

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Gießen
[Direktor: Prof. *Georg Herzog*].)

Embryonales und erwachsenes Lungengewebe vom Meerschweinchen und Huhn in der Kultur mit Zeitrafferbeobachtungen an Flimmerepithel, sog. Alveolarphagocyten und von Kontraktionen der Bronchialmuskulatur.

Von

Privatdozent Dr. W. Schopper.

Mit 13 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 23. August 1935.)

Einleitung.

Die Frage über die epitheliale Auskleidung der Lungenalveolen und im Zusammenhang damit über die Herkunft und Funktion der sog. Alveolarphagocyten gehört mit zu den ältesten, aber auch umstrittensten Problemen der Lungenhistologie. Unter dem Einfluß der Abhandlungen von *Seemann*, der in seiner „Histobiologie der Lunge“ die einschlägige Literatur über diese Fragen bis 1931 eingehend bespricht, ist das Kapitel der Alveolarepithelien und -phagocyten in den letzten Jahren erneut bei experimentellen Lungenarbeiten, insbesondere bei Speicherungsversuchen verschiedenster Art, in den Vordergrund getreten.

Seemann macht auf Grund seiner bronchogenen und intravasculären Versilberungsversuche eine scharfe topographische Trennung zwischen den epithelialen und mesenchymalen Zellen des Alveolargewebes. Die in den Alveolen liegenden kernlosen Platten sieht er nicht als zellige Gebilde an. Er äußert sich zusammenfassend über den Aufbau der Alveole dahin, daß die Alveolarcapillaren wahrscheinlich „nackt“, d. h. nur von einer Membran bedeckt sind und keine epitheliale Auskleidung besitzen. Er spricht den in den Nischen zwischen den Capillarschlingen sitzenden kernhaltigen Alveolarepithelien eine respiratorische Funktion ab und weist ihnen nur eine außerordentlich starke Abwehrrolle zu. *Aschoff*, *Jeddeloh*, *Masson* und *Paré*, *Merkulow*, *Westhues*, *Saltykow* u. a. vertreten wie *Seemann* die Ansicht von der rein epithelialen Natur der Alveolarphagocyten. *Masson* und *Paré* beschreiben die Entwicklung von Riesenzellen aus den Alveolarepithelien bei den sog. Riesenzellenpneumonien der Kinder, auf die zuerst *Hecht* hingewiesen hat. Nach *Hecht* gehen diese Riesenzellen aus den Alveolarepithelien hervor, zeigen aber geringe phagocytäre Eigenschaften. *Battaglia* lehnt auf Grund experimenteller Untersuchungen an Hundefoeten eine aktive Phagocytose der Epithelien ab; nach ihm finden sich dafür rein histiocytäre Elemente in der Lunge. *Tschistowitsch* kommt bei Untersuchungen an Kinderlungen und *Fried* an Hand von Kaninchenversuchen mit Tuberkelbacilleninfektion zu dem Resultat, daß die Alveolarphagocyten bindegewebiger Natur sind. Vitalspeicherungsversuche von *Boattini* ergaben bei verschiedenen Nagern, daß eine unregelmäßige Auskleidung der Alveolen mit Epithel

besteht, und daß sich reichlich histioides Gewebe in der Lunge findet; aber eine Entscheidung über die Natur der Alveolarphagocyten wird nicht gefällt. *Francescon* und ebenso *Costa* sprechen von einer unregelmäßigen Auskleidung der Alveolen mit Epithel, aber die makrophagischen Funktionen werden nach ihnen von Lungenhistiocyten ausgeführt. *Costa* geht vom physiopathologischen Standpunkt näher auf das Problem der Epithelauskleidung ein und unterscheidet dabei eine sog. statische Phase, wenn die Alveole von Epithel hauptsächlich ausgekleidet ist, und eine dynamische Phase, wenn ihre Lichtung größtenteils durch die Capillarschlingen umgrenzt wird, eine Einstellung, die wegen des Eingehens auf die besonderen physiologischen Bedingungen in der Lunge Beachtung verdient.

Mitsuda berichtet zum ersten Male kurz über Zuchtungsversuche von Lungengewebe in vitro. Dann folgen *Timofejewsky* und *Benewolenskaja*; nach ihren Befunden an den Kulturen stellen die Alveolarepithelien einen sehr aktiven Bestandteil der Lungen dar und besitzen große amöboide Beweglichkeit und phagocytäre Eigenschaften. Spätere Zuchtungsversuche von *Lang*, *Hagen*, von *Henke* und *Silberberg* und von *Bratianu* und *Guerrierom* ergeben, daß die Alveolarphagocyten histiocytaire, amöboide Zellen darstellen und sich vom reticuloendothelialen System der Lunge ableiten. Ein eigentliches Alveolarwandepithel gibt es nach *Lang* nicht; diese Ansicht wird auch von *Bloom*, *Foot*, *Maximow* und *Policard* geteilt. *Henke* und *Silberberg* sind ferner der Ansicht, daß die Alveolarphagocyten alle Eigenschaften mesenchymaler Zellen besitzen und auch als Stammzellen für die epitheloiden Zellen bei Lungentuberkulose in Frage kommen.

Die vorliegenden Versuche sollten nun einerseits einer Untersuchung dieses noch immer umstrittenen Problems von der Entwicklung und Funktion der Alveolarepithelien und -phagocyten gelten und sollten andererseits darüber hinaus aus der Fülle der Probleme, die die Züchtung von Lungengewebe bietet, eine Funktionsprüfung des Flimmerepithels und insbesondere der glatten Muskulatur des Bronchialbaumes in der Kultur ermöglichen.

Zu diesem Zwecke wurden vor allem auch Zeitrafferkinaufnahmen hergestellt, die ein klares und eindeutiges Studieren und Demonstrieren der Zellen und Gewebe in der Kultur ermöglichen.

Das zur Züchtung verwendete Lungengewebe stammt von 9—19 Tage alten Hühnerembryonen und von einige Tage bis mehrere Wochen alten Hühnern. Vom Meerschweinchen wurden 3, 4, 6 und 10—12 cm lange Embryonen und 200—300 g schwere Meerschweinchen zu den Lungenkulturen verwendet. Die Kulturen wurden nach der von mir in früheren Arbeiten ausführlich geschilderten Methode angelegt.

Zur Beurteilung der Kulturen wurden Lebenduntersuchungen und Zeitrafferaufnahmen herangezogen; zur Ergänzung dieser Befunde wurden die Kulturen im Alter von einigen Stunden bis einigen Wochen fixiert, total und im Schnitt mit *Minkschem* Hämatoxylin, Hämatoxylin-Eosin, van Gieson und mit *Elastica* nach *Weigert* gefärbt.

I. Das Alveolarepithel, das Mesenchym und die sog. Alveolarphagocyten in der Lungenkultur.

Seemann gibt in seiner „Histobiologie der Lunge“ einen ausgezeichneten Überblick über die zur Zeit herrschenden Ansichten von den Zellproblemen der Lungenalveole. Wie oben bereits erwähnt, ist aber die

aus den eigenen Befunden *Seemanns* sich ergebende Schlußfolgerung von der rein epithelialen Natur der Alveolarphagocyten nicht unwidersprochen geblieben.

Wenn wir uns auch einerseits der Grenzen in der Auswertung der Gewebezüchtungsversuche bewußt sein müssen, so gibt es doch andererseits Zellprobleme, die ein besonders geeignetes Versuchsfeld für in vitro-Versuche darstellen; dazu gehört ohne Zweifel die Erforschung der Phagocyten des Lungengewebes. *Seemann*, der den Wert der Gewebezüchtung für diese Fragen gering einschätzt, gibt immerhin als Ergebnis zu, daß das Auftreten freier Lungenphagocyten in der Kultur unzweideutig für die lokale histiogene Herkunft derselben aus dem explantierten Lungengewebe spricht.

Bei Besprechung der Gewebezüchtungsergebnisse hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Epithel und Mesenchym müssen wir die Befunde an embryonalen und erwachsenen Lungenkulturen trennen.

Mit embryonalen Kulturen haben sich bisher nur *Caffier*, *Bratianu* und *Guerrierom* eingehend beschäftigt. *Caffier* verwendete Lungen menschlicher Embryonen. Er beobachtete bei den Züchtungsversuchen an den primitiven Lungenbläschen zwar eine gewisse Vergrößerung, hält diesen Vorgang aber nicht für Wachstum, sondern für eine mehr flächenhafte Ausbreitung des Gewebes am Deckglas unter Verlust der Dreidimensionalität. „Entwicklung und Wachstum der Lungenbläschen in vitro“, von denen *Timofejewsky* und *Benewolenskaja* kurz berichten, hat er nicht beobachten können. In wenigen Ausnahmen wird von *Caffier* ein membranöses Epithelwachstum festgestellt, wenn die Basalmembranen der Lungenbläschen eingerissen waren. *Caffier* geht dann besonders näher auf das Mesenchym ein und hebt die spezifische Struktur des Lungenmesenchyms in der embryonalen Kultur hervor. Mit den sog. Alveolarphagocyten hat er sich nicht befaßt.

Bratianu und *Guerrierom* kommen auf Grund ihrer Versuche an zahlreichen Tierarten und an Gewebekulturen von Hühner- und Menschenembryonen zu der Ansicht, daß die embryonale und erwachsene Lunge ein System mit histiocytärer Funktion besitzt; die Phagocytose kommt den interstitiellen Zellen und nicht den Epithelien zu.

Bei den vorliegenden eigenen Versuchen wurde besonders das embryonale und erwachsene Meerschweinchenlungengewebe zur Erforschung obengenannter Fragen herangezogen und vergleichsweise das Hühnermaterial verwendet.

An dem embryonalen Meerschweinchengewebe ist die Struktur der Lungenbläschen sehr gut zu studieren. Während man aber bei einfacher histologischer Schnittuntersuchung von embryonalem Lungengewebe nur runde und verästelte Hohlräume erkennt, die mit einem einschichtigen, zylindrischen oder kubischen Epithel ausgekleidet sind, und zwischen denen ein sehr reichliches lockeres, gefäßhaltiges Mesenchym liegt, tritt im Explantat im Laufe der Züchtung in schöner plastischer Form der Aufbau des ganzen primitiven Bronchialbaumes hervor. Die Struktur der Kulturstücke ist je nach dem Alter der Embryonen in den ersten Stunden verschieden deutlich. Bei ganz jungen, etwa 2—3 cm

großen Embryonen ist die wenig verzweigte Struktur des Bronchialbaumes von Anfang an gut zu erkennen. Je älter der Embryo wird, um so dichter ist das mesenchymale und um so verzweigter das epitheliale Gerüst der Lungen, so daß schon bei 4—5 cm langen Embryonen die ausgepflanzten Lungenstücke anfangs noch ganz undurchsichtig sind. Im Laufe der Züchtung wächst das Zwischengewebe überaus rasch in dichtem netzartig verflochtenem Verbande aus (Abb. 1). Verschieden an Zahl lösen sich Zellen nach Art der Makrophagen als Einzelzellen ab. Im ganzen ist aber ein lockeres netzförmiges Wachstum zu

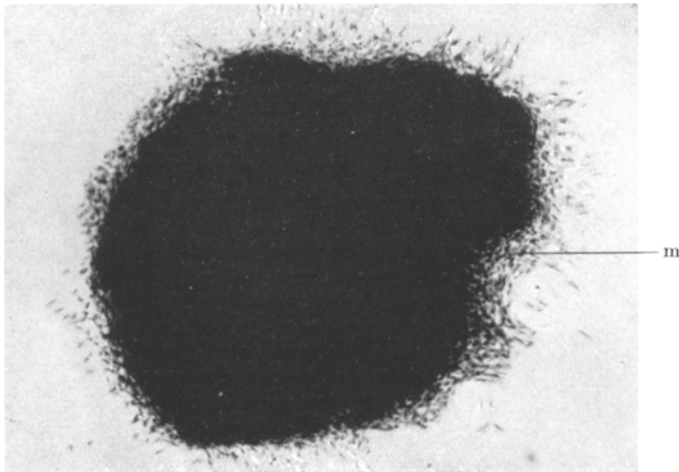


Abb. 1. Kultur Nr. 2463. 24 Stunden alte Lungenkultur von 4 cm langem Meerschweinchenembryo. Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 3. Übersichtsbild. Beginnendes netzförmiges Mesenchymwachstum (m) am Rande der noch undurchsichtigen Kultur.

beobachten, wobei sich alle Übergänge zwischen den spindeligen und netzförmig verflochtenen sog. Fibroplasten und Makrophagenformen finden. Eine so scharfe Trennung, wie sie beim erwachsenen Gewebe in der Wachstumszone zwischen sog. Fibroplasten und Makrophagen zutage tritt, ist hier nicht möglich. Im Laufe der ersten beiden Tage wachsen neben den spindeligen und sternförmig verzweigten mesenchymalen Zellen sehr reichlich Capillaren weit in die Wachstumszone vor. Ganz ausgezeichnet läßt sich das Wachstum der Capillaren studieren; sie dringen stellenweise sehr weit in das Nährmedium als solide oder lumenhaltige Sprossen vor und zeigen früher oder später infolge mangelnder Funktion typische Rückbildungs- und Auflösungsvorgänge mit Restlumenbildungen, wie ich sie schon in früheren Arbeiten eingehend beschrieben habe. Durch diese mesenchymalen Wachstumsvorgänge werden die ausgepflanzten Stücke stark aufgehellt, und die Struktur der Lungenepithelanlage wird deutlich, besonders auch dadurch,

daß sich die kleinen Lungenbläschen ziemlich flach dem Deckglas anlegen (Abb. 2). Wenn anfangs die Lungenbläschen stellenweise an den Randpartien der Stücke in die Wachstumszone hinausragen, weil das Mesenchym bei dem Auspflanzen zusammenschnurrt, so werden sie bald von dem rasch wachsenden Mesenchym überholt und kommen dann mehr in die Mitte der Kultur zu liegen (Abb. 2, 3).

Hat man Pleura mit ausgepflanzt, so tritt sehr bald ein ausgedehntes membranartiges Wachstum der Serosadeckzellen ein, über deren Verhalten in der Kultur bereits in früheren Arbeiten ausführlich berichtet

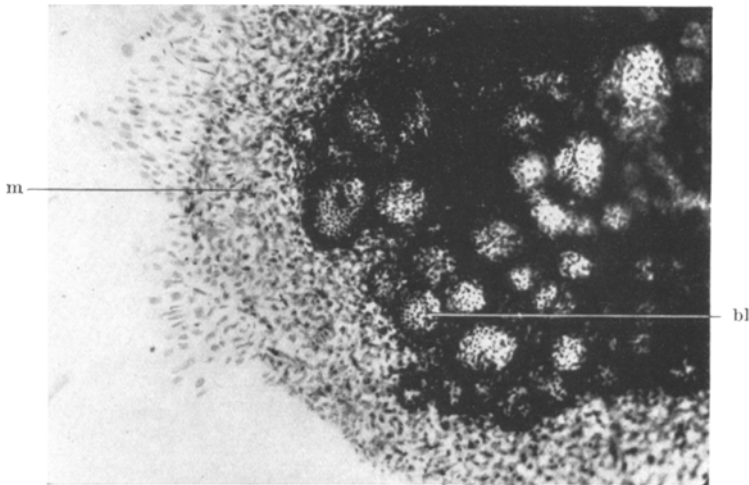


Abb. 2. Kultur Nr. 2458. 2 Tage alte Lungenkultur von 4 cm langem Meerschweinchen-embryo. Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 3. Das Mesenchym (m) ist breit netzförmig ausgewachsen, die Struktur des Mutterstückes mit den primitiven Lungenbläschen tritt deutlich hervor (bl).

wurde. Das Epithel der primitiven Lungenbläschen wächst in zwei Formen. An angeschnittenen Abschnitten ist ein pflastersteinartiges Membranwachstum zu beobachten. Sind die dichotom-verzweigten Lungenbläschen, die mit einschichtigem bis zylindrischem Epithel ausgekleidet sind, unverletzt ausgepflanzt, so sind die Wachstumserscheinungen anfangs gering. Nur hier und da ist eine nierenförmige Einschnürung als Zeichen einer neuen Blasenbildung festzustellen (Abb. 6). Diese Entwicklung beruht wohl auf noch vom Embryo mitgebrachten Potenzen, die eine derartige Weiterentwicklung bei günstigen Ernährungsbedingungen in der Kultur ermöglichen. Beobachtet man aber die Kulturen über Tage hin, so zeigen sich am Ende der ersten Woche und späterhin deutliche Wachstumserscheinungen auch an erhaltenen Lungenbläschen (Abb. 3). Die Lungenbläschen strecken sich in die Länge und wachsen gemeinsam mit dem Mesenchym oder in selteneren Fällen auch

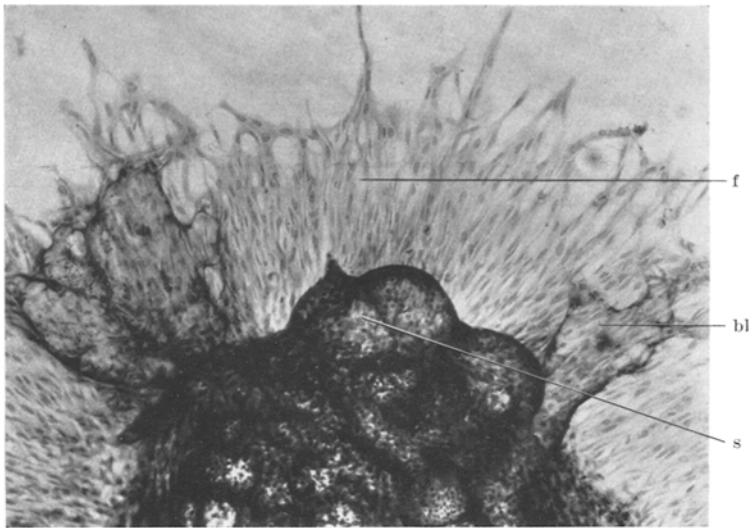


Abb. 3. Kultur Nr. 2480. 3 Tage alte Lungenkultur von 4 cm langem Meerschweinchen-embryo. Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 4. In der Mitte das aufgehellte Mutterstück (s) mit deutlicher Struktur der Lungenbläschen, nach links und rechts oben blasig ausgewachsene Lungenbläschen (bl) mit abgeflachtem Epithel, dazwischen typisches Fibroblastenwachstum (f).

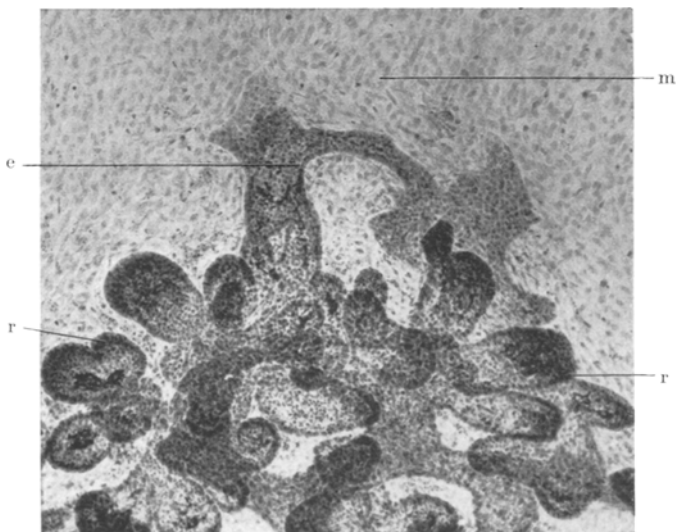


Abb. 4. Kultur Nr. 2479. 7 Tage alte Lungenkultur von 4 cm langem Meerschweinchen-embryo. Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 3. Die Lungenbläschen haben sich vergrößert, das Epithel ist zapfenförmig in die Wachstumszone vorgedrungen (e) und bogenförmig verwachsen; um das Stück eine breite mesenchymale Wachstumszone (m). Rand des Mutterstückes (r-r).

sogar demselben voran in die Wachstumszone aus (Abb. 3—5). Dabei kommt es zu mehr oder weniger großen Blasenbildungen oder langen schmalen schlauchartigen Gebilden, die sich mit benachbarten Abschnitten verbinden können (Abb. 4—6). Das Epithel wird dabei allmählich hochgradig abgeflacht; aber es bleibt immer eine scharfe Trennung zwischen Epithel und Mesenchym bestehen (Abb. 6 lebende Kultur). Aus dem Mesenchym entwickeln sich an manchen Kulturen reichlich

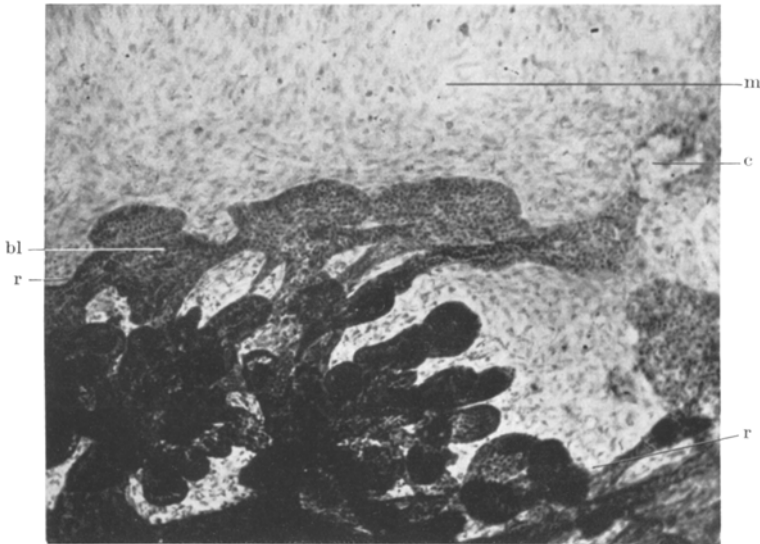


Abb. 5. Kultur Nr. 2563. 9 Tage alte Lungenkultur von 4 cm langem Meerschweinchen-embryo. Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 3. Die nach oben flach ausgewachsenen Lungenbläschen (bl) sind durch bogenförmige Fortsätze verwachsen, rechts kleine Cystenbildung (c). Rand des Mutterstückes (r-r); netzförmig ausgewachsenes Mesenchym (m).

Makrophagen; eine Ablösung der Epithelien und eine Beteiligung der Epithelien an der Bildung derartiger Makrophagenformen ist in embryonalen Kulturen mit Bestimmtheit abzulehnen. Die Befunde an den embryonalen Hühnerkulturen sind ganz entsprechend, nur an Stelle der Lungenbläschen finden sich die ersten Anlagen der Bronchien, der sog. Lungenpfeifen mit ihren seitlichen Ausstülpungen, den Parabronchien (s. auch Abb. 10, 11), deren Epithel an manchen Kulturen reichliches Wachstum zeigt und zu Verflechtungen nebeneinander liegender Bronchialabschnitte führt (Abb. 7).

Überblickt man die Befunde an den Kulturen in allen embryonalen Entwicklungsstadien, so fällt das überaus aktive Wachstum des Mesenchyms mit den Gefäßen auf. Die Wachstumserscheinungen an den Epithelien der Lungenbläschen sind bedeutend geringer, es bleibt bis

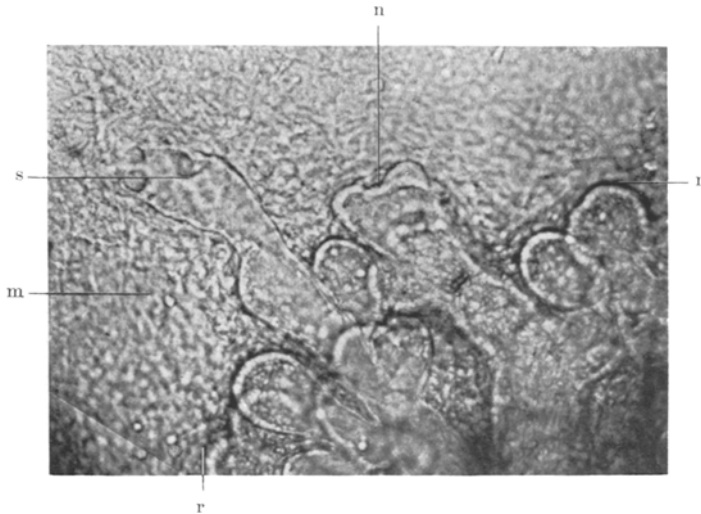


Abb. 6. Kultur Nr. 2494. 4 Tage alte Lungenkultur von 4 cm langem Meerschweinchen-embryo. Aus Zeitrafferkinaufnahme Leitz Ok. 6, Obj. 16 mm. Rand des Mutterstückes (r-r). Nierenförmige Einstülpung eines auswachsenden Lungenbläschens (n), schlauchförmiges Epithelwachstum (s), mesenchymale Wachstumszone (m).

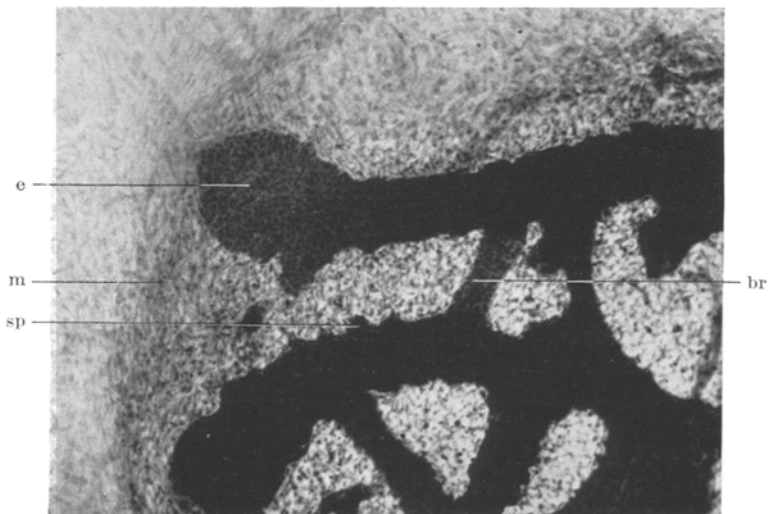


Abb. 7. Kultur Nr. 1518. 5 Tage alte Lungenkultur eines 12tägigen Hühnerembryo. Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 3. Das Ende eines Bronchus ist kolbenförmig infolge Epithelwachstums (e) aufgetrieben. Zwischen den Bronchien sind Epithelbrücken (br) entstanden. Mesenchymale Wachstumszone (m). Seitliche Epithelsprossen an den Bronchien (sp).

in hohe Passagen (von 25—30 Tagen) eine scharfe Trennung zwischen Epithel- und Mesenchymwachstum bestehen.

Betrachten wir anschließend Lungenkulturen junger (etwa 200 bis 300 g schwerer) Meerschweinchen, so ist von vornherein ein enormer Reichtum an auswandernden Makrophagen festzustellen (Abb. 8). Schon nach einigen Stunden erscheinen sie in großer Zahl im Wachstumshof, und nach 24—48 Stunden ist um das Mutterstück ein dichter Wanderungshof nachweisbar. Der Gehalt des Lungengewebes an derartigen Makrophagenformen ist so groß, daß man nach 48 Stunden das Mutterstück ausschneiden und neu auspflanzen kann; sehr bald beginnt

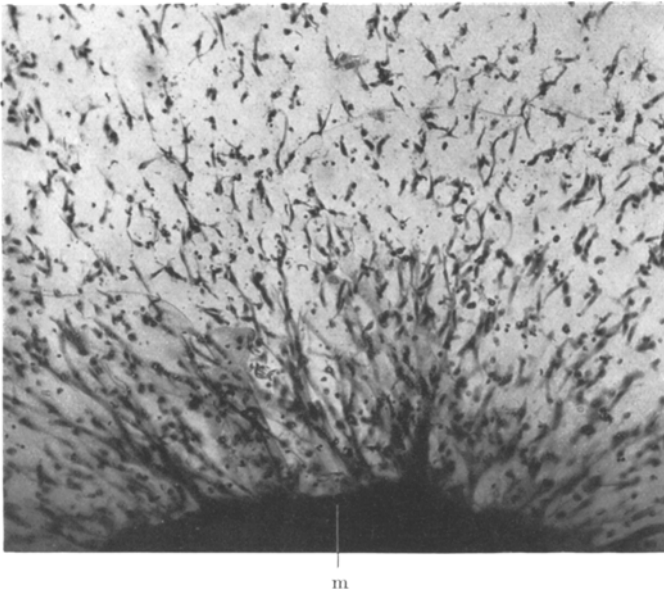


Abb. 8. Kultur Nr. 2498. 3 Tage alte Lungenkultur von jungem Meerschweinchen (250 g). Totalpräparat Hämatoxylinfärbung, Leitz Ok. 6, Obj. 3. Unten Rand des Mutterstückes (m), sehr reichliche Auswanderung von Makrophagen in das Nährmedium.

dann wieder ein gleichartiges massenhaftes Auswandern solcher Zellen. Das ausgepflanzte Stück hat an allen Seiten Schnitt- und damit Wundflächen, die auf den durch die Auspflanzung gesetzten Reiz mit einer Auswanderung solcher Makrophagenformen antworten. Man ist jedesmal von neuem überrascht, welche große Zahl von Zellen aus solchen 1—2 mm großen Stücken normalen Lungengewebes herauswandern. Eine gut ausgepflanzte derartige Lungenkultur gleicht in ihrem Gehalt an Makrophagen mitunter auf den ersten Blick einer Milzkultur. Es ist allerdings zu betonen, daß die zur Kontrolle ausgeführten Schnittuntersuchungen von Meerschweinchenlungen im Gewebe stellenweise lymphatische Einlagerungen und einen etwas größeren Zellreichtum der Alveolarsepten ergeben als in der Menschenlunge.

Durch die Auspflanzungsversuche ist klargestellt, daß die physiologisch in den Lungen auftretenden Abwehrzellen nicht hämatogener sondern histiogener Natur sind; denn die in den Capillaren enthaltene geringe Zahl von monocytären Elementen kann bei dieser reichlichen Auswanderung keine Rolle spielen.

Betrachten wir diese auswandernden Zellen (Abb. 8) auf ihren Zellcharakter hin, so steht für einen Gewebezüchter die mesenchymale Natur dieser Zellen schon deshalb außer Zweifel, weil es in der Kultur derartige aktiv wandernde epitheliale Zellen nicht gibt. Es ist wohl möglich, daß sich Epithelzellen aus ihrem Zellverband lösen und als Einzelzellen weiterleben und sich bewegen. Solche Befunde kann man in Kulturen oft erheben; ich habe das z. B. in Carcinomkulturen eingehend untersucht; aber die Bewegungen solcher Zellen sind viel träger und zeigen nicht einen derartigen amöboiden Charakter. Weiterhin gibt es an einzelnen freien Epithelzellen bei Degenerationserscheinungen zuweilen starke undulierende Bewegungen im Protoplasmasaum; aber auch diese Bewegungen sind ohne Schwierigkeiten als Degenerationsprozesse zu erkennen.

Innerhalb der Kulturen ist wegen der Dichte des erwachsenen Lungengewebes in vivo nichts zu erkennen. An Schnittpräparaten eingebetteter Kulturen sieht man in den Alveolarlumina reichlich abgerundete, in ihrer Größe untereinander verschiedene Zellen. Nun fangen auch hier wie bei anderen experimentellen Arbeiten an Lungengewebe z. B. bei Speicherungsversuchen die Schwierigkeiten der Differenzierung an. Woran liegt das? Alle Zellen, die in das Alveolarlumen austreten oder abgestoßen werden, kommen dort unter andere chemische und vor allem physikalische Verhältnisse als im Gewebsverband der Alveolen. Da die Zellen keinen Halt haben, runden sie sich ab und verlieren viel von ihrer spezifischen Struktur. Ich habe solche Zellveränderungen bereits an früheren Zuchtungsversuchen von Serosadeckzellen beobachten und im Film festhalten können. Solange solche Zellen im Verbands leben, stellen sie große, epithelartige, flach auswachsende Zellen dar. Kommt es zur Auflösung der Serosazellmembran, z. B. durch Verflüssigungsvorgänge in der Kultur, so lösen sich einzelne Zellen ab und können innerhalb weniger Minuten zu kleinen runden, lymphocytenartigen Elementen zusammenschnurren. Bei Beobachtung solcher Vorgänge in vivo wird klar, wie rasch spezifische Zellstrukturen unter Änderung der Umweltsbedingungen eine Wandlung erfahren können.

Nach den Schnittuntersuchungen an den Kulturen schließe ich mich der Ansicht von *Seemann* insofern an, daß in den Alveolen große flache Zellen vorhanden sind, die wahrscheinlich als Epithelien anzusprechen sind, aber eine sichere Entscheidung ist auf Grund der Kulturbefunde nicht möglich. Es sei hier nebenbei darauf hingewiesen, daß bekanntlich in der Geburtsperiode und besonders auch danach mit Eintritt der Lungenfunktion eine reichliche Ablösung von Alveo-

larepithelien in die Alveolen stattfindet, die nicht wieder ersetzt werden. Derartige Zellen können aber auch zum Teil im Verband der Alveole verbleiben, während der Atemfunktion der Lungen kleinste Rußpartikel aufnehmen und späterhin auch im Lumen als abgerundete Zellen angetroffen werden. Es ist schließlich unter entsprechende Bedingungen gebracht ein derartiges Eindringen von Fremdkörpermateriale in die weiche Protoplasamasse fast jeder Zellart möglich. Aber dies alles als aktive Phagocytose anzusprechen, würde meines Erachtens zu weit gehen; erst dann, wenn durch aktive amöboide Bewegung Fremdkörper aufgenommen werden, wie man das z. B. an Filmaufnahmen von Kulturen beobachten kann, sollte man von Phagocytose sprechen. Auch bei den von *Seemann* angeführten vergleichenden Beispielen von Fremdkörpereinverleibung in Leberzellen und Nierenepithelien usw. handelt es sich wohl mehr um passive als aktive Vorgänge. *Seemann* geht in seinen Schlußfolgerungen so weit, daß er auch die im interstitiellen Lungengewebe angetroffenen und mit Fremdkörpern beladenen Makrophagen für Zellen epithelialer Natur hält, die aus den Alveolen eingewandert sind.

Mit Hilfe der intravasculären und intrabronchialen Versilberungsmethode die epitheliale Natur der Alveolarepithelien und -phagocyten zu beweisen, wie das *Seemann* tut, erscheint mir nicht sehr ratsam, da einerseits beide Versuchsbedingungen zu verschieden sind in der Art der Durchspülung, andererseits die Ergebnisse derartiger Versilberungsversuche, die ich auch an Kulturen früher öfters ausgeführt habe, nicht eindeutig und zuverlässig in ihren Resultaten sind.

Es ist eine eigenartige Erscheinung: die Ansicht von der epithelialen Natur der Alveolarphagocyten ist vielen so selbstverständlich, daß sie bei Schnittuntersuchungen immer wieder dazu verleitet werden, alle diese Alveolarphagocyten ohne weiteres mit Alveolarepithelien zu identifizieren, während in allen anderen Organen diese phagocytären Funktionen nur histiocytären Elementen zugestanden werden.

II. Bronchialflimmerepithel in der Kultur.

Das Bronchialepithel ist bisher bei der Züchtung von Lungengewebe nur wenig berücksichtigt worden. *Timofejewsky* und *Benewolenskaja* berichten, daß das Flimmerepithel in der Kultur bald seine Flimmerhaare verliert, aber weiterlebt und sich vermehrt, indem es die Höhlen innerhalb der Stücke und manchmal einen Teil der Oberfläche mit Zylinderepithel bedeckt. *Lang* beobachtete an seinen Kaninchenlungenkulturen lange Zeit Funktion der Flimmerhaare an dem zum Teil kubischen, zum Teil zylindrischen Epithel. Ein membranartiges Wachstum, wie es sonst am Epithel anderer Organe zu verfolgen ist, wird von *Lang* nicht festgestellt; das Epithel gleitet über die Oberfläche des Explantates hinweg und überzieht unter Verflüssigung des Nährmediums größere

und kleinere Abschnitte des ausgepflanzten Gewebestückes. An Schnitten wird auch im Innern der Stücke schlauchförmiges oder solides Bronchialepithelwachstum beschrieben. Die verschiedenen Formen der Epithelien sind in seinen älteren Kulturen mitunter schwer von denen der auswachsenden Fibroplasten zu unterscheiden.

Bei den vorliegenden Versuchen lassen sich besonders in den embryonalen Hühnerkulturen, weniger in denen vom Meerschweinchen, an größeren Bronchien und an der Trachea das Wachstum und die Funktion des Flimmerepithels verfolgen. Am Tage der Auspflanzung zeigt das Flimmerepithel oft mangelhafte oder keine Flimmerbewegung. Wieweit das durch Shockwirkung bei der Auspflanzung oder durch die Gerinnung des Nährmediums bedingt ist, ist schwer zu entscheiden. Letzteres spielt sicherlich eine gewisse Rolle, da immer dann, wenn sich ein Verflüssigungshof im Bereiche von Epithelien entwickelt, Flimmerbewegung festzustellen ist. Im Laufe des zweiten Tages tritt in zahlreichen Fällen eine regelmäßige Tätigkeit auf, die bei guter Pflege der Kulturen wochenlang zu beobachten ist. Eigenartig ist es, daß in manchen Kulturen lange Zeit, oft mehrere Tage vergehen, ehe die Funktion des Flimmerepithels einsetzt. So kommt es, daß man mitunter anfangs in einer großen Serie von Kulturen kein Flimmern beobachtet und im Laufe der ersten Woche immer mehr Kulturen eine regelmäßige Funktion und ein Wachstum der Flimmerzellen aufweisen. Handelt es sich um geschlossene Bronchien, d. h. um Quer- oder Längsschnitte innerhalb der Stücke, so werden im Laufe der Züchtung zwar massenhaft Flimmerepithelien in das Lumen abgestoßen, aber der Epithelsaum bleibt erhalten, bzw. regeneriert sich und weist gleichmäßige wellenartige Bewegungen des Flimmerbesatzes auf. Auch viele abgestoßene einzelne Flimmerzellen zeigen noch Flimmerbewegung, selbst dann, wenn sie sich abrunden und ziemlich weitgehende vacuoläre Degeneration erkennen lassen, ein Zeichen dafür, daß die vacuoläre Degeneration für die Flimmerzellen noch keine so schwere Schädigung der Zellen bedeutet, daß damit ohne weiteres eine Einstellung ihrer Funktion verbunden sein muß. Oft hört erst dann die Flimmerbewegung auf, wenn der Zellkern zugrunde geht.

Finden sich angeschnittene größere Bronchien mit Flimmerzellen am Rande der Kulturen, so kann schon sehr bald nach dem Ansetzen der Kulturen unter Verflüssigung des angrenzenden Nährmediums eine regelmäßige Flimmerbewegung am Epithelsaum auftreten, der sehr bald auch ein membranartiges Wachstum von undifferenziertem Epithel aufweist. Schon von Anfang an wachsen Flimmerepithelzellen hier und da in der Membran mit aus, die von dem ursprünglichen Flimmerepithel der Bronchien herrühren und wohl mehr passiv mit der Membran in die Wachstumszone gelangen. Daraus bilden sich in der einfachen Epithelmembran Inseln aus einer oder mehreren Flimmerzellen, die regelmäßig funktionieren und eine Vermehrung in der ausgewachsenen Membran

im Laufe der Züchtung beobachten lassen. Eine Teilung der Flimmerzellen ist dabei nicht festzustellen. Somit ist anzunehmen, daß bei der Neubildung von Epithelien in der Wachstumszone nicht nur einfache platte Epithelien gebildet werden, sondern daß auch eine Differenzierung solcher Zellen zu Flimmerzellen möglich ist. Die Frage, wie diese Neubildung vor sich geht, ist schwer zu beantworten, weil sich die Flimmerzellen innerhalb der Membranen dauernd verschieben und mitunter durch verschiedene Einflüsse ihre Tätigkeiten unterbrechen. Dadurch ist die Kontrolle der Neubildung von Flimmerzellen sehr erschwert.

Die Flimmerepithelien zeigen eine ziemlich große Widerstandsfähigkeit gegen die verschiedensten schädlichen Einflüsse, z. B. schlechte Ernährungsbedingungen in der Kultur oder Licht- und Temperatureinwirkungen. Normales Tageslicht und lange einwirkendes Mikroskopierlampenlicht stört die Funktion kaum, nur gegen sehr intensive Belichtung sind die Zellen empfindlich. Setzt man die Zellen z. B. einige Minuten sehr starker Belichtung mit der Bogenlampe aus, so erlischt wahrscheinlich auch infolge der enormen Hitzeentwicklung die Bewegung der Flimmerhaare meist für immer, was besonders störend bei Filmaufnahmen in Erscheinung tritt.

Um die Einwirkung von Untertemperaturen auf die Funktion zu prüfen, wurden die Kulturen auf einem durchspülbaren Kältetisch von Leitz untersucht (ein Mikroskopobjekttisch, der unter Temperaturkontrolle mit kaltem Wasser durchspült und auf dem die Kulturen bei verschiedensten Temperaturen untersucht werden können). Temperaturen herab bis 25—28° C werden ohne Störungen vertragen. Geht man mit der Temperatur weiter bis auf etwa 20° C herunter, so wird die Flimmerbewegung allmählich langsamer, und nach einer viertel bis halben Stunde erlischt die Funktion vollkommen. Bringt man die Kulturen in eine Temperatur von 37° C zurück, so tritt nach 20—30 Min. wiederum allmählich eine gleichmäßige geordnete Funktion des Flimmersaums auf. Läßt man diese starke Abkühlung länger bestehen, so kommt keine Erholung der Flimmerzellen mehr zustande. Derartige Versuche wurden nicht nur an frischen, sondern auch an 2—3 Wochen alten Flimmerepithelkulturen ausgeführt; sie sprechen für die große Widerstandsfähigkeit der Zellen. Werden solche Zellen längere Zeit, etwa 1 Woche nicht mit neuem Nährmedium versehen, so treten ausgedehnte Degenerationerscheinungen an den Membranen auf. Die Flimmerzellbewegung geht aber mitunter, wie oben bereits erwähnt, auch bei starker vacuolärer Degeneration der Zellen weiter, selbst dann, wenn die ausgewachsenen Membranen sich in einzelne Zellgruppen und Zellen auflösen, was in der Kultur als weitgehender Degenerationsprozeß der Epithelmembran anzusehen ist.

In den ausgewachsenen Flimmerepithelmembranen (Abb. 9) ist ein geordneter Flimmerstrom zu beobachten. Es müssen aber auch hier

an den ausgewachsenen bzw. neugewachsenen Zellen irgendwelche Überleitungen vorhanden sein, die die Bewegung der Flimmerhaare in gleicher Richtung bewerkstelligen. Sind die Flimmerzellen dicht ausgewachsen, so hat man ein prachtvolles Bild; es macht den Eindruck, als schaue man auf ein wogendes Ährenfeld. Auf den Flimmerhaaren tanzen in großer Zahl aus dem Verbande gelöste abgestorbene Zellen und zugrunde gehende Makrophagen hin und her. In dem Bereiche, in dem die Epithelien auswachsen, tritt in zahlreichen Fällen kein Fibroblastenwachstum ein, zuweilen mitbedingt durch Umwachsung des Explantates

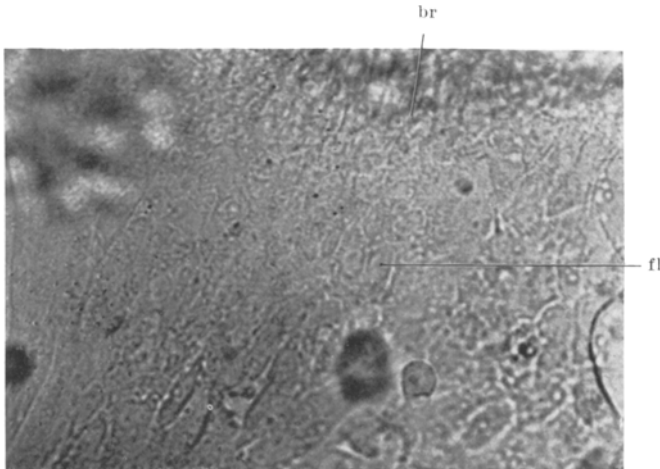


Abb. 9. Kultur Nr. 1205. 3 Tage alte Lungenkultur von 16tägigem Hühnerembryo. Aus Zeitrafferkinaufnahme Leitz Ok. 6, Obj. 6a. Rechts oben Bronchialwand (br) nach unten membranartig ausgewachsenes Bronchialflimmerepithel (fl) unscharf darüber als helle Flecke abgestoßene Epithelien vom Flimmerstrom bewegt. Flimmerhaare in der Aufsicht nur als feinste Pünktchen zu erkennen.

mit Epithelzellen. An anderen Kulturen dagegen tritt ein gemischtes Wachstum auf, wobei Epithelien und Fibroblasten an der typischen Zellstruktur im Verband gut zu unterscheiden sind. Die Funktion des Flimmerepithels bleibt am besten in den Membranabschnitten dicht am Mutterstück erhalten, während die weit in die Wachstumszone ausgewachsenen Flimmerzellen im allgemeinen früher ihre Funktion einstellen; der Einfluß des Mutterstückes auf Leben und Wachstum, d. h. auf den Stoffwechsel der ausgewachsenen Zellen macht sich dabei deutlich bemerkbar. Immerhin ist auch an den ausgewachsenen Flimmerzellen die große Widerstandsfähigkeit im Vergleich zu anderen Zellen deutlich. Es ist möglich, daß durch die Flimmerhaarbewegung eine besonders gute Ernährung gewährleistet wird; denn es findet dadurch ein dauerndes Vorbeiströmen des verflüssigten Nährmediums und damit wahrscheinlich auch ein Abtransport der Schlackenstoffe aus den Zellen

statt, was den anderen Zellen in der Kultur im Gegensatz zum Leben im Organismus fehlt.

Die *Beobachtungen am Bronchialepithel in den Kulturen* zeigen einerseits an den großen Epithelmembranbildungen die enorme Regenerationsfähigkeit des Bronchialepithels und erklären den raschen Heilungsverlauf entzündlicher Prozesse am Bronchialtractus, sie zeigen andererseits die verhältnismäßig hohe Widerstandsfähigkeit des Flimmerepithels gegenüber äußeren Einflüssen, denen die Zellen auch in vivo dauernd ausgesetzt sind. Wieweit eine elektrische Beeinflussung der Flimmerfunktion möglich ist, soll an weiteren Kulturen geprüft werden; diese Frage ist deshalb besonders interessant, weil im Organismus die Funktion der Flimmerzellen sicherlich weitgehend unter nervöser Beeinflussung steht, wobei besonders die Funktion unterbrechende oder hemmende nervöse Einwirkungen zu erwähnen sind. In der Kultur dürfen wir nervöse Einflüsse besonders an den einschichtigen ausgewachsenen Flimmerepithelmembranen mit Sicherheit ausschließen, so daß für die Überleitung des Flimmerreizes nur die Zellen selbst in Frage kommen.

III. Kontraktionen der Bronchialmuskulatur in der Kultur.

Während es von der Herzmuskulatur und der glatten Muskulatur des Magens und des Darmes bekannt ist, daß sie sich auch nach Durchtrennung ihrer Nerven selbständig weiter kontrahieren können, sind andere Gebiete mit glatter Muskulatur auf diese Funktion hin weniger (*Trendelenburg*), im Explantat überhaupt noch nicht untersucht worden. Eingehende Untersuchungen über die Funktion der Magen-Darmmuskulatur in der Gewebekultur sind von *Nordmann*, *Baxter* und *Wesle* ausgeführt worden. Sie beobachteten rhythmische Kontraktionen an kleinen ausgepflanzten Muskelstücken des Magens und Darmes vom Hühnerembryo über 10 Tage lang, wobei auffiel, daß nicht alle Stücke der Darmmuskulatur Kontraktionen aufwiesen, eine Beobachtung, die auch an Herzmuskelexplantaten zu machen ist. An den Darmstücken wurde kein Wachstum der glatten Muskelfasern festgestellt. *Nordmann* schließt aus seinen Beobachtungen, „daß die Autonomie nicht allen glatten Muskelzellen des Magen-Darmkanales zukommt, sondern nur Gruppen von Zellen, gleichgültig wie sich ihre anatomische Differenzierung später gestaltet. Je mehr die Entwicklung fortschreitet, desto eher werden sich Ganglien erkennen lassen, aber wie das Reizleitungssystem des Herzens zeigt, kann die nervöse Begabung auch trotz der Differenzierung zu quergestreifter Muskulatur erhalten bleiben. Ob das in dieser Vollendung auch bei der glatten Muskulatur der Fall ist, steht dahin“.

Mit Hilfe der Gewebezüchtung gelingt es nun auch, in Lungenkulturen die Funktion der glatten Muskulatur an kleinsten Bronchien zu beobachten. Da die Kulturen von Hühner- und von Meerschweinchenembryonen im allgemeinen die gleichen Befunde ergeben, sollen sie gemeinsam

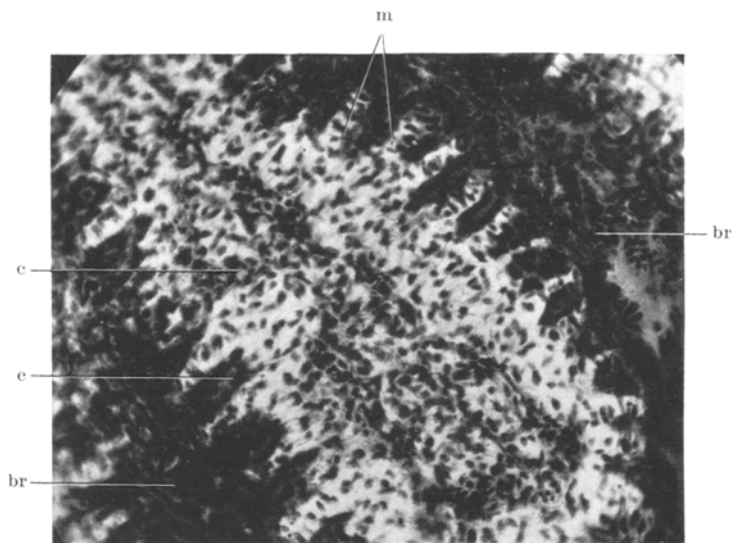


Abb. 10. Kultur Nr. 1022. 23 Stunden alte Lungenkultur von 14tägigem Hühnerembryo. Schnittpräparat H.-E.-Färbung, Leitz Ok. 6, Obj. 6e. Zwei längsgetroffene Bronchien (br) mit Epithelausstülpungen (e) durch die Bronchialmuskulatur (m), dazwischen lockeres Mesenchym mit zahlreichen Capillaren (c), die auf die Epithelknospen zuwachsen.

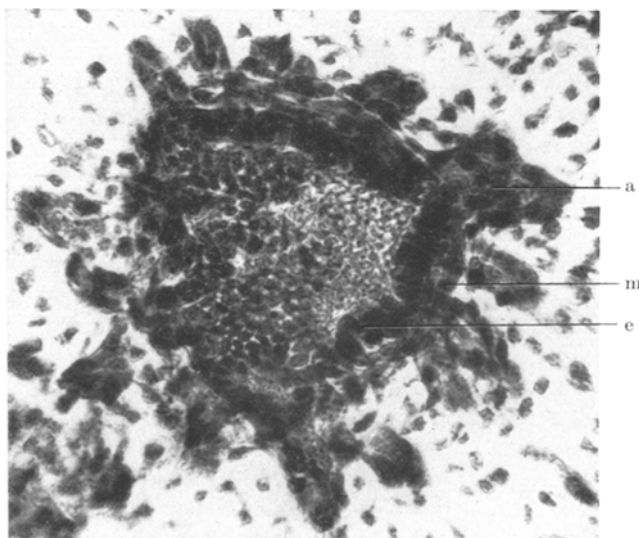


Abb. 11. Kultur Nr. 1022. 23 Stunden alte Lungenkultur von 14tägigem Hühnerembryo. Schnittpräparat H.-E.-Färbung, Leitz Ok. 6, Obj. 6e. Bronchus im Querschnitt mit kleinen Epithelausstülpungen (a) durch die ringförmig angeordnete Muskulatur (m), Epithelanskleidung des Bronchus (e).

besprochen werden; auf kleine Unterschiede wird besonders hingewiesen werden.

Je frühere Embryonalstadien bei bereits entwickelter Bronchialmuskulatur für diese Versuche verwendet werden, um so klarer lassen sich die Kontraktionen verfolgen; denn im Laufe der embryonalen Entwicklung wird das Lungengewebe so dicht, daß selbst kleinste Stücke in der Kultur nicht mehr durchsichtig sind. In den Lungenkulturen vom Hühnerembryo liegen die Verhältnisse einfacher, weil die einzelnen Bronchien (die sog. Lungenpfeifen) noch bei 18—19 Tage alten Hühnerembryonen in dünnen ausgepflanzten Stücken zu erkennen sind. In Kulturen vom Meerschweinchen ist das nur in der ersten Foetalperiode an Embryonen von etwa 4—6 cm Länge möglich. An gut durchsichtigen Kulturen sind an den kleinsten Bronchien, und zwar an solchen, die noch kein Flimmerepithel tragen, wellenförmige Ringkontraktionen zu beobachten, und wie gesagt, besonders deutlich an den sog. Lungenpfeifen (Abb. 10, 11), die eine viel stärkere Muskulatur aufweisen als die entsprechenden Bronchien vom Meerschweinchen. Auch hierbei lassen sich zuweilen wie am Flimmerepithel die spezifischen Funktionen der Zellen erst vom 2. Tage ab deutlich beobachten, möglicherweise durch eine gewisse Shockwirkung beim Auspflanzen bedingt. Ferner läßt die Aufhellung der Stücke infolge des Auswachsens des Mesenchyms allmählich immer mehr funktionierende Bronchien zwischen dem Mesenchym klar hervortreten.

Die Zeitintervalle der Kontraktionen der Bronchialmuskulatur sind in den einzelnen Kulturen recht verschieden; bei gut funktionierender Muskulatur schließt sich eine Kontraktion an die andere an (Dauer der Kontraktion etwa 15—30 Sek.); dabei kommt es zu hochgradiger Einengung des Lumens durch die sich spiralig und ringförmig kontrahierenden Muskelfasern. An anderen Kulturen schwanken die Intervalle zwischen 10 Sek. und einigen Minuten oft an verschiedenen Bronchialquerschnitten derselben Stücke. Dabei sind die Bewegungen niemals ruckartig, wie an Herzmuskelexplantaten, sondern es handelt sich um langsame aber kräftige, gewissermaßen von einer auf die andere Faser übergreifende Kontraktionen mit bald sich anschließender allmählicher und in gleicher Reihenfolge eintretender Erschlaffung. An längs zu beobachtenden Bronchien ist mitunter eine deutliche Peristaltik festzustellen (Abb. 12). Eigenartig ist, daß oft in einem Stück Querschnitte von Bronchien mit Kontraktionen neben anderen ohne oder nur mit Kontraktionen einzelner Muskelfaserabschnitte bei gleicher Größe und Struktur liegen. Diese Kontraktionen treten nur immer an den kleinsten mit Muskulatur versehenen Bronchien auf.

Diese Vorgänge an den Bronchien sind nicht durch irgendwelche bei der Auspflanzung hervorgerufene Reize bedingt und auch nicht als agonale Kontraktionserscheinungen zu betrachten; denn sie treten mit

Regelmäßigkeit an allen Kulturen auf und sind bei guter Ernährung nicht nur Stunden, sondern Tage und Wochen nach der Auspflanzung

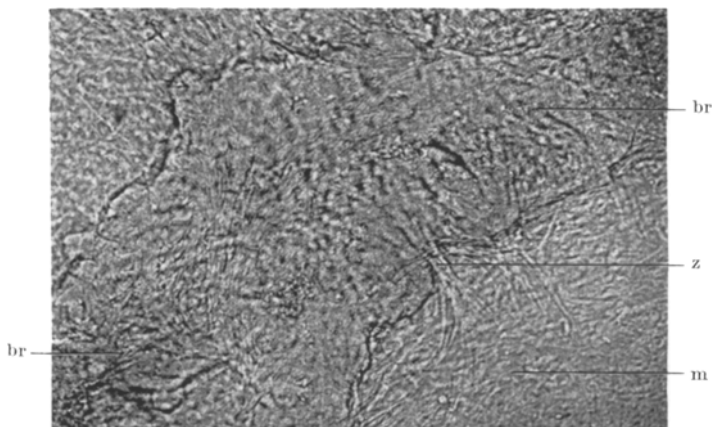


Abb. 12. Kultur Nr. 1025. 2 Tage alte Lungenkultur von 14tägigem Hühnerembryo. Aus Zeitrafferkinoaufnahme Leitz Ok. 6, Obj. 16 mm. Schräg durch das Gesichtsfeld verlaufender längsgetroffener Bronchus (br), an dem im Film dauernde peristaltische Kontraktionen zu beobachten sind. Aus der Bronchialwand auswachsende Zellen (Z), Mesenchym (m).

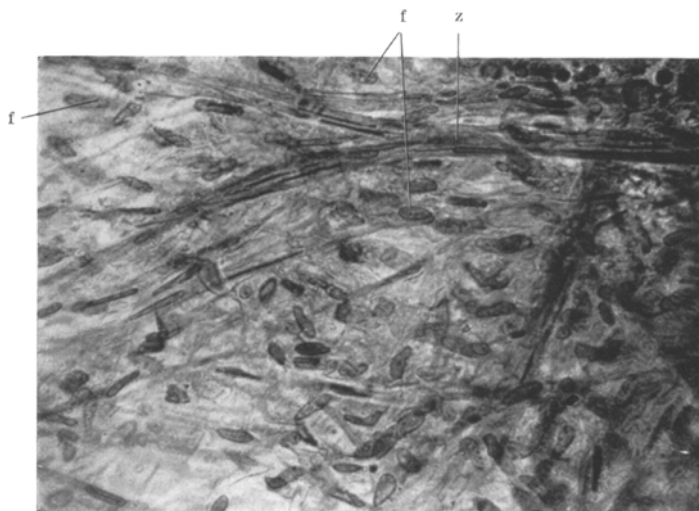


Abb. 13. Kultur Nr. 406. 19 Tage alte Lungenkultur von 12tägigem Hühnerembryo. Schnittpräparat H.-E.-Färbung, Leitz Ok. 6, 1/7 Ölimm. Langgestreckte Zellen mit schmalen Kernen und angedeuteter faseriger Protoplasmastruktur, die aus der Muskelschicht der Bronchien auswachsen (z), dazwischen typische Fibroblasten mit längsovalen Kernen (f).

zu beobachten. Genau so wie im Herzmuskelexplantat gehen die Kontraktionen der glatten Muskelzellen trotz eines sich immer stärker

entwickelnden Fibroblastenwachstumshofes unentwegt weiter. Wachstum der Bronchien tritt während der Züchtung kaum auf. Hier und da kommen zwar kleine Bronchien aus den Mutterstücken etwas hervor, aber im großen ganzen ist das Wachstum gering und wohl auf Energien zurückzuführen, die vom Mutterorganismus stammen. Ein Auswachsen einzelner glatter Muskelzellen aus den Bronchialwandungen in die Umgebung ist ab und zu festzustellen (Abb. 13), diese Zellen sind als noch ziemlich indifferente Zellformen schwer von den Fibroblasten zu unterscheiden. An Schnittpreparaten solcher Muskelfasern ist aber stellenweise bereits eine beginnende fibrilläre Struktur deutlich nachzuweisen (Abb. 13).

Wieweit irgendwelche Zentren für die Kontraktionen in Frage kommen, wie das vom *Auerbachschen* und *Meißnerschen* Plexus am Darmtractus von manchen angenommen wird, ist nach den Kulturbefunden nicht zu entscheiden. Irgendwelche nervösen Elemente sind bisher an Hand der mikroskopischen Befunde nicht nachweisbar. Immerhin ist es, wie oben schon bemerkt, auffällig, daß in allen Kulturen gewisse Bronchialabschnitte deutliche Kontraktionen aufweisen, während sie in anderen gleichartig gebauten fehlen. Daß eine mechanische Schädigung solcher nicht funktionierender Bronchien eine Rolle spielt, ist nicht anzunehmen, da solche Abschnitte oft gar nicht im Bereiche von Schnittflächen liegen. Da nicht selten in älteren Kulturen nur einzelne Muskelfasergruppen noch lange Zeit Kontraktionen zeigen, wobei deutlich der Übergang der Kontraktion von einer auf die andere Faser zu beobachten ist, wäre daran zu denken, ob nicht die Muskelfasern mit beginnender Differenzierung auch gewisse nervöse reizleitende Eigenschaften erhalten.

Bei Filmaufnahmen der Bronchialmuskelkontraktionen fällt noch mehr als am Flimmerepithel auf, daß die Funktion der Muskelzellen bei starker Belichtung leidet, so daß sehr bald nach Belichtung die Kontraktionen nachlassen; in gleicher Form ist das bei Abkühlung der Kulturen zu beobachten, wonach aber bei entsprechender Behandlung sehr bald wieder Erholung und erneute Kontraktionen auftreten können.

Vergleichen wir die Befunde mit solchen des Magen- und Darmtractus vom Hühnerembryo, wie sie von *Nordmann*, *Baxter* und *Wesle* beschrieben worden sind, so fällt die Ähnlichkeit hinsichtlich der Kontraktionsvorgänge ins Auge; hier wie dort unabhängig vom Wachstum des Mesenchyms in den Kulturen rhythmische Kontraktionen der glatten Muskulatur, hier an den kleinen Bronchien oft sogar mit deutlicher Peristaltik. Nach den vorliegenden Versuchen ist es sehr wahrscheinlich, daß die beschriebenen Kontraktionen auch bei dem erwachsenen Tier an den Bronchien vorhanden sind, aber die Dichte des Gewebes macht eine solche Beobachtung in der Kultur unmöglich. Da es sich um die kleinsten Bronchien handelt, gelingt auch ein Herauspräparieren

nicht oder führt zu derartigen Schädigungen des Gewebes, daß keine Kontraktionen erfolgen.

Die Frage, ob auch in vivo peristaltische Bronchialmuskelkontraktionen zu beobachten sind, wurde von *Mayedo Seiichiro* am Menschen nach Bronchialfüllung mit Lipjodol-Lafay untersucht; es gelang ihm, mit Hilfe von Serienröntgenaufnahmen peristaltische und mischende Bewegungen nachzuweisen, die aber nur die größeren und mittleren Verzweigungen des Bronchialbaumes betreffen.

Zum Schluß sei darauf hingewiesen, daß die Befunde von spiraligen Kontraktionen an den kleinsten Bronchien in der Kultur unter anderem wohl geeignet sind, in die bisher noch offene Frage über die Bildung der *Curschmannschen* Spiralen bei dem Asthma bronchiale Klärung zu bringen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

An Lungenkulturen wird das Verhältnis der mesenchymalen und epithelialen Zellen in embryonalen und erwachsenen Hühner- und Meerschweinchenlungen untersucht, sowie die Funktion des Flimmerepithels und der Bronchialmuskulatur geprüft.

I. An embryonalen Lungenkulturen vom Meerschweinchen besteht im Bereiche der primitiven Lungenbläschen eine scharfe Trennung zwischen Epithel und Mesenchym. Infolge raschen Auswachsens des Mesenchyms und der Capillaren kommt es zu einer Aufhellung der Stücke und damit zu einer klaren Darstellung der Struktur der primitiven Lungenbläschen.

Das Lungenepithel zeigt membranartiges, zum Teil blasiges oder auch schlauchförmiges Wachstum. Bis in hohe Passagen besteht immer eine scharfe Trennung zwischen Mesenchym- und Epithelwachstum. Eine Ablösung von Epithelien aus dem Verband und eine Umwandlung in Phagocyten ist nicht zu beobachten.

An Kulturen junger Meerschweinchen fällt eine massenhafte Auswanderung von Makrophagen aus dem Lungengewebe in das Nährmedium auf, mitbedingt durch den an der Schnittfläche der Stücke gesetzten Wundreiz.

Eine hämatogene Herkunft dieser Abwehrzellen in der Lunge ist auf Grund der Kulturbefunde sicher abzulehnen.

Diese auswandernden Makrophagen, die in den Alveolen auch als Alveolarphagocyten funktionieren können, sind auf Grund ihres biologischen Verhaltens in der Wachstumszone der Kultur als histiocytäre Elemente aufzufassen.

Die an Schnittpräparaten in den Alveolen anzutreffenden abgerundeten Zellen bieten an und für sich auch in der Kultur keine Möglichkeit, ihre epitheliale oder mesenchymale Herkunft sicher festzustellen.

II. Die Flimmerfunktion: bleibt am Epithel großer Bronchien und der Trachea in der Kultur wochenlang erhalten.

Das Bronchialepithel wächst einschichtig membranartig in die Wachstumszone aus und zeigt auch in den neugebildeten Membranen eine rhythmische Funktion des Flimmerbesatzes. Die Flimmerzellen funktionieren fast ununterbrochen; es besteht keine nervöse Beeinflussung des Flimmersaumes in der Kultur. Der Einfluß des elektrischen Stromes auf die Flimmerfunktion in der Kultur soll noch geprüft werden.

Degenerationsvorgänge an den Epithelien pflegen die Flimmertätigkeit lange Zeit nicht wesentlich zu beeinflussen; auch aus dem Verband gelöste und abgerundete Epithelien können weiterfunktionieren. Oft hört die Flimmerbewegung erst mit dem endgültigen Absterben der Zellen, mit Zerstörung der Kerne, auf.

Die Flimmerzellen zeigen große Widerstandsfähigkeit gegen die verschiedensten schädlichen Einflüsse in der Kultur, so z. B. gegen schlechte Ernährungsbedingungen, Licht- und Temperatureinwirkungen. Durch den Flimmerstrom sind wahrscheinlich die Lebensbedingungen in der Kultur hinsichtlich der Ernährung und des Schlackenabtransportes für diese Zellen günstiger als für andere Zellarten.

III. An kleinsten Bronchien vom Hühner- und Meerschweinchenembryo lassen sich in der Kultur autonome Kontraktionen der glatten Muskulatur nachweisen.

Durch das rasche Auswachsen des Mesenchyms aus den Mutterstücken tritt der Bronchialbaum deutlich hervor; dadurch wird die Beobachtung der Kontraktionen wesentlich erleichtert.

An den Bronchien vom Hühnerembryo finden sich besonders kräftige ringförmige oder spirale Kontraktionen, bei längs zu beobachtenden Bronchien oft mit deutlicher Peristaltik.

Es fallen Bronchialquerschnitte mit gleichmäßigen rhythmischen Kontraktionen neben anderen ohne Kontraktionen in der gleichen Kultur auf. Zentren für die Kontraktionen sind aber nicht nachweisbar; die Fasern besitzen wahrscheinlich reizleitende Eigenschaften. Zuweilen ist eine Art Überleitung von einer sich kontrahierenden Faser auf die nächste anliegende festzustellen.

Die Kontraktionen bleiben trotz eines sich immer stärker um die Stücke entwickelnden Fibroblastenwachstumshofes bestehen.

Abgesehen von der sicherlich schon für die normalen Atmungsvorgänge wichtigen peristaltischen Funktion der Bronchialmuskulatur spielen derartige spirale Kontraktionen an den kleinsten Bronchien wahrscheinlich auch bei der bisher noch ungeklärten Bildung der *Curschmannschen* Spiralen bei dem Asthma bronchiale eine gewisse Rolle.

Literatur.

- Aschoff, L.* u. *Sacks*: Erg. inn. Med. **26**, 1 (1924). — *Battaglia, F.*: Riv. Pat. sper. **6**, No 2/3, 208 (1930). — *Bloom, W.*: Arch. of Path. **3**, 608 (1927). — *Boattini, G.*: Arch. ital. Anat. e Istol. pat. **2**, 1381 (1931). — *Bratiani, S.* et *C. Guerrierom*: Archives d'Anat. **11**, No 5/8, 423 (1930). Vgl. Zool. Ber. **27**, Nr 1243. — *Busingo, A.* e *G. Giunti*: Haematologica (Palermo) **11**, No 6, 449 (1930). — *Caffier, P.*: Arch. exper. Zellforsch. **10**, H. 3 (1931). — *Costa, A.*: Sperimentale **86**, F. 5/6, 505 (1932). *Costa, A.* e *S. Signorelli*: Sperimentale **85**, F. 5/6, 541 (1932). — *Foot, N. Ch.*: J. of exper. Med. **37**, 139 (1923). — *Francescon, A.*: Riv. Pat. sper. **9**, No 3/4, 165 (1932). *Fried, B. M.*: Arch. of Path. **12**, 689 (1931). — *Hagen, E.*: Arch. exper. Zellforsch. **5**, H. 1/2 (1927). — *Hecht, V.*: Beitr. path. Anat. **48**, 263 (1910). — *Henke, F.* u. *M. Silberberg*: Verh. dtsh. path. Ges. 26. Tagg **1931**, 141. — *Herzog, Gg.* u. *W. Schopper*: Arch. exper. Zellforsch. **11**, 202 (1931). — *Jeddeloh, B.*: Beitr. path. Anat. **86**, 387 (1931). — *Kiyono, K.*: Die vitale Karminspeicherung. Jena: Gustav Fischer 1914. — *Lang, F. J.*: Arch. exper. Zellforsch. **2**, H. 2 (1926). — *Lauche*: Verh. dtsh. path. Ges. **1931**, 144. — *Masson, P.* et *L. Paré*: Ann. d'Anat. path. **8**, 13 (1931). — *Mayedo, Seiichiro*: Mitt. med. Ges. Tokyo **1929**, 1703. — *Mitsuda, T.*: Virchows Arch. **242**, 310 (1923). — *Nordmann, M.*, *Baxter* u. *Wesle*: Arch. exper. Zellforsch. **15**, 165 (1934). — *Saltykow*: Verh. dtsh. path. Ges. **1931**, 137. — *Schopper, W.*: Beitr. path. Anat. **88**, 451 (1932). — *Seemann, G.*: Die Histobiologie der Lunge. Jena: Gustav Fischer 1931. — *Seemann, G.* u. *G. Merkulow*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **20**, H. 1/2, 8 (1930). — *Timofejewsky, A. D.* u. *S. W. Benewolenskaja*: Virchows Arch. **268**, 629 (1928). — *Trendelenburg, P.*: Zbl. Physiol. **26**, 1 (1913). — *Tschistowitsch, A. N.*: Z. Zellforsch. **11**, H. 2, 333 (1930). — *Westhues, H.* u. *M.*: Beitr. path. Anat. **74**, 432 (1925).
-