

## Flimmerbewegung in den intrapulmonalen Luftwegen der Ratte\*

J. IRAVANI

Medizinische Abteilung des Silikose-Forschungsinstitutes  
der Bergbau-Berufsgenossenschaft Bochum

Eingegangen am 26. Juli 1967

*Summary.* An in vitro method is presented to study the ciliary activity in the intrapulmonary airways preserved in their natural anatomical continuity. By removing the pleura and the overlying lung tissue the bronchial tree from the level of terminal bronchioles to that of lobe bronchus is exposed. In this preparation the ciliary movement can be observed through the bronchial wall from the side of basement membrane by means of incident light microscopy. We found that the ciliary beat was irregular and the pluricellular metachronism was confined to bands which were several cells wide and of various length (apprx.  $300\ \mu$ —2 mm). The direction of ciliary beat was approximately parallel to the axis of the bronchus except at the branchings where it became increasingly oblique (cf. Fig. 5, text). The frequency of the ciliary beat increased continuously from peripheral airways to the main bronchus and there, from distal to proximal. In the terminal bronchioles no beat was seen in the last apprx.  $50\ \mu$ . After exposure of cilia to fluids with various viscosity, the rate of beat always increased. Considering the decrease of the whole area of mucosa from the level of terminal bronchioles to trachea, these findings may suggest that the rate of ciliary beat is determined by the volume of mucus to be eliminated. The frequency of the ciliary beat increased with increasing temperature. The  $Q_{10}$  varies with the temperature range; it is about 4 between  $15^\circ$  and  $25^\circ\text{C}$  and about 3 between  $25^\circ$  and  $35^\circ\text{C}$ .

*Zusammenfassung.* Eine Methode zur direkten Untersuchung der Flimmeraktivität in den intrapulmonalen Luftwegen wurde entwickelt. Durch Entfernung des darauffliegenden Lungengewebes wird der Luftweg in seiner Gesamtheit (von dem Bronchiolus terminalis bis zum Stammbronchus) freipräpariert. Durch die intakte Wand kann die Flimmerbewegung auflichtmikroskopisch beobachtet werden. Der Rhythmus der Flimmerbewegung ist unregelmäßig (Arrhythmie), und der pluricelluläre Metachronismus ist auf schmale Streifen begrenzt (begrenzte pluricelluläre Koordination). Die Richtung des Flimmerschlages ist in den gerade verlaufenden Luftwegen fast longitudinal, an den Verzweigungsstellen wird sie zunehmend schräger. Die Frequenz der Flimmerbewegung nimmt von der Peripherie zum Stammbronchus hin, und dort von distal nach proximal zu. In den distalen Abschnitten der terminalen Bronchiolen wurde keine Flimmerbewegung beobachtet. Die Flimmerfrequenz nimmt mit der Temperatur zu. Der  $Q_{10}$ -Wert ist von dem Temperaturbereich abhängig und beträgt zwischen  $15^\circ$  und  $25^\circ\text{C}$  etwa 4 und zwischen  $25^\circ$  und  $35^\circ\text{C}$  etwa 3.

---

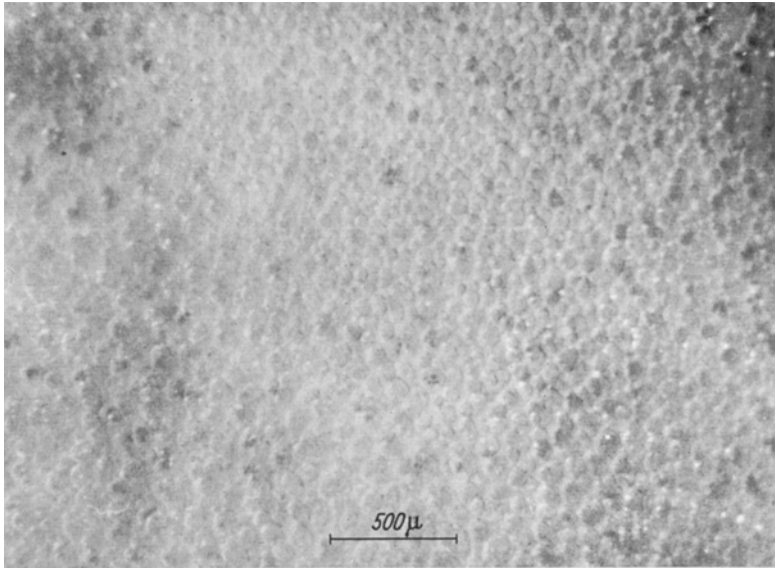
\* Mit Unterstützung des Vereins zur Untersuchung von Einwirkungen der Luftverschmutzung auf die Volksgesundheit e.V., Bochum.

Über die Flimmeraktivität in dem oberen Abschnitt des Respirationstraktes liegen umfangreiche Informationen vor (Übersicht bei ANTWEILER, 1956; DALHAMN, 1956; FRIEBEL, 1963; GORDONOFF, 1938). In der Trachea wurden — hauptsächlich mittels eines von DALHAMN (1955) eingeführten Verfahrens — gleichzeitig die Flimmertätigkeit und der Schleimtransport unter verschiedenen Versuchsbedingungen in vivo untersucht (ANTWEILER, 1956; DALHAMN, 1955, 1956, 1959, 1960, 1961; DALHAMN u. RYLANDER, 1964). Mit der Flimmeraktivität in dem Nasenrachenraum unter normalen und krankhaften Bedingungen befaßten sich besonders HILDING (1932, 1956a), PROETZ (1933, 1934b), TREMBLE (1947) und YATES (1924). Dabei wurde festgestellt, daß die Flimmeraktivität, auch unter normalen Umständen, im Nasenrachenraum nicht überall einheitlich ist und daß der Schleimfluß besondere Vorzugsrichtungen aufweist. HILDING (1957, 1965) machte durch seine Untersuchungen über die ciliäre Strömung in den peripheren Luftwegen und aufgrund theoretischer Überlegungen auf die besondere Problematik der Flimmeraktivität im Bronchialbaum aufmerksam. Die Analyse der Flimmeraktivität in den intrapulmonalen Luftwegen ist u. a. wegen ihrer zentralen Stellung bei der sogenannten Lungenreinigung von besonderer praktischer Bedeutung. HILDING verwendete in seinen Experimenten aufgeschnittene Fragmente des peripheren Luftweges und beurteilte dabei hauptsächlich den mittels Tuschelösung sichtbar gemachten Schleimfluß; die eigentliche Flimmerbewegung wurde nur in einzelnen Fällen direkt beobachtet. So blieben Fragen hinsichtlich des Modus und der Form der Cilienbewegung weitgehend ungeklärt. Auch Probleme, die nur an dem intakten, zusammenhängenden Bronchialbaum untersucht werden können — wie die Beziehung zwischen Flimmeraktivität und Lokalisation im Bronchialbaum — konnten bislang aus methodischen Gründen nicht angegangen werden. Erst nach der Entwicklung des Lungenwegpräparates sind wir in der Lage, die Flimmertätigkeit des in seiner Integrität voll erhaltenen Bronchialbaumes direkt und detailliert zu untersuchen. Vorläufige Mitteilungen über die daran gewonnenen Ergebnisse sind bereits erfolgt (IRAVANI, 1967; IRAVANI u. STEINHAUSEN, 1967).

In dieser Arbeit werden wir zunächst die Technik der Präparation und der Untersuchung dieses Präparates beschreiben. Anschließend wird über die Ergebnisse der Flimmeruntersuchung berichtet.

### Material und Methode

*Technik der Präparation und der Untersuchung eines isolierten Lungenwegpräparates.* Präparate wurden aus Lungen von Katzen, Meerschweinchen und Ratten angefertigt. Die Präparation ist bei diesen Tieren sehr ähnlich und das Verfahren läßt sich sicher auch für andere Säugetiere anwenden. Im folgenden wird das Vorgehen bei der Ratte ausführlich beschrieben.



a



b

Abb. 1 a und b. Auflichtmikroskopische Beobachtung des Herzlappens (Lob. infer. med. dext.) einer Ratte vor (a) und nach der Präparation (b). Das Lungenwegpräparat (b) wurde durch Entfernung des den Luftweg abdeckenden Lungengewebes angefertigt. Der distale Abschnitt des Lappenbronchus, mehrere Seitenäste und einige Bronchioli terminales sind dargestellt. Die Wand der dargestellten Lungenwege ist intakt

Nach einem leichten Nackenschlag wird die Trachea sofort abgeklemmt, der Thorax geöffnet und der Herzlappen (Lobus inferior medialis dexter) isoliert, nachdem er über einen in dem Lappenbronchus kurz eingebundenen PVC-Schlauch auf etwa das Inspirationsvolumen aufgeblasen wurde. Nun wird der Lungenlappen in einem Durchflußbad mit Krebs-Lösung bei 2°C auf Paraffin mit Nadeln fixiert,

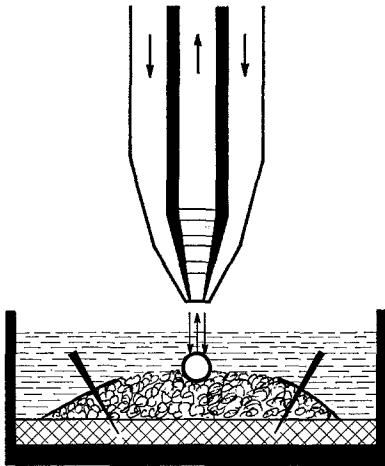


Abb. 2



Abb. 3

Abb. 2. Schema der Versuchsanordnung. Querschnitt durch das Präparat an der Beobachtungsstelle. Die Flimmerzellen der dem Auflichtmikroskop zugekehrten Wandseite werden durch die intakte Wand beobachtet

Abb. 3. Auflichtmikroskopische Beobachtung von Flimmerzellen von ihrer der Submucosa zugekehrten Seite. Die Cilienbewegung ist durch Erniedrigung der Temperatur der Außenlösung zum Stillstand gebracht worden

über die Lungenvene blutleer perfundiert und anschließend unter dem Stereomikroskop bei 22–50facher Vergrößerung folgendermaßen präpariert: Ausgehend von dem proximalen Stumpf des Lappenbronchus wird der Luftweg zur Peripherie hin verfolgt, ohne die Wand zu verletzen. Mit besonders feinen Instrumenten der ophthalmologischen Operationstechnik und selbst angefertigten Glasnadeln werden die Pleura und das Lungengewebe, das die dem Mikroskop zugekehrte Wandseite des Luftweges bedeckt, vorsichtig entfernt. Es können in etwa 1 Std der Lappenbronchus, mehrere Seitenzweige und einige Bronchioli terminales bzw. Ductus alveolares dargestellt werden. Abb. 1 gibt einen unter dem Stereomikroskop bei Lupenvergrößerung aufgenommenen Ausschnitt aus dem Herzlappen der Ratte vor (Abb. 1a) und nach der Präparation (Abb. 1b) wieder. In dem fertigen Präparat (Abb. 1b) überblickt man alle wesentlichen Teile des intrapulmonalen Luftweges und kann bei entsprechender Vergrößerung die Verhältnisse — Motorik, Schleimbildung etc. — in den einzelnen Abschnitten detailliert untersuchen. Ferner kann die Flimmerbewegung durch die intakte Wand

auffichtmikroskopisch direkt beobachtet werden, wenn bei der Präparation das Entweichen der Luft aus den darzustellenden Kanälen vermieden wurde. Dabei werden die Flimmerzellen von ihrer der Submucosa zugekehrten Seite und nicht, wie in den bisher bekannten Methoden, von der cilientragenden Fläche her betrachtet (Abb. 2). Bei über 200facher Vergrößerung sind die Flimmerzellen als leuchtende, homogene Punkte gut voneinander zu unterscheiden (Abb. 3).

Das Volumen des Durchflußbades für die Rattenlunge ist 10 ml. Die Krebs-Henseleit-Lösung (KREBS u. HENSELEIT, 1932) wird in einem Vorratsgefäß mit 95% O<sub>2</sub> und 5% CO<sub>2</sub> equilibriert und fließt über einen dünnen PVC-Schlauch durch den Boden des Präparat-Bades ein. Der Abfluß geschieht mittels eines Überlaufs. Die Temperatur wird mit Hilfe eines Thermostaten sowohl über das Gehäuse des Präparat-Bades als auch über die einströmende Flüssigkeit reguliert. Erst 15 min nach Beendigung der Präparation wird die Außenlösung von 2°C auf die gewünschte Untersuchungstemperatur erwärmt, und 30 min später beginnt die eigentliche Untersuchung.

*Untersuchung der Flimmerbewegung.* Die Versuche wurden an den Lungen von 40 Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 100 bis 250 g durchgeführt. Regelmäßig wurde der Herzlappen zur Herstellung des Präparates verwendet; in einigen Fällen wurden auch aus Vergleichsgründen andere Lungenlappen untersucht. Bei qualitativen Fragestellungen war es zweckmäßig, bei verschiedenen Temperaturen zwischen 10 und 37°C zu arbeiten. Bei der Untersuchung der Flimmerfrequenz mußten wir wegen der die stroboskopische Frequenzbestimmung hochgradig erschwerenden Arrhythmie der Flimmerbewegung (IRAVANI, 1967) die Frequenz künstlich herabsetzen, um sie durch Auszählen zu erfassen. Deshalb wurden diese Versuche vorwiegend bei niedrigen Temperaturen der Außenlösung zwischen 17 und 23°C vorgenommen, wobei die Flimmerfrequenz auf etwa 2—3 Hz reduziert wird (IRAVANI u. STEINHAUSEN, 1967).

Die Durchströmung des Präparat-Bades betrug 20 ml/min. Das Lichtblitz-Stroboskop (AEG, LBS 251) hatte einen Frequenzbereich von 3—1000 Hz.

### Ergebnisse

Bei der Präparationstemperatur von 2°C sieht man keine Cilienbewegung. Erhöht man die Temperatur der Außenlösung, so tritt Flimmeraktivität zuerst in dem Epithel des proximalen Abschnittes des Lappenbronchus auf. Nach und nach sieht man Flimmerbewegung in den weiter peripher gelegenen Abschnitten. Die Bronchioli terminales zeigen, wenn überhaupt, erst bei Temperaturen über 22°C Flimmertätigkeit. Eigenartigerweise sind die Bronchioli terminales häufig während eines Versuches von mehreren Stunden vollkommen ruhig. In ihren distalen Abschnitten von einer Länge von etwa 50 µ konnten wir nie (in über 150 Präparaten) Flimmerbewegung beobachten. Histologisch machen jedoch Flimmerzellen auch in diesem Abschnitt die Mehrzahl der Schleimhautelemente aus (POLICARD et al., 1955). Weshalb sie keine Aktivität zeigen, bleibt heute noch vollkommen offen. Die Klärung dieser Frage dürfte aber auch bezüglich des Auslöse-Mechanismus der Flimmeraktivität im tracheobronchialen Epithel von Bedeutung sein.

*Rhythmus der Flimmerbewegung.* Die Flimmerzellen aller Abschnitte des Luftweges zeigen eine mehr oder weniger ausgeprägte Irregularität

des Schlagrhythmus, d. h. die Periodendauer der aufeinanderfolgenden Schläge ist über eine Beobachtungszeit von einigen Sekunden nicht konstant. Die Unmöglichkeit, stroboskopisch ein stehendes Bild über mehrere Sekunden zu bekommen, beruht offensichtlich auf dieser Arrhythmie. Diese Erscheinung ist bei den zahlreichen Untersuchungen über die Flimmertätigkeit in dem Epithel des Respirationstraktes noch nicht beschrieben worden. DALHAMN (1956) versuchte das Mißlingen der stroboskopischen Frequenzmessung an der Flimmerbewegung der Trachealschleimhaut auf die unter seiner Versuchsanordnung vorliegenden besonderen optischen Verhältnisse zurückzuführen. In unserem Verfahren stellen sich die flimmernden Einheiten als pendelnd-bewegende, aufleuchtende Punkte auf dunklem Hintergrund dar. Diese Punkte sind optisch homogen und haben einen Durchmesser von etwa  $4 \mu$ , weshalb wir sie als einzelne Flimmerzellen ansehen. Die stroboskopische Untersuchung dieser pendelnden Punkte bereitet bei einiger Erfahrung und entsprechender optischer Einrichtung keine wesentlichen Schwierigkeiten. Die Arrhythmie erschwert jedoch das Vorgehen erheblich, so daß wir in der Regel nur einen Näherungswert der Flimmerfrequenz erhalten.

*Intercelluläre Koordination der Flimmerbewegung.* Die pluricelluläre Koordination (pluricellulärer Metachronismus) wird als eine normale Eigenschaft der Flimmerbewegung der cilientragenden Flächen angesehen und die Störung derselben als Ausdruck einer Schädigung aufgefaßt (LUCAS, 1932; PROSSER, 1952; WORLEY, 1933, 1934, 1941). Auch in dem Flimmerepithel des Bronchialbaumes findet sich eine pluricelluläre Koordination, jedoch eigenartigerweise nur jeweils über eine Breite von wenigen Zellen. Man beobachtet flimmernde Streifen, die einige Zellen breit und je nach der Lokalisation sehr verschieden lang sind (bis zu einigen Millimetern), in denen die Flimmerzellen koordiniert schlagen. Die Längsachse dieser aktiven Streifen ist in der Richtung des Flimmerschlages orientiert. Zum besseren Verständnis der Verhältnisse ist in Abb. 4 eine Momentsituation der Flimmerbewegung in einem Luftwegabschnitt schematisch dargestellt. Jeder Strich symbolisiert eine Flimmerzelle und die Länge der Striche soll die Momentamplitude des Flimmerschlages wiedergeben. Die pluricelluläre Koordination ist auf Streifen von einer Breite von jeweils wenigen (3, 5, 4 und 6) Zellen beschränkt, die in der Längsrichtung metachron schlagen. Da verschiedene Streifen voneinander unabhängig schlagen, kann die Flimmerfrequenz des einen von der des anderen abweichen. Nicht selten beobachtet man in nah beieinanderliegenden Regionen einen Frequenzunterschied bis um 100%. Da die pluricelluläre Koordination in dem intrapulmonalen Flimmerepithel nicht über die Gesamtbreite der Wand besteht, möchten wir sie im folgenden der Einfachheit halber mit „begrenzt“ bezeichnen.

Auch diese Erscheinung ist bei der Untersuchung des Flimmerepithels der Trachea nicht beschrieben worden. Sie ist bei Flimmerfrequenzen bis zu 5 Hz, d. h. bei Temperaturen bis etwa 25° C, ohne besondere Hilfsmittel erkennbar; bei höheren Temperaturen kann sie aber nur cinematographisch sicher nachgewiesen werden. Dies ist bisher nicht geschehen. Aus folgenden Gründen ist es jedoch sehr wahrscheinlich, daß die begrenzte pluricelluläre Koordination auch bei hohen Frequenzen erhalten

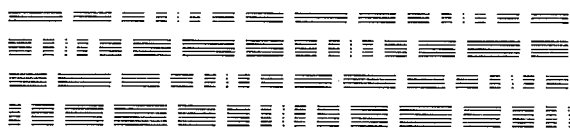


Abb. 4. Schema zur begrenzten pluricellulären Koordination. Eine Momentsituation der Flimmerbewegung ist in einem gerade verlaufenden Luftwegabschnitt bei auflichtoptischer Beobachtung dargestellt. Die Flimmerzellen sind durch Striche (bzw. Punkte) symbolisiert. Die Größe der Striche gibt die Amplitude des Flimmerschlages entsprechend dem metachronen Rhythmus wieder. Die pluricelluläre Koordination besteht jeweils über eine Breite von wenigen (3–6) Zellen

ist: erstens blieb sie in dem Temperaturbereich von 10–25° C unverändert bestehen; zweitens ist an einwandfrei nachweisbarer pluricellulärer Koordination im Modiolus demissus kein Temperatureffekt bei über 10° C beobachtet worden (LUCAS, 1932).

Es war nun wichtig nachzuprüfen, ob die Arrhythmie und die begrenzte pluricelluläre Koordination eventuell durch eine bei der Präparation zugefügte Schädigung der Schleimhaut hervorgerufen worden seien. Die Frage wurde auf folgende Weise angegangen: Tracheen junger Ratten wurden sowohl in Nembutal-Narkose (50 mg/kg) als auch nach Nackenschlag sofort oral und aboral abgebunden und in dem Präparat-Bad fixiert. Ohne eine eingreifende Präparation kann die Flimmerbewegung durch die membranöse Hinterwand und die Räume zwischen den Knorpelspannen auflichtmikroskopisch beobachtet werden. Auch in der Trachealschleimhaut waren unter diesen Bedingungen die Arrhythmie und die begrenzte pluricelluläre Koordination festzustellen. Die intercelluläre Koordination beschränkt sich hier auf mehrere Millimeter lange, im spitzen Winkel zur Längsrichtung der Trachea verlaufende Straßen, die aber auch nur wenige Zellen breit sind. Auffallend ist jedoch, daß in der Trachealschleimhaut die Flimmerfrequenzen der aktiven Regionen nicht so stark voneinander differieren wie in dem intrapulmonalen Flimmerepithel.

Aufgrund dieser Befunde möchten wir die Arrhythmie und die begrenzte pluricelluläre Koordination als typische Eigenschaften der Flimmerbewegung der tracheobronchialen Schleimhaut ansehen, zumindest bei der Ratte *in vitro*.

Die begrenzte pluricelluläre Koordination erschwert ähnlich wie die Arrhythmie die Frequenzmessung sehr. Je größer der Durchmesser des

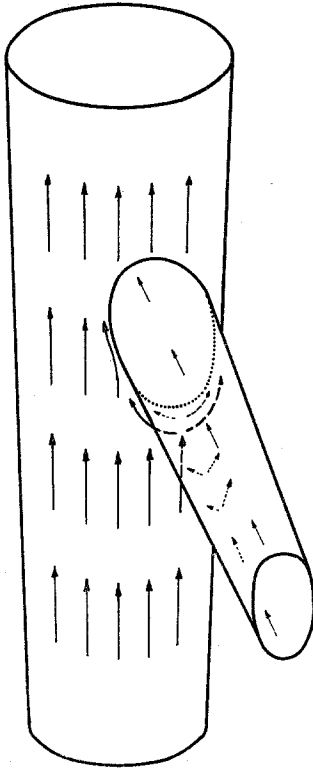


Abb.5. Schematische Darstellung der Richtung des Flimmerschlages an einer einfachen Abzweigungsstelle. Die Pfeile geben die Richtung des effektiven Flimmerschlages wieder. In dem Seitenast schlagen die Cilien der blind endenden Wandseite bei der Annäherung an die Abzweigungsstelle zunehmend schräger auf die gegenüberliegende, freiauslaufende Wandseite hin; unmittelbar vor der Abgangsstelle ist die Richtung des Flimmerschlages dabei fast quer zu der Längsachse des Seitenastes. Die Cilien der freiauslaufenden Wandseite halten ihre fast longitudinale Schlagrichtung bei. In dem Hauptast schlagen die Cilien des blind endenden Wandstreifens, von einer Entfernung von 300–500  $\mu$  von der Abgangsstelle an, schräg zu der Längsachse um die Abgangsöffnung; der Verbindungssporn wird umschlagen. Proximal der Abgangsöffnung ist die Richtung des Flimmerschlages in jedem Falle fast longitudinal

Luftwegabschnittes, desto breiter ist im allgemeinen das Frequenzspektrum dort. Bei den Angaben über die Flimmerfrequenz in der intrapulmonalen Schleimhaut muß diese Tatsache berücksichtigt werden. In derartigen Untersuchungen setzen wir den Mittelwert aus allen Frequenzen, die wir in dem Abschnitt beobachten können, als repräsentativen Wert ein.

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit der mit der Stoppuhr erfaßten Flimmerfrequenz errechneten wir den damit verbundenen Methodenfehler<sup>1</sup> an jeweils

<sup>1</sup> Der Methodenfehler wurde nach der Formel  $s = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$  (standard deviation of single measurement) berechnet.  $d$  bedeutet die Differenz zwischen den Werten bei Doppelbestimmung und  $n$  die Zahl der Doppelbestimmungen.



8 Präparaten. Er betrug bei 18°C 2,3%<sub>0</sub> und bei 25°C 9,8%<sub>0</sub> des Mittelwertes der jeweils gemessenen Frequenzen. Der Wert bei 18°C dürfte hauptsächlich auf der Frequenzinkonstanz beruhen. Bei 25°C überwiegt der Fehleranteil, der mit der Auszählung verbunden ist, erheblich.

*Richtung des Flimmerschlages.* Bei Temperaturen über 10°C kann man die effektive Phase und die Erholungsphase der kinetischen Periode gut voneinander unterscheiden. Die Richtung des Flimmerschlages weicht in den geradlinig verlaufenden Abschnitten spitzwinklig von der Längsachse des Luftkanals ab. An den Verzweigungsstellen und in ihrer Nähe ändert sich die Richtung des Flimmerschlages in der Regel derart, daß die Transport-Sackgassen umgangen werden. In Abb. 5 haben wir versucht, die Verhältnisse schematisch wiederzugeben. Eine Abzweigungsstelle mit dem zugehörigen Haupt- und Abzweigkanal ist aufgezeichnet. Die Pfeile geben die Richtung des effektiven Schlages der Flimmerbewegung wieder. Bereits 300—500  $\mu$  von den Verzweigungen entfernt wendet sich der Flimmerschlag allmählich von dem blind endenden Sporn ab: In dem Abzweigkanal schlagen die Cilien der blind endenden Wandseite schräg bis quer zu der gegenüberliegenden Seite hin; in dem Hauptkanal umschlagen die Cilien die Öffnung, die durch die Abzweigung entstanden ist. Man sieht, daß die Transporthindernissstellen zu umgehen versucht werden. Die hier beobachtete Richtung des Flimmerschlages entspricht weitgehend der Richtung des Schleimflusses im Bronchialbaum (HILDING, 1957, 1965).

Diese Angaben gelten für die weit überwiegende Zahl der Flimmerzellen. Bei sorgfältiger Beobachtung sieht man aber eine Minderheit, die auch an den Verzweigungen in Richtung der Längsachse flimmert und auf die blind endenden Sporne zuschlägt. Dies dürfte den Befund erklären, daß sich bei Ratten nach Einatmung von Kohleteilchen besonders viel Kohle an diesen Spornen abgelagert (FRIEDBERG, 1967).

*Flimmerfrequenz in den einzelnen Abschnitten des Luftweges.* Der Gesamtumfang des Luftweges und entsprechend die Gesamtläche der Schleimhaut nimmt von distal nach proximal, d. h. von den terminalen Bronchiolen zur Trachea hin, sehr stark ab (HILDING, 1957, 1965; HILDING u. HILDING, 1948). Wären die Schleimproduktion und die Flimmeraktivität in dem gesamten tracheobronchialen Epithel einheitlich, so müßte es durch starke Verengung des Strombettes von distal nach proximal zu einer Sekretstauung bzw. zu einer starken Zunahme der Schleimschichtdicke in den oberen Luftwegen kommen. Da dies nicht der Fall ist, müssen besondere Mechanismen vorhanden sein, die eine tragbare Schleimschichtdicke in der gesamten Länge des Luftweges garantieren. Über eine eventuelle Abhängigkeit der Schleimproduktion bzw. -verarbeitung von der Lokalisation im Bronchialbaum liegen noch keine Informationen vor. Bei der Untersuchung der intrapulmonalen Flimmertätigkeit tat sich eine interessante Beziehung zwischen der



betrug sie bei 35°C 1280/min. Die Bronchioli terminales zeigten in diesem Versuch bei 17°C keine Flimmerbewegung. Bei 35°C konnte man in dem proximalen Teil des einen zeitweilig und stellenweise Flimmerbewegung mit Frequenzen von 360—420/min feststellen.

Der Effekt der Reduktion der Schleimhautfläche auf die Flimmerbewegung ist besonders deutlich an den Verzweigungsstellen zu beobachten: An diesen Stellen nimmt die Wandfläche des Hauptastes um den Betrag der Abgangsöffnung(en) ab. Für den Schleimtransport bedeutet dies eine passagere Verengung der Strombahn bzw. einen Engpaß. In Abb.6 sind 2 von den Engpässen in dem Lappenbronchus mit E gekennzeichnet. Man mißt in den Engpässen stets eine höhere Flimmerfrequenz als in der Umgebung. Der Frequenzanstieg ist von dem Ausmaß der Reduktion der Wandfläche abhängig; je größer die Zahl der Abgänge in einem Abschnitt, d. h. je stärker die Wandreduktion, desto höher ist die in der Restwand gemessene Flimmerfrequenz. Interessant ist noch, daß die Frequenzzunahme nicht in der gesamten Breite des Engpasses zustandekommt, sondern im wesentlichen in dem der Abgangsöffnung benachbarten Teil der Schleimhaut. Die in Abb.6 eingetragenen Frequenzen (125/min bzw. 126/min) wurden am Rande der Abgangsöffnung gemessen.

Worauf der Frequenzanstieg von distal nach proximal bzw. in den Engpässen beruht, kann heute nicht entschieden werden. Zur Lösung dieser Fragen durchgeführte Anfangsversuche lassen jedoch bereits die angefallene Schleimmenge, bzw. den davon ausgehenden Widerstand für die Cilienbewegung, als die wesentliche Ursache dieser Erscheinung vermuten.

Mit Hilfe einer Mikropipette mit einem Spitzendurchmesser von 10—20  $\mu$  wurden nach Punktion der Bronchialwand verschiedene Testsubstanzen auf die Schleimhaut injiziert und ihr Effekt auf die Flimmerbewegung beobachtet. In diesen orientierenden Versuchen wurden eine verdünnte Schleimlösung, eine Aufschwemmung von denaturierter Hefe in Krebs-Lösung und Paraffinum liquidum verwendet. In jedem Falle kam es zu einem deutlichen Anstieg der Flimmerfrequenz unter der Testsubstanz. Hier liegt die Annahme nahe, daß die Zunahme der abzutransportierenden Masse die Flimmertätigkeit stimuliert. Auch folgende Beobachtung läßt dies vermuten: Wenn vor der Herstellung des isolierten Lungengewegpräparates Blut aspiriert wurde, findet es sich im Bronchialbaum in Form von auf der Schleimhaut ausgebreiteten Plaques wieder. Unter diesen Plaques schlagen die Cilien stets weit frequenter als in den benachbarten Regionen. Das geronnene Blut dürfte als ein Widerstand für die Cilienbewegung wirken.

*Spontane Schwankungen der Flimmertätigkeit.* Die meisten aktiven Einheiten zeigten in einer Beobachtungszeit von 2 Std keine nennenswerten Frequenzschwankungen. Es fanden sich jedoch hin und wieder Regionen, die plötzlich ihre Flimmerfrequenz stark änderten. Dieses Phänomen ist besonders gut bei niedrigen Temperaturen zu beobachten und zwar in dem Temperaturbereich, bei dem die einzelnen aktiven Streifen noch gut voneinander unterschieden werden können.

Bei der Durchsicht eines Präparates trifft man vereinzelt Stellen, die einen allmählichen Stillstand oder eine sprunghafte, starke Erhöhung der Flimmerfrequenz zeigen. Das höhere Frequenzniveau hält nur Sekunden bis wenige Minuten an und geht allmählich auf den alten Wert zurück. Der Stillstand besteht unvergleichbar länger; in einzelnen Fällen wurde die Flimmertätigkeit auch nach 1 Std nicht wieder aufgenommen. In diesen Fällen führte eine leichte Berührung der Bronchialwand mit einer Glasnadel über der Ausfallstelle zur Wiederherstellung der Flimmertätigkeit. Was die Grundlage dieser spontanen Flimmerschwankungen ist und ob sie eine physiologische Relevanz besitzen, bleibt offen.

*Temperaturabhängigkeit der Flimmerbewegung.* Bei Temperaturen unter 4°C fand sich in keinem Präparat eine Flimmerbewegung. Zwischen 4 und 8°C treten ganz vereinzelt verschieden breite Streifen mit Flimmerbewegung auf, die unsystematisch inselartig in der Schleimhaut des Luftweges verteilt sind. Erhöht man die Temperatur der Außenlösung, so nimmt die Flimmerfrequenz in den bereits schlagenden Streifen zu. Daneben kommen weitere aktive Regionen zum Vorschein. Der Umfang einzelner Streifen scheint dabei nicht zuzunehmen. Bei Temperaturen zwischen 20 und 22°C ist die gesamte Schleimhaut des Luftweges mit solchen flimmernden Zentren übersät. Nur die distalen Teile der Bronchioli terminales bilden dabei, wie oben erwähnt, eine Ausnahme. Weitere Erhöhung der Temperatur führt zu kontinuierlicher Frequenzzunahme bis 38–40°C, wonach die Frequenz rapide abnimmt. Bei 42–44°C trat meist Stillstand ein. Diese Befunde entsprechen weitgehend denjenigen von DALHAMN (1960) an der Trachea vom Kaninchen in vivo. In keinem Falle konnten wir eine ähnliche Beobachtung wie die von PROETZ (1934a) an der Nasenschleimhaut machen: er fand Maximum der Flimmeraktivität zwischen 18 und 33°C.

An 14 Präparaten aus dem Herzlappen von Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 150–160 g wurde die Temperaturabhängigkeit der Flimmerfrequenz ausgewertet (IRAVANI u. STEINHAUSEN, 1967). Die Ergebnisse sind in Abb. 7 zusammengefaßt; die Mittelwerte und die mittleren Abweichungen sind eingetragen. Die Frequenzmessung wurde in allen Präparaten in einem bestimmten Abschnitt des gleichen Bronchialastes von einem Durchmesser von etwa 0,2 mm bis 20°C mit Hilfe einer Stoppuhr, bei 25°C sowohl mit der Stoppuhr als auch stroboskopisch und bei 35°C ausschließlich mittels Lichtblitz-Stroboskop (nur 6 Präparate) durchgeführt. Der Wert bei 35°C soll wegen der Unsicherheit der stroboskopischen Frequenzmessung als ein Näherungswert angesehen werden. Der  $Q_{10}$ -Wert scheint auch in dem tracheobronchialen Epithel, wie in anderen Versuchsobjekten (GRAY, 1923), von dem Temperaturbereich abhängig zu sein und beträgt zwischen 15 und 25°C etwa 4 und zwischen 25 und 35°C etwa 3.

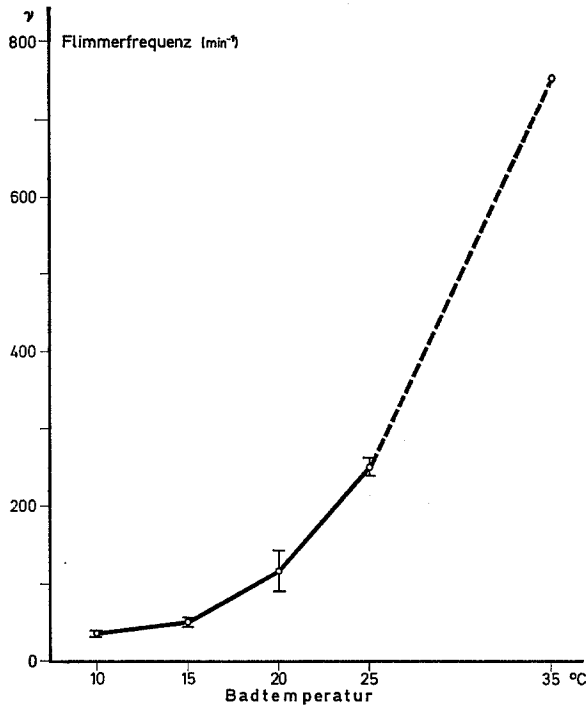


Abb. 7. Abhängigkeit der Flimmerfrequenz von der Temperatur der Außenlösung, untersucht an 14 Lungenwegpräparaten. Die Messung erfolgte jeweils in dem gleichen Bronchialast in einem bestimmten Abschnitt, bis 20°C mit der Stoppuhr, bei 25°C mit der Stoppuhr und mittels Lichtblitz-Stroboskop und bei 35°C nur in 6 Präparaten stroboskopisch. Ordinate: Minutenfrequenz  $\nu$  der Flimmerbewegung. Abszisse: Temperatur der Außenlösung in °C. Die Mittelwerte und die mittleren Abweichungen sind eingetragen. Der Wert bei 35°C ist wegen der Unsicherheit, die der stroboskopischen Frequenzmessung anhaftet (siehe Text), nur ein Näherungswert

### Diskussion

Im Prinzip kann die Flimmeraktivität auf zwei Arten untersucht werden: erstens durch die direkte Beobachtung der Flimmerbewegung; zweitens durch Prüfung des durch die Flimmertätigkeit geleisteten Stofftransportes. Bei der Untersuchung der Flimmeraktivität des tracheo-bronchialen Epithels wird das letztere Verfahren aufgrund seiner geringeren Aufwendigkeit meist vorgezogen. Alle bislang bekannten Ergebnisse über die Flimmertätigkeit im zusammenhängenden Bronchialbaum sind mit Hilfe dieser Methode gewonnen worden (ANTWEILER, 1956; BARCLAY u. FRANKLIN, 1937). Auch die intravitale Beurteilung der intrapulmonalen Flimmeraktivität wurde bisher ausschließlich mittels besonderer Versuchsanordnungen, die auf dem Transportprinzip beruhen (vgl. BARCLAY u. FRANKLIN, 1937; VAN DONGEN u. LEUSINK,

1953; ERNST, 1938a, b; GORDONOFF, 1938), durchgeführt. Da jedoch der erfaßte Transport zusätzlich von anderen Faktoren abhängig ist, kann man aus der beobachteten Transportgröße nicht ohne weiteres auf die Aktivität der Flimmerbewegung schließen. In umfangreichen Untersuchungen konnten DALHAMN (1955, 1956, 1959), VON GEBHARDT (1909), GORDONOFF u. MAUDERLI (1936), HILDING (1956b), PROETZ (1934b) und TREMBLE (1947) zeigen, daß nicht immer eine feste Korrelation zwischen der Flimmertätigkeit und der Transportleitung besteht und daß unter Umständen bei anscheinend normal reger Flimmerbewegung kein nennenswerter Transport registriert wird. HILDING und DALHAMN vermuten dabei eine Störung der Schleimproduktion bzw. -verarbeitung; der Mechanismus ist aber noch ungeklärt. Ein wesentlicher Nachteil der Transportmethode liegt ferner in der Beeinflussung der Flimmertätigkeit durch die verwendete Testsubstanz als Transportgut. ANTWEILER (1956) zeigte dies bei einer Anzahl von Stoffen, insbesondere bei physikochemisch nicht inerten. Eine hochgradige Modifizierung der Flimmerbewegung kann durch Steigerung der Viscosität der mit den Cilien in Berührung gebrachten Lösungen hervorgerufen werden (TWITTY, 1928). In unseren Mikropunktionsversuchen stimulierte das Aufbringen von Paraffinum liquidum, Schleimlösung oder Aufschwemmung von Hefe die Flimmertätigkeit der Bronchialschleimhaut. All dies schränkt die Aussagefähigkeit der Transport-Methode hinsichtlich der Flimmeraktivität stark ein und zwingt zur Ausarbeitung von direkten Untersuchungsmethoden. Die direkte Beobachtung der Flimmertätigkeit in der Trachea bereitet keine experimentellen Schwierigkeiten mehr (DALHAMN, 1955, 1956, 1959). Die intrapulmonale Flimmerbewegung konnte aber bislang ausschließlich an Mucosastückchen (CORSEEN u. ALLEN, 1959; HILDING, 1956b) oder an einzelnen isolierten Abschnitten des Bronchialbaumes, deren Schleimhaut zu diesem Zweck freigelegt wurde (DALHAMN, 1959; HILDING, 1957, 1965), beobachtet werden.

Durch Entwicklung des isolierten Lungenwegpräparates haben wir die Möglichkeit, die Flimmertätigkeit in dem Epithel des in seinem Zusammenhang erhaltenen intrapulmonalen Luftwegsystems direkt zu untersuchen. Die Wand des Luftweges bleibt dabei intakt und die Cilien behalten ihren Kontakt mit der mit Wasserdampf gesättigten Luft, was dem Zustand *in vivo* weitgehend entspricht. Das gesamte System ist in einer physiologischen Lösung mit hohem Durchfluß gelagert, und damit wird eine konstante Zusammensetzung des Außenmediums gewährleistet. Inwiefern die Stoffwechselforgänge in der Schleimhaut bei dieser Anordnung noch erhalten sind, kann nicht entschieden werden. Die Flimmerzellen scheinen in bezug auf Ernährung ziemlich unempfindlich zu sein (vgl. DALHAMN, 1959, 1960). Andere Elemente der Schleimhaut, insbesondere die schleimproduzierenden Zellen, bedürfen jedoch zur

Erhaltung ihrer Funktion einer gewissen Stoffwechselfersorgung (DALHAMN, 1956; HILDING, 1956c). Da die Funktion der Flimmerzellen bis zu einem gewissen Grad von dem produzierten Schleim beeinflußt wird, muß dieser Tatsache bei der Flimmeruntersuchung Rechnung getragen werden. Bei unserer *in vitro*-Methode ist eine ausreichende Stoffwechselfersorgung der Schleimhaut, zumindest im Bereich der dünnwandigen Bronchiolen, anzunehmen. Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang sicher die sofortige Abkühlung der Lunge nach der Sistierung der Blutversorgung bis zur Beendigung der Präparation auf möglichst tiefe Temperaturen.

Von den mit Hilfe dieser Methode erhobenen Ergebnissen erscheinen uns die Arrhythmie und begrenzte pluricelluläre Koordination der Flimmerbewegung im tracheobronchialen Epithel besonders wichtig. Sie sind bisher bei den zahlreichen Beobachtungen der Schleimhaut nicht beschrieben worden; dies dürfte jedoch an den optischen Schwierigkeiten liegen, die bei der üblichen Art der Beobachtung der Flimmerbewegung von der ciliaren Seite her auftreten. Das Bild ist dabei, wie wir uns überzeugen konnten, sehr kontrastarm und verschwommen im Gegensatz zu dem in unserer Methode. Außerdem sind die angewandten Vergrößerungen für diese Fragestellung ungeeignet. Bei über 150facher Vergrößerung konnten wir diese Erscheinungen an isolierten Tracheen auch von der ciliaren Seite her ohne weiteres feststellen. Die Irregularität des Rhythmus der Flimmerbewegung ist auch an anderen Versuchsobjekten beschrieben worden (GRAY, 1930; JENNISON u. BUNKER, 1934). GRAY stellte dabei cinematographisch fest, daß die Störung des Flimmerrhythmus in *Mytilus edulis* auf der unterschiedlichen Länge der Pausen zwischen den kinetischen Perioden beruht. Was die Grundlage der Arrhythmie der intrapulmonalen Flimmerbewegung der Ratte ist, kann nur mittels *high speed cinematography* entschieden werden. Über die Grundlage der begrenzten pluricellulären Koordination sollen spätere Versuche Aufschluß bringen. Dabei soll — wie bei der Zunahme der Flimmerfrequenz in Richtung des effektiven Flimmerschlages — besonders nachgeprüft werden, welche Rolle dem Bronchialsekret zukommt. Leider wissen wir heute noch so gut wie nichts über die Kinetik der Sekretproduktion und der Sekretverarbeitung und die physikochemische Beschaffenheit und die Zusammensetzung des Primärsekretes. Auch anderen Schleimhautelementen, die histologisch eine resorptive bzw. sekretive Funktion vermuten lassen (VON HAYEK, 1953; POLICARD et al., 1955; RHODIN, 1959; RHODIN u. DALHAMN, 1956), ist bislang keine Beachtung geschenkt worden. Da die Flimmeraktivität bis zu einem gewissen Grad von der Beschaffenheit des die Cilien umgebenden Mediums abhängig ist, müssen wir zu ihrer endgültigen Analyse erst unsere Kenntnisse über andere Schleimhautelemente erweitern. An dem hier be-

schriebenen Lungenwegpräparat läßt sich dieser Fragekomplex besonders gut und übersichtlich studieren.

Herrn Priv.-Doz. Dr. J. DUDEL danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts und wertvolle Vorschläge.

### Literatur

- ANTWELER, H.: Über die Funktion des Flimmerepithels der Luftwege, insbesondere unter Staubbelastung. *Beitr. Silikose-Forsch.* **2**, 509—535 (1956).
- BARCLAY, A. E., and K. J. FRANKLIN: The rate of excretion of Indian ink, injected into the lungs. *J. Physiol. (Lond.)* **90**, 482—484 (1937).
- CORSSEN, G., and C. R. ALLEN: Acetylcholine: its significance in controlling ciliary activity of human respiratory epithelium in vitro. *J. appl. Physiol.* **14**, 901 to 904 (1959).
- DALHAMN, T.: A method for determination in vivo of the rate of ciliary beat and mucous flow in the trachea. *Acta physiol. scand.* **33**, 1—5 (1955).
- Mucous flow and ciliary activity in the trachea of healthy rats and rats exposed to respiratory irritant gases. *Acta physiol. scand.* **36**, Suppl. 123, 1—161 (1956).
- The effect of cigarette smoke on ciliary activity in the upper respiratory tract. *Arch. Otolaryng.* **70**, 166—168 (1959).
- The determination in vivo of rate of ciliary beat in the trachea. *Acta physiol. scand.* **49**, 242—250 (1960).
- A method for studying the effect of gases and dusts on ciliary activity in living animals. In: *Inhaled Particles and Vapours*, pp. 315—319. Ed.: C. N. DAVIES. Oxford: Pergamon Press 1961.
- , and R. RYLANDER: Ciliastatic action of smoke from filter-tipped and non-tipped cigarettes. *Nature (Lond.)* **201**, 401—402 (1964).
- DONGEN, K. VAN, and H. LEUSINK: The action of opium-alkaloids and expectorants on the ciliary movements in the air passages. *Arch. int. Pharmacodyn.* **93**, 261—276 (1953).
- ERNST, A. M.: Einfluß einiger Narkotika auf den Effekt der Bewegungen des Flimmerepithels in Trachea und Bronchi. *Arch. int. Pharmacodyn.* **58**, 208—212 (1938a).
- Pharmakologische Untersuchungen und Wertbestimmungen von hustenstillenden Mitteln. *Arch. int. Pharmacodyn.* **58**, 363—369 (1938b).
- FRIEBEL, H.: Physiologie, Pathologie und Pharmakologie der Bronchialsekretion und des Hustens. Bronchialsekretion. Anatomie der sekretliefernden Drüsen und Zellen. In: *Klinische Physiologie, Aktuelle Probleme in Übersichten*, Bd. I, S. 301—339, hrsg. von W. A. MÜLLER. Stuttgart: Thieme 1963.
- FRIEDBERG, K. D.: persönliche Mitteilung (1967).
- GEBHARDT, F. VON: Untersuchung über Funktion des Flimmerepithels der Trachea. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **130**, 353—374 (1909).
- GORDONOFF, T.: Physiologie und Pharmakologie des Expektorationsvorganges. *Ergebn. Physiol.* **40**, 53—100 (1938).
- , u. H. MAUDELLI: Über die Bedeutung der Flimmerbewegung für den Expektorationsvorgang. *Z. ges. exp. Med.* **98**, 265—269 (1936).
- GRAY, J.: The mechanism of ciliary movement. — III. The effect of temperature. *Proc. roy. Soc. B* **95**, 6—15 (1923).
- The mechanism of ciliary movement. — VI. Photographic and stroboscopic analysis of ciliary movement. *Proc. roy. Soc. B* **107**, 313—333 (1930).
- HAYEK, H. VON: *Die menschliche Lunge*. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1953.
- HILDING, A.: The physiology of drainage of nasal mucus. — I. The flow of the mucus currents through the drainage system of the nasal mucosa and its relation to ciliary activity. *Arch. Otolaryng.* **15**, 92—100 (1932).



- HILDING, A. C.: On cigarette smoking, bronchial carcinoma and ciliary action. — III. Accumulation of cigarette tar upon artificially produced deciliated islands in the respiratory epithelium. *Ann. Otol. (St. Louis)* **65**, 116—130 (1956a).
- On cigarette smoking, bronchial carcinoma and ciliary action. — II. Experimental study on the filtering action of cow's lungs, the deposition of tar in the bronchial tree and removal by ciliary action. *New Engl. J. Med.* **254**, 1155—1160 (1956b).
- On cigarette smoking, bronchial carcinoma and ciliary action. — IV. Ciliary streaming through the larynx and distribution of laryngeal epithelium. *Ann. Otol. (St. Louis)* **65**, 736—746 (1956c).
- Ciliary streaming in the lower respiratory tract. *Amer. J. Physiol.* **191**, 404 to 410 (1957).
- Mucociliary insufficiency and its possible relation to chronic bronchitis and emphysema. *Med. thorac.* **22**, 329—345 (1965).
- , and D. HILDING: The volume of the bronchial tree at various levels and its possible physiologic significance. *Ann. Otol. (St. Louis)* **57**, 324—342 (1948).
- IRAVANI, J.: Eine Methode zur Untersuchung des Flimmerepithels der intrapulmonalen Atemwege. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path.* **257**, 290 (1967).
- , u. M. STEINHAUSEN: In vitro-Beobachtungen der Flimmerbewegungen in den intrapulmonalen Atemwegen vom Warmblüter und ihre Temperaturabhängigkeit. *Pflügers. Arch. ges. Physiol.* **294**, 38—39 (1967).
- JENNISON, M. W., and J. W. M. BUNKER: Analysis of the movement of cilia from the clam (*mya*) by high-speed photography with stroboscopic light. *J. cell. comp. Physiol.* **5**, 189—197 (1934).
- KREBS, A., u. K. HENSELEIT: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **210**, 33—66 (1932).
- LUCAS, A. M.: Coordination of ciliary movement. — II. The effect of temperature upon ciliary wave length. *J. Morph.* **53**, 265—276 (1932).
- POLICARD, A., A. COLLET et L. GILTAIRE-RALYTE: Observations microélectroniques sur l'infrastructure des cellules bronchiolaires. *Bronches* **5**, 187—196 (1955).
- PROETZ, A. W.: Studies of the nasal cilia in the living mammal. *Ann. Otol. (St. Louis)* **42**, 778—788 (1933).
- Effect of temperature on nasal cilia. *Arch. Otolaryng.* **19**, 607—609 (1934a).
- Nasal ciliated epithelium, with special reference to infection and treatment. *J. Laryng.* **49**, 557—570 (1934b).
- PROSSER, C. L.: *Cilia. Comparative Animal Physiology*, pp. 640—653. Philadelphia: W. B. Saunders Comp. 1952.
- RHODIN, J.: Ultrastructure of the tracheal ciliated mucosa in rat and man. *Ann. Otol. (St. Louis)* **68**, 964—974 (1959).
- , and T. DALHAMN: Electron microscopy of the trachea ciliated mucosa in rat. *Z. Zellforsch.* **44**, 345—412 (1956).
- TREMBLE, E.: Some observations on nasal cilia. *Canad. med. Ass. J.* **56**, 255—259 (1947).
- TWIFTY, V. C.: Experimental studies on the ciliary action of amphibian embryos. *J. exp. Zool.* **50**, 319—344 (1928).
- WORLEY, L. G.: Metachronism in ciliated epithelium. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **19**, 320—322 (1933).
- The dual nature of metachronism in ciliated epithelium. *J. exp. Zool.* **69**, 105—121 (1934).
- Microdissection studies of the ciliated epithelial cell. *J. cell. comp. Physiol.* **18**, 187—197 (1941).
- YATES, A. L.: Methods of estimating the activity of the ciliary epithelium within the sinuses. *J. Laryng.* **39**, 554—560 (1924).

Dr. J. IRAVANI  
Mediz. Abt. des Silikose-Forschungs-Instituts  
4630 Bochum, Hunscheidtstr. 12