

Aus dem Pathologischen Institut der Karl-Marx-Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. G. HOLLE)

Elektronenmikroskopische Befunde am Übergang der intralobulären Gallenkanälchen in die Gallengänge*

Von

LOTHAR COSSEL

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Februar 1962)

Die Einmündungsstelle der intralobulären Gallenkanälchen in den Anfangsteil der septalen oder auch perilobulären Gallengänge, auch Zwischenstücke (CLARA 1930), Schaltstücke, Heringsche Passagen (franz. Literatur), Bile ductules, Bile pre-ductules oder Cholangiolen genannt, ist für die Pathologie der Leber von besonderem Interesse. Hier liegt die „Achillesferse“ des ableitenden Gallengangssystems (ASCHOFF).

HERING beschrieb 1871, daß die Gallenröhrchen am Rande der Leberläppchen unmittelbar in die perilobulären Gallengänge einmünden. HERING gab bereits an, daß sich der Übergang der sog. Gallencapillaren in die Gallengänge unter Ausbildung von Zellen vollzieht, von denen man nicht sicher sagen kann, ob sie zu den Leberepithelzellen oder zu den Gallengangsepithelien gehören. EPPINGER (1902) nennt diese Zellen Zwischenzellen. Nach ihm bildet das Lumen des Kanälchenendes eine blasige Erweiterung, die Ampulle. Hier fügt sich den Leberzellen das Gallengangsepithel oft unvermittelt oder unter Einschaltung der genannten Zwischenzellen an. Die Angaben EPPINGERS wurden im wesentlichen durch die Untersuchungen von CLARA (1930) bestätigt. — Trotz dieser lichtmikroskopischen, allerdings vorwiegend durch Zeichnungen belegten Befunde hält es ANDREWS (1958) in jüngster Zeit für unbewiesen, daß die Gallenkanälchen mit den Gallengängen zusammenhängen und glaubt, daß erstere die Lymphwege der Leber darstellen.

Elektronenmikroskopisch sind die Zwischenstücke der Gallengänge bzw. ihre Verbindungen mit den intralobulären Gallencapillaren bisher von SCHAFFNER u. POPPER (1961) und STEINER u. CARRUTHERS (1961) bei Ratten, Hunden, Kaninchen und Menschen untersucht worden. Elektronenoptische Abbildungen vom Übergang der Gallenkanälchen in die Zwischenstücke der Gallengänge in der gesunden menschlichen und tierischen Leber sind bisher jedoch noch nicht veröffentlicht worden.

Material und Methode

Die hier mitgeteilten elektronenmikroskopischen Befunde wurden an unvorbehandelten Kontrolltieren (Kaninchen, Meerschweinchen) im Rahmen tierexperimenteller Untersuchungen und an zu diagnostischen Zwecken gewonnenen menschlichen Leberpunktaten erhoben. Der lichtmikroskopische Befund dieses Untersuchungsmaterials zeigte keine pathologischen Veränderungen. Diese Befunde wurden erstmalig im Rahmen einer größeren Untersuchung zur Ultrastruktur der menschlichen Leber dargestellt (COSSEL 1960).

* Herrn Professor Dr. med. W. HUECK zum 80. Geburtstag gewidmet.

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte durch Nackenschlag. Ein kleines Leberstück wurde nach sofortiger Eröffnung der Bauchhöhle innerhalb 30—90 sec mit gekühlten Instrumenten entnommen, in 1 mm³ messende Gewebstückchen zerlegt und in eisgekühlte 1%ige isotonische bei einem pH von 7,2 gepufferte OsO₄-Lösung nach PALADE eingelegt. Das menschliche Lebergewebe wurde durch Blindpunktion der Leber bei stoffwechselkompensierten Diabetikern der Anstalt zur Erforschung und Behandlung der Zuckerkrankheit Karlsburg (ehemaliger Direktor: Professor Dr. G. KATSCH†) gewonnen¹ und in der gleichen Weise präpariert. Fixierungsdauer: 1 Std. Nach 15 min Wässern in Tyrodelösung Entwässerung in steigender Aceton- oder Alkoholreihe und Einbettung in Vestopal W nach KELLENBERGER, SCHWAB u. RYTER oder in Butylmetacrylat nach NEWMAN, BORYSKO u. SWERDLOW. Polymerisation im Brutschrank bei 60 bzw. 47° C. — Zur Anfertigung ultradünner Schnitte dienten die Ultramikrotome nach SJÖSTRAND der LKB-Produkte Stockholm und v. ARDENNE u. WESTMEYER des VEB Freiburger Präzisionsmechanik, Freiberg i. Sa. Die Präparate wurden untersucht im elektrostatischen 50 kV Elektronenmikroskop D 2 vom VEB Carl Zeiss, Jena, der Elektronenmikroskopischen Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Greifswald.

Befunde

Die sog. Gallenkanälchen stellen nach eigenen Untersuchungen ein dynamisches vom Funktionszustand der Leberepithelzellen abhängiges System interparenchymatöser Räume dar. Der Übergang dieses Kanälchensystems in die intrahepatischen Gallengänge wird in den Abb. 1 und 2 nachgewiesen. Beide Abbildungen zeigen die Einmündungsstelle eines intralobulären Gallenkanälchens in den Anfangsteil eines septalen Gallengangs (sog. Zwischenstück nach CLARA, Schaltstück, Heringsche Passage nach franz. Literatur, Bile ductules oder Bile pre-ductules oder Cholangiole) im Schrägschnitt. Die Schnittebene verläuft in Abb. 1 danach tangential zum sog. Zwischenstück und geht schließlich in einen Querschnitt desselben über. Der Schnittebenenverlauf der Abb. 2 ist prinzipiell der gleiche, nur wird hier das Gallengangszwischenstück in seinem weiteren Verlauf nicht mehr angeschnitten. Wir finden auf dieser Abbildung eine Lichtung, die von zwei Leberzellen und drei Gallengangsepithelien begrenzt wird, während auf der Abb. 1 zwei Leberzellen und zwei Gallengangsepithelien die Übergangsstelle umsäumen. Der Übergang zwischen den Leberepithelien und den Epithelzellen der sog. Gallengangszwischenstücke erfolgt unmittelbar (Abb. 1, 2). An der Übergangsstelle sind Leberepithelzellen und Gallengangszellen nur durch eine Interzellularfuge von 80—190 Å Breite voneinander getrennt (Abb. 3). Diese Interzellularfuge läßt sich bis in die Lichtung der Übergangsstelle verfolgen (Abb. 3). Die Zellmembranen der aneinandergrenzenden Leberepithelzelle und Gallengangszelle verlaufen parallel. Durch schlanke Protoplasmaausstülpungen der einen Zelle in entsprechende Protoplasmaeinbuchtungen der anderen erscheinen beide Zellen miteinander verzahnt (Abb. 3). Im Bereich der Übergangsstelle sind sowohl von den Leberepithelien als auch von den Epithelzellen der Gallengangszwischenstücke Mikrovilli ausgebildet (Abb. 1, 2).

Der Anfangsteil der Zwischenstücke ist von Leberepithelzellen umgeben (Abb. 1), so daß die Lokalisation der Einmündungsstelle in die Peripherie des Leberläppchens hineinreicht, doch besitzt dieser erste Abschnitt des Gallengangszwischenstückes nur eine Ausdehnung von höchstens zwei Leberepithelien.

¹ Dem damaligen stellvertr. Direktor der Anstalt zur Erforschung der Zuckerkrankheit Karlsburg, Herrn Prof. Dr. G. MOHNIKE, danke ich für die Überlassung des Untersuchungsgutes.

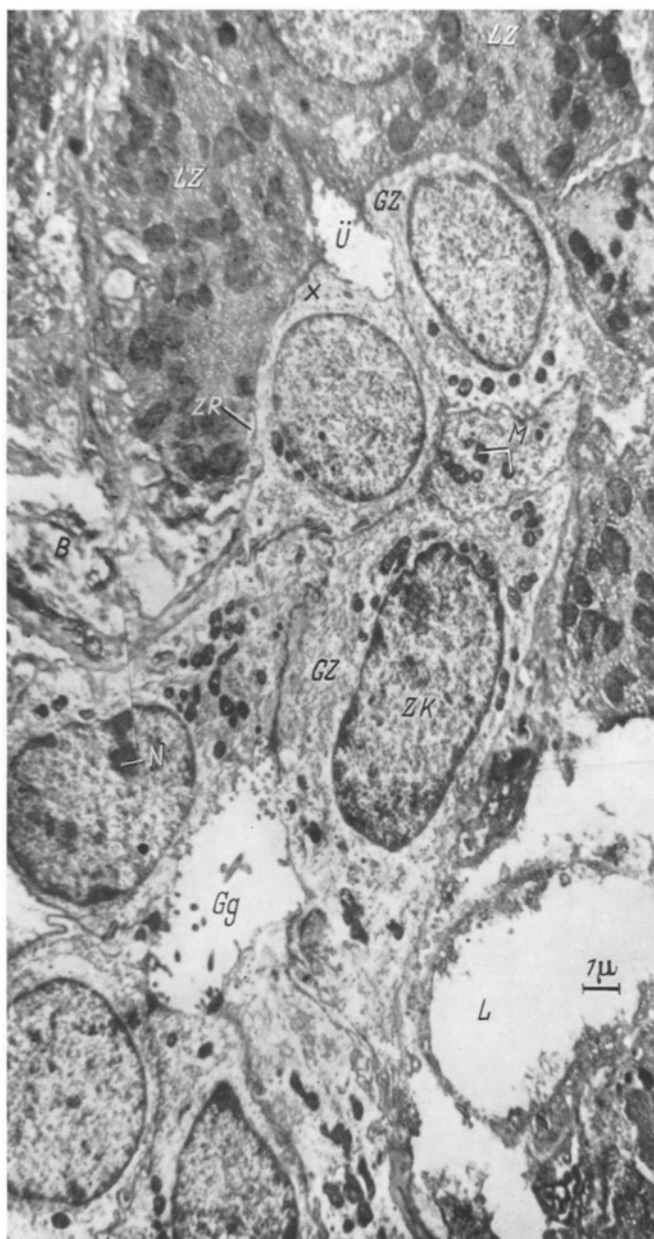


Abb. 1. Schrägschnitt durch die Übergangsstelle eines intralobären Gallenkanälchens in den Anfangsteil eines septalen Gallengangs. Die Übergangsstelle (Ü) wird von zwei Leberepithelzellen (LZ) und zwei Epithelzellen des Gallengangs (GZ) begrenzt. Sowohl von den Leberzellen als auch von den Gallengangszellen ragen Mikrovilli in unregelmäßiger Anordnung und Anzahl in die Lichtung der Übergangsstelle hinein (vgl. auch Abb. 3, die den bei \times gelegenen Teil der Übergangsstelle bei stärkerer Vergrößerung zeigt). — Der Anfangsteil des septalen Gallengangs ist von Leberepithelzellen umgeben. Die Gallengangszellen grenzen hier entweder direkt oder unter Einschaltung eines intercellulären Raumes (ZR) an die umgebenden Leberzellen. Eine Basalmembran ist in diesem Bereich nicht vorhanden. Im weiteren Verlauf grenzen die Gallengangszellen an umgebendes Bindegewebe (B) oder an optisch leere Spalträume (L) (Lymphgefäße?, Artefizielle Spaltbildungen?). Die polygonalen Gallengangsepithelien liegen eng aneinander. Ihr amorphes bzw. granuläres Protoplasma ist gegenüber dem der Leberzellen geringer elektronendicht. Ihre unterschiedlich geformten Zellkerne (ZK) sind relativ groß. In einigen Kernen sieht man Nucleoli (N). Die Gallengangsepithelien enthalten runde, ovale oder längliche Mitochondrien (M) in unterschiedlicher Anzahl und meist gruppiert. Gg Querschnitt des septalen Gallengangs mit zahlreichen von den umgrenzenden Zellen ausgehenden Mikrovilli. 24 Jahre alte gesunde Frau. 4800:1

Auf Abb. 2 grenzt der Anfangsteil des Gallengangszwischenstückes teilweise direkt an den Disseschen Raum. — Die Epithelzellen des Gallengangszwischenstückes unterscheiden sich von den Leberepithelien neben ihrer erheblich gerin-

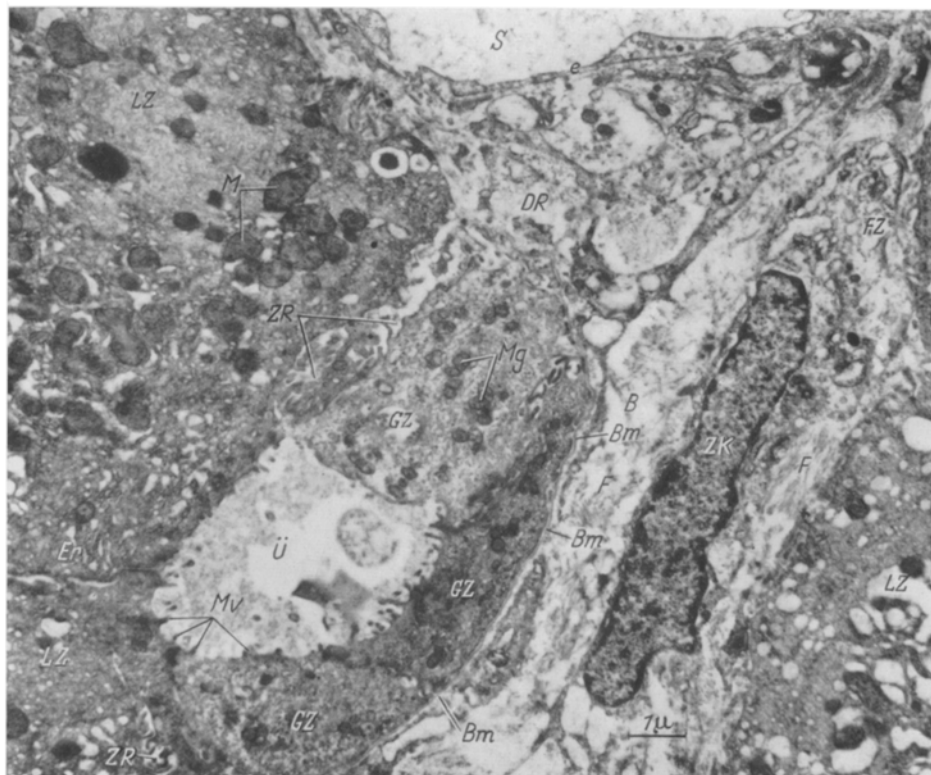


Abb. 2. Schrägschnitt durch die Übergangsstelle eines intralobulären Gallenkanälchens in den Anfangsteil eines septalen Gallengangs. Die Lagebeziehung der Schnittebene zur Übergangsstelle ist die gleiche wie in Abb. 1. — Die Übergangsstelle (Ü) wird von zwei Leberepithelzellen (LZ) und drei Epithelzellen des Gallengangs (GZ) begrenzt. Sowohl von den Leberzellen als auch von den Gallengangszellen ragen Mikrovilli (Mv) in unregelmäßiger Anordnung und Anzahl in die Lichtung der Übergangsstelle hinein. Eine der Gallengangszellen grenzt teilweise direkt an den Disseschen Raum (DR). Während in diesem Bereich keine Basalmembran ausgebildet ist, sieht man an der Grenze der Gallengangsepithelien zum septalen Bindegewebe (B) eine kontinuierliche Basalmembran (Bm). Die Zellen des septalen Gallengangs grenzen entweder direkt oder unter Einschaltung eines unterschiedlich breiten intercellulären Raumes (ZR) an die Leberzellen. Dieser intercelluläre Raum weist herdförmig sehr viele Mikrovilli auf. Das Protoplasma der Gallengangsepithelien ist amorph oder feingranulär. Es enthält unregelmäßig verteilt runde, ovale und längliche Mitochondrien (Mg). — S Sinusoidlichtung; e Sinusoidbegrenzung durch teils ein-, teils zweischichtige dünne endotheliale Protoplasmalage; DR Dissescher Raum zwischen den Endothelzellen (e) und den Leberepithelzellen. — FZ Fibrocyt im septalen Bindegewebe mit länglichem Zellkern (ZK); F schräg angeschnittene Elementarfasern von Fasern des septalen Bindegewebes. — M Mitochondrien; Er Ergastoplasma der Leberepithelzellen. Beachte die unterschiedliche Größe der Leberzellmitochondrien und der Mitochondrien in den Gallengangsepithelien. Ausgewachsenes unvorbehandeltes Kaninchen. 7000:1

geren Größe durch eine wesentlich schwächere Elektronendichte ihres Protoplasmas (Abb. 1). Auf Abb. 2 ist dieser Unterschied weniger ausgeprägt. Die Epithelzellen der sog. Zwischenstücke sind polygonal und liegen dicht aneinander (Abb. 1). Ihre oft miteinander bizarr verzahnten Zellmembranen sind durch eine 100—150 Å breite Interellularfuge voneinander getrennt. Eine Basal-

membran wurde im Anfangsteil der Zwischenstücke, wo diese an Leberzellen und den Dissesehen Raum grenzen, nicht nachgewiesen (Abb. 1, 2). Gegenüber dem septalen Bindegewebe ist eine Basalmembran (Breite: 250—1000 Å) jedoch auch schon im Anfangsteil zu beobachten (Abb. 2). Die Epithelien der Zwischenstücke grenzen entweder unmittelbar oder unter Einschaltung eines intercellulären Spaltraumes (Breite: 1000—3000 Å) an die benachbarten Leberzellen (Abb. 1, 2) und im weiteren Verlauf an spärliches umgebendes Bindegewebe

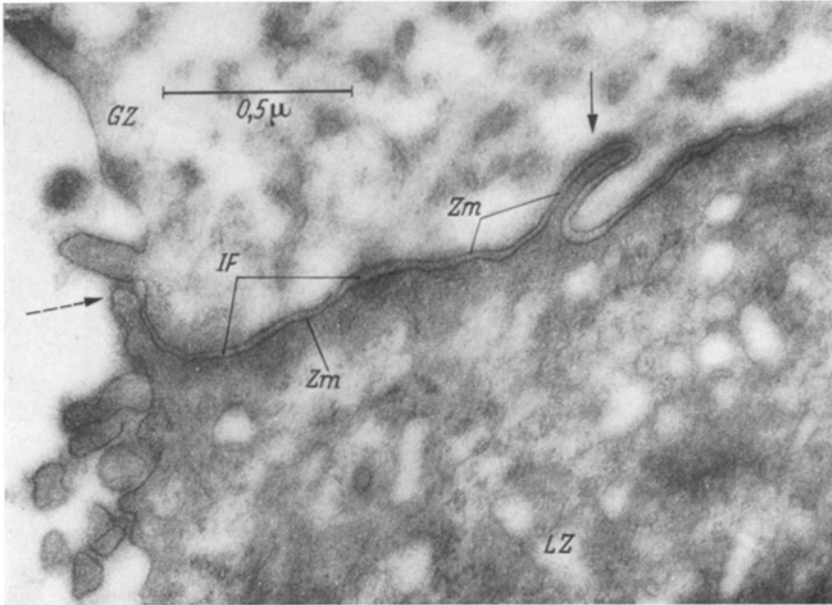


Abb. 3. Ausschnitt aus dem Grenzbereich zwischen einer Leberepithelzelle (LZ) und der Gallengangszelle (GZ) eines sog. Gallengangszwischenstückes (Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 1). — Die Zellmembranen (Zm) der nebeneinanderliegenden Zellen stellen sich als einfache vom Protoplasma gut abgesetzte osmiophile Linien dar. Der Verlauf der parallel liegenden Zellmembranen ist geschlängelt, so daß ein mikrovilliartiger Protoplasmafortsatz der Leberzelle in eine entsprechende Protoplasmaausparung der Gallengangszelle hineinreicht (Pfeil) (gegenseitige „Verzahnung“ der Zellen). Zwischen den Zellmembranen liegt die Interzellularfuge (IF), die sich bis in die Lichtung der Übergangsstelle des Gallenkanälchens in das Gallengangszwischenstück verfolgen läßt und hier teilweise durch einen Mikrovillus abgedeckt ist (gestrichelter Pfeil). — Die cytoplasmatische Grundsubstanz der Leberepithelzelle ist herdförmig sehr elektronendicht. Das Cytoplasma der Gallengangszelle ist weitgehend osmiophob. 24 Jahre alte gesunde Frau. 48 000:1

(Abb. 2) bzw. direkt an unterschiedlich breite, optisch leere Spalträume (Lymphspalten?, Abb. 1). Die Zellkerne der Zwischenstückepithelien sind hinsichtlich der Relation zum Cytoplasma groß (großer Durchmesser: 5—8 μ , kleiner Durchmesser: 3—5 μ). Sie sind rund, oval oder länglich und überwiegend glatt begrenzt (Abb. 1). Nucleoli (Durchmesser: 0,7—1,2 μ) wurden einzeln, aber auch in der Mehrzahl zentral oder randständig beobachtet (Abb. 1). Das elektronenoptisch helle Protoplasma der Zwischenstückepithelien ist überwiegend amorph oder granulär (Abb. 1, 2). Ergastoplasmatische Strukturen konnte ich bisher nicht beobachten, was lichtmikroskopischen Befunden entspricht, wonach diese Zellen kein basophil anfärbbares Protoplasma besitzen sollen. Die runden, ovalen oder länglichen Mitochondrien sind kleiner als die der Leberepithelzellen

(Abb. 1, 2) und liegen vorwiegend um den Zellkern gruppiert (Abb. 1). Die Größenordnung der Mitochondrienanschnitte liegt für den großen Durchmesser zwischen $0,25\ \mu$ und $1,2\ \mu$ sowie für den kleinen Durchmesser zwischen $0,12\ \mu$ und $0,37\ \mu$. Ohne den Nachweis einer Übergangsstelle sind die Epithelzellen der Gallengangszwischenstücke von den Epithelzellen größerer Gallengänge elektronenoptisch nicht immer sicher abzugrenzen. Es wurden deshalb in dieser Arbeit nur Gallengangsepithelien beschrieben, deren Zugehörigkeit zu den Zwischenstücken durch den Nachweis einer Übergangsstelle erwiesen werden konnte. Auch in das Lumen der Gallengangszwischenstücke ragen in wechselnder Anzahl und Ausbildung Mikrovilli der umgrenzenden Epithelzellen (Abb. 1). Meist wird das Lumen von fünf, seltener von vier Epithelzellen begrenzt.

Diskussion

Die dargestellten elektronenmikroskopischen Befunde bestätigen die durch lichtmikroskopische Untersuchungen gewonnenen Kenntnisse von der Einmündungsstelle der intralobulären Gallenkanälchen in die Gallengänge. Hierbei ist die Übereinstimmung des elektronenmikroskopischen Bildes mit den auf Grund lichtmikroskopischer Untersuchungen hergestellten Zeichnungen vom Aufbau der Übergangsregion (EPPINGER 1902, CLARA 1930) verblüffend eindrucksvoll (vgl. Abb. 1). An dem Zusammenhang der intralobulären Gallenkanälchen mit dem Gallengangssystem dürfte demnach kein Zweifel mehr bestehen. Auch SCHAFFNER u. POPPER bildeten in ihrer Arbeit eine Verbindung zwischen Gallenkanälchen und Gallengangszwischenstück bei einem Patienten mit inaktiver postnekrotischer Cirrhose ab. Die Übergangsstelle ist auf der Schnittebene dieser Abbildung durch zwei Gallengangszellen und eine Leberepithelzelle umgrenzt. Eine Ampulle (blasige Erweiterung des Endes des Gallenkanälchens) an der Übergangsstelle wurde von mir elektronenoptisch bisher nicht beobachtet. Desgleichen konnte ich in Übereinstimmung mit den Befunden von SCHAFFNER u. POPPER bisher keine sog. Zwischen-, Übergangs- oder Endzellen (EPPINGER, CLARA, PFUHL) nachweisen. Der Übergang Leberzelle in Gallengangszelle erfolgt, wie aus den Abb. 1 und 2 zu ersehen, unmittelbar ohne Einschaltung von Übergangszellen. Diese Befunde und die submikroskopische morphologische Ähnlichkeit bzw. Identität der Epithelzellen der Gallengangszwischenstücke mit den Epithelien größerer Gallengänge sprechen dafür, daß die Zwischenstücke sich aus den Gallengängen entwickeln und sich nicht von den Leberepithelzellen herleiten. Bei pathologischen Prozessen der Leber, die mit einer Wucherung von Schaltstücken einhergehen, würde demnach dieser Regenerationsversuch von den Gallengangsepithelien herzuleiten sein. Auch die Fehlbildung der Leber mit einer Agenesie der Schaltstücke müßte demnach auf eine von den Gallengängen ausgehende Entwicklungsstörung zurückgeführt werden. Hinsichtlich der Lokalisation der Einmündungsstelle bestätigt sich elektronenoptisch die Ansicht, daß die Zwischenstücke in die Peripherie des Leberläppchens hineinreichen, doch geschieht dies nach meinen Beobachtungen nicht über eine Ausdehnung von zwei Leberepithelzellen hinaus. Das Fehlen einer Basalmembran in diesem Bereich könnte unter anderem die leichte Anfälligkeit dieser Übergangsregion bei pathologischen Affektionen erklären.

Zusammenfassung

Elektronenmikroskopische Befunde von der Übergangsstelle der intralobulären Gallenkanälchen in die Zwischenstücke der Gallengänge in der gesunden menschlichen und tierischen Leber bestätigen in eindrucksvoller Weise die durch lichtmikroskopische Untersuchungen gewonnenen Kenntnisse vom Bau dieser Übergangsregion.

Summary

Electron-microscopic studies were made of the transition of the intralobular bile canalicules with the middle pieces of the bile ducts in healthy human and animal liver. The results confirm in an impressive way the knowledge of the structure of this region of transition already gained by means of the light microscope.

Literatur

- ANDREWS, W. H.: Bile duct cells and bile secretion. In BRAUER, Liver function, S. 241. Washington 1958.
- ARDENNE, M. v., u. H. WESTMEYER: Über ein Ultramikrotom einfacher Bauart. *Optik* **16**, 183 (1959).
- ASCHOFF, L.: Zit. bei KETTLER.
- CLARA, M.: Untersuchungen an der menschlichen Leber. I. Über den Übergang der Gallenkapillaren in die Gallengänge. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **20**, 584 (1930).
- COSSEL, L.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Ultrastruktur der menschlichen Leber. *Habil.-Schr. Leipzig* 1960.
- EPPINGER, H.: Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie der menschlichen Gallenkapillaren mit besonderer Berücksichtigung der Pathogenese des Ikterus. *Beitr. path. Anat.* **31**, 230 (1902).
- HERING, E.: In STRICKERS Handbuch der Lehre von den Geweben, S. 429. Leipzig 1871.
- KELLENBERGER, E., W. SCHWAB et A. RYTER: L'utilisation d'un copolymere du groupe des polyesters comme matériel d'inclusion en ultramicrotomie. *Experientia (Basel)* **12**, 421 (1956).
- KETTLER, L. H.: Die Leber. In Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie, hrsg. von STAEMMLER. Berlin 1958.
- NEWMAN, S. B., E. BORYSKO and M. SWERDLOW: Ultramicrotomy by a new method. *J. Res. nat. Bur. Stand.* **43**, 183 (1949).
- PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* **95**, 285 (1952).
- PFUHL, W.: Die Leber. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, hrsg. v. W. v. MÖLLENDORFF, Bd. 5, Teil 2. Berlin: Springer 1932.
- POPPER, H.: Über experimentelle Hepatitis. *Virchows Arch. path. Anat.* **298**, 574 (1937).
- SCHAFFNER, F., and H. POPPER: Electron microscopic studies of normal and proliferated bile ductules. *Amer. J. Path.* **38**, 393 (1961).
- STEINER, J. W., and J. S. CARRUTHERS: Studies on the fine structure of the terminal branches of the biliary tree. I. The morphology of normal bile canaliculi, bile pre-ductules (ducts of Hering) and bile ductules. *Amer. J. Path.* **38**, 639 (1961).

Doz. Dr. med. habil. LOTHAR COSSEL,
Prosektor am Pathologischen Institut der Universität,
Leipzig C 1, Liebigstraße 26