

(Aus der Pathologisch-anatomischen Abteilung des städtischen Hospitals „25 Oktober“ [vormals Alexander-Hospital]. — Vorstand: Prof. Th. Ssysojew-Leningrad.)

Involution und Regeneration des Thymus unter dem Einfluß von Benzol.

Von

Dr. J. E. Lewin.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Juni 1927.)

Seitdem *Selling* zum ersten Male seine Beobachtungen über das Verschwinden von Leukocyten unter dem Einfluß von Benzol veröffentlicht hat, wurde diese Tatsache von einer Reihe von Forschern (*Pappenheim, Neumann, Veit, Sclavunos, Rotter* u. a.) mehrmals bestätigt; die Leukocyten verschwinden fast vollständig bei Anwendung von großen Benzoldosen. Die meisten Forscher, die die Wirkung von Benzol, Benzin, von Röntgenstrahlen und von anderen aleukocytären Stoffen auf den Organismus erforschten und dabei den blutbildenden Apparat sehr sorgfältig untersuchten, zogen aber merkwürdigerweise den Thymus nicht in den Bereich ihrer Untersuchungen. Es scheint jedoch, daß der lymphoide Bau dieses, zum blutbildenden Apparate zugehörenden, Organes Anlaß gibt, bei ähnlichen Fragen auch den Thymus genauer zu untersuchen. Dieses bildet den Zweck der vorliegenden Mitteilung, wobei folgende Fragen gestellt wurden:

1. Welch einen Einfluß übt das Benzol auf den allgemeinen Bau des Thymus aus?
2. Wie verhalten sich die einzelnen Zellarten des Thymus dem Benzol gegenüber?
3. Findet eine Rückbildung des Organes statt und wie verläuft dieselbe?
4. Lassen sich nicht gleichzeitig mit den Rückbildungsvorgängen auch regenerative Erscheinungen feststellen? Durch welche Zellen werden sie bedingt? Werden diese Erscheinungen von einer myeloiden Metaplasie begleitet?

Material und Methodik.

Die Versuche wurden an 27 Kaninchen (Gewicht von 600,0—1200,0) ausgeführt; das Benzol wurde unter die Haut in der Bauchgegend zu gleichen Teilen

mit Ol. olivarum eingeführt. In 2 Versuchen betrug die Menge 0,5 auf 1 kg Körpergewicht, dabei aber gewann der Versuch eine zu große Dauer, da es 14 Tage bedurfte, bis die Kaninchen eingingen. Deshalb wurde in den übrigen 25 Versuchen eine Gabe von 0,8 pro Kilo Körpergewicht gewählt, und die Veränderungen des Thymus wurden im bestimmten Zeitpunkten untersucht.

Im ganzen wurden 2 Reihen von Versuchen ausgeführt. Die 1. Reihe bilden 15 Versuche, die sich folgendermaßen verteilen: 3 Fälle, wo die Einspritzungen, 9 an der Zahl, zum Tode des Versuchstieres führten, 1 Fall, wo das Tier nach 1 Einspritzung getötet wurde, 1 Fall nach 2, 1 Fall nach 3, 2 Fälle nach 4, 1 Fall nach 5, 2 Fälle nach 6, 2 nach 7, 1 nach 8 und 1 nach 9 Einspritzungen.

Die 2. Reihe umfaßt die Versuche, wo die Regenerationsfähigkeit des Thymus nach dem Aussetzen der Einspritzung von nichttödlichen Benzolgaben untersucht wurde. Es wurden 11 Versuche ausgeführt. In 3 Fällen wurde das Benzol 4 mal eingespritzt und die Tiere 4, 6 und 10 Tage nach der letzten Einspritzung getötet. In den übrigen Fällen wurde die Einspritzung 3 mal ausgeführt, und die Tötung geschah 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 und 14 Tage nach der letzten Einspritzung. Außerdem wurde bei 1 Tiere ein Stückchen Thymus reseziert und das Benzol wurde nach 3 Wochen, nachdem sich das Kaninchen von der Operation erholt hatte, eingespritzt. Es gelang somit, die Befunde am Thymus beim gleichen Tiere vor und nach den Einspritzungen miteinander zu vergleichen.

Die Tiere wurden durch Luftembolie getötet. Fixiert wurde in Zencker-Formol, Formalin. Celloidin- und Paraffinschnitte wurden mit Azur II-Eosin, mit Panchrom, Methylgrün-Pyronin, nach *Mallory* gefärbt; Fettfärbung an Gefrierschnitten mit Sudan III, Untersuchung im Polarisationsapparat.

Die 1. Versuchsreihe.

Schon eine zweimalige Einspritzung von Benzol führt zu ausgesprochenen Veränderungen im Bau des Thymus.

Die Gefäße sind gedehnt, mit Blut überfüllt; es besteht kein deutlicher Unterschied zwischen der Rinden- und Markschicht. In diesen beiden Schichten liegen zahlreiche stark verkleinerte Lymphocyten vor, deren Kern sich mit Azur sehr stark färbt und bei denen das Protoplasma vollständig vermischt wird. Außer diesen Lymphocyten mit pyknotisierten Kernen liegen in großer Anzahl formlose Kerntrümmer vor, wobei die Menge dieser Kernbruchstücke in der Rinde größer als im Marke erscheint. Es werden Randzonen beobachtet, die sich blaß färben und aus Zellen bestehen, die die Größe von erhaltenen Lymphocyten besitzen, wobei der Kern der meisten von ihnen eine deutliche Membran aufweist, ein zartes, nicht immer gut ausgeprägtes Gerüst und 1—2 oder 3 dunkle Chromatin-körnchen besitzt, die den Nucleoli gleichen. Unter diesen Kernen liegen auch solche vor, die eine größere Menge von Chromatin besitzen und sich deshalb mit Azur dunkler färben. Dagegen ist in anderen Kernen der Chromatinschwund so bedeutend, daß sie sehr schwer von den Kernen der Reticulumzellen der Rinde, wo diese kleiner sind, unterschieden werden können. In geringer Anzahl werden Makrophagen angetroffen, die Bruchstücke zerfallener Kerne enthalten.

Im folgenden Stadium dieses Rückbildungsvorganges, nach 3 Einspritzungen, ist der Unterschied zwischen Mark und Rinde verlorengegangen. In der Rinde liegen Bezirke vor, die sich mit Azur-Eosin rosa färben, fast vollkommen von Lymphocyten frei sind und hauptsächlich aus Reticulumzellen bestehen, die einen blassen Kern von runder oder ovaler Form mit 2—3 dunkleren Körnchen und ein blaßrosa gefärbtes Protoplasma besitzen. Diese Zellen sind vergrößert,

abgerundet, ihre Ausläufer sind nicht sichtbar. Sie liegen eng beieinander, ihr Protoplasma erscheint wabig. Solche Gewebsteile, die frei von Lymphocyten sind, verteilen sich auf den größeren Teil der Rinde, greifen aber zuweilen auch auf kleinere Strecken des anliegenden Markes über.

Zwischen den Reticulumzellen kommen auch Makrophagen vor, es sind große Zellen, mit blassen undeutlichen Umrissen, mit einem blassen Kern, der sich mit Azur fast gar nicht färbt und somit kein Chromatin enthält, mit einem schwach oxyphylen Protoplasma, in dem größere Mengen von dunklen Körnchen und Schollen liegen, die die Überbleibsel von zerfallenen Lymphocytenkernen darstellen. Diese Zellen sind in diesem Zeitabschnitt sehr zahlreich und in manchen Gesichtsfeldern können bis 35 Exemplare gezählt werden. Gleichzeitig mit diesen Zellen werden, namentlich an den Läppchenrändern große Lymphocyten, d. h. Hämocytoblasten angetroffen; es sind große Zellen mit stark basophilem, zuweilen amöboidem Protoplasma und einem großen, verhältnismäßig hellen, bald runden, bald bohnenförmigen Kern mit zartem Chromatingerüst und 2–3 Nucleolen. Der Kern mancher dieser Zellen ist so blaß und enthält so wenig Chromatin, daß sich diese Zellen von den retikulären nur durch die Basophilie ihres Protoplasmas unterscheiden. Außer den verhältnismäßig zahlreichen Hämocytoblasten werden ebenfalls an den Läppchenrändern vereinzelte pseudoeosinophile Promyelocyten angetroffen, die sich von den Hämocytoblasten nur durch das Vorhandensein einer geringen Menge von Granulis unterscheiden, welche mitunter nur neben dem Kern in der Gegend der „Sphäre“ gelagert sind und sich durch Eosin dunkelrosa oder rot färben. Hin und wieder begegnet man auch dem weiteren Entwicklungsstadium des Hämocytoblasten, d. h. speziellen Myelocyten, die sich von den Promyelocyten durch ein helles, schwach basophiles Protoplasma und größeren Gehalt von Granula unterscheiden. Plasmazellen sind selten und kommen vorwiegend im interlobulären Bindegewebe vor.

In dieser und in der folgenden Zeitspanne des Rückbildungsvorganges läßt sich in den Reticulumzellen eine bemerkenswerte Erscheinung beobachten, die sich darin äußert, daß an der Peripherie mancher von ihnen ein heller Saum von gleichmäßiger Breite auftritt. Dieser Saum tritt an der Peripherie nur solcher Zellen auf, deren Protoplasma sich mit Azur zu färben beginnt und basophil wird; es handelt sich somit um solche Zellen, die sich weiter entwickeln und sich vom Verbande mit den übrigen Zellen des Stomas lösen. Der Saum stellt keine künstliche Bildung dar, sondern entsteht in der Folge der Loslösung der Zelle, dank einer Contractilität des Protoplasmas und der Abrundung des Zellkörpers.

Der fortdauernde Schwund der Lymphocyten nach 4 Einspritzungen verändert in hohem Maße den Läppchenbau des Thymus, indem das deutlich hervortretende Gerüst mit dessen vergrößerten, zuweilen sich mitotisch vermehrenden retikulo-epithelialen Zellen entblößt erscheint; im Vergleich zum früheren Stadium liegen etwas zahlreichere Hämocytoblasten und Promyelocyten vor, auch treten unter der Kapsel des Läppchens an der Peripherie der Gefäße vereinzelte Plasmazellen auf. In der Folge dieser Veränderungen färbt sich die Rindenschicht mit Eosin rosa und unterscheidet sich sehr scharf von der Markschicht, die sich mit Azur dunkelblau färbt, dank dem Umstande, daß in dieser die Lymphocyten, wenn auch zum großen Teil mit nekrobiotischen Kernveränderungen, erhalten bleiben. Somit findet gewissermaßen ein Umbau der Läppchen statt: die Rindenschicht gewinnt den Charakter der Markschicht und umgekehrt; es entwickelt sich das typische Bild eines umgekehrten Thymus (Abb. 1).

Die weiteren Veränderungen, die durch das Benzol bedingt werden (5, 6, 7, 8, 9 Tage), finden ihren Ausdruck in einem fortdauernden, aber weniger stark ausgeprägten Lymphocytenschwund und in einer vorübergehenden Vermehrung

von pseudoeosinophilen, z. T. auch eosinophilen Promyelocyten, Myelocyten, Metamyelocyten mit deren charakteristischem, bohnenförmigem Kern, und von reifen polymorphkernigen Leukocyten. In allen diesen Zellen, mit Ausnahme von Leukocyten, werden Mitosen angetroffen. Diese Vermehrung der jungen Granulocyten ist besonders stark am 5. Tage ausgeprägt, wobei zu dieser Zeit in einem Gesichtsfelde (Zeiß Ok. 3, Hom. Immers. $\frac{1}{12}$) ihre Zahl 20—30 erreicht. In den folgenden Tagen fällt ihre Zahl wieder ab, und am 9. Tage werden diese Zellen nur vereinzelt angetroffen.

Gleichzeitig mit der Vermehrung von Granulocyten findet auch eine deutliche Vermehrung von Plasmazellen statt. Diese Zellen lagern sich in den verschiedenen Abschnitten des Läppchens, aber im Gegensatz zu den Granulocyten bleiben diese Zellen, wie im Läppchen selbst, so auch im Bindegewebe zahlreich auch in den folgenden 7—9 Tagen.

Das Läppchen selbst wird allmählich kleiner. Diese Erscheinung wird nicht nur durch die Verminderung der Lymphocyten bedingt, sondern auch durch eine

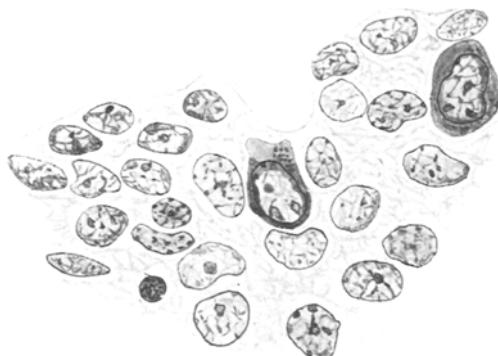


Abb. 1. Thymus nach 4 Einspritzungen von Benzol. Die Läppchenräder sind von Lymphocyten entblößt. Hypertrophierte retikuläre Zellen; je ein Hämocytoblast und Promyelocyt.

sich allmählich entwickelnde Atrophie der retikulo-epithelialen Zellen, die unter dem Drucke der netzartig im Läppchen sich bildenden kollagenen Fäserchen stehen.

Schon am 5. Tage wird eine Vermehrung dieser Fasern sowohl in der Läppchenmitte als auch zwischen den vergrößerten, sich mitotisch vermehrenden, sich abschnürenden und zu großen Lymphocyten, d. h. Hämocytoblasten umwandelnden Reticulumzellen beobachtet; die Fasern stehen einerseits mit dem wuchernden interlobulären Bindegewebe, andererseits mit den Fasern der Gefäßadventitien in Verbindung.

Diese Bindegewebsfasern bilden neben den Gefäßen und den Hassalschen Körperchen ziemlich dicke Bündel, aus denen in den letzten Tagen netzartige Ausläufer entstehen, wodurch das Läppchen in Zellnester verschiedener Größe geteilt wird. Die feinsten Fäserchen umgreifen einzelne Zellen, namentlich die retikulären; indem sie nun eng den Zellkörper umgreifen, führen sie zu einer Verkleinerung der Zelle, schließlich zu deren völliger Atrophie. Die atrophenischen Veränderungen in den retikulo-epithelialen Zellen werden mit Verfettung begleitet, die gerade in dieser Zeit besonders stark ausgeprägt ist. Im Protoplasma der Mehrzahl von retikulo-epithelialen Zellen ergibt die Färbung eine sehr große Menge von Fett-

tröpfchen, die im polarisierten Lichte keine Doppelbrechung ergeben und offenbar zu Neutralfetten gehören.

Die *Hassalschen* Körperchen, die in allen Versuchsperioden beobachtet wurden, weisen keine Veränderungen auf und bewahren ihre Struktur, wobei deren konzentrische Schichtung bald gut ausgeprägt ist, bald fehlt. Nur in den letzten 2 Tagen erscheint die Zahl der Körperchen größer, jedoch wird diese Vermehrung nicht durch wirkliche Neubildung erklärt, sondern es handelt sich um einen scheinbaren Befund, da die Körperchen in den atrophierten Läppchen näher zueinander liegen.

Gleichzeitig mit den beschriebenen Veränderungen im Läppchenparenchym lassen sich auch gewisse Veränderungen des Zellenbestandes im Zwischenbindegewebe beobachten, wobei eine gewisse Parallelität zum Zellbestande der Läppchen besteht. So findet dort eine Vermehrung der Zahl Granulocyten und Plasmazellen gleichzeitig mit dem reichlicheren Auftreten dieser Zellen im Läppchen selbst statt. Zugleich findet auch, wie erwähnt, eine Vermehrung des Bindegewebes statt, das am 9. Tage stellenweise stärker als das erhaltene Parenchym ausgebildet erscheint.

Somit führt das Benzol, in einer Gabe von 0,8 auf 1 kg Körpergewicht, nach 9 Einspritzungen zu einer sehr stark ausgeprägten Atrophie des Organes. Der Ablauf dieser Erscheinung entspricht in seinen Hauptzügen denjenigen Veränderungen des Läppchenparenchyms, die bei der „akzidentellen Involution“ beobachtet werden. Der erste Abschnitt dieses Rückbildungsvorganges, der 5 Tage umfaßt, ergibt einen Umbau des Läppchens, was sich im Bilde einer völligen Inversion äußert; der 2. Abschnitt — die letzten 4 Tage — verläuft unter dem Bilde einer allmählich fortschreitenden Entwicklung von kollagenen Fasern in der invertierten Drüse.

Die Umkehrung der Drüse entsteht infolge zweier gleichzeitig sich entwickelnder Vorgänge, und zwar des Lymphocytenschwundes, die namentlich in der Rinde nekrobiotischen Veränderungen unterliegen, und der Aktivierung der Zellen des retikulo-epithelialen Stromas. Diese Zellen vergrößern sich im Bereiche der gesamten Rinde, zum Teil auch im Mark des Läppchens. Ein Teil von ihnen wird losgelöst und verwandelt sich in freie Makrophagen, die die pyknotischen und zerfallenen Lymphocytenkerne aufnehmen; ein anderer Teil dieser Zellen löst sich vom Verbande mit den Nachbarzellen los und verwandelt sich zu Lymphocyten und Hämocytoblasten, welch letztere sich weiter zu vorwiegend pseudoeosinophilen Promyelocyten und Myelocyten entwickeln.

Als Hauptmerkmal des 2. Zeitabschnitts, die den Endausgang des Rückbildungsvorganges bedingt, erscheint die Entwicklung von kollaginen Fasern in der invertierten Drüse wie außerhalb des Läppchens, so auch innerhalb desselben. Diese Fasern umfassen mit ihren netzartigen Maschen sowohl einzelne, namentlich retikuläre, Zellen, als auch kleine Zellgruppen und führen zur Atrophie des Läppchens, indem das wuchernde Zwischenbindegewebe auf dieses einen Druck ausübt.

2. Versuchsreihe.

Diese Versuche sollten dazu dienen, die Regenerationsvorgänge zu verfolgen. Indem nun der Ablauf der Veränderungen im Thymus nach den einzelnen Versuchstagen in seinen Hauptzügen bekannt war, entstand ganz natürlich die Frage, ob nach dem Aufhören von Benzoleinspritzungen ein Wiederaufbau der normalen Thymusstruktur möglich sei. Wo müßte nun die Grenze liegen, hinter der eine Wiederherstellung der Drüse unmöglich ist, und welche Zellen, welcher Abstammung, beteiligen sich am Neubildungsvorgange?

Um einen gewissen Einblick in die Verhältnisse zu gewinnen, wurden zuerst 3 Vorversuche angestellt, wobei jedem der Versuchstiere im Laufe von 4 Tagen täglich Benzol eingespritzt wurde, darauf wurden die Kaninchen nach 4, 6 und 10 Tagen getötet. Diese Versuche fielen alle negativ aus, insofern als in keinem dieser Fälle irgendwelche Anzeichen einer Regeneration vorhanden waren und eine deutliche Involution mit Atrophie der Läppchen bestand. Die weiteren Versuche wurden deshalb auf solche Weise ausgeführt, daß die Gesamtmenge des Benzols verringert wurde, indem die Injektionen gleicher Dosen nur im Laufe von 3 Tagen vorgenommen wurden; diese Versuche ergaben nun eine vollkommene Regeneration. Um die einzelnen Phasen dieser Erscheinungen zu verfolgen, wurden die Versuchstiere 2, 3, 4, 6, 8, 12 und 14 Tage nach dem Aufhören der Injektionen getötet.

Wie die früher angeführten Befunde aus der 1. Versuchsreihe ergeben haben, erscheinen alle Läppchen 24 Stunden nach den dreimaligen Einspritzungen in die Rinde stark verändert. Im Läppchen fehlen auf größerer Strecke die Lymphocyten, das Stroma mit den vergrößerten retikulo-epithelialen Zellen erscheint entblößt, in ihm liegen viele freie Makrophagen mit aufgenommenen toten Lymphocytenkernen, es werden vereinzelte Hämocytoblasten oder große Lymphocyten und pseudoeosinophile Promyelocyten und Myelocyten angetroffen.

Nach weiteren 24 Stunden, d. h. nach 2 Tagen, erfährt das eben geschilderte Bild schon gewisse Veränderungen: Die Zahl der Makrophagen erscheint geringer, die hypertrophierten retikulären Zellen mit ihren blassen runden oder ovalen, 1—3 Nucleolen enthaltenden Kernen treten deutlicher hervor. Mitosen in ihnen kommen öfter vor, die Zellen vermehren sich; es lassen sich öfter die Loslösungserscheinungen beobachten, wobei die Zellen zu freien selbständigen amöboiden Zellen werden und an der Peripherie mancher von ihnen der schon beschriebene helle Saum entsteht. Jede von den sich loslösenden Zellen unterscheidet sich etwas in morphologischer Hinsicht von den nebenbei liegenden nicht freien Stromazellen: sie sind zumeist abgerundet, mitunter mit amöboiden Ausläufern, das Protoplasma weist immer mehr oder weniger ausgesprochene Basophilie auf, der Kern ist chromatinreicher, färbt sich mit Azur stärker und besitzt eine deutliche Membran. Die Größe der isolierten Zellen ist verschieden, diese sind aber immer kleiner als die nichtisolierten, zumeist haben sie die Ausmaße von großen oder mittleren, seltener von kleinen Lymphocyten. Somit ist die Größe der losgelösten Zellen schon von Anfang an verschieden, aber auch zu diesem Zeitabschnitt überwiegen an Zahl solche von der Größe eines großen Lymphocyt bzw. Hämocytoblasten (Abb. 2).

Gleichzeitig mit diesen isolierten jungen neugebildeten Zellen, die in ihrer Entwicklung vom mütterlichen Stroma abgewichen sind, aber noch nicht alle morphologischen Eigenschaften eines großen oder kleinen Lymphocytens erlangt haben, werden auch typische große Lymphocytens resp. Hämocytoblasten angetroffen, die ein stark basophiles Protoplasma und einen runden oder bohnenförmigen Kern mit zartem Chromatingerüst und 1—2 Nucleolen aufweisen.

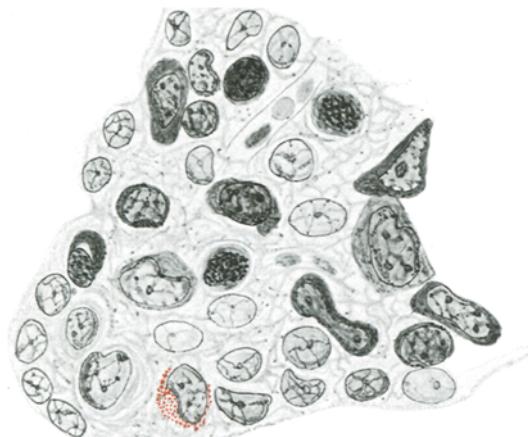


Abb. 2. Dreimalige Benzoleinspritzung, Regeneration nach 2 Tagen. Verschiedene Übergangsstadien zwischen den Hämocytoblasten und den retikulären Zellen. Isolierung der retikuloepithelialen Zellen und Mitosen in ihnen.



Abb. 3. Regeneration nach 3 Tagen. Hämocytoblasten. Mitosen in den isolierten retikulären Zellen.

Zwischen den undifferenzierten Zellen und den reifen großen Lymphocytens bestehen Übergangsstadien; je mehr sich die freigewordene Zelle in ihrer Entwicklung dem großen Lymphocytens oder Hämocytoblasten nähert, um so ausgeprägter erscheint die Basophilie des Protoplasmas, um so chromatinreicher wird der Kern. Sowohl in den reifen Hämocytoblasten als auch in den minder differenzierten Zellen werden Mitosen beobachtet, die zur Bildung von charakteristischen kleinen Lymphocytens mit ihren bekannten Kennzeichen führen (Abb. 3).

Somit treten die kleinen Lymphocyten schon in diesem frühen Zeitabschnitt auf, wobei ihre Bildung in zwei Richtungen verläuft: sie können erstens unmittelbar aus der sich loslösenden Stromazelle und zweitens durch Teilung großer Lymphocyten entstehen.

Es läßt sich auch nicht eine dritte Bildungsmöglichkeit sowohl für die großen, als auch kleinen Lymphocyten, und zwar aus den adventitiellen Zellen ausschließen, da in seltenen Fällen eine Isolierung derselben, ihre Abrundung und die Bildung einer, vom Lymphocyt nicht zu unterscheidbaren, Zelle beobachtet werden konnte.

Wie schon erwähnt, sind die großen Lymphocyten oder Hämocytoblasten die zahlreichsten örtlich entstandenen Zellen, jedoch ist ihre Anzahl nicht so bedeutend, als daß sie das gesamte halbentblößte Gerüst verdecken könnten; sie liegen nur in Form vereinzelter kleiner Gruppen. Was die Granulocyten, d. h. die pseudoeosinophilen Promyelocyten und Myelocyten betrifft, so werden sie 24 Stunden nach dem Aufhören von Benzoleinspritzungen nur in geringer Anzahl als vereinzelte Exemplare und hauptsächlich nur an den Rindenrändern angetroffen.

Die erwähnten Erscheinungen der Anfangsperiode der Regeneration entwickeln sich in der Rindenschicht recht schnell weiter, so daß zum 14. Tage das Bild einer vollständigen Strukturwiederherstellung der Drüse zustande kommt, wobei Rinde und Mark deutlich ausgeprägt erscheinen und alle ihnen eigentümlichen Zellformen enthalten.

Diese vollständige Wiederherstellung des Läppchens vollzieht sich auf Grund einer weiteren Ausbildung jener Vorgänge, die im früheren Zeitabschnitt angedeutet waren. Zugleich mit dem Verschwinden der Makrophagen, dauert die Differenzierung der Zellen des retikulären Gerüstes fort, es findet weiter ihre Loslösung und Vermehrung statt. Diese fortdauernde Differenzierung zu großen Lymphocyten bzw. Hämocytoblasten führt zu einer Änderung ihrer ursprünglichen gruppenartigen Anordnung, wobei diese Zellen jetzt mehr zerstreut und diffus zu liegen kommen. Zugleich nimmt auch die Zahl der kleinen Lymphocyten zu, wobei es sich nicht so sehr um eine unmittelbare Entstehung aus den freierwerdenden Stromazellen, als um eine Teilung der großen Lymphocyten handelt. Dank dem Umstände, daß durch die Teilungsvorgänge kleine Lymphocyten gebildet werden, und entsprechend der immer geringer werdenden Bildung der großen Lymphocyten aus den sich loslösenden Stromazellen, wird die Menge dieser Lymphocyten bei der weiteren Regenerationentwicklung immer kleiner. Zwischen dem 8. und 12. Tage besteht schon ein deutliches zahlenmäßiges Überwiegen der kleinen Lymphocyten.

Diese Verringerung der Menge der Hämocytoblasten kann z. T. auch durch deren fortlaufende Differenzierung zu Zellen des myeloiden Gewebes erklärt werden. Am 8. Regenerationstage besteht eine deutlich ausgeprägte Myelo- und Erythropoiese. Im Mark mancher Läppchen stellen die Zellen des myeloiden Gewebes die zahlreichsten Bestandteile dar. Unter den Granulocyten kommen vorwiegend pseudoeosinophile Myelocyten und Metamyelocyten vor (Abb. 4). Promyelocyten sind verhältnismäßig selten. Außer den Granulocyten werden in dieser Zeit, mitunter in bedeutender Anzahl, Zellen der Hämoglobinreihe angetroffen, die sich bald haufenweise, bald zerstreut an der Peripherie der Läppchen anordnen. Unter diesen hämoglobinhaltingen Zellen überwiegen Normoblasten mit pyknotisiertem Kern, weniger zahlreich erscheinen polychromatophile und basophile Erythroblasten. In allen myeloiden Zellen werden Mitosen beobachtet.

In den folgenden Tagen der Regeneration nimmt die Zahl der myeloiden Zellen allmählich ab, und am letzten Tage, d. h. am Tage wo der Bau der Drüse

vollständig wiederhergestellt ist, verschwinden die Zellen der hämoglobinhaltigen Reihe, und die Myelocyten werden mitunter vereinzelt an der Peripherie des Läppchens unter der Kapsel angetroffen.

Infolge des Schwundes von myeloiden Zellen, der starken Verringerung von Hämocytoblasten und der ausgedehnten Neubildung von kleinen Lymphocyten, verschwindet allmählich das Überwiegen der Stroma zellen, das am Beginne der Regeneration vorgelegen hatte. Die meisten Zellen des Stromas gehen aus dem aktivierten wieder in den Ruhezustand zurück, indem sie wieder ihre normale Größe erhalten; nur stellenweise erscheinen die Zellen im Zustand einer geringen Vergrößerung. Was die Markschicht betrifft, so verläuft hier die Regeneration auf gleiche Weise, aber etwas langsamer, was durch die wesentlich geringeren Veränderungen, im Vergleich zur Rinde, erklärt werden kann. Auch hier werden retikulo-epithelialen Zellen frei, aus denen freiliegende Hämocytoblasten und



Abb. 4. Regeneration nach 6 Tagen. Pseudoeosinophile Myelopoese. Rechts unten Mitose im pseudoeosinophilen Myelocyt.

Lymphocyten hervorgehen. Zweifelsohne aber gelangt ein Teil der Lymphocyten, deren Zahl im Mark zunimmt, hierher infolge einer Auswanderung aus der Rindenschicht.

Diese Versuche ergeben somit, daß nach Benzoleinspritzung eine Regeneration des Thymus möglich ist, aber nur dann, wenn die strukturellen Veränderungen eine gewisse Grenze nicht überschreiten, als welche jener Zustand der Inversion des Thymus anzusehen ist, wo laut den Versuchen der 1. Reihe noch nicht der 2. Rückbildungsabschnitt, mit der für ihn charakteristischen Bindegewebsentwicklung, eingetreten ist.

Der Regenerationsvorgang verläuft bei vorwiegender Beteiligung der aktivierten retikulo-epithelialen Zellen, die sich vom Stroma loslösend, in der Anfangszeit der Regeneration vorwiegend zu großen Lymphocyten bzw. Hämocytoblasten umwandeln. In diesem Zeitabschnitt stellen diese Zellen die zahlreichsten Formen dar, aus ihnen gehen einerseits durch zahlreiche Mitosen, kleine Lymphocyten hervor, anderer-

seits bedingen sie eine vorübergehende Entwicklung der Myelo- und Erythropoese. Die kleinen Lymphocyten können sich namentlich in den ersten Tagen der Regeneration auch unmittelbar aus den sich abscheidenden Zellen bilden.

Die Charakteristik der Zellen des retikulären Gerüstes und deren Rolle bei den Vorgängen der Rückbildung und Regeneration des Thymus.

Diese Zellen werden vorwiegend durch zwei morphologisch bestimmbare biologische Eigenschaften gekennzeichnet: durch ihre Standhaftigkeit gegenüber der giftigen Benzolwirkung und durch ihre Fähigkeit, dabei ihre, ihnen eigentümliche Fähigkeit einer weiteren differenzierenden Entwicklung zu offenbaren.

Die Versuche, wo die Rückbildungsvorgänge studiert worden sind, ergaben, daß schon nach 4 Einspritzungen eine fast vollständige Inversion der Drüse mit einer Entblösung der Rindenschicht, dank einer schnell fortschreitenden Nekrobiose der Lymphocyten, zustande kommt. In dieser Schicht werden fast ausschließlich Zellen des Gerüsts angetroffen, die zudem nicht nur keine sichtbaren degenerativen Veränderungen bieten, wenn man von den Fetttröpfchenablagerungen absieht, sondern im Gegenteil eine deutliche Vergrößerung des Zelleibes, des Kernes und des Protoplasmas aufweisen. Diese Zellen widerstehen nicht nur der zerstörenden Benzolwirkung, sie bewahren nicht nur ihre morphologischen Eigenschaften, sondern sie bringen sie sogar stärker zum Ausdruck. Dabei muß besonders hervorgehoben werden, daß die Erscheinungen der Hypertrophie sich auf fast alle sichtbaren Zellen des Rindengerüsts erstrecken und sich nicht auf einzelne Zellformen beschränken; man hat also hier nicht mit einzelnen Zellen mesodermalen Ursprunges zu tun, die ja immer im Gerüst vorhanden sein können, indem sie sich hier am Ort z. B. aus den adventitiellen Zellen der Gefäße bilden, sondern mit denjenigen Zellen, die von den meisten Untersuchern als retikulo-epitheliale betrachtet werden.

Zum Schluß des Rückbildungsvorganges, d. h. in dem 2. Abschnitt wo eine Atrophie der Drüse besteht, liegen die Zellen des Gerüsts in bedeutend geringerer Menge vor; doch wird diese Verringerung nicht durch einen Verlust ihrer Lebensfähigkeit bedingt, sondern sie ist die Folge der Atrophie, die hier durch fortdauernde Entwicklung von kollagenen Fäserchen bedingt wird, da die letzteren sowohl Gruppen von retikulo-epithelialen Zellen, als auch einzelne derartiger Zellen zusammendrücken.

Indem sich nun die retikulo-epithelialen Zellen im Vergleich zu den übrigen Zellen des Drüsenparenchys als die widerstandsfähigsten erweisen, erfahren sie im weiteren, teilweise unter dem unmittelbaren Einfluß von Benzol, teilweise unter dem Einfluß der Eiweißzerfall-

produkte anderer Zellen, namentlich der Lymphocyten, eine Aktivierung und entwickeln sich weiter, indem sie nunmehr die beherrschende aktive Zellart, sowohl bei der Rückbildung als auch der Regeneration der Drüse, darstellen. Selbstverständlich offenbart sich die Bedeutung der retikulo-epithelialen Zellen nicht so sehr im Rückbildungsvorgange, als im Vorgange der Regeneration, welcher mit Herstellung der anfangs verlorengegangenen Zellen und mit dem Auftreten neuer, unter normalen Verhältnissen dem Thymus nicht eigentümlichen Zellformen, begleitet wird.

Die Rolle der Gerüstzellen bei der Rückbildung äußert sich hauptsächlich in der Bildung von Makrophagen, die mit Bruchstücken zerfallender Lymphocytenkerne beladen sind; sie treten schon nach der 2. Benzoleinspritzung auf, und ihre Anzahl steigt schnell an, entsprechend dem Zerfall von Lymphocyten, so daß bis zu 30 — 36 solcher Zellen im Gesichtsfelde vorliegen können. Nachdem die Makrophagen ihren Höhepunkt erreicht haben, was dem Zustande entspricht, wo die Lymphocyten, deren Kerne ständig karyolytische und karyorhektische Veränderungen aufweisen, in geringster Menge vorliegen, beginnt ihre Zahl abzunehmen und beim Eintreten der zweiten Rückbildungsperiode werden sie nur noch vereinzelt angetroffen. Dieses Geringerwerden ihrer Zahl hängt entschieden in erster Linie von dem Umstande ab, daß die Umwandlung der Gerüstzellen zu Makrophagen allmählich erlischt, dieses währt nur so lange, bis auf diese Zellen Ansprüche bestehen, d. h. bis von ihnen die zerfallenen oder zerfallenden Lymphocyten aufgenommen werden.

Die Beteiligung der retikulo-epithelialen Zellen bei der Bildung von Makrophagen im Rückbildungsvorgange unter dem Einflusse von Benzol bestätigt vollkommen die Ergebnisse, die bei der Rückbildung unter anderen Einflüssen erhoben worden sind (*Rudberg, Lubarsch, Ssyssojew, Wituschinsky, Ssipowsky*).

Die Tatsache, daß die Makrophagen aus den Zellen des Thymusgewebes gebildet werden können, wird auch durch die Versuche von *Tschassownikow* mit Thymusauspflanzung bestätigt, allerdings aber leitet er die Makrophagen von anderen Zellen ab, indem er annimmt, daß sie ihre Entstehung den ruhenden Wanderzellen verdanken. In dem *Tschassownikoff* bei dieser Erklärung die Rolle der retikulo-epithelialen Zellen negativ bewertet, lehnt er es also ab, einen morphologischen Unterschied zwischen den Wanderzellen und den retikulo-epithelialen Zellen zu ziehen, was natürlich den Wert dieser Erklärung stark beeinträchtigt.

Im Vorgange der Thymusrückbildung fällt den Zellen des retikulo-epithelialen Gerüstes, abgesehen von der Bildung von Makrophagen, auch zweifelsohne eine gewisse Beteiligung in der Bildung

von kleinen und großen Lymphocyten zu, die sich morphologisch nicht vom Hämocytoblasten unterscheiden und in der Bildung von Promyelocyten, vorwiegend pseudoeosinophiler, die sich aus dem Hämocytoblasten entwickeln. Ohne die schon angeführte Beschreibung der allmählichen Umwandlung und Loslösung der Gerüstzellen nochmals anzuführen, wie es unter besonders günstigen Verhältnissen in der Zeit fast vollständiger Umkehrung der Drüse im vom Lymphocyten entblößten Stroma beobachtet werden konnte, kann ich nicht umhin, noch einmal darauf hinzuweisen, daß alle Zellen des entblößten Stromas solange bis in ihnen Anzeichen einer Differenzierung zu Zellen lymphoiden Typus und zwar Auftreten der Protoplasmasophilie, Zunahme der Kernchromatinsubstanz beobachtet werden, vollkommen gleich erscheinen und morphologisch voneinander nicht zu unterscheiden sind. Wenn man nun, wie manche Forscher (*Maximow, Salkind, Tschassownikow*) es tun, zulassen will, daß im Gerüst Zellen zweier Artiger Abstammung — mesodermaler und ektodermaler — vorliegen, so muß dennoch geschlossen werden, daß ihre Reaktion auf giftige Stoffe, besonders auf das Benzol, gleichartig ist: alle erscheinen sie gleich widerstandsfähig und alle sind vergrößert. Es kann weiter auch kein Unterschied zwischen diesen Zellen verschiedenen Ursprungs gezogen werden, wenn man von ihren Differenzierungsmöglichkeiten ausgeht.

Aus dem Studium des Rückbildungs- und namentlich des Regenerationsvorganges, bei besonderer Berücksichtigung der Differenzierung der retikulo-epithelialen Zellen zu Lymphocyten, kann ich schließen, daß dieser Vorgang sich über die gesamte Rinde ausbreitet. Es findet namentlich in den Anfangsstadien der Regeneration eine massenhafte Umwandlung der sich mitunter mitotisch teilenden Gerüstzellen zu Zellen vom Hämocytoblastentypus statt; diese Zellen ordnen sich in Form einzelner Gruppen, resp. haufenweise an, wobei neben vergrößerten Stromazellen andere solche Zellen liegen, die Zeichen einer Umwandlung zu Hämocytoblasten aufweisen. Somit äußern, wenn nicht alle, so doch die Mehrzahl der Stromazellen eine ihnen eigentümliche Fähigkeit zur weiteren Entwicklung, so daß auch in dieser Hinsicht auf Grund der Differenzierung ein Unterschied schwer durchgeführt werden kann.

Wenn ich auf diese Weise die morphologisch bestimmmbaren und die biologischen Eigenschaften der Gerüstzellen als gleich setze, so will ich dennoch nicht die Möglichkeit bestreiten, daß unter den retikulo-epithelialen Zellen im Gerüst auch vereinzelte Histiocyten vorkommen könnten, die von örtlichen adventitiellen Zellen sich ableiten ließen oder aus dem umlaufenden Blute gelangen könnten. Die Hauptrolle bei den beschriebenen Vorgängen spielen aber nicht diese

vereinzelten Histiocyten, sondern die konvergierenden retikuloepithelialen Zellen.

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß in der Rückbildungszzeit sich aus den Stromazellen Hämocytoblasten bilden, die sich zu Promyelocyten und Myelocyten entwickeln, welche sowohl pseudoeosinophile, als auch eosinophile Granula aufweisen, wobei die Bildung von pseudoeosinophilen Granulationen nach 5 Einspritzungen d. h. am 6. Involutionstage stark ansteigt. Diese Vermehrung ist eine vorübergehende und in der Zeit der beginnenden Atrophie werden Granulocyten fast nicht mehr angetroffen. Man kann zufügen, daß die Granulopoese noch stärker bei der Regeneration ausgeprägt ist, namentlich zwischen dem 4. und 6. Tage, nachdem die Benzoleinspritzungen aufgehört haben. In dieser Zeit ist die Rinde der Läppchen stellenweise auf deren größerer Ausdehnung mit Granulocyten besetzt, d. h. mit Promyelocyten, Myelocyten, Metamyelocyten und, in geringem Maße, mit polymorphkernigen Leukocyten; dabei kommen in den ersten zwei Zellarten, ebenso wie in den Hämocytoblasten, Mitosen vor. Etwas später gesellt sich zur Granulopoese auch die Erythropoese, wobei unter den hämoglobinhalftigen Zellen Normoblasten überwiegen.

Auf diese Weise wird die Regeneration des Thymus durch vollständige Hämatopoese, mit Ausnahme von Megakaryocytenbildung begleitet. Diesem Vorgange liegt der Hämocytoblast zugrunde, der sich örtlich aus den Stromazellen bildet; es läßt sich aber auch nicht eine gewisse Beteiligung bei der Bildung des Hämocytoblasten seitens der örtlichen adventitiellen Zellen ausschließen.

Die von mir festgestellte Granulopoese bei der Rückbildung, die Erythro- und Granulopoese bei der Regeneration verdient besondere Beachtung, da sie in hinreichendem Maße die, bei weitem nicht von allen geteilte, Ansicht einer Reihe von Forschern (*Roger et Ghica, Regaud et Cremien, Weidenreich, Weill, Ssyssojew, Wituschinsky*) bestätigt, laut der der Thymus zu den Blutbildungorganen gehört. Wenn wir auch nicht hinreichend Grund haben, den Thymus unter normalen Bedingungen diesen Organen zuzuzählen, so kann er unter pathologischen Verhältnissen hinsichtlich der Myelopoese mit vollem Rechte in den blutbildenden Apparat eingereiht werden.

Somit also werden die Anfangsstadien der Thymusregeneration hauptsächlich durch das Auftreten von Hämocytoblasten oder großen Lymphocyten begleitet, die sich in Gruppen anordnen und sich zu Zellen des myeloiden Gewebes weiterentwickeln; letztere verschwinden, wenn die Wiederherstellung des Läppchenbaus zu Ende geht, man trifft sie vereinzelt an den Läppchenrändern. Zu dieser Zeit verschwinden auch die großen Lymphocyten, aus denen durch mitotische

Teilung Lymphocyten hervorgehen, deren Größe allmählich geringer wird und die schließlich die Größe von kleinen Lymphocyten aufweisen. Ein Teil dieser Zellen kann sich unverzüglich, unmittelbar aus den sich loslösenden Stromazellen oder aus den, während der Rückbildungszeit, erhalten gebliebenen Lymphocyten bilden.

Es läßt sich schwer sagen, ob an der Regeneration der Drüse auch jene Lymphocyten teilnehmen, die immer im interlobulären Bindegewebe beobachtet werden, denn es konnten keine Hinweise gefunden werden, die für eine Einwanderung dieser Zellen ins Läppchenparenchym sprechen könnten. Es läßt sich weiter ebenfalls schwer sagen, ob sich bei der Wiederherstellung des lymphoiden Gerüstes der Rinde auch jene Lymphocyten beteiligen, die im Marke liegen und bei ihrer Vermehrung auch in diese eindringen könnten, denn die Anhäufung von Lymphocyten an der Grenze beider Schichten könnte auch auf eine andere Weise erklärt werden — durch eine Abwanderung aus der Rinde in das Mark.

Somit verläuft die Wiederherstellung der durch Benzol zerstörten Lymphocyten auf zwei Wegen: durch lymphoide Umwandlung der Stromazellen und durch Vermehrung einzelner bei der Rückbildung erhalten gebliebener Lymphocyten, wobei auch noch eine unbedeutende Beteiligung der adventiellen Zellen hinzukommen könnte.

Faßt man alle Differenzierungsmöglichkeiten zusammen, die die Gerüstzellen äußern, so muß man zum Schluß gelangen, daß sie mit den Fähigkeiten der Zellen mesodermalen Ursprungs übereinstimmen. Beide verwandeln sich zu Makrophagen, aus beiden können Lymphocyten und Hämocytoblasten hervorgehen, die sich zu Zellen des myeloiden Gewebes weiterentwickeln. Beide können weiterhin im gleichen Sinne beurteilt werden hinsichtlich der Fähigkeit, durch Umwandlung in freie Zellen histiocytären Charakters, Fibroblasten (*Wituschinsky*) und mehrkernige sincytiale Zellen hervorzubringen (*Fulci, Ssyssoew, Wituschinsky*). Diese Untersuchungen führen zu der Frage, ob die Gerüstzellen nicht tatsächlich mesodermaler Natur sind. Hat man hier nicht den Vorgang eines Ersatzes der epithelialen Zellen durch mesodermale vor sich?

Ich glaube aber, daß derartige grundsätzliche Fragen nicht unter den Bedingungen der ausgeführten experimentellen Untersuchungen entschieden werden können, und deshalb will ich diese Frage offen lassen.

Hinsichtlich der angeführten Fähigkeiten der Gerüstzellen zu weiterer Entwicklung, namentlich ihrer Fähigkeit zur lymphoiden Umwandlung, sei auf experimentelle Untersuchungen über die Regeneration des Thymus bei Kaninchen, Hunden und Katzen nach traumatischer Schädigung (*Fulci*) hingewiesen. *Fulci* kommt auf Grund

gründlicher Untersuchungen der verschiedenen Regenerationsstadien zum Schlusse, daß entstehungsgeschichtliche Zusammenhänge zwischen den lymphocytenähnlichen und den retikulo-epithelialen Zellen bestehen. Diese Schlußfolgerung findet eine Bestätigung auch in meinen Untersuchungen.

Zusammenfassung.

1. Die Einführung von Benzol führt beim Kaninchen zur Atrophie des Thymus.

2. Die sich nacheinander im Läppchen der Drüse entwickelnden histologischen Veränderungen ergeben das Bild einer „accidentellen Involution“.

3. Bei der Entwicklung dieser Involution werden zwei Zeitabschnitte beobachtet: 1) Abschnitt der Bildung einer invertierten Drüse; 2) Abschnitt der Bindegewebsentwicklung mit nachfolgender Läppchenatrophie.

4. Die erste Inversionsperiode wird durch schnell fortschreitenden Lymphocytenzerfall und Aktivierung der retikulo-epithelialen Zellen gekennzeichnet; diese Zellen hypertrophieren, isolieren sich, bilden freie Makrophagen und Hämocytoblasten, die sich zu pseudoeosinophilen Promyelocyten und Myelocyten ausbilden.

5. Die 2. Periode wird nicht nur durch eine Wucherung des interlobulären Bindegewebes, sondern auch durch eine Neubildung eines engmaschigen Netzes von kollagenen Fasern innerhalb des Läppchens bedingt.

6. Die Regeneration ist möglich nur solange, bis sich keine vollständige Inversion entwickelt hat und bis zur Bildung von kollagenen Fasern innerhalb des Läppchens.

7. Die hauptsächlichste, fast ausschließliche Rolle bei der Bildung neuer Lymphocyten spielen die örtlichen, d. h. die retikulären Zellen des Gerüstes; eine geringe Beteiligung kommt auch den adventiellen Zellen zu.

8. Die Regeneration wird durch zeitweilige Myelo- und Erythropoese begleitet, die in der Rindenschicht stark ausgeprägt sind und mit der Differenzierung erwähnter örtlicher Zellen in Verbindung stehen.

Literaturverzeichnis.

¹ *Fulci*, F., Dtsch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 37. — ² *Hammar*, Ergebn. der Anat. u. Entwicklungsgeschichte **19**. 1910. — ³ *Heinecke*, Dtsch. Zeitschr. f. Chir. **78**. 1905. — ⁴ *Herzog*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **53**. 1912. — ⁵ *Herzog*, Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1914. — ⁶ *Lubarsch*, O., Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges., 18. Tagung, Jena 1921. — ⁷ *Marschand*, F., Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1913. — ⁸ *Maximow*, Klin. Wochenschr. 1926, Nr. 7. —

- ⁹ *Pappenheim*, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therapie **15**. 1914. — ¹⁰ *Regaud et Cremien*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1913, Nr. 16, S. 960. — ¹¹ *Roger et Ghica*, Journ. de physiol. et pathol. génér. **12**, 712. 1900. — ¹² *Rotter*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **258**, H. 1/2. 1925. — ¹³ *Rudberg*, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1907. — ¹⁴ *Salkind*, Anat. Anz. **41**, Nr. 6 u. 7. 1912. — ¹⁵ *Selling*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **51**. 1911. — ¹⁶ *Sclawunos*, Krankheitsforschung **1**, H. 6. 1925. — ¹⁷ *Ssyssojew, Th.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **250**, H. 1/2. 1924. — ¹⁸ *Ssipowsky, P.*, Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **36**. 1928. — ¹⁹ *Tschassownikow*, Arch. f. exp. Zellforsch. **3**. 1926. — ²⁰ *Veit*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 1921, Nr. 68, H. 3. — ²¹ *Weidenreich, F.*, Die Leukocyten und verwandte Zellformen. Wiesbaden 1911. — ²² *Weil, P.*, Arch. f. mikroskop. Anat. **83**. 1913. — ²³ *Wituschinsky, W.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **262**, H. 3. 1926.
-