

# Nochmals über den Bau der Thymocyten<sup>1</sup>.

Von

Witold Komocki (Warschau).

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 21. März 1931.)

In der Z. mikrosk.-anat. Forschg **20**, H. 1/2 veröffentlichte ich eine Arbeit, in welcher ich auf Grund verschiedener Fixierungs- und Färbungsmethoden zur Überzeugung gelangte, daß die Mehrzahl der Thymusrindenzellen, besonders der kleinen Formen, kein Protoplasma besitzt, dabei führte ich einige Verfassers an, welche ebensolcher Meinung sind. Ich zeigte auch, daß man bei Durchmusterung der Abbildungen einiger Arbeiten über die Thymuskultur in vitro sehr viele nackte Kerne bemerkt, von denen aber die Autoren im Text gar nichts erwähnen und wenn auch diese erwähnt werden, so betrachten sie diese als Ergebnis der Zelldegeneration. Ich bemerkte auch, daß das Kernchromatin der Thymocyten im allgemeinen etwas lockerer als bei Lymphocyten verteilt ist; in dieser Hinsicht teile ich die Meinung von *Schridde*. Dieser Unterschied im Bau der Kerne ist auf zwei, der Arbeit beigegebenen Abbildungen sichtbar.

*Brodersen*, der die Schwierigkeit des Nachweises des Protoplasmas in zahlreichen Thymusrindenzellen mit den bisherigen Untersuchungsmethoden anerkennt, gibt eine neue Fixierungs- und Färbungsmethode an, mit deren Hilfe man angeblich feststellen könnte, daß die Thymocyten ausnahmslos einen Zelleib besitzen.

Es ist nicht leicht, diese Methode nachzuprüfen, da *Brodersen* nicht genügend genaue Hinweisungen angibt, z. B. zu welcher Kochsalzlösungsmenge er die 20% Osmiumtetroxydlösung und wieviel Tropfen er hinzufügt. Infolgedessen ist es nicht genau bekannt, in welcher Konzentration der Osmiumsäurelösung man die Thymusteilchen fixieren muß; es ist zu vermuten, daß diese Konzentration sehr schwach ist, da *Brodersen* die Thymusteilchen zuerst in der physiologischen Kochsalzlösung auf dem Objektträger zerzupft und dann, wie er sagt, „dieser Brei wird durch

---

<sup>1</sup> Eine Antwort auf die Entgegnung von *J. Brodersen*: Über den Bau der Thymocyten und eine neue histologische Methode. Z. mikrosk.-anat. Forschg **22**, H. 1/3 (1930) und auf die Arbeit von *Seemann, G.*: Zur Frage der Natur der Thymusrindenzellen auf Grund vergleichender Plastosomenuntersuchungen. Z. Zellforschg **11**, H. 3/4 (1930).

einen Strahl derselben Kochsalzlösung in ein Glasschälchen gespült und nun mit einigen Tropfen einer 2%igen Osmiumtetroxydlösung versehen“. Ebenso ist nicht die Menge des Neuviktoriagrüns, das *Brodersen* zur Methylgrün-Pyroninlösung hinzufügt, angegeben; er ratet nämlich so viel dieses Farbstoffes zu nehmen, „daß die Lösung nun blauviolett aussieht“; da die Methylgrün-Pyroninlösung auch ohne Zusatz von Neuviktoriagrün eine violette Farbe besitzt, so kann die hinzugefügte Menge des letzten Farbstoffes sehr bedeutenden Schwankungen, abhängig von der Sehkraftseigentümlichkeit des Beobachters unterliegen. Es ist auch nicht klar, weshalb der Verfasser den Thymusbrei, in dem die Thymuszellen großenteils isoliert wurden, in Gelatine einbettet und nachher die Gefrierschnitte untersucht — es besteht immer der Verdacht, trotz der Versicherungen des Verfassers, daß die Gelatine sich stellenweise mitfärben kann. Auf den Thymusschnitten, wo die Bestandteile so dicht vollgestopft sind, ist es sehr schwer einzelne Teile genau zu untersuchen.

Da in der Arbeit von *Brodersen* genaue Vorschriften nicht angegeben wurden, so hat die Firma G. Grübler in Leipzig auf meine Bitte, mir eine Flasche der Methylgrün-Pyronin-Neuviktoriagrünlösung nach der Vorschrift *Brodersens* in liebenswürdiger Weise übersandt. Da wir gesehen haben, daß *Brodersen* die Thymocyten in Osmiumlösung fixierte, so machte ich folgenden Versuch, nämlich ich vermischte auf dem Objektträger etwas Thymusbrei in einigen Tropfen 1%iger Osmiumsäurelösung, wartete (nach *Brodersens* Vorschrift) 10 Min. ab, und fügte darauf einige Tropfen *Brodersens* Farblösung zu: es hat sich dabei herausgestellt, daß die Osmiumsäurelösung gar nicht die sehr gute Färbung der Thymuskern- und -zellen hindert; ebensolche Probe habe ich auch mit der *Löfflerschen* Methylenblaulösung ausgeführt und in beiden Fällen massenhafte Thymuskern- und -zellen, besonders kleine Formen, ohne Protoplasma gesehen.

Auf den Abbildungen von *Brodersen* lenkt der Thymocytenbau die Aufmerksamkeit auf sich, nämlich das sich blaufärbende Chromatin tritt als eine sehr feinkörnige Masse hervor, nur 3 Zellen enthalten in der Mitte des Kernes eine nichtkörnige Chromatinzusammenhäufung. Welchen Bau der Thymuskern im lebenden Zustande hat, ist uns natürlich unbekannt, jedoch die supravitale Färbung zeigt einen ganz anderen Bau und nämlich solchen, wie es auf Abb. 1 meiner ersten Arbeit<sup>1</sup> dargestellt wurde. Dieser Bau ist fast ganz gleich dem Thymocytenkernbau in einem kleinen regelrecht fixierten in starker *Flemmingscher* Lösung und in Paraffin eingebetteten Thymusstückchen. Eine Gruppe solcher Thymuskern- und einen Thymocyt aus dem Paraffinschnitte mit Eisenhämatoxylin gefärbt stelle ich auf Abb. 1 dar.

<sup>1</sup> Z. mikrosk.-anat. Forschg 20, H. 1/2.

Die *Flemmingsche* Fixierung, die man ganz richtig als klassische betrachtet und die im Laufe von einigen Jahrzehnten ausprobt wurde, hat in diesem Falle eine sehr günstige und wichtige Seite, daß nicht nur der Kern, sondern auch das Protoplasma sich vorzüglich fixieren läßt, dabei sind im Falle, wenn die Zellen dicht aneinander liegen, die

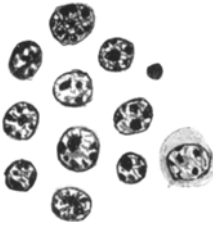


Abb. 1.

Grenzen derselben deutlich zu sehen, z. B. in der Leber treten diese Grenzen sehr scharf hervor; andere Fixierungsmittel machen dieselben nicht so gut sichtbar. Deshalb ist bei *Flemmingscher* Fixierung das Protoplasma auch ohne Nachfärbung, z. B. mit Lichtgrün ev. Ac. picr. gut zu erkennen. Die auf den Abbildungen von *Brodersen* dargestellten Thymocytenkerne sind infolge ungenügender Fixierung verschwommen; es ist recht auffallend, daß in allen von so

verschiedenen Organen herkommenden und auf der *Brodersenschen* Tafel dargestellten Zellen der Kernbau immer derselbe, nämlich feinkörnig ist; selbstverständlich meine ich hier das Chromatin ohne die in demselben liegenden kleinen Nucleolen. *Brodersen* spricht in seiner Arbeit gar nicht von den kleinen, 2—3mal kleineren kleinsten Thymonuclei, pyknotischen Kernen, die man nicht selten im Thymus trifft, ob sie auch Protoplasma besitzen.

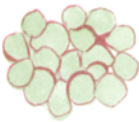


Abb. 2.

Nicht alles, was neben dem Kerne liegt und sich färbt, kann als Protoplasma angesehen werden. Was Thymus betrifft, so ist es bekannt, daß zwischen den Zellen sich ein sehr dichtes Netz von Gitterfasern befindet; auf Abb. 2 stellte ich einen kleinen Teil des nach *Maresch* gefärbten Thymusschnittes vor; es sind hier dünne zwischen den Thymuselementen durchlaufende

Fäden zu sehen; wie bekannt, färben sich mit dieser Methode auch verschiedene Granula.

Auf S. 740 seiner Arbeit schreibt *Seemann*: „In den nach *Altmann-Schridde* gefärbten Klatschpräparaten von Thymus und Lymphknoten konnten, wenn auch nicht so deutlich wie bei Supravitalfärbung und in Schnitten, dieselben Plastosomenbilder beobachtet werden. Wertvoll sind dagegen die mit *May-Grünwald-Giemsa* gefärbten Klatschpräparate, wo man die feinere Cytologie der Thymusrindenzellen studieren und sie mit der der Lymphocyten vergleichen kann; es zeigen sich keine Unterschiede; insbesondere muß, entgegen den Angaben von *Komocki* und anderen über „nackte Kerne“ betont werden, daß die Thymusrindenzellen einen deutlichen basophilen Protoplasmasaum besitzen. Ebenso wenig habe ich mich von der angeblich lockeren Beschaffenheit des Kernchromatins bei Thymusrindenzellen (*Komocki, Schridde*) überzeugen

können.“ Aus diesen Worten sieht man, daß der Verfasser die Tupf- und Ausstrichpräparate für die feinere Cytologie der Thymusrindenzellen sehr hoch schätzt. Auch ich schätze sie sehr hoch, was mehrmals in meinen hämatologischen Arbeiten und neulich in einem Aufsatz <sup>1</sup> betont wurde. Diese Methode aber, welche bei den Blut- und Knochenmarkuntersuchungen, wie bekannt, vorzügliche Ergebnisse hat und zur Zeit fast unersetzbar ist, versagt beinahe völlig bei Thymus aus vorläufig schwer erklärlichen Gründen. Nicht nur gewöhnliche, nach *Ehrlich* getrocknete Tupfpräparate, sondern auch feuchte, nach *Malassez-Weidenreich* in Osmiumsäuredämpfen fixierte sind für die mikroskopische Untersuchung fast unbrauchbar, denn der Bau aller Kerne ist ganz verschwommen; ich habe diese Untersuchungsmethode mehrmals versucht, aber schließlich gänzlich aufgegeben und in meiner vorherigen Arbeit gar nicht erwähnt.

Diese Tupfpräparate sind aber in gewisser Hinsicht lehrreich, da auf einigen Stellen derselben die Elemente sehr stark mechanisch auseinandergerückt sind, die Gitterfasern dabei zerfallen zu noch feineren Fädchen, welche als dünnere und breitere verfilzte Stränge zwischen den Kernen und Zellen verlaufen. Da diese Fäden stellenweise aus Körnchen zusammengesetzt sind, so wurden sie als körnchen- und stäbchenförmige Plastosomen von *Seemann* beschrieben. Auf Abb. 3 (auf welcher ein Thymocyt mit Protoplasma zu sehen ist) bemerkt man, daß diese verfilzte Stränge nur an einigen Stellen der Peripherie des Kernes grenzen; manchmal sogar sieht man um die ganze Kernperipherie nur leere Spalten. Solche Präparate zeigen auch, warum wir im supravitalgefärbten Zupfpräparate an gewissen Kernperipheriestellen manchmal kleine Fetzchen wahrnehmen. Zu *Seemanns* Arbeit sind 6 große schwarze Abbildungen beigelegt, aber, wie es gewöhnlich mit solchen Abbildungen vorkommt, ist es schwer, etwas daraus herauszufinden; es wäre viel besser, wenn der Leser es mit einer, wenn auch sehr kleinen, aber farbigen Abbildung zu tun hätte und verstehen könnte, was der Verfasser wirklich unter dem Mikroskop gesehen hat.

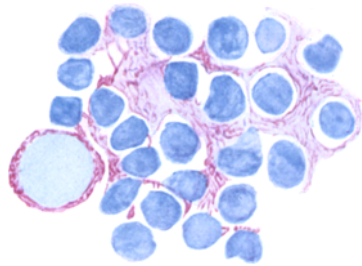


Abb. 3.

Wenn *Seemann* auf S. 739 schreibt: „Die Angabe von einigen Autoren (*Komocki*) über nackte Kerne bzw. einen besonders schmalen Protoplasmasaum bei Thymuszellen im Gegensatz zu Lymphocyten habe ich nicht bestätigen können“, so ist solche Meinung sehr auffallend; meiner Meinung nach müssen alle diejenigen, welche vermuten, daß alle

<sup>1</sup> Anat. Anz. 70, Nr 6/7 (1930).

Thymocyten mit Protoplasma umgeben sind, doch zugeben, daß die Lymphocyten im allgemeinen viel mehr Protoplasma besitzen.

Betreffs der Behauptung von *Seemann*, daß der Thymocytenkernbau sich gar nicht von dem des Lymphocyten unterscheidet, muß ich nochmals betonen, daß zwischen den Lymphocyten sehr oft so stark pyknotische Formen zu treffen sind, wo eine Struktur überhaupt nicht zu unterscheiden ist; solche Formen sind im Thymus fast niemals zu sehen. Überhaupt besitzen die Lymphocytenkerne viel mehr kompakte Chromatinsubstanz, als es bei den Thymocyten der Fall ist.

Auf S. 740 behauptet *Seemann*, daß er manchmal im Thymus sehr reichliche Schollen traf; aus den in Klammern beigefügten „tingible Körperchen, Kernzerfallsprodukte“ muß man vermuten, daß der Verfasser diese Gebilde als zerfallende Kerne betrachtet; jedoch haben wir zur Bestätigung dieser Vermutung keine Beweise. *Dustin* meint, daß alle Thymocyten endlich einer Pyknose unterliegen; andererseits ist, meiner Meinung nach, nicht ausgeschlossen, daß der Prozeß in umgekehrter Richtung vor sich gehen kann.

Diese Gebilde werden manchmal als Körner bezeichnet, aber es ist aus diesem nämlichen Grunde nicht richtig, da sie am häufigsten nicht sehr klein, sondern, wie ich es schon vermerkte und auf den Abbildungen darstellte, 2—3mal im Durchmesser kleiner, als die kleinsten Thymocytenkerne und deshalb ganz zugänglich für genaue mikroskopische Untersuchung bei den heutigen optischen Mitteln sind. Bei der Supravitaluntersuchung haben sie am häufigsten eine runde oder ovale Form und sind stark pyknotisch. Man muß auch vermerken, daß die Thymonuclei einen ziemlich bedeutenden Unterschied betreffs ihrer Größe aufweisen, dabei besitzen die kleinen Formen eine etwas mehr kompakte, die größeren wieder mehr gelockerte Chromatinsubstanz.

Ich möchte am Ende vermerken, daß ich in meiner Arbeit noch einen Verfasser, nämlich *Jolly*<sup>1</sup> welcher auch von der Anwesenheit des Protoplasmas bei den Thymocyten nicht überzeugt ist, anzuführen versäumt habe. Auch geben *Stefko und Kolesnikowa* in ihrer Arbeit über „Thymom“<sup>2</sup> auf S. 165 an, daß bei kleinen Rundzellen das Protoplasma fast vollkommen fehlt.

Die Abbildungen wurden bei Ok. 2 und 4 Obj. Hom. Im.  $\frac{1}{12}$  *Reichert* ausgeführt.

<sup>1</sup> *Jolly*: *Traité technique d'hématologie*, S. 810. 1923.

<sup>2</sup> *Z. Krebsforschg* 31 (1930).