

leucocyte granules failed to give a positive reaction. This reaction indicates the presence of reducing substances, and the results of these 2 tests indicate the presence of 5-HT in the granules of normal mast cells and its absence from globule leucocyte granules. Examination of mast cells and globule leucocytes after Reineche salt fixation showed that while mast cell granules shone brilliantly under dark-field illumination (Figure 3), globule leucocytes were not visible. This suggests that Reineche salt had precipitated the histamine in the mast cells<sup>13</sup> and that this substance was absent from globule leucocytes. After diazo-coupling, no colour reaction was observed in either cell; the significance of this result is not known.

**Discussion.** On the basis of the results reported above it is concluded that the granules of globule leucocytes from the small intestine of rats infected with *N. brasiliensis* (Figure 1) do not contain heparin, 5-HT or histamine. These findings indicate that mast cells and globule leucocytes are distinct and unrelated types of cell, and it is suggested that the use of the term 'atypical mast cell' is at present unjustified as a description of globule leucocytes. These observations confirm differences between mast cells and globule leucocytes in respect of distribution, ultrastructure, staining reactions and behaviour during anaphylaxis<sup>7,14</sup>. The demonstration of globulin in the granules of sheep globule leucocytes<sup>15</sup>, and

the relation between globule leucocytes and the immune response to *N. brasiliensis*<sup>7,8</sup> indicate the possibility that globule leucocytes are involved in the manufacture or transport of antibodies<sup>16</sup>.

**Zusammenfassung.** Es werden die Granulationen von Leukozyten, welche im Dünndarm der Ratte infolge einer Helmintiasis auftraten, mit den Granulationen der Mastzellen im s.c. Gewebe verglichen. Die Granulationen in den Mastzellen verhalten sich gegenüber Heparin und Histamin positiv, während die Leukozyten eine negative Reaktion ergeben. Dies weist darauf hin, dass die beiden Zellen nicht identisch sind und wohl aus verschiedener Matrix stammen.

P. WHUR<sup>17</sup> and MARY GRACIE

Department of Veterinary Histology and Embryology,  
University of Glasgow (Scotland), 10th March 1967.

<sup>14</sup> J. F. KENT, Anat. Rec. 156, 439 (1966).

<sup>15</sup> C. DOBSON, Nature, Lond. 211, 875 (1966).

<sup>16</sup> Partly financed by A.R.C. Grant No. AG 17/49.

<sup>17</sup> Present address: Department of Anatomy, McGill University, Montreal, Canada.

## Licht- und elektronenmikroskopische Befunde an den Geschmacksknospen der Axolotlzunge

Die vergleichende Morphologie ist durch die Entwicklung der Elektronenmikroskopie und die Ausweitung der Histochemie in ein neues Stadium getreten. Die Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Geschmacksknospen (GK) der Pilzpapillen der Säugerzunge (Maus<sup>1</sup>, Ratte<sup>2</sup>) sprechen dafür, dass nur eine Zellart am Aufbau der GK beteiligt ist, die bei gleichartiger intracellulärer Organisation je nach ihrem Entwicklungsgrad verschiedene Erscheinungsbilder bietet und deren Vorläufer in den Basalzellen der Knospe zu suchen sind.

In Ausdehnung der Untersuchungen auf niedere Vertebraten wurden an den GK der Axolotlzunge (neotene Tiere von *Siredon mexicanum*) folgende Befunde erhoben: Die Knospe ist von rundlich-ovaler Gestalt, besitzt ein offenes «Geschmacksfeld» und steht, an den Seiten vom Schleimhautepithel umgeben, auf einem Bindegewebssockel.

Elektronenmikroskopisch lassen sich vier verschiedene Zellarten nachweisen: 1) die peripher gelegenen Randzellen (R); 2) die basalen, granulierten Zellen (G); 3) und 4) die den Raum der Knospe füllenden hohen Zellen vom Typ A und B, welche mit ihren apikalen Ausläufern die Oberfläche des «Sinnesfeldes» bilden (Figur 1).

Die R-Zellen vermitteln den Eindruck wenig differenzierter Gebilde. So zeigt das endoplasmatische Retikulum (ER) nur eine geringe Ausdehnung. Die Ribosomen liegen meist frei im Grundcytoplasma. Kleine Golgi-Komplexe sind nur gelegentlich zu beobachten. Die Zahl der Mitochondrien ist verhältnismässig niedrig.

In der basalen Region der Knospe fallen unterschiedlich geformte Zellen durch ihren granulären Inhalt auf. Die Granula haben einen Durchmesser von 800–1000 Å und besitzen einen elektronendichten Kern, der von einem

hellen Hof und einer Membran umgeben ist. Diese G-Zellen können mit breiter Fläche an der Basalmembran liegen, wobei sie eine mehr oder weniger dreieckige Form einnehmen. Die Granula sind dann im gesamten Zellbereich zu finden. Der Zellkern ist kaum gefaltet. Häufiger begegnet man G-Zellen, die nur noch wenig oder keinen Kontakt mehr mit der Basalmembran aufweisen und die sich in langgestreckter Form etwas höher in den Knospenzellverband «eingeschoben» haben. Dabei fällt ihre basale bzw. infranucleäre Anreicherung der Granula auf. Die Kerne sind stärker gefaltet. Auch bei den G-Zellen sind ER und Golgi-Komplexe weniger auffällig. Beim Vergleich mehrerer langgestrecker G-Zellen lässt sich eine unterschiedlich ausgeprägte intracelluläre Organisation beobachten. So kann man im supranucleären Bereich ein schwach entwickeltes und unregelmässig verlaufendes ER, freie Ribosomen, kleine, vorwiegend vesikulär ausgebildete Golgi-Komplexe, zahlreiche Bläschen, fibrilläres Material und einzelne der charakteristischen Granula finden. Die ganze Region macht einen «ungeordneten» Eindruck. Die Hauptmenge der Granula liegt infranuclear. Mit Beginn einer gewissen «Ordnung» im supranucleären Bereich, welche sich besonders in einem apikalwärts gerichteten Verlauf des nun auffälligeren ER äussert, ist eine Abnahme des granulären Materials verbunden. Der supranucleäre Abschnitt zeigt dann auch meist eine grössere Ausdehnung in Richtung zur Knospenoberfläche; der Kern ist weniger gefaltet. Diese G-Zellen nähern sich in ihrem Aussehen den B-Zellen.

Die B-Zellen findet man immer in einem gewissen Abstand von der Basalmembran, wobei jedoch der kernhaltige Abschnitt verhältnismässig tief in der GK liegt.

<sup>1</sup> G. HOFFMANN, Diss. Göttingen (1965).

<sup>2</sup> W. FÄHRMANN, G. HOFFMANN und E. SCHUCHARDT, Naturwissenschaften 52, 438 (1965).

Der Kern zeigt nur geringe Einfaltungen. Die Golgi-Komplexe sind gut ausgebildet und befinden sich in grösserem Abstand oberhalb des Kerns. Fibrilläres Material ist nur wenig vorhanden. Charakteristisch für die B-Zellen ist das in mehr oder weniger deutlichen Bahnen angeordnete, apikalwärts verlaufende agranuläre ER (Figur 2). Den apikalen Abschluss der B-Zellen bildet ein Microvillibesatz, der relativ gleichmässig ausgebildet ist.

Auch die A-Zellen stehen in Verbindung mit der Zungenoberfläche. Obwohl ihr kernhaltiger Zellbereich verhältnismässig hoch in der Knospe liegt, können sie mit ihrer infranucleären Region Kontakt mit der Basalmembran haben. Die Kerne sind stark gefaltet, ER und Golgi-Komplexe gut ausgebildet. Letztere liegen dicht oberhalb des Kerns. In der darüberliegenden supranucleären Region finden sich zahlreiche helle, bläschenförmige und dunkle, rundliche bis kurz stäbchenförmige Elemente (Figur 2). Beide Strukturen sind typisch für die A-Zellen. Die bläschenförmigen Gebilde können auch etwas länglich geformt sein, wobei der Verdacht nahe liegt, dass es sich vielleicht um Teile des ER handeln könnte. Die elektrodenrichteten Körper zeigen eine feingranuläre und fibrilläre Grundstruktur. Charakteristisch für die A-Zellen ist ferner das Auftreten dichter Fibrillenbündel. Vakuolen mit vesikulärem oder flockigem Inhalt finden sich in Anzahl im supranucleären und apikalen Zellbereich. Grössere Vakuolen, die unmittelbar an der äusseren Zellmembran liegen und nur durch eine sehr dünne Cytoplasmascicht von der Oberfläche getrennt sind, stehen offensichtlich kurz vor der Abgabe ihres Inhalts. Das Aufplatzen der unterschiedlich grossen Vakuolen bedingt

wahrscheinlich die sehr unregelmässige Ausbildung des Microvillibesatzes der A-Zellen. Bemerkenswert sind die zahlreichen feintubulären bis -fibrillären Fortsätze an den Microvilli, die an den B-Zellen nicht zu beobachten sind. Diese Strukturen bilden ein feines Maschenwerk über der ganzen Knospenoberfläche.

Die Innervierung der GK erfolgt durch einige dünne marklose Nervenfasern. Diese dringen an mehreren Stellen durch die Basalmembran in die Knospe ein und bilden im basalen Bereich stellenweise grosse, dichte Fasergeschlechte (Figur 3). Die Nervenfasern können mit allen beschriebenen Zelltypen in Kontakt kommen. Jedoch ist die Ausbildung typischer synaptischer Strukturen nicht zu beobachten. Die Faseranschnitte zeigen Mitochondrien und in auffälliger Weise kleine, bläschenförmige Gebilde in z.T. perlchnurartiger Anordnung mit und ohne Verzweigung, die mit dem Plasmalemm in Verbindung zu stehen scheinen. Anschnitte einzelner intragemmalen Nervenfasern sind auch in höheren Knospenbereichen zu finden.

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung von Präparaten, die nach den üblichen Routinemethoden hergestellt wurden (z.B. H.-E., Trichrom, Azan), lassen sich gewisse farberische Unterschiede in den supranucleären Abschnitten der höher liegenden Zellen der GK feststellen. Diese Differenzen sind jedoch nicht so überzeugend, dass sie zur Charakterisierung unterschiedlicher Zelltypen geeignet wären. Ein stärkerer Kontrast ist mit der Eisenhämatoxylin-Färbung nach HEIDENHAIN zu erzielen. Be-

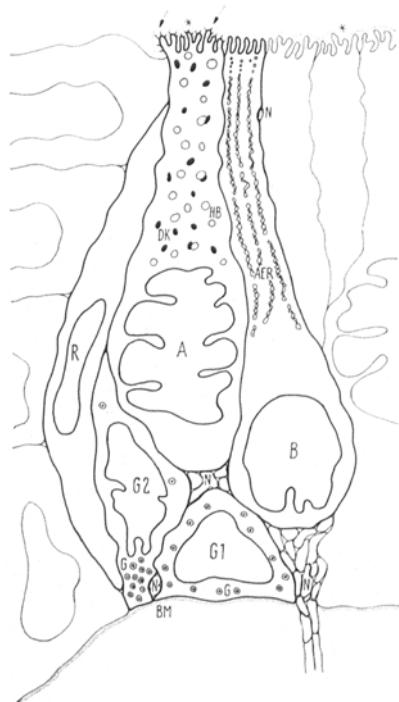


Fig. 1. Schematische Darstellung des Randgebietes der Geschmacksknospe mit den vier Zelltypen: 1) A-Zelle (A); 2) B-Zelle (B); 3) G-Zellen (G 1 und G 2) in unterschiedlichem Kontakt mit der Basalmembran; 4) R-Zelle (R). AER agranuläres endoplasmatisches Retikulum; BM Basalmembran; DK dunkle Körper; G Granula; HB helle Bläschen; N Nervenschnitte; → tubuläre bis fibrilläre Fortsätze an den Microvilli der A-Zelle; \* feinfibrilläres Maschenwerk an der Knospenoberfläche.

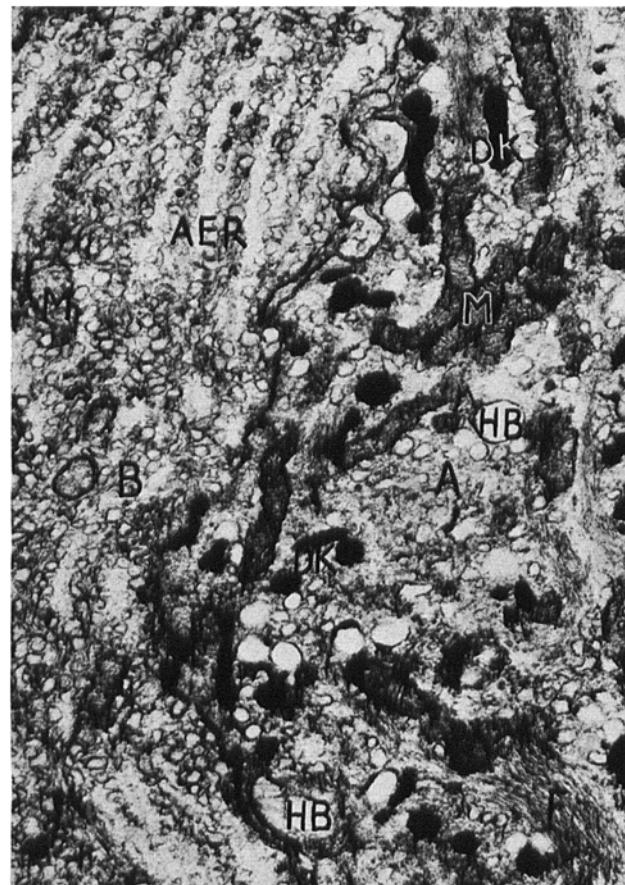


Fig. 2. Ausschnitt aus dem supranucleären Bereich einer A- (A) und einer B-Zelle (B). AER agranuläres endoplasmatisches Retikulum; DK dunkle Körper; F. Fibrillen; HB helle Bläschen; M Mitochondrien.  $\times 21000$ .

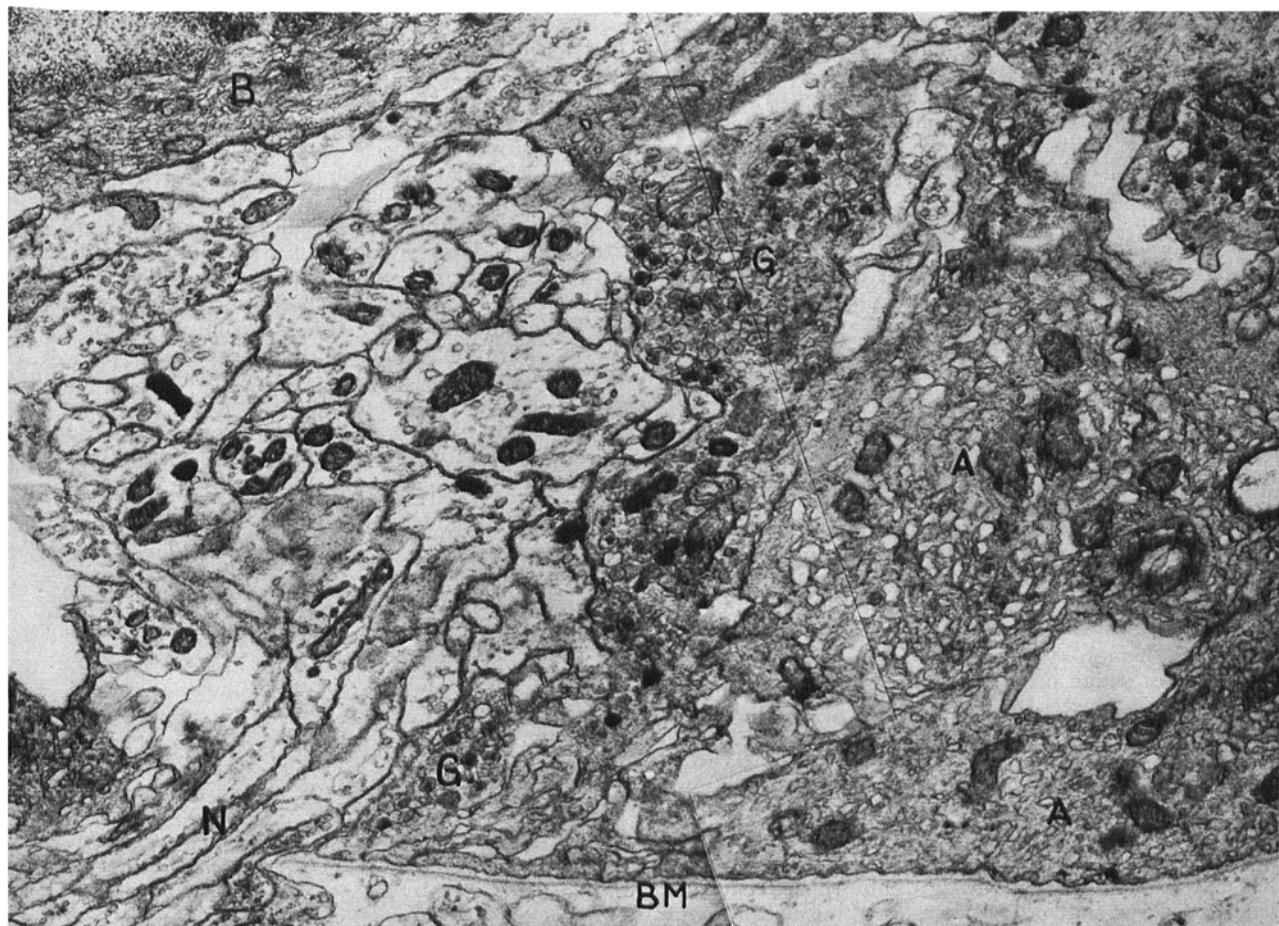


Fig. 3. Basale Knospenregion mit Eintrittsstelle eines Bündels markloser Nervenfasern (N) und Anschnitten von A- (A), B- (B) und G-Zellen (G). BM Basalmembran.  $\times 21000$ .

sonders bei der Untersuchung von Quer- oder Schrägschnitten durch höhere Knospenbereiche fallen bei Anwendung dieser Methode stark fibrillenhaltige Gebiete auf, zwischen denen helle, fibrillenfreie Areale liegen. Noch deutlicher lassen sich Zelldifferenzen mit der PJS-Reaktion oder der Alcianblau-Färbung darstellen. Dabei zeigen die fibrillenhaltigen Zellgebiete grosse Mengen positiv reagierender Substanz (PJS sehr viel, Alcianblau etwas weniger). In den fibrillenfreien Arealen ist die Reaktion nur schwach (PJS) oder negativ (Alcianblau). Im Vergleich mit den elektronenmikroskopischen Bildern entsprechen die fibrillenhaltigen, stark reagierenden Zellen dem A-Typ, die schwach reagierenden dem B-Typ. Während sich die G-Zellen lichtmikroskopisch nicht differenziert darstellen lassen, sind die R-Zellen durch ihre sehr langgestreckte Form und ihre periphere Lage an der GK leicht zu erkennen.

Nach den vorliegenden Befunden kann man die Zellen des Types B als Rezeptorzellen betrachten und den Zellen des Types A stützende und sekretorische Funktionen zuschreiben. Die R- und G-Zellen sind als Reserve-bzw. Ersatzzellen anzusehen. Der Hinweis ist deutlich, dass die Rezeptorzellen (B-Zellen) aus G-Zellen hervorzugehen scheinen, während sich für die Beantwortung der Frage nach den Vorfahren der A-Zellen kein Anhalt ergibt. Bei einer Gesamtbetrachtung wären folgende Möglichkeiten zu erwägen: 1) Die R-Zellen stellen Reservezellen dar, aus denen sowohl A- als auch B-Zellen (über G-Zellen) hervorgehen können. Dabei ist vielleicht die

Zahl der Faserkontakte für die Entwicklung zu diesem oder jenem Typ entscheidend. 2) Die A-Zellen sind stationäre Elemente langer Lebensfähigkeit; der Zellersatz dient allein den B-Zellen. 3) Die G-Zellen sind Vorfüräger der B-Zellen, die sich letztlich nach dem Verlust von Faserkontakten in A-Zellen umwandeln und dann absterben. Diese Möglichkeiten müssen durch experimentelle Untersuchungen überprüft werden<sup>3</sup>.

**Summary.** The investigation of the taste buds in the tongue of the neotene Mexican axolotl (*Sireodon mexicanum*) by light and electron microscopy demonstrates 4 different cell types: 1) R-cells, marginal cells of less differentiated character. 2) G-cells, granulated cells in basal position. 3) Cells of type A with fibrils, vesicular elements, and dark bodies, showing supporting and secretory function. 4) Cells of type B with an agranular endoplasmic reticulum in stripe like arrangement, supposed to be receptor cells.

W. FÄHRMANN und E. SCHUCHARDT

*Institut für Histologie und Neuroanatomie der Universität Göttingen (Deutschland), 14. Februar 1967.*

<sup>3</sup> Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.