Epithel-Epithel-Interaktionen bei der Embryo-Implantation: Ansätze zur Lösung eines zellbiologischen Paradoxons

H.-W. DENKER

Abteilung Anatomie der Medizinischen Fakultät an der RWTH Aachen

Zusammenfassung

Epithel-Mesenchym- (oder Epithel-Stroma-) Interaktionen werden mit Recht als ein wichtiges Element von Morphogeneseprozessen angesehen; wenig Beachtung haben dagegen die Wechselbeziehungen zwischen zwei Epithelien gefunden, obwohl sie bei bestimmten Entwicklungsvorgängen eine entscheidende Bedeutung haben (z. B. Verschmelzung der Gaumenfortsätze, der Kiefer- und Nasenfortsätze, der Bogengangsepithelien). Entgegen den meisten Lehrbuchdarstellungen, die hier vereinfachend nur von einer Degeneration der begrenzenden Epithelien sprechen, zeigen detaillierte morphologische und histochemische Untersuchungen, daß die Verschmelzung durch einen komplexen Vorgang eingeleitet wird, der Veränderungen in der Glykokalix und eine Umorientierung der Zellen im epithelialen Verband einschließt und erst sekundär (wenn überhaupt) zu einer Zell-Degeneration führt. Um ein Paradoxon handelt es sich insofern, als hier ein Zellkontakt über die sonst nicht-adhäsive apikale Oberfläche von Epithelien vermittelt wird.

Wir sehen die Wechselbeziehungen zwischen Trophoblast und Uterusepithel bei der Embryo-Implantation als einen weiteren Spezialfall solcher Epithel-Epithel-Interaktionen an und prüfen, inwieweit die zugrunde liegenden zellbiologischen Elementarprozesse Gemeinsamkeiten aufweisen. Die Trophoblastanheftung kann als ein geeignetes Modellsystem gelten, da experimentelle Zugänge für die Untersuchung in vivo und in vitro erarbeitet worden sind. Bei Anwendung der genannten zellbiologischen Konzepte ergibt sich eine besondere Bedeutung für folgende Elementarprozesse: Veränderungen der Glykokalix, der Membraneigenschaften, der Tight Junctions, der funktionellen apiko-basalen Polarität und der Bindung an die Basalmembran. Diese neue Betrachtungsweise des Vorgangs stellt demnach eine gezielte Änderung des Zellverhaltens und nicht den Zelluntergang in den Vordergrund.

Die Implantation des Säugetierembryos im Uterus beginnt mit einem eigentümlichen zellbiologischen Phänomen: Der Trophoblast lagert sich an die apikale Oberfläche eines intakten Epithels an (des Uterusepithels), die sonst nichtadhäsiv ist, und bei invasiven Implantationstypen überwindet er anschließend dieses Epithel und nimmt Kontakt mit dem daruntergelegenen Stroma auf. Dieser Vorgang bereitet, unter zellbiologischem Aspekt betrachtet, erhebliche Verständnisschwierigkeiten, ist aber gleichzeitig von großer Faszination. Das Ungewöhnliche an ihm möchte ich anhand der Abb. 1 illustrieren, die die Ausgangssituation in der Einleitungsphase der Implantation beim Kaninchen (dem Versuchstier, an dem meine Gruppe seit vielen Jahren Untersuchungen durchführt) darstellt: Ein verdickter symplasmatischer Abschnitt des Trophoblasten, ein sog. Trophoblastsproß, tritt mit dem Uterusepithel in Kontakt, nachdem die aus extrazellulärem Material bestehenden Blastozystenhüllen lysiert worden sind (vgl. Denker 1977). Für das darauffolgende Stadium der sich

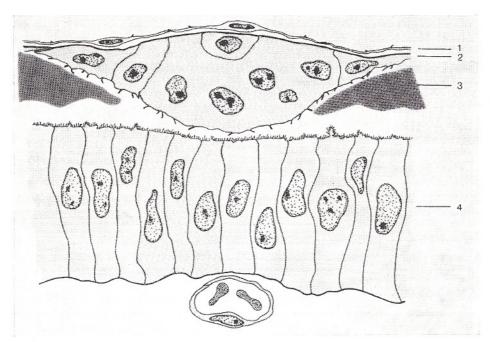


Abb. 1. Das zellbiologische Problem, das sich bei der Einleitung der Embryoimplantation im Uterus stellt, besteht darin, zwischen den apikalen Zellpolen zweier gegenüberliegender Epithelien (Trophoblast und Uterusepithel) einen Kontakt herzustellen. Es schließt sich daran eine komplexe Folge von Zell-Zell-Interaktionen an, die vor allem Änderungen im Zellverhalten sowohl des Trophoblasten als auch des Uterusepithels umfaßt. Zur Erläuterung ist hier schematisch die Ausgangssituation beim Kaninchen dargestellt: Der symplasmatische Trophoblastsproß (2) und da-Uterusepithel (4), beides polarisierte Epithelien, nehmen am Tag 7 post coitum über ihre mikros villi-bedeckte apikale Oberfläche Kontakt miteinander auf. Die extrazellulären Blastozystenhüllen (der Zona pellucida entsprechend) (3) sind an dieser Stelle zuvor durch ein spezielles System von Proteinasen lysiert worden. 1 = Entoderm (aus: Denker 1977).

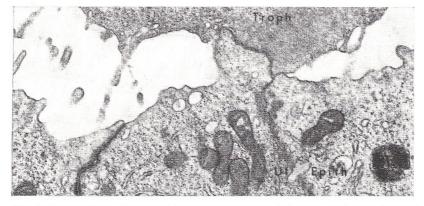


Abb. 2. Lokalisierte Adhäsion des Trophoblasten an einen Teil der apikalen Membran einer Uterusepithelzelle beim Frettchen, 12 Tage post coitum. Die Membran dieser Zelle wird deformiert und das apikale Zytoplasma geradezu in Richtung auf den Trophoblasten hingezogen. 19400× (aus Enders und Schlafke 1972).

konsolidierenden Adhäsion ist vielleicht die in Abb. 2 wiedergegebene elektronenmikroskopische Aufnahme vom Frettchen, die von Enders und Schlafke (1972) stammt, besonders eindrucksvoll: Sie zeigt, daß sich die Membranen von Trophoblast und Uterusepithel in einem zunächst begrenzten Bereich eng aneinandergelagert haben, und daß die Oberfläche der Uterusepithelzelle offenbar stark deformiert und geradezu in Richtung Trophoblast gezogen wird. Diese Kontaktstelle weitet sich nach lateral zu aus, und der Trophoblast dringt beim sog. Intrusionstyp (Schlafke und Enders 1975) in dünnen zungenähnlichen Fortsätzen zwischen Üterusepithelzellen ein, wobei er interessanterweise sehr engen Kontakt mit diesen Epithelzellen hält und sogar mit ihnen Junktionen verschiedener Art eingeht.

Trophoblast und Uterusepithel sind polarisierte Epithelien. Sie besitzen beide eine Basallamina (hier nicht dargestellt). Daß sie in eine komplexe Interaktion miteinander eintreten und diese durch eine Kontaktaufnahme über ihren apikalen Zellpol einleiten, kann man geradezu als zellbiologisches Paradoxon bezeichnen.

Ich möchte im Rahmen dieses Referats den Versuch unternehmen, nach Parallelen zu diesem Vorgang in anderen embryonalen Systemen zu fahnden und mit Ihnen zusammen Vergleiche hinsichtlich der zellbiologischen Mechanismen anstellen. Meines Wissens ist das bislang nie versucht worden. Ich möchte dieses Phänomen unter dem Stichwort Epithel-Epithel-Interaktion diskutieren, ein Begriff, der bewußt als Gegenstück zu dem wohlbekannten Begriff der Epithel-Stroma- (oder -Matrix-) Interaktionen gewählt worden ist. Epithel-Epithel-Interaktionen können über den apikalen Zellpol oder über die Zellbasis vermittelt werden; wir wollen uns auf den ersteren Fall beschränken. Tatsächlich finden sich solche über den apikalen Zellpol vermittelten Interaktionen zwischen Epithelien bei zahlreichen Verschmelzungsvorgängen, die während der Embryonalentwicklung ablaufen. Tab. 1 stellt einige solche Vorgänge zusammen. Beispiele finden sich im Bereich frühembryonaler oder späterembryonaler Epithelien (Neuralrohr, Ohrbläschen, Bogengänge, Linsenbläschen usw.), von Mesothelien und Endothelien. Gegenstand besonders vieler Untersuchungen ist wegen ihrer teratologischen Bedeutung die Fusion zwischen den Gaumenfortsätzen bei der Bildung des sekundären Gaumens. Dabei bleiben die Epithelien im medianen Epithel-

Tabelle 1. Beispiele aus der Embryonalentwicklung für Interaktionen zwischen Epithelien (Mesound Endothelien) via apikalen Zellpol:

Epithel:	Neuralrohr

Ohrbläschen Bogengänge Linsenbläschen sek. Gaumen

Oberkiefer- und Nasenfortsätze

Ductus nasolaerimalis (Augenlider: Epithelmauer)

Mesothel: Zwerchfell

(Schluß des Ductus pleuroperitonealis)

Endothel: Herz-Septierung

Literatur:

GAARE UND LANGMAN 1977 O'RAHILLY 1963
GREENE UND PRATT 1976 SCHOENWOLF 1979
HAY, D. A. 1978 SCHOENWOLF 1982
HAY UND LOW 1972 SHAH 1984

Hay und Low 1972 Shah 1984 Los und van Eijndthoven 1973 Silver 1978

Mak 1978 Slavkin 1984 Morse et al. 1981 Waterman 1975

Newgreen und Gibbins 1982 Waterman und Bell 1984

saum zunächst noch erhalten, werden aber erheblich deformiert und ändern ihre Gestalt völlig (Greene and Pratt 1976).

Was die Bildung z. B. des Neuralrohrs anbelangt, so machen wir es uns im Unterricht meist recht leicht, wie auch die Lehrbuchdarstellungen zeigen: Zunächst ist das Neuralrohr noch offen, und im folgenden Stadium ist es schon geschlossen und die Epidermisbedeckung komplett. Es muß aber zu einer Umorientierung der Zellen im Bereich des "Nabelschlusses" kommen, wo das apikale Ende der bedeckenden Epidermiszellen zur Körperoberfläche und das der Zellen des Neuralrohrs zu dessen Lumen hin gerichtet wird und jeweils eine neue Basalmembran ausgebildet werden muß (vgl. Newgreen und Gibbins 1982, Fig. 4). Diesem Vorgang ist wenig Beachtung geschenkt worden; die meisten der einschlägigen Arbeiten konzentrieren sich auf die Veränderungen an den apikalen Zelloberflächen (Lit. siehe Tab. 1).

In einer neueren Arbeit von Waterman und Bell (1984) wird die Notwendigkeit einer Umorientierung der Epithelzellen im Fall der Bildung der Canales semicirculares besonders hervorgehoben. Wenn aus der bläschenförmigen Labyrinthanlage die Bogengänge hervorgehen, verschmelzen Epithelplatten miteinander (vgl. Starck 1975; O'Rahilly 1963), wobei im Fall von Brachydanio Fortsätze ausgebildet werden, deren Epithelien sich mit den apikalen Oberflächen berühren und miteinander verschmelzen (Abb. 3). Das Epithel besitzt in diesem Bereich bereits vor der Fusion keine Basalamina mehr. Waterman und Bell betonen, daß es nicht zu einem Zelluntergang kommt, sondern daß der wesentliche Prozeß in einer Umorientierung der Epithelzellen besteht, die es ermöglicht, daß diese auseinanderweichen, neue Nachbarschaftsbeziehungen aufnehmen und daß so eine Verbindung des Mesenchyms beider Seiten zustande kommen kann.

Keinen Zelluntergang, sondern eine Umorientierung der Zellen findet man auch im Fall der Verschmelzung der Endokardpolster bei der Septierung des Herzens einschließlich der Ausstrombahnen. Hier wird von Hay und Low (1972) und von Los und van Eijndthoven (1973) hervorgehoben, daß die Zellen sogar proliferieren und zunächst vermittels eigentümlicher Fortsätze der apikalen Zellmembran Kontakt miteinander aufnehmen; später geben sie völlig ihre endotheliale Natur auf und sollen sich in die "Cardiac Jelly" eingliedern.

Nun möchte ich mit Ihnen den Versuch wagen, alle diese verschiedenen Systeme miteinander zu vergleichen, und die folgende Hypothese prüfen:

Die Interaktion zwischen Trophoblast und Üterusepithel bei der Implantation ist ein Spezialfall von Epithel-Epithel-Interaktionen via apikalen Zellpol, für die es eine Reihe von Beispielen in der Embryonalentwicklung gibt.

Alle diese Interaktionen zeigen gewisse gemeinsame Züge in ihren zellbiologischen Mechanismen.

Im Fall der Embryoimplantation haben wir es freilich mit einem heterologen System zu tun, das zwei sehr verschiedene Epithelien umfaßt, wobei für uns hier weniger interessant ist, daß sie verschiedenen Individuen angehören, als daß der Trophoblast ein hochinvasives Gewebe ist. Die Morphologie der Kontaktaufnahme zwischen Trophoblast und Uterusepithel stellt sich wie folgt dar: Wenn beide Epithelien mit ihren apikalen Polen Kontakt aufnehmen, so können sich zunächst die Mikrovilli miteinander mehr oder weniger verschränken, wie es für einige Nager und Huftiere gezeigt worden ist. Danach kommt es bei invasiven Implantationstypen (bzw. wenn nur einzelne Trophoblastelemente invasiv sind, nur an deren Kontaktstelle) zu einer eigentümlichen Veränderung der Morphologie der Zelloberflächen; die Mikrovilli werden weitgehend geglättet, und die Oberflächenmembranen laufen parallel zueinander, getrennt durch einen Spaltraum von weniger als 200 Å (Abb. 4, 5). Typisch ist ein außerordentlicher Reichtum an Mikrofilamenten und/oder Intermediärfilamenten in diesem Bereich. In Spezies oder in Trophoblastabschnitten, wo keine Invasion erfolgt, bleibt typischerweise die Glättung der mikrovillibedeckten Oberflächen aus. und die Verzahnung der Mikrovilli besteht fort (Enders und Schlafke 1967, Rei-NIUS 1967, BERGSTRÖM 1971, LEISER 1975, PARKENING 1976, WOODING 1983, WOO-DING et al. 1982).

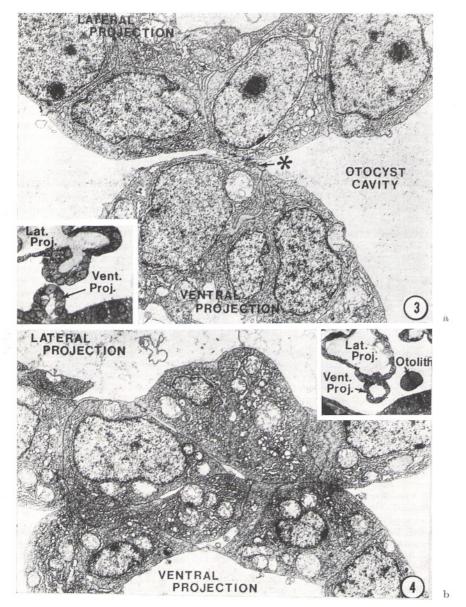


Abb. 3. Verschmelzungsvorgang zwischen zwei Epithel-bedeckten Oberflächen bei der Bildung der Canales semicirculares bei Brachydanio rerio. Zwei Fortsätze des Ohrbläschens bewegen sich aufeinander zu, ihre apikalen Membranen berühren sich (wobei extrazelluläres Material, *, vermittelnd wirken mag), und es kommt zu einem Rearrangement der Zellen unter Änderung der ursprünglichen apiko-basalen Ausrichtung, so daß eine Kommunikation zwischen den (oben und unten gelegenen) mesenchymalen Räumen hergestellt werden kann. (a) $5\,800\,\times$, (b) $5\,600\,\times$ (aus: WATERMAN und BELL 1984).

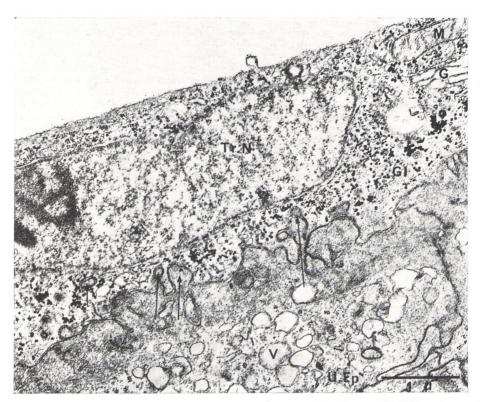


Abb. 4. Das typische feinstrukturelle Bild des Trophoblast-Uterusepithel-Komplexes in der Adhäsionsphase der Implantation bei der Ratte (Tag 5, 22.00 Uhr). Die Kontur der apikalen Zelloberflächen beider Epithelien ist stark verändert, die Mikrovilli sind verschwunden, die Membranen liegen weitgehend parallel zueinander in einem Abstand von weniger als 200 Å. Auch Junktionen verschiedener Art werden zwischen diesen beiden Membranen ausgebildet. Der apikale Abschnitt des Uterusepithel-Zytoplasmas ist reich an Filamenten (G = Golgi-Apparat, Gl = Glykogen, Tr.N = Trophoblast-Kern, U.Ep = Uterusepithel, V = Vesikel) (Balkenlänge = $1 \mu m$) (aus: Tachi et al. 1970).

Auch im Fall der Verschmelzung der Gaumenwülste und der Nasen- und Oberkieferwülste haben wir es zunächst mit polarisierten Epithelzellen (allerdings hier eines zweischichtigen Epithels) zu tun, deren Oberflächenmembran anfangs Mikrovilli zeigt, die sich nach dem Kontakt aber erst aneinanderlagern und dann abflachen, während auffallend dichte Filamente im Zytoplasma auftreten (Abb. 6).

Es bestehen also gewisse Parallelen zwischen Embryoimplantation und den anderen Epithel-Epithel-Interaktionen hinsichtlich der Veränderung der Zelloberflächenmorphologie. Für alle Systeme scheint ferner typisch zu sein, daß die später fusionierenden Epithelien schon vor der Adhäsion Besonderheiten ihrer Glykokalix ausbilden, und zwar mehr oder weniger eindeutig lokalisierbar in dem zur Fusion befähigten Bereich. Von Gaare und Langman (1977) wird dies für die Verschmelzung zwischen medialem und lateralem Nasenwulst der Maus beschrieben. Hier findet sich im zukünftigen Kontaktbereich stark mit Rutheniumrot anfärbbares Material an der Oberfläche (Abb. 7, 8). An den Kontaktpunkten selbst nimmt die Dichte des Materials anschließend ab. (Ob beim Menschen bei dem entsprechenden Vorgang ebenfalls ein Kontakt über Zellapices eine Rolle spielt, ist durchaus fraglich, ist für unsere zellbiologische Betrachtung aber ohne Belang.) Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir beim Schluß des Neuralrohrs (Sadler 1978): auch hier eine starke Reaktion der Zell-

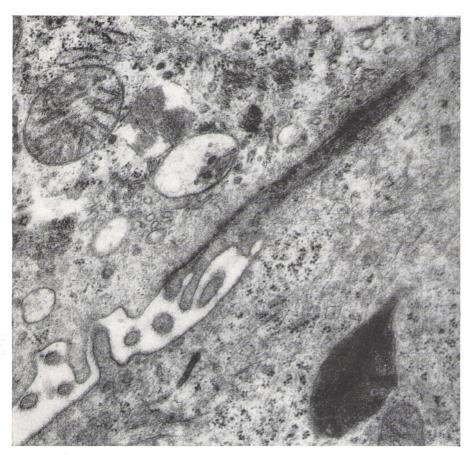


Abb. 5. Die feinstrukturellen Details der Interaktion zwischen Trophoblast und Uterusepithel sind in der Anheftungsphase bei allen invasiven Implantationstypen ähnlich. Hier ein Beispiel vom Kaninchen, 7 Tage 2 Stunden post coitum. Trophoblast links oben, Uterusepithel rechts unten. Im linken Teil der Abbildung liegen beide Epithelien noch auf Distance, und ihre apikalen Oberflächen sind mit Mikrovilli bedeckt; in adhärenten Abschnitten (rechts) sind dagegen die Membranen gestreckt und verlaufen parallel zueinander, begleitet von dichten intrazytoplasmatischen Filamenten. Die prinzipielle Ähnlichkeit mit den Verhältnissen bei der Ratte (Abb. 4) ist auffällig, obwohl der Implantationsmodus ein anderer ist. 37000×. (Aufnahme von Frau Dr. E. Winterhager)

oberflächen mit Rutheniumrot, vor allem im zukünftigen Kontaktbereich. Untersuchungen von Currie u. a. (1984) zeigen für die Region des caudalen Neuroporus eine außerordentliche Dichte von Bindungsstellen für bestimmte Lektine vor der Adhäsion und ein Verschwinden dieser sog. "Rezeptoren" nach der Fusion. Daß diese Lektinbindungsstellen tatsächlich auch von funktioneller Bedeutung sind, ist dadurch gezeigt worden, daß man mit Concanavalin A den Neuralrohrschluß hemmen kann (Lee et al. 1976). Eine ähnliche Korrelation zwischen Auftreten von Rutheniumrotbzw. Concanavalin-A-Bindungsstellen und nachfolgender Verschmelzung ist für die Gaumenwülste (Greene und Kochhar 1974, Pratt und Hassell 1975) und für die Nasenwülste (Smuts 1977) gezeigt worden.

Es ergeben sich interessante Parallelen zu den Verhältnissen bei der Embryo-Implantation. Auch für dieses System sind Veränderungen in der Glykokalix von Trophoblast und/oder Uterusepithel, die eine Voraussetzung für die Anheftung schaffen

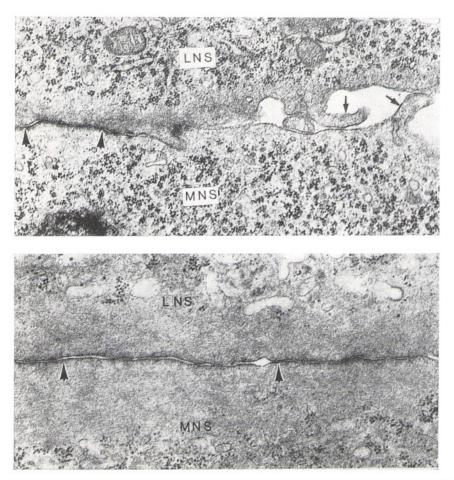


Abb. 6. Feinstrukturelle Details der Kontaktaufnahme zwischen medialem (MNS) und lateralem Nasenwulst (LNS) bei der Maus. Die fortschreitende Glättung der sich aneinander anlagernden apikalen Zelloberflächen, der resultierende parallele Membranverlauf und die Ausbildung eines dichten Filzwerks aus subplasmalemmalen Filamenten erinnern an die Verhältnisse bei der Implantation (vergleiche Abb. 4 und 5). $25\,000\times$ (oben), $30\,800\times$ (unten). (Aus: Gaare und Langman 1977)

sollen, häufig beschrieben worden, obwohl die Angaben im einzelnen durchaus widersprüchlich sind (Denker 1970, Sartor 1972, Holmes und Dickson 1973, Enders und Schlafke 1974, Nilsson et al. 1975, Tachi und Tachi 1976, Jenkinson und Searle 1977, Hewitt et al. 1979, Sherman et al. 1979, Surani 1979, Enders et al. 1980, Guillomot et al. 1982, Nilsson und Hjerten 1982, Damsky et al. 1983, Marticorena et al. 1983, Morris und Potter 1984). Während Widersprüche vor allem zwischen Arbeiten bestehen, in denen Kohlenhydratnachweise mehr allgemeiner Art oder von der Ladungsdichte abhängige Reaktionen angewendet wurden, scheinen neuere Lektinbindungsstudien differenziertere und physiologisch relevantere Aussagen zu ermöglichen (Sobel und Nebel 1976, Wu und Chang 1978, Carollo und Weitlauf 1979, Chavez und Enders 1981, 1982). Das Uterusepithel des Kaninchens zeigt zum Implantationszeitpunkt hin besonders eindrucksvolle Änderungen in den Lektinbindungsmustern (Nalbach und Denker 1983, Nalbach 1985). Interessant erscheint, daß mit Eintritt in die Implantationsphase am apikalen Zellpol des Uterus

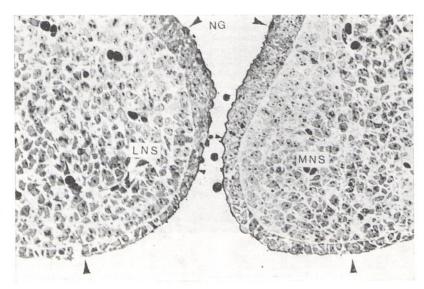


Abb. 7. Spezialisierte, besonders stark entwickelte Glykokalix an der Oberfläche von lateralem (LNS) und medialem (MNS) Nasenwulst bei der Maus. Mit Rutheniumrot nachweisbare Substanzen finden sich nur im zukünftigen Kontaktbereich (zwischen den großen Pfeilspitzen), nicht außerhalb dieser Region. $300 \times$ (aus: Gaare und Langman 1977).

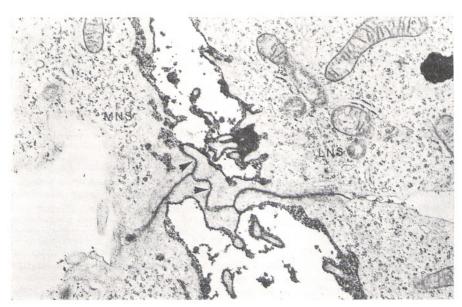


Abb. 8. Elektronenmikroskopische Darstellung der stark entwickelten Glykokalix im Kontaktbereich zwischen medialem (MNS) und lateralem (LNS) Nasenwulst der Maus mit Rutheniumrot (vgl. auch Abb. 7). Solche Befunde legen die Annahme nahe, daß die nachgewiesenen Glykoproteine eine besondere Rolle bei der initialen Adhäsion der beteiligten Zellen spielen. Die Bedeutung von Zellfortsätzen, wie sie hier zu sehen sind, wird allerdings aufgrund von REM-Untersuchungen verschieden bewertet. 14000× (aus: Gaare und Langman 1977).

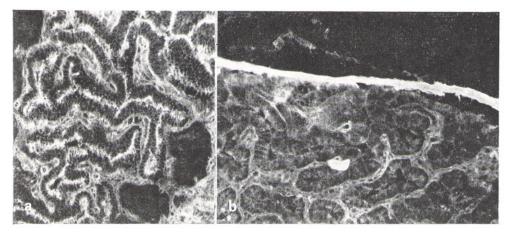


Abb. 9. Veränderung der Lektinbindungseigenschaften der apikalen Zytoplasmamembran des Uterusepithels des Kaninchens bei Eintritt in die "rezeptive Phase". (a) in der Präimplantationsphase (5 Tage post coitum) starke Bindung des Lektins RCA-I an den apikalen Zytoplasmasaum in mittleren und oberen Kryptenabschnitten und am Cavumepithel (daneben auch deutliche Markierung der Bindegewebsgrundsubstanz, nicht aber der tiefen Kryptenepithelien). (b) Zum Zeitpunkt der Einleitung der Implantation ist die starke RCA-Bindungsfähigkeit der apikalen Zytoplasmamembran des Uterusepithels verlorengegangen (die helle, bandförmige Struktur sind die Blastozystenhüllen, darüber der Trophoblast der Blastozyste). Kryostat-Nativschnitte, (a) 110×, (b) 180×. (Aus: Nalbach 1985)

Tabelle 2. Markerproteine für die apikale Plasmamembran des Uterusepithels des Kaninchens, die bei Eintritt in die "rezeptive Phase" erhebliche Konzentrationsänderungen zeigen

Enzyme:

γ-Glutamyltranspeptidase Aminopeptidase M (Arylamidase) alkalische Phosphatase

Lektin-,,Rezeptoren":

WGA SBA

RCA-I

epithels die dort zuvor stark ausgeprägten Bindunsstellen für bestimmte Lektine verschwinden, wie z. B. im Fall von RCA-I (Abb. 9; Tab. 2). In Analogie zu den genannten Experimenten über die Neurulation versuchen wir gegenwärtig, mit Lektinen die Trophoblastanheftung beim Kaninchen zu beeinflussen. Versuche zur Implantationshemmung durch intrauterine Applikation von Lektinen sind zwar auch von anderen Autoren durchgeführt worden, doch ist nie durch saubere morphologische Untersuchung geprüft worden, ob dabei tatsächlich die Trophoblastanheftung an das Uterusepithel gestört (oder etwa eine Zelldegeneration ausgelöst) wurde (HICKS und Guzmán-Gonzáles 1979, Wu und Gu 1981).

Interessanterweise betrifft die Änderung von Zelloberflächen-Eigenschaften nicht nur Lektinbindungsstellen, sondern auch eine Reihe von Marker-Enzymen für die apikale Uterusepithelzellmembran. Wir haben dies in im Moment noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen für γ -Glutamyltranspeptidase, Aminopeptidase M (auch als Arylamidase bezeichnet) und für die alkalische Phosphatase zeigen können. Wie Abb. 10 zeigt, finden wir in der Präimplantationsphase am Tag 5 beim Kaninchen eine sehr hohe Aktivität der γ -Glutamyltranspeptidase am apikalen Uterusepithel-

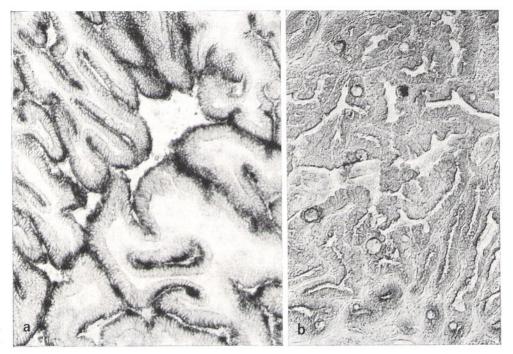


Abb. 10. Beispiel für den Verlust der Aktivität eines Markerenzyms für die apikale Zytoplasma, membran beim Eintritt des Uterusepithels in die "rezeptive Phase": γ-Glutamyltranspeptidase Kaninchen. (a) In der Präimplantationsphase (5 Tage post coitum) hohe Aktivität am apikalen Plasmalemm. (b) Zum Zeitpunkt der Implantation (7½ Tage post coitum, hier mesometraler Teil des Endometrium) kaum noch eine Reaktion. Kryostat-Nativschnitte, 140× (Classen-Linke und Denker, in Vorbereitung).

Strukturwandel der tight junctions des Uterusepithels während der Präimplantationsphase des Kaninchens

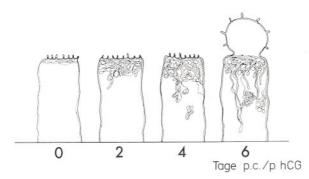


Abb. 11. Die auffällige Proliferation der Tight Junctions der lateralen Membran von Uterusepithelzellen des Kaninchens in der Präimplantationsphase (Winterhager und Kühnel 1982). Ihre funktionelle Bedeutung ist unklar geblieben, ebenso wie die der apikalen Protrusionen (Tag 6). Wir deuten diese Phänomene hier als Ausdruck der Destabilisierung der apiko-basalen Polarität des Epithels, die eine Voraussetzung für die Anheftung des Trophoblasten an den apikalen Zellpol darstellt (Schema aus: Winterhager 1985).

saum, zum Zeitpunkt der Implantationseinleitung, d. h. vom Tag 7 an, ist sie aber weitgehend verschwunden (Classen-Linke und Denker in Vorbereitung). Ganz ähnliche Befunde haben wir früher schon in histochemischen und biochemischen Untersuchungen an einem anderen solchen Membranenzym, der Aminopeptidase M (Arylamidase) erhoben: am Tag 5 wiederum apikal eine sehr starke Aktivität, die am Tag 7 weitgehend geschwunden ist, insbesondere in den Abschnitten des Uterusepithels, mit denen der Trophoblast Kontakt aufnimmt: Der Verlust des Enzyms ist sehr viel ausgeprägter in der Implantationskammer als in weiter von den Blastozysten entfernten Regionen des Uterus, was auf lokale, von den Blastozysten abgegebene diffusible Faktoren hinweist, deren Natur wir noch nicht kennen (van Hoorn und Denker 1975, Denker 1980). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur detaillierten Lokalisierung dieser Enzyme sind im Gange.

Lassen sie uns jetzt von der Betrachtung der Veränderungen an der apikalen Zellmembran des Uterusepithels zu den lateralen Membranen übergehen: Hier machen in der Präimplantationsphase beim Kaninchen die Tight Junctions dramatische Veränderungen durch, wie Frau Dr. Winterhager in unserem Institut gezeigt hat (Winterhager und Kühnel 1982): Sie proliferieren in erstaunlicher Weise, bis sie fast das basale Ende der Zellen erreichen (Abb. 11). Gleichzeitig bilden sich apikal Protrusionen dieser Epithelzellen aus.

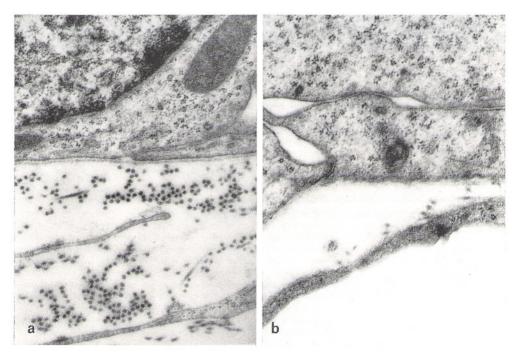


Abb. 12. Veränderung der Beziehungen zwischen Epithel und Basallamina bzw. subepithelialem Stroma in der Implantationskammer des Kaninchens, 7 Tage 2 Stunden post coitum. (a) In den Zwischenstücken zwischen Implantationskammern findet man unauffällige Verhältnisse vor: Die Basallamina zeigt eine deutliche Lamina lucida und eine klar konturierte Lamina densa, das subepitheliale Bindegewebe ist reich an Kollagenfasern. (b) In der Implantationskammer schwindet noch vor Ankunft des invasiven Trophoblasten die Lamina lucida, und die Lamina densa erscheint unklar gezeichnet und unregelmäßig dick. Das subepitheliale Kollagengerüst erscheint rarefiziert (oder die Zwischenräume ödematös verquollen). Rechts unten das Lumen einer sinusoidal erweiterten Kapillare (a: $24\,000\,\times$, b: $30\,000\,\times$). (Aufnahme von Frau Dr. E. Winterhager)

Auch am basalen Zellpol der Uterusepithelzellen zeigen sich interessante Veränderungen. Bei der Ratte und einigen anderen Arten löst sich das Uterusepithel von der Basallamina, und der Trophoblast schiebt sich in den entstandenen Spaltraum hinein (Enders und Schlafke 1967, Tachi et al. 1970; Schlafke und Enders 1975). Die Loslösung des Epithels von der Basallamina ist aber nicht von der Anwesenheit des Trophoblasten abhängig, sie kann bei diesen Arten nach entsprechender hormoneller Konditionierung auch durch einen unspezifischen mechanischen Reiz, d. h. durch intrauterine Fremdkörper ausgelöst werden. Beim Kaninchen löst sich das Epithel von der Basallamina nicht ab, die Basallamina zeigt aber an der Invasionsstelle noch vor Ankunft des Trophoblasten Veränderungen: Die Lamina lucida verschwindet (Abb. 12).

Um nun den Blick noch einmal weg von der Implantation auf die anderen embryonalen Epithel-Epithel-Interaktionen zu richten, lassen Sie mich kurz einige interessante Befunde über die Verteilung von Fibronektin bei der Neurulation der Maus schildern (Poelmann 1985 und pers. Mitt.). Hier wird Fibronektin, das ja sonst im wesentlichen als Bestandteil der interzellulären Matrix des Bindegewebes und der Basalmembran vorkommt, im Verband des Epithels nachweisbar, und zwar exakt an der Stelle, an der sich einerseits Neuralleistenzellen aus dem epithelialen Verband ausgliedern werden und andererseits sich der Schluß des Neuralrohrs vollziehen wird. Dies ist wiederum die Zone, in der erhebliche Umorientierungen der ursprünglich im geordneten epithelialen Verband befindlichen Zellen stattfinden müssen. Schon bevor die Zellen den ursprünglichen epithelialen Verband aufgeben, verliert beim Hühnchen an dieser Stelle die Basallamina ihre Kontinuität (Newgreen und Gib-BINS 1982). Wir erinnern uns an die eingangs erwähnten Befunde über die Bildung der Canales semicirculares: Dort war die Basallamina vor der Verschmelzung der Epithelien schon verschwunden. Im Fall der Gaumenentwicklung wird dementsprechend der Nachweis von Laminin in der Basalmembranregion des verschmelzenden Epithels negativ (Renard et al. 1984).

Ich habe damit die Rolle der extrazellulären Matrix angesprochen. Wir haben aufgrund zahlreicher experimenteller Untersuchungen allen Anlaß anzunehmen, daß die Reaktionen von Epithelien, wie ich sie hier diskutiere, in sehr starker Weise von Veränderungen in der Zusammensetzung der extrazellulären Matrixsubstanzen und überhaupt von dem darunterliegenden bindegewebigen Stroma abhängen. Zum Beispiel sind im Fall der Gaumenentwicklung eindrucksvolle heterologe Transplantations- und Rekombinationsexperimente durchgeführt worden, die dies belegen (Ferguson und Honig 1984, Shah 1984). Über dieses umfangreiche Kapitel der Epithel-Matrix-Interaktionen soll hier aus Raumgründen nur soviel gesagt werden, daß sie selbstverständlich in all den hier zu diskutierenden Systemen einschließlich des Uterus von großer Bedeutung sind und ihre weitere Untersuchung von großem Interesse sein dürfte (vgl. auch die Reviews von Brinkley und Morris-Wiman 1984, Bernfield et al. 1984, Cowell 1972, Hay 1982, Sugrue 1984, Greene und Pratt

1976).

Ich möchte nun anhand der Tab. 3 die Befunde von unserem Kaninchen-Implantations-Modell, die wir diskutiert haben, zusammenfassen. Wir haben im Uterusepithel in der Phase vor der Trophoblastanheftung dramatische Veränderungen gesehen, zunächst am apikalen Zellpol in der Glykokalix und der Ausstattung mit Membranenzymen, und, obwohl wir über die Lipide der Membranen bisher noch wenig wissen (Untersuchungen in dieser Richtung haben begonnen, s. Winterhager 1985), legt uns die Morphologie die Vermutung nahe, daß die Membranen eine starke Änderung der Fluidität durchmachen (ich erinnere an die Vergröberung und Abflachung der Mikrovilli). Wir wissen noch nicht, in welchem Umfang am Verlust von Komponenten der apikalen Zellmembran ein membrane shedding oder eine Internalisierung von Membranen beteiligt sind. Vermutlich sind die Änderungen in der Zusammensetzung der apikalen Zellmembranen Voraussetzung für die Adhäsion

Ablagerung von Basalmembranmaterial \u2214

Membranphänomene apikal: Glykokalix Membranenzyme membrane shedding Internalisierung? Fluiditätsänderung lateral: Änderungen im Junktionsmuster (Tight Junctions, Gap Junctions) basal: Adhäsion an Basalmembran ↓

Rolle des Zytoskeletts

des Trophoblasten. In der *lateralen* Zytoplasmamembran sahen wir vor allen Dingen eine Proliferation der Tight Junctions in Richtung auf den basalen Zellpol, am *basalen* Zellpol ging die Verbindung zur Basallamina verloren oder wurde doch morphologisch verändert.

Alle geschilderten Charakteristika sind Merkmale der funktionellen apiko-basalen Polarität von Epithelzellen, und was wir nun in der Präimplantationsphase beobachten, ist eine Abschwächung der Polarisierung in typisch apikale Eigenschaften am einen und typisch basale Eigenschaften am anderen Zellpol. Alle abgelaufenen Veränderungen möchte ich deswegen hypothetisch als Ausdruck einer Abschwächung

oder Destabilisierung der apiko-basalen Polarität zusammenfassen.

Die hier vorgestellte Hypothese läßt einige Befunde, die am Uterusepithel in der Periimplantationsphase erhoben worden sind, in einem neuen Licht erscheinen. So ist die auffällige Bildung apikaler Protrusionen bisher im Zusammenhang mit einer apokrinen Extrusion von Sekret oder mit Resorptionsvorgängen gesehen worden (Enders und Nelson 1973, Beier 1974, Parr und Parr 1982). Im Rahmen unserer Hypothese würden wir nun aber vermuten, daß eine wichtige (zumindest zusätzliche) physiologische Bedeutung im "Shedding" oder in der Internalisierung von Bestandteilen der apikalen Zytoplasmamembran liegt. Dadurch würden die Eigenschaften der apikalen Membran denen der basolateralen ähnlicher, was besser verständlich machen würde, daß sich der Trophoblast nun hier anlagern und sogar Junktionen verschiedener Art mit dieser veränderten apikalen Membran bilden kann, ja, daß das Uterusepithel in einer experimentellen Situation in dieser Phase am apikalen Pol sogar seltsamerweise Hemidesmosomen-ähnliche Verbindungen mit extrazellulärem Matrixmaterial einzugehen in der Lage ist (und zwar mit Resten der Blastozystenhülle, sofern deren Auflösung durch Proteinase-Inhibitoren gehemmt wurde, DEN-KER 1977). Ein anderes Beispiel: Auch für die Beobachtung von TACHI (1984), daß man im Uterusepithel unter Progesteroneinfluß ein eigentümliches "Disarrangement" im Diplosom und eine Änderung seiner Anordnung in der Zelle findet, ergibt sich eine neue funktionelle Deutungsmöglichkeit, wenn man an die Änderung der funktionellen apiko-basalen Polarität als Voraussetzung für die Trophoblastanheftung denkt. Die beobachtete Änderung in der Aktivität und Richtung von Endozytose und transzellulären Transportvorgängen (PARR 1980) mag als ein Beleg dafür gelten, daß die funktionelle Polarität tatsächlich Alterationen erfährt.

Natürlich müssen wir davon ausgehen, daß intrazellulär das Zytoskelett hierbei eine sehr wichtige Rolle spielt, aber abgesehen von der auffallenden Dichte intrazytoplasmatischer Filamente in der Kontaktzone von Trophoblast und Uterusepithel,

die ich bei der Beschreibung der Morphologie erwähnt habe, können wir bisher über das Zytoskelett nur wenig sagen. Hier sind weitere Untersuchungen erforderlich. Zukünftige Untersuchungen sollten auch prüfen, was die dargelegte Hypothese zu leisten vermag, insbesondere ob sie in der Lage ist, uns zu helfen, das Wesen der sog. "rezeptiven Phase" besser zu verstehen, der Phase, in der die Epithelien die Adhäsion, Umstrukturierung und Verschmelzung zulassen. Diese Phase ist für den Implantationsvorgang zwar hinsichtlich ihrer endokrinologischen Regulation gut charakterisiert, doch liegen ihre zellbiologischen Grundlagen weitgehend im Dunkeln (Psychoyos 1976).

Ein Gesichtspunkt, der nicht unerwähnt bleiben darf, ist die Rolle des physiologischen Zelltods. Im Fall der Gaumenwülste ist sehr schön belegbar, daß die Epithelzellen der medialen Kante, d. h. der Region, an der die Verschmelzung erfolgen wird, ihre DNS-Syntheseaktivität einstellen und anschließend dem physiologischen Zelltod anheimfallen (Greene und Pratt 1976). Dieser Zelltod ist programmiert, wie sich eindrucksvoll in der Gewebekultur zeigen läßt, wo die Epitheldegeneration unabhängig vom Kontakt mit dem Gaumenwulst der anderen Seite erfolgt. Diese Epitheldegeneration kann interessanterweise durch die Zugabe von epidermalem Wachstumsfaktor (EGF) unterbunden werden (Befunde von Grove und Pratt 1984, vgl. Abb. 13). Natürlich ist der Zelluntergang mit lysosomaler Aktivität verbunden, und hier können wir wieder vom Gaumen zum Uterus überspringen, wo man ebenfalls eine Korrelation zwischen den Vorgängen der Vorbereitung auf die Anheftung und Verschmelzung mit einem Anstieg von lysosomalen Enzymaktivitäten findet (vgl. z. B. Abraham et al. 1970, Kathepsin D siehe Moulton und Koenig 1983). Es ist allerdings weder ganz klar, was der beobachtete Abfall der Enzymaktivität unmittelbar vor Beginn der Zelldegeneration zu bedeuten hat (MOULTON und ELANGOVAN 1981, Roy et al. 1983), noch ist es eindeutig gelungen, durch Inhibition von lysosomalen Enzymen in vivo oder in vitro die Vorgänge des physiologischen Zelltodes in diesen Systemen zu unterbinden (Greene und Pratt 1978 berichten immerhin über Hemmung der Gaumenwulstepithel-Degeneration durch "Änderung der Lysosomenfunktion").

Fassen wir anhand der Tab. 4 die Befunde, die in den verschiedenen Systemen erhoben wurden, zusammen: Wir finden sowohl im Fall der Veränderungen des Uterusepithels bei der Embryo-Implantation als auch bei den anderen embryonalen Epithel-Epithel-Interaktionen eindrucksvolle Änderungen in der Zusammensetzung der Glykokalix (soweit untersucht), wir finden immer eine durchgreifende Umstrukturierung des Epithels, die zur Herstellung neuer Nachbarschaftsbeziehungen der Zellen führt und dabei eine Umordnung entlang der apikobasalen Achse erfordert, und wir finden meistens frühe Basalmembran-Alterationen. Ein programmierter Zelltod ist für die mediale Kante der Gaumenanlage nachweisbar, allerdings geht der Zelltod nur unter experimentellen Bedingungen der Verschmelzung der Gaumenanlagen voraus. Normalerweise kommt es zunächst zur Epithelverschmelzung und Umstrukturierung und erst danach zum Zelluntergang. Im Fall des Uterusepithels wechseln in dieser Hinsicht die Befunde von Spezies zu Spezies. Insgesamt ist der Zelltod für die hier zu diskutierenden Vorgänge offenbar keine conditio sine qua non, in einigen Fällen bleibt er völlig aus, und die Zellen proliferieren sogar. Eine vermehrte Aktivität der Lysosomen ist nur da zu finden, wo der Zelltod eine Rolle spielt.

Meine Suche in der Literatur hat erstaunlich viele Parallelen zwischen den hier diskutierten Systemen auch hinsichtlich der Rolle von verschiedenen Regulatorstoffen gezeigt; ich möchte einige davon hier nur summarisch zusammenstellen, nicht im Detail diskutieren, weil das den Rahmen dieses Referats entschieden sprengen würde. Ähnlichkeiten finden sich hinsichtlich der Rolle von Steroidhormonen, im Fall des Uterus in erster Linie Sexualsteroide (Reviews: Psychoyos 1976, Finn 1977), im Falle des Gaumens Glucocorticoide (Pratt et al. 1984, hinsichtlich einer Beeinflussung des Implantationsvorgangs zumindest im Experiment vgl. Johnson und Dey 1980, Hoffman et al. 1984), ferner in der Rolle von Prostanoiden (Gaumen: Greene

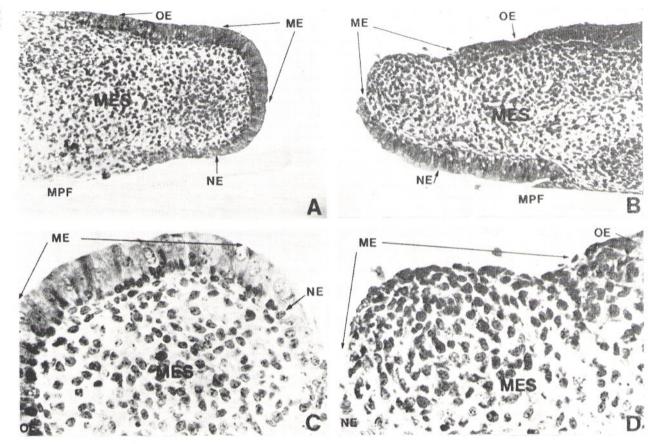


Abb. 13. Das Epithel der medialen Kante der Gaumenwülste, d. i. die präsumptive Verschmelzungszone, zeigt einen programmierten Zelltod, der vom Kontakt mit dem Gaumenwulst der Gegenseite unabhängig ist und auch in der Organkultur abläuft (B, D). Epithelialer Wachstumsfaktor (ERG) allein oder in Kombination mit verschiedenen Stoffen, die eine Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels bewirken, verhindert diesen Zelltod und führt sogar zu einer Hypertrophie in diesem Bereich (A, C) (A, B: 190×; C, D: 480×) (MPF = Millipore-Filter, NE = Nasenhöhlenepithel, OE = Mundhöhlenepithel) (Befunde von der Maus, aus: Grove und Pratt 1984).

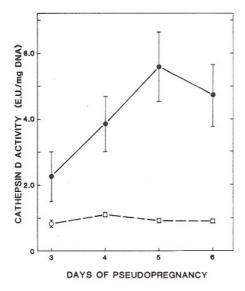


Abb. 14. Zur Illustration der Rolle von Lysosomen im Rahmen der hier diskutierten Prozesse ein Beispiel vom Kathepsin D im Uterusepithel der Ratte (obere Kurve). Das Maximum dzr Aktivität liegt in der "rezeptiven Phase" des Uterus, exakt zu dem Zeitpunkt, zu dem durch verschiedene Stimuli (auch die Blastozyste) über das Epithel am leichtesten die für die Implantation typischen Reaktionen ausgelöst werden können: Veränderung der Epithel-Stroma-Beziehungen, Dezidua-Reaktion, Epithel-Degeneration. (Aus: MOULTON und KOENIG 1983)

Tabelle 4.

	Spez. Glyko- kalix	Epithel- Umstruk- turierung	Basal- membran- Alteration	Zelltod		Lyso-
				ohne Kontakt	nach Kontakt	somen
Implantation:						
Uterusepithel	+	+	+/	+/	+/-	+
sek. Gaumen	+	+	+	+		+
Oberkiefer- und Nasen- fortsätze	+	+		(*)	(*)	
Neuralrohr	+	+	+	(*)	(*)	
Canalis semicircularis		+	+			-
Herzseptierung		+		<u> </u>		_

^(*) Disseminierte Zellnekrosen, Kausalzusammenhang mit Verschmelzung fraglich

und Garbarino 1984; Implantation: Evans und Kennedy 1978, Hoffman 1978, Holmes und Gordashko 1980, Lundkvist und Nilsson 1980, Hoos und Hoffman 1983, Kimball 1983, Snabes und Harper 1984) und Neurotransmittern (Gaumen: Greene und Garbarino 1984, Zimmerman und Wee 1984; Implantation: Esquivel et al. 1974, Card und Mitchell 1979, Aliverti et al. 1982, Mitchell und Hammer 1983), während für Wachstumsfaktoren wie EGF eine Rolle zwar im Fall des Gaumens eindrucksvoll gezeigt werden konnte (Grove und Pratt 1984, Pratt et al. 1984), aber derartige Versuche, die sicher reizvoll wären, bisher für den Implantationsvorgang ausstehen (Immerhin ist bereits eine erhöhte Dichte an EGF-Bindungsstellen am Implantationsort und in der Plazenta nachgewiesen worden: Brown et al. 1983, Wild 1983). Versuche über die Rolle von second messengers liegen für beide Arten von Systemen vor und zeigen interessante Parallelen (Gaumen: Greene und Pratt 1976, Greene und Garbarino 1984, Grove und Pratt 1984; Implantation: Holmes und Bergström 1975, Webb 1977, Wu und Chang 1977, Dey und Hubbard 1981, Vilar-Rojas et al. 1982).

Meine Damen und Herren, unsere Betrachtungen möchte ich wie folgt zusammenfassen und beschließen:

- 1. Der Vergleich verschiedener Epithel-Epithel-Interaktionen während der Embryonalentwicklung mit der Interaktion zwischen Trophoblast und Uterusepithel zeigt erstaunlich viele Ähnlichkeiten in der Feinstruktur ebenso wie in einer Reihe von zellbiologischen Elementarprozessen.
- 2. Ein derartiger Vergleich ist vor allem von heuristischem Wert, da er eine rationale Basis dafür schafft, in einem System erprobte experimentelle Ansätze auf die anderen zu übertragen.
- 3. Der Vergleich der Systeme führt zu dem neuen, hypothetischen Konzept, daß ein wesentliches Element der "rezeptiven Phase" (in der eine Verschmelzung möglich ist) in einer Destabilisierung der apiko-basalen Polarität des Epithels besteht.

Danksagung

Am Zustandekommen der aufgeführten Befunde unserer Arbeitsgruppe sind meine folgenden Kollegen und Mitarbeiter beteiligt, denen ich herzlich danke: Frau Bohr, Herr Brümmer, Frau Dr. Classen-Linke, Herr Dr. Hohn, Frau Hölscher, Herr Nalbach und Frau Dr. Winterhager.

Frau Bock danke ich für Dunkelkammerarbeiten, Frau Mathieu und Frau Elbert für das Schreiben des Manuskripts und Herrn Dr. Poelmann für die Erlaubnis, unveröffentlichte Ergebnisse zitieren zu dürfen. Die Abbildungen 2, 3, 4, 6, 7, 8, 13, 14 sind mit freundlicher Genehmigung von Dr. A. C. Enders, Dr. R. E. Waterman, Dr. S. Tachi, Dr. J. D. Gaare, Dr. R. M. Pratt und Dr. B. C. Moulton aus ihren angegebenen Arbeiten reproduziert worden.

Unsere eigenen Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Schwerpunktprogramms "Biologie und Klinik der Reproduktion" (De 181/9-6) unterstützt.

- ABRAHAM, R., R. HENDY, W. J. DOUGHERTY, J. C. FULFS and L. GOLBERG: Participation of lysosomes in early implantation in the rabbit. Exp. Mol. Path. 13 (1970) 329-345
- ALIVERTI, V., L. BONANOMI, E. GIAVINI, V. G. LEONE, L. MARIANI, M. PRATI and C. VISMARA: Embryotoxic effects of 5-hydroxytryptamine during the peri-implantation period in the rat. Biol. Reprod. 27 (1982) 1231–1237
- Beier, H. M.: Oviducal and uterine fluids. J. Reprod. Fert. 37 (1974) 221-237
- Bergström, S.: Surface Ultrastructure of Mouse Blastocysts Before and at Implantation. Thesis, Uppsala, 1971
- Bernfield, M., S. D. Banerjee, J. E. Koda and A. C. Rapraeger: Remodelling of the basement membrane: morphogenesis and maturation. In: Basement membranes and cell movement. R. Porter and J. Whelan (eds.), Ciba Foundation symposium 108, 1984, Pitman, London, pp. 179–196
- Brinkley, L. L., and J. Morris-Wiman: The role of extracellular matrices in palatal shelf closure. Curr. Top. Dev. Biol. 19 (1984) 17-36
- Brown, M. J., G. S. Schultz and F. K. Hilton: Elevated epidermal growth factor binding in implantation sites of mouse uteri. Society for the Study of Reproduction, Sixteenth Annual Meeting 1983. Biol. Reprod. 23, Suppl. 1 (1983) 139
- Card, J. P., and J. A. Mitchell: The effects of nicotine on implantation in the rat. Biol. Reprod. 20 (1979) 532-539
- Carollo, J. R., and H. M. Weitlauf: A comparison of changes in Con A binding and surface area of mouse blastocysts at implantation. Anat. Rec. 193 (1979) 499
- CHÁVEZ, D. J., and A. C. ENDERS: Temporal changes in lectin binding of peri-implantation mouse blastocysts. Dev. Biol. 87 (1981) 267–276
- CHÁVEZ, D. J., and A. C. ENDERS: Lectin binding of mouse blastocysts: Appearance of Dolichos biflorus binding sites on the trophoblast during delayed implantation and their subsequent disappearance during implantation. Biol. Reprod. 26 (1982) 545-552

- COWELL, T. P.: Control oitf ephelial invasion by connective tissue during embedding of the mouse ovum. In: Tissue Interactions in Carcinogenesis. D. Tarin (ed.), Academic Press, London, pp. 435-463, 1972
- Currie, J. R., M.-F. Maylié-Pfenninger and K. H. Pfenninger: Developmentally regulated plasmalemmal glycoconjugates of the surface and neural ectoderm, Dev. Biol. **106** (1984) 109–120
- Damsky, C. H., J. Richa, D. Solter and C. A. Buck: Cell CAM 120/80; a cell-cell adhesion molecule present in the early embryo and adult epithelia. J. Cell Biol. 97 (1983) 251a
- Denker, H.-W.: Topochemie hochmolekularer Kohlenhydratsubstanzen in Frühentwicklung und Implantation des Kaninchens. I. und II. Zool. Jahrb., Abt. Allgem. Zool. Physiol. 75 (1970) 141–245 und 246–308
- Denker, H.-W.: Implantation: The Role of Proteinases, and Blockage of Implantation by Proteinase Inhibitors. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1977 (Adv. Anat. Embryol. Cell Biol. 53, Fasc. 5)
- Denker, H.-W.: Endometrial arylamidase secretion: a sensitive parameter of steroid hormone action and of embryo-maternal interrelationships in the rabbit. In: Steroid Induced Uterine Proteins. M. Beato (ed.), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam-New York-Oxford, 1980, pp. 121–131
- DEY, S. K., and C. J. HUBBARD: Role of histamine and cyclic nucleotides in implantation in the rabbit. Cell Tiss. Res. 220 (1981) 549-554
- ENDERS, A. C., and D. M. Nelson: Pinocytotic activity of the uterus of the rat. Amer. J. Anat. 138 (1973) 277-300
- Enders, A. C., and S. Schlafke: A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. Amer. J. Anat. 120 (1967) 185-226
- Enders, A. C., and S. Schlafke: Implantation in the ferret: epithelial penetration. Amer. J. Anat. 133 (1972) 291-316
- ENDERS, A. C., and S. Schlafke: Surface coats of the mouse blastocyst and uterus during the preimplantation period. Anat. Rec. 180 (1974) 31-46
- ENDERS, A. C., S. SCHLAFKE and A. O. Welsh: Trophoblastic and uterine luminal epithelial surfaces at the time of blastocyst adhesion in the rat. Amer. J. Anat. 159 (1980) 59-72
- ESQUIVEL, J. L., A. CASTRO-VÁZQUES and J. M. ROSNER: The effects of epinephrine on implantation and the early embryonic and decidual growth. Ster. Lip. Res. 5 (1974) 173-178
- Evans, C. A., and T. G. Kennedy: The importance of prostaglandin synthesis for the initiation of blastocyst implantation in the hamster. J. Reprod. Fert. 54 (1978) 255-261
- FERGUSON, M. W. J., and L. S. Honig: Epithelial-mesenchymal interactions during vertebrate palatogenesis. In: Current Topics in Developmental Biology, Vol. 19, A. A. Mosconoa, A. Monroy (eds.), Academic Press, Orlando-San Diego-New York, 1984, pp. 137-164
- Finn, C. A.: The implantation reaction. In: Biology of the Uterus. R. M. Wynn (ed.), Plenum Press, New York-London, 1977, pp. 245-308
- Gaare, J. D., and J. Langman: Fusion of nasal swellings in the mouse embryo: Surface coat and initial contact. Amer. J. Anat. 150 (1977) 461-476
- GREENE, R. M., and M. P. GARBARINO: Role of cyclic AMP, prostaglandins, and catecholamines during normal palate development. In: Current Topics in Developmental Biology, Vol. 19, A. A. Moscona, A. Monroy (eds.), Academic Press, Orlando-San Diego-New York, 1984, pp. 65-79
- GREENE, R. M., and D. M. Kochhar: Surface coat on the epithelium of developing palatine shelves in the mouse as revealed by electron microscopy. J. Embryol. exp. Morph. 31 (1974) 683-692
- GREENE, R. M., and R. M. PRATT: Developmental aspects of secondary palate formation. J. Embryol. exp. Morph. 36 (1976) 225-245
- Greene, R. M., and R. M. Pratt: Inhibition of epithelial cell death in the secondary palate in vitro by alteration of lysosome function. J. Histochem. Cytochem. 26 (1978) 1109-1114
- GROVE, R. I., and R. M. PRATT: Influence of epidermal growth factor and cyclic AMP on growth and differentiation of palatal epithelial cells in culture. Dev. Biol. 106 (1984) 427-437
- Guillomot, M., J.-E. Fléchon and S. Wintenberger-Torrés: Cytochemical studies of uterine and trophoblastic surface coats during blastocyst attachment in the ewe. J. Reprod. Fert. 65 (1982) 1-8
- HAY, D. A.: Development and fusion of the endocardial cushions. In: Birth Defects: Original Article Series, Vol. XIV, 1978, pp. 69-90

- HAY, D. A., and F. N. Low: The fusion of dorsal and ventral endocardial cushions in the embryonic chick heart: a study in fine structure. Amer. J. Anat. 133 (1972) 1-24
- HAY, E. D.: Interaction of embryonic cell surface and cytoskeleton with extracellular matrix. Amer. J. Anat. 165 (1982) 1-12
- Hewitt, K., A. E. Beer and F. Grinnell: Disappearance of anionic sites from the surface of the rat endometrial epithelium at the time of blastocyst implantation. Biol. Reprod. 21 (1979) 691-707
- HICKS, J. J., and A. M. GUZMÁN-GONZÁLES: Inhibition of implantation by intraluminal administration of concanavalin A in mice. Contraception 20 (1979) 129–136
- HOFFMAN, L. H.: Antifertility effects of indomethacin during early pregnancy in the rabbit. Biol. Reprod. 18 (1978) 148-153
- HOFFMAN, L. H., G. R. DAVENPORT and A. R. BRASH: Endometrial prostaglandins and phospholipase activity related to implantation in rabbits: Effects of dexamethasone. Biol. Reprod. 30 (1984) 544-555
- Holmes, P. V., and S. Bergström: Induction of blastocyst implantation in mice by cyclic AMP. J. Reprod. Fert. 43 (1975) 329–332
- Holmes, P. V., and A. D. Dickson: Estrogen-induced surface coat and enzyme changes in the implanting mouse blastocyst. J. Embryol. exp. Morphol. 29 (1973) 639-645
- Holmes, P. V. and B. J. Gordashko: Evidence of prostaglandin involvement in blastocyst implantation. J. Embryol. exp. Morphol. 55 (1980) 109-122
- Hoos, P. C., and L. H. Hoffman: Effect of histamine receptor antagonists and indomethacin on implantation in the rabbit. Biol. Reprod. 29 (1983) 833-840
- Jenkinson, E. J., and R. F. Searle: Cell surface changes on the mouse blastocyst at implantation. Exp. Cell Res. 106 (1977) 386–390
- Johnson, D. C., and S. K. Dey: Role of histamine in implantation: Dexamethasone inhibits estradiol-induced implantation in the rat. Biol. Reprod. 22 (1980) 1136-1141
- Kimball, F. A.: Role of prostacyclin and other prostaglandins in pregnancy. In: Prostacyclin in Pregnancy. P. J. Lewis et al. (eds.), Raven Press, New York, 1983, pp. 1–13
- Lee, H.-Y., J. B. Sheffield, R. G. Nagele jr. and G. W. Kalmus: The role of extracellular material in chick neurulation. I. Effects of concanavalin A. J. exp. Zool. 198 (1976) 261-266
- Leiser, R.: Kontaktaufnahme zwischen Trophoblast und Uterusepithel während der frühen Implantation beim Rind. Anat. Histol. Embryol. 4 (1975) 63–86
- Los, J. A., and E. van Eijndthoven: The fusion of the endocardial cushions in the heart of the chick embryo. A light-microscopical and electron-microscopical study. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 141 (1973) 55-75
- Lundkvist, Ö., and B. O. Nilsson: Ultrastructural changes of the trophoblast-epithelial complex in mice subjected to implantation blocking treatment with indomethacin. Biol. Reprod. 22 (1980) 719-726
- Mak, L. L.: Ultrastructural studies of amphibian neural fold fusion. Dev. Biol. 65 (1978) 435-446 Marticorena, P., B. Hogan, D. I. Meo, K. Artzt and D. Bennett: Carbohydrate changes in pre- and peri-implantation mouse embryos as detected by a monoclonal antibody. Cell Diff. 12 (1983) 1-10
- MITCHELL, J. A., and R. E. HAMMER: Serotonin-induced disruption of implantation in the rat: I. Serum progesterone, implantation site-blood flow, and intrauterine pO₂. Biol. Reprod. 28 (1983) 830-835
- Morris, J. E., and S. W. Potter: A comparison of developmental changes in surface charge in mouse blastocysts and uterine epithelium using DEAE beads and dextran sulfate in vitro. Dev. Biol. 103 (1984) 190–199
- Morse, D. E., C. S. Rogers and V. H. Gattone II: Scanning electron microscopy of embryonic fusion processes. In: Three Dimensional Microanatomy of Cells and Tissue Surface. L. J. A. Didio, P. M. Motta, D. J. Allen (eds.), Elsevier North Holland, Amsterdam, 1981, pp. 217–234
- Moulton, B. C., and S. Elangovan: Lysosomal mechanisms in blastocyst implantation and early decidualization. In: Cellular and Molecular Aspects of Implantation. S. R. Glasser, D. W. Bullock (eds.), Plenum Press, New York-London, 1981, pp. 335-344
- Moulton, B. C., and B. B. Koenig: Progestin increases cathepsin D synthesis in uterine luminal epithelial cells. Amer. J. Physiol. 244 (1983) E442–446
- Nalbach, B.: Lektinbindungsmuster in Uterus und Blastozyste des Kaninchens während der Präimplantationsphase und der frühen Implantation. Histochemie und Methodenkritik. Dissertation, Med. Fak. RWTH Aachen (1985)

- Nalbach, B., and H.-W. Denker: Stage-dependent changes in lectin binding patterns in rabbit uterus and blastocyst during the preimplantation period and implantation. Eur. J. Cell Biol. Suppl. 4 (1983) 13
- Newgreen, D., and I. Gibbins: Factors controlling the time of onset of the migration of neural crest cells in the fowl embryo. Cell Tiss. Res. 224 (1982) 145-160
- Nilsson, B. O., and S. Hjertén: Electrophoretic quantification of the changes in the average net negative surface charge density of mouse blastocysts implanting in vivo and in vitro. Biol. Reprod. 27 (1982) 485–493
- Nilsson, O., I. Lindqvist and G. Ronquist: Blastocyst surface charge and implantation in the mouse. Contraception 11 (1975) 441–450
- O'RAHILLY, R.: The early development of the otic vesicle in staged human embryos. J. Embryol. exp. Morphol. 11 (1963) 741-755
- Parkening, T. A.: An ultrastructural study of implantation in the golden hamster. II. Trophoblastic invasion and removal of the uterine epithelium. J. Anat. 122 (1976) 211-230
- Parr, M. B.: Endocytosis at the basal and lateral membranes of rat uterine epithelial cells during early pregnancy. J. Reprod. Fert. 60 (1980) 95-99
- Parr, M. B., and E. L. Parr: Relationship of apical domes in the rabbit uterine epithelium during the peri-implantation period to endocytosis, apocrine secretion and fixation. J. Reprod. Fert. 66 (1982) 739-744
- POELMANN, R. E.: Development of the mesectoderm in mammalian embryos. Abstract, 6. Wiss. Tagung Ges. f. Entwicklungsbiologie, Bochum 1985
- Pratt, R. M., and J. R. Hassell: Appearance and distribution of carbohydrate-rich macromolecules on the epithelial surface of the developing rat palatal shelf. Dev. Biol. 45 (1975) 192–198
- Pratt, R. M., Ch. S. Kim and R. I. Grove: Role of glucocorticoids and epidermal growth factor in normal and abnormal palatal development. In: Current Topics in Developmental Biology, Vol. 19. A. A. Moscona, A. Monroy (eds.), Academic Press, Orlando-San Diego-New York, 1984, pp. 81–101
- Psychoyos, A.: Hormonal control of uterine receptivity for nidation. J. Reprod. Fert. Suppl. 25 (1976) 17-28
- Reinius, S.: Ultrastructure of blastocyst attachment in the mouse. Z. Zellforsch. 77 (1967) 257-266
- Renard, A. M., C. Merveille and E. Baeckeland: Study of the fusion of palatal shelves and the closure of eyelids in the rat. J. Embryol. exp. Morph. 82 Suppl. (1984) 34
- Roy, S. K., J. Sengupta and S. K. Manchanda: Histochemical study of β -glucuronidase in the rat uterus during implantation and pseudopregnancy. J. Reprod. Fert. **68** (1983) 161–164 during neurulation. Anat. Rec. **191** (1978) 345–350
- Sadler, T. W.: Distribution of surface coat material on fusing neural folds of mouse embryos
- Sartor, P.: Evolution du "glycolemme" de l'épithélium utérin de la ratte progestante. Relation possible avec les phénomènes d'ovoimplantation. VII. Internatl. Kongreß f. Tierische Fortpflanzung und Haustierbesamung, München, 6.–9. Juni 1972, pp. 1871–1876
- SCHLAFKE, S., and A. C. Enders: Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus at implantation. Biol. Reprod. 12 (1975) 41-65
- Schoenwolf, G. C.: Observations on closure of the neuropores in the chick embryo. Amer. J. Anat. 155 (1979) 445-466
- Schoenwolf, G. C.: On the morphogenesis of the early rudiments of the developing central nervous system. Scann. Electron Microsc. 1982/I, pp. 289-308
- Shah, R. M.: Morphological, cellular, and biochemical aspects of differentiation of normal and teratogen-treated palate in hamster and chick embryos. Curr. Top. Dev. Biol. 19 (1984) 103-135
- SHERMAN, M. I., R. SHALGI, A. RIZZINO, M. H. SELLENS, ST. GAY and R. GAY: Changes in the surface of the mouse blastocyst at implantation. Ciba Foundation Series 64 (New Series) (1979) 33-52
- Silver, M. H.: Ultrastructure of neural fold fusion in chick embryos. Anat. Rec. 190 (1978) 541-542
- SLAVKIN, H. C.: Morphogenesis of a complex organ: vertebrate palate development. In: Current Topics in Developmental Biology, Vol. 19, A. A. Moscona, A. Monroy (eds.), Academic Press, Orlando-San Diego-New York, 1984, pp. 1–16

- SMEETS, M. S.: Concanavalin A binding to the epithelial surface of the developing mouse offactory placede. Anat. Rec. 188 (1977) 29-38
- Smuts, M. S.: Concanavalin A binding to the epithelial surface of the developing mouse olfactory placede. Anat. Rec. 188 (1977) 29-33
- SNABES, M. C., and M. J. K. HARPER: Site of action of indomethacin on implantation in the rabbit. J. Reprod. Fert. 71 (1984) 559-565
- SOBEL, J. S., and L. Nebel: Concanavalin A agglutinability of developing mouse trophoblast. J. Reprod. Fert. 47 (1976) 399-402
- STARCK, D.: Embryologie. Ein Lehrbuch auf allgemein biologischer Grundlage. 3. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1975
- Sugrue, S.: The interaction of extracellular matrix with the basal cell surface of embryonic corneal epithelia, In: Matrices and Cell Differentiation, R. B. Kemp, J. R. Hinchliffe (eds.), Alan R. Liss, New York, 1984, pp. 77–87
- Surani, M. A. H.: Glycoprotein synthesis and inhibition of glycosylation by tunicamycin in preimplantεtion mouse embryos: compaction and trophoblast adhesion. Cell 18 (1979) 217 to 227
- Tachi, C., and S. Tachi: Cellular aspects of ovum implantation in the rat. Gunma Symposia on Endocrinology 13 (1976) 159-178
- Tachi, S.: Electron microscopic analysis of the effect of progesterone upon the hormone-sensitive solitary cilia and centriolar complexes in the luminal epithelial cells of the uterus of the ovariectomized-adrenalectomized rat. Amer. J. Anat. 169 (1984) 45-58
- Tachi, S., C. Tachi and H. R. Lindner: Ultrastructural features of blastocyst attachment and trophoblastic invasion in the rat. J. Reprod. Fert. 21 (1970) 37-56
- VAN HOORN G., and H.-W. DENKER: Effect of the blastocyst on a uterine amino acid arylamidase in the rabbit. J. Reprod. Fert. 45 (1975) 359-362
- VILAR-ROJAS, C., G. CASTRO-OSUNA and J. J. HICKS: Cyclic AMP and cyclic GMP in the implantation site of the rat. Int. J. Fert. 27 (1982) 56-59
- Waterman, R. E.: SEM observations of surface alterations associated with neural tube closure in the mouse and hamster. Anat. Rec. 183 (1975) 95-98
- WATERMAN, R. E., and D. H. Bell: Epithelial fusion during early semicircular canal formation in the embryonic zebrafish, Brachydanio rerio. Anat. Rec. 210 (1984) 101-114
- Webb, F. T. G.: Cyclic AMP and the preparation of the mouse uterus for implantation. J. Reprod. Fert. 50 (1977) 83-89
- Wild, A. E.: Trophoblast cell surface receptors. In: Biology of Trophoblast. Loke and Whyte (eds.), Elsevier Sci. Publ. 1983, pp. 471–512
- WINTERHAGER, E.: Dynamik der Zellmembran: Modellstudien während der Implantationsreaktion beim Kaninchen. Habilitationsschrift, Med. Fak. der RWTH Aachen (1985)
- WINTERHAGER, E., and W. KÜHNEL: Alterations in intercellular junctions of the uterine epithelium during the preimplantation phase in the rabbit. Cell Tiss. Res. 224 (1982) 517-526
- Wooding, F. B. P.: Frequency and localization of binucleate cells in the placentomes of ruminants. Placenta 4 (1983) 527-540
- WOODING, F. B. P., L. D. STAPLES and M. A. PEACOCK: Structure of trophoblast papillae on the sheep conceptus at implantation. J. Anat. 134 (1982) 507-516
- Wu, J. T., and M. C. Chang: Failure of dibutyryl cyclic AMP to induce implantation in rats and mice. Biol. Reprod. 17 (1977) 355-360
- Wu, J. T., and M. C. Chang: Increase in concanavalin A binding sites in mouse blastocysts during implantation. J. Exp. Zool. 205 (1978) 447–453
- Wu, J. T., and Z. Gu: The effect of intrauterine injection of concanavalin A on implantation in mice and rats. Contraception 23 (1981) 667-675
- ZIMMERMAN, E. F., and E. L. WEE: Role of neurotransmitters in palate development. In: Current Topics in Development Biology, Vol. 19. A. A. Moscona, A. Monroy (eds.), Academic Press, Orlando-San Diego-New York, 1984, pp. 37-63
- Anschrift: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H.-W. Denker, Abteilung Anatomie der Medizinischen Fakultät an der RWTH Aachen, Melatener Straße 211, D 5100 Aachen.