

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

Beiträge zur Entzündungslehre auf Grund von Transplantations- und Explantationsversuchen.

Von

Dr. med. **T. Mitsuda** (Osaka, Japan).

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Mai 1923.)

Nachdem die *Virchowsche* Lehre von der Entstehung des Entzündungstumors durch Schwellung und Neubildung seßhafter Gewebszellen durch die *Cohnheimsche* Lehre von der Auswanderung der weißen Blutzellen und ihrer ausschließlichen Beteiligung an der entzündlichen Schwellung verdrängt war, stellte sich bald heraus, daß die Wahrheit in der Mitte liegt und sowohl hämatogene und histiogene Wanderzellen, wie neugebildete seßhafte Gewebszellen den Entzündungstumor zusammensetzen. Nur *Gräwitz* und seine Schüler bestritten, daß überhaupt Leukocyten am Aufbau des entzündlichen Exsudats sich beteiligten — auch die leukocytenartigen Zellen seien nur von festen Gewebsbestandteilen abzuleiten. In der letzten Zeit haben *Gräwitz* und seine Schüler sich bemüht, ihre Meinung fester experimentell zu begründen, ausgehend von den Beobachtungen bei der Gewebszüchtung von Herzklappen und Hornhaut. Daraus hat *Gräwitz* den Schluß gezogen, daß alle im entzündlichen Gebiet auftretenden Zellen mit Blutzellen gar nichts zu tun haben, sondern stets lokal entstanden sein müssen. Seiner Ansicht nach sind zwischen den normalerweise sichtbaren Zellen im Bindegewebe zellwertige Elemente verborgen enthalten, die unter verschiedenen Bedingungen sichtbar werden und eine in Betracht kommende Rolle für die Entstehung der Entzündungszellen spielen. Diese Angaben sind von vielen Autoren abgelehnt worden (*Orth, Marchand, Ernst* u. a.). Besonders aus den Arbeiten über Transplantation von *Lubarsch* und *Neumann* geht hervor, daß die erst vor kurzem erschienene Beschreibung der Hornhauttransplantation durch *Gräwitz* selbst, welche die Versuche von *Senftleben* und *Leber* als einen Beweis für Zellimmigration als unrichtig hinstellt, ihrerseits keinen Beweis für das Wiedererwachen von Schlummerzellen der Hornhaut liefern können. Eine Wiederherstellung der Lehre von der Beteiligung seßhafter Gewebszellen am

Aufbau des Entzündungstumors hat das genauere Studium der „Histiocyten“, Klastmatocyten usw. (Maximow, Marchand, Aschoff u. a.) gebracht, deren Reaktionen neben das Cohnheimsche Phänomen treten, ohne daß allerdings diese Erfahrungen die Lehre von den Schlämmerzellen in sich schlossen.

Nun hat Busse neuerdings (1921) auf Grund seiner Explantationsversuche an Herzklappen die Auffassung von Gräwitz zu bestätigen und die Cohnheimsche Theorie stark zu beanstanden versucht. Nach seinen Ergebnissen können Rundzellen und oxyophile Zellen entstehen aus vielgestaltigen Zellen, die sich bei Gewebszüchtung im Plasma entwickeln können, wenn sie durch Bakterien, durch Autotoxine oder verdauende Substanzen beeinflußt würden (Trypsine). Gegen die von Busse gezogenen Schlüsse hat Lubarsch schon gewichtige Einwände gemacht. Aber selbst wenn diese Befunde und Deutungen zuträfen, ginge es auch nicht an, daraufhin die Emigrationstheorie gänzlich auszuschließen, weil Busse gar nicht die Erfahrungen im Körper berücksichtigt, insbesondere die Erscheinung der Auswanderung der Leukozyten. Ich möchte annehmen, daß die Frage der Entstehung der infiltrativen Elemente dadurch nicht gelöst worden ist, sondern sich viel eher noch mehr verwickelt hat. Nun habe ich auf Veranlassung Lubarschs experimentelle Untersuchungen an Herzklappen vorgenommen, um auf Grund parallel vergleichender Implantations- und Explantationsversuche festzustellen, ob die von Busse beobachteten Zellen den echten Leukozyten entsprechen oder nicht und weiter, ob bei dem implantierten Gewebe eine Einwanderung von Leukozyten stattfindet. Auf die gleichgerichteten und bereits veröffentlichten Untersuchungen von Erdmann gehe ich später ein.

Implantationsversuche der Herzklappen des Meerschweinchens.

Methodik: Mitral- und Aortenklappen werden nach Abtragung in Ringerscher Lösung abgespült, um die evtl. vorhandenen Blutkörperchen zu entfernen, auf das Mesenterium gebracht und mit demselben überdeckt. Nach Ablauf von 2—17 Tagen wird die implantierte Herzklappe zwecks weiterer Untersuchungen aus der Bauchhöhle entfernt, in Formalin fixiert und die davon hergestellten Paraffinschnitte nach den Methoden von Giemsa, Unna-Pappenheim, van Gieson usw. gefärbt. Ferner wird die Färbung der elastischen Fasern nach Weigert ausgeführt.

Mikroskopische Befunde.

Aus den zahlreichen von mir hergestellten Präparaten bringe ich hier nur einige besonders charakteristische Befunde.

Nach 2 Tagen. Das Präparat weist teilweise Verklebungen mit der Umgebung auf, an seiner Peripherie sind Blutungen zu beobachten, in welchen sich viele Leukozyten befinden, vorwiegend neutrophile polynukleäre und auch spärliche eosinophile Leukozyten. Die transplantierte Herzklappe selbst enthält in einem

Teil wenig, in einem andern Teil mehr Bindegewebzellen, die keine Mitosen aufweisen. Im peripheren Teil des Präparats, wo das Bindegewebe locker angeordnet ist, finden sich zwischen denselben sehr viele rundliche neutrophile polynukleäre Leukocyten, weiter nach innen zu, wo das Bindegewebe dicht anliegt,



Abb. 1.

Abb. 1. Transplantat von Herzklappen des Meerschweinchens nach 5 Tagen. Im lockeren Teil des Transplantats sind reichlich rundliche polynukleäre Leukocyten zu sehen, dagegen vereinzelt im versteiften Teil desselben.

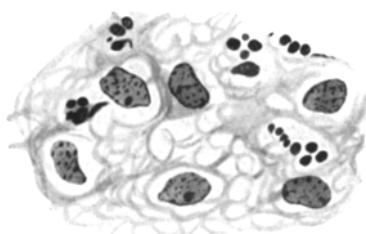


Abb. 1a. Starke Vergrößerung.

der Umgebung verklebt und Blutungen an der Peripherie nachweisbar wo reichliche neutrophile polymorphekernige Zellen und auch wenig eosinophile Zellen zu sehen sind. Außerdem sind an verschiedenen Stellen Gruppen von Lymphocyten und Bindegewebzellen zu beobachten. Außerdem sind etwas entfernt von der Herzklappe einige Riesenzellen anzutreffen. Im peripheren Teil der Herzklappe selbst und weiter einwärts sieht man polynukleäre Zellen, besonders in den Blutungen und eosinophile Zellen; dabei sind die letzteren an denjenigen Stellen, wo

gibt es wenige Zellen solcher Art. Eosinophile Zellen sind hier nicht zu treffen. An den Verklebungsstellen sind außerdem noch Gruppen von großen Zellen mit blau gefärbtem Kern zu sehen.

Alle diese Zellarten stehen in keinem Zusammenhang mit den elastischen Fasern der Herzklappe, wie aus der Färbung der letzteren hervorgeht.

Nach 6 Tagen. Auch in diesen Präparaten ist die Herzklappe zum Teil mit

sich reichliche neutrophile Leukocyten vorfinden, spärlicher. Dort, wo viele Lymphocyten und Bindegewebszellen vorhanden waren, fiel es schwer, das Herzklappengewebe von der Umgebung zu unterscheiden. In älteren Blutgerinnseln sind hineinwachsende vielgestaltige spindelartige Bindegewebszellen aus dem anliegenden Teil der Herzklappe zu beobachten. Dabei sind in der letzteren wenig Bindegewebszellen zu finden und statt diesen sind nun einige neutrophile polynukleäre Leukocyten zu sehen.

Nach 8 Tagen. Auch hier ist die Herzklappe von Blutgerinnseln umgeben, in denen sich viele neutrophile polynukleäre Leukocyten und einige eosinophile Zellen vorfinden. Außerdem gibt es hier kleine und große mononukleäre Zellen und Fibroblasten.

Die Herzklappe selbst ist arm an zelligen Elementen, nur wenige neutrophile und eosinophile Zellen sind zu treffen, abgesehen von den mononukleären Zellen, die überall sich finden und deren Kerne mit Eosin-Hämatoxylin sich dunkelblau färben.

Nach 11 Tagen. Die Herzklappe ist hier von Bindegewebe durchwachsen und an gut übersichtlichen Stellen kann man massenhafte Ansammlungen von Lymphocyten und eosinophilen Zellen treffen, dagegen sind nur wenige neutrophile Leukocyten, die sich meist in den lockeren Stellen der Klappe vorfinden, zu sehen.

Nach 17 Tagen. Hier ist der größere Teil der ganzen Herzklappe von Bindegewebe durchwachsen. Am peripheren Teil sind Gruppen von Bindegewebszellen und Lymphocyten zu beobachten; dabei kann man aus einigen Stellen sehen, wie vereinzelt Lymphocyten aus der Umgebung in die Herzklappe einzuwandern im Begriff sind. Solche rundlichen Lymphocyten sind auch in der Herzklappe zu treffen, die reihenförmig parallel den Bindegewebefasern angeordnet sind. Außerdem gibt es hier noch verschiedenartige Fibroblasten. Eosinophile Zellen und neutrophile polynukleäre Leukocyten sind jetzt sehr selten anzutreffen.

Befunde bei der Transplantation der Herzklappen des Kaninchens.

Nach 4 Tagen. Die Umgebung des Implantats ist zum Teil von Blutungen umgeben, die wenig Leukocyten enthalten, und teilweise mit der Umgebung verwachsen. Die transplantierte Herzklappe selbst enthält reichlich mono- oder polynukleäre pseudoeosinophile Leukocyten, besonders an denjenigen peripheren Teilen, die von Blutungen umgeben sind; an diesen Stellen kann man beobachten, wie die eben genannten Zellformen in das Transplantat einzuwandern im Begriffe sind. Die mit der Umgebung verwachsenen Teile des Transplantats enthalten große und kleine rundliche mononukleäre Leukocyten in großer Zahl.

Bindegewebszellen der Herzklappen sind noch zum Teil zu finden, meist sind sie verschwunden. Die Weigertsche Färbung ergibt keine nennenswerten Befunde.

Nach 6 Tagen. Auch hier ist der größte Teil des Transplantates von Blutungen umgeben, wo sich viele mono- oder polynukleäre pseudoeosinophile Zellen befinden, die auch in der Herzklappe anzutreffen sind und zwar einzeln oder in Gruppen angeordnet.

An denjenigen Stellen, wo die Herzklappen mit der Umgebung Verwachsungen aufweisen, sind reichlich kleine und große mononukleäre Rundzellen (lymphocytoide Zellen) gruppenweise angeordnet, zu beobachten. Diese Zellarten durchsetzen die Herzklappe in bedeutenderer Zahl als im vorher beschriebenen Präparate.

In der Herzklappe selbst ist noch teilweise erhaltenes Gewebe zu beobachten, der Rest des Gewebes ist sonst schon verschwunden und an der betreffenden Stelle sind noch zerfallende Zellprodukte zu sehen.

Nach 9 Tagen. Hier ist der größte Teil des Transplantats mit der Umgebung verwachsen und an diesen Stellen sind massenhafte Ansammlungen von spindligen und rundlichen kleinen und großen mononukleären Zellen vorzufinden, welche die Peripherie der Herzklappe ebenfalls durchsetzen. An den entfernteren Stellen des Transplantats findet man Plasmazellen, auch pseudoeosinophile sind hier und da im Bereich der Herzklappen zu beobachten, aber nicht in solcher Zahl wie bei den vorher geschilderten Präparaten.

Die Umgebung der Herzklappe weist viele neugebildete Gefäße auf, in denen vereinzelte eosinophile Leukocyten sich finden.

Nach 12 Tagen. Die Blutungen, welche das Präparat umgeben, haben teilweise ein homogenes Ausschen erhalten. An denjenigen Stellen, wo das Präparat Verwachsungen aufweist, finden sich viele spindlige und rundliche mononukleäre Zellanhäufungen gemischt mit vielen Plasmazellen und wenigen pseudoeosinophilen Leukocyten. Auch die Herzklappe selbst ist an diesen anliegenden Teilen mit Zellen gleicher Art durchsetzt. Sie zeigt wenig pseudoeosinophile polynukleäre Zellen. Außerdem finden sich hier merkwürdigerweise mehrkernige Zellen, deren Protoplasma sich nicht mit Eosin färbt. Es handelt sich wahrscheinlich um pseudoeosinophile Leukocyten im Stadium des Zerfalls. Die Herzklappen zeigen nämlich viele rundliche kleine und große mononukleäre Zellen.

Nach 18 Tagen. Die Blutgerinnsel, die die Herzklappe umgeben, sind vom Bindegewebe in verschiedene Teile getrennt und die Gerinnsel selbst gänzlich homogenisiert. Eosinophile Zellen sind in den Herzklappen nicht mehr zu beobachten. Kleine und große mononukleäre Zellen sind massenhaft in der Umgebung und ab und zu innerhalb der Herzklappe vorhanden.

Ergebnisse der Transplantationsversuche der Herzklappen des Meerschweinchens und Kaninchens.

Bei der Transplantation der Herzklappen sind zwei Vorgänge zu unterscheiden, nämlich solche, die sich im Transplantat und solche, die sich in seiner Umgebung abspielen.

Der Organismus behandelt das implantierte Gewebe als einen resorbierbaren Fremdkörper und zeigt ein Bestreben, denselben zu beseitigen. Gleich in den ersten Tagen nach der Transplantation sind viele verschiedenartige Zellen in der Umgebung des Transplantats zu beobachten. Unter denselben können wir unterscheiden:

1. die polynukleären neutrophilen Leukocyten,
2. die oxyphil granulierten Leukocyten und
3. kleine und große mononukleäre Rundzellen.

Alle diese Zellarten sind nicht zu gleicher Zeit zu beobachten. Sie treten allmählich auf. Wie wir aus den mikroskopischen Befunden gesehen haben, ist nach 2—6 Tagen das Transplantat von Blutungen umgeben, in welchen bei den Meerschweinchengerzklappen zuerst die neutrophilen Zellarten anzutreffen sind, die hantelförmige Kerne besitzen und deren runde Kernabschnitte durch dünne Chromatinbalken verbunden sind (Abb. 1). Diese Zellarten sind schon am 2. Tage nach der Transplantation im Präparat zu finden, hauptsächlich im lockeren Teil des Implantats zwischen den Bindegewebsfasern desselben. Nach

6 Tagen ist schon fast das ganze Implantat von diesen Zellarten durchsetzt.

Die granulierten oxyphilen Zellen sind erst am 5. Tage nach der Transplantation zu beobachten, und zwar gleichzeitig in der Umgebung und im Präparate selbst. Die Ausbreitung dieser Zellen erscheint abhängig von den Blutungen der Umgebung. Am 8. Tage nach der Transplantation, wo die Blutungen der Umgebung bedeutend abgenommen haben, nimmt auch die Zahl dieser Zellen in den Blutungen und im Präparate selbst ab. Nach 17 Tagen sind diese Zellarten kaum mehr vorhanden. Im Transplantat des Kaninchens ist die erste Zellart nicht zu finden, dagegen sind die oxyphilen granulierten Leukocyten vorhanden, die eine zahlreiche grob und stark eosinophile Körnung aufweisen. Diese Zellart läßt sich mikrochemisch von den echten eosinophilen Zellen unterscheiden, daher glaube ich, daß die vielen Angaben über Befunde der eosinophilen Zellen beim Kaninchen fraglicher Natur sind, es handelt sich meist nur um pseudoeosinophile Leukocyten. Das zeitliche Auftreten und die Lokalisation dieser Zellarten gleichen derjenigen des Meerschweinchens.

Unter den Rundzellen, die während der Transplantation in der Umgebung desselben auftreten, kann man unterscheiden:

1. große mononucleare Zellen mit einem verhältnismäßig kleinen hellen Kern und starkem basophilen Protoplasmasaum, und
2. Zellen von der Größe der Erythrocyten mit stark gefärbtem Kern und kaum sichtbarem Protoplasma.

Diese zwei Zellarten sind nur dort zu finden, wo die Herzklappen mit der Umgebung Verwachsungen aufweist; dagegen dort, wo Blutungen die Klappen umgeben, sind sie nicht zu beobachten.

Hinsichtlich der Herkunft der die entzündlichen Exsudate und Infiltrate zusammensetzenden Zellen herrscht, wie oben erwähnt, noch keine Übereinstimmung. In neuerer Zeit wächst die Neigung, die Bedeutung der auswandernden Blutzellen in den Hintergrund zu stellen und den Gefäßwandzellen eine führende Rolle beizulegen (*Marchand, Herzog*). Namentlich hinsichtlich der kleinzelligen Infiltrate gehen die Ansichten stark auseinander. *Schridde* nimmt an, daß diese Zellen von den lymphocytären Elementen herrühren. Nach *Ribbert* sollen sie von perivasculären, rudimentären Lymphknötchen abstammen. *Marchand* vertritt eine zwiefache Abstammung: nach seiner Meinung sind sie z. T. aus Adventitiazellen an Ort und Stelle gebildet, z. T. sind sie eingewandert. Nach *Aschoff* und *Kiyono* sollen sie Carmin aufspeichern und als Histiocytten bezeichnet werden. Nun hat sich auch *Busse* mit der Herkunft dieser Zellarten, wie in der Einleitung erwähnt wurde, bei seinen Explantationsversuchen von Herzklappen befaßt. Da die explantierten Herzklappen fast keine Blutgefäße besitzen, so war es

interessant, festzustellen, ob auch bei irgendwelcher „entzündlicher Reizung“ des Explantats solche Zellen sich zeigen würden oder nicht. In der Tat will *Busse* solche Zellarten beobachtet haben, wenn die Plasmakulturen von verschiedenen in vivo entzündungserregenden Agentien gereizt wurden. Sie sollen seiner Meinung nach von den Herzklappen selbst herrühren. Bei meinen Transplantationsversuchen der Herzklappen konnte ich, wie erwähnt, besonders an denjenigen Stellen, wo die Klappen mit der Umgebung Verwachsungen aufweisen, keinen Hinweis darauf erhalten, daß diese Zellen aus dem Transplantat hervorgehen. Im Gegenteil, bei längeren Beobachtungen kann man sogar verfolgen, wie diese von außen her in die Herzklappe einwandern. Über die Herkunft der Zellen die in demjenigen Teil der Herzklappe sich finden, wo Blutungen die letztere umgeben, ist schwer mit Sicherheit zu sagen, ob sie von der Umgebung oder von der Klappe selbst herrühren. Ich sah hier Bindegewebszellen (siehe histologische Befunde nach 6 Tagen), die sicher aus den Herzklappen in das Blutgerinnsel einwanderten. Es ist daher schwer, im ganzen zu beurteilen, ob die Zellen bei meinen Implantationsversuchen von den Herzklappen selbst oder von außen her kommen. Um mich genauer über die Herkunft dieser Zellarten zu orientieren und die Deutungen von *Busse* weiter zu prüfen, habe ich ebenfalls *Explantationsversuche* mit den Herzklappen angestellt.

II.

Explantationsversuche an den Herzklappen.

Methodik: Die Explantationsversuche habe ich in gleicher Weise ausgeführt, wie ich es in meiner Arbeit über Transplantation und Explantation von Speicheldrüsen berichtet habe.

Ich will hier nur aufmerksam machen, daß ich diese Versuche in der Uhrschale ausgeführt habe im Gegensatz zu *Busse*, der die Explantation im Hohlobjektträger gemacht hat. Bei der Uhrschalmethode kann man viel Plasma zum Explantat zusetzen. Bei diesen Versuchen habe ich nur die Autoexplantation ausgeführt.

Die Präparate werden 2—13 Tage in Susa oder Formalin fixiert, dann Paraffin- oder Gefrierschnitte angelegt und mit Hämalaun-Eosin, van Gieson-, Weigert- und Giemsalösung gefärbt.

Mikroskopische Befunde.

Nach 2 Tagen. In der Mitte der Herzklappe sind zum großen Teil fast keine Zellen zu beobachten, nur vereinzelt sind große und kleine spindelförmige Zellen aufzufinden, die einen großen blaugefärbten Kern besitzen. In den zellfreien Teilen ist nur eine durch Eosin gefärbte kollagene Substanz zu sehen.

Im peripheren Teil der Klappe sind massenhaft große vielgestaltige Zellen ebenfalls mit blassem Kern zu beobachten, die viele Mitosen aufweisen. Besonders reichlich sind diese Zellarten am Rande der Klappe, und man sieht, wie mehrere

derselben im Begriffe sind, in das Plasma hineinzuwachsen. Diese Zellen sind meist spindelförmig und durch protoplasmatische Ausläufer untereinander verbunden.

Im Plasma selbst sind schon Zellen zu beobachten, die direkt oder indirekt mit dem Explantat in Zusammenhang stehen und Kernteilungsfiguren zeigen (Abb. 2).

Die Färbung des Präparats auf elastische Fasern hat keine nennenswerten Befunde in bezug auf diese ergeben.

Nach 4 Tagen. Die Klappen selbst zeigen keine wesentlichen Veränderungen, nur die Mitosen haben hier zugenommen im Vergleich zum Präparat nach 2 Tagen.

Im Ansatzteil der Herzklappe sind Zellen zu beobachten mit kleinen dunklem Kern, der von einem schmalen oxyphilem Protoplasmasaum umgeben ist, letzterer ist nur mit Ölimmersion zu sehen. Am Rande des Präparats ist das gleiche Bild

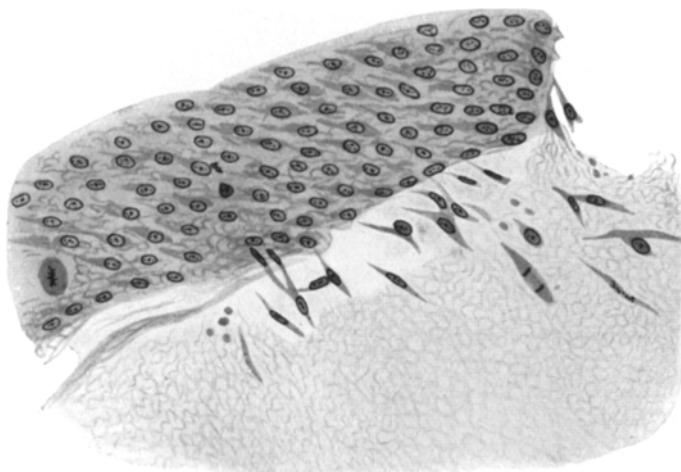


Abb. 2. Explantat von Herzklappen des Kaninchens *nach 2 Tagen*.

wie nach 2 Tagen vorhanden. Nur diejenigen Zellen, die sich schon im Plasma befinden, haben an Zahl zugenommen. Auch hier zeigen sie zahlreiche Mitosen und Anastomosen untereinander. Außer diesen sind vereinzelt runde Zellen mit blassem Kern zu sehen, die sich miteinander nicht verbinden.

Nach 6 Tagen. Im inneren Teil der Herzklappe sind teilweise Zellen zu beobachten, die einen großen dunklen Kern besitzen und auch solche mit Kernsprossung. Auch untergehende Zellen von der Größe der Erythrocyten mit schmalen acidophilen rotgefärbtem Protoplasmasaum sind zu sehen.

An der Peripherie der Herzklappe sind die gleichen Zellarten wie nach 2 Tagen zu beobachten, sie sind hier parallel angeordnet. Die ins Blutplasma übergegangenen Zellen sind bedeutend reichlicher als nach 4 Tagen. Zwischen den anastomosierenden Zellen befinden sich außerdem freistehende Zellarten mit reichlichem Protoplasmaleib und verhältnismäßig kleinem kompaktem Kern. Auch hier sind jetzt Kernabschnürungen zu beobachten, auch kleine runde Zellen mit schmalen roten Protoplasmasaum werden hier gefunden.

Nach 8 Tagen. Im inneren Teile der Herzklappe sind die großen spindelförmigen Zellen noch gut erhalten. In der Richtung zur Peripherie sind sie noch reichlicher vorhanden.

An der Peripherie und besonders im Blutplasma selbst sind viele rundlich-ovale Zellen angesammelt, die miteinander anastomosieren und geflechtartige Verbindungen geben, bedeutend mehr als nach 6-tägiger Explantation. Auch Mitosen sind hier zu sehen. Außerdem befinden sich im Blutplasma in der Nähe der Klappe große rundliche Zellen mit verhältnismäßig kleinem Kern, die in keinem



Abb. 3a.

Abb. 3. Explantat von Herzklappe des Kaninchens *nach 8 Tagen*. *a* = schwache Vergrößerung
b = starke Vergrößerung.

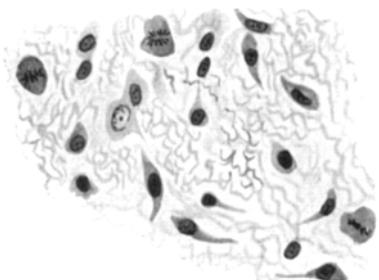


Abb. 3b.

Zusammenhang mit den anastomosierenden Zellarten stehen (Abb. 3a u. b).

Im entfernten Teil des Blutplasmas sind nur spindelförmige Zellen zu treffen.

Nach 9 Tagen. Die Zellen der Herzklappen sind meist verschwunden und dort, wo sie noch erhalten sind, finden sich vereinzelt Zellen mit großem blassem Kern und rundliche mit kleinen chromatinreichen Kernen versehene Zellen. Außer diesen sind große Zellarten zu bemerken, wo der Kern von einem roten Protoplasmasaum umgeben an einem Pol der

Zelle sich befindet, während in dem entgegengesetzten Pol sich Vakuolen befinden. Manchmal zeigt der Kern Abschnürungen und jeder Teil derselben ist wiederum von einem roten Protoplasmasaum umgeben. In der Nähe solcher untergehenden Zellen sind auch abgeschnürte freie Kerne sowie kernlose Protoplasten zu sehen.

Im Blutplasma sind noch die anastomosierenden Zellen zu beobachten, aber sie zeigen keine Mitosen mehr. Außerdem befinden sich in gleicher Weise die eben beschriebenen Zellen mit dem Kern an einem Pol. Auch runde Zellen von verschiedener Form mit blassem Kern sind hier vorhanden.

Nach 10 Tagen. Die Zellen sind im größten Teil der Herzklappe verschwunden und nur mit Eosin rot gefärbte resistierende Protoplasmaschollen ohne Kerne sind zu sehen.

Unter den noch erhaltenen Zellen sind 2 Arten zu unterscheiden: 1. eine kleine Anzahl von Zellen mit blassem Kern und 2. abgestorbene runde Zellen mit chromatinreichen Kernen, die öfters Abschnürungen aufweisen und dadurch in 3—4 Teile getrennt sind, und jeder Teil ist von einem rotgefärbtem Protoplasmaumgeben. Im Blutplasma sind reichlich spindelförmige oder vielgestaltige Zellen mit großem blassem Kern zu treffen, die mit dem Explantat in Verbindung stehen. Die Zellen anastomosieren untereinander und bilden Geflechte. Dazwischen gibt es noch selbständige runde Zellen, reichlicher als im Präparat nach 9 Tagen, besonders in weiterer Entfernung von denselben. Sie sind von verschiedener Größe und enthalten oft einen verkleinerten Kern, der an einer Seite der Zelle liegt. Der Protoplasmaleib zeigt oft Ausbuchtungen wegen Vermehrung derselben.

Nach 13 Tagen. Die Befunde zeigen hier keine bedeutenden Abweichungen gegenüber dem vorherigen Präparat, nur die Zerfallsprodukte sind hier zahlreicher, sonst sieht man die gleichen Zellarten, wie wir sie oben beschrieben haben.

Im Blutplasma haben die runden Zellen an Zahl zugenommen. In der Nähe des Explantats sind viele solche Zellen zu beobachten, die 4 oder 5 Abschnürungen aufweisen. Die zahlreichen kleinen Kerne, mit rotem Protoplasma umgeben, befinden sich hier gruppenweise angeordnet in ziemlich großer Zahl (Abb. 4).

Ergebnisse der Explantationsversuche der Herzklappen.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse des mikroskopischen Befunds sind die Bilder im Explantat und im Blutplasma getrennt zu beurteilen.

Die Veränderungen der Herzklappen selbst sind abhängig vom Plasmazustand und vom Alter des Tieres. Zu meinen Versuchen habe ich *junge Tiere* benutzt, da das Wachstum bei älteren Tieren anders ausfällt, nämlich schwächer, wenn auch meine vergleichenden Erfahrungen zu einer ganz exakten Gegenüberstellung nicht ausreichen.

Wir beobachten hier zwei Vorgänge, nämlich die Proliferation und Degeneration; dabei ist es schwer, die beiden Vorgänge voneinander scharf zu trennen.

Die Wucherungsvorgänge sind im peripheren Teil in der Nähe des Blutplasmas zu beobachten, wo reichliche Zellmassen angesammelt sind. Die betreffenden Zellen haben einen großen blassen Kern, der öfter Mitosen aufweist, besonders am 2. Tage, dann nehmen diese allmählich ab und sind nach 8 Tagen überhaupt nicht mehr vorhanden.

Die Degenerationsvorgänge beginnen in der Mitte der Herzklappe, um im Laufe der Zeit sich mehr auszubreiten. Bei älteren Tieren treten die Degenerationserscheinungen etwa am 5. Tage, bei jungen am 8. Tage auf.

Bezüglich der im Explantat auftretenden Zellarten bestehen Unterschiede sowohl im Kern wie Zelleibbeschaffenheit. Ein Teil der Zellen enthält einen kleinen runden chromatinreichen Kern, dessen feinere Struktur schwer zu beobachten ist.

Dann treffen wir solche Zellen an, deren Kerne Sprossungen aufweisen und daher eine unregelmäßige Form besitzen, und ferner solche, deren Kerne 3 bis 5 Abschnürungen aufweisen, die häufig rotgefärbte

Protoplasmasäume zeigen, besonders bei der Betrachtung mit Ölimmersion. Auch selbständige Kerne von gleicher Art sind in der Nähe dieser Zellarten vorzufinden. Zuletzt sieht man noch solche Zellarten, wo der Kern an einer Seite der Zelle liegt, während die andere kernfreie Seite Vakuolen aufweist. Ich nehme auf Grund meiner Versuche an, daß diejenigen runden Zellen, die von *Busse* zu den lymphocytoiden Zellen gerechnet werden, als Degenerationsprodukte der oben beschriebenen Zellarten anzusehen sind. Die zelligen Veränderungen im Blutplasma äußern sich darin, daß diejenigen Zellarten, die im Explantat nach 2 Tagen auftraten, besonders an der Peripherie desselben die Neigung zeigen, in das Blutplasma einzuwandern und einige derselben sind schon hier zu beobachten, die Mitosen zeigen. In den folgenden Tagen (vom 3. bis zum 8.) nimmt die Zahl dieser Zellarten bedeutend zu und ebenfalls finden sich Mitosen, aber in abnehmender Menge.

Ihrer Form nach sind sie spindelig oder vielgestaltig, weisen durch Protoplasmaausläufer Verzweigungen und Anastomosen untereinander auf und bilden daher geflechtartige Verbindungen. Die Zellen stehen hier direkt oder indirekt mit dem Mutterboden in Verbindung.

Am 6. Tage sind in den Geflechten neue Zellarten zu beobachten. Sie sind von runder Form mit großem dunklen Kern versehen. Nach 10 Tagen sind sie in dem ganz entfernten Teil des Blutplasmas anzutreffen, woraus zu schließen ist, daß sie noch nach 10 Tagen die Fähigkeit, sich zu bewegen, besitzen.

Auch nach 13 Tagen sind sie noch sehr leicht zu beobachten. Wir sehen hier dieselben Zellen in verschiedener Form auftreten, besonders durch das Aussehen des Kerns unterschieden. Einige Zellen besitzen einen verkleinerten kompakten chromatinreichen (pyknotischen) Kern, der von einer mantelförmigen Protoplasmaschicht umgeben ist.

Weiter kann man beobachten, wie das Protoplasma sich vermehrt hat und der Kern, der bei Ölimmersion von einem rotgefärbten Protoplasmasaum umgeben ist, an einer Seite der Zelle liegt (Homogenisierung und Acidophilie des Protoplasten).

Außerdem treten hier Zellarten auf, deren große dunkle, strukturose Kerne mehrere Sprossungen aufweisen oder solche Zellarten, deren Kerne Abschnürungen zeigen, die öfter von einem rotgefärbten Protoplasmasaum umgeben sind.

Einzelne solcher abgeschnürter Kernteile erscheinen in der Nähe derselben Zellarten, die ebenfalls einen rotgefärbten Protoplasmasaum aufweisen (Pyknose und Karyorrhexis).

Versuche solcher Art sind schon früher von *Gräwitz*, *Busse* u. a. angestellt worden, um verschiedene Probleme in der Entzündungslehre zu klären. Bei seinen Explantationsversuchen mit Herzklappen hat

Gräwitz nur die histologischen Veränderungen des Explantats selbst untersucht, während Busse sich meist nur mit den ausgewanderten Zellen im Blutplasma beschäftigt. Ich möchte an dieser Stelle näher auf ihre Befunde und Ausführungen, im Vergleich mit meinen Ergebnissen eingehen.

Gräwitz hat bei seinen Explantationsversuchen mit Herzklappengewebe in denselben eine Neubildung von vielen Kernen in dem sonst kernarmen Gewebe beobachtet und außerdem die Entstehung von vielen großen Rundzellen, die normalerweise nie anzutreffen sind, gesehen. Zur Erklärung dieser Erscheinungen hat er folgende theoretische

Erwägungen angeführt: Durch die veränderten Ernährungsbedingungen sollen im Explantat die bisher nicht sichtbaren Kerngebilde, die er als *Schlummerzellen* bezeichnete, sichtbar werden und weiter sich vergrößern durch die reichliche Ernährung auf Kosten des fibrillären Bindegewebes. Gräwitz bezeichnet diesen Vorgang als „den zelligen Abbau des Bindegewebes“.

Bei meinen Versuchen, die von gleicher Art waren, habe ich ebenfalls im *Explantat* der Herzklappen in dem vorher zellarmen Gebiet eine Ansammlung von großen rundlich-ovalen Zellen mit blassem Kern beobachtet, besonders im peripheren Teil des Präparats. Diese Zellen wiesen schon am 2. bis 8. Tage zahlreiche Mitosen auf. Viele von diesen Zellen, die sich in der Mitte des Präparats aufhielten, zeigten



Abb. 4 a.

Abb. 4 a u. b. Explantat von Herzklappen des Kaninchens nach 13 Tagen. a = schwache Vergrößerung; b = starke Vergrößerung.

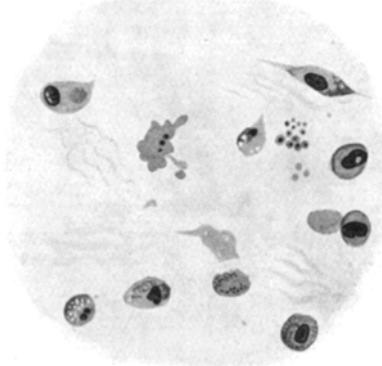


Abb. 4 b.

das Bestreben, an die Peripherie zu gelangen, da dort reichliche Ernährungsmöglichkeiten vorliegen, überhaupt war der mittlere Teil der Herzklappe zellarm im Vergleich zum peripheren Teil, und man erhält hier den Eindruck, daß die Zellen das Bestreben haben, von der Mitte nach der Peripherie zu wandern und, dort angelangt, auf mitotischem Wege sich weiter zu vermehren.

Was die Rundzellen anbetrifft, so habe ich sie meist im weit vom Blutplasma entfernten Teil beobachtet; sie sind lymphocytenähnlich, und ihre Kerne sind chromatinreich. Wenn wir die verschiedenen Zellarten, die ich meinen Befunden angeführt habe, betrachten, so kann man annehmen, daß sie verschiedene Stadien des Zellverfalls darstellen, wie Pyknose, Karyorrhexis und Karyolyse, verursacht durch eine mangelhafte Ernährung. *Gravitz* hat ebenfalls solche Formen beobachtet, die er aber als „amitotische“ Teilungsprozesse neben der mitotischen auffaßt; er hat aber die feineren cytologischen Verhältnisse außer Betracht gelassen.

Ich habe mit verschiedenen Färbungsmethoden versucht, die sog. Schlummerzellen darzustellen, aber ich habe sie nicht beobachtet und ebenfalls konnte ich keinen Zusammenhang zwischen den elastischen Fasern und Zellen feststellen und halte daher die Angaben von *Gravitz* und seinen Schülern, daß die Grundsubstanz als umgewandeltes Protoplasma anzusehen ist und daß dieselbe durch Veränderung der Ernährungsverhältnisse sich wiederum zellig umzuwandeln befähigt ist, für nicht zutreffend. Nach *Erdmann* sollen die Rundzellen bei der Gewebszüchtung in folgender Weise entstehen: Es wird ein alter Kern von kollagener Substanz umgeben und daraus bildet sich eine neue Zelle. Bei meinen Untersuchungen habe ich dies nicht beobachtet und kann daher einer solchen Entstehungsweise nicht beipflichten, halte sie vielmehr für irrige Ausdeutungen der Präparate.

Busse hat sich meist mit den Zellformen befaßt, die sich im Blutplasma des Explantats befinden. Er gibt in seiner Arbeit „Über Auftreten und Bedeutung der Rundzellen in den Gewebskulturen“ an, daß dieselben von den hineingewachsenen spindelartigen Zellen herrühren, die vielgestaltige Verzweigungen aufweisen und untereinander anastomosieren. Durch Bakterien oder andere toxische Stoffe, welche auch bei den Entzündungen vorkommen, sollen diese Zellen gereizt oder beeinflußt werden und sich dabei abrunden. Er unterscheidet hier zwei Vorgänge: Ein großer Teil dieser Zellarten soll unter der Einwirkung der schädigenden Stoffe degenerieren und absterben, während ein kleiner Teil von Zellen, die den Lymphocyten ähnlich sind, sich am Leben erhält, sich weiter vermehrt und weiter Gewebszellen bildet.

Um diese Angaben von *Busse* nachzuprüfen, habe ich zu unseren Plasmakulturen Bakterien (*Streptococcus viridans*) zugesetzt. Ich habe

den Zusatz meist am 8. bis 10. Explantationstag vorgenommen; denn in diesem Zeitpunkt ist das Wachstum besonders bei jungen Tieren sehr lebhaft.

Nach Ablauf von 6 Stunden bis 3 Tagen werden die Explantate mit Susa oder Formalin fixiert und untersucht. Die frischen Präparate habe ich ebenfalls mikroskopisch untersucht und dabei beobachtet, daß ein Teil der Spindelzellen direkt oder indirekt mit dem Mutterboden in Verbindung stehen und dabei viele abgerundete Zellen auftreten.

Der histologische Befund war folgender:

Mikroskopische Befunde.

Nach 6 Stunden. In einem Teil der Herzklappen sind die Zellen noch am Leben erhalten, in einem kleineren Teil sind deutliche Zerfallserscheinungen zu beobachten; die Kerne sind verkleinert, abgerundet und manchmal in 2—3 Teile getrennt.

Im Blutplasma, in der Nähe des Gewebes, sind Zellen mit protoplasmatischen Ausläufern in reichlicher Menge vorhanden, die miteinander anastomosieren und geflechtartige Verbände eingehen. Fern vom Gewebsstückchen sind die meisten Zellen von runderlicher Form und nicht lymphocytären ähnlich, sondern mit den großen mononukleären Zellen zu vergleichen.

Nach 1 Tage. (s. Abb. 5a u. b.) Im Gewebsstückchen selbst sind keine nennenswerten Unterschiede als in den eben beschriebenen Präparaten zu beobachten.

Die in das Blutplasma hineinwachsenden Zellen sind an einer Stelle von spindriger Form und zeigen Verzweigungen auf und anastomosieren untereinander. An einer Stelle sind noch mehr Rundzellen als im vorherigen Präparat zu beobachten. Ihre Kerne sind dunkler als diejenigen der Spindelzellen und das Protoplasma ist hier nicht homogen, sondern zeigt Vakuolen (Abb. 5 b).



Abb. 5a.

Abb. 5a u. b. Explantat von Herzklappen des Kaninchens aus einer 10 Tage alten Kultur nach Zusatz von *Streptococcus viridans* nach Ablauf von 24 Stunden. a = Übersicht. b = starke Vergrößerung.

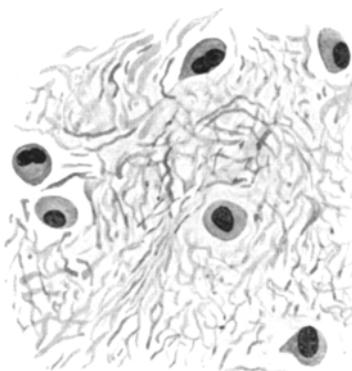


Abb. 5b.

Nach 2 Tagen (Abb. 9 a u. b). In einer Randpartie der Herzklappe, die dem Blutplasma anliegt, sind noch, obwohl in geringer Zahl, anscheinend lebende Zellen mit blassem Kern anzutreffen. Außerdem sind hier noch langgestreckte Zellen zu sehen, die in das Blutplasma hineingewachsen sind. An einem andern Ort des Präparates sind Degenerationsvorgänge in den verschiedenen Stadien zu beobachten. Die Zellen sind meist abgerundet und ihre Kerne sind chromatinreich und strukturlos (pyknotisch). Die Zellen, die den Eosinophilen ungefähr ähnlich sehen, sind von einer grundsubstanzfreien Zone umgeben. Das Protoplasma selbst zeigt einen wabigen Bau und enthält Vakuolen von verschiedener Größe (Abb. 9 b). Der größere Teil des Zelleibes ist wabig und wird durch Eosin etwas stärker gefärbt. Die Vakuolen färben sich nicht. Diese Zellen enthalten viel Sudan färbbares Fett. Auch die Umgebung des Kerns weist eine stärkere Eosinfärbung auf.

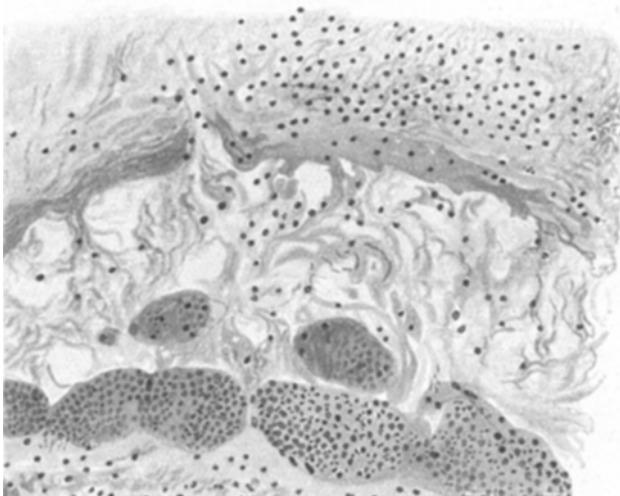


Abb. 6. Explantat von Lymphknoten des Kaninchens nach 8 Tagen.
Im Blutplasma sind zahlreiche Rundzellen zu beobachten.

Im Blutplasma sind die anastomosierenden Zellen nur spärlich zu treffen, fast alle eingewanderten Zellen sind von rundlicher Form, gleich denjenigen des vorhin beschriebenen Präparates. Außerdem sind noch Spuren von abgestorbenen Zellen zu finden, die sich durch erhaltene Protoplasmateile äußern.

Bei dem Vergleich meiner Versuche mit denjenigen von *Busse* kann ich nicht zugeben, daß die eben geschilderten Rundzellen mehr Lymphocyten als Leukocyten ähneln, wie es *Busse* glaubt. Soweit ich dieselben beobachtet habe, zeigen sie eine große Ähnlichkeit mit mononukleären histiocytären Zellen insofern, als sie einen verhältnismäßig kleinen Kern, der chromatinhaltig ist und einen stark entwickelten Protoplasmasaum zeigen. Man sieht nicht nur *räumlich* innerhalb der Kultur, sondern auch *zeitlich* beim Vergleich verschieden alter Kulturen, daß normale Bindegewebzellen *durch Zerfall* in diese Gebilde übergehen, die bei sorgfältigem mikroskopischen Studium niemals ernsthaft als

Lymphocyten erscheinen können. Ich halte es also für ausgeschlossen, daß diese Zellen, wie *Busse* es annimmt, weiterwachsen können; denn sie sind als Absterbebilder histiocytärer Zellen anzuschen.

Um mich noch genauer davon zu überzeugen, habe ich Explantationsversuche mit lymphatischem Gewebe gemacht und dabei beobachtet, daß die Lymphocyten reichlich in Blutplasma hineinwandern, aber sie hatten keine Ähnlichkeit mit den eben geschilderten Rundzellen (Abb. 6).

Um genau festzustellen, ob die Lymphocyten die Fähigkeit besitzen, in andere Gewebe einzuwandern, habe ich Hornhautgewebe und Lymphknoten zusammen explantiert und nach Ablauf einer gewissen Zeit folgendes beobachtet: Die gleichen Lymphocyten, die aus

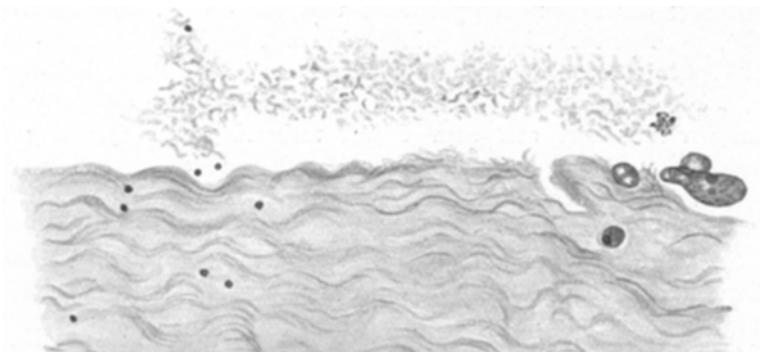


Abb. 7. Explantat von Hornhaut mit Lymphknoten des Kaninchens nach 10 Tagen.

den Lymphknoten in das Blutplasma eingewandert sind, sind auch in die naheliegende Hornhaut eingedrungen, wie es deutlich aus der Abb. 7 hervorgeht. Durch diese Befunde wird die Auffassung von *Lubarsch* und *Neumann* bestätigt, daß Lymphocyten — im Gegensatz zu der Auffassung von *Gravitz* — auch in Hornhautgewebe einwandern können (Abb. 7).

Was das Auftreten von lymphocytären Zellen im Entzündungsgewebe betrifft, können diese teilweise vom Blute, teilweise von der Lymphe oder zum Teil von örtlichen Bildungsherdern des Entzündungsherdes entstehen, wie *Marchand* in seiner Arbeit „Über die Veränderungen des Fettgewebes nach der Transplantation“ betont hat.

Auf Grund meiner Versuche kann ich schließen, daß die Lymphocyten, die in den Herzkäppen sich vorfinden, von dem Mutterboden herrühren.

In dieser Arbeit habe ich mir als Hauptziel gestellt, die Feststellung zu machen, ob in Gewebskulturen, die ursprünglich frei und blutgefäßlos sind, echte Leukocyten entstehen können, d. h. Zellen, die nicht nur

den Blutleukocyten der Form nach ungefähr ähnlich sind, sondern auch die spezifischen Eigenschaften derselben besitzen.

Nach *Growitz* und seinen Schülern sollen von den Gewebszellen echte Leukocyten gebildet und es soll das faserige Bindegewebe durch Einschmelzung in Protoplasma umgewandelt werden und die Tatsache der Umbildung von Fibrillenbündel zu Zellkörpern als bewiesen gelten. Dies glaubte auch *Erdmann* aus ihren Präparaten entnehmen zu dürfen.

Diese Autorin sucht einen vermittelnden Standpunkt einzunehmen. Insbesondere will sie — unter berechtigter Zurückweisung extremer Angaben von *Growitz* und seinen Schülern — eine Entstehung „neuer kleiner Kerne“ aus den älteren vorhandenen durch „Fragmentierungserscheinungen des Ursprungskerns“ gelten lassen. Hieran schlössen sich „Trennung der Kernzerfallsprodukte und dann die Zellneubildung“. Bilder, wie ihre Abb. 12a und 12b, sind uns als Degenerations- bzw. Absterbtypen durchaus geläufig. An unseren Objekten haben wir vom „Abbau des Bindegewebes“ mit Sicherheit nur Quellung und Lösung von Zellen aus dem Gewebsverband sowie Quellung der leimgebenden Fasern feststellen können. Bereits an den elastischen Fasern war ich nicht imstande, die ausführlichen Schilderungen der Autoren zu bestätigen. Eine „Zellbildung“ aber, sei es in der Form, wie sie sich *Growitz*, *Hannemann* u. a. denken, oder wie sie *Erdmann* unter Heranziehung größerer literarischen Apparats bewiesen zu haben glaubt, habe ich nie festgestellt.

Besonders charakteristisch sind die mit Eosin behandelten Schnitte. Es tritt dabei eine Rottfärbung des Protoplasmas um den intensiv gefärbten runden Kern auf. *Growitz* hat diese Zellarten als eosinophile bezeichnet, obwohl keine eosinophile Granula zu unterscheiden sind und es zu einer eosinophilen Granulabildung im Sinne der eosinophilen Leukocyten im Blut nicht kommt. Auch *Hannemann* hat in seiner Arbeit über die Histopathologie der Endokarditis behauptet, daß er in den betreffenden Präparaten runde Zellarten teils mit großem runden, teils mit gelapptem Kern beobachtet hat, die von den Anhängern der Emigrationstheorie als Leukocyten betrachtet werden. Das Protoplasma dieser Zellen zeigt eine außerordentliche Affinität zu Eosin. Auch in Protoplasma umgewandelte Grundsubstanz hat er zu sehen geglaubt. Beim Vergleich dieser Befunde der Endokarditis mit denjenigen, die er bei der Züchtung der Herzklappen beobachtete, hat er keine Unterschiede gefunden und daher den Schluß gezogen, daß die bei Endokarditis entstandenen Leukocyten aus dem Bindegewebe der Herzklappen herrühren und keine besondere Rolle spielen.

Auch *Busse* hat in seiner Arbeit über „Auftreten und Bedeutung der Rundzellen in den Gewebskulturen“ behauptet, daß in den Gewebskulturen Rundzellen auftreten, die den eosinophilen oder den neutro-

philen Zellformen des Bluts gleich sind, besonders bei der Züchtung der Mitralis des Meerschweinchens will er das Auftreten von teilweise mononucleären Zellen, zum größeren Teil aber solcher mit gelappten und kleeblattförmigen Kernen beobachtet haben und damit nachgewiesen haben, daß bei Gewebszüchtung Zellen entstehen, die den Eiterzellen gleichen.

In seiner letzten Arbeit „Welcher Art sind die Rundzellen, die bei den Gewebskulturen auftreten?“ tritt *Busse* gegen die Auffassung von *Lubarsch* über das Auftreten von Rundzellen auf, die dieser in seiner Arbeit zum 100. Geburtstag von *Virchow* „Über die *Virchows*che Entzündungslehre und ihre Weiterentwicklung bis zur Gegenwart“ gebracht hat. Nach *Lubarsch* ist es noch nicht bewiesen, daß echte Leukocyten aus dem Gewebe hervorgehen sollen. Im Gegensatz zu *Gravitz*, *Busse*, *Hannemann* vertritt er die Auffassung, daß die echten neutrophil gekörnten Leukocyten oder Zellen von gleichem morphologischen Charakter ohne Beteiligung von Blutleukocyten nicht entstehen können und die angeführten Versuche der oben genannten Autoren noch nicht beweisend seien. *Busse* sucht in seiner oben angeführten Arbeit neue Beweise für die Richtigkeit seiner Auffassung zu erbringen. So will er imstande sein, Rundzellen zu züchten, die sich in ihren Kernformen nicht unterscheiden von den myelogenen Leukocyten. Weiter gilt als Beweis für die Identität dieser Zellen mit den myelogenen Leukocyten das Auftreten von neutrophilen Granulationen bei der Giemsafärbung. Gegen den Einwand *Lubarschs*, daß diese Zellarten keine Oxydasereaktion geben, führt *Busse* experimentelle Untersuchungen an, die zeigen sollen, daß auch diese Zellarten die Oxydasereaktion geben. Durch diese letzten Versuche glaubte *Busse*, daß alle Einwände nun endgültig widerlegt sind und kommt zum Schluß, daß aus dem fibroblastischen Gewebe selbst Zellen ins Plasma wandern, von denen ein Teil alle Eigenschaften der Lymphocyten hat, ein anderer Teil gelapptkernig ist, neutrophile Körnelung und Oxydasereaktion und somit alle diejenigen Merkmale besitzt, welche für die myelogenen echten Leukocyten und Eiterkörperchen charakteristisch sind.

Um hier zu weiterer Klarheit zu kommen, habe ich zahlreiche Versuche angestellt, und dabei haben die angestellten Kulturversuche immer die gleichen Befunde ergeben. Das Auftreten einer neutrophilen Granulation habe ich nie beobachtet. Es ist auch zu bedenken, daß echte Leukocyten der Säugetiere in der Plasmakultur äußerst kurzelbig sind (*Kuczynski*). Ferner habe ich auch die Oxydasereaktion ausgeführt, und zwar nach *Schultze* und auch die Phenoloxydasereaktion nach *Loebe*. Bei diesen Versuchen hat sich ergeben, daß diejenigen Zellen, welche vom Explantat ins Blutplasma einwandern, eine spin-

delige Form aufweisen und miteinander anastomosieren, einen positiven Ausfall der Reaktion zeigten, derart, daß eine blaue ungleichmäßige Körnelung z. T. zerstreut, z. T. dicht gruppiert zu sehen war. Dabei habe ich den Eindruck gewonnen, daß je rundlicher die Zellen waren, desto dichter die Gruppierung der Körnelung bei dieser Reaktion war. *Die gleichen Versuche mit der Loeleschen Reaktion haben keine positiven Resultate ergeben.* Parallel mit diesen Versuchen habe ich ebenfalls Färbungen auf Fett vorgenommen und dabei war Fett- und Oxydasereaktion nach *Schultze* in der gleichen Zelle *positiv* (Abb. 8 a u. b). Es

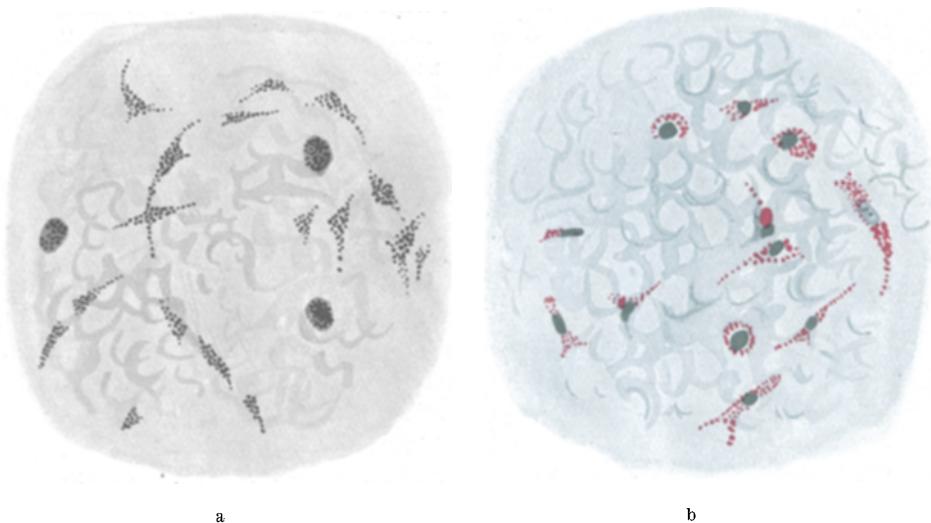


Abb. 8. Explantat von Herzkappen des Kaninchens nach 10 Tagen. a = Oxydgasreaktion; b = Scharlach-Hämalauffärbung.

hat sich bei diesen Versuchen gezeigt, daß während die Oxydasereaktion bei den ausgewanderten Zellen im Plasma wochenlang, parallel mit der Fettfärbung, anhält, sie bei den echten Leukocyten nach kurzer Zeit schwindet. Diejenigen Zellarten, die bei der *Schultzeschen* Oxydasereaktion eine blaue Körnelung zeigten, haben sich bei dem Vergleich mit Sudan und Scharlach gefärbten Präparaten als fettröpfchenhaltige Zellen erwiesen. Auf Grund dieser Ergebnisse ist anzunehmen, daß die von *Busse* für echte oxydasehaltige Leukocyten ausgesprochene Zellarten als fetthaltige Zellen zu betrachten sind. Es ist sicher, daß, wenn *Busse* die gleichen Reaktionen ausgeführt hätte, er zu den gleichen Schlüssen gekommen wäre.

Was die Zellarten betrifft, die *Gravitz* und seine Schüler für *eosinophile* Zellen gehalten haben, so habe ich sie bei meinen Versuchen, wie erwähnt, beobachtet (vgl. auch *Erdmann*).

Anscheinend handelt es sich um dieselben Zellarten, die ich bei Hämatoxylin-Eosinfärbung beobachtet und als durch Ernährungsstörung geschädigte Zellen angesprochen habe. Die Kerne dieser Zellarten zeigten deutliche Zeichen der Degeneration und auch im Protoplasmaleib waren einerseits Vakuolen und andererseits Verdichtungen um den Kern herum zu beobachten. Alle diese Zellen mit Leukocyten gleichzusetzen, ist schwer, wie es auch *Erdmann* betont.

Im Gegensatz hierzu lehrt der Vergleich der Bilder bei der Implantation, daß dort in der Herzklappe auftretende leukocytenartige Zellen vom Blute herühren, da eine örtliche Entstehung aus der Adventitia, wie sie *Herzog* (Klin. Wochenschr. 1923) unermüdlich vertritt, am Orte der Implantation nie und nirgends nachweisbar war.

Zusammenfassung.

Die Implantationsversuche der Herzklappen in der Bauchhöhle des Kaninchens und Meerschweinchens hatten folgende Ergebnisse:

1. In den transplantierten Herzklappen sterben die Zellen zum Teil ab, andererseits wandern zahlreiche Zellen ein und rufen den Eindruck eines sehr zellreichen Gewebes hervor.

2. Unter den eingewanderten Zellen lassen sich beim Meerschweinchen schon am 2. Tage neutrophile Leukocyten beobachten, die sich bis zum 8. Tage allmählich vermehren und nach dieser Zeit rückbilden, so daß sie nach 13 Tagen kaum mehr zu treffen sind.

Diese Zellen liegen zwischen den Faserbündeln des Bindegewebes und sind im versteiften Teil reichlicher als im lockeren zu treffen.

Die eosinophilen Zellen sind erst nach 6 Tagen im Transplantat zu beobachten, vermehren sich in gleicher Weise allmählich und schwinden nach 10 Tagen.

3. In den Herzklappen des Kaninchens sind stets nur pseudoeosinophile Zellen zu sehen, die in gleicher Art und Weise auftreten, wie beim Meerschweinchen die neutrophilen Leukocyten.

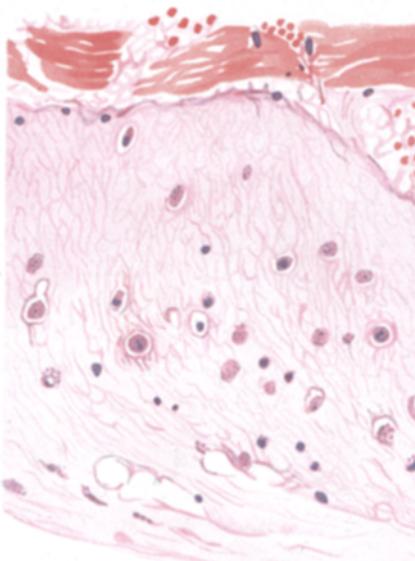


Abb. 9a.

Abb. 9a u. b. Explantat von Herzklappen des Kaninchens aus einer 10 Tage alten Kultur nach Zusatz von *Streptococcus viridans* nach Ablauf von 2 Tagen bei mittlerer u. starker Vergrößerung.



Abb. 9b.

4. Große und kleine Rundzellen sind im Transplantat beider Tierarten zu treffen. Die Einwanderung beginnt vom 6. Tage an.

5. Alle diese Zellarten haben keine engeren Beziehungen zu den elastischen und anderen Fasern der Herzklappen.

Die Implantationsversuche haben folgende Ergebnisse gezeigt:

1. Vom 2. bis 8. Tage nach der Explantation sind in das Blutplasma hineinwachsende Zellen zu beobachten. Sie sind spindlig und bilden durch anastomosenartige Verbindungen Geflechte.

2. Nach 8 Tagen nehmen die Rundzellen bedeutend zu, sie stellen Stadien des Zellzerfalles dar.

3. Bei meinen Versuchen habe ich nicht die Entstehung neutrophiler und eosinophiler Zellen gesehen, wie sie *Gravitz* und *Busse* beschrieben haben.

4. Die Prüfung der Oxydasereaktionen hat ergeben, daß alle diese Zellarten keine echten Leukocyten, sondern als lipoidhaltige Zellen anzusehen sind. Demgemäß ist die Reaktion nach *Schultze* in voller Parallelie mit der Sudanreaktion positiv, die nach *Loeles* dagegen stets negativ. Ein *granuläres*, etwa der *Schultzeschen* Reaktion entsprechendes Zellbild fehlt durchaus.

5. Der Hauptunterschied in dem Verhalten der implantierten und explantierten Herzklappe besteht demnach darin, daß nur bei der Implantation echte Leukocyten auftreten, während im Explantat höchstens lympho- und leukocytenähnliche Zellen gefunden werden.

Literaturverzeichnis.

- 1) *Busse*, Auftreten und Bedeutung der Rundzellen bei den Gewebskulturen. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **229**. 1920. — 2) *Busse*, Welcher Art sind die Rundzellen, die bei den Gewebskulturen auftreten? *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **239**. 1922. — 3) *Behnke*, Über Aufbau und Abbau des Bindegewebes. *Diss. Greifswald* 1914. — 4) *Cohnheim*, Über Entzündung und Eiterung. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **40**. — 5) *Cohnheim*, Neue Untersuchung über die Entzündung. *Berlin* 1873. — 6) *Ernst*, Tod und Nekrose. *Handbuch d. allg. Pathol.* **3**. 1921. — 7) *Erdmann*, Das Verhalten der Herzklappen der Reptilien und Mammalier in der Gewebskultur. *Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen* 1921. — 8) *Gravitz*, Abbau und Entzündung des Herzklappengewebes. *Greifswald* 1914. — 9) *Gravitz*, Die Bindegewebsveränderungen in Plasmakulturen. *Dtsch. med. Wochenschr.* 1915. — 10) *Gravitz*, *P. Schläfke*, *F. Uhlig*, Über Zellenbildung in Cornea und Herzklappen. *Greifswald* 1913. — 11) *Gravitz*, Die Lösung der Keratitisfrage unter Anwendung der Plasmakultur. *Halle* 1919. — 12) *Hannemann*, Die Histopathologie der Endokarditis. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* 1919. — 13) *Herzog*, Über die Bedeutung der Gefäßwandzellen in der Pathologie. *Klin. Wochenschr.* 1923, Nr. 15—16. — 14) *Leber*, Die Entstehung der Entzündung und die Wirkung der entzündungserregenden Schädlichkeiten. *Leipzig* 1891. — 15) *Loeles*, Histologische und reduzierende Substanz innerhalb der Zelle. *Lubarsch-Ostertag* Ergebni. **16**. 1911. — 16) *Lubarsch*, Neues zur

Entzündungslehre. Dtsch. med. Wochenschr. 1898, Nr. 33 und Herr Prof. *Gräwitz* und die Entzündungslehre. Dtsch. med. Wochenschr. 1898, Nr. 5. — ¹⁷⁾ *Lubarsch*, Entzündung. Pathol. Anat. von *Aschoff* 1923. — ¹⁸⁾ *Lubarsch*, *Virchows* Entzündungslehre und ihre Weiterentwicklung bis zur Gegenwart. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **235**. 1921. — ¹⁹⁾ *Lubarsch*, Bemerkung zu vorstehender Arbeit. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **239**. 1923. — ²⁰⁾ *Marchand*, Über die Herkunft der Lymphocyten und ihr Schicksal bei der Entzündung. *Dtsch. pathol. Ges.* 1913. — ²¹⁾ *Marchand*, Meine Stellung zur *Gräwitzschen* Schlumerzellenlehre. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **229**. 1921. — ²²⁾ *Mitsuda*, Über die Beziehung zwischen Epithel- und Bindegewebe bei Transplantation und Explantation. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **242**. 1923. — ²³⁾ *Neumann*, Experimentelle Untersuchungen über Zelleinwanderungen in tote Hornhäute. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **236**. 1922. — ²⁴⁾ *Senftleben*, Beiträge zur Lehre der Entzündung und den dabei auftretenden corpusculären Elementen. *Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol.* **72**. — ²⁵⁾ *Schridde*, Studien und Fragen zur Entzündungslehre. Jena 1910.
