

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin [Direktor:
Geh. Rat Prof. Dr. O. Lubarsch].)

Über die Beziehungen zwischen Epithel- und Bindegewebe bei Transplantation und Explantation.

Von

Dr. T. Mitsuda aus Japan,
am Institut.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. November 1922.)

Einleitung.

Die Versuche, das Gewebe außerhalb des Organismus zu züchten, sind in den Jahren 1906—1911 im Anschluß an die Arbeiten von *Harrison*, *Burrows* und *Carrel* vollständig gelungen. Seit dieser Zeit sind solche Untersuchungen von vielen Forschern, besonders in Amerika, unternommen worden, und zahlreiche Veröffentlichungen liegen vor, die verschiedene Probleme im Zusammenhang mit der Gewebszüchtung behandeln.

Bei den Explantationsversuchen sind die embryonalen und die erwachsenen Bindegewebzellen in allen ihren Formen Hauptstudienobjekt der Forscher gewesen. Explantationsversuche mit Epithelgewebe sind dagegen nur wenige gemacht worden. So sind Gewebskulturen vom Epithel des erwachsenen Frosches von *Uhlenhuth* angestellt worden, auch *Buch* und *Opel* gelang es, Gewebskulturen mit Epithelgewebe von Kaltblütern zu züchten. Ähnlich berichtet *Carrel* über die Möglichkeit, Hautepithel von Hühnerembryonen zu züchten. Neuerdings hat *Fisher* ebenfalls Augen von Hühnerembryonen in Gewebskulturpassagen gezüchtet, und dabei soll es möglich gewesen sein, die Epithelzellen zum Wachstum zu bringen. Im ganzen genommen sind Explantationsversuche mit Epithelgewebe erwachsener Tiere, besonders Warmblüter, wenig gemacht worden, und in dieser Hinsicht sind von Bedeutung die Arbeiten von *Champy* und *Veratti*, die ihre Versuche an erwachsenen Kaninchen angestellt haben. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen sind widersprechend. So sollen nach *Champy* die drüsigen Organe im Explantat weiter wachsen können, was sich im Auftreten von Mitosen äußert, die auf ein Zellwachstum im Explantat deuten. Nach *Veratti* sollen nur die bindegewebigen Bestandteile der unter-

suchten Organe die Fähigkeit besitzen, im Explantat sich lebend zu erhalten, dagegen können sich die epithelialen Elemente und die stark differenzierten bindegewebigen Gewebsarten nicht vermehren, sie nekrotisieren schnell.

Wie aus diesen Arbeiten zu ersehen ist, steht noch die Frage der Epithelvermehrung erwachsener Tiere in Gewebskulturen offen.

Wesentlich ist weiterhin eine andere Frage, welche bei der Gewebszüchtung auftaucht, ob nämlich hier das Wachstum in normaler Weise vor sich geht. Da die Züchtung außerhalb des Körpers geschieht, werden die Lebensbedingungen wesentlich geändert und vereinfacht. Um diese Fragen näher zu prüfen, habe ich auf Veranlassung des Herrn Geh. Rat Lubarsch und nach einem von ihm aufgestellten Plan und unter seiner ständigen Kontrolle die nachfolgenden Versuche angestellt. Ich würde mein Ziel als erreicht betrachten, wenn diese Arbeit zur Lösung der genannten Fragen beitragen könnte. Es kam dabei darauf an, klarzustellen und zu vergleichen, wie sich die aus ihren Zusammenhang gelösten Gewebezteile verhalten, wenn sie an andere Stellen verpflanzt unter dem Einfluß des lebenden Organismus verblieben, und wenn sie nur in dem erstarrten Plasma, ohne daß eine Einwirkung lebender Zellen auf sie noch möglich war, belassen wurden. Deswegen wurden den Explantationsversuchen die nachfolgend zur Darstellung gelangenden auto-plastischen Implantationsversuche vorausgeschickt.

I. Transplantation der Glandula submaxillaris des Kaninchens in die Bauchhöhle.

Methodik. Es werden erwachsene Kaninchen benutzt. Die Speicheldrüse wird unter aseptischen Kautelen nach der bekannten Methode extirpiert. Sofort nach der Operation wird die Speicheldrüse in die Bauchhöhle desselben Tieres gebracht und in das Mesenterium verlagert und nach 2 bis 15 Tagen wieder operativ entfernt.

Makroskopisch ist nichts Besonderes zu beobachten, die Speicheldrüse ist meist von rundlicher Form und von mesenterialem Bindegewebe umhüllt. Selten trifft man sie auch freiliegend und vom Bindegewebe nicht umgeben; dabei ist zu bemerken, daß die mikroskopischen Befunde in diesen Fällen wenige Regenerationserscheinungen aufweisen.

Die *Präparate* werden in 10 proz. Formalinlösung gehärtet, dann teilweise mit Giemsa-, Unna-Pappenheim- und Van-Giesonfärbung, aber meistens mit Hämalaun und Eosin gefärbt, und unter Umständen wird die Mucicarminfärbung benutzt.

Mikroskopische Befunde. *Nach 2 Tagen:* Im zentralen Teil des Präparates sind noch keine Veränderungen im Parenchym festzustellen; nur in dem der Peripherie genäheren finden sich Zeichen beginnender Nekrose an den Endkammern der Acini.

In dem peripheren Teil sind große Teile des Gewebes der Nekrose verfallen, und nur die Sekretröhrchen mit den Ausführungsgängen haben auch hier *wenig* darunter gelitten. Die gesamte Peripherie ist vom Bindegewebe umgeben und durchsetzt. Eosinophile Leukocyten finden sich auch dabei. Überall aber sieht man noch Gruppen von gut erhaltenen Drüsenzellen.

Nach 3 Tagen: Im zentralen Teil des Präparates sehen wir, daß nekrotische Erscheinungen teilweise eingetreten sind. Wir können hier verschiedene Stadien der letzteren feststellen; überwiegend in den Drüsenzellen sind deutliche Zeichen des Zerfalls zu beobachten, wogegen die Sekretröhrchen und ihre Ausführungsgänge den Absterbeerscheinungen nicht unterliegen.

In den inneren Randzonen ist die Nekrose weiter vorgeschritten, aber auch hier zeigen die Sekretröhrchen und ihre Ausführungsgänge noch keine Veränderungen. Im interstitiellen Bindegewebe sind einzelne fibroblastische und leukocytäre Zellen zu beobachten.

An der äußeren Peripherie ist das Parenchym schon stark von neugebildetem Bindegewebe durchsetzt, bedeutend stärker als im vorigen Präparat. Dabei sehen wir hier vereinzelt in der Nähe von den zugrunde gehenden Zellen solche mit dunklem Protoplasma und intensiv gefärbten Kernen, einige davon mit Mitosen. Diese Zellen gehören den Ausführungsgängen und Endkammern an.

Nach 4—5 Tagen: Das Parenchymgewebe im Zentrum ist nur noch zum Teil erhalten; sonst ist hier die Nekrose stärker vorgeschritten als in dreitägigen Transplantaten. Die Sekretröhrchen sind auch hier gut erhalten. Die innere Zone des peripheren Teiles ist von dem umgebenden Bindegewebe, und zwar großen mononukleären Zellen sowie typischen Bindegewebzellen stark angegriffen, und dort überall finden sich schlauchförmige Gruppen von einzelnen vergrößerten Drüsenzellen von verschiedener Form. Man sieht zwei Arten von Schläuchen: *erstens* größere mit einem beträchtlichen und unregelmäßig gestalteten Lumen, das vom *platten* Epithel ausgekleidet und oft mit Detritusmassen ausgefüllt ist (die verschiedenen Formen derselben sind meiner Meinung nach dadurch zu erklären, daß mehrere noch erhaltene Schläuche miteinander verschmelzen); *zweitens* Schläuche, deren Lumina mit *kubischen* Epithelien ausgekleidet sind. Von diesen setzen sich Zellstränge fort, welche in der Mitte durch Nekrose ein homogenes Aussehen erhalten. Außerdem sieht man epitheliale Zellschläuche mit strukturlosem Inhalt.

Die äußere Peripherie des Transplantates ist vom Bindegewebe umgeben. In der Richtung nach außen zu sieht man einzelne durch dunkler gefärbtes Protoplasma und Kerne auffällige Epithelzapfen mit Mitosen, welche die Form von Zellschläuchen anzunehmen neigen. Außerhalb der Peripherie gibt es im Bindegewebe eosinophile Leukocyten und Plasmazellen.

Nach 6—7 Tagen: Das Parenchym ist im Zentrum teilweise gut erhalten. Das Interstitium ist von Bindegewebsszellen und Leukocyten, besonders Eosinophilen durchsetzt.

Die nekrotischen Erscheinungen in der Peripherie nehmen entsprechend dem Grade der Bindegewebssdurchsetzung zu. In diesem Teil sind die Sekretröhren, welche zu Nekrose neigen, entweder von einer einfachen oder doppelten Schicht von Epithelzellen umgeben, die mitotische Erscheinungen aufweisen und papilläre Auswüchse nach allen Richtungen hin abgeben. Andere Sekretröhren dagegen sind vereinzelt erweitert und kommunizieren untereinander und bilden ein regelmäßig gestaltetes Lumen, welches mit kubischem Epithel ausgekleidet ist. Weiter nach der Peripherie sind große, solide Zellstränge mit mitotischen Erscheinungen zu beobachten. Die Zellstränge sind zum Teil in ihrem Innern nekrotisiert und haben so etwas wie eine Lichtung, Lumen, gebildet. An der alleräußersten Peripherie sind dagegen solide Zellzapfen zu sehen, welche nach außen zu Fortsätzen bilden, welche aus einer einfachen oder doppelten Zellreihe bestehen.

Nach 8—9 Tagen: Im zentralen Teil ist das Parenchym durch die stark zunehmende Durchsetzung mit einwachsendem Bindegewebe, auch Leukocyten, in Lappen geteilt. Es weist teilweise noch gut erhaltenes Gewebe auf. In dem nekrotischen Teil, welcher mehr nach innen zugenommen hat, sind noch Reste von Gewebe in Gestalt einzelner Parenchymzellen, Ausführungsgänge usw. sichtbar, welche Neigung zu Regeneration zeigen. Bei der einen Hälfte der Acini sind die Epithelzellen durch Nekrose verlorengegangen, wogegen in anderen die Zellen dunkel gefärbtes Protoplasma und intensiv gefärbte Kerne zeigen sowie vereinzelt Mitoseerscheinungen aufweisen. Zwischen den zugrunde gegangenen Acini können wir neugebildete solide Zellzapfen beobachten. Die abgestorbenen Sekretröhren sind von einer neugebildeten äußeren Schicht von Epithelzellen umgeben, die vereinzelt Mitosen aufweisen.

Der peripherie Teil ist noch stärker mit Bindegewebe durchsetzt und das neugebildete Parenchym dadurch in Gruppen geteilt. Diese einzelnen Gruppen weisen neugebildete Zellzapfen und Schläuche von verschiedener Größe und Form auf, die von kubischem oder zylindrischem Epithel ausgekleidet sind. Im Bindegewebe, welches die einzelnen Lappen umgibt, sieht man kleine, neugebildete, rundliche oder länglich gestreckte Zellstränge und -schläuche.

Nach 10—12 Tagen: Die ganze Peripherie des Präparates ist von Bindegewebssügen umgeben, die tief nach innen eindringen, so daß das ganze Parenchym von denselben durchsetzt und in einzelne Gruppen geteilt wird (s. Abb. 1). Die Regenerationserscheinungen an der Peripherie setzen sich weiter in der Richtung nach innen fort, und dadurch wird das übriggebliebene Parenchymgewebe ersetzt und verkleinert, wobei in den

Regenerationszonen schon keine Detritusmassen mehr zu beobachten sind. Auch das neugebildete Parenchymgewebe wird von breiten Bindegewebssträngen begleitet.

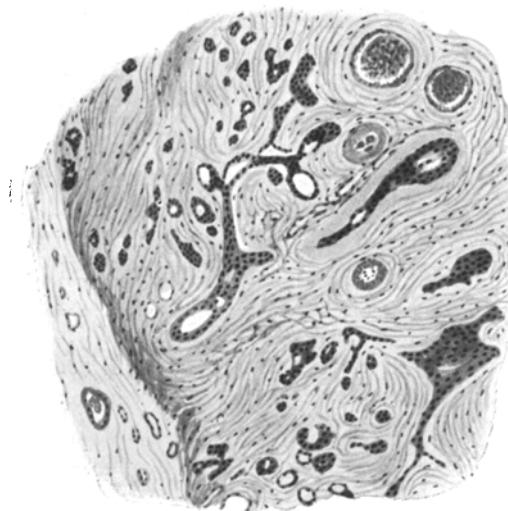


Abb. 1. Transplantierte Speicheldrüse nach 11 Tagen. Neugebildete Zellzapfen und Ausführungsgänge Leitz Obj. 4. Ok. 1.

Im Bindegewebe, welches das Transplantat umgibt und das Parenchym in Gruppen teilt, sind auch vereinzelte Zellschläuche von verästelter, vielgestaltiger, breiter und länglicher Form, deren Lumen mit kubischem Epithel ausgekleidet ist; in der Nähe des letzteren sind einzeln zerstreute kleine Zellgruppen zu beobachten. Im äußeren Teil des Präparates sind Plasma- und eosinophile Zellen zu beobachten.

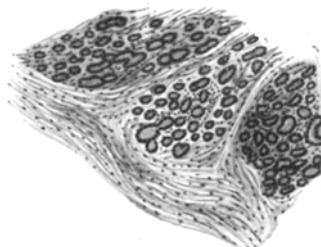


Abb. 2. Transplantierte Speicheldrüse nach 15 Tagen. Neugebildetes Parenchymgewebe an der Peripherie von Bindegewebe in Gruppen geteilt, die kleine Schläuche aufweisen, deren Lumen Kolloidmassen enthalten (auf $\frac{2}{3}$ verkl.).

werden. Die Epithelzellen, welche die Sekretröhren umgeben, sind mehrschichtig und zeigen Regenerationserscheinungen, sie stehen mit denjenigen anderer Sekretröhren in Verbindung. Weiter sind hier neugebildete große Zellschläuche und -zapfen, deren Epithelzellen ver-

In dem regeneratorischen Teil des Präparates beobachten wir folgendes: an der Peripherie sehen wir in der Mehrzahl ausgebildete Schläuche von rundlicher Form, deren Lumen meistens mit kubischen Epithelien ausgekleidet und mit Kolloidmassen (nach 12 Tagen) ausgefüllt sind (s. Abb. 2), während weiter nach innen zu meistens verästelte und langgestreckte Zellzapfen sich befinden, welche in ihrem Innern mit einer homogenen Masse ausgefüllt sind.

Nach 13–15 Tagen: Der zentrale Teil des Präparates weist noch spurenweise erhaltenes Parenchymgewebe auf. Das Bindegewebe hat hier stark zugenommen. In dem neugebildeten Teile des Parenchyms sind nach 13 Tagen schon kleine oder große Zellzapfen zu beobachten, die mit einer homogenen Masse ausgefüllt sind, und unter denen Teilungsfiguren gesichtet

größert und gruppenweise von Bindegewebe umgeben sind, und die miteinander kommunizieren. Nebenan sind noch Schläuche von langer, unregelmäßiger Form zu sehen, deren Lumen mit kubischem Epithel regelmäßig ausgekleidet ist. Es ist anzunehmen, daß diese Formen durch Verschmelzung zweier oder mehrerer Schläuche entstanden sind.

Im peripheren Teil ist das neugebildete Parenchymgewebe von Bindegewebszellen stark durchsetzt und in Gruppen geteilt. Die einzelnen Teile der letzteren weisen viele kleine Zellschläuche auf, welche dicht nebeneinander liegen, und deren Lumen mit Kolloidmassen ausgefüllt sind. Wir können aus ihren Formen schließen, daß ihnen nicht die Möglichkeit gegeben ist, weiter nach außen zu wachsen.

II. Transplantation der Speicheldrüse des Kaninchens in die Niere.

Methodik. Nach der oben beschriebenen Methode wird die exstirpierte Speicheldrüse in die Niere derselben Tiere verpflanzt und die Niere nach 7—15 Tagen wieder zur Untersuchung entfernt.

Makroskopische Befunde. Die Operationswunde der Niere ist glatt geheilt, und die Schnittfläche ist mit der Speicheldrüse, welche äußerlich weiß aussieht, gut verwaschen.

Die Präparate werden hier ebenso wie oben erwähnt fixiert und gefärbt.

Mikroskopische Befunde. *Nach 7—9 Tagen:* Im inneren Teil des Transplantates ist das Parenchymgewebe zum großen Teil nekrotisiert und von Detritusmassen, Bindegewebszellen, Leukocyten ausgefüllt. An dem noch erhaltenen Gewebe sind die Kerne groß und stark gefärbt und zuweilen auch in mitotischer Teilung. Das abgestorbene Parenchym ebenso die Sekretröhren sind von einem ein- oder mehrschichtigen Epithel umgeben, welches in Verbindung mit den naheliegenden Zellzapfen steht.

In der Umgebung der Speicheldrüse ist wenig Bindegewebe zu finden. Hier sieht man viele neugebildete solide Zellzapfen und -stränge in verschiedener Größe. Die mit dem Nierengewebe sich berührenden Teile des Transplantates besitzen solide Stränge von schmal-länglicher Form mit zwei- oder dreifachen Epithelreihen. Hier sind Mitosen zu beobachten. Weiter nach innen zu sind die Stränge lang, dick und mehrschichtig aufgebaut. Nebenbei befinden sich auch große Zellzapfen, deren Mitte mit Zerfallsprodukten ausgefüllt ist. Auch Mitoseerscheinungen sind hier zu beobachten.

Nach 11 Tagen: Der periphere Teil, welcher an das Nierengewebe grenzt, ist stärker von Bindegewebe umgeben und durchsetzt, dabei wird das neugebildete Parenchym in einzelne Gruppen geteilt (s. Abb. 3). An der Peripherie des geteilten Parenchyms sind kleine rundliche oder ovale Schläuche in großer Menge zu beobachten, deren Lumen von kubischen

Epithelien ausgekleidet und mit Kolloid- oder Detritusmassen ausgefüllt sind. Die Schläuche werden von Bindegewebzellen umgeben, die sogar zwischen die Epithelzellen der Schläuche eindringen. Außerdem gibt es hier noch Zellzapfen, deren innerer Teil nekrotisch ist; Mitosen sind nicht zu sehen.

Im inneren Teil des Transplantates finden sich viele solide Zellzapfen von verschiedener Größe und Form; sie sind rundlich, oval oder länglich verästelt. Mitoseerscheinungen sind hier reichlich vorhanden,

und zwar 3—4 in einem Zapfen. Daraus können wir schließen, daß das Wachstum an der Peripherie zum Stillstand gekommen ist, dagegen im inneren Teil, wo das Bindegewebe stark zugenommen hat, das Wachstum noch weiter besteht.

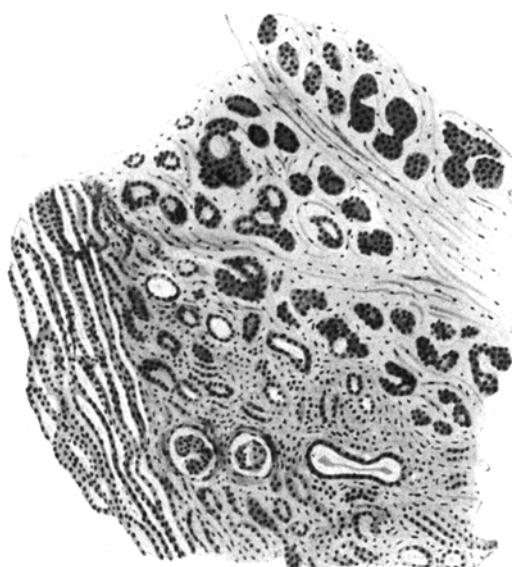
Rings um die abgestorbenen Sekretröhrchen befinden sich ein- oder mehrschichtige Epithelien. Sie stehen in Zusammenhang mit den naheliegenden Zellzapfen. Detritusmassen und eosinophile Leukocyten treten an die Stelle des Parenchyms.

Nach 15 Tagen: Das Bindegewebe hat hier stär-

Abb. 3. In Niere transplantierte Speicheldrüse nach 11 Tagen. Neugebildetes Parenchym durch Bindegewebe [in Gruppen] geteilt. Viele kleine rundliche ovale Schläuche sind hier zu sehen. Leitz Obj. 4. Ok. 1.

ker zugenommen und das neugebildete Parenchymgewebe in Gruppen geteilt. In den einzelnen Gruppen befinden sich viele Schläuche, deren Lumen von verschiedener Größe und Form sind und mit den naheliegenden Zellsträngen in Zusammenhang stehen. Die Zellschläuche befinden sich an der Peripherie gerade dort, wo nach siebentägiger Transplantation erst die Zellstränge zu beobachten sind. Die Zellschläuche sind mit Kolloidmassen und eosinophilen Zellen ausgefüllt. Mitoseerscheinungen sind nicht zu sehen, überall finden sich Plasmazellen und Leukocyten.

Im zentralen Teil des Transplantates ist fast alles nekrotisiert und hier finden sich Detritusmassen, Bindegewebzellen, Leukocyten durcheinander.



Ergebnisse der Transplantation der Speicheldrüse.

Die Speicheldrüse des Kaninchens wurde in die Bauchhöhle desselben (gelegentlich auch in die Niere) transplantiert. Die Veränderungen, die in ihr selbst sowie auch in ihrer Umgebung während 15 Tagen stattgefunden haben, will ich hier kurz zusammenfassend darlegen.

Wir sehen, daß die Speicheldrüse zuerst von Bindegewebe umhüllt wird. Gleichzeitig dringt es in das Innere des Transplantates ein, und hiermit verknüpfen sich zwei Erscheinungen, nämlich 1. die Nekrose und 2. die Regeneration des Parenchyms.

Die Nekrose ist bereits am 2. Tage der Transplantation recht deutlich. Sie betrifft wohl alle Schichten des eingepflanzten Stückes, ist aber sehr bald an der Peripherie besonders sinnfällig, weil die auswaschende Wirksamkeit der Gewebslymphe eine chromatolytische Entfärbung der Zellkerne bewirkt, während im Inneren noch eine für flüchtige Beobachtung recht gute Struktur erhalten ist, wenn auch die Kerne vielfach durch starke Pyknose und z. T. auch Karyorrhexis anzeigen, daß dieser Erhaltungsgrad doch nicht ganz einem Zustand der ungestörten Vitalität entspricht. Ursache dieses allgemeinen Verhaltens ist natürlich in erster Linie der Mangel an Erneuerung des Nährmaterials. Hieran werden sich wohl auch noch andere Faktoren beteiligen können, so mag z. B. das Bindegewebe mit seinen zahlreichen Komponenten nicht unbeteiligt sein, vor allem aber das Liegenbleiben der eigenen Stoffwechselprodukte der Zellen schädlich wirken (s. Lubarsch, Artikel „Brand und Eulenburgs Realencyclopädie“). Genaueres läßt sich hierüber im einzelnen aber vorläufig noch nicht feststellen. Gesichert scheint mir jedoch eine *wachstumsfördernde* Wirkung des Bindegewebes, die darauf zurückzuführen ist, daß auch unter diesen Bedingungen des Experiments das Bindegewebe der Nährstoffträger ist.

Bevor ich auf die Vorgänge der Regenerationserscheinungen eingehe, möchte ich kurz über die bisherigen Ergebnisse der Arbeiten über die Regeneration der Speicheldrüse berichten, die sich mit meiner Arbeit berühren.

Podwyssotsky excidierte kleine Stückchen der Speicheldrüse und fand an den übriggebliebenen Teilen, daß nach dem Eingriff das verletzte Drüsensparenchym teils durch eine Wucherung der Wunde, teils durch partielle Umwandlung neugebildeter Drüsengänge in Drüsensalveolen wieder ersetzt wird.

Ribbert stellte den Umfang, den die Regeneration erreichen kann, durch Ausschneiden großer Speicheldrüsenstücke fest. Er zeigt durch histologische Untersuchungen, daß der Substanzverlust durch neu gebildetes Bindegewebe ersetzt wird, in welchem mit Zylinderepithel ausgekleidete und aus den Ausführungsgängen herausgewachsene Drüsennräume wuchern. Diese treten in baumförmiger Verästelung hervor, und

ihr Ende ist mit Alveolen traubenförmig umgeben. Die neuen Alveolen zeigen einen kleinen Hohlraum und eine runde Form.

Fuckel wiederholte die Versuche von *Ribbert* und konnte die gleichen Beobachtungen feststellen, mit dem Unterschiede, daß seiner Meinung nach die neugebildeten Läppchen den normalen völlig glichen im Gegensatz zu den Angaben *Ribberts*, der keine vollständige Regeneration feststellen konnte.

Carrazo berichtet in seiner Arbeit, daß in den übriggebliebenen Stücken eine Hyperplasie der acinösen Elemente stattfindet, und daß der Regenerationsprozeß nicht zur Neubildung von normalem Parenchym führt. Gleichzeitig mit der Regeneration findet eine Rückbildung des noch erhaltenen Gewebes unter Verlust seiner Funktion statt.

Ribbert und *Lubarsch*, welche die Vorgänge in der transplantierten Speicheldrüse beobachtet haben, sind der gleichen Meinung über die Veränderungen, die dort stattfinden, aber nicht über den Mechanismus ihrer Regeneration. *Lubarsch* nimmt an, daß die Parenchymzellen absterben und an ihre Stelle die Epithelzellen der kleinsten Ausführungsgänge treten. Nach *Ribbert* dagegen sollen die funktionstüchtigen Zellen eine Rückbildung auf eine frühere Entwicklungsstufe erfahren, sich entdifferenzieren und die Epithelzellen der Alveolen eine Form annehmen, die der der ersten Ausführungsgänge entspricht.

Nach den von mir gemachten Untersuchungen sind folgende Ergebnisse zu verzeichnen: Im *peripheren* Teil der Speicheldrüse sieht man schon nach dreitägiger Transplantation eine ziemlich ausgeprägte Nekrose des eigentlichen Parenchyms, dazwischen finden sich hier und da zerstreut liegende Endkammern und noch recht viele erhaltene Ausführungsgänge. Besonders wichtig ist die Tatsache, daß schon in dieser Zeit die noch strukturell gut erhaltenen Endkammern Mitoseerscheinungen aufweisen, und am 4. Tage haben wir schon einige Mitoßen an den erhaltenen Ausführungsgängen beobachtet. Diese in Mitose befindlichen Epithelzellen der Acini und Ausführungsgänge, die vergrößert erscheinen und dunkelgefärbtes Protoplasma mit hellem großen Kern enthalten, vermehren sich und bilden in der Richtung nach außen einzelne Zellgruppen. Durch die weitere Vermehrung dieser Zellgruppen entstehen die soliden Zellstränge von verschiedener Form und Größe, welche auch ihrerseits nach verschiedenen Richtungen Fortsätze senden, wobei am alleräußersten Ende der Stränge einzelne zerstreut gelegene Epithelzellen zu sehen sind. Diese Erscheinungen sind besonders gut im 10—12 tägigen Transplantat zu beobachten. Im 13—15 tägigen Transplantat beobachten wir an den äußeren Enden der soliden Stränge Neigung zur Bildung von Lichtungen. Diese Erscheinung zeigt uns an, daß an diesem Ende die weitere Regeneration zum Stillstand gekommen ist.

Mit dem weiteren Vordringen von Bindegewebe in der Richtung nach innen zu sehen wir auch dort die gleichen Erscheinungen, nämlich daß Nekrose und Regeneration Hand in Hand gehen. So beobachten wir in einem 7 tägigen Transplantat auch Mitoseerscheinungen bei den noch gut erhaltenen Endkammern und kleinen Ausführungsgängen. Besonders deutlich ist es in den Präparaten nach 10 tägiger Transplantation in der Niere zu sehen. An diesen regenerationsfähigen Geweben entstehen auch hier in der oben beschriebenen Weise die Zellzapfen, so daß nach 13—15 tägiger Transplantation das ganze Präparat durch neugebildetes Gewebe ersetzt wird. Die Zellstränge, die das ganze Präparat ausfüllen, beginnen in ihrem Zentrum abzusterben und ein Lumen zu bilden; so entstehen die Schläuche, deren Lumen mit zylindrischen oder kubischen Epithelien ausgekleidet werden und mit Kolloidmassen ausgefüllt sind.

Das ganze Präparat zeigt durch die oben angeführten Veränderungen ein ganz verändertes Aussehen im Gegensatz zu den Befunden von *Fuckel*. Wir können also auf Grund unserer Untersuchungen feststellen, daß einerseits das eindringende Bindegewebe das Absterben des Parenchyms unterstützt, andererseits dem noch widerstandsfähigen Parenchymgewebe Nahrung zuführt und ihm dadurch die Möglichkeit zur Regeneration verleiht. Die Regenerationserscheinungen sind schon an der Peripherie am 3. oder 4. Tage in Form von Mitosen bei den kleinen Ausführungsgängen und Endkammern zu sehen und haben ihren Höhepunkt in 7—10 Tagen erreicht.

Das Bindegewebe, welches die implantierte Speicheldrüse durchsetzt, enthält außer den Bindegewebzellen noch andere Bestandteile wie weiße Blutkörperchen, unter denen die eosinophilen Zellen überwiegen, ferner Plasmazellen und Blutgefäße. Außerdem habe ich gelegentlich eine vitale Carminfärbung am Kaninchen vorgenommen, während welcher eine 7 tägige Transplantation der Speicheldrüse in die Niere gemacht wurde. Dabei konnte ich im Präparat und seiner Umgebung in großem Umfange histiocytiäre Zellen feststellen. Die implantierte Speicheldrüse wird gewissermaßen als Fremdkörper behandelt und vom Bindegewebe umgeben. Dadurch geht ein Teil der Speicheldrüse zugrunde, während die widerstandsfähigen Parenchymzellen nicht nur intakt bleiben, sondern sich zu vermehren beginnen, was nur bis zu einem gewissen Grade möglich ist. Da das Bindegewebe eine hemmende Wirkung auf das Wachstum der Speicheldrüse auszuüben scheint, so habe ich Versuche angestellt, diese zu beseitigen, um zu sehen, wie weit die Speicheldrüse in ihrer Proliferationsmöglichkeit geht. Dazu benutzte ich die *Explantation* der Speicheldrüse.

III. Die Explantation der Speicheldrüse.

Methodik. Ich gebe die von mir angewandte Züchtungsmethode an, deren Technik im Vergleich zu *Carrel* etwas abgeändert worden ist,

da ich die Züchtung im hängenden Tropfen nicht verwenden konnte, weil die betreffenden Blutmengen unzureichend für meine Versuche waren. Ich habe folgende zwei Methoden angewendet: erstens eine von mir selbst ausgearbeitete, die ich als Uhrschallmethode bezeichnet habe. Sie besteht darin, daß ich in eine Glasuhrschale ein ganz kleines Stückchen der Speicheldrüse legte, sie mit ungefähr 6—8 ccm Blutplasma füllte und mit einer anderen Glasuhrschale zudeckte, die mit Paraffin hermetisch abgeschlossen und im Brutofen bei 37—38° C aufbewahrt wurde.

Die zweite Methode, die ich anwendete, stammt von *Kuczynski* und wird von ihm als Kammermethode bezeichnet. Zur Aufbewahrung des Blutplasmas für das Explantat verwendete ich ein paraffiniertes Zentrifugenrörchen, das in folgender Weise vorbereitet wurde:

In das Zentrifugenrörchen werden einige Stückchen Paraffin hineingelegt, dann das offene Ende durch eine Gummikappe abgeschlossen und 2 Stunden lang in Volldampf erwärmt. Um die Ausdehnung oder Sprengung der Kappe durch den Luftdruck zu vermeiden, wird eine Spritzkanüle in die Kappe eingesetzt, um der ausgedehnten Luft einen Ausgang nach außen zu verschaffen. Nach Ablauf von 2 Stunden wird das Rörchen herausgenommen, langsam bewegt, bis das verflüssigte Paraffin sich überall gleichmäßig verteilt, und dann noch einige Kubikzentimeter Paraffinöl zugesetzt und im Eisschrank aufbewahrt. Das Blut wird mit einer Injektionsspritze aus dem Herzen des Tieres entnommen und sofort in die auf Eis stehenden Rörchen hineingebracht und 4—5 Minuten lang zentrifugiert. Es bilden sich dabei 3 Schichten, nämlich ganz oben eine Paraffinölschicht, in der Mitte eine gelblich helle Blutplasmaschicht und ganz unten eine Blutzellenschicht. Mit einer Spritze wird das Blutplasma entnommen und in die oben beschriebene Glasuhrschale gebracht. Das Explantationsgewebe wird von erwachsenen Tieren entnommen; im Gegensatz zu *Harrison, Carrel* u. a., die dazu ausschließlich junge Tiere verwendeten, benutzte ich erwachsene Tiere, deren Gewicht zwischen 1,5 und 2,8 kg schwankte. Ich habe zu der Aussaat Gewebstückchen von verschiedener Größe angewendet und dabei die Erfahrung bestätigt gefunden, daß je kleiner das Stückchen ist, um so besser seine Regeneration ausfällt. Ich konnte feststellen, daß die Wachstumserscheinungen bei verschiedenen Gewebsstückchen nicht gleichmäßig auftraten. Bei einem Gewebsstückchen konnte man bedeutende Wachstumserscheinungen beobachten, während diese zu gleicher Zeit bei anderen Stücken noch vollständig fehlten. Diese Erscheinungen sind von den Wachstumsbedingungen, von der Größe des Gewebsstückchens, von der Lebensfähigkeit seiner Zellen und von dem umgebenden Blutplasma abhängig.

Um festzustellen, wie weit dabei das Wachstum bei den Gewebszüchtungen vor sich gehen kann, wurden verschiedene Arten der

Explantation gemacht: Auto-, Homoio-, Hetero- und zuletzt Auto-Heteroexplantation. Die dadurch erhaltenen Resultate zeigen, daß bei der Homoiotransplantation die Neubildungen in gleicher Weise wie bei der Autoexplantation vor sich gehen; nur geht das Wachstum hier langsamer vor sich, und dadurch sind die Neubildungen nicht in solchem Umfang vorhanden wie bei der Autotransplantation. Bei der Heteroexplantation, wo die Speicheldrüse eines Meerschweinchens in das Blutplasma eines Kaninchens explantiert wurde, sind keine positiven Resultate erhalten worden. Deshalb sind Versuche mit der Auto-Heteroexplantation angestellt worden. Dabei wird das Blutserum eines Meerschweinchens, dessen Speicheldrüse als Explantat benutzt wird, in die Blutbahn eines Kaninchens gebracht, und nach Ablauf von 2—3 Stunden wird das gemischte Blutplasma entnommen und als Medium für das Explantat verwendet. Auch hier waren die Resultate nicht befriedigend, doch zeigte sich nach Ablauf von 7—9 Tagen, daß das Zentrum des Präparates gänzlich verwischt war und nur an seiner äußeren Peripherie längliche, facettierte Zellstränge, welche keine Wachstumserscheinungen aufwiesen, zu sehen waren. Die Bindegewebsszellen, welche in das Blutplasma eingedrungen waren, sind bald der Nekrose anheimgefallen. Da die Resultate dieser Versuche keine große Bedeutung haben, gebe ich hier nur die Befunde der Autoexplantation an.

Makroskopische Befunde. Die Gewebskulturen habe ich gewöhnlich nach 3—4 Tagen angesehen und dabei eine Bewölkung der Umgebung beobachtet. Nach 7—8 Tagen konnte ich schon mit bloßem Auge einige Stränge feststellen, welche sich mikroskopisch als hornartige Auswüchse aus dem Explantat erwiesen.

Die Gewebskulturen werden durch Sublimatessig oder Susalösung fixiert, gelegentlich wird 30 proz. Formalinlösung dazu benutzt.

Die Präparate sind durchweg mit Hämalaun und Eosin gefärbt.

Mikroskopische Befunde. *Nach 2 Tagen:* Im zentralen Teil ist das Parenchym noch gut erhalten; nur manchmal beobachtet man chromatinreiche Kerne, von denen manche mit Kernauswanderungssprossungen versehen sind, was als Vorstufe der Nekrose anzusehen ist.

Bei schwacher Vergrößerung zeigt der äußere Rand des Präparates (Abb. 4) eine tiefere Blaufärbung als das übrige innere Gewebe. Bei starker

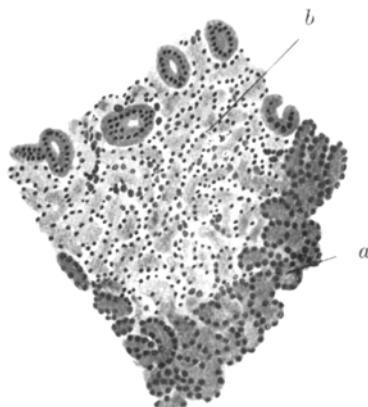


Abb. 4. Explantation nach zwei Tagen.
Leitz Obj. 6. Ok. 1.

Vergrößerung sieht man, daß hier die Kerne heller und größer sind und das Protoplasma eine tiefblaue Färbung aufweist.

An der äußeren Schicht des Explantats sind einige Parenchymzellen zu bemerken, die plasmaartige Sprossungen im Plasma geben; und vergrößerte Bindegewebszellen sind an der Peripherie zu beobachten, welche auch Anfänge von Sprossungen im Blutplasma aufweisen.

Nach 3—4 Tagen: Die nekrotischen Erscheinungen im zentralen Teil haben etwas zugenommen. Der periphere Teil ist fast vollständig nekrotisiert, nur sind vereinzelte, zerstreut liegende Parenchymzellen-

gruppen zu finden, deren Epithelien vergrößert und rundlich-oval sind. Einzelne von diesen Epithelien sind im Begriff, in das Blutplasma einzuwandern; zwischen diesen liegen hier und da mononukleäre Bindegewebszellen.

Neben den Sekretröhrchen sind noch guterhaltene Ganglienzenlen zu beobachten.

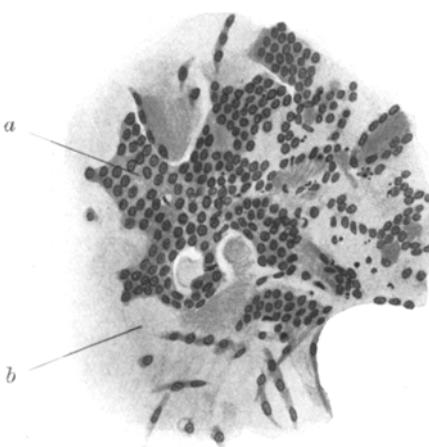
Im Blutplasma, ganz in der Nähe der Peripherie des Explantates, sind nur wenige ausgewanderte mononukleäre Bindegewebszellen sichtbar.

Nach 5 Tagen: Im Zentrum ist das Parenchym fast vollständig nekrotisiert. In der Nähe

Abb. 5. Explantierte Speicheldrüse nach 5 Tagen. Zellsprossungen in das Blutplasma, von Epithelanhäufungen ausgehend. Leitz Obj. 6. Ok. 1 (auf $\frac{2}{3}$ verkl.)

der Peripherie sind die Sekretröhrchen von einer einschichtigen Zellreihe umgeben, die hier und da Mitose aufweist. An der Peripherie sind sehr viele Epithelzellen angehäuft, von denen manche ein blaugefärbtes Protoplasma und große helle Kerne haben. Außer diesen strukturlosen Anhäufungen finden sich solche, die der Struktur der normalen Endkammern ähnlich sind.

Die Epithelschicht, welche die abgestorbenen Sekretröhrchen umgibt, steht mit den Zellenanhäufungen der Peripherie in Verbindung. Aus der äußeren Peripherie, wo sich die Zellenanhäufungen finden, gehen kleine Sprossungen in das Blutplasma. Außerdem finden sich versprengte einzelne Epithelzellen oder Gruppen von 3—4 Epithelien, wobei sie zum Teil mit Bindegewebszellen gemischt sind. Die Bindegewebszellen, welche sich im Plasma finden, sind spindelförmig und mit vergrößertem Kerne. *Dort, wo sich neugebildetes Epithel im Blutplasma (Abb. 5) findet, ist wenig neugebildetes Bindegewebe zu finden.*



Nach 6 Tagen: Im zentralen Teil ist das Parenchymgewebe fastnekrotisiert, während die Sekretröhrchen noch zum Teil erhalten sind. In der Peripherie befinden sich vereinzelt noch gut erhaltene Teile zwischen den größeren nekrotisierten Partien, welche teils strukturlos sind und teils den Bau eines Acinus noch erkennen lassen.

Im Blutplasma, in der Nähe der Peripherie, sieht man einige oder mehrere Epithelgruppen, welche miteinander in keinem Zusammenhang stehen. An einer Stelle des Explantates finden sich große langgestreckte Bindegewebsstränge, welche im Blutplasma auslaufen; zwischen ihnen liegen kleine Zellgruppen von Epithelien und auch größere Ansammlungen der letzteren zerstreut, welche zackige und steile Ränder aufweisen. Hier sind Mitoseerscheinungen zu beobachten. Die Zellzapfen, welche im Blutplasma liegen, bestehen aus parallel geordneten, großen, länglichen Zellen, deren Kerne stets vergrößert und hell gefärbt sind; die oft Mitoseerscheinungen aufweisen. Unter diesen Zellen trifft man manchmal kleinere ellipsoide Epithelzellen an, die große, sich gut mit Hämatoxylin färbende Kerne enthalten. Aus den zackigen Rändern der Zapfen wachsen schmalgestreckte Ausläufer in das Plasma hinein.

Nach 7 Tagen: Im peripheren Teil, dicht an der Grenze des Plasmas, sehen wir zerstreut gelegene große und kleine Zellgruppen, die noch zum Teil eine acinöse Form besitzen oder ganz strukturlos sind.

Außerdem sieht man an der ganz äußersten Peripherie einige Hohlräume, die mit einschichtigen Plattenepithelien ausgekleidet sind. Sie entsprechen hier den erweiterten Ausführungsgängen.

Vom Rande des Explantats der Peripherie entlang gehen Fortsätze von den vergrößerten Zellengruppen aus, die aus 3—4 Zellreihen bestehen; sie verdicken sich an ihrem Ende und gehen als kleine Ausläufer in das Plasma hinein. Die Enden dieser Ausläufer sind von einer dicken unregelmäßigen Gestalt und weisen viele Mitoseerscheinungen auf. Die Zellen an den verdickten Stellen sind länglich und parallel angeordnet und haben die Neigung, weiter zu wachsen. Aus anderen Zellgruppen gehen auch in das Blutplasma Sprossungen hinein, welche einen geschlängelten Verlauf nehmen und an verschiedenen Stellen Verdickungen zeigen, die hier und da Mitoseerscheinungen aufweisen. In der Nähe derselben sieht man einen Hohlräum, der mit einschichtigen Epithelzellen ausgekleidet ist. Andere Zellsprossungen dringen tief in die Hohlräume des Blutplasmas ein und bilden hier ihrerseits große solide Zellenhäufungen. Die Epithelzellen dieser Neubildungen sind bedeutend größer als die des Explantats, mehr von länglicher Form und besitzen Kernkörperchen. Auch das Bindegewebe des Explantats wächst in langgestreckter Form in das Plasma hinein; es geht manchmal parallel mit den Epithelzellen, aber sonst zeigt es ein starkes Wachstum in den Teilen, wo das Epithelgewebe sich am wenigsten vermehrt und aus-

breitet. Diese Erscheinung kann man in den verschiedenen Präparaten beobachten.

Nach 8 Tagen: Der zentrale Teil des Präparates zeigt teilweise keine Veränderungen auf. Die Nekroseerscheinungen nehmen in der Richtung zur Peripherie zu. An der Peripherie liegen zerstreut noch guterhaltene Zellenanhäufungen, welche große helle Kerne besitzen. Aus diesen Anhäufungen gehen in das Plasma verschiedene Fortsätze aus. Wir sehen schmale längliche Fortsätze und nebenbei auch mit breiter Basis beginnende größere Fortsätze, deren Zellen groß, länglich-oval und parallel in der Richtung nach außen angeordnet sind. Ihre Kerne sind doppelt so groß wie diejenigen an der Peripherie. Diese Fortsätze verzweigen sich bald im Plasma, und zwar nach zwei Richtungen hin; die eine geht der Peripherie entlang, die andere in der Richtung nach außen. In ihrem Verlaufe verdicken sie sich allmählich, und am Ende sind sie schon flächenartig verdickt und mit regelmäßigen, zackigen Rändern versehen. Aus diesen zackigen Stellen gehen Zellstränge nach allen Richtungen aus, welche ihrerseits Sprossungen abgeben, mit den ersteren in Zusammenhang stehen und bei schwacher Vergrößerung eine wolkenartige Form annehmen. An verschiedenen Stellen sind reichliche Mitoseerscheinungen zu sehen; so trifft man in einem Gesichtsfelde bis 10 Mitosen.

Dort, wo das Parenchymgewebe regeneriert, fehlt eine starke Wucherung des Bindegewebes, und umgekehrt findet sie sich an Stellen mangelhafter epithelialer Wucherung.

Nach 9 Tagen: Das Parenchym im Zentrum ist noch spurenweise erhalten und läßt seine Struktur erkennen. Im peripheren Teil hat die Nekrose dagegen bedeutend zugenommen; dabei sind noch einzelne Zellgruppen zu finden, bei welchen die Form der Endkammern noch erhalten zu sein scheint. Von diesen Zellgruppen sprossen einzelne Epithelzellen oder Anhäufungen derselben in das Blutplasma hinein und verzweigen sich dort; jeder der Endäste dieser Zweige hat im Plasma eine kolbenartige Verdickung.

An der anderen Seite breiten sich die Sprossen im Plasma nicht geradlinig, sondern kreisförmig aus, die Hohlräume des Blutplasmas umgebend; dabei sind sie ein-, zwei- und mehrschichtig angeordnet und weisen Mitoseerscheinungen auf. Meines Erachtens sind die Hohlräume im Blutplasma dadurch entstanden, daß das eindringende Epithel und Bindegewebe das Plasma verdrängt. Außerdem sind, unabhängig von der Sprossung, noch Zellzapfen von vielgestaltiger Form zu beobachten, deren Epithelien rund und facettsartig angeordnet sind. Neugebildetes Bindegewebe findet sich meistens dort, wo kein oder wenig neugebildetes Parenchym zu sehen ist.

Nach 10 Tagen (s. Abb. 6): Der zentrale Teil des Parenchyms ist fast vollständig abgestorben. Im peripheren Teil beobachten wir zwischen

größeren nekrotischen Partien vereinzelt noch guterhaltene Teile, welche inselförmig zerstreut liegen. Sie entsprechen manchmal den Acini und Ausführungsgängen, deren Kerne hell, vergrößert und rundlich sind, deren Protoplasma dagegen mehr blau gefärbt ist. Außerdem findet man hier kleine Schläuche, deren Lumina mit Zylinder- oder kubischem Epithel ausgekleidet sind. Die noch erhaltenen Sekrettröhrchen sind vereinzelt von einem ein- oder mehrschichtigen Epithel umgeben, dessen Zellen an einer Seite starke Verdickungen aufweisen. Aus der Peripherie gehen Parenchymzellgruppen mit Bindegewebe gemischt in das Plasma hinein. An einer Seite des Präparates findet sich reichliches neugebildetes Bindegewebe, das sich breit anordnet, und zwischen dem zerstreut gelegene Epithelzellstränge sich befinden. An ihrem äußeren Ende hat sich eine 3—4 zellige Epithelschicht kammartig angeordnet. Aus diesen kammartigen Epithelschichten gehen anfangs einzelne Sprossungen hervor, welche sich an ihren Enden bedeutend verdicken. Wenn man die Serienschnitte des Präparates verfolgt, so kann man beobachten, daß die zerstreut gelegenen Zellstränge mit den am äußeren Ende des Bindegewebes liegenden sich im Zusammenhang befinden. Wir schließen daraus, daß das Epithelgewebe das Bindegewebe durchwächst und sich noch weiter verbreitet. An einzelnen Stellen finden sich Bindegewebsteile, welche von Epithelzellen umgeben und abgeschlossen sind.

Aus der anderen Seite des Präparates gehen Sprossungen von der Peripherie aus. In ihrem Verlauf verdicken sie sich und aus diesen Verdickungen gehen wiederum schmale ein- oder zweireihige Zellsprossungen hervor, welche die kleinen Hohlräume des Plasmas umgeben, sich untereinander verzweigen und in Verbindung miteinander stehen. Wir können hier auch beobachten, wie einzelne Sprossungen im Begriff sind, einen großen Hohlraum zu umgeben.

Nach 11 Tagen: Im zentralen Teil ist das ganze Parenchym nekrotisiert; auch im peripheren Teil ist die gleiche Erscheinung zu beobachten;

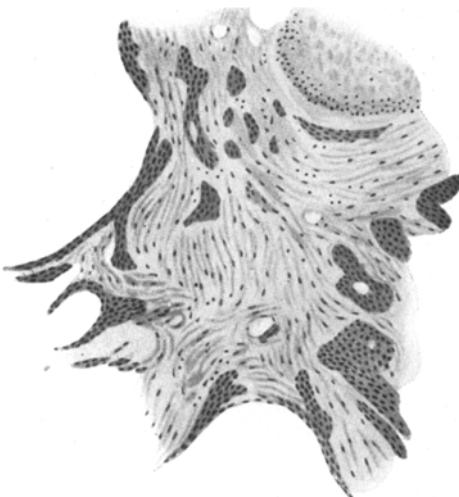


Abb. 6. Explantierte Speicheldrüse nach 10 Tagen. Reichliches neugebildetes Bindegewebe mit zerstreut gelegenen Zellsträngen in Blutplasma. Der äußere Rand des neugebildeten Bindegewebes ist von einer mehrzeiligen Epithelschicht umgeben, die kammartig angeordnet ist. Leitz Obj. 4. Ok. 4 (auf $\frac{1}{2}$ verkleinert).

nur einzelne strukturlose Teile sind noch zu sehen. Die Epithelkerne sind etwas vergrößert, meist von ovaler Form, hell, und das umgebende Protoplasma ist mehr bläulich gefärbt. Von diesen noch gut erhaltenen Gebilden gehen einzelne Epithelzellen in das Blutplasma über. Im übrigen gehen aus einer Ecke des Präparates Zellsprossungen heraus, die sich ebenso in ihrem Verlauf verdicken und den Hohlraum umgeben. In diesem Präparat ist das Explantat von neugebildeten Bindegewebszellen umgeben, dazwischen finden sich Zellzapfen verschiedener Größe und Form. Sie bilden ihrerseits Sprossungen, welche die Hohlräume des Blutplasmas umgeben. An manchen Stellen weisen sie Verdickungen auf, wo Mitosen zu beobachten sind.

Außerhalb der neugebildeten Bindegewebsschicht finden sich wiederum große, dicke, geschlängelte Zellstränge, die ihrerseits schmale Ausläufer nach außen geben. In der Nähe der dicken Stränge finden sich rundliche, längliche und unregelmäßig angeordnete kleine Zellzapfen, ferner schmale (1—2 zellreihige) Zellstränge. Die Epithelien der Zellstränge und der kleinen Zellzapfen weisen Mitosen auf.

Nach 12 Tagen: Der zentrale Teil ist gänzlichnekrotisiert. An der Peripherie liegt noch erhaltenes Parenchymgewebe zerstreut, strukturlos angeordnet, mit vergrößerten, ziemlich hellen Kernen und blaugefärbtem Protoplasma.

An einer Stelle des Randes befindet sich eine ein- oder zweizellreihige neugebildete Epithelschicht. Aus den Ecken des Explantats, wo meistens das Parenchym noch erhalten ist, laufen im Blutplasma verschiedenartige Sprossungen aus. So beobachteten wir stielartige Ausläufer, anfangs schmal und lang, zuletzt die Form von Zellanhäufungen annehmend und sich stark erweiternd. Besonders an diesen verdickten Stellen sind die Zellen dicht und parallel angeordnet und mit großen Kernen versehen. Aus den Enden dieser Zellverdickungen gehen wiederum kleine Ausläufer hervor.

Neben diesen Gebilden gibt es noch andere Zellsprossungen in Form komplizierter, dicker, langer Stränge, welche dichotomische Teilungen und dendritische Verzweigungen aufweisen. In ihrem Verlauf sind sie nicht ganz gleichartig aufgebaut, so sind sie zum Teil ein- oder zweischichtig angeordnet und weisen auch in vielen Stellen Verdickungen auf. Außerdem sehen wir hier noch Ausläufer, welche sehr lang sind und Hohlräume umsäumen; dabei ist die Zellschicht an einer Seite sehr verdickt (9—10 Zellreihen), während sie an der anderen Seite nur ein- oder zweireihig ist. Neugebildetes Bindegewebe ist reichlich nur an denjenigen Stellen vorhanden, wo wenig neugebildetes Parenchym sich befindet.

Nach 13 Tagen: Der zentrale Teil ist fast vollständig zerfallen. An der Peripherie ist noch erhaltenes Parenchymgewebe zu sehen, dabei sind teilweise die Zellen regelmäßig geordnet.

Ein Teil des Explantates ist von einer ein- oder zweireihigen Zellschicht umgeben, welche mit den noch erhaltenen Zellanhäufungen desselben in Verbindung steht, und an ihren Enden sich verdicken und im Blutplasma eindringen.

Aus der Seite, wo sich die Epithelschicht befindet, geht eine sehr große Zellsprossung hervor, fast die Größe des Explantats übersteigend (s. Abb. 7). Die Zellen dieser Sprossung sind groß, ebenso ihre hellen Kerne, die parallel angeordnet sind und Mitosen aufweisen. Sie steht mit den



Abb. 7. Explantierte Speicheldrüse nach 13 Tagen. Leitz Obj. 1. Ok. 1.

in das Blutplasma vorgeschobenen Epithelzellen in Verbindung, die der peripheren Schicht entstammen. Im Inneren der Zellsprossung ist ein lockeres Bindegewebe zu beobachten. Wenn man die Serienschnitte dieses Gebildes verfolgt, so kann man dessen Aufbau genau verfolgen. Zuerst treten Epithelstränge in Verbindung miteinander und umkreisen dergestalt das neugebildete Bindegewebe. An einer Seite der Zellsprossung, deren Rand eine zackige Form besitzt, sehen wir viele kleine Ausläufer, dagegen an der entgegengesetzten Seite langgestreckte und dicke. Die Endprossungen dieser Ausläufer, welche sich ziemlich weit vom Explantat entfernt befinden, sind etwas verdickt. Von der entgegengesetzten Seite des Explantats gehen verdickte Zellstränge aus, die der Form nach verschieden sind; so umgibt ein Teil der Stränge die Hohlräume im Blutplasma und weist in seinem Verlauf verschiedenartige Verdickungen auf. Andere laufen breitbasig beginnend als konisch ver-

jüngste Stränge, die sich im Blutplasma teilen und in ihrem Innern Bindegewebe enthalten (s. Abb. 8). Im Blutplasma findet sich meistens reichliches neugebildetes Bindegewebe, wohingegen nur wenige neugebildete Zellzapfen vorhanden sind.

Versuche, die Explantate der Speicheldrüse durch Passagen zu führen.

Zweite Passage.

Nach 20 Tagen: Man beobachtet hier zerstreut liegende abgestorbene Sekretröhrchen, in deren unmittelbarer Umgrenzung sich eine ein-



oder mehrzeilige Schicht von abgeplattetem Epithel befindet. Sie fällt durch ihre zarte Blaufärbung gegenüber dem rötlichen abgestorbenen Gewebe auf. Zuweilen zeigt der eine Teil der Wandung Absterbeerscheinungen, während sich an der gegenüberliegenden Seite noch gut erhaltenes ein- oder mehrschichtiges Epithel befindet. Dieses steht öf-

Abb. 8. Vergrößertes Stück von Abb. 6. Neugebildetes Bindegewebe, umgeben und eingeschlossen von Epithelgewebe. Leitz Obj. 6. Ok. 1 (auf $\frac{2}{3}$ verkl.).

ters mit den in der Peripherie liegenden Zellenanhäufungen in Verbindung, die von verschiedener Form und Größe sind.

Der äußere Rand des Explantates ist von einer Zellschicht aus 3—4 Reihen umgeben; dabei sind einzelne Stellen derselben ziemlich stark verdickt und mit Bindegewebzellen gemischt. Auch diese verdickten Stellen stehen manchmal mit den Zellenanhäufungen in Verbindung, welche die abgestorbenen Sekretröhrchen umgeben.

Die an der Peripherie liegende Epithelzellenschicht weist in ihrem Verlauf eine verschiedenartige Anordnung der sie zusammensetzenden Zellen auf. Die innerste Schicht besteht aus kleinen, rundlichen, dicht angeordneten Epithelzellen mit dunkel gefärbtem Kern; dagegen diejenige Schicht, welche an das Blutplasma grenzt, besteht aus großen, locker angeordneten Zellen, die runde, mehr ovale Form zeigen, parallel nach außen gerichtet sind und einen hell gefärbten Kern besitzen. Außerdem haben sie Neigung, aus dem Zellenverband sich zu lösen. Diese Zellenanordnung und Form ist deutlich an verschiedenen Teilen der Epithelschicht zu beobachten.

Aus der verdickten Schicht der Peripherie gehen in das Blutplasma mehrere Zellsprossungen hinein; unter diesen befinden sich solche von breiter und sehr langer Ausdehnung, die einen geschlängelten Verlauf

haben. In ihrem Verlaufe treffen sie sich, schließen einen da sich befindenden Hohlraum ab und gehen dann wieder auseinander. Auch diese Sprossungen zeigen keine Einheitlichkeit in ihrem Verlauf, ein Teil von ihnen hat verdickte Stellen, welche aus großen zylindrischen und dicht angeordneten Zellen bestehen. Hier finden sich zahlreiche Mitosen. Innerhalb des anastomosierenden Epithelbalken findet sich Bindegewebe.

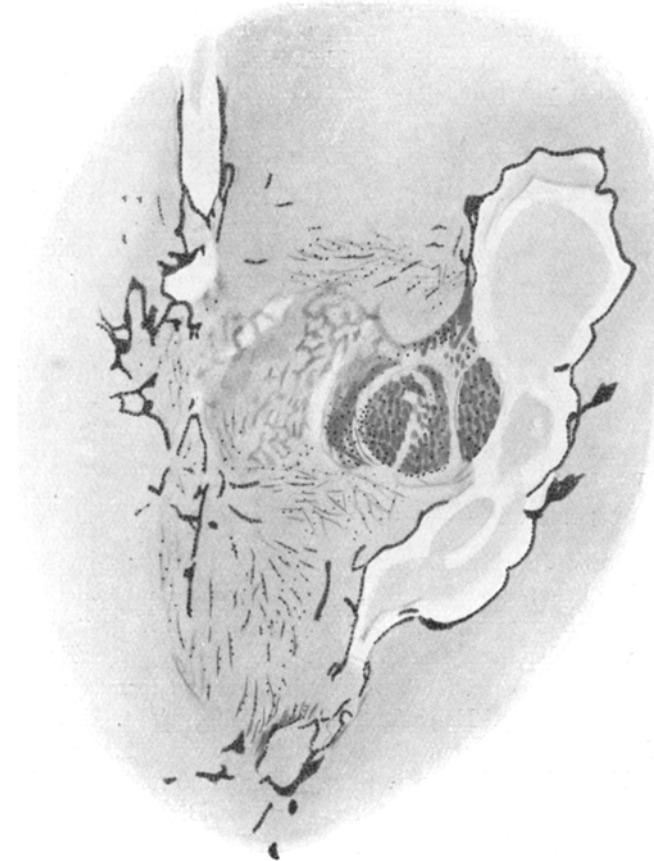


Abb. 9. Explantierte Speicheldrüse nach dritter Passage. Leitz Obj. 1. Ok. 1.

Das epitheliale Netzwerk ist gegenüber den ursprünglichen Explantaten erheblich gewachsen.

Außer diesen Sprossungen finden sich noch solche von länglicher Form und geschlängeltem Verlauf, welche auch ihrerseits Ausläufer von sich geben.

Dritte Passage.

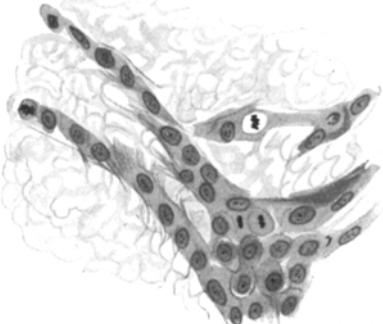
Nach 40 Tagen (s. Abb. 9): An der Peripherie des Explantats ist das Parenchym noch spärlich erhalten. Das Explantat wird von vielen Hohl-

räumen, die eine verschiedene Größe haben, umgeben. Manche Hohlräume sind entweder größer oder ebenso groß wie das Explantat und liegen meistens in der Nähe des Explantates. Das neugebildete Epithel steht in keinem Zusammenhang mit dem Bindegewebe. Aus einer Seite des Explantats gehen schmale lange Sprossungen in das Blutplasma, die meist einschichtig aufgebaut sind. In ihrem Verlauf umgeben sie die Hohlräume. Sie sind von ein- oder mehrreihigen Epithelschichten umgeben. Von den Rändern der Hohlräume gehen zuweilen verzweigte Ausläufer in der Richtung nach außen ab. Die Epithelzellen sind innerhalb der verdickten Stellen palisadenartig nach außen gerichtet und weisen hier reichliche Mitosen auf (s. Abb. 10).

Von diesen verdickten Stellen gehen daher Verzweigungen aus, die sich wiederum gabeln.

Außerdem befinden sich weit vom Explantat entfernt Zellstränge und -Zapfen, welche gleichfalls miteinander in Zusammenhang stehen. Auf der anderen Seite des Präparates finden sich Sprossungen, welche mit dem übernommenen Reste des ursprünglichen Explantates in keinem Zusammenhang stehen; sie sind meistens ein- oder höchstens zweireihig angeordnet.

Abb. 10. Vergrößertes Stück von Abb. 8. Neugebildete Epithelstränge mit Mitosen. Leitz Obj. 6. Ok. 1.



Sie haben ganz verschiedene Formen; so beobachten wir meistens längliche, geschlängelte, welche keinen einheitlichen Verlauf haben und stellenweise verdickt sind. Auf ihrem Wege verzweigen sie sich und verbinden sich miteinander. An den äußeren Enden dieser Verzweigungen finden sich ebenfalls kleine gleichartige Zellzapfen sowie auch vereinzelte Epithelzellen oder Zellgruppen.

Das Bindegewebe ist nur dort reichlich vertreten, wo wenig neugebildetes Epithel sich befindet. Jedenfalls hängt das epitheliale Wachstum in den Passagen keinesfalls von dem des Bindegewebes ab. Auch Uhlenhuth glaubte bei seinen Versuchen am Frosch einen entsprechenden *Antagonismus zwischen dem Wachstum von Epithel und Bindegewebe* annehmen zu müssen.

Ergebnisse der Explantation der Speicheldrüse.

Bei der Durchsicht über alle Präparate kann man feststellen, daß bei der Explantation der Speicheldrüse zwei Vorgänge sich abspielen, welche das mikroskopische Bild beherrschen: erstens die Nekrose, zweitens die Regeneration. Diese beiden Erscheinungen treten nicht gleichzeitig auf; so zeigt sich sogar ein und dieselbe nicht immer gleichmäßig. Dies hängt

von der Größe des Explantatstückchens, von dem Ernährungszustande des Plasmas und anderen zum großen Teil unbekannten Faktoren ab. Das Wichtigste, was zuerst am Explantat beobachtet wird, ist die Veränderung der Epithelzellen, welche sich an der äußeren Peripherie befinden. Die Zellen vergrößern sich, nehmen eine rundlich ovale Form an und haben im Hämalaunpräparat ein blau gefärbtes Protoplasma mit einem vergrößerten hellen Kern. Diese Erscheinungen lassen sich schon am zweiten Tage gut beobachten.

Zweifellos stirbt frühzeitig im Explantat die große Mehrheit der epithelialen Zellen ab. Vom 4. Tage an zeigt sich schon in der Peripherie eine gürtelförmige chromatolytische Zone, welche diesen Vorgang sehr sinnfällig gestaltet, während im Zentrum die Zellstruktur bis auf die pyknotischen Kerne noch verhältnismäßig wohl erhalten erscheint.

Inzwischen haben sich die oben beschriebenen Epithelzellen in Zellstränge oder -Zapfen gruppiert, welche in ihrem Bau den Ausführungsgängen und der Endkammer des normalen Gewebes entsprechen. Mitosen sind bei diesen Zellgruppen sehr selten zu finden.

Neben den verzweigten Zellzapfen beobachten wir im Blutplasma selbständig wachsende Zellgruppen, welche aus versprengten Zellen der sprossenden Zapfen herstammen. Sie stehen mit diesen in keiner Verbindung mehr.

Die Vorgänge des weiteren Wachstums bei beiden Arten äußern sich zuerst in einer Verdickung des einwachsenden Teiles und dann in einer Verzweigung desselben, wobei die eine Hälfte das Explantat umkreist, während die andere Hälfte sich gerade weiter im Blutplasma ausbreitet und Sprossen von sich abgibt. Diese Sprossungen nehmen eine ungleiche Form und Richtung in ihrem Verlauf an. Was den Zustand der neugebildeten Epithelzellen betrifft, so kann man beobachten, daß die Epithelzellen im Blutplasma von anderer Form als die im Explantate sind. Sie sind um mehr als das Doppelte vergrößert, gleichförmig von länglich-ovaler Form und mit blau gefärbtem Protoplasma und Zellkern versehen. Nach 12—13 Tagen hat das Wachstum im Plasma seinen Höhepunkt erreicht und ist sehr deutlich zu beobachten.

Was die Beziehung zwischen den Epithelzellen und dem Bindegewebe in bezug auf das weitere Wachstum betrifft, so konnte folgendes festgestellt werden. Ein Teil der Epithelzellen wächst im Blutplasma ganz ohne Bindegewebe und zeigt dabei anscheinend ein bedeutend schnelleres Wachstum als jene Epithelzellen, welche in ihrem Wachstum von Bindegewebszellen begleitet sind. In der zweiten Woche der Explantation findet man an einzelnen Stellen reichliches Bindegewebe, in dessen Inneren sich Epithelstränge befinden. Der äußere Rand ist von einer wachsenden mehrreihigen Epithelschicht umgeben, die kammartige Ausläufer abgibt (Abb. 5). Nach 11 Tagen sehen wir in dem reichlich

vermehrten Bindegewebe noch mehr neugebildete Zellzapfen zerstreut liegen, und oberhalb dieses Bindegewebes befinden sich mehrere vergrößerte vielgestaltete Zellstränge, von denen Sprossungen nach allen Richtungen hin ausgehen.

Nach 13 Tagen ist das neugebildete Bindegewebe gänzlich von proliferierenden Epithelschichten umgeben und eingeschlossen.

Aus diesen Befunden läßt sich schließen, daß die Epithelgruppen ohne Begleitung des Bindegewebes ein schnelleres Wachstum aufweisen als diejenigen, welche vom Bindegewebe umgeben sind; zweitens, daß dasjenige Epithelgewebe, welches gemeinsam mit dem Bindegewebe wächst, das Bestreben aufweist, immer das Bindegewebe zu durchwachsen, und es dann einzuschließen und selbst weiter nach außen zu wachsen.

Ich konnte die eben angeführten Ergebnisse bei der Explantation nur bis zum 13. Tage fortsetzen, da die Kulturen nach 14 Tagen stets im Brutschrank absterben. Um das weitere Wachstum zu verfolgen, ist die Passage angewendet worden. Es gelang auf diese Weise, die Kulturen bis zu 40 Tagen lebend zu erhalten und das weitere Wachstum zu beobachten. *Es wurde gefunden, daß dies in gleicher Weise vor sich geht wie bei der ursprünglichen Explantation, und daß das Wachstum hier fortschreitend weitergeht.* Das Epithel erweitert und vermehrt sich bedeutend und wird mit vielen Verästelungen versehen. *Aus diesen Versuchen ist zu folgern, daß, wenn lediglich die Bedingungen der Plasmakultur vorhanden sind, die weitere Neubildung von Epithelgewebe ohne besondere, insbesondere nervöse Reize ununterbrochen von sich aus weitergehen kann.*

IV. Die Explantation der subcutan transplantierten Speicheldrüse.

Wie wir oben auf Grund unserer Versuche gezeigt haben, können also die Epithelzellen der Speicheldrüse bei der Explantation, besonders in den Passagen, fortwährend wachsen. Es war nun prinzipiell wichtig festzustellen, wie sich die im *Implantat* gebildeten epithelialen Zellstränge regeneratorischen Charakters verhalten, wenn sie nach geeigneter Zeit *explantiert* werden. Zu diesem Zwecke habe ich subcutan transplantierte Speicheldrüsen nach 10—12 Tagen herausgenommen.

Mikroskopische Befunde der subcutan implantierten Speicheldrüse.

Die Peripherie ist stark von Bindegewebe und Blutgefäßen durchsetzt, wodurch das neugebildete Gewebe inselförmig geteilt ist. Es finden sich hier viele Zellzapfen und wenige Zellschlüche.

Die Zellzapfen bestehen immer aus Zellen, mit blauem Protoplasma und vergrößerten hellen Kernen. Mitoseerscheinungen sind vereinzelt anzutreffen. Die großen Zellzapfen zeigen Neigung, ein Lumen zu bilden. Im Zentrum zerfallen die Zellen, so daß eine von Detritusmassen ausgefüllte Höhlung zustande kommt (s. Abb. 11).

Ein derartiges Implantat wird also nach 8 Tagen explantiert. Das Parenchymgewebe ist fast völlig abgestorben. Spuren von erhaltenem Gewebe sind nur im Zentrum zu sehen wo die lösende Wirkung der Gewebsäfte zurücktritt. Am Rande des Explantates befindet sich eine einzelne Schicht, welche aus großen lebenden Zellen besteht. Sie verdickt sich allmählich, hebt sich von dem Rande des Explantates ab und setzt ihr weiteres Wachstum im Blutplasma fort. An ihrem Ende zeigt sie eine Entwicklung derart, daß die Epithelzellen länglich oval, mit blauem Protoplasma und hell gefärbten Kernen erscheinen.

Die Explantation nach 9 Tagen (s. Abb. 11). Im peripheren Teil befinden sich zerstreut liegende und unregelmäßig geordnete Zellgruppen, welche ein unregelmäßiges Lumen besitzen und manchmal miteinander in Verbindung stehen. Die Zellgruppen sind von abgestorbenem, homogenisiertem Bindegewebe umgeben. Am äußersten Rande der Peripherie befinden sich mehrschichtige epidermisartig angeordnet

Zellgruppen, die mit solchen des Explantates in Verbindung stehen. Aus diesen verdickten Zellgruppen gehen schmale Fortsätze der Peripherie entlang, heben sich von dieser ab und verästeln sich im Blutplasma. Die Epithelien der neugebildeten Zellgruppen sind vergrößert, sie haben wieder ein dunkel gefärbtes Protoplasma mit hellem, vergrößertem Kern, zuweilen in Teilung.

An Stellen stärkerer Bindegewebswucherung finden sich tiefer gelagerte Epithelzapfen von rundlich-ovaler Form, die den Rändern entlang laufen. Sie weisen in der Regel keine Sprossen auf im Gegensatz zu den Zellzapfen, die mit keiner bindegewebigen Schicht bedeckt sind. Die Zellsprossen der letzteren sind länglich und in der Richtung nach außen gerichtet. Es ist naheliegend anzunehmen, daß das Bindegewebe einen hemmenden Einfluß auf das weitere Wachstum des Epithelgewebes ausübt. Jedoch bedarf diese wichtige Frage, über die bekanntlich gegensätzliche Meinungen geäußert sind (Ribbert), weiteren Studiums.

Explantation nach 10 Tagen (s. Abb. 12 und 13): In der Peripherie beobachtet man viele kleine Zellgruppen, die nebeneinander liegen und in

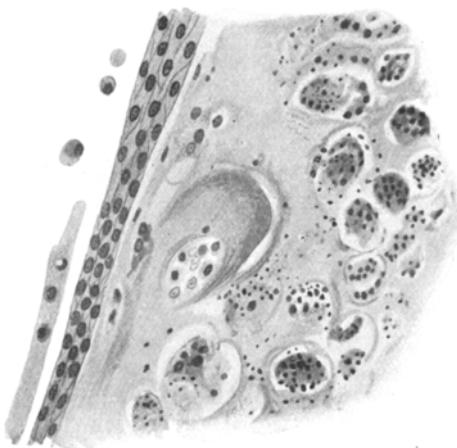


Abb. 11. Explantat subcutan transplantiert Speicheldrüse nach 9 Tagen. Leitz Obj. 6. Ok. 1.

der Mitte Lumina aufweisen. Manche dieser Zellgruppen sind von Bindegewebe umgeben und voneinander getrennt. Außerdem sind abgestorbene Sekretröhrchen von einer dünnen, schalenartigen Epithelschicht umgeben, die mit dem Rande an der Peripherie in Zusammenhang steht.

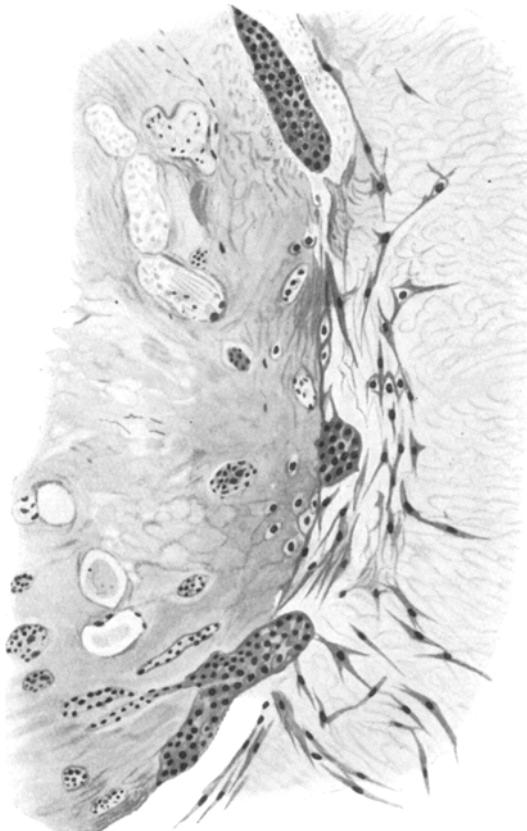


Abb. 12. Explantat der subcutan transplantierten Speicheldrüse nach 10 Tagen. Reste von Epithelgewebe, von denen Zellstränge in Blutplasma ausgehen und deren weiteres Wachstum von Bindegewebe gehemmt ist. Leitz Obj. 6. Ok. 1.

Am äußersten Rande befinden sich mehrschichtige Epithelien, deren Zellen groß, länglich-oval sind.

Die verdickte Epithelschicht hebt sich von ihrem Rande ab und wächst im Blutplasma weiter. Dabei umgibt sie die dort sich befindenden Hohlräume. Das neugebildete Epithelgewebe wächst auch hier ganz unabhängig vom Bindegewebe.

Explantation nach 11 Tagen: Im peripheren Teil zeigen manche von den zerstreut gelegenen Zellzapfen, die im Implantat gewachsen waren,

eine deutliche Nekrose, und das Bindegewebe, welches diese umgeben hat, ist fast nicht mehr zu sehen. Daneben gibt es auch recht viele Detritusmassen. Aus den noch erhaltenen Zellzapfen gehen Fortsätze, welche an die Peripherie gelangen, sich hier an manchen Stellen stark verdicken und ihrerseits Fortsätze in das Blutplasma senden. Die Epithelzellen derselben weisen reichliche Mitosen auf. Diese Fortsätze zeigen im Blutplasma eine weitere Ausdehnung als die im Präparate von 10 Tagen gewonnenen. Nebenbei findet sich recht viel Bindegewebe.

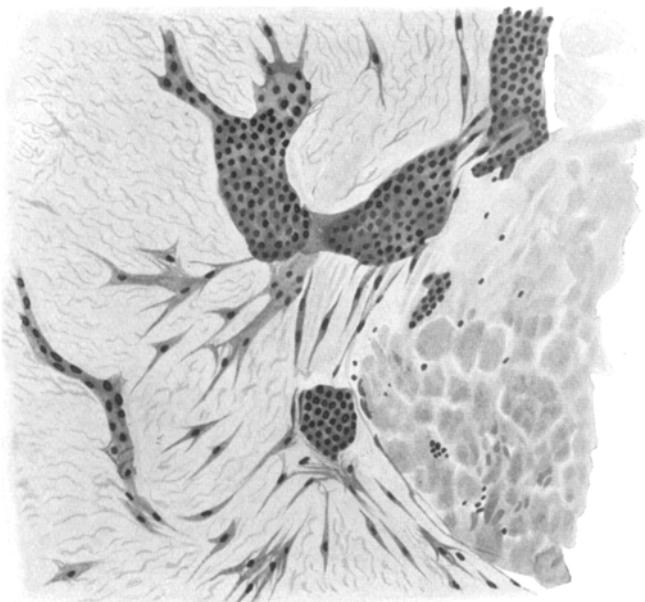


Abb. 13. Explantat subcutan transplanterter Speicheldrüse nach 10 Tagen. Dicke Zellstränge, die mehrere Sprossungen abgeben und von Bindegewebe nicht umgeben sind. Leitz Obj. 6. Ok. 1.

Nach 12 Tagen (s. Abb. 14 und 15): Das Zentrum ist zum Teil nekrotisiert. Im peripheren Teil ist das Bindegewebe, welches das neugebildete Parenchym umgibt, spärlich vorhanden; an dessen Stelle sieht man viele Detritusmassen. Manche Zapfen und Stränge besitzen, besonders an der äußeren Peripherie, Lumina welche erweitert und mit einschichtigem Epithel ausgekleidet sind, und die miteinander in Verbindung stehen. Aus den Wänden der Schläuche oder Zellzapfen gehen Fortsätze aus, welche zum Teil die Peripherie bekleiden, sich dann von dieser abheben und im Blutplasma weiter als Sprossungen wachsen. Sie tun dies in zweifacher Weise, und zwar bilden sie einmal Zellzapfen von verschiedener Form mit zackigen Rändern; eine andere Art von Sprossungen wächst dagegen nur in die Länge und besteht aus zwei oder drei Zell-

reihen. Diese umkreisen die Hohlräume, welche sie in ihrem Verlauf treffen; dabei verdicken sie sich an verschiedene Stellen. Aus diesen gehen wieder kleine Fortsätze hervor, die sich allmählich ebenfalls verdicken.

Alle im Blutplasma sich neu bildenden Epithelzellen sind vergrößert und haben einen hellen Kern. Mitosen sind überall zu finden.

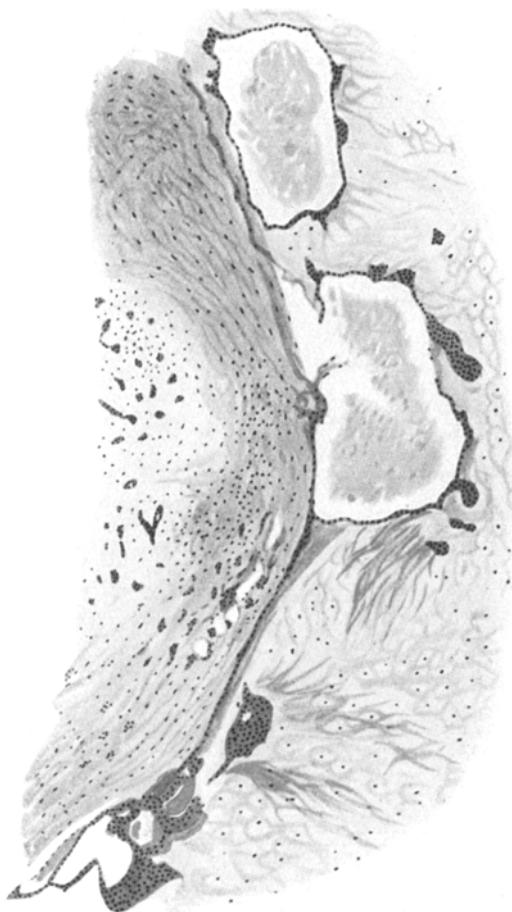


Abb. 14. Explantat subcutan transplanterter Speicheldrüse nach 12 Tagen. Leitz Obj. 4. Ok. 1.

Ergebnisse der Explantationsversuche mit der subcutan transplantierten Speicheldrüse.

Die Speicheldrüse wurde subcutan auto- bzw. homoio-transplantiert, wieder herausgenommen und dann in das Blutplasma gebracht. Nach 8–11 Tagen werden die betreffenden Wachstumsvorgänge bei Explantation beobachtet. Die Zellzapfen, welche sich bei der Transplantation

gebildet haben und von Bindegewebe umgeben sind, sind noch im Explantat teilweise erhalten. Wir können unter den Zellzapfen in bezug auf ihr Wachstum mehrere Arten unterscheiden. Zuerst unregelmäßig oder strangartig angeordnete Zellanhäufungen; dann solche, welche die abgestorbenen Sekretröhrchen umgeben und breite Fortsätze abgeben, die den Ausführungsgängen entsprechen; zuletzt Zellanhäufungen, welche die Form von Schläuchen haben und ein Lumen besitzen. Sie

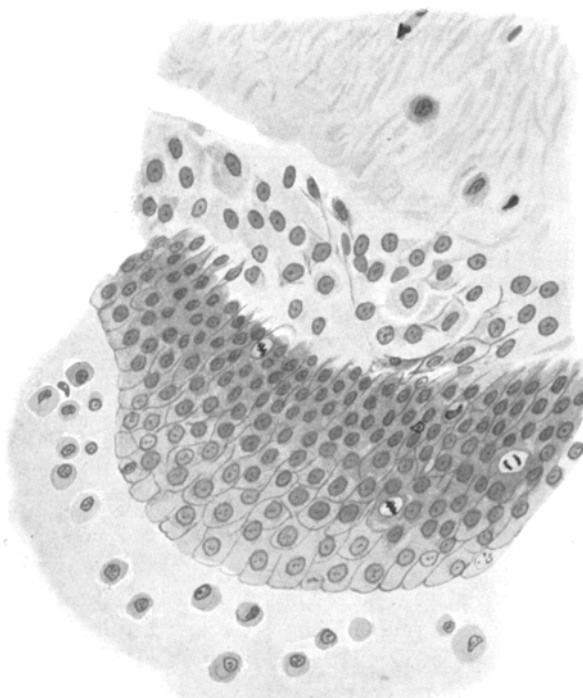


Abb. 15. Vergrößertes Stück von Abb. 12.
Verdickter Zellstrang mit Mitosen. Leitz Obj. 6. Ok. 1.

sind von Bindegewebe umgeben. Ein Teil hiervon ist nekrotisiert und hat ein homogenes Ausschen. Hier sind auch Detritusmassen anzutreffen.

Die eben erwähnten drei erhaltenen Zellgruppen geben ihrerseits Fortsätze nach der Peripherie zu ab.

Es gibt zwei Arten von Epithelausbreitungen im Blutplasma. Erstens bildet sich *peripher* eine ein-, später mehrreihige Zellschicht (nach 8 Tagen), die sich allmählich verdickt. Die Zellen sind dabei immer vergrößert, länglich-oval und parallel der Peripherie angeordnet. Hier kommt es nur zu buckelartigen Vorwölbungen im Plasma. Die nicht verdickten Teile wachsen weiter und gehen ihrerseits Sprossen ab, welche die Hohl-

räume im Blutplasma umkreisen und von diesen gehen wieder Sprossungen hervor.

Die Epithelzellen im Blutplasma sind die gleichen, wie wir sie bei anderen Explantationsversuchen gesehen haben. Sie sind länglich-oval, mit blaugefärbtem Protoplasma und hellem Kern, und weisen reichliche Mitosen auf, während die Zellen im Explantat klein, mehr rundlich sind und keine Mitosen zeigen.

Zweitens wachsen die Epithelanhäufungen, welche sich dicht am äußersten Rande befinden, in das Blutplasma gerade breit hinein, sich allmählich vermehrend und kleine Ausläufer von sich nach außen gebend.

Über die Beziehungen zwischen Parenchym und Bindegewebe gestatten die Befunde folgende Schlüsse.

Die neugebildeten Zellzapfen oder Schläuche, die das Bindegewebe bei der Implantation durchsetzten, sind jetzt im Explantat zum großen Teil nekrotisiert; dabei finden sich viele Detritusmassen und homogenisiertes Bindegewebe.

In der Umgebung des Explantates findet sich reichliches Bindegewebe, welches bisweilen die neugebildeten Zellzapfen einschließt. Es ist ein anscheinend wichtiger Befund, daß diejenigen Zellzapfen, die vom Bindegewebe umgeben sind, in ihrem Wachstum mehr gehemmt erscheinen, als solche, die vom Bindegewebe frei sind. Dabei weisen sie wenig oder fast keine Sprossungen auf, während diejenigen Zellzapfen, welche frei von Bindegewebe sind, ein üppiges Wachstum von Sprossen zeigen. Auch sieht man, daß diejenigen Zellzapfen, denen es gelingt, das umgebende Bindegewebe zu durchdringen, wieder ein lebhafteres Wachstum zeigen. Wir können zum Schluß darauf hinweisen, daß die Epithelzapfen und -stränge, die im Implantat nur begrenzt wachstumsfähig sind, im Explantat z. T. die ihnen innenwohnende Fähigkeit weiterer Proliferation dartun.

Versuche über die Explantation anderer epithelialer Organe wie Leber, Lunge Pankreas und Schilddrüse.

Die bis jetzt angestellten Explantationsversuche sind, wie eingangs erwähnt, meistenteils mit embryonalem Gewebe ausgeführt worden; dagegen gibt es wenige Untersuchungen über Züchtung von Epithelgeweben erwachsener Tiere. Von *Champy* ist eine bedeutende Studie zu dieser Frage veröffentlicht worden. Er hat außer den Versuchen mit embryonalem Gewebe auch die Züchtung von epithelialen Geweben erwachsener Tiere unternommen, wozu er Schilddrüse und Niere benutzte.

Es sind von mir außer der Explantation der Speicheldrüse die gleichen Versuche auch mit anderen Epithelialgeweben des erwachsenen Kaninchens mit Pankreas, Schilddrüse, Lunge und Leber vorgenommen worden.

Hierüber werde ich später genaue Mitteilungen machen. Hier will ich nur kurz über die vorläufigen Ergebnisse dieser Versuche berichten.

1. Explantation der Leber.

Bei der Leber kann man die ersten Wachstumsvorgänge erst nach Ablauf von 7 Tagen beobachten. Im Blutplasma sind neugebildete Gallengänge zu finden, welche in der Form von geschlängelten Strängen verlaufen, die aus 2—3 Zellreihen bestehen und vereinzelt Mitosen aufweisen. Außerdem finden sich in den verschiedenen Teilen des Blutplasmas Röhren, die mit abgeplatteten Epithelzellen ausgekleidet sind. Es ist anzunehmen, daß sie den neugebildeten Gallengängen angehören. Zudem sieht man im Blutplasma auch neugebildete Leberzellen, die frei vom Mutterboden in Einzahl oder als Gruppen von 3—4 zu beobachten sind, und Mitosen aufweisen. Als besonders wichtig ist die Tatsache festzustellen, daß die neugebildeten Leberzellen vergrößert sind und braun gefärbte Pigmente im Innern bergen. Genauere Befunde werden von mir später mitgeteilt werden.

2. Explantation der Lunge.

Bei der Lunge kann man die ersten Wachstumserscheinungen nach 8 Tagen beobachten. Der zentrale Teil der Lunge ist fast gänzlich nekrotisiert. Im peripheren Teile befinden sich neugebildete Zellschlüche, die mit Lumen versehen sind und vereinzelt Mitosen aufweisen; dagegen finden sich wenige Zellanhäufungen. Außerdem gibt es dort sehr viele Bindegewebsszellen, darunter besonders große mononukleäre, d. h. histiozytäre Zellen.

Von den Ecken des Explantates gehen Epithelzellen mit Bindegewebe gemischt in das Blutplasma aus. Etwas weiter im Blutplasma finden sich Epithelgruppen, welche kreisförmig angeordnet sind und eine kleine Lichtung umschließen. Außerdem gibt es vereinzelt oder gruppenweise Deckepithelzellen, welche die Peripherie umhüllen.

3. Explantation der Schilddrüse.

Die ersten Wachstumserscheinungen sind nach 7 Tagen zu beobachten. Auch hier ist der zentrale Teil fast völlig nekrotisiert. An der Peripherie liegen viele Follikel von verschiedener Größe, die Kolloidmassen enthalten. Dazwischen gibt es auch noch kleine Zellanhäufungen, die mit den Bindegewebsszellen durchmischt gelagert sind. Im Blutplasma findet man Zellanhäufungen von Epithelien, die nicht mehr die normale Form von Follikeln haben.

4. Explantation des Pankreas.

Die ersten Wachstumserscheinungen sind erst nach 8 Tagen zu beobachten. Der zentrale Teil ist nekrotisiert. An der Peripherie bemerkt man die gleichen Vorgänge wie bei der Speicheldrüse, nämlich verschie-

dene Zellanhäufungen. Von diesen noch erhaltenen Geweben gehen breite Zellzäpfchen in das Blutplasma hinein, die aus großen länglich-ovalen Zellen bestehen, deren Protoplasma tiefblau gefärbt und die mit hellem großen Kern versehen sind. Etwas vom Explantat entfernt liegen Zellgruppen, welche ringförmig angeordnet sind. Weiter beobachten wir an anderer Stelle im Blutplasma versprengte Zellgruppen, deren Epithelien reichliche Mitosen zeigen.

Zusammenfassung der Befunde der explantierten drüsigen Organe.

Die Untersuchungen über die Explantation der Speicheldrüse haben ergeben, daß ein weitgehendes Wachstum der Epithelzellen außerhalb ihrer Verbände möglich ist. Man konnte sehen, wie sich dabei die neu gebildeten Zellen im Explantat ausbreiten und sich dort in erster Annäherung organhaft einordnen. Es ist dabei selbstverständlich wichtig, die Frage zu beantworten, ob die betreffenden Vorgänge nur für die Speicheldrüse allein in Betracht kommen oder auch für alle anderen Organe. Um dieses Problem zu lösen, sind die Explantationsversuche an Leber, Pankreas, Schilddrüse Lunge unternommen worden. Die Ergebnisse dieser Versuche stehen mit denen der Speicheldrüse, soviel wir bis jetzt sehen, in vollem Einklang. Die Ausbreitung der Epithelzellen im Blutplasma, die Bildung von Strängen oder Schläuchen, entsprechend primitiven Gangsystemen stimmt mit den Befunden der Speicheldrüse überein. In allen Fällen zeigen die neugebildeten Zellen übernormale Größe, blau gefärbtes Protoplasma und hellen Kern. Danach kann man mit Sicherheit annehmen, daß die Erscheinungen, welche in der Speicheldrüse festgestellt sind, auch für andere ähnliche Organe Gültigkeit haben.

Aus meiner Darstellung geht deutlich genug hervor, daß ich die Wachstumsvorgänge im Explantat nicht als *Entdifferenzierungsvorgänge* im Sinne *Ribberts* betrachte, sondern in ihnen einen progressiven Wachstumsvorgang erblicke, wie er sich prinzipiell ähnlich bei regeneratorischen Prozessen nachweisen läßt. (Vgl. z. B. *Meyenburg* für die Leber in *Zieglers* Beitr.) Der strukturell am wenigsten differenzierte Gewebsanteil bleibt erhalten und bildet den Ausgangspunkt für ein weiteres Wachstum, welches aber, soweit unsere bisherige Erfahrung reicht, den Rahmen der natürlich im Organismus festgelegten geweblichen Rangordnung innehält, weder nach oben, noch nach unten überschreitet.

Zusammenfassung:

Ich fasse die Ergebnisse meiner Untersuchungen kurz zusammen.

I. Implantation der Speicheldrüse in die Bauchhöhle oder Niere.

1. Die Speicheldrüse, in die Bauchhöhle oder Niere transplantiert, wird vom Bindegewebe des Empfängers umgeben und in der Richtung nach innen durchsetzt. Gleichzeitig mit dem Bindegewebe dringen histiocytaire, Plasmazellen und Leukocyten, besonders eosinophile ein.

2. Die wichtigsten Erscheinungen, die bei der Transplantation zutage treten, sind: erstens Nekrose, zweitens Regeneration. Anfangs überwiegt die Nekrose, und zwar bei den höchst differenzierten Epithelzellgruppen, welche keine genügende Widerstandskraft gegen die eindringenden bindegewebigen Elemente aufweisen können. Daneben beobachtet man bald Wachstum, das von den widerstandsfähigen Zellen der Gangsysteme ausgeht, die in relativ engen Grenzen wuchern können. So kommt das Bild einer „Regeneration“ zustande.

3. Das Wachstum beginnt immer an der Peripherie des Transplantates und breitet sich, gleichzeitig mit der eindringenden Bindesubstanz, nach innen zu aus (schon nach 7 Tagen). Schließlich wird das ganze Transplantat von solch neugebildetem Gewebe durchsetzt.

4. Die Regenerationsvorgänge nehmen ihren Ausgang meistens von den Ausführungsgängen, zuweilen jedoch auch von den Drüsengläppchen.

5. Die neugebildeten Epithelien wachsen außerdem in der Richtung nach außen, und zwar in der Form von schmalen Zellsträngen, die ein- oder zweireihig angeordnet sind, und deren oft kolbige Enden als zeitweilige Wachstumszentren gelten müßten.

6. Nach 12 Tagen bilden sich in den neugebildeten an der Peripherie liegenden Zellsträngen Lumina, die von kubischem z. T. mehrschichtigem Epithel umkleidet sind und im Innern Kolloidwasser enthalten. Nach 15 Tagen liegen die Lumina dicht nebeneinander, wie bei Adenomen, und die Struktur weicht daher beträchtlich von der normalen Speicheldrüsen ab.

7. Zwischen den Befunden an der Speicheldrüse, die in die Bauchhöhle oder die in die Niere transplantiert wurden, gibt es keine Unterschiede; nur ist bei der in die Niere transplantierten der Wachstumsgrad geringer.

II. Die Explantation der Speicheldrüse.

1. Die Züchtung der Speicheldrüse und anderer Organe ist nur bei der Auto- und Homoiotransplantation gelungen.

2. Die Wachstumsvorgänge bei der Explantation entsprechen denjenigen bei der Implantation. Sie nehmen ihren Ausgang von den Gangsystemen, zuerst als solide Zellsprossen, später z. T. durch zentrale Zelldegeneration Lumina bildend. Neben sprießenden Zellverbänden kommt es auch unter Versprengung einzelner Zellen zur Bildung neuer Wachstumszentren im Plasma.

3. In der Umgebung des Explantates bilden sich um Blutplasma allmählich Hohlräume aus, die wahrscheinlich durch das Vordringen des wachsenden Gewebes entstanden sind. Die Fortsätze, die in das Blutplasma hineinwachsen, laufen mit Vorliebe an diesen Hohlräumen entlang und umhüllen sie mit einer Schicht von einigen Zellreihen. In ihrem Verlauf verdicken sie sich an verschiedenen Stellen, von denen wiederum die vielgestaltigen Ausläufer sich fortpflanzen.

4. Die Beziehungen zwischen Bindegewebswachstum und Epithelwachstum. Das Wachstum der Epithelzellgruppen im Blutplasma kann mit oder ohne Begleitung von Bindegewebe vor sich gehen. Die Zellgruppen, welche ohne Bindegewebe in das Plasma hineinwachsen, zeigen eine bedeutend lebhaftere Proliferation als solche, die mit Bindegewebe hineinwachsen. Sobald es ihnen gelungen ist, die Epithelgruppe von den sie umgebenden neugebildeten Bindegeweben zu durchwachsen, breiten sie sich mit Ausläufern willkürlich nach allen Richtungen im Blutplasma aus. Daraus wird man zu der Meinung geführt, daß das Bindegewebe einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum des Epithelgewebes ausübt.

III. Die Explantation der subcutan transplantierten Speicheldrüse.

1. Das Bindegewebe, welches bei der Transplantation die sich dort neugebildeten Zellzapfen und -Schläuche umgeben hat, geht zugrunde.

2. Die im Implantat entstandenen Zellschlüsse und -Zapfen gehen teilweise zugrunde, andere wachsen jedoch typisch weiter.

3. Der Rand des Explantates ist von einer ein- oder mehrreihigen Epithelschicht umgeben, deren Zellen vergrößert sind. Diese Schicht verdickt sich allmählich, hebt sich vom Rande ab und setzt ihr weiteres Wachstum im Blutplasma fort.

IV. Die Beziehungen zwischen Bindegewebswachstum und Epithelwachstum.

Die Beziehungen zwischen Bindegewebe und Epithel sind die zuvor gekennzeichneten.

V. Explantationsversuche mit anderen Organen wie Leber, Lunge, Schilddrüse und Pankreas.

Das Wachsen und Ausbreiten dieser Organe im Blutplasma geschieht in gleicher Weise wie bei der Speicheldrüse. Bei der Leber der in das Blutplasma hineinwachsenden Leberzellen sieht man innerhalb einer deutlichen braune Pigmentierung, während Kernteilungen zugleich die Vitalität dieser Zellen anzeigen.

VI. Vergleich zwischen den Ergebnissen der Implantations- und Explantationsversuche.

Hierbei halten wir uns in erster Linie an die Beobachtungen über Im- und Explantation von submaxillarer Speicheldrüse. Übereinstimmung herrscht bei beiden Versuchsanordnungen darüber 1. daß sowohl an den Rändern, wie dem Innern der im- oder explantierten Stücke ein großer Teil der Drüsenzellen zugrunde geht; 2. daß eine lebhafte Regeneration vorwiegend von den Zellen der Ausführungsgänge stattfindet. Die Unterschiede bestehen zunächst mal in dem Verhalten des Bindegewebes: in den Implantaten wachsen von der Nachbarschaft her Bindegewebe und Blutgefäße um das Implantat und in dieses hinein, nachdem mehr oder weniger reichlich Leukocyten und Histiocyten

in die absterbenden Teile eingewandert sind und sie zum Teil fortgeschafft haben. Im Explantat ist natürlich ein Fortschaffen der absterbenden Teile nicht möglich; das Bindegewebe wächst auch nicht etwa tiefer vom Rande in die absterbende Mitte hinein, sondern es flieht sozusagen die zugrunde gehenden Teile und treibt vielfach mächtige Sprossen in das Plasma hinein, *es wächst aus*, wobei bald die Zellen sich zu Verbänden vereinigen, bald einzeln immer weiter in das Plasma eindringen. Dabei findet eine Trennung von den Epithelsprossen statt, die dort um so mächtiger wuchern, je vollständiger sie vom Bindegewebe getrennt sind. Während nun aber in den Implantaten besonders nach den älteren Untersuchungen von *Lubarsch* die Wucherung der Zellen bis über 3 Wochen dauern kann und sich die Regenerate in Niere oder Bauchfell 3—4 Monate und länger halten, hört das Wachstum in den Explantaten nach 13 Tagen auf und die Gewebskulturen sterben nach 14 Tagen vollständig ab. Dies mag teils Folge der Erschöpfung des Nährbodens, teils Folge der Einwirkung der teils bei dem Wachstum der Epithelzellen, teils bei ihrem Zerfall freiwerdenden Stoffwechselprodukte sein. Das wichtigste und lehrreichste Ergebnis scheint mir nun darin zu liegen, daß *ein voneinander unabhängiges Wachstum von Bindegewebe und Epithel* festgestellt werden konnte. Bekanntlich sind unter normalen und auch manchen pathologischen Verhältnissen die Beziehungen zwischen Bindegewebe und Epithelzellen so innige, daß schwer festzustellen ist, welches von beiden Teilen primär anregt — ich verweise nur auf die so abweichenden Ansichten darüber, ob in den papillären und polypösen Fibroepitheliomen das Wachstum vom Epithel oder vom Bindegewebe ausgeht. Meinungsverschiedenheiten, die ja auch hinsichtlich der Histogenese des Krebses bestehen. In den Explantaten *konnte man dagegen, sowie in einem weiter fortschreitenden Krebs, die völlige Unabhängigkeit von Epithel- und Bindegewebewachstum nachweisen, und es scheint sogar, als ob das Epithel sich mächtiger und freier entfalten kann*, wenn es nicht mehr unter dem Einfluß des Bindegewebes steht. Auch der durch unsere Passagen geführte Nachweis, daß das Epithel, wenn es nur wieder in neues, von Abbaustoffen freies Plasma versetzt wird, seine Wucherungsfähigkeit lange behält, zeigt eine gewisse Übereinstimmung mit dem Verhalten der Zellen epithelialer Blastome und es soll daher weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu prüfen, ob es nicht durch besondere Einflüsse gelingt, die von dem Einfluß des Bindegewebes befreiten explantierten Epithelzellen zu übermäßiger Wucherung zu veranlassen. —

Literaturverzeichnis.

Aschoff, Lehrbuch der pathologischen Anatomie 1921. — *Burrow*, The cultivation of tissues of the Chick embryo outside the body. Journ. of Am. med. assoc.

15, 2057—2058. — *Carrel, Alexis*, Die Kultur der Gewebe außerhalb des Organismus. Berlin. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 30, — *Carrel, Alexis*, Neue Fortschritte in der Kultivierung der Gewebe außerhalb des Organismus. Berlin. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 12, S. 533—536. — *Carrel, Alexis*, Neue Untersuchungen über das selbständige Leben der Gewebe und Organe. Berlin. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 24, S. 1097. — *Champy*, Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. I. Tissus épithéliaux et glandulaires. Soc. biol. 92, 987. 1912. — *Champy*, La dédifferenciation des tissus cultivés en dehors de l'organisme. Bibliogr. anat. 23, 1913. — *Carraro*, Regeneration in den Speicheldrüsen. Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. 1909. — *Ebeling*, The permanent life of connective tissue outside of the Organisme. Journ. of exp. Med. 17, 581. 1913. — *Erdman*, Einige grundlegende Ergebnisse der Gewebszüchtung aus den Jahren 1914—1920. Ergeb. d. Anat. u. Entwicklungs gesch. 23, 1921. — *Fuckel*, Über Regeneration der Glandula submaxillaris, infraorbitalis bei Kaninchen. Inaug.-Diss. Freiburg 1896. — *Fischer*, A three months old strain of Epithelium. Journ. of exp. Med. 35, 1922. — *Harrison*, The reaction of embryonic cells to solid structures. Journ. of exp. Zool. 17, 521. — *Lubarsch*, Über Gewebsembolie und Gewebsverlagerung. Verhandl. d. Dtsch. pathol. Ges. Düsseldorf 1898. — *Lubarsch*, Zur Lehre von den Geschwüsten und Infektionskrankheiten. Wiesbaden 1899. — *Meyenburg*, Über die Cystenleber. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 64, 1918. — *Oppel*, Gewebekulturen. Braunschweig 1914. — *Oppel*, Explantation (Sammelbericht). Zentralbl. f. Zool. 3, 1913. — *Podwyssotsky*, Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 1, 1886. — *Ribbert*, Über Veränderungen transplantierter Gewebe. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen 6, 1898. — *Ribbert*, Über tumorähnliche Epithelwucherungen in Speicheldrüse und Leber. Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 11, 1903. — *Ribbert*, Beiträge zur kompensatorischen Hypertrophie und zur Regeneration. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen 1, 1894. — *Uhlenhuth*, Cultivation of the Skin Epithelium of the Adult Frog, *Rana pipiens*. Journ. of exp. Med. 20, 614. 1914. — *Uhlenhuth*, The form of the Epithelial cells in cultures of Frog Skin, and in its relation to the consistency of the medium. Journ. of exp. med. 22, 1915.