

## **Entwicklung und ultrastrukturelle Cytodifferenzierung der Parotis des Menschen \***

K. Donath, H. Dietrich, G. Seifert

Institut für Pathologie der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. G. Seifert)

### **Development and Ultrastructural Cytodifferentiation of Human Parotid Gland**

**Summary.** 16 human parotid glands from the 10th to 40th week of pregnancy were studied by light and electron microscopy. Three developmental stages of the gland can be distinguished by analogy with findings in animals: 1. The first stage concerns the primordium and the subsequent development of the gland until the end of the 3rd embryonal month. In this stage the gland consists of bilaminar, dichotomously ramified duct proliferations. The luminal aspect of the ducts are limited by ciliated embryonal epithelial cells. Myoepithelial cells are arranged between the epithelial cells and the basement membrane at the periphery of the duct proliferations. 2. In the second stage further differentiation of the gland occurs, by arrangement in to lobules. Within the gland lobules, functional units originate in dichotomous ramification and canalisation. At the end of the second stage differentiation of the excretory ducts takes place. Myoepithelial cells are observed only in the terminal duct system. From the 30th week of pregnancy endoplasmic reticulum and a supranuclear Golgi apparatus is established in the cells of the acini. 3. In the third stage further structural maturation begins. In the 35th week of pregnancy the first secretory granules are formed in acinic cells. Up to the 40th week of pregnancy further differentiation of these cells and intercalated ducts occurs. Differentiation of striated ducts has not been observed prenatally. Myoepithelial cells exist in the terminal duct system and in the acini. Based on these observations, comparative studies of the ultrastructural cytodifferentiation of salivary gland tumours seems to be possible.

**Key words:** Cytodifferentiation – Development of human parotid gland – Ultrastructure of embryonal duct cells – Myoepithelial cells – Comparison with salivary gland tumour differentiation.

Sonderdruckanforderungen an: Priv.-Doz. Dr. K. Donath, Institut für Pathologie der Universität, Martinistr. 52, D-2000 Hamburg 20, Bundesrepublik Deutschland

\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

**Zusammenfassung.** Zur Untersuchung gelangten 16 menschliche Ohrspeicheldrüsen von der 10. bis 40. Schwangerschaftswoche (SSW). Auf Grund der licht- und elektronenmikroskopischen Analyse lassen sich in der menschlichen Parotis in Analogie zu tierexperimentellen Befunden 3 Stadien unterscheiden: 1. Das 1. Stadium betrifft die Anlage und Entwicklung der Drüse bis zum Ende des 3. Embryonalmonats. Die Drüse besteht in diesem Stadium aus zweischichtigen, dichotom verzweigten Gangsprossen. Die Lichtung der Gangsprossen wird von embryonalen, cilientragenden Epithelzellen begrenzt. Am peripheren Ende der Gangsprossen liegen Myoepithelzellen zwischen den Epithelzellen und der Basalmembran. 2. Im 2. Stadium erfolgt die weitere Drüsendifferenzierung mit einer Gliederung in Läppchen. Innerhalb der Drüsennläppchen kommt es durch dichotome Ramifikation und Kanalisierung zur Ausbildung von Funktionseinheiten. Am Ende des 2. Stadiums tritt eine weitere Differenzierung der Ausführungsgänge ein. Myoepithelzellen sind nur noch im terminalen Gangsystem nachweisbar. Ab 30. SSW lassen sich in den Endstücken ein endoplasmatisches Retikulum und ein supranukleärer Golgiapparat nachweisen. 3. Im 3. Stadium beginnt die weitere strukturelle Reifung. In der 35. SSW bilden sich die ersten Sekretgranula in den Acinuszellen. Bis zur 40. SSW kommt es zur weiteren Ausdifferenzierung der Acinuszellen und Schaltstücke. Eine Streifenstückausbildung konnte pränatal nicht beobachtet werden. Myoepithelzellen sind im terminalen Gangsystem und in den Acini nachweisbar. — Auf der Basis der erhobenen Befunde lassen sich vergleichende Beobachtungen zur ultrastrukturellen Cytdifferenzierung in Speicheldrüsentumoren durchführen.

## Einleitung

In den letzten 100 Jahren haben sich zahlreiche Autoren mit der embryonalen Entwicklung der Ohrspeicheldrüse befaßt. Das Interesse galt einmal den frühesten Entwicklungsstufen (Reichel, 1883; Moral, 1913; Broman, 1916), zum anderen den topographischen Beziehungen der Drüse zum N. facialis und den Gefäßen (Chievitz, 1885; Gregoire, 1912; Rouviere und Cordier, 1934; McWorther, 1917; Cody, 1954). Auch die Entwicklung der Parotis zur zweischichtigen Form war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (Brünner, 1962; Gasser, 1970; Gregoire, 1912; McKenzie, 1948).

Weniger Beachtung fand bei den bisherigen Studien die Drüsenzelldifferenzierung der menschlichen Ohrspeichelräsen in der pränatalen Entwicklungsphase. Demgegenüber ist die prä- und postnatale Entwicklung der Parotis verschiedener Tierspezies sehr gründlich und eingehend untersucht worden (Hagemann und Schmidt, 1960; Schneyer und Hall, 1967, 1968, 1969, 1970a, b; Hall und Schneyer, 1969; Lawson, 1970, 1972; Catanzaro-Guimaraes et al., 1972; Pospisilova-Zuzakova, 1973). Bei der Entwicklung der Rattenparotis unterscheiden Lawson (1970) und Pospisilova-Zuzakova (1973) 4, Redman und Sreebny (1970a, b, 1971) 5 Phasen. Übereinstimmend sind die Untersuchungsergebnisse zur Acinuszell-Differenzierung (Stadium 3 nach Redman und Sreebny, 1971), die erst unmittelbar nach der Geburt einsetzt. Auch der mögliche Einfluß des Mesen-

chys auf die morphologische und funktionelle Differenzierung des Speicheldrüsenepithels wurde experimentell untersucht (Cuhna, 1972; Lawson, 1972).

Die Frage der Cytogenese der Myoepithelzelle konnte bisher auch experimentell nicht eindeutig beantwortet werden. So berichtet Tandler (1965) über "clear cells", die aus Anteilen des Schaltstückepithels hervorgehen sollen. Diese "clear cells" oder "precursor cells" sollen Vorstufen der Myoepithelzellen in der Rattensubmandibularis darstellen. Mylius (1960) trifft keine Entscheidung über die Herkunft der Myoepithelzellen, charakterisiert sie aber auf Grund der von ihm beobachteten Zelleigenschaften als vorwiegend mesenchymalen Ursprungs, während Hamperl (1970) den Ursprung der Myoepithelzelle im Ektoderm sieht.

Die Kenntnis über die Cytogenese der Myoepithelzellen und der Differenzierung embryonaler Gangsprossen zu hochdifferenzierten Epithelzellen ist von praktischer Bedeutung für die Diagnostik und Klassifikation der Speicheldrüsentumoren. Auch für die Pathohistogenese der Speicheldrüsentumoren können sich aus der Aufklärung der Cytodifferenzierung während der Parotisentwicklung neue Aspekte ergeben. Wir untersuchten daher Parotisgewebe aus der Pars superficialis von Embryonen bzw. Foeten zwischen der 10. und 40. Schwangerschaftswoche (SSW). Zur Auswertung gelangten nur Drüsen mit gut erhaltenen Ultrastruktur. Unter Kenntnis der experimentellen Befunde zur Parotis-Entwicklung soll in der vorliegenden Studie besonders zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

- 1) Welche Stadien durchläuft die Parotis in ihrer pränatalen Entwicklung?
- 2) Wann differenziert sich die Acinuszelle?
- 3) Wie verläuft die Histogenese der Myoepithelzelle?

## Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an 16 menschlichen Ohrspeekeldrüsen der 10. bis 40. Schwangerschaftswoche (SSW) durchgeführt (s. Tabelle 1). Für die histologische Untersuchung wurde die Parotis in 10%igem neutralen Formalin fixiert. 4 bis 8 µm dicke Paraffinschnitte wurden nach folgenden Methoden gefärbt: Hämatoxylin-Eosin, PAS-Reaktion und Astrablaufärbung.

**Tabelle 1.** Zuordnung der untersuchten Speicheldrüsen ( $n=16$ ) zu den Entwicklungsstadien<sup>a</sup>

Entwicklungsstadien	Schwanger-schaftswoche	Zahl der Fälle
1 (Organanlage)	10.	3
2 (Läppchengliederung)	20.	3
	25.	1
	30.	3
3 (Ausreifung)	35.	3
	40.	3

<sup>a</sup> Für die zusätzliche Überlassung von Untersuchungsmaterial möchten wir Herrn Dr. Claus Pape, Universitäts-Frauenklinik (Direktor: Prof. Dr. K. Thomsen) danken

Für die elektronenmikroskopische Bearbeitung wurden kleine Gewebsstücke in 3%igem Glutaraldehyd-Cycodylatpuffergemisch (ph 7,2–7,4; 300 mOsmol) bei 4°C 2 Std immersionsfixiert. Nach mehrmaligem Spülen mit Na-Cacodylatpuffer wurde mit 1,33%igem s-Colloidin gepufferten Osmiumtetroxyd nachfixiert. Die Einbettung erfolgte in Epon 812.

Die histologische Auswertung des in Kunststoff eingebetteten Materials und die Auswahl der Feinschnitte wurde an 1 µm Toluidinblau gefärbten Semidünnschnitten durchgeführt.

Die ultrastrukturellen Untersuchungen erfolgten an Uranylacetat- und Bleicitrat-kontrastierten Feinschnitten im Philips-Elektronenmikroskop EM 300 bei einer Strahlspannung von 80 kV.

## Untersuchungsergebnisse

Die Ergebnisse der histologischen und ultrastrukturellen Untersuchung der pränatalen Parotisentwicklung rechtfertigen eine Untergliederung in 3 Stadien, die sich folgendermaßen charakterisieren lassen:

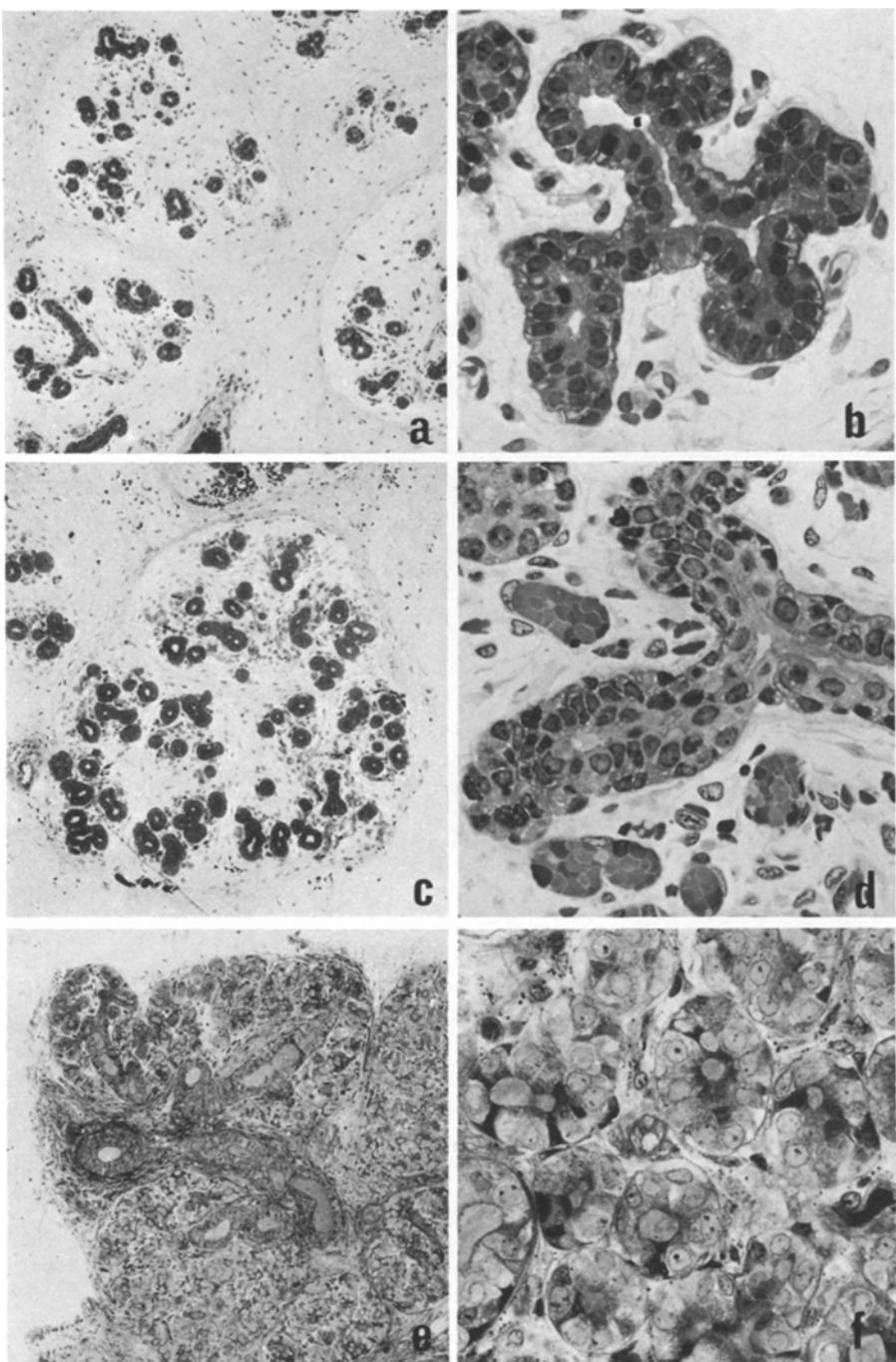
1. Stadium (bis 12. SSW): Organanlage.
2. Stadium (bis 34. SSW): Organdifferenzierung zu Drüsengläppchen.
3. Stadium (bis 40. SSW): Funktionelle und strukturelle Reifung.

### *Histologische Befunde*

1. *Stadium.* Die Drüse ist aus kleineren Gruppen indifferenter Gangsprossen aufgebaut. Die dichotom verzweigten Gangsprossen bestehen aus einer lumenbegrenzenden, kubischen und einer peripheren, spindelförmigen Zellschicht (Abb. 1b). Die Gangsprossen werden durch eine Basalmembran gegen das Mesenchym begrenzt. Das Mesenchym ist zellarm und reich an sauren Mucopolysacchariden. Gefäße oder Nerven sind nicht eindeutig nachweisbar. In der Peripherie einzelner Gangsprossen sieht man schmale Streifen von Fibroblastenanhäufungen, die der späteren Läppchenstruktur entsprechen könnten (Abb. 1a).

2. *Stadium.* Die Drüse ist läppchenförmig aufgebaut. Die einzelnen Läppchen werden durch circulär angeordnetes Bindegewebe deutlich abgegrenzt (Abb. 1c). Die Läppchen bestehen aus einem Fibroblasten- und Kapillar-reichen Mesenchym mit zahlreichen indifferennten Gangsprossen und 1 bis 2 größeren Gängen. Die Gangsprossen bestehen wie im 1. Stadium aus 2 Zelllagen mit deutlicher Lichtung (Abb. 1d). Die größeren intralobulären Gänge sind aus drei Zellschichten aufgebaut. Vereinzelt liegen im interlobulären Bindegewebe größere Gänge, bestehend aus 3 bis 4 Zellschichten und einem weiten Lumen.

3. *Stadium.* Ein Drüsengläppchen untergliedert sich jetzt in ca. 5 Lobuli, die ihrerseits aus ca. 2 bis 4 Sublobuli bestehen. Das Gangsystem entspricht in seiner morphologischen Gliederung der reifen Parotis. Erstmals beobachtet man in den Sublobuli 16 bis 20 Acini, die aus pyramidenförmigen Zellen mit basalstehenden rundlichen Kernen zusammengesetzt sind. Die Acini stehen mit Gängen in Verbindung, deren Durchmesser nur etwa  $\frac{2}{3}$  der Acini beträgt. Die Lichtung der kleinen Gänge wird von kubischen Zellen mit zentral liegenden Kernen und einer spindelförmigen peripheren Zellschicht gebildet. Größere Gänge



**Abb. 1a–f.** Parotisentwicklung des Menschen zwischen 10. und 40. SSW. **a** Kleine Gruppen dichotom verzweigter Gangsprossen in einem zell- und faserarmen Mesenchym der 10. SSW. **b** Aus zwei differenten Zellarten aufgebaute Gangsprossen der 10. SSW. Kubische bis prismatische Epithelzellen zentral, spindelförmige Myoepithelzellen peripher. **c** Drüsengläppchen in der 25. SSW mit zahlreichen, dichtliegenden Gangsprossen. **d** Kubische Epithel- und spindelförmige Myoepithelzellen bilden die Gangsprossen in der 25. SSW. Zahlreiche Gefäße im Interstitium. **e** In Acini und Gangsystem gegliederte Parotis in der 35. SSW. **f** Acini mit Sekretgranula im apikalen Cytoplasma und einzelne Schaltstücke der Parotis in der 35. SSW. Semidünnabschnitte, Toluidinblau; Vergr. (a, c, e) 65× ; (b, d, f) 500×

mit 2 bis mehr Zellschichten beobachtet man gelegentlich intralobulär. Vorwiegend sind sie jedoch interlobär lokalisiert (Abb. 1e).

Zahlreiche Acini zeigen im apikalen Cytoplasma eine verstärkte Anfärbbarkeit oder dunkle Granula. Das Cytoplasma der Acinuszellen ist vorwiegend dunkel und nur vereinzelt hell angefärbt (Abb. 1f). Eine Lichtungsbildung ist in den Acini und im gesamten Ausführungsgangsystem ausgebildet.

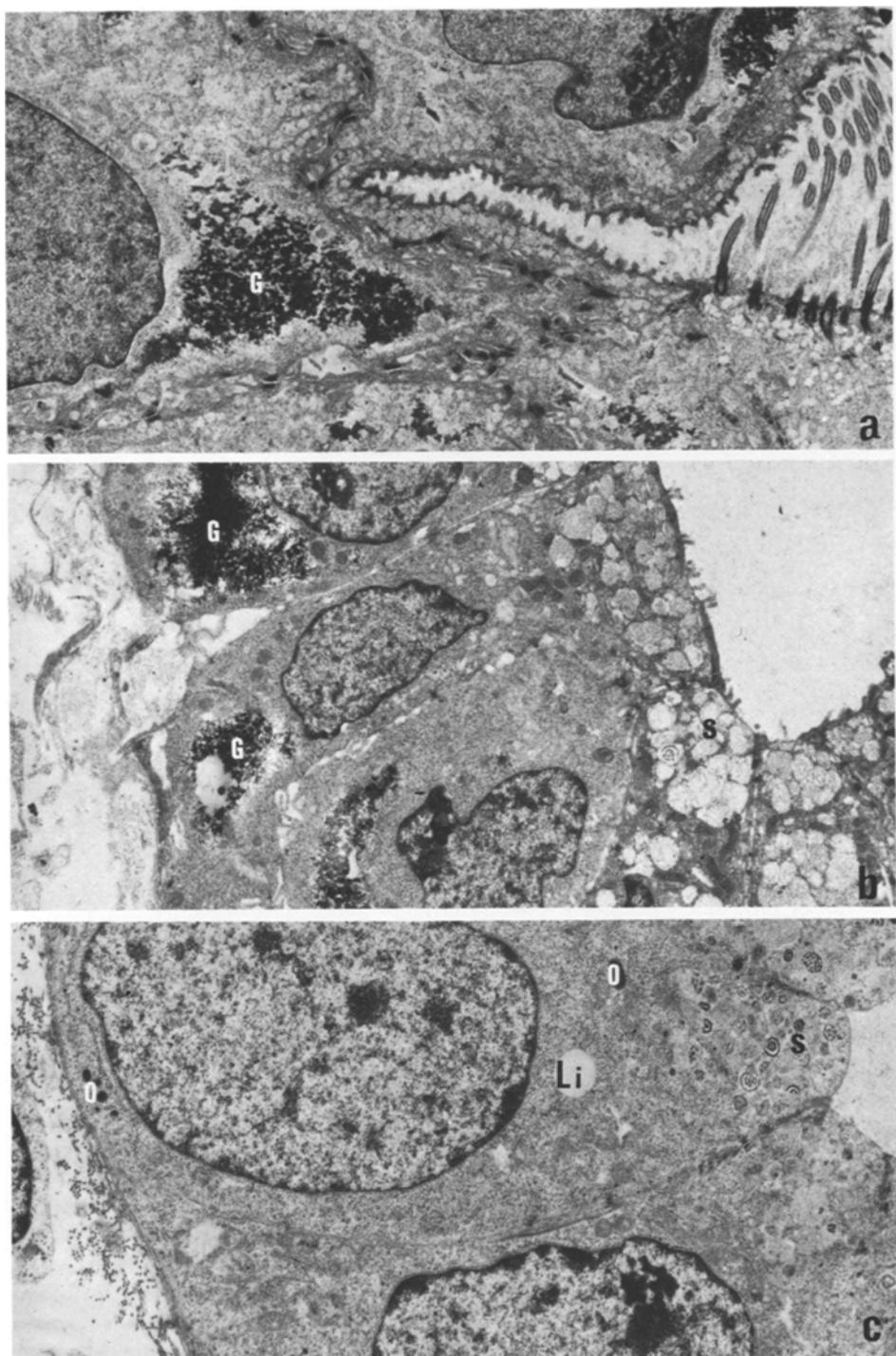
Die im 1. und 2. Stadium in der Peripherie des undifferenzierten Gangsystems nachweisbaren schmalen Zellen haben sich deutlich verringert. Sie sind nur schwer im Gangsystem mit hochprismatischen Zellen bis zu den Acinuszellen noch anzutreffen.

Das inter- und das intralobuläre Mesenchym zeigt einen stärkeren Zell- und Fasergehalt gegenüber den Vorstadien. Blutgefäße und Nerven sind reichlich nachweisbar.

#### *Elektronenmikroskopische Befunde*

*1. Stadium.* Die indifferenten Gangsprossen bestehen aus einer lumenbegrenzenden Flimmerzellschicht und einer schmalen, peripheren Zelllage. Die Flimmerzellen stehen über Desmosomen mit den Nachbarzellen im Kontakt. Die Intercellularräume sind blasig erweitert und erscheinen optisch leer. Der große Zellkern liegt im Zentrum der Flimmerzellen. Im Cytosol des apikalen und basalen Zellkernpoles sind große Glykogendepots angelegt (Abb. 2a). Außer Mitochondrien, freien Ribosomen und kleineren Lipidtropfen sind nur wenige Mikrofibrillen im Cytosol ausgebildet. Die an der apikalen Zellmembran angeschnittenen Cilien bestehen aus 9 peripheren Filamenten und einem Zentralfilament. Bei den schmalen, in der Peripherie gelegenen Zellen handelt es sich um Myoepithelzellen. Die Myoepithelzellen sind durch Desmosomen mit den Flimmerzellen verbunden.

*2. Stadium.* In der 20. SSW sind noch einzelne Flimmerzellen in den terminalen Abschnitten der indifferenten Gangsprossen nachweisbar. Überwiegend bestehen die terminalen Gangsprossen aus kubischen bis hochprismatischen Zellen, deren apikale und basale Zellgrenzmembranen über zahlreiche Desmosomen in Verbindung stehen. Im gering erweiterten Intercellularraum sind mikrovilliartige Cytoplasmatausläufer ausgebildet. Kurze mikrovilliartige Cytoplasmatausläufer sind auch an der apikalen Zellgrenzmembran entwickelt. Die großen, länglich ovalen Zellkerne liegen im Zentrum der Zellen und sind radiär ausgerichtet. Glykogendepots am basalen Kernalpol sind bis zur 30. SSW nur noch vereinzelt nachweisbar. Die supranukleäre Cytoplasmahälfte ist vakuolär umgestaltet (Abb. 2b). Die Vakuolen enthalten fädiges, teils auch ringförmiges Material (primitive Sekretion?). Die langgestreckten Mitochondrien haben eine dunkle Matrix und liegen bevorzugt um den Zellkern. Bis zur 30. SSW enthält das Cytosol vorwiegend freie Ribosomen. Etwa ab 31. SSW kommt es zur Entwicklung kurzer Lamellenpaare von rauhem endoplasmatischen Retikulum. Glatte, Golgi-field-artige Membranenpaare treten zur gleichen Zeit supranuklear in den Zellen der terminalen Gangsprossen auf. Im Cytoplasma einzelner Epithelzellen sieht man zusätzlich einzelne Lipidtropfen, osmiophile Granula und Büschel von Mikrofibrillen (Abb. 2e).



**Abb. 2a-c.** Pränatale Parotisentwicklung des Menschen. **a** Ausschnitt der lichtungsbegrenzenden embryonalen Epithelzellen mit Glykogendepots an den Kernpolen und Cilien in der Lichtung (10. SSW). Vergr. 6900×. **b** Zylinderförmige Epithelzellen mit radiär ausgerichteten Zellkernen in den Gangsprossen der 20. SSW. Glykogendepots (G), Sekretvakuolen (S). Vergr. 6000×. **c** Endstückzellen mit basal stehenden Zellkernen in der 30. SSW. Primitive Sekretgranula (S), Lipiddropfen (Li), osmiophile Granula (O). Vergr. 8000×

Die in der Peripherie der indifferenten Gangsprossen gelegenen Myoepithelzellen haben schmale lange Cytoplasmaausläufer, die durch Desmosomen mit den zentralen Epithelzellen verbunden sind.

Die größeren intralobären Gänge bestehen aus hochprismatischen Zellen, in deren Peripherie Myoepithelzellen nur noch vereinzelt enthalten sind. Im Verband der lichtungsbegrenzenden Gangzellen liegen einzelne Becherzellen. Etwa  $\frac{2}{3}$  des Cytoplasma dieser Zellen ist mit Schleimvakuolen (fädige teils granuläre Substanz) gefüllt. Der Zellkern liegt im basalen Anteil des Cytoplasma. Die benachbarten Gangzellen sind apikal durch breite Haftzonen verbunden. Die großen, länglich ovalen Zellkerne sind radiär ausgerichtet. Das Cytosol enthält neben einzelnen Mitochondrien und wenigen Mikrofibrillen vorwiegend Polysomen (Abb. 3).

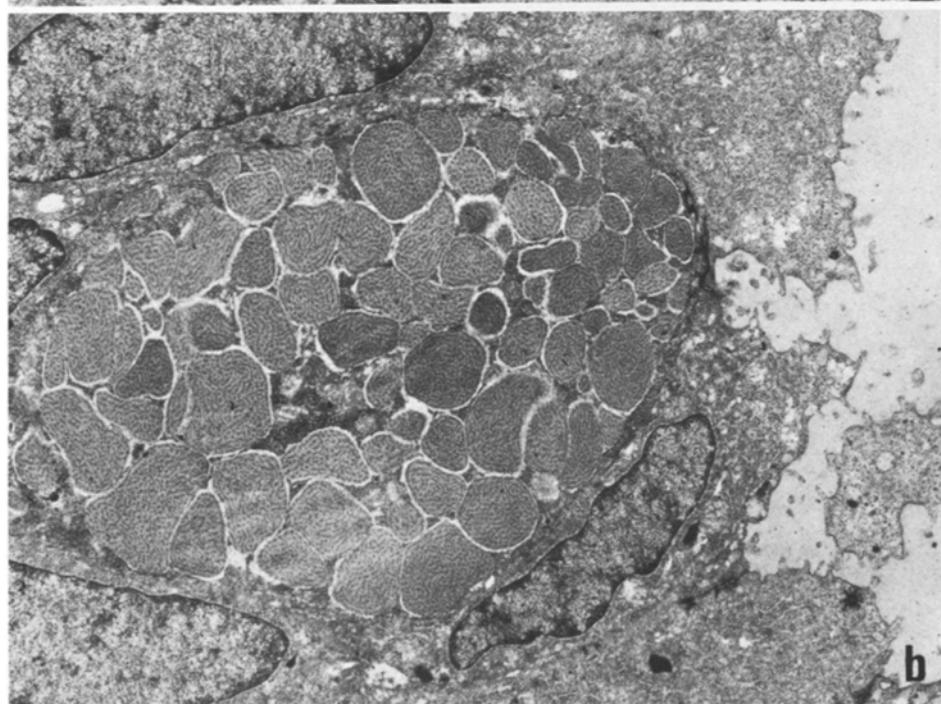
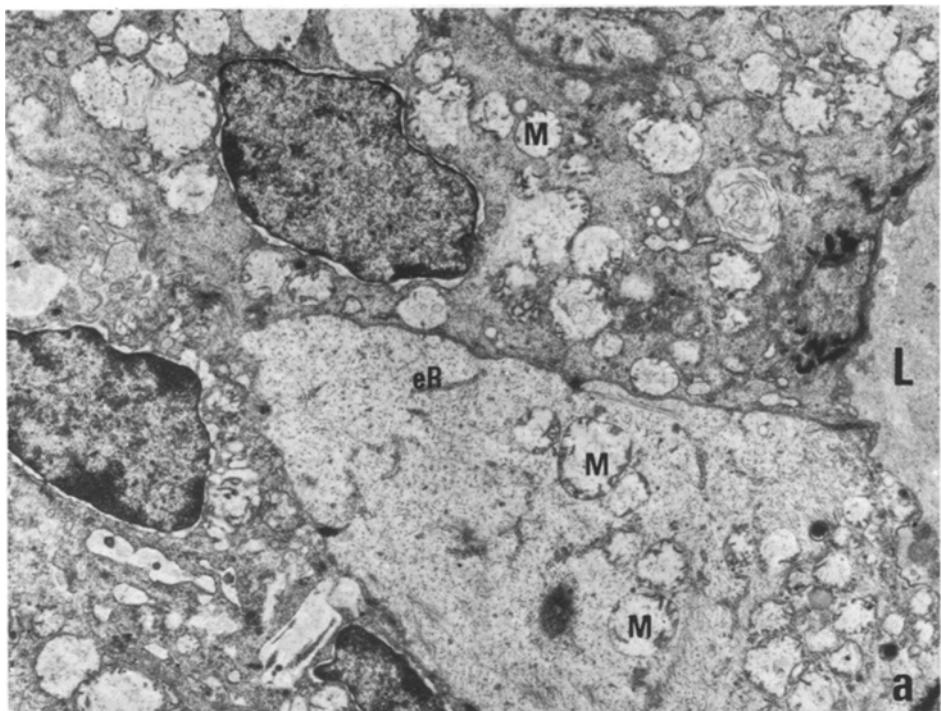
*3. Stadium.* Etwa ab 30. SSW verlagern sich allmählich die länglich ovalen Zellkerne in den basalen Cytoplasmaabschnitt der terminalen Gangsprossen. Mit der Bildung des rauen endoplasmatischen Retikulums kommt es gleichzeitig zur Ausbildung einer Kernmembran in diesen Zellen (Abb. 4). Die ab 35. SSW in den Endknospen zu Acinuszellen differenzierten Zellen haben einen größeren Durchmesser als die Zellen in den vorgesetzten Gangabschnitten. Innerhalb der Endknospen lassen sich Acinuszellen mit hellem und dunklem Cytoplasma unterscheiden. Acinuszellen mit einem hellen Cytoplasma sind in der Regel organellenärmer. Benachbarte Acinuszellgrenzbemembranen verlaufen parallel. Desmosomen sind in den lumennahen und basalen Bereichen ausgebildet. Intercelluläre Canaliculi sind teilweise schon ab 35. SSW nachweisbar (Abb. 4e). Große helle (Prosekret-) und kleinere dunkle (reife Sekretgranula) Granula sind im oberen Drittel des Cytoplasma entwickelt. Der supranuklear gelegene Golgi-Apparat besteht nur aus wenigen Membranenpaaren und kleinen Vesikeln. Die Cysternen des rauen endoplasmatischen Retikulums sind vereinzelt cystisch erweitert und mit feingranulärem Material gefüllt.

*Schaltstücke* sind die den Acini vorgesetzten Gangabschnitte. Das Lumen wird von kubischen Zellen mit großen, zentral liegenden Zellkernen begrenzt. Das Cytoplasma enthält kurze Membranenpaare von rauhem endoplasmatischen Retikulum, freie Ribosomen, Mitochondrien und im apikalen Cytoplasma kleine dunkle Granula (Abb. 5a).

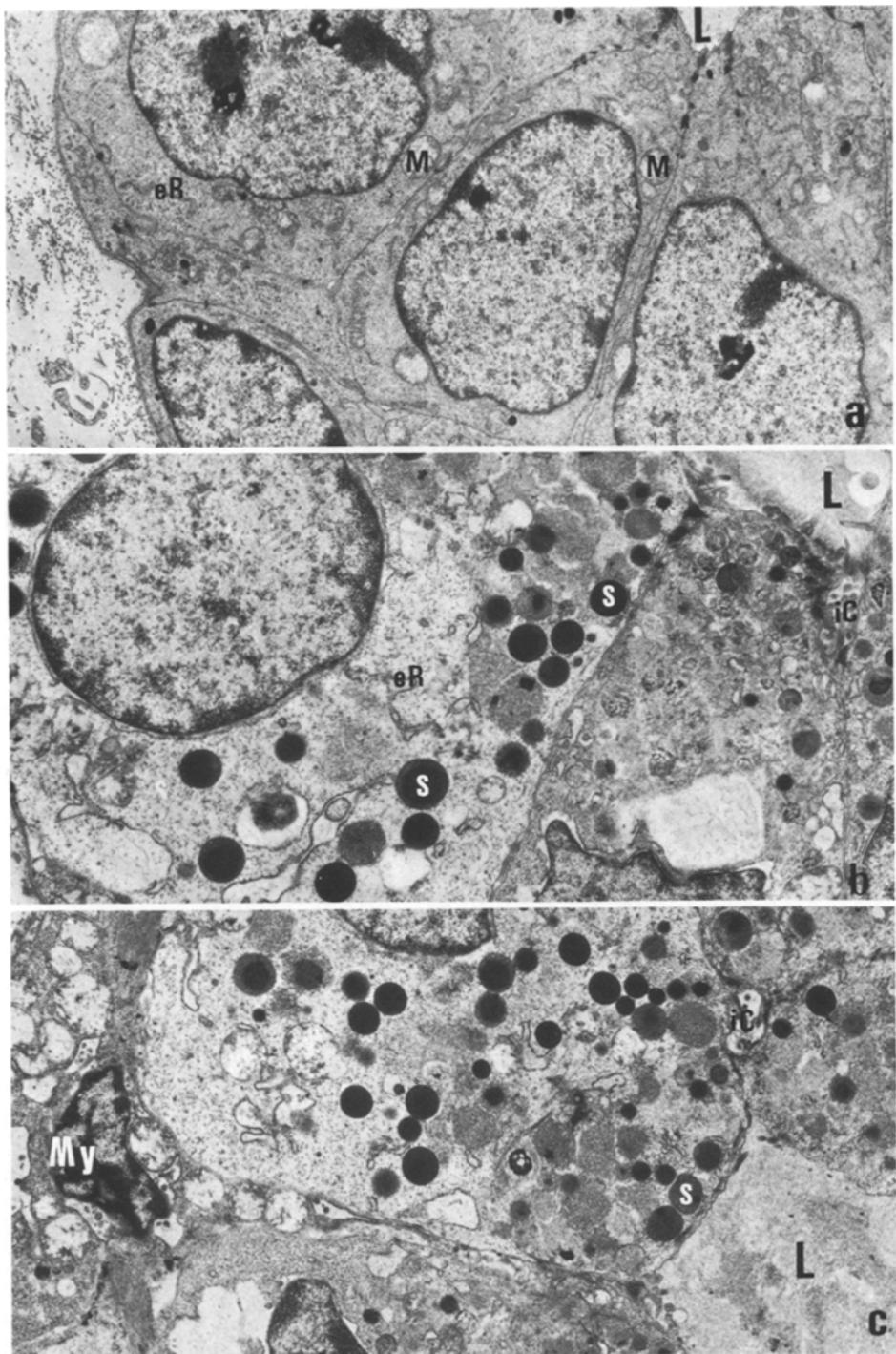
*Streifenstücke* sind bis zur 40. SSW noch nicht differenziert. Die den Schaltstücken vorgelagerten Gangabschnitte bestehen aus hochprismatischen Zellen mit zentral liegenden, radiär orientierten, länglich ovalen Zellkernen. Das gesamte Cytoplasma ist mit Mitochondrien besetzt. Neben zahlreichen Mikrofibrillen findet man nur gelegentlich etwas rauhes endoplasmatisches Retikulum.

Die Zellgrenzmembranen benachbarter Zellen enthalten deutlich Haftzonen und verlaufen geschlängelt (Abb. 5b).

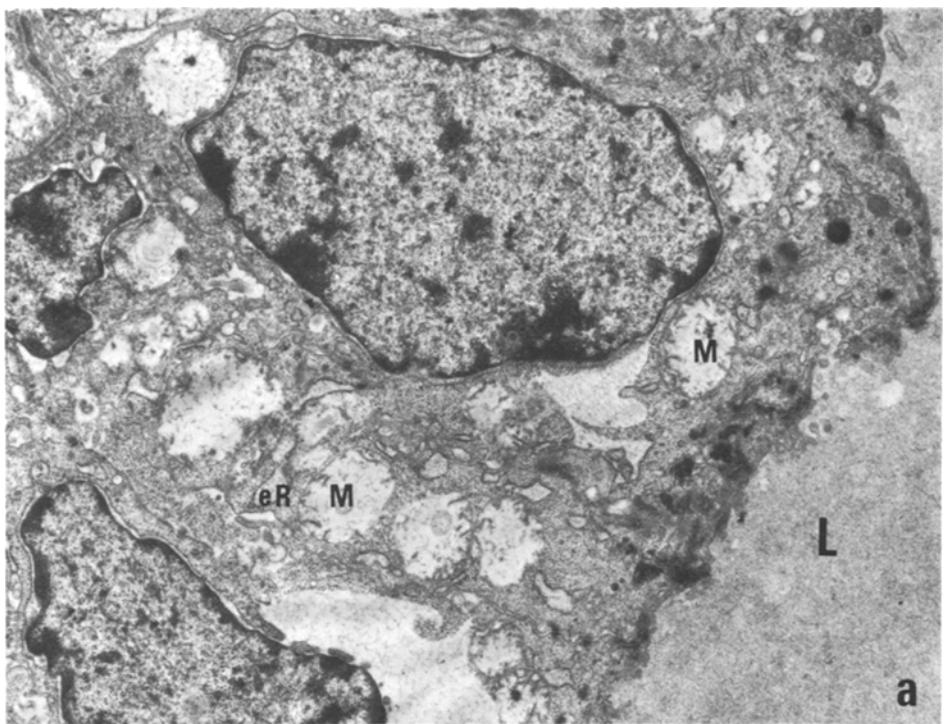
*Myoepithelzellen (Stadium 1 bis 3).* Bereits zum Zeitpunkt der Organentwicklung (1. Stadium) bestehen die indifferenten Gangsprossen aus Epithel- und Myoepithelzellen (Abb. 6). Bis etwa zur 25. SSW haben sie eine kurze dreieckige Form. Das Centrum bildet ein großer, länglich ovaler Zellkern, der parallel



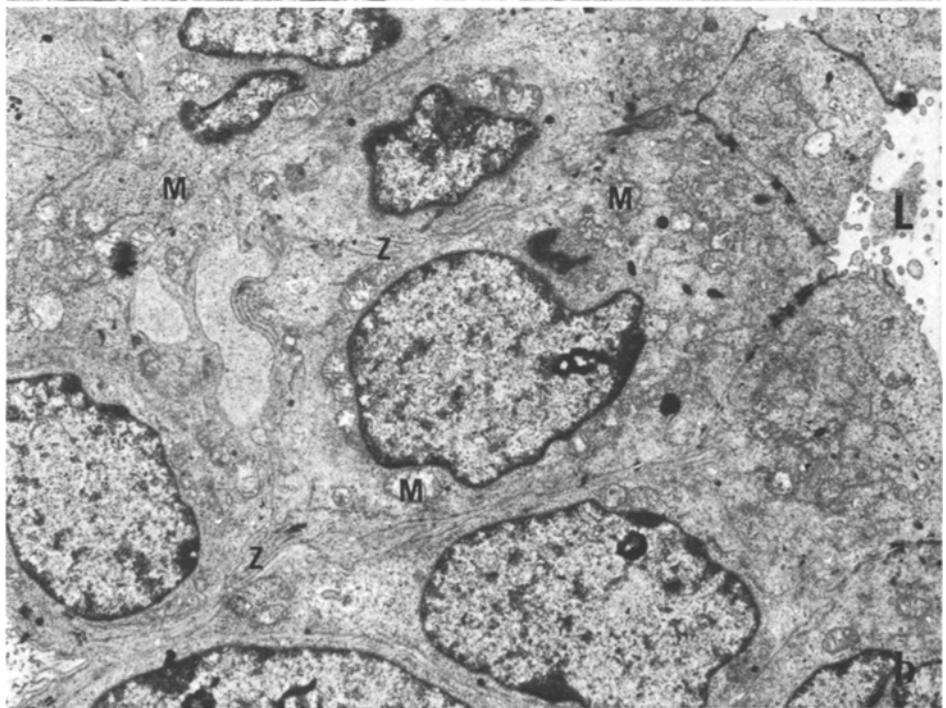
**Abb. 3a und b.** Parotisenentwicklung des Menschen. **a** Praeterminale Gangabschnitte in der 25. SSW. Epithelzellen mit reichlichen Mikrofibrillen, Mitochondrien (*M*) und nur wenig rauhes endoplasmatisches Retikulum (*eR*). Lumen (*L*). Vergr. 8300×. **b** Interlobulärer Gangabschnitt in der 30. SSW. Zentral eine Becherzelle. Sekretgranula mit kristalloider Innenstruktur. Vergr. 7000×



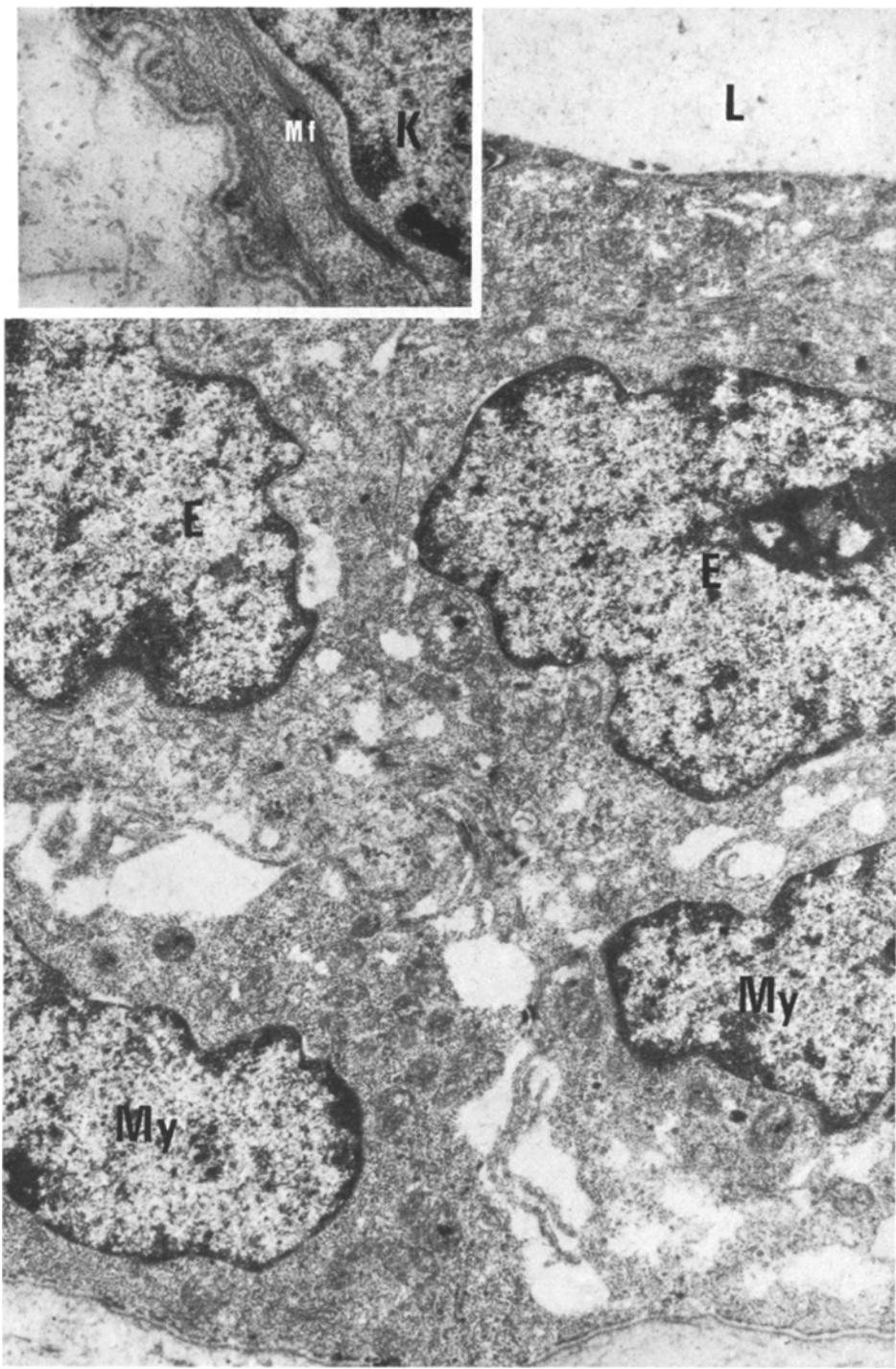
**Abb. 4a–c.** Parotisentwicklung des Menschen. **a** Terminale Endstücke in der 30. SSW. Wenig rauhes endoplasmatisches Retikulum (*eR*), Mitochondrien (*M*), Lichtung (*L*). Vergr. 5200 $\times$ . **b** Acinusbildung in der 35. SSW. Sekretgranula (*S*), rauhes endoplasmatisches Retikulum (*eR*), interzellulärer Canaliculus (*iC*), Lumen (*L*). Vergr. 7500 $\times$ . **c** Aciusanschnitt mit Myoepithelzelle (*My*) und Lichtung (*L*) in der 35. SSW. Sekretgranula (*S*), interzellulärer Canaliculus (*iC*). Vergr. 7500 $\times$ .



a



**Abb. 5a und b.** 3. Stadium der Parotisentwicklung des Menschen. **a** Terminaler Gangabschnitt in der 35. SSW. Lichtung (*L*), Mitochondrien (*M*), rauhes endoplasmatisches Retikulum (*eR*). Vergr. 8700×. **b** Präterminaler Gangabschnitt in der 35. SSW. Zellgrenzmembranen (*Z*), Mitochondrien (*M*), Lumen (*L*). Vergr. 5800×



**Abb. 6.** Ausschnitt einer embryonalen Gangsprosse in der 10. SSW. Lichtung (*L*) umgeben von gering differenzierten Epithelzellen (*E*) und den Myoepithelzellen (*My*). Vergr. 15700 $\times$ . *Inset:* Peripherer Zellausschnitt einer Myoepithelzelle mit Myofilamenten (*Mf*), Kern (*K*). Vergr. 25080 $\times$

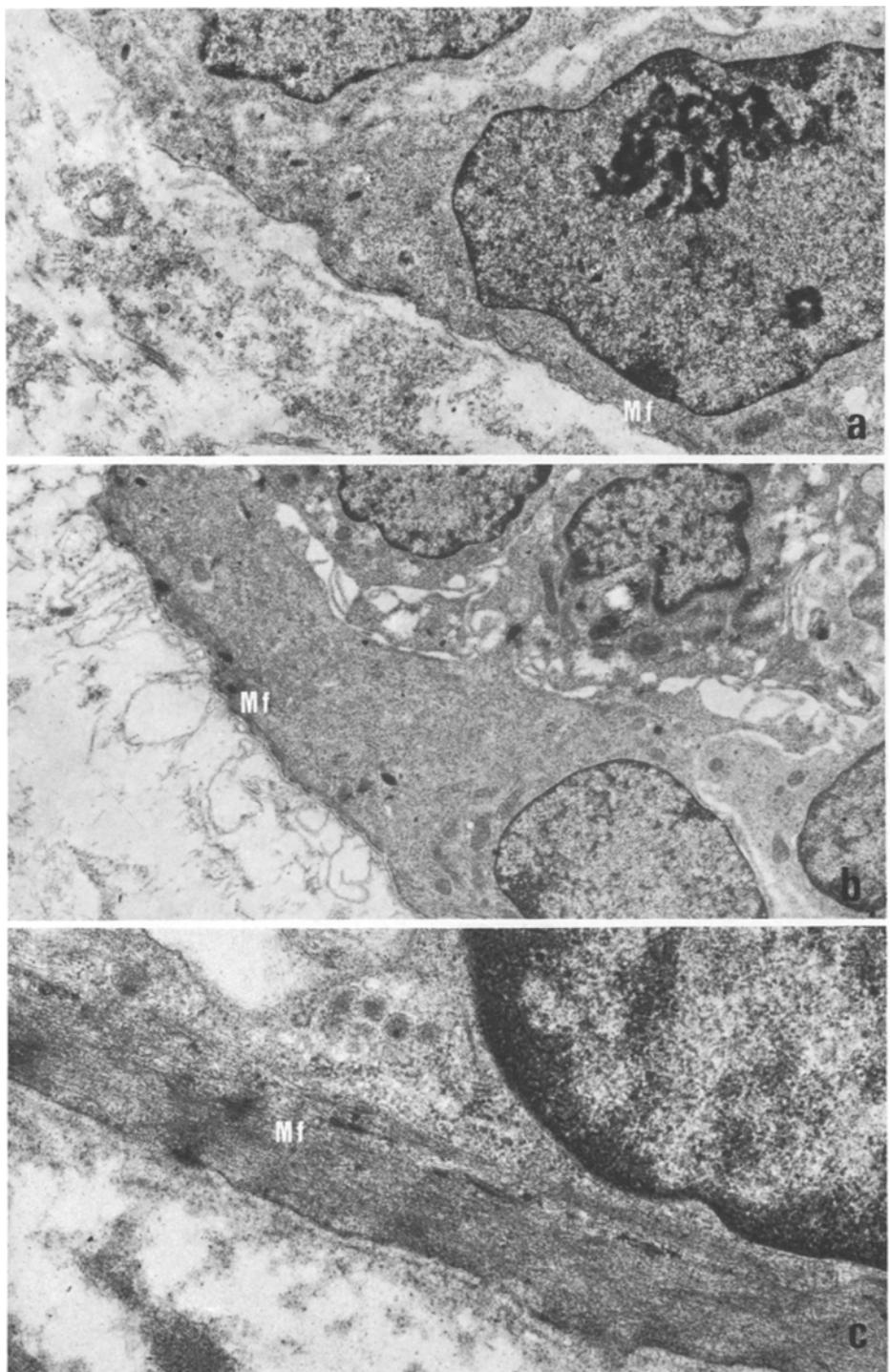


Abb. 7a—c. Myoepithelzellen während der Parotisentwicklung des Menschen. a Myoepithelzelle in der 10. SSW mit wenigen Myofilamenten (*Mf*) im basalen Cytoplasma. Vergr. 10260×. b Myoepithelzelle in der 25. SSW. Myofilamente (*Mf*) im basalen Cytoplasma. Vergr. 7200×. c Basaler Anschnitt einer Myoepithelzelle in der 35. SSW. Basales Cytoplasma dicht mit Myofilamenten (*Mf*) angefüllt. Vergr. 32800×

zur Basalmembran angeordnet ist. Myofilamente mit periodischen Verdichtungen liegen im basalen Cytoplasmaabschnitt (Abb. 7). Im restlichen Cytoplasma lassen sich Polysomen, Mitochondrien und einige osmiophile Granula nachweisen. Hemidesmosomen sind an der basalen Zellmembran ausgebildet. Nach der 25. SSW sieht man nur noch längliche Myoepithelzellen mit schmalen Cytoplasmaausläufern. Sternförmig verzweigte Myoepithellausläufer konnten nicht beobachtet werden. Bis zur 40. SSW kommt es zur Vermehrung der Myofilamente, die teilweise das gesamte Cytoplasma unter Einschluß einzelner Mitochondrien ganz ausfüllen (Abb. 7). Im letzten Stadium der Parotisentwicklung liegen die Myoepithelzellen spärlicher um die Acini, Schaltstücke und angrenzenden Gangabschnitte verteilt, als in den beiden vorangegangenen Stadien.

## Diskussion

Die Entwicklung der Glandula parotis beginnt mit dem Einsenken des Ektoderm in das Mesoderm in der Nähe des Mundwinkels. Etwa in der 7. SSW besteht die Parotisanlage aus einer soliden breiten Epithelleiste, die nach dorsal und lateral bis in die präauriculäre Region wächst (Gasser, 1970). Dabei entwickelt sich die primäre Anlage der Parotis über dem Facialishauptstamm sowie zwischen dem temporo- und cervicofacialen Ast (Rouviere und Cordier, 1934). In der 10. SSW bildet sich die Pars profunda der Parotis (Brünner, 1962). Der N. facialis gliedert die Parotis in eine Pars superficialis und eine Pars profunda. Etwa am Ende der 12. SSW (3. Embryonalmonat) ist der Drüsenkörper in seiner Grundform fertiggestellt (Clara, 1955). In der 10. SSW sieht man kleinere Gruppen dichotom verzweigter Gangsprossen (Brünner, 1962; Seifert, 1966; Gasser, 1970). Die Gangsprossen bestehen einerseits aus organellenarmen Zellen mit ciliartigen Fortsätzen an der Oberfläche (sogenannte Flimmerzellen) und andererseits aus basal liegenden Myoepithelzellen. Es können also bereits in der 10. SSW (1. Stadium) zwei voneinander unabhängige Zellsysteme unterschieden werden.

Die organellenarmen embryonalen Zellen bilden den Ausgangspunkt der weiteren Drüsenbildung. Die sogenannten Flimmerzellen stellen wahrscheinlich „omnipotente“ Zellen dar, die sich im Laufe der Entwicklung in Abhängigkeit von ihrem Standort bzw. ihrer Funktion zu entsprechenden Zellen mit spezifischer Zelleistung transformieren. Die Flimmerzellen sind nicht organspezifisch, sondern werden u.a. auch bei der Entwicklung des Oesophagus beschrieben. Nach Untersuchungen von Kober et al. (1977) ist im Oesophagus die Flimmerzelle keine Primärzelle, sondern soll sich erst aus hochprismatischen Zellen entwickeln. Dieser Befund ließ sich bei den eigenen Untersuchungen an der Parotis nicht bestätigen.

Während des 2. Stadium (bis 34. SSW) der Parotisentwicklung gruppieren sich die einzeln liegenden Gangsprossen in den Läppchen unter zunehmender dichotomer Ramifikation und Kanalisierung zu Funktionseinheiten (Hamilton et al., 1964; Gasser, 1970). Etwa ab 30. SSW sind kleine, mittelgroße und größere Ausführungsgänge entwickelt. Diese Gangformationen setzen sich aus noch unendifferenzierten, pyramidenförmigen bis hochzylindrischen Zellen zusammen. Die

Lichtung des Gangsystems ist erweitert und mit Schleimsubstanzen gefüllt. Die Schleimsubstanzen werden einmal von den Zellen des terminalen Gangsystems, zum anderen von den Becherzellen der größeren Gänge gebildet. Die im 2. Stadium beginnende Sekretionstätigkeit wurde auch bei der Parotisentwicklung der Ratte beschrieben (Redman und Sreebny, 1971).

Die Frage, ob die Schleimsubstanzen durch Resorption oder durch Transport im Gangsystem induktiv auf die Differenzierung der Gangabschnitte wirken, kann aus vorliegenden Untersuchungen nicht beantwortet werden. Ab 35. SSW (3. Stadium) bestehen die Drüsengläppchen aus 3 differenten Gangabschnitten und Acini. Die Differenzierung der Acinuszellen beginnt etwa ab 30. SSW mit der Bildung des rauen endoplasmatischen Retikulums und des Golgi-Apparates. Gleichzeitig verlagert sich der Zellkern vom zentralen in den basalen Cytoplasmaabschnitt (Lawson, 1970; Redman und Sreebny, 1971). Eine kugelförmige Auftriebung der Endstücke durch eine Volumenzunahme der Acini tritt mit der Synthese der Sekretgranula etwa ab der 35. SSW auf. Im Gegensatz hierzu sind die Endstücke der Rattenparotis zum Zeitpunkt der Geburt noch relativ undifferenziert. Nach Redman und Sreebny (1971) tritt die Acinuszelldifferenzierung und erste Proteinsynthese frühestens 24 Std nach der Geburt auf.

Das Ausführungsgangsystem zeigt mit der Acinusbildung eine weitere morphologische Differenzierung. Die den Streifenstücken entsprechenden Gangabschnitte sind besonders mitochondrienreich, lassen jedoch bis zur Geburt die charakteristische basale Streifung vermissen. Vergleichende Untersuchungen zur Differenzierung des Ausführungsgangsystems während der Parotisentwicklung bei Ratten oder anderen Tierspecies liegen nicht vor.

Die Parotisentwicklung des Menschen zeigt in Analogie zu den untersuchten Tierspecies ebenfalls einen stadienhaften Ablauf.

Im 1. Stadium (bis 12. SSW) findet die Organanlage statt. Eine Läppchengliederung liegt noch nicht vor. Die Gangsprossen bestehen aus zwei differenten Zelltypen: embryonalen, cilienträgenden Zellen als Lichtungsbegrenzung und Myoepithelzellen in der Peripherie.

Im 2. Stadium (bis 34. SSW) erfolgt die Läppchengliederung. Aus den Gangsprossen entstehen durch dichotome Ramifikation Funktionseinheiten. Gegen Ende des 2. Stadiums sieht man die ersten Kaliberunterschiede des späteren Ausführungsgangsystems. Myoepithelzellen liegen nur noch in den distalen Gangabschnitten und den Endstücken. In den Zellen der Endstücke tritt eine Verlagerung der Zellkerne von zentral nach peripher ein. Etwa ab 30. SSW entwickelt sich rauhes endoplasmatisches Retikulum und ein supranuklearer Golgi-Apparat.

Die funktionelle Reifung der Drüse erfolgt im 3. Stadium (bis zur Geburt). Es differenzieren sich die Acinuszellen in den kugelförmigen aufgetriebenen Endstücken. Das Ausführungsgangsystem entspricht im Kaliber den späteren Ausführungsgängen. Eine Differenzierung der Streifenstücke tritt pränatal nicht ein. Die Myoepithelzellen sind spärlicher als in den Vorstadien im terminalen Gangsystem und in den Acini nachweisbar.

Die Histogenese der Myoepithelzellen ist bis heute noch unklar (Mylius, 1960; Hamperl, 1970; Line und Archer, 1972). Unsere Untersuchungsergebnisse sprechen für einen ektodermalen Ursprung, da die Myoepithelzellen bereits

zum Zeitpunkt der Organanlage (10. SSW) in den embryonalen Gangsprossen nachweisbar sind. Die Myoepithelzellen bilden neben den cilienträgenden Epithelzellen den wesentlichen Bestandteil der embryonalen Gangsprossen im 1. Stadium der Parotisentwicklung. Im Laufe der weiteren Organdifferenzierung (2. Stadium) treten die Myoepithelzellen immer mehr zurück und sind schließlich im 3. Stadium nur noch locker verteilt im terminalen Gangsystem und in den Acini erhalten.

Die Bildung weiterer Myoepithelzellen in der postnatalen Parotis erfolgt durch die Mitose einer arteigenen Zelle. Auch Acinuszellen können postnatal nur durch eine Mitose von Acinuszellen entstehen (Redman und Sreebny, 1970). "Clear cells" als "precursor cells" der Myoepithelzellen, wie sie von Tandler (1965) bei der Ratte in den Schaltstücken beobachtet wurden, ließen sich im untersuchten Material nicht nachweisen.

Die Determination der embryoanlen Parotisepithelzelle konnte in zahlreichen Gewebekultur-Versuchen bestätigt werden (Lawson, 1972; Cuhna, 1972). Für die Myoepithelzelle stehen derartige Untersuchungen noch aus.

Bei der Klassifikation der menschlichen Speicheldrüsentumoren (Lit.: Thackray und Lucas, 1974; Seifert und Donath, 1976a und b) ergeben sich auf Grund der bisher vorliegenden Befunde Schwierigkeiten bei der cytogenetischen Zuordnung indifferenter Tumorzellen. Dies gilt sowohl für die Unterscheidung von Myoepithelzellen und Gangepithelien in pleomorphen Adenomen als auch für die Subklassifikation indifferenter hellzelliger Verbände in Adenomen und Carcinomen (Lit.: Seifert und Donath, 1978). Die lichtmikroskopische Analyse ermöglicht trotz des Einsatzes zusätzlicher Färbemethoden nur eine begrenzte Aussage. Die ultrastrukturelle Differenzierung der intracytoplasmatischen Zellorganellen gestattet jedoch die Zuordnung lichtmikroskopisch indifferenter Tumorzellen zu bestimmten Zelltypen. Dabei ergibt ein Vergleich der in Tumoren auftretenden Zelldifferenzierung mit den verschiedenen Stadien der Parotisentwicklung, daß starke Ähnlichkeiten mit embryonalen Zelltypen bestehen. Auf der Basis der aus der Embryonalentwicklung gewonnenen Erkenntnisse eröffnen sich daher weitere Möglichkeiten für die cytogenetische Analyse menschlicher Speicheldrüsentumoren und der Ansatz zur Definition bestimmter Tumortypen als „embryonale“ Speicheldrüsentumoren in Analogie zu embryonalen Tumoren anderer Organe.

## Literatur

- Broman, I.: Über Chievitz'Organ und dessen Bedeutung nebst Bemerkungen über die Phylogenie der Glandula parotis. *Ergebn. Anat.* **22**, 602–622 (1916)
- Brünner, H.: Die embryonale Entwicklung der zweischichtigen Form der Glandula parotis. *Anat. Anz.* **111**, 153–164 (1962)
- Catanzaro-Guimaraes, S.A., Alle, N., Lopes, E.S.: A quantitative morphological study of the effect of urethane on the stimulation of the salivary gland growth by isoproterenol in the rat. *Archs. oral Biol.* **17**, 77–82 (1972)
- Chievitz, J.H.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. *Arch. Anat. u. Physiol. Anat. Abt.* **401**–436 (1885)

- Clara, M.: Entwicklungsgeschichte des Menschen. Leipzig: Thieme 1955
- Cody, C.C.: Surgical anatomy of the facial nerve outside the skull. Arch. Otolaryngol. **60**, 291–301 (1954)
- Cuhna, C.C.: Support of normal salivary gland morphogenesis by mesenchyme derived from accessory sexual glands of embryonic mice. Anat. Rec. **173**, 205–212 (1972)
- Dietrich, H.: Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zur Frage der Zelldifferenzierung von Drüsenepithelien und Myoepithelzellen während der Parotisentwicklung des Menschen. Dissertation, Hamburg 1978
- Gasser, R.F.: The early development of the parotid gland around the facial nerve and its branches in man. Anat. Rec. **167**, 63–78 (1970)
- Grégoire, R.: Le nerf facial et la parotide. J. l'Anat. Physiol. (Paris) **48**, 437–447 (1912)
- Hagemann, E., Schmidt, G.: Ratte und Maus. Versuchstiere in der Forschung. Berlin: de Gruyter 1960
- Hall, H.D., Schneyer, C.A.: Physiological activity and regulation of growth of developing parotid. Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.) **131**, 1288–1291 (1969)
- Hamilton, W.J., Mossman, H.W.: Human Embryology (Prenatal development of form and function). Cambridge: Heffer&Sons 1964
- Kober, H.J., Vogel, M., Herbst, R., Multier-Lajous, A.M.: Kombinierte Entwicklungsstörungen in der Placenta und im Verdauungstrakt bei Hyperthyreose der Mutter. Verh. Dtsch. Ges. Path. **61**, 358 (1977)
- Lawson, K.A.: Morphogenesis and functional differentiation of the rat parotid gland in vivo and in vitro. J. Embryol. exp. Morph. **24**, 411–424 (1970)
- Lawson, K.A.: The role of mesenchyme in the morphogenesis and functional differentiation of rat salivary epithelium. J. Embryol. exp. Morph. **27**, 497–513 (1972)
- Line, S.E., Archer, F.L.: The postnatal development of myoepithelial cells in the rat submandibular gland. Virchows Arch. Abt. B Zellpath. **10**, 253–262 (1972)
- McKenzie, J.: The parotid gland in relation to the facial nerve. J. Anat. **82**, 183–186 (1948)
- McWorther, G.I.: The relation of the superficial and deep lobes of the parotid gland to the ducts and to the facial nerve. Anat. Rec. **12**, 149–154 (1917)
- Moral, H.: Über die ersten Entwicklungsstadien der Glandula parotis. Anat. Hefte **47**, 385–491 (1913)
- Pospisilova-Zuzakova, V.: Differentiation of the large salivary glands of the rat. Folia Morph. (Praha) **21**, 404–405 (1973)
- Redman, R.S., Sreebny, L.M.: The prenatal phase of the morphosis of the rat parotid gland. Anat. Rec. **168**, 127–138 (1970a)
- Redman, R.S., Sreebny, L.M.: Proliferative behavior of differentiating cells in the developing rat parotid gland. J. Cell Biol. **46**, 81–87 (1970b)
- Redman, R.S., Sreebny, L.M.: Morphologic and biochemical observations on the development of the rat parotid gland. Rev. Biol. **25**, 248–279 (1971)
- Reichel, P.: Beiträge zur Morphologie der Mundhöhlendrüsen der Wirbeltiere. Morph. Jahrb. **8**, 1–72 (1883)
- Rouvière, H., Cordier, G.: Sur le développement de la glande parotide et les connexions qui existent entre les deux lobes de cette glande. Annal. Anat. Path. (Paris) **11**, 622–624 (1934)
- Schneyer, C.A., Hall, H.D.: Effects of denervation on the development of function and structure of immature rat parotid gland. Amer. J. Physiol. **212**, 871–876 (1967)
- Schneyer, C.A., Hall, H.D.: Time course and autonomic regulation of development of secretory function of rat parotid. Amer. J. Physiol. **214**, 808–813 (1968)
- Schneyer, C.A., Hall, H.D.: Growth pattern of postnatally developing rat parotid gland. Proc. Soc. exp. Biol. Med. **130**, 603–607 (1969)
- Schneyer, C.A., Hall, H.D.: Influence of physiological activity on mitosis in immature rat parotid gland. Proc. Soc. exp. Biol. Med. **133**, 349–352 (1970a)
- Schneyer, C.A., Hall, H.D.: Autonomic regulation of postnatal changes in cell number and size in rat parotid. Amer. J. Physiol. **219**, 1268–1272 (1970b)
- Seifert, G.: Mundhöhle, Mundspeicheldrüsen, Tonsillen und Rachen. In: Spezielle pathologische Anatomie. W. Doerr und E. Uehlinger, Hrsg. Bd. I. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

- Seifert, G., Donath, K.: Die Morphologie der Speichelrüsenerkrankungen. Arch. Oto-Rhino-Laryng. **213**, 111 – 208 (1976a)
- Seifert, G., Donath, K.: Classification of the pathohistology of diseases of the salivary gland.  
– Review of 2.600 cases in the salivary gland register. Beitr. Path. **159**, 1 – 32 (1976b)
- Seifert, G., Donath, K.: Über das Vorkommen sog. Heller Zellen in Speichelrüsentumoren. – Ultrastruktur und Differentialdiagnose. Z. Krebsforsch. (1978) (in Druck)
- Tandler, B.: Ultrastructure of the human submaxillary gland. III. Myoepithelium. Z. Zellforsch. **68**, 852 – 863 (1965)
- Thackray, A.C., Lucas, R.B.: Tumors of the major salivary gland. Atlas of tumor pathology, second series, fascicle 10. Washington: Armed Forces Institut of Pathology 1974

Eingegangen am 15. Februar 1978