

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

# Explantationsversuche mit Lymphknoten auf Plasma unter Zusatz von Milz-, Nebennieren- und Knochenmarksextrakt unter Nachprüfung der Versuche von Maximow und unter besonderer Berücksichtigung der Bildung granulierter Zellen.

Von

Dr. Choe Shiomi (Tokio, Japan).

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. August 1924.)

## I. Einleitung.

Die von *Harrison* begründete und von *Carrel* weiter ausgebauten Methode der Gewebszüchtung ist immer mehr zur Lösung strittiger Fragen der speziellen und allgemeinen Pathologie herangezogen worden. Unter den Forschern, die sich neuerdings besonders dieser Methode bedienten, ist vor allem *Maximow* zu nennen, der auch die strittige Frage der Blutpathologie auf diesem Wege zu einer Entscheidung zu bringen versucht hat. Bekanntlich ist er ein Vertreter der Einheitstheorie und erkennt grundsätzliche Unterschiede zwischen dem myeloischen und lymphatischen Systemen nicht an, hält daher auch die Entstehung von Knochenmarkgewebe aus lymphatischen Gründen unter Umständen für möglich. Nachdem er schon aus der von *Sazerdotti* und *Frattin* nachgewiesenen und von ihm, *Lubarsch* u. a. zuerst bestätigten Entstehung von Knochen mit echtem Knochenmarkgewebe in bei Kaninchen hervorgerufenen Niereninfarkten, den Schluß gezogen hatte, daß dieses Knochenmark aus in den Blutgefäßen zurückgehaltenen Lymphocyten gebildet würde, hat er in seinen (57—59) letzten Untersuchungen über Blut- und Bindegewebe versucht, die Erzeugung von Myelocyten aus den Lymphocyten des lymphadenoiden Gewebes in Gewebskulturen von Lymphknoten im Plasma unter Zusatz von Knochenmarkextrakt als Nährmedium zu beweisen. Es sollen in diesen Kulturen die myeloischen Elemente aus den sich weiter entwickelnden Lymphocyten und die letzteren aus den Reticulumzellen entstehen.

Um diese äußerst wichtige Frage näher zu prüfen, habe ich eine Nachprüfung der Versuche *Maximows* angestellt, dabei nicht nur Knochen-

markextrakt, sondern auch Milz- und Nebennierenextrakt und zwar allein oder zusammen verwendet. Bevor ich auf die Befunde näher eingehe, halte ich es für notwendig, eine Betrachtung der wichtigsten Verhältnisse der normalen Histologie und der Zellentstehung in den Lymphknoten vorauszuschicken.

Die vorliegende Arbeit ist im Pathologischen Institut der Universität Berlin vom August 1923 bis März 1924 auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Lubarsch ausgeführt worden. Ich benutze die Gelegenheit, um Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Lubarsch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen für die große Aufmerksamkeit, die er meiner Arbeit entgegenbrachte und die gewährte Unterstützung; auch seinem Assistenten Privatdozent Dr. Wolff spreche ich für die freundliche Beratung bei Anstellung der Gewebszüchtungen meinen Dank aus.

## **II. Vorbemerkungen über die Histologie und die Abstammung der einzelnen Zellelemente der normalen Lymphknoten beim Kaninchen.**

Hierauf soll nur insoweit eingegangen werden, als strittige Fragen vorhanden oder Besonderheiten der zur Züchtung verwendeten Lymphknoten beim Kaninchen vorhanden sind.

Schon hinsichtlich des feineren Baues des *Lymphknotenbaues* sind die Ansichten geteilt und mehr noch über die Beziehungen dieses Teils zu den übrigen Bestandteilen der Lymphknoten. Ribbert<sup>68)</sup> unterscheidet 2 Arten von fixen Zellen im Reticulum: 1 zelliges Netzwerk und in dessen Knotenpunkte eingelagerte besondere Zellen, deren Kerne kleiner und chromatinreicher als die der Endothelien sind. Sixer<sup>71)</sup> nimmt dagegen, wie vorher schon Ranvier, das Vorhandensein nur einer einzigen Art seßhafter Zellen an. Nach ihm entstehen die Lymphknoten aus gewöhnlichem Bindegewebe, dessen Zellen durch den Druck der weiten Sinus und die starke Entwicklung von Blutgefäßen nahe aneinander gerückt sind und zwischen denen fasrige Zwischensubstanz im Gegensatz zu den Verhältnissen des benachbarten Bindegewebes nicht vorhanden ist. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das eigentliche adenoidae Gewebe dadurch sich bildet, daß Lymphocyten die Masse des Gewebes durchdringen und Zellen und Fasern auseinanderdrängen. Auch über die Sinusendothelien und Reticulumzellen sind die Ansichten der Forscher geteilt. Nach Sixer sind die Sinus ursprünglich gleichartig mit der Lymphgefäßplexus, aber sie verlieren sehr bald deren Charakter, indem die Plexus durch Schwund der Wände zu großen Räumen, d. h. Sinus, verschmelzen, und in letztere sekundär, retikuläres Bindegewebe eintritt. Somit ist es keine Frage, daß die Zellen des Sinusreticulum ontogenetisch und morphologisch mit den Sinusendothelien übereinstimmen. Das Lymphgefäßsystem entsteht aus den Spalten des

Bindegewebes zu einer Zeit, wo das Bindegewebe bereits mäßig entwickelt ist; die vorhandenen Bindegewebzellen werden durch einfache Abflachungen zu den auskleidenden Endothelien. Somit entsprechen die Sinusreticulumzellen völlig den ebenfalls aus Bindegewebe hervorgegangenen Follikelreticulumzellen.

Immerhin bestehen im Verhalten gegen Silberimprägnation und vitale Farbstoffspeicherung Unterschiede, die aber nicht verhindert haben, sie mit den Reticulumzellen der Milz und des Knochenmarks, den Endothelien der intraacinarischen Capillaren der Leber, den Endothelien der Capillaren der Nebenniere, den Zellen der taches laiteuses im Netz und Adventitzellen der Blutgefäße als eine funktionelle Einheit mit dem sogenannten Reticuloendothelsystem zusammenzufassen [*Kiyono*<sup>39</sup>), *Tschaschin*<sup>82</sup>]). Inwieweit das berechtigt ist, soll hier nicht erörtert werden. Auch *Maximow*<sup>57</sup>) läßt Reticulumzellen und Sinusendothelien aus einem gemeinsamen primitiven mesenchymalen Syncitium hervorgehen und schreibt ihnen deswegen die Fähigkeit zu, entwickelte Fibroblasten und Wanderzellen bei dem Aufbau von Granulationsgewebe zu bilden. Das eigentliche lymphatische Gewebe enthält kein fibrilläres, kollagenes Bindegewebe, nur die Trabekel sind von Blutgefäßen begleitet, die bis ins Parenchym eindringen. Daher ist anzunehmen, daß in dem Lymphadenoidgewebe perivasculäres fibrilläres Bindegewebe vorkommt; aber wieweit das letztere dasselbe durchsetzt, ist schwer mit Sicherheit festzustellen. Auch über den Hauptbestandteil der normalen Lymphknoten der Lymphocyten, deren Bildung und Schicksale, gehen die Meinungen oft auseinander. Doch wird man im wesentlichen der Ansicht *Marchands*, *Weidenreichs* u. a. zustimmen müssen, daß sowohl die großen, wie die kleinen Lymphocyten von Reticulumzellen aus entstehen und daß die kleinen Lymphocyten wieder zu großen, oft auch vielgestaltigen oder sogar mehreckigen Zellen von „Makrophagentypus“ werden können. *Hodara* hat solche Zellen als „Polyeidozyten“ bezeichnet. Auch das darf als gesichert angesehen werden, daß im extrauterinen Leben die Neubildung der Lymphzellen nicht ausschließlich in den Keimzentren, sondern im ganzen lymphatischen Apparat erfolgt. Die Keimzentren, wie es neuerdings von *Hellmann* geschehen ist, nur für Reaktionszentren zu erklären, müssen wir aber ablehnen.

Auf die Frage, ob alle morphologisch mit Lymphzellen und der Hauptsache übereinstimmende Zellen echte Lymphocyten sind — eine Frage, die ja bei der Deutung der kleinen Thymuszellen eine große Rolle spielt — brauchen wir hier nicht näher einzugehen. Dagegen müssen die Beziehungen der Lymphocyten zu den gekörnten weißen Blutzellen den Granulocyten bewertet werden. Hier vertreten die Unitarier, vor allem *Maximow* die Ansicht, daß aus den Lymphzellen unter gewissen Be-

dingungen auch Granulocyten und Megakaryocyten werden können. Auch *Marchand* steht auf dem Standpunkt, daß die ursprüngliche Form der farblosen Blutzellen die „ungranulierte lymphoide Zelle“ sei und daß auch im späteren Leben aus ihnen gekörnte Zellen, selbst Myelocyten und Myeloblasten entstehen können. *Maximow* hat in den Ergebnissen seiner Lymphocytenzüchtungen eine wesentliche Stütze dafür erblickt. Jedenfalls kann die alte Ansicht *Ehrlichs* von der spezifischen Natur jeder Art von Körnelungen in den Leukocyten als nicht mehr berechtigt angesehen werden, nachdem es feststeht, daß in einer und derselben Zelle verschiedenartige Körnelungen nebeneinander und Übergänge in einer Zelle vorkommen. Außer den Lymphocyten sind noch oxyphil- und neutrophilgekörnte Plasma- und Mastzellen als normale Bestandteile sowie hyaline Kugeln beschrieben worden. Dem Vorkommen vereinzelter Plasma- und Mastzellen sowie von hyalinen Kugeln kommt wohl kaum eine pathologische Bedeutung zu; sind sie in größerer Zahl vorhanden, so ist darin, ebenso wie im Vorkommen von neutrophil (pseudoeosinophil) und oxyphilgekörnten Zellen der gemilderte Ausdruck einer Reizung zu sehen. Einer besonderen Erwähnung bedarf noch das Vorkommen von Pigment in den Lymphknoten, besonders denen, die von *Maximow* und auch von mir meist zur Züchtung benutzt werden, namentlich die in Pankreasaselli gelegenen. *Lubarsch* hat (Berl. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 3) hervorgehoben, daß die Gekröselymphknoten von Meerschweinchen, Kaninchen und Rindern, soweit es sich um ältere Tiere handelt, fast regelmäßig Sitz von Pigmentablagerungen seien. Dieses Pigment hat einsteils bräunlichen, teils mehr grünlichen Farbenton, tritt in Körnern, unregelmäßigen Klumpen und spitzen Splittern sowie größeren Kugeln auf. Beim Meerschweinchen sind fast alle Pigmentmassen eisenhaltig (positive Turnbullreaktionen), bei Kaninchen ist ein großer Teil eisenfrei, bei Rindern überwiegen ganz die die Eisenreaktion nicht gebenden Pigmentkörper. In anderen Lymphknoten des Kaninchen (Halslymphknoten) habe ich kein Pigment gefunden, ebenso vermißte ich es in den Gekröselymphknoten von jungen Kaninchen, die im Alter bis zu 3 Monaten waren, bei etwas älteren fand ich es mitunter in sehr geringer Menge.

### III. Material und Methoden.

Grundsätzlich habe ich die Untersuchungen vorschriftsmäßig nach *Maximow*<sup>57)</sup> ausgeführt; nur in einem Punkte sind sie abweichend. Ich habe, wie das bei allen unter *Lubarsch* ausgeführten Gewebszüchtungen geschehen ist, statt des hängenden Tropfens die Kulturmutter von *Kuczynski*, die immer eine Höhe von 1 cm und einen Radius von 2 cm hat, benutzt, um den Nachteil zu vermeiden, daß die Kulturen bei dem hängenden Tropfen leicht der Infektion und der Austrocknung anheimfallen und infolgedessen eine Störung im Wachstum eintreten kann. Sie hat nur den Nachteil, daß die Beobachtung der lebenden Zelle

im frischen Zustande durch die Höhe der Glasschale erschwert wird, da man nur schwächere Vergrößerungen benutzen kann. Als Material dienten mir ganz junge Kaninchen im Alter von 2 Wochen bis 3 Monaten. Zum Zwecke der Herstellung von Serum für Knochenmarkextrakt wurde an dem der Auspflanzung vorhergehenden Tage Blut aus dem Herzen des gleichen Tieres entnommen und am nächsten Morgen das Serum isoliert. Gleichzeitig wurde aus beiden Oberschenkelknochen desselben oder eines anderen Kaninchens das Knochenmark aseptisch entnommen und in kleine keimfreie Porzellanmörser gebracht; hier wurde es bis zur teigartigen Form zerrieben, 3 ccm Serum zugesetzt, wiederum sorgfältig gerieben, und zwar alles in allem während 7—10 Minuten. Die erhaltene halbfüssige Masse wurde mit einer keimfrei gemachten Spritze in Zentrifugengläschchen mit Gummikappe versetzt und während 5—7 Minuten bei hoher Geschwindigkeit zentrifugiert. Das Knochenmarkserum wird dadurch in 3 Schichten gesondert. Das noch nicht ganz zerriebene Knochenmark ist reich an Zellbestandteilen und bildet infolge des großen spezifischen Gewichts die ganz tief angesetzte Schicht von dunkler roter Farbe. Die mittlere Schicht stellt den gewünschten Knochenmarkextrakt dar und ist von blau- bis gelblicher Farbe, klar, durchsichtig, zähe und ohne zellige Bestandteile. Die obere Schicht besteht aus einem grauweißen fettigen Rückstand des Knochenmarks. Bei der Entnahme des Extraks muß man das gleichzeitige Eindringen der oberen Fettschicht in die Spritze vermeiden. Das gelingt, wenn man leise und vorsichtig das Zentrifugengläschchen in schräge Stellung bringt; denn dadurch wird ein von der Fettschicht freier Zugang zum Knochenmarkextrakt geschaffen, von welchem mit Hilfe einer Kanüle die Flüssigkeit entnommen wird.

Die zur Züchtung bestimmten Lymphknoten wurden nach *Maximow* aus dem Pancreas aselli entnommen und in eine Schale mit warmer Ringerscher Lösung gebracht, um sie vor Austrocknung zu schützen, und in dieser mit einer Schere in feine, 0,5—1,0 mm messende Teilchen von Rinde oder Mark zerteilt; diese wurden dann nochmals in Ringerscher Lösung abgewaschen, um das Blut vollständig zu beseitigen.

Als Nährmedium brauchte ich aus dem Herzen desselben oder eines anderen Kaninchens entnomenes Blutplasma. Das entnommene Blut wurde in Zentrifugenröhren, deren Innenseite mit Paraffin ausgekleidet wurde, gebracht, das offene Ende mit einer Gummikappe abgeschlossen und während 4—5 Minuten zentrifugiert. Auf diese Weise wurde das Blutplasma vollständig von den Blutkörperchen befreit. Vor der Herzpunktion wurde die dazu zu gebrauchende Spritze und das mit Paraffin ausgekleidete Zentrifugengläschchen ebenfalls mit keimfreiem Paraffinum fluidum bestrichen, um deren Innenseite schlüpfrig zu machen. Um die Ausdehnung oder Sprengung der Kappe durch den Luftdruck bei der Blutversetzung wie bei der Sterilisation der Gläschchen zu vermeiden, wurde eine Spritzkanüle in die Kappe eingesetzt, um der ausgedehnten Luft einen Ausgang nach außen zu verschaffen.

Das erhaltene Blutplasma wurde in mit Paraffin ausgekleidete Gläschchen gebracht, die Spritzkanüle aus der Gummikappe entfernt und die zurückgebliebene kleine Öffnung mit Paraffin verlegt.

Vor der Anstellung der Kultur wurde das isolierte Blutplasma mit destilliertem Wasser im Verhältnis von 2 : 1 verdünnt und in die Kulturkammer gebracht. Dann wurde Knochenmarkextrakt, ebenfalls im Verhältnis von 2 : 1 zugesetzt, beide Flüssigkeiten durch leises Umdrehen gemischt, vor dem Eintreten der Gerinnung das Gewebsstückchen eingebracht und die Ränder mit Paraffin luftdicht abgeschlossen, um den Eintritt einer Infektion zu vermeiden. Es ist zu vermeiden, überflüssig viel Knochenmarkextrakt zuzusetzen; denn dadurch kann leicht die

Gerinnung verhindert werden. Nach dem Eintreten der Gerinnung wurden die Kulturen im Brutschrank bei einer Temperatur von 35—37° eine gewisse Zeit aufbewahrt.

Ich will hier noch kurz über die Temperaturverhältnisse der Ringerschen Lösung folgendes bemerken: *Maximow*<sup>57)</sup> gibt einfach an, daß er die Gewebsstückchen in warme Ringersche Lösung bringt, ohne die Temperatur anzuführen. Nach *Lambert*<sup>43)</sup> wird embryonales Gewebe des Huhns und der Ratte bei einer Temperatur von — 7 bis + 20° noch lebensfähig erhalten; als Temperaturoptimum ist aber + 6° anzusehen. Bei meinen Versuchen hat sich gezeigt, daß die Ringersche Lösung bei einer Temperatur von über 25° hemmend auf die Lebensfähigkeit des Gewebes einwirkt. Bei dieser Temperatur sind nur die widerstandsfähigen Fibroblasten und Reticulumzellen gewachsen, nicht aber die Lymphocyten. Es scheint mir am besten, für diesbezügliche Versuche die Zimmertemperatur zu benutzen. Wie meine Erfahrungen ergeben haben, scheint es mir besser, die Gewebsstückchen in der Lymphe selbst, die während der Operation herausfließt, aufzubewahren, als in der erwähnten Ringerschen Lösung, deren Temperaturoptimum schwer zu bestimmen ist. Bei genügender Menge von Lymphe ist das zur Züchtung bestimmte Gewebe vor Austrocknung geschützt und bis zur Herstellung der Kultur gut aufbewahrt, besonders nach der Zerteilung in kleine Teilchen, wenn diese gut mit Lymphe durchfeuchtet sind.

Man muß vermeiden, das anzupflanzende Gewebsstückchen nach der Gerinnung des Nährmediums zu verpflanzen; denn dann bleibt es an der Oberfläche des letzteren liegen und wird durch die Fibringerinnung zusammengepreßt und gibt bei der Züchtung schlechte Ergebnisse.

Außer der oben angeführten Abweichung von dem *Maximowschen* Verfahren habe ich bei der Gewinnung von Knochenmark teilweise nicht nur die beiden Oberschenkelknochen, sondern auch die beiden Unterschenkelknochen und teilweise nur einen Oberschenkelknochen benutzt, und zwar aus Gründen, die ich später anführen werde.

Außer Knochenmarkextrakt habe ich, mich auf die Versuche von *Paul Szilárd*<sup>81)</sup> stützend, auch die Wirkung des Nebennierenextraktes erprobt. Es hat sich dabei ergeben, daß Nebennierenextrakt stark fördernd auf das Wachstum des Gewebes einwirkt, und nach Zusatz von Knochenmarkextrakt eine weitere Verstärkung erfolgt.

Zu diesem Zweck wurde die linke Nebenniere abgekapselt und in einem keimfreien Porzellanmörser zerrieben; dann wurde 5 ccm Serum zugesetzt, und wiederum zerrieben, und weiter in gleicher Weise wie beim Knochenmark verfahren. Bei Zusatz von Knochenmark muß man zuerst die Nebenniere zerreiben und zentrifugieren. Ich habe nur eine Nebenniere benutzt, weil die Wirkung beider zu stark ausfällt und das Wachstum störend beeinflußt. Auch von mir verwendeter Milzextrakt wurde in gleicher Weise wie Nebennierenextrakt hergestellt und benutzt.

Die Fixierung wurde mit Helly-Formol oder Susalösung vorgenommen; dabei wurde nach Susalösung nicht nachgewaschen und nach 4stündiger Fixierung direkt in 93 proz. Alkohol gebracht. Die für die Fixierung zu verwendende Flüssigkeit wurde unmittelbar in die Kulturkammer gebracht, um die natürlichen Verhältnisse des gewachsenen Gewebes nicht zu zerstören. Nach 3—4stündiger Fixierung wurde das gezüchtete Gewebe mit scharfem Messer von dem Boden der Kammer gelöst, 24 Stunden in Wasser gewaschen, mit Alkohol nachgehärtet, in Celloidin oder meistens in Paraffin eingebettet, und vom ganzen Präparat Serienschnitte angefertigt. Die Färbungen sind mit Giemsa nach *Schridde* oder in der Kombination von Giemsa und May-Grünwald nach *Pappenheim* gemacht worden.

#### IV. Allgemeines Verhalten der verschiedenen Zellen bei der Explantation der Lymphknoten.

Das allgemeine Verhalten bei der Explantation ist von Fall zu Fall verschieden. Mit unbewaffnetem Auge beobachtet man anfangs das Transplantat scharf begrenzt; aber im Verlauf von 15—20 Stunden wird es abgeplattet und von einer diffusen Trübung umgeben. Diese Trübung nimmt allmählich in der Breite und an Dichtigkeit zu, bis sie nach 5—7 Tagen den höchsten Grad erreicht und stationär bleibt. Nach 5—7 Tagen ist das Explantat 4 bis 5fach so groß geworden als das anfänglich ausgepflanzte Stückchen.

Unter dem Mikroskop zeigen frische Präparate einige Stunden nach der Herstellung eine Auswanderung aktiv beweglicher Zellen aus dem ausgepflanzten Gewebsstück in das geronnene Plasma. Die meisten ausgewanderten Zellen sind unmittelbar an der Oberfläche des Explantates am dichtesten angeordnet, nach außen an Zahl vermindert. Man kann bei einigen Exemplaren, die sich etwas weiter im Plasma befinden, freie amöboide Bewegungen beobachten. Die ausgewanderten kleinen runden Zellen sind zu den Lymphocyten zu rechnen, weil in der Umgebung des verhältnismäßig großen, runden oder kurz ovalen, zart granulierten Kerns sich ein ganz schmaler, fast homogener Zelleibsaum befindet. Weiter nach außen sind größere Zellen anzutreffen, deren Protoplasma heller ist, als bei den vorher beschriebenen. Sie zeigen manchmal Pseudopodien und eine lebhafte amöboide Bewegung und eine zeitweilige Formveränderung. Man kann diese Zellen wegen ihres biologischen Verhaltens zu den beweglich gewordenen Reticulumzellen rechnen. Im Verlauf der ersten 24—30 Stunden treten zwischen den ausgewanderten Zellen spindelförmige Zellen hervor, besonders an den vorspringenden Teilen des Explantates. Im Verlauf von 8 Stunden breiten sie sich zwischen die ausgewanderten Zellen aus und ragen mit ihren spießförmigen Fortsätzen in das Plasma hinein. Nach 3 Tagen sind sie reichlich im Plasma anzutreffen und speichenförmig um das ausgepflanzte Stück angeordnet. In dieser Zeit bemerkt man im Plasma außerhalb der radiär ausgebreiteten Spindelzellenschicht einzelne ausgewanderte Rundzellen. Die eben beschriebenen Wachstumsvorgänge sind in denjenigen Fällen deutlich zu beobachten, in denen das Plasma bald geronnen ist; dagegen in denjenigen Fällen, in denen das Nährplasma schlecht geronnen oder infolge unvollständiger Gerinnung weich ist, ist keine strahlige, sondern mehr eine schichtenartige Anordnung der Zellen zu beobachten. Bei schwacher Vergrößerung zeigen die Kulturen ein gleiches Verhalten, und zwar ein radiär gerichtetes grasartiges Wachstum sowohl bei Reinplasmanährmedien als auch bei denjenigen mit Organextrakten, obwohl ein Gradunterschied zwischen einzelnen Kulturmedien festzustellen war.

Auch bei der Untersuchung von gefärbten Schnittpräparaten zeigen dieselben in den ersten Tagen bei verschiedenen Nährmedien keine deutlichen Unterschiede. Ein größerer oder geringerer im Innern des Explantates gelegener Teil verfällt fast in allen Fällen der Nekrose, deren Ausdehnung und Form je nach dem Fall verschieden sind. Die Ursache dieser Erscheinung ist schwer zu erklären; denn hier sollen mehrere Einflüsse im Spiele sein. In den nekrotischen Teilen befinden sich oft überlebende Bindegewebzellen und besonders gegen verschiedene Schädigungen widerstandsfähige Blutgefäßendothelen. Die meisten ausgewanderten großen und kleinen Lymphocyten fallen ebenfalls dem Absterben oder der Entartung anheim, und nur wenige davon erhalten ihre Form unverändert. Infolge der Auswanderung der aktiv beweglichen Zellen wird der Randteil des Explantates zellarm und locker, was ermöglicht, die zurückgebliebene fixe Substanz des lymphadenoiden Gewebes näher kennenzulernen. Auch in den noch erhaltenen Gewebs Teilen befinden sich zerfallende und sogar abgestorbene Lymphocyten, deren eigentliches basophiles Protoplasma acidophil und dessen Kern pyknotisch geworden ist.

Das Explantat lässt sich verschieden beobachten, je nachdem es aus Rinde und Kapsel oder aus Marksubstanz verpflanzt wird. Im ersten Fall sind die Follikel fast vollkommen erhalten, und zwar wahrscheinlich infolge des Schutzes des dichten perifollikulären Reticulumplexus gegen Einwirkung von Schädlichkeiten. Die Randsinus sind stark erweitert und mit Flüssigkeit und ausgewanderten Zellen gefüllt; zwischen den Zellen spannen sich dicke und feine sich verflechtende Reticulumfasern aus. Einige Reticulumzellen sind in Bewegung gesetzt und ausgewandert; die Sinusendothelen sind angeschwollen; im Randteil des Follikels sind die Reticulumzellen abgerundet und auffallend; auch die Fibroblastenkerne, die normalerweise nicht zu sehen sind, kommen zum Vorschein. Trabekel und Kapsel sind gelockert, deren Fibroblasten abgerundet und nicht leicht von den mobilisierten, das Bindegewebe durchsetzenden Reticulum- und Sinusendothelzellen zu unterscheiden.

Bei dem Explantat der Marksubstanz ist ebenfalls das Reticulum im peripheren Teil deutlich wahrzunehmen. Die Reticulumzellen sind abgerundet; Fibroblasten kommen hier ebenfalls vor. Im Verlauf von 48 Stunden sind schon Mitosen in den Reticulumzellen sichtbar. Die freigewordenen Reticulumzellen enthalten in ihrem Zelleib verschieden große, mit Hämatoxylin-Eosin bräunlich oder mit Giemsa-May-Grünwald grünlich gefärbte Pigmentkörnchen. Wie ich schon oben bemerkt habe, kann man normalerweise in den Lymphknoten Pigmentkörnchen feststellen, die bei der Explantation besonders unter Zusatz von Orangeextrakt reichlich zum Vorschein kommen. Die Pigmentkörnchen geben keine Eisenreaktion, lassen sich aber mit Kernfarbstoffen färben. Andere

Reticulumzellen enthalten in ihrem Zelleib mehrere degenerierte, manchmal aber auch noch gut erhaltene Lymphocyten oder Zerfallprodukte, so daß der eigene Kern überdeckt wird und nicht zum Vorschein kommt. Zwischen den grünen Pigmentkörnchen und den Zerfallprodukten des Kernes kann man einen gewissen Übergang feststellen; so ist es wahrscheinlich, daß die meisten Pigmentkörnchen als Zerfallgebilde der phagocytierten Kerne anzusprechen sind. Andere Zellen enthalten in ihrem wabigen, schwach basophilen Protoplasma verschieden große, rot gefärbte hyaline Schollen, welche ebenfalls auch als aufgenommene degenerierte Kernsubstanz aufzufassen sind.

Die reichlich ausgewanderten Lymphocyten zerfallen und werden aufgesaugt, und eine neue Auswanderung derselben setzt bald wieder ein. Im Verlaufe von 3 Tagen sind bei den Lymphocyten Mitosen festzustellen, auch sind mannigfache Bewegungsformen besonders in den Kulturen mit Organextrakten wahrzunehmen. Einige derselben zeigen schon manchmal nach 24 Stunden plasmocytoide Formen. Im Verlaufe von 48 Stunden kommen im Plasma Fibroblasten zum Vorschein; besonders reichlich entwickelt sind die Fibroblasten an den vorspringenden Gewebsteilen des Explantats; auch Lymphocyten sind an diesen Stellen reichlich angesammelt. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß die ins Plasma hineinragenden Gewebsteile mit einer größeren Fläche der Plasmaschicht in Berührung kommen; dadurch wird die Nahrungsaufnahme und andere Stoffwechselvorgänge bedeutend erleichtert und begünstigt. Nach 3 Tagen zeigen Fibroblasten zahlreiche Mitosen und nehmen während des Verlaufes von 3—5 Tagen an Zahl zu und breiten sich mit ihren spießförmigen Protoplasmafortsätzen strahlig im Plasma um das Explantat aus.

Sie liegen vereinzelt oder in Bündeln geordnet, die miteinander anastomosieren; und dazwischen sind Lymphocyten und Reticulumzellen eingelagert. Schon im Verlauf von 24 Stunden schwellen die Endothelien der capillären Blutgefäße, die Kerne vergrößern sich und kommen in Berührung miteinander und ragen ins Lumen hinein. Nach 24 Stunden nimmt die Zahl der Kerne zu, so daß sie fast die Lichtung verlegen. An einigen Stellen zeigen sie manchmal die Absicht, durch die Wand hindurch in das Gewebe einzuwandern. Wenn ein Gefäßteil mit seinem stumpfen Ende am Rande des Explantates sich befindet, so erscheinen nach 2 Tagen im geronnenen Plasma Endothelzellen mit spitzen Fortsätzen. Echte Pseudopodien sind bei den Fibroblasten und Gefäßendothelien nicht zu beobachten; aber beide besitzen eine aktive Bewegungsfähigkeit. Nach 3 Tagen dringen die Endothelzellen ins Plasma hinein und bilden hier manchmal Capillarsprossen; vereinzelt im Plasma oder Explantat angetroffen, lassen sie sich nicht von den Fibroblasten unterscheiden; und daher ist man berechtigt, beide Zellarten als Histio-

blasten (*Lubarsch*) zu bezeichnen. Nach 5—7 Tagen haben die Kulturen in ihrem Wachstum den Höhepunkt erreicht. Die „Wachstumszone“ ist in dieser Zeit deutlich zu sehen. Die Grundlage derselben bilden die Fibroblasten.

Die Anordnung der Zellen in der Wachstumszone ist abweichend von derjenigen des normalen Gewebes; und zwar sind die Zellen hier ganz unregelmäßig gelagert. Bei schwachem Wachstum sind die Fibroblasten vereinzelt oder in Bündeln, deren Fortsätze noch miteinander anastomosieren, nach außen radiär gerichtet; zwischen den Anastomosen liegen vereinzelt oder in Haufen Lymphocyten und Reticulumzellen. Auch bei üppigem Wachstum sind die Fibroblasten an der Außenseite der Wachstumszone ebenfalls radiär geordnet; aber in den inneren Schichten bilden sie netzartige Geflechte, in die Lymphocyten und Reticulumzellen vereinzelt oder gruppenweise eingelagert sind. Oft kann man hier neugebildete Capillaren mit Lumen beobachten; manchmal entstehen hier sinuöse und kavernöse Geflechte, deren Wände mit Endothelzellen ausgekleidet und deren Lichtungen von Plasma ausgefüllt sind; in den schmalen und breiten Scheidewänden anastomosieren die Fibroblasten miteinander und bilden Geflechte. Diese Bilder zeigen im allgemeinen eine große Ähnlichkeit

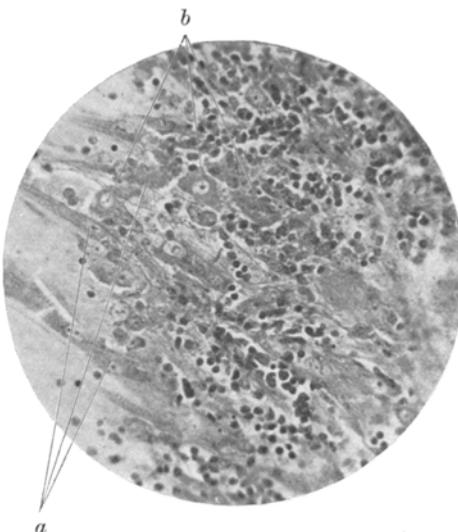


Abb. 1. Eine Randpartie der Wachstumszone einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmarkextrakt. (Leitz, Objektiv 6, Okular 11.) *a* = Fibroblasten; *b* = große mobilisierte Reticulumzellen.

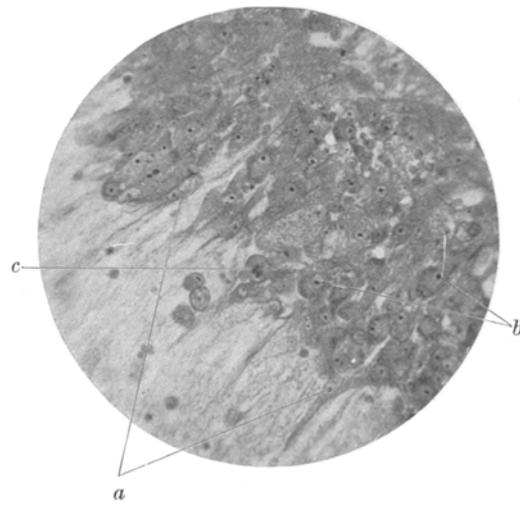


Abb. 2. Eine Randpartie der Wachstumszone einer 6 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenextrakt. (Leitz, Objektiv 6, Okular 11.) *a* = Fibroblasten; *b* = mobilisierte Reticulumzellen; *c* = Mitose derselben.

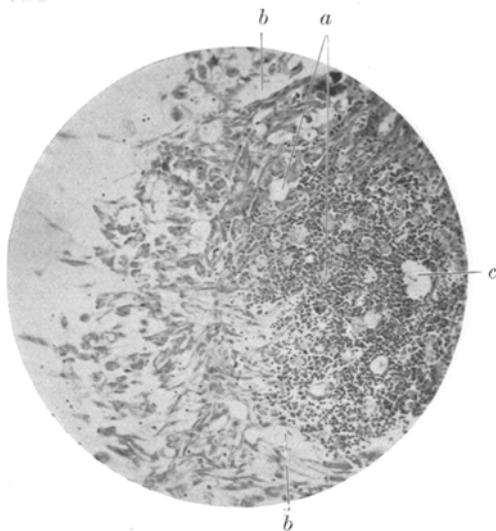


Abb. 3. Eine Partie der Wachstumszone einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark- und Nebennierenextrakt. (Leitz, Objektiv 8, Okular 5.)  
a = Makrophagen; b = Gefäßsprossung; c = ein kleines Luftbläschen.

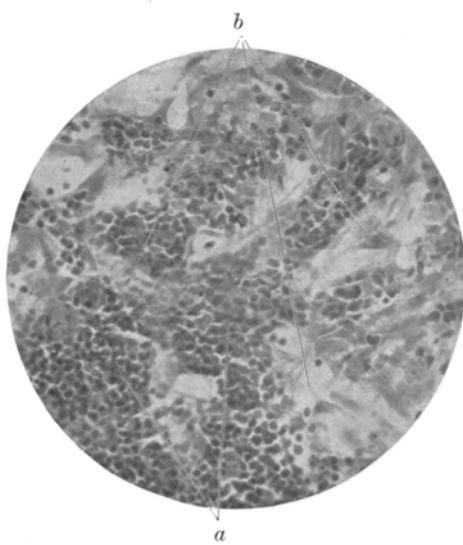


Abb. 4. Eine Partie der Wachstumszone einer 5 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark- und Nebennierenextrakt. (Leitz, Objektiv 8, Okular 5.)  
a = Lymphocytenhaufen; b = anastomosierende Sprossungen.

mit Entzündungsvorgängen bei echtem adenoiden Gewebe, wo Lymphocyten, zwischen ihnen stark angewollene Makrophagen und mannigfaltig gewucherte Reticulumzellen ebenfalls in die großen Geflechte eingelagert sind. Maximow will hier die Bildung von echten Reticulumzellen beobachtet haben. Ich habe nur in denjenigen Fällen, in denen die Zellen sich zufällig in den entstandenen Höhlen befinden, die mit herausgepreßter, geronnener Flüssigkeit gefüllt sind, festgestellt, daß die geronnene Masse zwischen den eingelagerten Zellen eine mehr oder weniger große Ähnlichkeit mit Reticulum zeigt.

Das Wachstum der Fibroblasten ist besonders üppig bei den Kulturen, bei denen Rinde mit Kapsel gemeinsam verpflanzt worden ist. In solchen Fällen kann man im Explantat leicht die zurückgebliebene Kapsel an den lamellös angeordneten hyalinen Fasern erkennen. Das perivasculäre Bindegewebe ist kenntlich geworden. Eine deutliche Hyperplasie der Adventitiazellen ist hier nicht zu beobachten. Manchmal wird mit der Kapsel auch Fettgewebe im Explantat gezüchtet. Nach Maximow<sup>57)</sup>

sind die Fettzellen als Bindegewebeszellen anzusehen. In dieser Hinsicht teile ich die Meinung von K. Ziegler<sup>85)</sup>, daß die Fettzellen

nicht als Bindegewebszellen, sondern als histiogene Wanderzellen zu betrachten sind, die Fett in sich aufgenommen haben und in bindegewebige Stützsubstanz eingelagert sind. Denn nach dem Schwund des Fettes aus dem Zelleib bei den Kulturen bleiben nur solche Zellen, die nicht von den mobilisierten Reticulumzellen zu unterscheiden sind. Als Beweis für die Richtigkeit dieser Ansicht kann uns eine hier abgebildete vielkernige Riesenzelle dienen, welche im perikapsulären Fettgewebe im Explantat nach 7 Tage alter Kultur durch Zusammenfließen mehrerer Fettzellen entstanden ist. Diese Riesenzelle ist als eine Fremdkörperriesenzelle zu betrachten, weil sie sich zwischen den befreiten Fetttröpfchen gebildet hat. Solche Fremd-

körperriesenzellen sind manchmal in dem Randteil des Explantates anzutreffen, ohne daß man irgendwelche Fremdkörper dabei nachweisen kann.

In den meisten Fällen stirbt der mittlere Teil des Explantates ab; bleibt aber ein Teil des Gewebes erhalten, so wird es in seiner Anordnung gänzlich umgestaltet, und zwar durch das Eindringen der gewucherten Zellen. Die abgestorbenen Gewebsteile werden durch eingewanderte Fibroblasten aus den Trabekeln ersetzt in ähnlicher Weise wie bei der Thrombenorganisation.

Auch hier sind manchmal Capillarsprossen zu beobachten. Die neu gebildeten Capillaren in den organisierten Teilen sowie in der Wachstumszone enthalten in ihrer Lichtung Lymphocyten. Die von *Maximow* beobachtete positiv chemotaktische Einwirkung der Endothelien auf die Lymphocyten scheint wahrscheinlich zu sein.

Bei der Gerinnung des Plasmas tritt oft eine Flüssigkeit aus, besonders reichlich bei Nährmedien mit Organextrakten, die sich an der Oberfläche des geronnenen Plasmas und in den durch unbekannte Ursache entstandenen Höhlen des Explantates ansammelt. Die in diese Flüssigkeit ausgewanderten Lymphocyten und Reticulumzellen hypertrophieren und nehmen mannigfaltige Formen an (Abb. 11). An der Oberfläche des Explantates sind oft kleine Luftbläschen zu beobachten, in deren

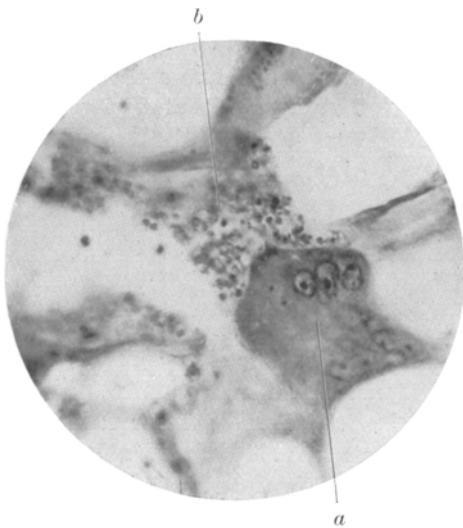


Abb. 5. Eine Riesenzelle im Fettgewebe in einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark- und Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 1.)  
a = Riesenzelle; b = granulär degenerierte Bindegewebszellen.

Nähe die Zellen üppig wuchern. Es ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß hier mehr Sauerstoff den Zellen zur Verfügung steht. Obwohl das Wachstum natürlich von der Menge des Nährmediums abhängig ist, zeigt sich doch, daß bis zu einem gewissen Grade eine kleine Menge von Nährmedien das Wachstum besser zustande bringt, als eine größere Menge, wie es auch *Burrows*<sup>5)</sup> und *Maximow*<sup>55)</sup> beobachtet haben. Es ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß auch hier mehr Sauerstoff der Zelle zukommt.

Ich habe schon mitgeteilt, daß das Wachstum bei unvollkommener oder ausbleibender Gerinnung sich mangelhaft gestaltet; die Fibroblasten liegen meistens in Schichten an der Oberfläche des Explantates, haben keine langgestreckten Protoplasmafortsätze und sind manchmal schwer von den Reticulumzellen zu unterscheiden.

Nach 7 Tagen gehen die Lymphocyten zuerst zugrunde, obwohl die Fibroblasten und die Reticulumzellen noch weiter wachsen können. Es ist auf Verbrauch von Nährstoffen und Ansammlung von Stoffwechselprodukten zurückzuführen; durch diese Erscheinungen werden die empfindlichen Lymphocyten zuerst betroffen, dann folgen die Reticulumzellen, die sich in ihrer Zahl vermindern und in ihrer Form verkleinern und ein stark basophiles Protoplasma aufweisen. Auch nach 7—12 Tagen sind bei ihnen noch Mitosen anzutreffen. Die mobilisierten Reticulumzellen, die eigentlich mononuklear sind, erscheinen in älteren Kulturen oder im Transplantat, wo ihre Lebensdauer verlängert wird, als vielgestaltige und kernige Gebilde, während ein gewisser Teil der Reticulumzellen als Faserbildner bei der Organisation der nekrotischen zentralen Partie des Explantates teilnimmt. Die Fibroblasten zeigen in Kulturen von 2—3 Tagen Vakuolen- und Granulabildungen als Zeichen der beginnenden Degeneration. Trotzdem sind sie sehr widerstandsfähig und bleiben noch längere Zeit am Leben und zeigen sogar manchmal eine Hypertrophie. Nach 10 Tagen zeigen sie dem Narbengewebe ähnliche Formen. Die Wucherungsart der Zellen, die von den ausgepflanzten Lymphknoten stammen, ist von Fall zu Fall verschieden. Am besten wachsen die Fibroblasten; dagegen zeigen Lymphocyten und Reticulumzellen manchmal gar kein Wachstum, oder im Gegensatz dazu wachsen die letzteren sehr gut. Es ist wahrscheinlich von den Lebensbedingungen und dem Zustand der verschiedenen Zellarten abhängig.

Durch Zusatz von Organextrakten wird nicht nur das Wachstum, sondern auch die Lebensfähigkeit der Zellen gesteigert. Wie es scheint, üben die Organextrakte eine anregende Wirkung auf das Wachstum des Gewebes aus. Wie *Maximow* konnte auch ich die befördernde Kraft des Knochenmarkextraktes beobachten. Aber Nebennierenextrakt allein oder mit Knochenmarkextrakt vereinigt steigert das Wachstum noch mehr, ebenso die Lebenstätigkeit der Zellen. Die Lymphocyten

und Reticulumzellen zeigen dabei ein üppiges Wachstum und sehr bemerkenswerte morphologische Verhältnisse. Auch Milzextrakt übt sicher eine fördernde Wirkung, aber nur auf das Bindegewebe, nicht auf die Lymphocyten und Reticulumzellen aus.

Bei der Infektion des Explantates mit Bakterien und Schimmel-pilzen kann man bis zu einem gewissen Grade ein gleichzeitiges Wachsen der Gewebszellen und der Infektionskeime beobachten. In solchen Fällen entwickeln sich die Reticulumzellen besonders reichlich und zeigen eine lebhafte Phagocytose. Aber durch die Infektion wird das Wachstum der Gewebszellen natürlich beeinflußt und beeinträchtigt. Bei stärkerer Infektion verflüssigt sich das vorher gut geronnene Plasma; dann ist ein Wachstum der Zellen nicht mehr zu beobachten.

#### V. Cytologische Eigenschaften und entstehungsgeschichtliche Beziehungen der verschiedenen Zellen bei der Explantation der Lymphknoten.

##### a) Fibroblasten und ihre genetischen Beziehungen zu den Reticulumzellen.

Schon in den ersten 24 Stunden kommen die Fibroblasten in den Kulturen zum Vorschein, und zwar bei dem Rindenteil an dem Rand der Follikel, bei der Marksubstanz an dem äußeren Rande des Explantates. Nach Hoyer<sup>53)</sup> sollen die Fibroblasten entlang den capillaren Blutgefäßen ins Parenchym hineindringen, deren weitere Ausbreitung schwer zu verfolgen und kaum von Reticulumzellen zu unterscheiden ist; denn in normalem Lymphadenoidgewebe sind die Zellen zu dicht gelagert. Aber im Explantat sind die Fibroblasten leicht von den fixen Reticulumzellen zu unterscheiden, weil das Gewebe infolge der Beweglichkeit der Zellen locker und zellarm geworden ist. Doch ist es schwer, die im Anfang der Züchtung auftretenden Fibroblasten als neugebildete zu erkennen. Nach Maximow<sup>56)</sup> sollen sich die Fibroblasten heteroplastisch aus den Reticulumzellen entwickelt haben; doch ist es auch möglich, daß sie sich schon normalerweise latent im lymphadenoiden Gewebe befinden und infolge der Zellverarmung bei der Explantation zum Vorschein kommen. Aber im späteren Stadium beteiligen sich die Reticulumzellen als Faserbildner bei der Organisation der nekrotischen Teile, wo aber auch die Bindegewebszellen der Trabekel und Blutgefäßendothelen eine noch größere Rolle spielen können. Die jungen Fibroblasten besitzen einen regelmäßig ovalen, zarten Bläschenkern.

Im Explantat weisen die Fibroblasten manchmal deutliche Hypertrophie auf; sie zeigen dann — meist erst in späteren Stadien — hyperchromatische Riesenkerne. In den 2- bis 3-tägigen Kulturen lassen sich im Zelleib der meisten Fibroblasten einzelne oder mehrere Vakuolen beobachten. Auch sind manchmal im Zelleib fast gleich große acidophile Körnchen anzutreffen, während manchmal auch basophile Körner auf-

treten, die sich mit Eisenhämatoxylin schwarz färben. Im ganzen Zellleib sind sie gleichmäßig verteilt und bis an das Ende der langen schmalen Protoplasmafortsätze einreihig angeordnet. Auch in denjenigen Fällen, in denen durch Färbung mit Giemsalösung oder kombinierte Färbung mit May-Grunewald-Giemsalösung nur die Vakuolen zum Vorschein kommen, kann man dennoch nach Eisenhämatoxylinfärbung dieselben in den Vakuolen zum Vorschein bringen. Nach *Maximow* tritt die Degeneration zuerst in Form von Vakuolen auf, und darnach bilden sich in dem Inneren Granula. Obwohl *Lewis*<sup>43)</sup> eine andere Ansicht vertritt, scheint mit die Ansicht von *Maximow* berechtigter; denn die Granula sind als Degenerationsprodukte der Chondriosomen anzusehen.

Die degenerierten Fibroblasten befinden sich meistens in der äußeren Schicht der Wachstumszone; nur bei vorgeschrittener Degeneration sind sie nicht selten im ganzen Gebiet vereinzelt oder in Bündeln anzutreffen.

b) *Reticulumzellen und ihre Beziehungen zu den verschiedenen lymphoiden Zellen (Histiocyten und Makrophagen).*

Die fixen Reticulumzellen im normalen lymphadenoiden Gewebe haben einen runden oder ovalen hellen Kern, dessen zarte Membran an einer Seite fast immer eine Krümmung aufweist. Das Chromatin ist fein netzartig verteilt; Kernkörperchen sind nicht zu beobachten. Normalerweise sind die Reticulumzellen von anderen Zellarten überhaupt nicht oder kaum deutlich zu unterscheiden. Als mobile Formen der fixen Reticulumzellen treten schon normalerweise die Monozyten (Histiocyten) als Polyeidocyten auf; sie besitzen verschiedene Formen und Größe. Im vergrößerten, schwach acidophilen Leib der Reticulumzelle sind nicht selten Lymphocyten oder deren Kernteile wahrzunehmen. In den Marksträngen und Sinus hypertrophieren sie bald und nehmen infolge reichlicher Spongiplasmabildung im Protoplasma einen mehr hypertrophischen Charakter an und lassen sich schwer von den Lymphoblasten unterscheiden. Nur das feine Chromatinnetz und die zarte Membran des Kerns können als Unterscheidungsmerkmal benutzt werden, da die Lymphoblasten ein dickeres Chromatinnetz und Membran und auffallend große eckige Nucleoli besitzen. In den Gewebekulturen sind schon während der ersten 24 Stunden die Reticulumzellen und Sinusendothelien etwas vergrößert und abgerundet. Während dieser Zeit sind die fixen Reticulumzellen infolge der Wanderung der beweglichen Zellen gut zu beobachten, obwohl man sie nicht von den Sinusendothelien unterscheiden kann, nicht nur wegen der äußeren Ähnlichkeit, sondern auch wegen der ontogenetischen Verwandschaft der beiden Zellarten. Die Sinuslumina sind in dieser Zeit erweitert, von ausgewanderten degrierten oder zerfallenen Lymphocyten ausgefüllt; und dazwischen sind deutliche mobilisierte Reticulumzellen zu sehen.

Nach 48 Stunden findet man Mitosen in den Reticulumzellen. Nach Maximow soll man während dieser Zeit Übergangsformen zwischen den fixen Reticulumzellen und den Monocyten einerseits, zwischen den Reticulumzellen und Fibroblasten andererseits beobachten können. Ich habe deutliche Übergangsformen zwischen Monocyten und Reticulumzellen beobachtet; aber Übergangsformen zwischen den Fibroblasten und Reticulumzellen konnte ich nicht feststellen. Die mobilisierten Reticulumzellen sind zum Teil acidophil, zum Teil basophil, deren Kerne relativ größer geworden sind und ein oder 2 Nucleoli enthalten. Die meisten dieser Zellen enthalten bräunliches Pigment. Die Lebensäußerungen dieser Monocyten, wie Phagocytose und Farbstoffaufspeicherung, sind die gleichen wie bei den fixen Reticulumzellen. Aus diesen gemeinsamen Eigenschaften beider Zellarten kann man auf einen genetischen Zusammenhang beider Zellarten schließen [Marchand<sup>49</sup>], Kiyono<sup>36</sup>].

Durch Zusatz von Organextrakten zum Nährmedium wird die vitale Fähigkeit dieser Zellen bedeutend erhöht. Schon im Verlauf von 48 Stunden nehmen sie in ihren Zelleib degenerierte Lymphocyten oder deren Bestandteile auf, so daß der eigene Zellkern überdeckt wird. Man findet auch in demselben oft hellgrüne Pigmentbröckelchen von verschiedener Größe, die keine Eisenreaktion geben. Auch gleichartige Zellen enthalten in ihrem wabigen schwach basophilen Protoplasmaleib ungleich große acidophil gefärbte hyaline Schollen, die vielleicht ebenfalls Zerfallsbildung der aufgenommenen Lymphocytenkerne darstellen.

Nach 3 bis 4 Tagen sind innerhalb des Explantates und besonders in den peripher liegenden Sinus desselben zahlreiche vergrößerte Zellen mit reichlichem Pigment zu beobachten. Sie sind auch in der Wachstumszone zwischen den reichlich neugebildeten Fibroblasten oder Lymphocytenhaufen vorhanden.

Manchmal trifft man neben dem Pigment im Zelleib solcher vergrößter Zellen auch unspezifische Granula, welche sich oft in der Gegend der Zentriolen gruppieren oder sich häufig in der Zentrosphäre ausbreiten. Diese Granula zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit den Leukocytengranula, besonders wenn sie in den kleinen basophilen lymphoiden Zellen angetroffen werden; aber sie sind nur innerhalb gewisser Bezirke im Zelleib lokalisiert, und die Färbung nach Schridde oder Pappenheim fällt hier nur blaßrot aus und sie lassen sich mit Eisenhämatoxylin dunkelbraun färben; die Granula sind also als Degenerationsprodukte der Chondriosomen anzusehen.

Die mobilisierten Reticulumzellen enthalten in ihrem Zelleib manchmal Fett und Vakuolen, und dadurch bekommt das Protoplasma ein wabiges Aussehen. Durch Zusammenfließen des Protoplasmas der dicht nebeneinander liegenden Zellen bilden sich vielkernige Riesenzellen, die nach

5 bis 7 Tagen in der Peripherie des Explantates und auch in der Wachstumszone zu beobachten und als Fremdkörperriesenzellen zu betrachten sind, wie es auch außer von *Maximow* ebenfalls von *Lambert*<sup>39)</sup>, *Weil*<sup>33)</sup> und *Lewis-Webster*<sup>48)</sup> beschrieben worden ist. *Lambert* hat durch Hineinbringen von Baumwolle und Lykopodium in das Plasma solche Fremdkörperriesenzellen erzeugt und dabei die Beobachtung gemacht, daß das Deckgläschen bei den Kulturen im hängenden Tropfen schon als Fremdkörper wirken kann. Nach ihm soll ein Teil der Riesenzellen auf dem Wege der indirekten Kernteilung entstehen, und zwar ohne Zellteilung. Da ich keine Fremdkörper bei den Riesenzellen beobachtet und bei Serienschnitten im peripheren Teil einiger Riesenzellen deutliche Zellgrenzen wahrgenommen habe, bin ich der Ansicht, daß diese Zellen

durch Zusammenfluß solcher Zellen, aber nicht durch indirekte Kernteilung entstanden sind. Für die Entstehung von Riesenzellen kommt auch eine mitotische Kernteilung ohne Zellteilung in Betracht; aber bei meinen Versuchen habe ich keine Anhaltspunkte dafür beobachtet. In einem Falle, den ich schon oben angeführt habe, war eine Riesenzelle im Fettgewebe anzutreffen, deren Fettgehalt während der Züchtung verschwunden war. Deswegen könnte man — selbst wo kein Fett im

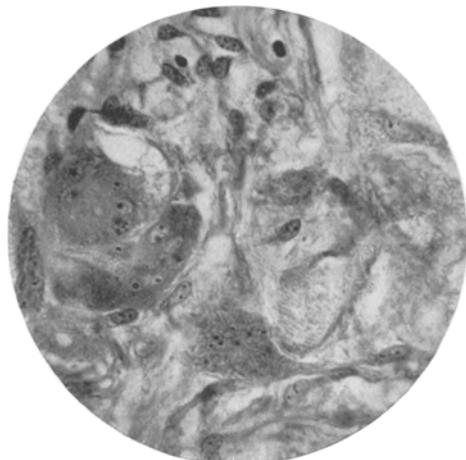


Abb. 6. Eine Randpartie mit Riesenzellbildung einer 6 Tage alten Kultur mit Zusatz von Knochenmark.  
(Leitz, Immersion 2 mm, Okular 1.)

Zelleib sich findet — daran denken, daß die Riesenzellen auch aus Fettzellen gebildet werden können. Die Lagerung der Kerne in den Riesenzellen ist regellos, und zwar sind sie teils im Zentrum, teils reihenförmig am Rande gruppiert; im letzteren Falle entspricht der helle zentrale Teil der gemeinsamen Zentrosphäre der zusammenliegenden Zellen.

Im Verlauf von 5 bis 7 Tagen nehmen die durch Phagocytose größer gewordenen Makrophagen an Umfang ab, verlieren gleichzeitig ihr Pigment und nehmen einen mehr lymphoiden Zellcharakter an. Da andererseits in diesem Stadium Zellen, die auf dem Wege der Mitose sich von den Makrophagen gebildet haben, ebenfalls lymphoide Eigenschaften besitzen, so sind zu dieser Zeit Zellen von mannigfaltiger Größe und Form in den Kulturen anzutreffen, welche unter Zusatz von Nebennierenextrakt oder in einer Kombination mit Knochenmark hergestellt worden

sind. Diesen lymphoiden Zellarten ist eine ziemlich starke Basophilie des Protoplasmas gemeinsam; die Kerne sind hier von verschiedener Form, und zwar rundlich, oval bis hufeisenförmig, die Kernmembran dünn; das Chromatin bildet ein feines Netzwerk; und ein oder mehrere Kernkörperchen sind zu beobachten. Wie daraus zu ersehen ist, unterscheiden sich die verschiedenen Zellarten nur durch die charakteristische Struktur ihres Kerns. Einige von diesen eben geschilderten Zellarten entsprechen denjenigen, welche *Maximow*<sup>56)</sup> als große Lymphocyten auf der Tafel XXII (Z) anführt. Doch ist *Maximows* Begriff der großen Lymphocyten zu vielseitig, und es ist daher selbstverständlich, wenn seine großen Lymphocyten mit unseren Lymphoblasten im engeren Sinne des Wortes sich nicht decken lassen.

Wenn man die gewucherten Reticulumzellen von lymphoidem Charakter mit den dazwischen liegenden Lymphoblasten vergleicht, so ist sofort ein deutlicher, Verwechslungen ausschließender Unterschied in der Struktur des Kernes zu erkennen; der Kern der letzteren hat eine dicke Membran, ein relativ grobes Chromatin-Netzwerk und ein großes eckiges, meistens vereinzelt liegendes Kernkörperchen. Die Kerne der lymphoiden Zellen sind dagegen von verschiedener Größe und Form. *Maximow* betrachtet die Pigmentkörnchen in den Reticulumzellen als ein wichtiges Merkmal zu ihrer Identifizierung; aber man muß nicht vergessen, daß zu dieser Zeit schon pigmenthaltige Reticulumzellen von lymphoidem Charakter nur selten festzustellen sind. Die pigmenthaltigen Reticulumzellen stimmen hier mit den von uns beobachteten lymphoiden Zellen überein; aber unter Berücksichtigung der feineren Morphologie ist es unmöglich, alle diese Zellen in eine Gruppe unterzubringen. Unter den Zwischenformen derselben sind verschiedenartige Zellformen anzutreffen. Besonders auffallend sind die großen Zellarten, die 2- bis 5 mal und noch größer als die mittelgroßen Lymphoblasten sind, deren Kerne von

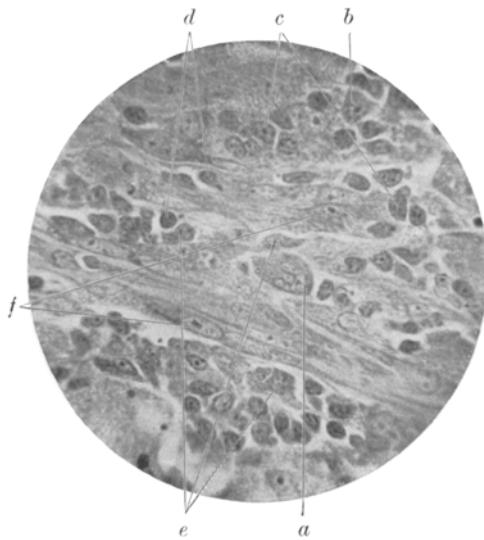


Abb. 7. Eine Partie der Wachstumszone einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark und Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 1.)  
 a = große gewucherte Reticulumzellen; b = Lymphoblasten; c = mittelgroßer Lymphocyt; d = kleiner Lymphocyt; e = mittelgroße und kleine gewucherte Reticulumzellen; f = Fibroblast.

rundlich, ovaler bohnen- oder hufeisenförmiger Gestalt und manchmal in 2 oder 3 Teile geschnürt sind. Sie zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit den Megakaryocyten; aber das Protoplasma ist nicht in Ekto- und Endoplasma geteilt, und der Kern ist chromatinarm und schwach färbbar, und dadurch sind sie von den Megakaryocyten zu unterscheiden (Abb. 6a, 8a und b). Überhaupt muß man zwischen den myeloischen Megakaryocyten und endothelogenen Riesenzellen streng unterscheiden, wie das auch beim Menschen (besonders bei der angeborenen Lebersyphilis) der Fall ist.

Zwischen den Reticulum- und der Riesenzelle gibt es allerlei Zwischenformen, von denen die kleinen Ähnlichkeit mit den kleinen Lymphocyten besitzen; nur ihre Kernmembran ist dünner und das Chromatin fein und im Kern gleichmäßig verteilt. Trotz dieser charakteristischen Eigenschaften sind sie doch nicht selten schwer von den kleinen Lymphocyten zu unterscheiden, besonders wenn sie in etwas älteren Kulturen einen stärker gefärbten Kern und ein stärker basophiles Protoplasma bekommen. Bei solchen Zellen beobachtet man neben dem Kern eine auffallend helle Zentrosphäre oder sogar einen hellen perinukleären Hof, so daß dieselben eine Ähnlichkeit mit den Plasmazellen zeigen; nur die Radspeichenform des Kernes fehlt hier und sie sind wohl als Pseudo-

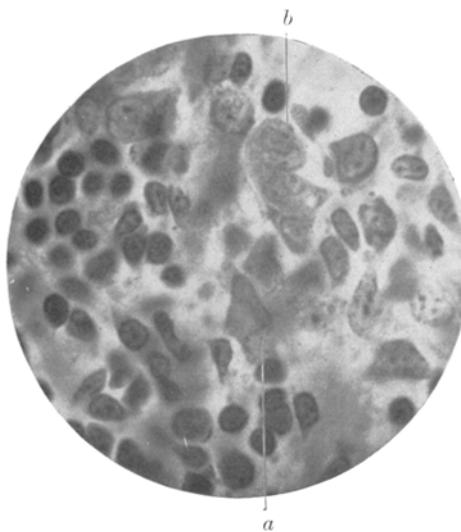


Abb. 8. Eine Partie der Wachstumszone einer 6 Tage alten Kultur unter Zusatz von Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 8.) a = große gewucherte Reticulumzelle mit einem hufeisenförmigen Kern; b = dieselbe mit 3 Kernen.

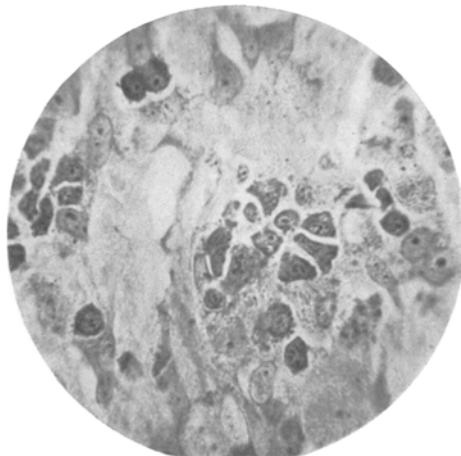


Abb. 9. Eine Partie der Wachstumszone einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark- und Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 1.)

daß dieselben eine Ähnlichkeit mit den Plasmazellen zeigen; nur die Radspeichenform des Kernes fehlt hier und sie sind wohl als Pseudo-

plasmazellen anzusehen [*Hodora*<sup>31</sup>]). Es sind auch nicht selten in den hellen Zentrosphären solcher Zellen ganz schwachrot gefärbte unspezifische Granula zu beobachten. In diesen Fällen zeigen sie eine große Ähnlichkeit mit den von *Maximow*<sup>59</sup> beschriebenen Mikromyelocyten, welche nach ihm aus den kleinen Lymphocyten sich entwickeln sollen. Aber es sind keine spezifischen Granula, sondern Degenerationsprodukte der Chondriosomen (Abb. 9). Sowohl die größeren als auch die kleineren Zwischenformen dieser lymphoiden Zellen haben längere oder kürzere Pseudopodien und zeigen mannigfache Bewegungsformen. Außer diesen Pseudopodien ist auch oft bei diesen Zellarten, besonders bei kleineren Formen, die Klastamatocytose wie bei Lymphocyten zu sehen. In dieser Hinsicht sind die kleinen Formen sehr ähnlich den sogenannten hypertrophierten kleinen Lymphocyten oder Übergangsformen zu Polyblasten und schwer von den echten kleinen Lymphocyten zu unterscheiden. Diese Formen zeigen eine schwächere Basophilie des mäßig breiten Protoplasmas und eine Anhäufung des Kernchromatins am Rande. Nach *Maximow* sollen die kleinen Lymphocyten lebhafte amöboide Beweglichkeit, stark phagocytierende und sogar farbstoffspeichernde Fähigkeiten erhalten und sich zu Polyblasten umwandeln können. Im Gegensatz zu *Maximow* teile ich die Ansicht *Kiyonos*, nach dem die kleineren farbstoffspeichernden lymphocytoiden Zellen für die den kleinen Lymphocyten morphologisch ähnlichen kleineren gewucherten Reticulumzellen (Histiocyten) zu betrachten sind (Abb. 10).

Im Plasma außerhalb der Wachstumszone kann man oft ziemlich weit ausgewanderte Reticulumzellen antreffen, die hier hypertrophieren; besonders deutlich ist es wahrzunehmen in der Flüssigkeit, die aus dem Plasmagerinnsel ausgepreßt wird und sich sowohl an der Oberfläche des Plasmas als auch in den zufällig innerhalb des Explantates entstandenen kleinen Höhlen ansammelt. Sie nehmen dabei verschiedene Gestalten an, die an die zelligen Elemente des entzündlichen Pleura- oder Peri-

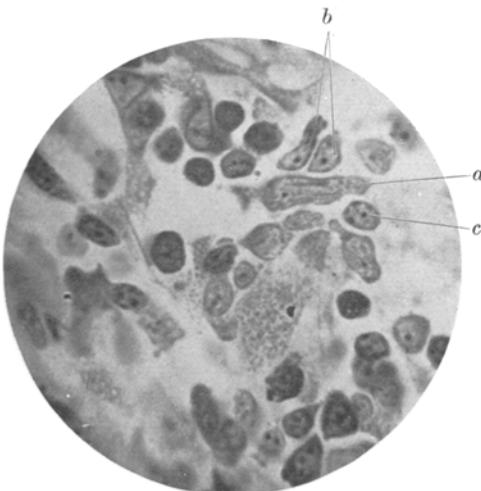


Abb. 10. Eine Partie der Wachstumszone einer 5 Tage alten Kultur unter Zusatz von Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 4.) *a* = große Reticulumzelle; *b* = kleine Reticulumzelle; *c* = kleiner Lymphocyt.

tonealexudates erinnern lassen (Abb. 11). Die Zellen, welche von Reticulumzellen abstammen, werden im allgemeinen als Monocyten betrachtet. Bei meinen Untersuchungen hat sich aber gezeigt, daß manchmal auch zweikernige, in älteren Kulturen oder in weiteren Übertragungen vielgestaltige und sogar mehrkernige Formen auftreten; der Zelleib ist dabei meistens schwach acidophil und fein gekörnt. Häufig wird auch in älteren Kulturen und Weiterübertragungen Pigment im Zelleib beobachtet. In meinen nach 8 Tagen auf neuen Nährboden übertragenen und nach Ablauf von 7 Tagen fixierten Kulturen habe ich im Zelleib eigentümliche rotviolettgefärbte Körner beobachtet, die eine große Ähnlichkeit mit den pseudoeosinophilen Granula besitzen. Sie sind vielleicht als Degenerationsprodukte der phagocytierten Substanzen zu deuten.

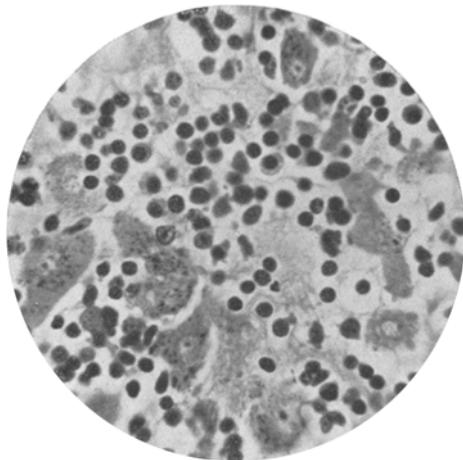


Abb. 11. Schwimmende Zelle in der Flüssigkeit, welche in die Wachstumszone eingedrungen war. Eine 7 Tage alte Kultur unter Zusatz von Knochenmarkextrakt.  
(Leitz, Immersion 2 mm, Okular 1.)

*c) Lymphocyten und Plasmazellen und ihre genetische Beziehung zueinander und zu Reticulumzellen.*

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Lymphocyten eine aktive Beweglichkeit besitzen, obwohl darüber bis vor kurzem gestritten worden ist. Neuerdings haben Lewis und Webster<sup>48)</sup> bei Plasmakulturen menschlicher Lymphknoten die Wanderung der Lymphocyten untersucht und wertvolle Ergebnisse erhalten. Bei meinen Versuchen hat sich gezeigt, daß schon in den ersten

Stunden der Auspflanzung die großen und kleinen Lymphocyten ins umgebende Plasma auswandern. In den gewöhnlichen Plasmakulturen lassen sie sich wegen der ausgesprochenen Empfindlichkeit und geringen Widerstandsfähigkeit der Lymphocyten nicht lange beobachten und gehen bald zugrunde. Dagegen wird in Nährböden mit Zusatz von Knochenmark- oder Nebennierenextrakt, allein oder beides zusammen, nicht nur die Lebensfähigkeit gesteigert, sondern es läßt sich auch eine Neigung zu fortschreitender Entwicklung feststellen. Während vereinzelt, weit im Plasma ausgewanderte Reticulumzellen sich gut erhalten können, sterben die alten ausgewanderten Lymphocyten auch im Nährmedium mit Extraktzusatz bald ab; dagegen können sich solche Lymphocyten, die in ein mit Flüssigkeit gefülltes Sinushumen

einwandern, die gelockerte Kapsel infiltrieren oder in unmittelbarer Umgebung des Explantates in Haufen liegen, eine längere Zeit am Leben erhalten und sogar sich weiter entwickeln, wie es aus den schon am 3. Tage beobachteten Mitosen hervorgeht. Besonders gut entwickeln sie sich in den halbinselförmigen, in das Plasma vorspringenden spitzen Teilen des Keimstückes, wo andere Zellarten sich auch gut erhalten lassen; aber auch die Geflechte der neugebildeten Fibroblasten in der Wachstumszone sind ebenfalls als eine Lieblingsstelle der Lymphocytenwucherungen anzusehen, besonders dort, wo die gewucherten Endothelien kavernöse und sinusöse mit Plasma angefüllte Maschenräume in der Wachstumszone bilden. Zwischen den Fasergeflechten in den Septen der Maschenräume ist das Wachstum und die Weiterentwicklung der Lymphocyten besonders deutlich zu verfolgen. Die erhöhte Wachstumsart ist wahrscheinlich auf günstigere Stoffwechselprozesse zurückzuführen, die in den vorspringenden Teilen des Explantates oder in den Septen der sinusösen und kavernösen Maschenräume stattfinden. Gleichartige Erscheinungen lassen sich beobachten in der Nähe von Luftblaschen oder mit Flüssigkeit angefüllten kleinen Höhlen, die zufällig aus irgendwelchen Ursachen im Explantat oder an dessen Oberfläche auftreten.

Die im Verlauf von 5 bis 7 Tagen in der Wachstumszone gebildeten kleineren oder größeren Zellanhäufungen machen den Eindruck von echtem lymphadenoiden Gewebe. Nur durch die Abwesenheit von reticulärem Gewebsbau sind Verwechslungen zu vermeiden. Die verschiedenen Bewegungsformen der Lymphocyten sind besonders bei alleinstehenden ausgewanderten Lymphocyten gut zu verfolgen. Man beobachtet eine mantelförmige Ausbreitung des Protoplasmas an den beiden Polen des gleichfalls geformten Kerns, die sogar auf die Möglichkeit einer direkten mitotischen Teilung schließen lässt; aber die Kernkörperchen bleiben unverändert, und daher ist es als eine zufällige Formveränderung der Zelle zu betrachten. Während der Bewegung der Lymphocyten wird der Kern stäbchenförmig; an dessen einem Pol breitet sich das Protoplasma aus und bildet einen Schwanz; dabei geht der Kopfteil immer vorwärts, während der Schwanzteil nach hinten gerichtet ist.

Die Klastomacytose der Lymphocyten ist eine nicht seltene Erscheinung in den Explantaten; so kann man an einer oder mehreren Stellen der Peripherie kürzere oder längere, dünne oder dicke Protoplasmavorsprünge beobachten, die sich vom Zelleib abschnüren und als isolierte Protoplasmateile zwischen die Lymphocyten eingelagert sind. Die ausgewanderten Lymphocyten nehmen oft, besonders in den Nährmedien mit Organextrakten den Plasmazellen ähnliche Formen an, deren Zahl während der weiteren Züchtung allmählich zunimmt. Betreffs der Entstehung der Plasmazellen habe ich vor einigen Jahren durch experimentell

an Kaninchenleber erzeugten aseptischen Abszessen folgende Beobachtung gemacht. Alle Zellen mesenchymaler Herkunft in der Umgebung des Abszesses gaben die Farbenreaktion von Plasmazellen. Die von *v. Marschalko*<sup>50)</sup> morphologisch beschriebenen typischen Plasmazellen waren in den Lymphocytenhaufen nicht anzutreffen, sondern nur an den Rändern, hauptsächlich aber längs den Blutgefäßen; und dabei konnte man Übergangsformen zwischen den gewanderten Adventitiazellen verfolgen. Daher bin ich zu der Überzeugung gekommen, daß die typischen Plasmazellen von den Blutgefäßadventitiazellen abstammen. Auch bei den Auspflanzungsversuchen habe ich der Entstehungsweise der Plasmazellen nachgeforscht und dabei auch die Beobachtung gemacht, daß die Plasmazellen meistens nicht den Lymphocytenhaufen beigemengt sind, sondern in deren Peripherie oder etwas weiter entfernt, einzeln oder in Haufen liegen. Die Lymphocyten, welche in den Haufen liegen, zeigen manchmal radspeichenförmige Kernstrukturen und verschiedene Übergangsformen bis zu den sogenannten Plasmatochterzellen. Auch die Lymphoblasten nehmen oft die Form der Plasmazellen an und sind als lymphoblastische Plasmazellen zu betrachten; aber der Kern derselben besitzt keine charakteristischen Radspeichenformen, obwohl eine starke Plasmareaktion und ein perinucleärer Hof festzustellen war.

Auch eine nicht geringe Zahl der kleineren Formen von gewucherten Reticulumzellen geben nicht nur eine stark basophile Protoplasmareaktion, sondern besitzen auch einen exzentrisch gelegenen, von einem perinucleären Hof umgebenen Kern; auch diese Zellen besitzen eine typische Kernstruktur und sind daher als Pseudoplasmazellen zu bezeichnen (Abb. 9). Dieselben liegen meistens auch, vereinzelt oder in Gruppen, mehr entfernt von den Lymphocytenhaufen. Die Zahl der Plasmazellen war immer proportional den Lymphocyten, aber nur in denjenigen Fällen, in denen die Lymphocyten und die anderen Zellarten ein gutes Wachstum aufwiesen; dagegen wurden in denjenigen Fällen, wo nur Lymphocyten zurückgeblieben waren, keine Plasmazellen beobachtet. Daher sind die Plasmazellen nicht als eine einfache Degenerationsform der Lymphocyten, sondern als Fortentwicklungsformen anzusehen. Manchmal waren zweikernige Plasmazellen anzutreffen; aber Mitosen wurden dabei nicht beobachtet.

*Maximow* berichtet, daß die Lymphocyten in reinen Plasmakulturen ohne Knochenmarkzusatz und auch bei aseptischen Lymphknotenentzündungen nur langsam sich vergrößern, dagegen bei Zusatz von Knochenmarkextrakt verhältnismäßig rasch anschwellen, dabei ausgeprägt amöboide Bewegungen, Phagocytose und sogar Farbstoffaufspeicherungen zeigen und zuletzt einerseits in Polyblasten, andererseits in große Lymphocyten übergehen können. Auch ich habe in Kulturen häufig die sogenannten hypertrophierten Lymphocyten beobachtet,

welche durch eine mehr oder weniger schwächere Basophilie des Protoplasmas, eine schwächere Chromophilie des Kerns gekennzeichnet werden und dadurch von den jungen Lymphocyten zu unterscheiden sind (Abb. 12, 13). Dagegen fällt es schwer, diese Zellen von den kleinen Formen der gewucherten Reticulumzellen zu unterscheiden, obwohl die Kernmembran bei der ersteren etwas dicker ausfällt, die Chromatinfäden dicker und dichter im peripheren Teil des Kerns gelagert sind und die Reticulumzellen im allgemeinen eine noch dünnere Membran und ein gleichmäßig verteiltes Chromatinnetz besitzen und dadurch eine Erkennung bis zu einem gewissen Grade möglich wäre. Es scheint mir daher berechtigt, die farbstoffspeichernen Zellen für Histiocyten zu halten (Abb. 10). Man kann sich vorstellen, daß die Entstehung der großen Lymphocyten aus den Reticulumzellen nur mittelbar auf dem Wege verschiedener Zwischenformen der letzteren geschieht, wie ich schon im vorigen Kapitel beschrieben habe. Diese Zwischenformen sind Zellen von lymphoidem Charakter und können als große Lymphocyten im weiteren Sinne des Wortes

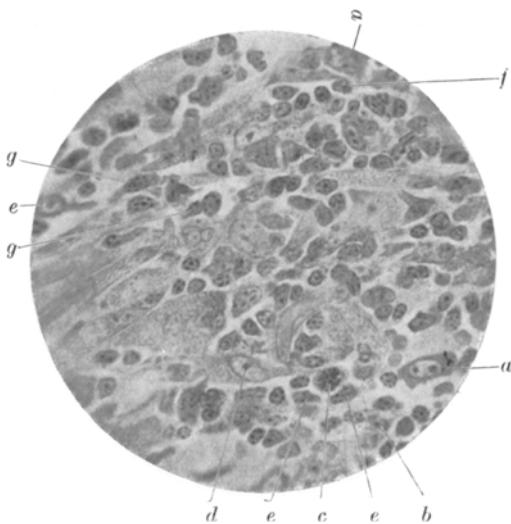


Abb. 12. Eine Partie der Wucherungszone einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark- und Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 11.)  
 a = abnorm große Lymphoblasten; b = Lymphoblast; c = Mitose des Lymphoblasten; d = große Reticulumzellen; e = Fibroblasten; f = hypertrophischer kleiner Lymphocyt; g = kleine Reticulumzellen.

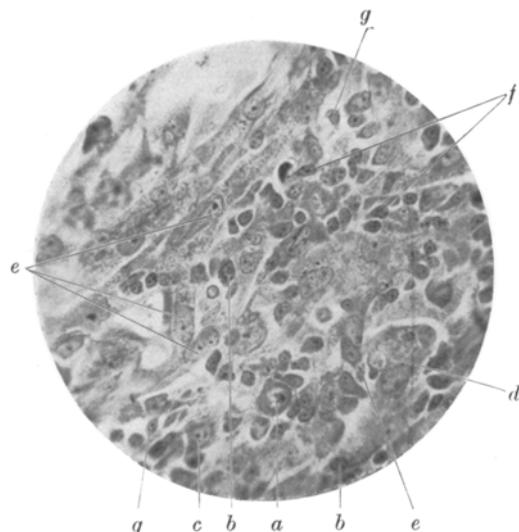


Abb. 13. Eine Partie der Wucherungszone einer 7 Tage alten Kultur unter Zusatz von Knochenmark- und Nebennierenextrakt. (Leitz, Immersion 2 mm, Okular 11.)  
 a = abnormgroße Riesenlymphoblasten; b = Lymphoblast; c = mittelgroße Reticulumzellen; d = Makrophagus; e = Fibroblasten; f = hypertrophische kleine Lymphocyten; g = kleine Reticulumzellen.

betrachtet werden. Obwohl allen lymphoiden Zellen die Basophilie des Protoplasmas eigen ist, lassen sich dennoch auf Grund feinerer Unterschiede des Kernbaues verschiedene Formen unterscheiden. Ungeachtet dessen, betrachtet *Maximow* alle lymphoiden Zellen als Lymphocyten und kommt zum Schluß, daß die großen Lymphocyten aus den Reticulumzellen entstanden sind. Aber bei genauerer Betrachtung der morphologischen Einzelheiten muß man auf Grund der oben angeführten Unterschiede der Kernstruktur die Lymphoblasten von den lymphoiden Zellen unterscheiden.

Der Entwicklungsgang einer Gewebsart kann in den Kulturen in gleicher Weise wie bei gewöhnlichen histologischen Untersuchungen unter dem Mikroskop nur durch Vergleichung der morphologischen Einzelheiten der einzelnen Zellen im Fixierungsmoment der betreffenden Zellarten ausgeführt werden. Dabei ist nicht außer acht zu lassen, daß diese Forschungsmethode nicht immer sichere Ergebnisse bringen kann. Bei den Gewebskulturen ist es nicht möglich, einen lückenlosen Entwicklungsgang von Anfang der Mitose der Reticulumzellen bis zur Vollendung der Lymphoblasten zu verfolgen. Nur wenn es möglich wäre, in Reinkulturen der Reticulumzellen die Lymphoblasten aus den letzteren zu züchten, könnte man ohne Bedenken die von *Maximow* vertretene Ansicht teilen. Aber bis jetzt ist es noch nicht gelungen; und daher ist man berechtigt, mit *Joest* und *Emshoff*, *Aschoff-Kiyono* die Meinung zu teilen, daß aus den Reticulumzellen nur Monocyten und Makrophagen entstehen, die Lymphoblasten dagegen eine homoplastische Entwicklung durchmachen und auf mitotischem Wege kleine Lymphocyten von sich geben. Bei der Mitose entstehen manchmal auch diejenigen abnormen Formen der Lymphoblasten, welche mit Megakaryoblasten (*Ferrata*) eine Ähnlichkeit zeigen (Abb. 12, 13). Nach *Maximow* dagegen sind die kleinen Lymphocyten keine ausdifferenzierten Endprodukte, sondern noch zu weiterer Entwicklung befähigt, indem sie einerseits zu Polyblasten, andererseits zu großen Lymphocyten werden können. Dies habe ich schon in den vorigen Kapiteln eingehend erörtert und will hier nur noch auf einen Punkt eingehen. Da ich bei meinen jetzigen Versuchen Mitosen der kleinen Lymphocyten beobachtet habe, so bin ich der Ansicht im Sinne von *Pappenheim*<sup>66</sup>), daß „der kleine follikuläre Lymphocyt nicht als die eigentliche spezifische, höchst differenzierte Form der Lymphadenoidgewebszellen, sondern quasi als Merozoitenstadium des großen Lymphocyt anzusehen ist“. Es ist nicht unmöglich, daß der kleine Lymphocyt bei seiner Wucherung wieder Lymphoblasten von sich abgeben kann; aber ich halte es für unannehmbar, daß der kleine Lymphocyt während seiner weiteren Entwicklung sich in Polyblasten umwandelt.

Die Lymphocyten sterben häufig ab und werden von Makrophagen

aufgenommen. In einer 4 Tage alten Kultur mit Knochenmarkextrakt konnte ich Lymphocyten beobachten, deren Zelleib zwar noch erhalten war, deren Kerne aber zu feinsten sich rotviolettfärbenden Körnern zerfallen.

## **VI. Die Frage der Entstehung von Granulocyten und Megakaryocyten aus sog. großen Lymphocyten bei der Explantation der Lymphknoten.**

Wenn die Granulocyten und Megakaryocyten im Explantat wirklich aus den fortschreitend entwickelten Lymphocyten hervorgehen, wie es *Maximow* behauptet, so wäre es nicht nur als ein Beweis für seine theoretische Auffassung der Frage, sondern gleichzeitig als die Lösung eines der schwierigsten Probleme auf histologischem Gebiet zu betrachten, da ja bekanntlich zur Zeit die Meinungen über die Histogenese der postembryonalen extramedullären myeloischen Bildungen noch sehr geteilt sind, weit auseinandergehen. Es ist überflüssig, hier auf die ganze Frage einzugehen, da ich keine einwandfreien Bilder gefunden habe, die das Vorkommen typischer Granulocyten in den Gewebskulturen beweisen. Es kommen zwar Zellen mit körnigen Einschlüssen vor, die aber doch sowohl von der pseudoeosinophilen, wie der oxyphil gekörnten erheblich abweichen. Vor allem aber würde selbst das Vorkommen echter Granulocyten noch nicht unbedingt in dem Sinne einer Entstehung aus Lymphocyten zu deuten sein, da ja auch Endothelien und Adventitzellen als Bildungsstätte in Betracht kommen. Natürlich können meine negativen Befunde nicht gegen *Maximow* verwertet werden, um so weniger, als ja immer mehr die Ansicht an Boden gewinnt, daß im postembryonalen Leben verschiedenartige Zellen die Fähigkeit zur Bildung myeloischer Zellen besitzen.

## **VII. Zusammenfassung.**

Zum Schluß möchte ich die oben angeführten Befunde in kurzen Sätzen zusammenfassen.

1. Die aus dem Körper herausgerissenen Lymphknoten lassen sich außerhalb des Körpers auf Plasma leicht züchten; dabei läßt sich die Art und Weise des Wachstums einzelner Gewebszellen verfolgen. Das Wachstum des Gewebes wird begünstigt durch Zusatz von Organextrakten zum Nährboden einzelner oder mehrerer zusammen.

2. Die zelligen Bestandteile des Lymphadenoidgewebes, Fibroblasten, Reticulumzellen und Lymphocyten stammen im ersten Stadium der Explantation aus ihrem Mutterboden. Sie zeigen charakteristische Eigenschaften und lassen sich voneinander unterscheiden. Schwer sind dagegen die Fibroblasten von Endothelien, die von der Blutgefäßwand auswandern, zu unterscheiden; und daher ist man berechtigt, beide letzteren Zellarten als Histioblasten zu bezeichnen.

3. Alle Zellarten entwickeln sich unter ganz bestimmten Bedingungen; sie zeigen daher bei der Auspflanzung von Fall zu Fall ein verschiedenes Wachstum. In den meisten Fällen entwickeln sich die Fibroblasten und Reticulumzellen ganz gut, während die weniger widerstandsfähigen Lymphocyten nur bei Zusatz von Organextrakten Lebenstätigkeit und fortschreitende Entwicklungsvorgänge gut entfalten können.

4. Das Wachstum bei der Explantation erreicht nach 5—7 Tagen seinen Höhepunkt. Die Fibroblasten bilden dabei netzartige Geflechte als Grundlage der neugebildeten Wachstumszone um das Keimgewebe, worin die Lymphocyten und die Reticulumzellen einzeln oder gruppenweise eingelagert sind. In der Wachstumszone sind auch Gefäßsprossen nicht selten. Bei üppigem Wachstum treten verflochtene schwammige Hohlräume auf.

5. Im Verlaufe von 3 bis 5 Tagen der Explantation mit Zusatz von Organextrakten hypertrophieren alle Zellen und weisen dabei mannigfaltige Formveränderungen auf. Sie verlieren dabei nicht nur ihre charakteristischen Unterscheidungsmerkmale, sondern machen auch weitgehende Entdifferenzierungsprozesse durch, wie es besonders bei den autogenetisch primitiven indifferenten Reticulumzellen deutlich zutage tritt. Auch bei den Lymphocyten sind ähnliche Erscheinungen festzustellen; nur die Entwicklungsgeschichtlich endgültig ausdifferenzierten Fibroblasten behalten während der Wucherung ihre Spezifität bis auf besondere Granulabildung.

6. Die Frage bleibt offen, ob die Fibroblasten heteroplastisch sich aus den Reticulumzellen entwickeln können.

7. Aus den Reticulumzellen entstehen durch Mobilisierung Monozyten und Makrophagen, die öfters mit einander zusammenfließen und dadurch Fremdkörperriesenzellen bilden. Außerdem bilden sich aus den mobilisierten Reticulumzellen auf dem Wege der indirekten Metaplasie mannigfaltige lymphoide Zellarten von atypischer großer Form, die eine gewisse Ähnlichkeit mit Megakaryocyten zeigen.

8. Die Lymphoblasten vermehren sich nicht aus den mobilisierten Reticulumzellen durch indirekte Hyperplasie, sondern anscheinend homoplastisch und gehen dabei mehr oder weniger starke Gestaltungsveränderungen ein. Die größeren Formen derselben sind den Megakaryoblasten ähnlich.

9. Die kleinen Lymphocyten, die sich mitotisch teilen, sind als differenzierungsfähige Zellen zu betrachten; aber sie können sich nicht durch Hypertrophie zu den sogenannten Polyblasten umwandeln. Die kleinen Formen der gewucherten Reticulumzellen kommen oft im Bilde von hypertrophierten Lymphocyten zum Vorschein.

10. Die typischen Plasmazellen sind lymphocytogener Natur; aber die Pseudoplasmatzellen sind als kleine Formen derjenigen gewucherten

Reticulumzellen anzusehen, die im Gewebe durch Hypertrophie stark basophil geworden sind.

11. Die gewucherten mittelgroßen und kleinen Reticulumzellen zeigen oft bei der Explantation unspezifische Granula, die als Degenerationsbildungen der Chondriosomen anzusehen sind. Sie zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit Myelocyten und Mikromyelocyten.

12. Im weiteren Verlauf der Explantation treten Degenerationserscheinungen infolge des Verbrauchs der Nährstoffe und Ansammlung von Abnutzungsprodukten auf, und die Zellen sterben allmählich ab. Am empfindlichsten zeigen sich die Lymphocyten, die bald zugrunde gehen, während die Reticulumzellen und die Fibroblasten längere Zeit am Leben erhalten bleiben.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1)</sup> Almqvist, Beiträge zur Kenntnis der Plasmazellen, insbesondere beim Lupus. Arch. f. Dermatol. u. Syphilis **58**. 1901. — <sup>2)</sup> Aschoff, Ein Beitrag zur Lehre von den Makrophagen auf Grund von Untersuchungen Kiyanos. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **24**. 1913. — <sup>3)</sup> Babkina, Veränderungen der Gewebe der blutbildenden Organe bei aseptischer Entzündung derselben. Inaug.-Diss. 1910 (Ref. in Fol. haematol. **11**). — <sup>4)</sup> Betanger, Les cellules d'origine hémohistoblastique. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921. — <sup>5)</sup> Burrows, The tissue culture as a physiological methode. Publications of counsell univers. med. colleg. Studies from thea Departement of anatomy **4**. 1913/1914. — <sup>6)</sup> Busse, Auftreten und Bedeutung der Rundzellen bei der Gewebskultur. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **229**. 1920. — <sup>7)</sup> Butterfield, Über die ungranulierte Vorstufe der Myelocyten und ihre Bildung in Milz, Leber und Lymphdrüse. Dtsch. Arch. f. klin. Med. **92**. 1908. — <sup>8)</sup> Carrel, Die Kultur der Gewebe außerhalb des Organismus. Berl. klin. Wochenschr. **48**. 1911. — <sup>9)</sup> Carrel, On the permanent-life of tissues outside of the organism. Journ. of exp. med. **15**. 1912. — <sup>10)</sup> Carrel, Technique for cultivating a large quantity of tissue. Journ. of exp. med. **15**. 1912. — <sup>11)</sup> Carrel, Pure culture of cells. Journ. of exp. med. **16**. 1912. — <sup>12)</sup> Carrel, Neue Fortschritte in der Kultivierung der Gewebe außerhalb des Organismus. Berl. klin. Wochenschr. **49**. 1912. — <sup>13)</sup> Carrel, Artificial activation of the growth in vitro of connective tissue. Journ. of exp. med. **17**. 1913. — <sup>14)</sup> Carrel, Neue Untersuchungen über das selbständige Leben der Gewebe und Organe. Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 24. — <sup>15)</sup> Carrel, Present condition of a strain of connective tissue of twenty eight months old. Journ. of exp. med. **20**. 1914. — <sup>16)</sup> Carrel and Burrows, Cultivation in vitro and its technique. Journ. of exp. med. **13**. 1911. — <sup>17)</sup> Carrel and Burrows, On the physicochemical regulation of the growth of tissue. The effect of dilution of the medium on the growth of the spleen. Journ. of exp. med. **13**. 1911. — <sup>18)</sup> Dilger, Über Gewebskulturen in vitro unter besonderer Berücksichtigung der Gewebe erwachsener Tiere. Dtsch. Zeitschr. f. Chirurg. **120**. 1913. — <sup>19)</sup> Downey und Weidenreich, Über die Bildung der Lymphocyten in Lymphdrüsen und Milz. Arch. f. mikroskop. Anat. **80**. 1912. — <sup>20)</sup> Ehrlich, Leo, Der Ursprung der Plasmazellen. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **175**. 1904. — <sup>21)</sup> Erdmann, Praktikum der Gewebspflege oder Explantation, besonders der Gewebszüchtung. Springer 1920. — <sup>22)</sup> Ferguson, The reticulum of lymphatic glands. Mat. Rec. **5**. 1911. — <sup>23)</sup> Fool, Über das Wachstum von Knochenmark in vitro. Experimenteller Beitrag zur Entstehung der Fettzellen. Zieglers Beitr. z. allg.

Pathol. u. pathol. Anat. **53**. 1912. — <sup>24)</sup> *Fool*, The growth of chicken bone marrow in vitro and its bearing on haemogenesis in adult life. Journ. of exp. med. **17**. 1913. — <sup>25)</sup> *Franco*, Hémopoïese et hémocachexie dans les ganglions lymphatiques. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **84**. 1921. — <sup>26)</sup> *Franco*, Hemohistoblastes et leur dérivés monocytiques lymphatiques et granulocytiques etc. Journ. de sciences des mal. 1922, Nr. 9. — <sup>27)</sup> *Goltzanski*, Die Methodik und die Resultate der Gewebskultur. Fragen d. Wissenschaftl. Med. 1913, Nr. 1. — <sup>28)</sup> *Harrison*, Observation on the living enveloping nerve fiber. Anat. record **1**. 1906/08. — <sup>29)</sup> *Herzog*, Granulocytenbildung bei der Entzündung. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1921, Nr. 31. — <sup>30)</sup> *Hirschfeld*, Die unitarische und dualistische Auffassung über die Histologie der Leukämie. Fol. haematol. **6**. 1908. — <sup>31)</sup> *Hodara*, Kommen in den blutbereitenden Organen des Menschen normalerweise Plasmazellen vor? Ein Beitrag zur Kenntnis der großen mononukleären Leukocyten. Monatsh. f. prakt. Dermatol. **22**. 1896. — <sup>32)</sup> *Hofmann*, Vitale Färbung embryonalen Zellen in Gewebskulturen. Fol. haematol. **18**. 1914. — <sup>33)</sup> *Hoyer*, Beitrag zur Kenntnis der Lymphdrüse. Arch. f. mikroskop. Anat. **34**. 1890. — <sup>34)</sup> *Ingebrigsten*, Studies upon the characteristics of different culture media and their influence upon the growth of tissue outside of the organism. Journ. of exp. med. **16**. 1912. — <sup>35)</sup> *Joanowicz*, Über Plasmazellen. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **20**. 1907. — <sup>36)</sup> *Kiyono*, Die vitale Carminspeicherung. Fischer 1914. — <sup>37)</sup> *Kiyono*, Zur Frage der histologischen Blutzellen. Fol. haematol. **18**. 1914. — <sup>38)</sup> *Klein*, Über die großen einkernigen Leukocyten des Leukämieblutes. Fol. haematol. **10**. 1911. — <sup>39)</sup> *Lambert*, The production of foreign giant cells in vitro. Journ. of exp. med. **15**. 1911. — <sup>40)</sup> *Lambert*, The influence of temperature and fluid media on the survival of embryonal tissue in vitro. Journ. of exp. med. **19**. 1914. — <sup>41)</sup> *Lambert*, The effect of dilution of plasma medium on the growth and fat accumulation of cells in tissue culture. Journ. of exp. med. **19**. 1914. — <sup>42)</sup> *Lambert* and *Hanes*, Beobachtung an Gewebskulturen in vitro. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **211**. 1913. — <sup>43)</sup> *Lewis, W. H.*, Degeneration granules and vacuoles in the fibroblasts of chick embryos cultivated in vitro. Bull. of Johns Hopkins hosp. **30**. 1919. — <sup>44)</sup> *Lewis, W. H.*, Mitochondria (and other cytoplasmic structures) in tissue cultures. Americ. journ. of anat. **17**. 1914. — <sup>45)</sup> *Lewis* and *Webster*, Migration of lymphocytes in plasma cultures of human lymph nodes. Journ. of exp. med. **33**. 1921. — <sup>46)</sup> *Lewis* and *Webster*, Giant-cells in cultures from human lymph nodes. Journ. of exp. med. **33**. 1921. — <sup>47)</sup> *Lobenhoffer*, Über extravasculäre Erythropoëse in der Leber unter pathologischen und normalen Verhältnissen. Ziegler's Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **43**. 1908. — <sup>48)</sup> *Marchand*, Über Klastomacyten, Mastzellen und Phagocyten des Netzes. Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1902. — <sup>49)</sup> *Marchand*, Über die Herkunft der Lymphocyten und ihre Schicksale bei der Entzündung. Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1913. — <sup>50)</sup> *Marschalco*, Über die sogenannten Plasmazellen. Ein Beitrag zur Kenntnis der Herkunft der entzündlichen Infiltrationszellen. Arch. f. Dermatol. u. Syphilis **30**. 1895. — <sup>51)</sup> *Maximow*, Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Ziegler's Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1902. — <sup>52)</sup> *Maximow*, Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikroskop. Anat. **67**. 1906. — <sup>53)</sup> *Maximow*, Experimentelle Untersuchungen zur postfoetalen Histogenese des myeloiden Gewebes. Ziegler's Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **41**. 1907. — <sup>54)</sup> *Maximow*, Die frühesten Entwicklungsstadien der Blut- und Bindegewebzellen bei Säugetierembryonen. — <sup>55)</sup> *Maximow*, Untersuchungen über Blut- und Bindegewebe. VII. Über „in vitro“-Kulturen von lymphoidem Gewebe des erwachsenen Säugetierorganismus. Arch. f. mikroskop. Anat. **96**. 1922. — <sup>56)</sup> *Maximow*, Untersuchungen über Blut- und Bindegewebe. VIII. Die

cytologischen Eigenschaften der Fibroblasten, Reticulumzellen und Lymphocyten des lymphoiden Gewebes außerhalb des Organismus usw. Arch. f. mikroskop. Anat. **97**. 1923. — <sup>57)</sup> Maximow, Untersuchungen über Blut- und Bindegewebe. IX. Über die experimentelle Erzeugung von myeloiden Zellen in Kulturen des lymphoiden Gewebes. Arch. f. mikroskop. Anat. **97**. 1923. — <sup>58)</sup> Meyer und Heineke, Über die Blutbildung in Milz und Leber bei schwerer Anämie. Verhandl. d. dtsc. pathol. Ges. 1905. — <sup>59)</sup> Meyer, Weitere Untersuchungen über extrauterine Blutbildung. Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 22. — <sup>60)</sup> Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 14. Aufl. 1922. — <sup>61)</sup> Oppel, Gewebskulturen. 1914. — <sup>62)</sup> Pappenheim, Über die großen mononukleären ungranulierten Zellen unter den Leukozyten. Fol. haematol. **6**. 1908. — <sup>63)</sup> Pappenheim, Atlas der menschlichen Blutzellen. Suppl. Bd. 1912. — <sup>64)</sup> Pappenheim, Einige Worte über Histocyten, Splenocyten und Monocyten. Fol. haematol. **16**. 1913. — <sup>65)</sup> Ribbert, Über Regeneration und Entzündung der Lymphdrüsen. Zieglers Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **6**. 1889. — <sup>66)</sup> Romeis, Ein verbesserter Kulturapparat für Explantate. Zeitschr. f. wiss. Med. **29**. 1911. — <sup>67)</sup> Sauer, Über die Entwicklung und den Bau der normalen Lymphdrüse und die Entstehung der roten und weißen Blutkörperchen. Anat. Hefte **6**. 1896. — <sup>68)</sup> Schilling, Die Morphologie, Pathologie und Biologie der Kupfferschen Sternzellen, besonders der menschlichen Leber. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **196**. 1909. — <sup>69)</sup> Shiomi, Über die Plasmazellen in der Umgebung von experimentellen Leberabscessen der Meerschweinchen. Verhandl. d. japan. pathol. Ges. 1917. — <sup>70)</sup> Shiomi, Über die extramedulläre Blutbildung bei Lues congenita. Verhandl. d. japan. pathol. Ges. 1918. — <sup>71)</sup> Schmidt, M. B., Über Blutzellenbildung in Leber und Milz unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Zieglers Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **11**. 1892. — <sup>72)</sup> Schridde, Über extravasculäre Blutbildung. Verhandl. d. dtsc. pathol. Ges. 1905. — <sup>73)</sup> Schridde, Myeloblasten, Lymphoblasten und lymphoblastische Plasmazellen. Zieglers Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **41**. 1909. — <sup>74)</sup> Schridde, Die Entstehung der ersten embryonalen Blutzellen des Menschen. Verhandl. d. dtsc. pathol. Ges. 1907. — <sup>75)</sup> Schridde, Über Regeneration des Blutes unter normalen und krankhaften Verhältnissen. Verhandl. d. dtsc. Naturforscher u. Ärzte 1908. — <sup>76)</sup> Sternberg, Über das Vorkommen von einkernigen neutrophilen granulierten Leukozyten in der Milz. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **12**. 1905. — <sup>77)</sup> Sternberg, Beitrag zur Histologie der Milz bei akuten Infektionskrankheiten. Verhandl. d. dtsc. pathol. Ges. 1905. — <sup>78)</sup> Szillars, Beiträge zur Frage der Vermehrung der weißen Blutkörperchen und der Pathogenese der Leukämie, vorläufige Mitteilung. Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **37**. 1923. — <sup>79)</sup> Tschaschin, Über die Herkunft und Entstehungsweise der lymphoiden (leukozytoiden) Zellen, der „Polyblasten“ bei der Entzündung. Fol. haematol. **16**. 1913. — <sup>80)</sup> Tschaschin, Über die „ruhenden Wanderzellen“ und ihre Beziehungen zu den anderen Zellformen des Bindegewebes und zu den Lymphocyten. Fol. haematol. **17**. 1913. — <sup>81)</sup> Unna, Über Plasmazellen, insbesondere beim Lupus. Monatsh. f. prakt. Dermatol. **121**. 1891. — <sup>82)</sup> Unna, Herkunft der Plasmazellen. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **214**. 1913. — <sup>83)</sup> Weil, Spontaneous and artificial development of giant cells in vitro. Journ. of pathol. a. bacteriol. **18**. 1913. — <sup>84)</sup> Werzberg, Neue experimentelle Beiträge zur Frage der myeloiden Metaplasie. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **204**. 1911. — <sup>85)</sup> Ziegler, K., Histologische Untersuchung über das Ödem der Haut und des Unterhautzellgewebes. Zieglers Beitr. z. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **36**. 1904.