

cells, in relation to changes induced by the suckling stimulus, are given in an earlier report from this laboratory⁷. The electron micrographs used in the present analysis of the stereotopography of prolactin cells were prepared from a tissue block from an animal killed on the sixth day of lactation. Several cells contained within two hundred serial sections (silver grey to gold) were analyzed, but one was selected to illustrate the high degree of polarization which can be seen when the stereotopography of an entire cell is examined.

Results. On the basis of our previous studies, as well as the present observations on sections of the pituitary gland, we observed a marked polymorphism of the prolactin cells. Some cells were large and oval, or spherical in shape, while others were elongated and possessed cytoplasmic processes directed toward the capillaries. By studying the prolactin cells in serial sections, we observed a distinct polarization of their organelles. This was particularly striking in cases of prolactin cells of the elongated variety such as the one illustrated in Figures 1–6. Parallel lamellae of granular endoplasmic reticulum were concentrated at one pole of the cell (Figure 1). The Golgi apparatus was in close association with this concentration of granular endoplasmic reticulum (Figures 2 and 3), while the mature secretory granules were localized at the opposite pole of the cell (Figures 5 and 6). Evidence of granular extrusion by exocytosis was noted almost exclusively at the vascular pole of the cell where the granules were concentrated. The nucleus (Figures 3, 4 and 5) was eccentrically located in the cytoplasm, with its largest profiles seen in sections near the Golgi apparatus (Figure 4).

Discussion. On the basis of our observations, we propose that the cellular organelles of prolactin cells in lactating rats have a characteristic topographical orientation. On one side of these cells granular endoplasmic reticulum is concentrated and is in close association with the Golgi

apparatus, while secretory granules are concentrated at the opposite pole in the region of the cell closest to a capillary. This scheme probably prevails in all prolactin cells, with only slight modifications to fit their shape. However, it is easier to appreciate this ultrastructural organization in elongated forms of prolactin cells, in which the organization is similar to that commonly seen in pancreatic acinar cells.

It is well known that prolactin cells of suckling animals secrete large amounts of prolactin^{7–9}. The distribution of secretory granules in these cells appears to be different from that of some other types of pituitary cells, particularly the corticotroph, or ACTH cell^{6,10}, in which the granules are aligned near the entire periphery of the cell. This suggests the possibility of different mechanisms of granule transport and release from pituitary cells. Presumably, these processes are related to differences in the size of the secretory granules, and perhaps to cytoplasmic channels which may depend on viscosity gradients in the cytoplasm. Recent publications¹¹ indicate that considerable variation in viscosity of the cytoplasm may exist within the same cell. At present we do not have any information about the viscosity of the cytoplasm of prolactin cells. However, it is reasonable to assume that channels of low viscosity, through which the granules might move, may be formed in the cytoplasm. Such channels would facilitate the transport of secretory granules in prolactin cells. Our observations on serial sections suggest that analysis of the functions of pituitary cells by electron microscopy must be conducted with extreme care because different thin sections of the same cell may reveal quite different morphological features. They also suggest that a study of the organizational patterns of organelles involved in cell secretion may give clues concerning variations in the mode of cell secretion.

Résumé. L'orientation des organelles dans les cellules de l'hypophyse antérieure a été étudiée sur des coupes en série pour la microscopie électronique. Une polarisation importante des éléments de l'appareil sécrétoire fut observée dans quelques cellules à prolactine. En conclusion, l'étude de la distribution topographique des organelles peut fournir des informations sur les variations du mode de sécrétion cellulaire.

J. B. WARCHOL, M. SHIINO and
E. G. RENNELS^{12,13}

Department of Anatomy, The University of Texas Health Science Center at San Antonio, 7703 Floyd Curl Drive, San Antonio (Texas 78284, USA), 10 May 1974.

⁶ E. VILLA-PORCILE, *Annl. Sci. nat., Zool.* 15, 61 (1973).

⁸ Y. AMENOMORI, C. L. CHEN and J. MEITES, *Endocrinology* 86, 506 (1970).

⁹ A. ZANINI, G. GIANNATTASIO and J. MELDOLESI, *Endocrinology* 94, 104 (1974).

¹⁰ E. P. BOWIE, G. WILLIAMS, M. SHIINO and E. G. RENNELS, *Am. J. Anat.* 138, 499 (1973).

¹¹ A. D. KEITH and W. SNIPES, *Science* 183, 666 (1974).

¹² We wish to thank Mr. M. G. WILLIAMS for his technical assistance of preparation of serial sections.

¹³ Supported by Fogarty International Fellowship No. 1 F05 TW02023-01 to senior author and USPHS Grant No. AM 12583.

Über den Ursprung der Flügelmuskulatur. Experimentelle Untersuchungen mit Wachtel- und Hühnerembryonen

Nach LILLIE¹ beginnt die Entwicklung der Flügelanlagen beim Hühnerembryo nach einer Bebrütungszeit von 50–60 Stunden (Stadium 16 nach HAMBURGER und HAMILTON) mit einer Verdickung der Somatopleura in Höhe der Somiten 14–20. Die Frage, ob das Extremitätenmesenchym ausschliesslich aus der Somatopleura hervorgeht, oder ob Somitenzellen in den Differenzierungsprozess der Extremitätenanlage miteinbezogen werden, wird von den Untersuchern kontrovers beurteilt. Das gilt in besonderem Masse für die Entwicklung der Extremitätenmuskulatur. FISCHEL² vertritt die Auffassung, dass bei Vögeln und Säugetieren Somitenzellen in die Extremitätenanlage einwandern und sich dort zu Muskelzellen differenzieren. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt ZECHEL³ aufgrund der Untersuchung menschlicher

tätenmuskulatur. FISCHEL² vertritt die Auffassung, dass bei Vögeln und Säugetieren Somitenzellen in die Extremitätenanlage einwandern und sich dort zu Muskelzellen differenzieren. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt ZECHEL³ aufgrund der Untersuchung menschlicher

¹ LILLIE's *Development of the Chick*. Revised by H. L. HAMILTON (Holt, Rinehart and Winston, New York 1952; 3rd edn. 1963).

² A. FISCHEL, *Morph. Jb.* 23, 544 (1895).

³ G. ZECHEL, *Z. Anat. EntwGesch.* 74, 593 (1924).

Embryonen. GLÜCKSMANN⁴ dagegen vertritt die Ansicht, dass für die Amnieten eine Beteiligung von Somitenzellen an der Extremitätenbildung ausgeschlossen werden könne. Experimentelle Untersuchungen an Hühnerembryonen (HAMBURGER⁵, SAUNDERS⁶, STRAUSS und RAWLES⁷) ergaben keinen Anhalt für eine Beteiligung von Somitenzellen an der Extremitätenentwicklung. GRIM⁸ kommt aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen zu der Annahme, dass weder im Myotom differenzierte Myoblasten noch undifferenzierte Somitenzellen an der Muskelentwicklung in der Flügelanlage teilhaben.

Andererseits weisen die experimentellen Untersuchungen von MURRAY⁹, MURILLO-FERROL¹⁰ und PINOT¹¹ auf eine Beeinflussung der Extremitätenentwicklung durch das paraxiale Mesoderm hin. STEDING¹², der einen derartigen Einfluss in Frage stellt, sieht seinerseits die Differenzierung des Extremitätenmesoderm im Rahmen «eines schon früh etablierten epithelialen Stoffwechsel-feldes».

Durch die von LE DOUARIN¹³⁻¹⁵ in die experimentelle Embryologie eingeführte Methode der Transplantation von embryonalen Anlagen der Japanischen Wachtel auf Hühnerembryonen, ist es möglich geworden, auch nach beliebig langer postoperativer Wiederbebrütung aus einem Implantat hervorgegangene Zellen zweifelsfrei im Wirts-embryo zu identifizieren, da die Interphasekerne der Wachtelzellen durch eine besonders auffällige Kondensation von Heterochromatin dauernd gekennzeichnet sind.

In der vorliegenden Untersuchung wird mit Hilfe dieser Methode überprüft, ob Zellen des paraxialen Mesoderm an der Entwicklung der Flügelanlage beteiligt sind.

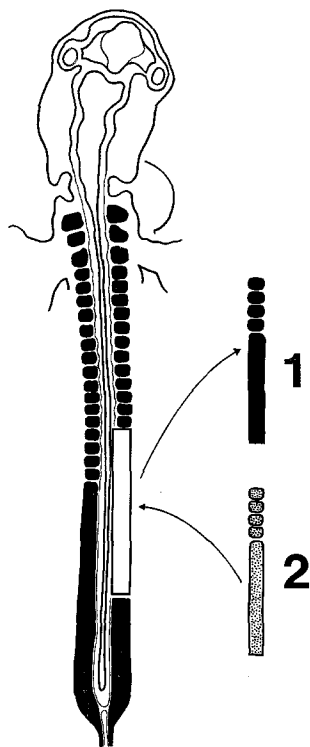


Fig. 1. Schematische Darstellung des operativen Vorgehens. Nach Exstirpation eines Abschnitts des paraxialen Mesoderms (1) beim Hühnerembryo erfolgt die Implantation eines entsprechenden Mesodermabschnitts vom Wachtelembrion (2).

Bei Hühnerembryonen (Weisse Leghorn, HNL) im Stadium 13 (nach HAMBURGER und HAMILTON) wurde nach Spaltung des Ektoderm ein Abschnitt des paraxialen Mesoderm in Höhe der späteren Flügelanlage exstirpiert und durch einen entsprechenden Mesodermabschnitt, der vorher einem gleichaltrigen Embryo der Japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*) entnommen worden war, ersetzt (Figur 1). Nach 7tägiger Wiederbebrütung wurden die Wirtsembryonen mit dem Gemisch nach Serra fixiert, über die aufsteigende Propanolreihe, Methylbenzoat und Benzol in Paraplast eingebettet und in lückenlose Schnittserien (Schnittdicke 7 μ m) zerlegt. Die Färbung erfolgte mittels Feulgenreaktion und mit Lichtgrün.

Die makroskopische Inspektion der postoperativ wiederbebrüteten Hühnerembryonen ergibt keinen Anhalt für Abweichungen von der Normalentwicklung. Die Ektodermwunde ist reizlos verheilt. In der Formentwicklung der Flügelanlagen sind keinerlei Veränderungen gegenüber der Normogenese nachweisbar. Die Differenzierung des Mesenchyms der rechten und linken Flügelanlage in Skeletstücke, Muskulatur und Bindegewebe ist nach Ausweis der Schnittserien völlig normal und bilateralsymmetrisch abgelaufen. Die Untersuchung der Zellkerntypen in den Geweben der Flügelanlage auf der operierten Körperseite ergibt, dass die Kerne der Muskelzellen durch das konstitutive Heterochromatin gekennzeichnet sind, das als typisch für die Kerne von Wachtelzellen beschrieben worden ist (Figuren 2 und 3). Die noch knorpeligen Skeletstücke sowie das Bindegewebe weisen ausschliesslich Hühnerzellen auf. Auch das Anlagematerial der Muskelfaszie sowie das intramuskuläre Bindegewebe mit seinen Gefässen wird von Hühnerzellen gebildet (Figur 3). Dieser Befund, der hier am Beispiel des Unterarms belegt wird, gilt ausweislich der Schnittserien gleichermassen für die übrigen Abschnitte der Flügelanlage. Da bei der Operation paraxiales Mesoderm medial von der Nierenanlage durch entsprechendes Material von Wachtelembrionen ersetzt worden war, muss aus diesen Befunden geschlossen werden, dass die Flügel-muskulatur dem paraxialen Mesoderm entstammt, wohingegen Skelet und Bindegewebe aus der Somatopleura hervorgehen.

Nach den Befunden insbesondere von HAMBURGER⁵ und PINOT¹¹ entwickeln sich Extremitäten im Sinne der Selbstdifferenzierung auch in Abwesenheit des paraxialen Mesoderm nach Transplantation ihres Anlagematerials in das Coelom. PINOT¹¹ konnte zeigen, dass eine derartige Differenzierung jedoch frühestens mit prospektiver Flügelanlage von Spenderembryonen im 25-Somitenstadium zu erzielen ist. Bei Verwendung noch jüngerer Spenderembryonen entwickelte sich nur dann eine Flügelanlage, wenn paraxiales Mesoderm mittransplantiert worden war. Unter Berücksichtigung der zitierten Befunde sowie der von uns vorgelegten Resultate

⁴ A. GLÜCKSMANN, Z. Anat. EntwGesch. 102, 498 (1934).

⁵ V. HAMBURGER, J. exp. Zool. 77, 379 (1938).

⁶ J. W. SAUNDERS, Anat. Rec. 100, 756 (1948).

⁷ W. L. STRAUSS und M. E. RAWLES, Am. J. Anat. 92, 471 (1953).

⁸ M. GRIM, Z. Anat. EntwGesch. 132, 260 (1970).

⁹ P. D. F. MURRAY, Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 4, 237 (1927).

¹⁰ N. L. MURILLO-FERROL, Acta anat. 62, 80 (1965).

¹¹ M. PINOT, J. Embryol. exp. Morph. 23, 109 (1970).

¹² G. STEDING, Habilitationsschrift, Göttingen (1967).

¹³ N. LE DOUARIN, Bull. biol. Fr. Belg. 103, 435 (1969).

¹⁴ N. LE DOUARIN, Ann. Embryol. Morph. 4, 125 (1971).

¹⁵ N. LE DOUARIN, Devl. Biol. 30, 217 (1973).

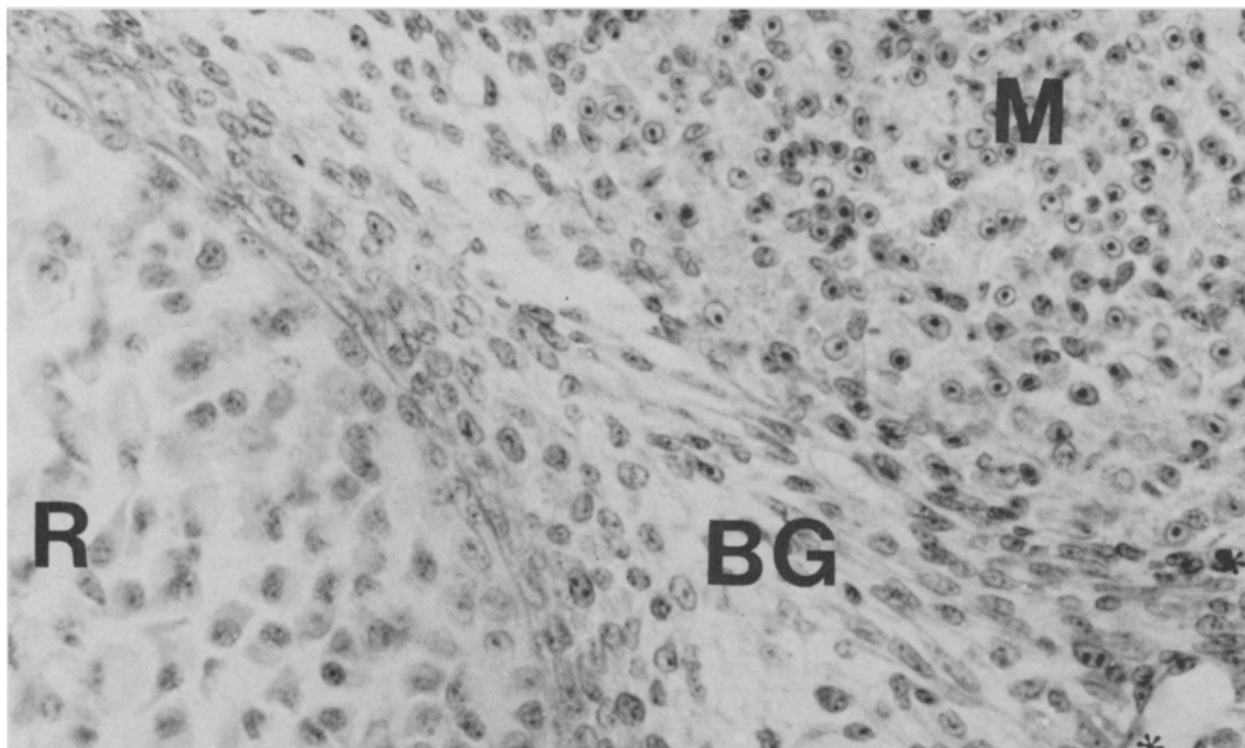


Fig. 2. Ausschnittvergrößerung eines Querschnittes durch das Zeugopodium der Flügelanlage eines 9 Tage alten Embryos. R, Radius; BG, Bindegewebe; M, Muskulatur. Die Sternmarkierungen verweisen auf Erythrocyten. Feulgenreaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 750:1.

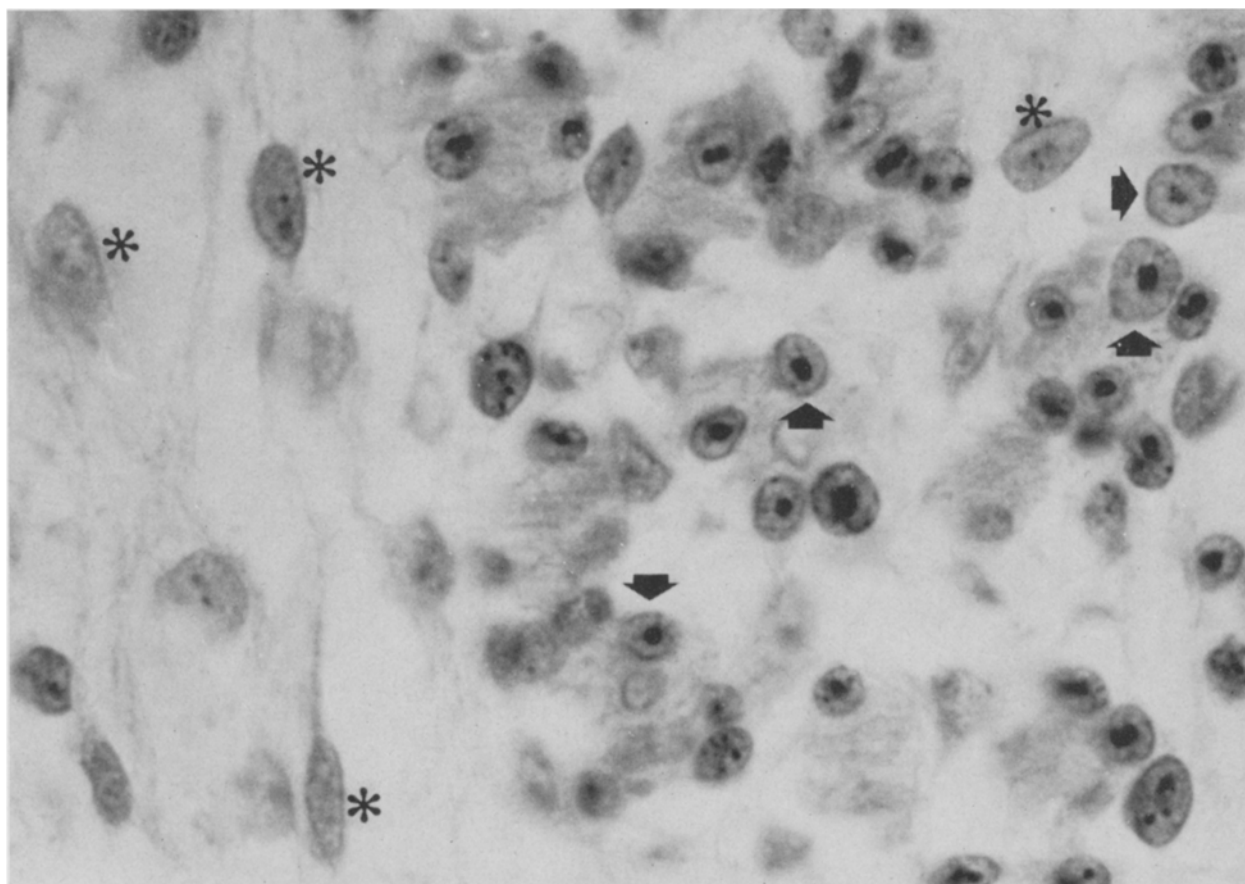


Fig. 3. Muskel-Bindegewebsgrenze aus dem Zeugopodium der Flügelanlage eines 7 Tage postoperativ bebrüteten Embryos. Sternmarkierungen: Kerne von Hühnchenzellen; Pfeilmarkierungen: Kerne von Wachtelzellen. Feulgenreaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 2000:1.

muss angenommen werden, dass Zellen aus dem paraxialen Mesoderm vor dem Stadium 15 (nach HAMBURGER und HAMILTON) in das Anlagegebiet der oberen Extremität einwandern, um sich dann im Zuge der weiteren Entwicklung der Flügelanlage zu Myoblasten zu differenzieren.

Summary. The origin of the wing bud mesenchyme of chick embryos has been studied by using the quail-chick marker system. It was concluded that the lateral plate mesoderm gives rise to the skeleton and connective

tissue, whereas the muscles originate from cells of the somite mesoderm. It was suggested that these cells migrate into the prospective wing bud mesoderm before stage 15 (HAMBURGER and HAMILTON).

B. CHRIST, H. J. JACOB und M. JACOB

Lehrstuhl I des Institutes für Anatomie der Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstrasse 150, D-463 Bochum (Bundesrepublik Deutschland, BRD), 31. Juli 1974.

Experimentelle Untersuchungen zur Entwicklung der Brustwand beim Hühnerembryo

In den Untersuchungen, die zur Entwicklung der Brustwand beim Hühnerembryo angestellt worden sind, ist immer wieder die Frage der Beteiligung von Somitenmaterial insbesondere bei der Skelet- und Muskelentwicklung diskutiert worden. Weitgehende Übereinstimmung besteht danach in der Beurteilung der Entwicklung des Brustbeines, das nach den Befunden von FELL¹ völlig unabhängig von den axialen Strukturen aus der Somatopleura entsteht. Die Entwicklung der Rippen

und der Muskulatur hingegen wird unterschiedlich interpretiert. Nach den Untersuchungen von FISCHEL² war es lange Zeit die Lehrmeinung, dass die gesamte Rumpfmuskulatur aus Somitenmaterial hervorgeht. Dieser Auffassung haben STRAUS und RAWLES³ widersprochen.

¹ H. B. FELL, Phil. Trans. Ser. B. 229, 407 (1939).

² A. FISCHEL, Morph. Jb. 23, 544 (1895).

³ W. L. STRAUS und M. E. RAWLES, Am. J. Anat. 92, 471 (1953)



Fig. 1. Frontalschnitt durch einen 9 Tage alten Embryo. Vorderer Thoraxbereich der operierten Körperseite. H, Herz; S, Sternalplatte; R, sternaler Rippenabschnitt; P, M. pectoralis major. Die Pfeile markieren die Articulatio sternocostalis. Feulgenreaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 50:1.

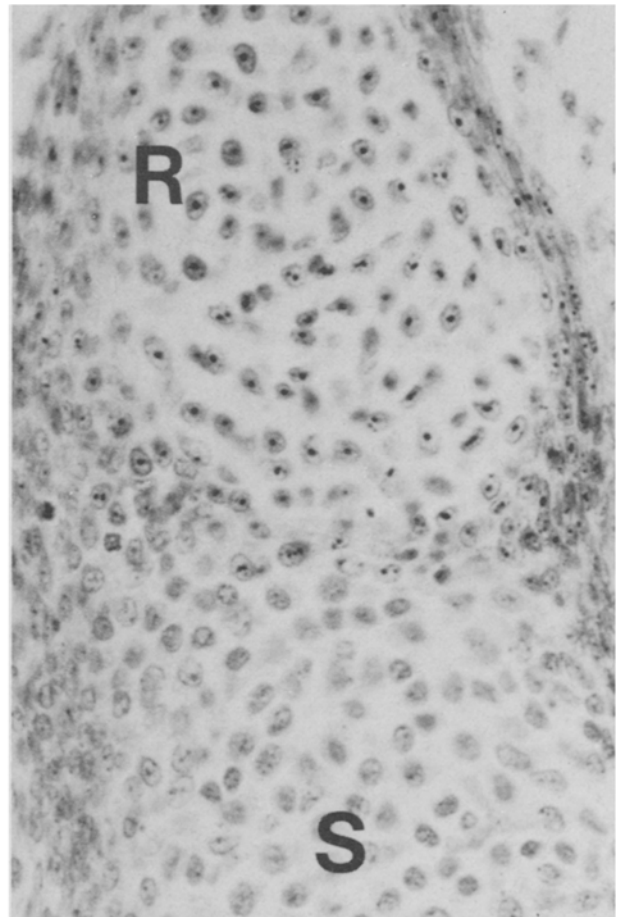


Fig. 2. Ausschnittvergrößerung des durch Pfeilmarkierung gekennzeichneten Bereichs der Figur 1. R, sternaler Rippenabschnitt; S, Sternalplatte. Rippenknorpel und Perichondrium werden von Wachtelzellen gebildet. Feulgenreaktion und Gegenfärbung mit Lichtgrün. Ca. 600:1.