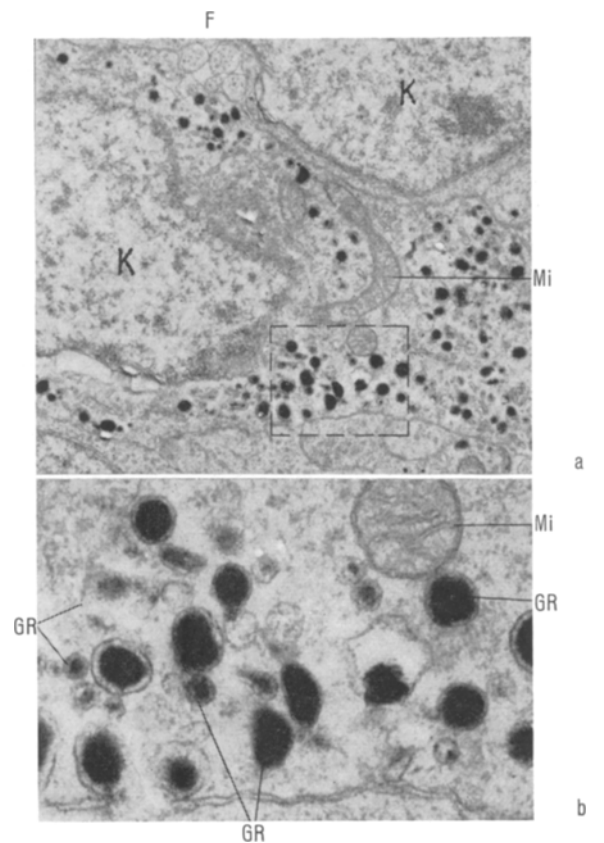


Fig. 2. Ausschnitt des sekundären Grenzstranges, 9 Tage alter Hühnerembryo: Ansammlung osmiophiler Grana (GR) von typischer Struktur und wechselnder Grösse im Perikaryon. K Kern, MI Mitochondrien, F Fortsätze. a) $\times 12500$, Nr. 13854; b) schraffierter Ausschnitt von a), $\times 40000$, Nr. 13860.

¹ W. WECHSLER, Verh. dt. Ges. Path. 47, 316 (1963).

² W. WECHSLER, Verh. Anat. Ges. Jena, Suppl. zum 115. des Anat. Anz., 287 (1965).

³ W. WECHSLER und K. MELLER, Naturwissenschaften 50, 714 (1963).

⁴ W. WECHSLER und L. SCHMEKEL, Acta Neuroveg., in press.

⁵ K. E. WOHLFARTH-BOTTERMANN, Naturwissenschaften 44, 287 (1957).

⁶ A. L. ROMANOFF, *The Avian Embryo. Structural and Functional Development* (The McMillan Comp., New York, 1960).

Plasmafeinstruktur besitzen. Insofern stimmen diese Befunde mit den Beobachtungen an anderen Neuroblasten von Hühnerembryonen überein^{7,8}. Eine besondere und wahrscheinlich spezifische Eigenheit der Sympathicoblasten ist aber das Auftreten der dargestellten osmiophilen Grana. Über die chemische Natur dieser Grana können wir ohne histo- und biochemische Paralleluntersuchungen nichts Definitives sagen. Da es sich bei der Entwicklung der Sympathicoblasten um die Entwicklung adrenerger Neurone handelt, ist zu vermuten, dass die osmiophilen Grana Kondensationsprodukte von Katecholaminen oder Serotoninen sind. Aminreiche Nervenfasern besitzen ja recht typische osmiophile Grana von gleicher Struktur mit einem durchschnittlichen Kaliber von 600–800 Å. Über den Bildungsort dieser Grana während der Entwicklung vermögen wir noch nichts Sicheres zu sagen. Es ist anzunehmen, dass diese Grana bei der Entwicklung schon sehr früh im Perikaryon gebildet werden, um dann mit zunehmender Differenzierung über den axoplasmatischen Substanzstrom zu den Synapsen transportiert zu werden. Untersuchungen am fetalen sympathischen Ganglion des Menschen⁹ haben keine ver-

gleichbaren Grana offenbart; wir selbst haben identische Grana bei Sympathicoblasten von Entenembryonen gesehen.

Summary. With regard to the cytodifferentiation of neurones in the developing CNS and the spinal ganglia, only the sympathoblasts of the primary and secondary sympathetic trunk of chick embryos contain a varying amount of catechol amine-containing granules. The formation of these granules takes place in rather early stages of development.

W. WECHSLER und L. SCHMEKEL

Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Abteilung für allgemeine Neurologie, Köln-Merheim (Deutschland) und Zoologische Anstalt, Basel (Schweiz), 16. Dezember 1965.

⁷ R. BELLAIRS, J. Embryol. exp. Morph. 7, 94 (1959).

⁸ H. FUJITA und S. FUJITA, Z. Zellforsch. 60, 463 (1963).

⁹ J. PICK, C. GERDIN und C. DELEMEOS, Z. Zellforsch. 62, 402 (1964).

Effects of Two Nephrotoxic Agents on New-Born Rats

It is known that the susceptibility of very young animals to toxic agents can differ from that of adults. In some instances a possible explanation is morphological and biochemical immaturity, as has been suggested in the case of the insusceptibility of the liver of new-born rats to several hepatotoxic agents¹. At birth, the rat and mouse kidneys still contain some of the metanephros; histochemical^{2,3} and electron microscopic⁴ studies have demonstrated a progressive maturation of the tubular cells during the first weeks of life. The only study to our knowledge on the effects on new-born animals of compounds producing tubular necrosis in adults is a recent report of WACHSTEIN and ROBINSON⁵, who demonstrated that DL-serine and mercury are not effective in rats under 14 days of age. This finding has led us to investigate the effects on new-born rats of the synthetic amino acid S-dichlorovinyl-L-cysteine (DCVC), which in previous work with adult animals produced tubular necrosis in the kidneys and pancreatic damage as well as occasional periportal liver necrosis⁶. The LD₅₀ of DCVC for adult male and female rats was respectively 66 (58–83) mg/kg and 83 (72–95) mg/kg⁶.

The toxicity of DCVC for new-born rats is described in the present report. In addition, DL-serine has been tested under conditions comparable to those described by WACHSTEIN and ROBINSON⁵.

Wistar Porton rats, less than 24 h old, received in the dorsal area a subcutaneous injection of a freshly prepared 0.5% solution of DCVC in distilled water. Two litters with a total of 20 rats received 1 mg of DCVC per animal (approximately 200 mg/kg): on the following day, 16 were found dead and 4 had been cannibalized. The animals of each of 4 other litters were given either 0.5 or 0.25 mg of DCVC (respectively about 100 and 50 mg/kg): out of 20 rats given the higher dose only 3 survived more than 1 day and were killed for histology. Among 21 new-born rats receiving 0.25 mg of DCVC, 11 were kept under

observation: of these 9 were alive after 3 days and 7 after 3 or 4 weeks, when they were killed. The other 10 animals were killed for histology in groups of 3 or 4 respectively 1, 2, or 3 days after the injection.

Paraffin sections were routinely stained with hematoxylin-eosin and with the PAS reaction. In all the animals observed within 3 days after treatment, microscopic renal damage was present, involving most of the formed tubules of the inner cortex which were markedly dilated and contained cellular debris with occasional pyknotic nuclei (Figures 1 and 2). On some occasions the epithelial layer was absent and the basal membrane faced the lumen. More frequently the epithelium was markedly thin and the brush border was poorly recognizable. From the 2nd day onwards necrotic, acidophilic, PAS-positive material was found in the lumen of several tubules, some of which were lined by normal epithelium. No damage was seen in the nephrogenic zone or in the medulla. Pancreatic damage was present in all the animals: among those receiving 100 mg/kg, necrosis and cellular disintegration were present; at the lower dosage the distribution of zymogen was quite irregular and the cytoplasm of many cells was uniformly and intensely acidophilic while the nucleus was displaced peripherally. Histological observations included also liver, spleen, thymus, sternal bone-marrow, and occasionally the adrenals: in none of these organs was there evidence of damage, except for one animal showing liver necrosis. Rats killed at the age of 3–4 weeks did not show pathological changes.

¹ M. J. R. DAWKINS, in *Cellular Injury* (Ciba Foundation Symposium. J. A. Churchill, London 1964), p. 106.

² E. R. FISHER and J. GRUHN, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 781 (1959).

³ M. WACHSTEIN and M. BRADSHAW, J. Histochem. Cytochem. 13, 44 (1965).

⁴ S. CLARK, J. Biophys. Biochem. Cytol. 3, 349 (1957).

⁵ M. WACHSTEIN and M. ROBINSON, Fed. Proc. 24, 619 (1965).

⁶ B. TERRACINI and V. H. PARKER, Fd. Cosmet. Toxicol. 3, 67 (1965).