Zur Entwicklung der Ringmuskelschicht an den Bronchien der Säugetiere.

Von

W. Kotzenberg, Würzburg.

Hierzu Tafel XXIII und 2 Textfiguren.

Seit langem sind an den primitiven Bronchien von Säugetierembryonen glatte Muskelfasern bekannt, welche dicht unter dem Epithel liegen, sehr frühzeitig auftreten und die einzige Hülle der Bronchien bilden. Sie wurden von Kölliker (1) an Kaninchenembryonen und von Stieda (4) an Schafembryonen beschrieben.

Ersterer konnte sie an seinem Untersuchungsobjekt bereits am 14. Tage nachweisen, zu einer Zeit, wo wohl an der Speiseröhre, nicht aber an der Darmwand sich Muskelfasern schon vorfinden.

Kölliker sprach damals die Vermutung aus, dass diese Faserhaut möglicherweise aus dem Entodermen entstanden sein könnte, da diese Zellen direkt dem Epithel angelagert erscheinen.

Es schien mir nun nicht unwert, diesem Gegenstand mit den Mitteln der modernen verbesserten Technik näher zu treten, um so mehr, als in einer kürzlich erschienenen Arbeit von Szili (5) die Frage der Unterscheidungsmöglichkeit zwischen epithelialen und mesodermalen glatten Muskelzellen erneut angeschnitten wurde, ja sogar die Vermutung ausgesprochen wurde, es sei vielleicht möglich, noch „manche andere oder gar alle glatte Muskelelemente auf epithelialen Ursprung zurückzuführen.“

Material und Methode.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden angestellt an Serien von Mäuseembryonen. Für die Wahl der Maus war ausschlaggebend, dass einerseits dieses Tier besonders grosse Elemente hat, andererseits die Beschaffung des Materials keine besonderen Schwierigkeiten bietet und die Serien nicht zu umfangreich wurden.

Die Embryonen wurden durchgehends in Zenker'scher Flüssigkeit konserviert, mit Boraxkarmin durchgefärbt und nach vorausgegangener Paraffineinbettung in lückenlose Serien zerlegt. Vor der Einbettung wurden die Objekte in auffallendem Licht bei 10—15facher Vergrößerung photographiert, und beziehen sich die Längenmaasse also auf die Grösse nach der Fixierung. Die Serien wurden nachträglich mit Haematoxylin und Eosin gefärbt.

Die Durchfärbung mit Boraxkarmin bietet den Vorteil, dass die Präparate jederzeit später eine nachträgliche Kernfärbung mittelst einer beliebigen Farbe gestatten, während sie sonst nach Konservierung in Zenker- und anderen Chromsäuregemischen nach kurzer Zeit schon ihre Färbbarkeit bekanntlich verlieren. Die Figuren wurden von dem Anatomiezeichner, Herrn Freitag, mit dem Abbé'schen Zeichenapparat entworfen.

Bevor ich zur Beschreibung der eigentlichen Untersuchung übergehe, möchte ich mir noch einige kurze Bemerkungen über die erste Anlage der Lunge überhaupt erlauben.

Willach (8) hat ziemlich eingehend die erste Anlage der Lunge bei Mäusen beschrieben. Seit dem Erscheinen dieser Abhandlung ist eine ganze Reihe von Arbeiten namentlich über die bereits vorher, besonders von Aeby (9) und His (6) behandelte Frage: dichotomische oder monopodische Verzweigung der Bronchien erschienen, die eine ausführliche Zusammenstellung durch Lühe (10) gefunden haben. Seitdem ist noch das grosse Werk von Narath (11) veröffentlicht worden, durch das mir diese Streitfrage wohl endgültig im Sinne der Dichotomie entschieden zu sein scheint¹⁾. Trotzdem möchte ich zur kurzen Orientierung Abbildungen zweier Lungenanlagen geben, wie ich sie aus Rekonstruktionen gewonnen habe, muss es mir aber versagen, auf die genannte Frage näher einzugehen, da das den Rahmen dieser Arbeit überschreiten würde.

Die erste Anlage der Lunge bei *mus decumanus* beschreibt Willach (8) in der Weise, dass zuerst an der Stelle, an welcher später die Lunge auftritt, sich eine Verdickung des Epithels des Vorderdarms findet, welche aus einer Vermehrung der Zellen dieser Schicht und Anordnung zu mehreren Reihen bestand. Es

¹⁾ Die Arbeit war mir leider nicht im Original, sondern nur im Referate zugänglich.

beginnt dann die Bildung der Lungenleiste (nach Kolliker), indem der ventrale Teil des Vorderdarmes sich vorwölbt. Im nächsten Stadium zeigte sich jederseits am unteren Ende dieser Lungenleiste eine taschenförmige Ausstülpung des Vorderdarmes die aber mit demselben in weit offner Verbindung standen.“

Ich kann diese Angaben Willachs bestätigen und möchte noch einiges über die weitere Entwicklung (Stadien die Willach fehlten) hinzufügen.

In dem Stadium, welches die untenstehende Figur 1, welche aus einer Rekonstruktion¹⁾ auf Papier gewonnen wurde, darstellt, finden wir die oben beschriebenen „primären Lungenblaschen“ bereits zu primären Bronchialröhrchen ausgewachsen, welche auch auf dieser Entwicklungsstufe mit dem Vorderdarm noch in offner Verbindung stehen. Man sieht auf der Figur deutlich die bereits von Kolliker (3a) und anderen beschriebene kolbenförmige Erweiterung des unteren Endes der Lungenleiste. Aus ihr wachsen die beiden primitiven Bronchialröhrchen hervor, welche an ihrer Abgangsstelle etwas verengt, an ihren Enden blaschenförmig erweitert erscheinen. Der rechte Bronchus ist dabei grösser und bereits besser ausgebildet als der linke, was auch Willach bereits bei seinen früheren Stadien konstatieren konnte.

Figur 1.

Rekonstruktionsbild der Lungenanlage bei einem ca. 2 mm langen Mausembryo. Ventralansicht. Vergr. 150:1.

¹⁾ Die Richtigkeit der Rekonstruktion wurde später noch durch die Born'sche Plattenmethode bestätigt.

Im mikroskopischen Bilde erscheint das Epithel der Lungenleiste als ein geschichtetes (mehrschichtiges?), während das des dorsalen Teiles des Vorderdarmes einschichtig ist und kubische Zellen führt. In den Bronchialröhrchen jedoch ist bereits ein schönes hohes einreihiges Cylinder-epithel entstanden. Eine Hülle der Bronchien ist noch nicht vorhanden; dieselben erscheinen vielmehr eingestülpt in das Speiseröhre und Lungenanlage gemeinsam umgebende Mesoderm.

Im Verlauf der weiteren Entwicklung beginnt dann die Trennung der Trachea vom Oesophagus, indem die beiden Ränder der Verbindungsspalte miteinander verwachsen. Diese Trennung geht ziemlich langsam vor sich, so zwar, dass bei einem Embryo von 5 mm Länge die Lungenleiste sich immer noch auf 57 Schnitte bei 0,005 mm Schnittdicke, also über 0,28 mm erstreckte.

Die weitere Entwicklung zeigt Figur 2, in welcher die Verhältnisse der weiteren Bronchialverzweigung sichtbar sind und die ihrerseits für einen Beleg der dichotomischen Teilung gelten

Figur 2.

Rekonstruktionsbild der Lungenanlage bei einem 6,4 mm langen Embryo.
Dorsalansicht. Vergr. 100:1.

kann, wenn man erstens die Anschwellungen beachtet, welche an den Abgangsstellen der Seitensprosse noch sichtbar sind und zweitens die Veränderung der Wachstumsrichtung des Stammbronchus nach dem jedesmaligen Abgang der Seitensprossen. Der rechte Bronchus zeigt je eine Knospe dorsal, lateral und ventral gerichtet, während der linke erst eine dorsale Knospe erkennen lässt. Wir können auch hier wieder ein Ueberwiegen des rechten Bronchus über den linken konstatieren. Der weitere Ausbau der Lunge ist von verschiedenen Autoren [siehe Lühe (10)] besonders von His (6) und Narath (11) für den Menschen und die Säugetiere zu genau beschrieben, um nochmals darauf eingehen zu können.

Gehen wir nun zur Betrachtung der mikroskopischen Befunde der einzelnen Serien über, so kann ich das in der Hauptsache bereits beschriebene erste Stadium übergehen, da es nichts Wesentliches zur Frage der Abstammung der Bronchialmuskulatur zeigt.

Das nächst ältere Stadium stammt von einem Embryo von mm Steiss-Nacklänge; die Schnittdicke betrug 0,005 mm. Figur 1 der Tafel stellt einen Querschnitt des linken Stammbronchus dar, von dem einen Teil in stärkerer Vergrößerung die Figur 2 wiedergibt.

Man sieht das Bronchialröhrchen durch eine scharfe Linie von dem umgebenden Mesenchym abgegrenzt. Das Röhrchen besteht aus einem einschichtigen Epithel, dessen hochcylindrische Zellen offenbar in lebhafter Teilung begriffen sind. Die Kerne haben eine rundlich-ovale Form und liegen meist an der Basis der Zellen, scheinen jedoch beim Teilungsprozess an die Oberfläche des Lumens zu rücken, wie das ja auch von den Epithelzellen der Lieberkühn'schen Krypten bekannt ist. Das Protoplasma dieser Epithelzellen ist hell; ihre Längsaxe steht radiär zur Achse des Bronchus.

Man sieht im Epithel drei verschiedene Stadien der Zellteilung und zwar bei a) einen Mutterstern, bei b) Tochterstern und bei c) haben sich die Kerne bereits getrennt, liegen aber noch dicht beieinander. Es handelt sich dabei um eine Vermehrung der Epithelzellen selbst, die bedingt ist durch das starke Wachstum der Bronchien.

Würden diese Teilungsvorgänge aber auf die Bildung einer aus dem Epithel hervorgehenden Hülle

der Bronchien hindeuten, so müsste die Teilung in einer zu der beschriebenen senkrechten Richtung erfolgen; und es müsste die beschriebene scharfe Abgrenzung des Epithels an mindestens einer Stelle fehlen. Beides gelang in keinem Stadium der Entwicklung nachzuweisen.

Das Mesenchym ist vor allem ausgezeichnet durch eine grosse Anzahl von Kernteilungen, deren eine (bei X) derart gegen die Wand des Bronchus andrängt, dass es bei oberflächlicher Betrachtung aussieht, als entstamme sie dem Epithel. Figur 2 jedoch zeigt bei stärkerer Vergrösserung, dass sie thatsächlich dem Mesenchym angehört, indem die Epithelgrenze scharf im Bogen an ihr vorbeizieht. Im übrigen zeigen die Kerne des Mesenchyms in diesem Stadium noch kaum irgend welche Differenzierung ausser einigen, welche in der Nähe der eben beschriebenen Mitose liegen und eine längliche Gestalt aufweisen. (Vergl. Fig. 2).

Einen Umstand möchte ich noch nicht unerwähnt lassen, der jedoch in unserer Figur weniger hervortritt. Es ist das eine gewisse Neigung der dem Epithel zunächst gelegenen Kerne zu ringförmiger Anordnung um das Epithelrohr, während die weiter entfernten Kerne mehr ungeordnet durcheinander stehen. Es wird dies in Figur 3 einem um wenig älteren Stadium deutlicher zu Tage treten.

Figur 3 stammt von einem Embryo von 6,4 mm Länge; die Schnittdicke betrug 0,01 mm. Die Lungenanlage erstreckte sich über 62 Schnitte und weist rechts drei und links einen Seitenspross auf.

Am Oesophagus sind noch keine Muskelfasern differenziert. Das Epithel des Bronchialröhrchens ist ein hohes, einschichtiges aber mehrzeiliges Cylinderepithel.¹⁾ Auch hier scheinen die Kerne zur Teilung nach dem Lumen zu wandern. Die obere Mitose (bei x) zeigt jedoch ein von dem oben beschriebenen abweichendes Verhalten, indem ihre Richtungsachse der Zellachse

¹⁾ Man erkennt hierbei den Effekt der in Fig. 1 beschriebenen starken Teilungsvorgänge im Epithel: Die Vergrösserung des Bronchus hat nicht Schritt gehalten mit der Vermehrung der Zellen, so dass diese sich übereinanderschoben. Weiter unten (in Fig. 5) werden wir das umgekehrte Verhalten bemerken.

parallel steht. Da ich jedoch weder in dieser noch in einer der anderen Serien ein solches Verhalten ein zweites Mal gesehen habe, so glaube ich diesen Umstand auf eine Verschiebung zurückführen zu dürfen, die mir durch das Vordrängen der der Mitose nach links zunächst gelegenen Epithelzellen bedingt zu sein scheint.

Die Abgrenzung des Epithels ist auch in diesem Stadium wiederum eine absolut scharfe.

Dagegen zeigt das Mesenchym bereits eine deutliche Veränderung gegenüber der Figur 1. Die Zellen erscheinen nämlich ringförmig um das Epithelrohr herum verdichtet: das Protoplasma ist an dieser Zone dunkler, und die Kerne liegen mit ihren Achsen konzentrisch um das Röhrchen herum angeordnet. In diesem dunkleren Ring sowohl, wie in seiner nächsten Umgebung finden sich sehr zahlreiche Mitosen. Die Kerne des Mesenchyms selbst zeigen noch keine bestimmte Form, doch glaube ich, in der besprochenen Zone mehr Zellen von länglicher Gestalt erkennen zu können, während das übrige Mesenchym mehr runde Kerne aufweist.

Figur 4 stammt von einem Embryo von 8,7 mm Steiss-Nackenlänge. Die Schnittdicke beträgt 0,01 mm. Die Lungenanlage erstreckte sich über 78 Schnitte. Am Oesophagus sind bereits glatte Muskelkerne zu erkennen, jedoch noch keine Differenzierung in Schichten. Am Darm sind Muskeln nicht nachzuweisen.

Das Epithelrohr besteht aus hohen, mehrreihigen Cylinder-epithel- dessen Kerne teilweise mehr nach dem Lumen zugerückt sind und auch in diesem Stadium noch ziemlich lebhaft Kern-teilungen zeigen, die auch hier wieder in senkrechter Richtung zur Zellachse vor sich gehen. Die Abgrenzungslinie des Epithels gegen das Mesenchym ist auf allen Schnitten scharf und deutlich.

Das Mesenchym selbst besteht in grösserer Entfernung vom Epithel aus runden indifferenten Kernen; in der oben beschriebenen ringförmigen Verdichtungszone jedoch, das heisst in den dem Epithel zunächst liegenden Teilen des Mesenchyms sehen wir innerhalb eines Ringes von dunklerem Protoplasma nur noch vereinzelte runde Kerne liegen, während die meisten

Kerne eine schlanke, länglich ovale Form angenommen haben. Es kann nicht zweifelhaft sein, besonders wenn wir einen Vergleich mit Figur 5 anstellen, dass wir es hier bereits mit den Vorläufern der glatten Muskelkerne zu thun haben.

In Figur 5 haben wir einen Bronchus einer bereits gut entwickelten Lungenanlage vor uns. Dieselbe erstreckte sich bei einer Steiss-Nackenlänge des Embryo von 10,6 mm über eine Länge von 2,5 mm. Der Oesophagus zeigte bereits deutlich glatte Muskelfasern in schichtweiser Anordnung. Ebenso waren bereits am Darm glatte Muskeln zu erkennen.

Das Epithel des abgebildeten Bronchus bietet ungefähr dieselben Verhältnisse wie Figur 6. Wir haben hohe cylindrische Zellen vor uns, deren Kerne jedoch nicht mehr in so lebhafter Teilung begriffen sind, wie in den beschriebenen Stadien. Infolgedessen drängen die Zellen nicht mehr übereinander: das Epithel beginnt den Charakter eines einfachen einreihigen anzunehmen. Gegen das Mesenchym ist das Epithelrohr wieder durch eine scharf contourierte Linie abgegrenzt.

Naturgemäss hat man in diesem Stadium, an dem der Bronchialbaum bereits zahlreiche Verzweigungen aufweist, häufig Schrägschnitte, auf denen dann diese Begrenzung verschwommen ist, doch wird man bei genauer Prüfung solche Stellen stets ohne Weiteres erkennen und ausschalten können.

Dicht unter dem Epithel findet sich ein Kranz von langen stäbchenförmigen Muskelkernen, welche mit ihrem dunkleren Protoplasma eine Hülle um das Bronchialrohr bilden. Auch die übrigen Zellen des Mesenchyms haben sich bereits soweit differenziert, dass um jeden Kern ein eigener Protoplasmahof sich gebildet hat.

Zusammenfassung.

Die Anlage der Lunge bei der Maus erfolgt bilateral durch Ausstülpung zweier Bläschen aus der rinnenförmig vorgebuchteten vorderen Schlundrohrwand. Erst wenn diese primären Lungenbläschen sich zu zwei primitiven Bronchien ausgewachsen haben, beginnt die Abschnürung der genannten Rinne vom Darmrohr und ihre Umwandlung in die Trachea.

Die Entwicklung der glatten Muskulatur der Bronchien geht sehr frühzeitig vor sich aus den dem Epithelrohr zunächst gelegenen Kernen des Mesenchyms. Sie wird eingeleitet durch eine ringförmige Schichtung der Mesenchymkerne um das Röhrchen und das Auftreten zahlreicher Mitosen in dieser Zone.

Zum Schlusse gestatte ich mir, Herrn Professor Stöhr für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie seine liebenswürdige Unterstützung bei Abfassung derselben meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Literaturverzeichnis.

1. Kölliker: Hallenser Festschrift 1879, p. 119.
2. Derselbe: Zeitschrift für wissenschaftl. Zoologie. Bd. 40, p. 206.
3. Derselbe: Gewebelehre, 6. Aufl., p. 138.
- 3a. Derselbe: Entwicklungsgesch. d. Menschen und der höheren Tiere.
4. Stieda: Zeitschrift für wissenschaftl. Zoologie, Bd. 30, Suppl. p. 111
5. Szili: Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der hinteren Iris-schichten mit bes. Berücksichtigung des sphincter irid. des Menschen. Anat. Anzeig. XX, Heft 7.
6. His: Archiv f. Anatomie und Entwicklungsgeschichte, 1887, p. 90.
7. O. Hertwig: Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Wirbeltiere.
8. Willach: Beiträge zur Entwicklung der Lunge bei Säugetieren. Osterwieck a. H., 1888.
9. Aeby: Der Bronchialbaum d. Säugetiere und des Menschen. Leipzig 1880.
10. Lühe: Der Bronchialbaum der Säugetiere, Zool. Zentralblatt, 1901, 3/4.
11. Narath: Der Bronchialbaum der Säugetiere und des Menschen. Bibliotheca medica, Abt. A, Anatomie, 1901, Heft 3.

Figurenerklärung der Tafel XXIII.

- Figur 1: Querschnitt durch den linken Stammbronchus eines 8,7 mm langen Mausembryo von 5 mm Länge. Vergr. 400.
- Figur 2: Teil des Querschnitts von Fig 1. Vergr. 850.
- Figur 3: Querschnitt durch den linken Stammbronchus eines 6,4 mm langen Mausembryo. Vergr. 400.
- Figur 4: Querschnitt durch den rechten Hauptbronchus eines 8,7 mm langen Mausembryo. Vergr. 700.
- Figur 5: Querschnitt durch ein Bronchialröhrchen eines 10,6 mm langen Mausembryo. Vergr. 900.
-