

Die Intercellularräume des Epithels und ihre physiologische Bedeutung bei den Pulmonaten.

Von Alfred Nalepa,

Assistenten an der zoologischen Lehrkanzel der k. k. Universität in Wien.

(Mit 1 Tafel.)

Die ersten Nachrichten von Intercellulargängen im Hautepithel der Mollusken verdanken wir Leydig, welcher an lebenden Thieren von *Cyclas cornea* zwischen den Epithelzellen des Fusses Gänge mit wasserhellem Inhalte sah. Da sie mit den Bluträumen des subepithelialen Gewebes in Verbindung stehen und daher offenbar zur Aufnahme des Wassers in das Blut bestimmt sind, nannte er sie „Wassercanäle“. ¹ Später zeigte derselbe Forscher, dass solche das Epithel durchziehende Gänge auch den Landlungenschnecken zukommen und gab auch die Umstände an, unter welchen sie am besten wahrgenommen werden können. ² Diese Angaben suchte von Ihering zu widerlegen, indem er behauptete, dass die Leydig'schen Gänge nichts anderes als durch Faltung entstandene Rinnen seien. ³ Auch Carrière kommt in seiner umfangreichen Arbeit über die Füssdrüse und das Wassergefässsystem der Mollusken auf diese Räume zu sprechen und glaubt auf Grund seiner Untersuchungen annehmen zu müssen, dass Intercellulargänge zwar vorhanden, jedoch zur Aufnahme der Ausführungsgänge von Schleimdrüsen, nicht aber

¹ Leydig. Über *Cyclas cornea*. Müller's Arch. 1855, p. 47.

² Leydig. Die Hautdecke und Schale der Gastropoden etc. Arch. f. Naturgesch. 1876, p. 5.

³ v. Ihering. Über die Hautdrüsen und „Hautporen“ der Gastropoden. Zool. Anzeiger, Jahrg. I. 1878, p. 274.

zur Wasseraufnahme bestimmt seien.¹ — Ich habe in meinen „Beiträgen zur Anatomie der Stylommatophoren“² bei Besprechung der Wasseraufnahme gesagt, dass ich zwar die Mündungen der Intercellularräume zwischen den Epithelzellen sehe, dass ich mich aber insolange gegen einen Zusammenhang derselben mit venösen Blutbahnen ablehnend verhalten müsse, als mich die Ergebnisse von Injectionen nicht das Gegentheil lehren. Auf diesem Standpunkte zu beharren wurde ich noch durch die Resultate anderer wiederholt angestellter Versuche veranlasst, welche zum Zwecke hatten, auf umgekehrtem Wege, das heisst von aussen durch die Intercellulargänge in die Blutbahnen zu gelangen. Wohl fiel mir auf, dass verdünnte Lösungen von Ferrocyankali ungemein rasch nach der Injection vom Herzen in der die Sohle überziehenden Schleimschicht zum Vorschein kommen. Da ich indessen alle Gewebs-theile gleichmässig durchtränkt fand, so nahm ich neben einer Wasseraufnahme per os auch eine solche durch Imbibition der Haut an. Dass den Intercellularräumen dabei eine hervorragende Rolle zufällt, war nicht schwer einzusehen; dass sie aber direct das Wasser in das Blut überführen, davon habe ich mich erst bei meinen jüngsten Untersuchungen überzeugt. Zu diesen wurde ich durch die vor kurzem erschienene Schrift Leydig's³ veranlasst, welche diesen Gegenstand auf Grund erneuerter Untersuchungen abermals zur Sprache bringt, um die Angaben Carrière's und v. Ihering's zu widerlegen. Trotzdem bleibt Carrière bei seinen ersten Angaben. Ausser Sinnes-, Cylinder- und Flimmerzellen gebe es noch folgende Bestandtheile im Molluskenepithel: „Drüsenzellen mit körnigem Inhalt und Ausführungsgänge ähnlicher unter dem Epithel gelegener Drüsen, so wie Schleimzellen (weniger treffend auch Becherzellen genannt) und Ausführungsgänge von unter dem Epithel befindlichen Schleimdrüsen, beide letztere mit wasserhellem Inhalt und ganz mit Leydig's Beschreibung der Intercellulargänge übereinstimmend“.⁴

¹ Carrière. Die Fussdrüse der Prosobranchier und das Wassergefässsystem der Lamellibranchier und Gastropoden. Arch. f. mikr. Anat. 1882, Bd. XXI, p. 438.

² Sitzber. d. k. Akad. d. Wissensch. in Wien 1883, Bd. LXXXVII, p. 275.

³ Leydig. Unters. zur Anat. u. Histol. d. Thiere, Bonn 1883.

⁴ Carrière. Berichtigung. Zool. Anz. 1883, Nr. 149, p. 507.

Aus dieser Darstellung ergibt sich aber weiters, dass, wenn Intercellulargänge als solche nicht existiren, auch von einer Wasseraufnahme im Sinne Leydig's nicht gesprochen werden kann.

Im Folgenden werde ich es versuchen, die Resultate erneuerter Untersuchungen über diesen Gegenstand in Kürze anzuführen; ich muss jedoch ausdrücklich bemerken, dass das hier Gesagte sich vorläufig nur auf einheimische Landlungenschnecken bezieht. Ich habe leider unterlassen, während meines letzten Aufenthaltes an der Adria auf diesen Gegenstand speciell mein Augenmerk zu lenken.

Die Untersuchung des frischen Hautepithels — es eignet sich hiezu am besten das Epithel an den Sohlenrändern von kleinen Heliciden — lehrt, dass es aus unregelmässig vielseitigen, cylindrischen Zellen besteht, deren Höhe nicht allein an den verschiedenen Körperstellen, sondern auch an einer und derselben Stelle je nach dem Contractionszustande der subepithelialen Muskulatur bedeutend variiert. Wie bedeutend die Contractilität der Epithelzellen ist, lässt sich leicht an dünnen Hautlappen erkennen, die mit der Flachscheere von der Sohle eines lebenden Thieres abgetragen und im Schneckenblut untersucht werden. Es darf uns daher nicht wundern, bei Anwendung verschiedener Härtungsmittel bedeutende Abweichungen in der Zellhöhe an gleichen Körperstellen zu finden. Die niedrigsten Cylinderzellen bekleiden die unter der Schale gelegenen Mantelpartien und den Mantelsaum. Eine Mittelstellung nimmt etwa das Epithel der übrigen Körperoberfläche ein, während das der Mundlappen und der Sohle wohl die längsten Zellen aufweist. Überall ist es von einer zarten Cuticula bedeckt, die sich bei Anwendung von Reagentien, oft schon unter dem Einfluss von reinem Wasser blasig abhebt; zur mächtigeren Entwicklung gelangt sie dagegen im Umkreis der Mundöffnung. Der Zellinhalt ist bei den hier untersuchten Arten (*Helix pomatia*, *hortensis*, *fructicum*) theils wasserklar, theils durch Ablagerung von körnigem Pigment gelblich gefärbt. Betrachtet man das frische Epithel von oben mit starken Systemen, so gewahrt man bald, dass die einzelnen Zellen nicht enge aneinander stossen, sondern zwischen sich einen schmalen Raum freilassen, der sich an einzelnen Stellen mehrfach

erweitern kann und auf diese Weise zur Entstehung der sogenannten „Hautporen“ Veranlassung gibt. Sie können nicht allein dort auftreten, wo mehrere Zellen mit ihren Ecken, sondern auch dort, wo zwei Zellen mit ihren Breitseiten zusammentreffen. Im ersteren Falle nehmen sie eine mehr rundliche Umgrenzung an und können dann insbesondere mit schwächeren Linsen leicht für Mündungen kleiner Schleimdrüsen gehalten werden; im letztern Falle hingegen strecken sie sich meist mehr in die Länge und werden unregelmässig (Fig. 1).

Die Räume zwischen den einzelnen Zellen durchziehen zarte Substanzbrücken, welche die Zellen miteinander verbinden. Besonders deutlich kommen diese zur Ansicht, wenn man frische Präparate der Einwirkung einer $\frac{1}{2}\%$ Lösung von Goldchlorid durch kurze Zeit ansetzt. Sie erwiesen sich dann als kurze stärkere oder feinere Stränge, die durch den Druck des Deckgläschens leicht reissen. Leydig hat diese Verbindungsart von Zellen untereinander in jüngster Zeit an den Epithelien verschiedener Organe der Insecten beschrieben.¹

Zwischen den Epithelzellen gewahrt man endlich auch die runden, scharf umschriebenen Öffnungen der Schleim- und Kalkdrüsen. Nicht uninteressant ist das Verhalten derjenigen Zellen, welche die Ausführungsgänge umgrenzen. Ähnlich, wie die Mündungen intercellularer Räume kann auch die Lage der Drüsenöffnungen eine verschiedene sein. Liegt die Mündung einer Drüse nur zwischen zwei Zellen, so kann es vorkommen, dass der Raum für den Ausführungsgang auf Kosten nur einer der beiden Zellen geschaffen wird, und diese Zelle gleicht dann, von oben gesehen, einem schmalen unvollständigen Ring. Oft sieht man jedoch die Öffnung ganz in der Mitte des Zelldaches liegen. In solchen Fällen hat man es wohl immer mit kleinen Becherzellen zu thun. Liegen jedoch die Ausführungsgänge zweier oder dreier Drüsen knapp nebeneinander, dann wird die Form der benachbarten Zellen am meisten verändert. Die hier erwähnten Schleimdrüsen und sogenannten Kalkdrüsen haben jedenfalls mit den von Carrière erwähnten Schleimdrüsen mit wasserhellem Inhalt nichts zu thun. Es erübrigt daher noch zu untersuchen, ob die

¹ Leydig. *Unters. zur Anat. u. Histol. d. Thiere* p. 79, §. 42.

oben erwähnten feinen Poren, welche als Mündungen von Inter-cellularräumen beschrieben wurden, nicht vielleicht die Mündungen dieser Schleimdrüsen seien.

Bevor ich zur Erörterung dieser Frage schreite, sei mir gestattet, früher einiges über die in Anwendung gekommenen Untersuchungsmethoden mitzutheilen. Es dürfte dies um so erwünschter sein, als gerade diese bei der Lösung der hier gestellten Fragen und bei der Beurtheilung der Resultate von grossem Belange sind. Ich habe schon in meiner oben erwähnten Arbeit einige Versuche angeführt, um einen Zusammenhang der Poren-canäle mit Bluträumen direct nachzuweisen; sie hatten aber ein negatives Ergebniss. Zwei dieser Versuche, nämlich das Einlegen der Thiere in Wasser, in welchem Farbstoffe fein vertheilt sind, sowie die Imprägnation unter der Luftpumpe erscheinen zwar theoretisch vielversprechend, lassen sich aber praktisch gar nicht durchführen; denn um Canäle in ihrer Totalität zu füllen, sind compacte Farbmassen nöthig, diese haben aber wieder beim Eindringen in so feine Räume einen bedeutenden Widerstand zu überwinden. Gelingt es aber dennoch hier und da zwischen den Epithelzellen kleine Farbstoffmassen nachzuweisen, so ist es doch noch immer nicht erwiesen, dass sie durch die Mündungen der Intercellularräume dorthin gelangt sind. Wie leicht können sie nicht nachträglich beim Schneiden von aussen gleichsam hineingestrichen worden sein! Tingirende Farbstoffe, etwa Anilinfarben, sind von derartigen Versuchen ganz auszuschliessen. Gegen eine Anwendung derselben habe ich mich schon früher ausgesprochen und auch Flemming hat sich in jüngster Zeit bei Besprechung ähnlicher Versuche, welche Griesbach zum Nachweise der Pori aquiferi bei Najaden und Mytiliden anstellte, in gleicher Weise geäussert.¹ Auch die Untersuchung entsprechend gefärbter Schnittpräparate, die besonders von Carrière gefärbt wurde, ist unzureichend; am wenigstens darf man aber von ihr einen Aufschluss über das Verhältniss der Blutbahnen zu den Intercellulargängen erwarten. Auf den angegebenen Wegen ist also nichts,

¹ Flemming. Bemerkungen hinsichtlich der Blutbahnen und der Bindesubstanz bei Najaden und Mytiliden. Zeitsch. f. wiss. Zool. 1883, Bd. XXXIX, p. 143.

wenigstens nichts Positives zu erreichen. Es liegt auf der Hand, dass allein nur durch entsprechend ausgeführte Injectionen für die Lösung der hier in Rede stehenden Fragen entscheidende Resultate zu gewärtigen sind. Gelingt es dann noch überdies auf dem umgekehrten Wege, das heisst durch die Intercellularräume von aussen her die benachbarten Gefässbezirke zu füllen, dann kann wohl über einen factischen Zusammenhang beider kein Zweifel mehr walten.

Das Verfahren, welches zur Darstellung der Porencanäle durch Füllung von aussen her in Anwendung kam, bestand in der Fettimprägation von Dr. Altmann. Kleine frische Organtheile werden in ein Gemisch von 100 Cm³ Ricinusöl und 50 Cm³ absolutem Alkohol gelegt und 3 bis 8 Tage darin aufbewahrt. Nach dieser Zeit haben sie ein beinartiges durchsichtiges Aussehen angenommen; man muss sich jedoch hüten, zu grosse oder viele kleine Gewebstückchen in ein gemeinschaftliches Gefäss mit geringem Fassungsraum zu bringen, weil diese Mischung nur sehr wenig Wasser aus dem Gewebe aufzunehmen vermag. Die so durchtränkten Gewebstückchen werden hierauf in reines Wasser gelegt, damit sich das Öl in den feinen Gängen und Canälen ausscheide. Die sich auf der Oberfläche der Präparate ansammelnden Fetttropfen werden durch vorsichtiges Schütteln entfernt. Die so behandelten Präparate werden sodann in circa 1% Überosmiumsäure gelegt, in welcher sie 1 bis 24 Stunden verbleiben, und hierauf in Schnitte zerlegt und in Glycerin untersucht. An gelungenen Präparaten sind nicht allein die Intercellularräume, sondern auch die mit denselben in Verbindung stehenden Blutbahnen mit der geschwärzten Fettmasse gefüllt (Fig. 3). In den Schleim- und Becherzellen finden sich hingegen nur vereinzelte grosse Fetttropfen. Wenn schon die Zahl und Ausdehnung der auf diese Weise gefüllten Canäle gegen den Einwurf dass dennoch die Ausführungsgänge von Schleimdrüsen gefüllt worden sein könnten, sprechen, so wird dies noch durch die Ergebnisse sorgfältig ausgeführter Injectionen wesentlich bekräftigt.

Ich habe zwar schon früher zu dem gleichen Zweck Injectionen vorgenommen, konnte jedoch niemals zu einem entscheidenden Resultat gelangen. Gerade dieser Umstand bewog mich damals, wie schon erwähnt, einen Zusammenhang von Poren-

canälen und Gefässsystem bei den Pulmonaten als noch nicht erwiesen zu bezeichnen. Wohl habe ich, wenn mit löslichem Berlinerblau injicirt wurde, nicht selten zwischen den Epithelzellen besonders der Mundlappen Farbmassen gefunden, allein jedermann, der mit der Injectionstechnik einigermaßen vertraut ist, weiss, dass alle feinkörnigen, in Wasser suspendirten Farbstoffe, besonders das Berlinerblau, durch Entziehung des Wassers im Alkohol krümelig werden und beim Schneiden leicht aus den grossen Bluträumen herausfallen. Solche herausgefallene Farbstoffpartikelchen ohne Zusammenhang mit benachbarten Blutbahnen konnten auch diese in den Zellinterstitien beobachteten Farbmassen sein und mussten aus diesem Grunde unberücksichtigt gelassen werden. Für die vorliegenden Untersuchungen können sonach nur erstarrte Injectionsmassen einen Werth haben; diese haben aber wieder den Nachtheil, weniger flüssig zu sein und in sehr feinen Canälen einen bedeutenderen Widerstand zu erfahren. Ich verwendete eine dünnflüssige, filtrirte Glycerin-Leimlösung, welcher ich carminsaures Ammon beimgte. Diesem Gemisch setzte ich dann im heissen Zustande unter beständigem Umrühren soviel einer mit Essigsäure angesäuerten Leimlösung zu, bis aller Carnin in fein vertheiltem Zustande herausgefallen war. Ich injicirte hauptsächlich Weinbergschnecken. Das Herz wurde quer durchgeschnitten, und das Thier einige Zeit unter einem Glassturz über Wasser oder auf feuchtes Fliesspapier gelegt, um das Eintrocknen der Hautoberfläche zu verhüten. Durch sanftes Streichen des Fusses wurde noch eine bedeutende Menge Blut aus dem Körper entfernt. Die Thiere wurden hierauf in lauwarmes Wasser gelegt; dadurch erschlaffte die Muskulatur sichtlich und wurde energischen Contractionen, welche beim Injiciren so störend sind und ein gleichmässiges Füllen der Blutbahnen unmöglich machen, vorgebeugt. Wie selten es trotz alledem gelingt, die Gefässe aller Organe an einem Thiere auf einmal zu injiciren, weiss jeder, der sich mit der Injection von Weichthieren beschäftigt hat. Ist der Fuss des Thieres gleichmässig injicirt, dann kann man immer sicher sein, dass auch die Farbmasse an einzelnen Partien in die Intercellularräume eingedrungen ist. Auf Schnitten erhält man Bilder, wie solches in Fig. 4 festgehalten ist.

Die hart unter der Epithelschicht gelegenen Bluträume gehen in die Intercellularräume über, ohne dass zwischen beiden eine Grenze angegeben werden könnte. Sind beide stark gefüllt und untersucht man dickere Schnitte, so erscheinen die Epithelzellen bis zum oberen Drittel ihrer Höhe von der Injectionsmasse verdeckt. An feineren Schnitten bemerkt man jedoch, dass nur der Fussheil der Zellen ringsum von derselben umspült wird und dass weiter nach oben und aussen die Injectionsmasse auf die zahlreichen zwischen den Zellen gelegenen Canäle, den „Porencanälen“, beschränkt ist. Betrachtet man das Epithel von oben (Fig. 2), so erscheinen demgemäss die injicirten Intercellularräume als ein unregelmässiges Netzwerk, in dessen Maschenräumen sich die Epithelzellen befinden und dessen Knoten die Porencanäle repräsentiren. Man kann sich leicht eine richtige Vorstellung von der Ausdehnung der Intercellularräume machen, wenn man auf die sich nach unten verjüngende, einer umgekehrten Pyramide nicht unähnliche Gestalt der einzelnen Zellen Rücksicht nimmt.

Die Porencanäle verengen sich nach aussen zu bedeutend. Aus diesem Grunde dringt die Injectionsmasse selten über das obere Drittel der Zellhöhe, und man muss viele Schnitte durchmustern, bis man auf einen trifft, wo sie bis nach aussen gedrungen ist. Treten dennoch Leimmassen und körnige Farbstoffe während des Einspritzens an einzelnen Körperstellen in grösserer Menge hervor, dann gewahrt man, dass entweder das Epithel auf grösseren Flächen abgehoben wurde oder, was häufiger ist, dass ein oder mehrere Zellen von der sich gleichsam keilförmig zwischen sie einschließenden Injectionsmasse aus dem Verbande mit den Nachbarzellen losgetrennt und herausgehoben wurden. Wie leicht hingegen verdünnte Salzlösungen und reines Wasser beim Einspritzen in die Blutbahnen durch diese Räume nach aussen gelangen, habe ich durch mehrfache Versuche dargethan.

Aus dem Gesagten geht wohl deutlich hervor, dass die zwischen den Epithelzellen gelegenen Räume thatsächlich Intercellularräume sind, die einerseits mit Bluträumen, anderseits mit dem umgebenden Medium in Verbindung stehen. Die Ergebnisse der hier in Anwendung gebrachten Untersuchungsmethoden schliessen jede andere Deutung aus. Leydig hat an verschiedenen Orten gezeigt, dass die Hautporen bei Fischen und Amphibien mit den

Lymphbahnen der Cutis in Verbindung stehen. Wenn man nun bedenkt, dass bei den Mollusken eine Sonderung zwischen Blut- und Lymphgefäßen noch nicht vorhanden ist, dass vielmehr das Gefäßsystem dieser Thiere als ein hämolymphtisches System anzusehen ist, so darf es uns nicht wundern, hier ähnlichen Verhältnissen zu begegnen. Es kann wol keinem Zweifel unterliegen, dass auch bei den Landlungenschnecken Wasser durch die Intercellularräume des Hautepithels aufgenommen wird. Nicht allein dass Schnecken bald ein pralles, durchscheinendes Aussehen annehmen, wenn man sie auf durchnässte Tuchlappen legt, auch Ferrocyankali in verdünnten Lösungen wird durch die Haut unverändert aufgenommen und lässt sich sehr bald im Blute nachweisen. Leydig bemerkt hier mit Recht, dass kein Grund vorliegt, an eine „moleculare Durchtränkung“ zu denken, wenn Gangbildungen vorhanden sind, welche zum Durchlass von Flüssigkeiten so geeignet erscheinen.¹ Wir hätten demnach bei unseren Landpulmonaten eine zweifache Wasseraufnahme zu verzeichnen: per os und durch Imbibition der Haut. Mir scheint es aber sehr wahrscheinlich zu sein, dass den Intercellularräumen im Epithel anderer Organe auch eine andere physiologische Function zufalle. Man denke z. B. an die Intercellularräume im Mantel-epithel. Hier scheinen sie in gewisser Beziehung zum Dickenwachsthum der Schale zu stehen, indem leicht denkbar ist, dass durch sie die Ausscheidungsproducte unter dem Epithel gelegener Zellen nach aussen gelangen und so mit dem Epithel an dem Aufbau der Schale theilnehmen könnten. erinnert man sich weiter daran, dass beim Einspritzen von Wasser in die Leibeshöhle eines lebenden Thieres bedeutende Mengen einer wässerigen Flüssigkeit aus dem Ureter abfließen, ähnlich wie dies unter normalen Verhältnissen beim Reizen der Thiere zu geschehen pflegt, so liegt es nahe, auch hiefür den Durchgang durch Intercellularräume anzunehmen, wobei natürlich die excretorische Thätigkeit des Epithels nicht unberücksichtigt bleiben darf. Eine derartige Filtration durch Zellinterstitien würde auch das Vorkommen von Blutkörperchen in der ausgeschiedenen Flüssigkeit ohne Annahme von Gefäßrupturen verständlich machen.

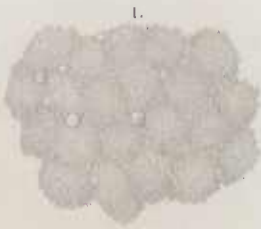
¹ Leydig. *Unters. zur Anat. u. Histol. d. Thiere*, p. 147.

Nalepa: Die Interzellularräume des Epithels etc.

Taf. I



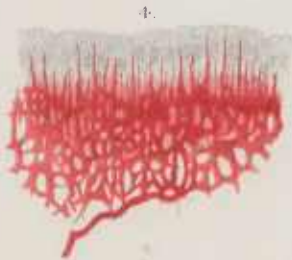
3.



1.



2.



4.

Erklärung der Abbildungen.

-
- Fig. 1. Epithel am Sohlenrande einer *Helix hortensis* nach kurzer (15—20 Min.) Einwirkung einer $\frac{1}{2}\%$ Goldchloridlösung. Die Mündungen von Schleimdrüsen und Porencanälen. Imm. 12. Oc. I. Reichert.
- Fig. 2. Epithel der Sohle von *Helix Pomatia* mit injicirten Intercellularräumen. Obj. 9, Oc. III.
- Fig. 3. Querschnitt durch den Sohlenrand einer *Helix hortensis*. Intercellularräume nach Imprägnation mit Öl und nachheriger Behandlung mit Übersmiumsäure. Obj. 9, Oc. I.
- Fig. 4. Querschnitt durch den Fuss einer *Helix Pomatia*. Intercellularräume des Epithels von den Blutgefässen aus injicirt. Obj. 9, Oc. III.