

Aus dem Pathologischen Universitätsinstitut Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. C. KRAUSPE).

Über den Zellstoffwechsel in der Milz nach Sensibilisierung.

Von

JÜRGEN MEYER-ARENDT.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1951.)

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Reaktion der Milz der weißen Maus auf die Zufuhr artfremden Eiweißes und insbesondere mit den Stoffwechselstörungen, die sich dabei an bestimmten Zellen und Zellkernen abspielen und die schließlich in die Bildung spezifischer Antikörper ausmünden.

Je nach dem Antigen oder der Art seiner Applikation, je nach dem Ernährungszustand der Tiere und vielen weiteren Faktoren ließen sich nun die pathologischen Erscheinungen in mannigfaltiger Weise variieren. Anstatt diese Details an jedem einzelnen Versuchstier ausführlich zu schildern, soll hier nur versucht werden, die Stoffwechselstörungen in den in Frage kommenden Zellen in einigen großen Gruppen zu behandeln, und zwar unter dem Gesichtswinkel der *allgemeinen Pathologie* des Antigen-Antikörpersgeschehens.

Die Arbeit gliedert sich in folgende Abschnitte: 1. Histologische und histochemische Untersuchungen (S. 379), 2. Untersuchungen im ultravioletten Licht¹ (S. 385), 3. Elektrophorese-Untersuchungen (S. 389), 4. Schlußfolgerungen (S. 391).

Für die Tierversuche dienten 111 gesunde weiße Mäuse von durchschnittlich 20 g Gewicht, die, außer den Kontrollen, nach einem schon früher benutzten Schema mit Normal-Schweineserum behandelt wurden. Sie erhielten am 1. Tag 1 cm³, an allen folgenden Tagen je 0,5 cm³ Serum und wurden jeweils am Tage nach der letzten Injektion getötet. Folgende Gruppen kamen so zustande:

	Injektion			
	1.	2.	3.	4.
Kontrollen	—			
I	1,0			
II	1,0	0,5		
III	1,0	0,5	0,5	
IV	1,0	0,5	0,5	0,5

Diese 5 Gruppen von Tieren genügten im allgemeinen. Es hatte sich gezeigt, daß man bei einer Sensibilisierung nach diesem Schema mit ausgeprägten, schlag-

¹ Dieser Teil der vorliegenden Arbeit wurde erst ermöglicht durch eine Zuwendung, die der Verfasser vom Forschungsrat der deutschen Wissenschaft über die Behörde für Wirtschaft und Verkehr der Hansestadt Hamburg erhalten hat.

artig einsetzenden und gleichbleibend reproduzierbaren Zellveränderungen rechnen kann. Außerdem wurden andere Mäuse nach der 1., 2., 3. und 4. Injektion noch längere Zeit beobachtet und nach verschiedenen Intervallen, in denen sie ohne weitere Injektionen blieben, getötet und histologisch untersucht.

Histologische Technik. Fixierung der Milz und teilweise auch anderer Organe in Sublimat-Alkohol, Sublimat-Eisessig, Champy-, Carnoy-, Bouin- und Maximow-Gemisch. Paraffinschnitte wurden auf die gebräuchliche Weise mit H.E., Feulgen-Reagens, Methylgrün-Pyronin, Giemsa-Lösung, Azan, Pikrothiazin-Elastin, Peroxydase-Reagens nach LÖHLE und mit polychromem Methylenblau gefärbt. Lediglich zur Fixierung ist zu bemerken, daß sich bei der Feulgen-Reaktion und auch bei der H.E.-Färbung ein Gemisch aus gesättigter wäßriger Sublimatlösung und absolutem Alkohol 1:1 (nach GLICK) am besten bewährt hat. Für die Giemsa- und die Methylgrün-Pyronin-Färbung war eine Mischung aus 6%iger Sublimatlösung und Eisessig 50:1 sehr geeignet. Für die Untersuchung im ultravioletten Licht wurden Ausstriche aus der Milz in Lanthanacetat-haltiger 50%iger Essigsäure fixiert.

Das Bild der gesunden Milz der weißen Maus ist durch kompakte und von der Pulpaa gut abgegrenzte Follikel gekennzeichnet, die etwa $\frac{1}{3}$ der Schnittfläche einnehmen und gelegentlich eine etwas hyperämische perifollikuläre Zone aufweisen. Im Interstitium findet man gleichviel Reticulumzellen und kleinere Lymphocyten. Diese Lymphocyten besitzen reichliches, ausgedehntes Chromatinmaterial und nur wenig Cytoplasma. Gelegentlich sieht man einige reife Plasmazellen und Mastzellen, ebenso Megakaryocyten.

Die Milzveränderungen nach ein- oder mehrfacher Injektion von Schweineserum sind — in Einklang mit den Befunden von EHRICH und Mitarbeitern, APITZ, DOUGHERTY und Mitarbeitern, SIEGMUND, KEUNING und VAN DER SLIKKE, WHITE, v. ALBERTINI u. v. a. — kurz zusammengefaßt folgende:

In der Gruppe I ($1,0 \text{ cm}^3$ Serum tags zuvor) zeigen sich keine deutlichen Unterschiede gegenüber den Kontrollen.

Nach zwei Seruminktionen (Gruppe II) erscheinen die Follikel größer und etwas unschärfer begrenzt. Die Hyperämie ringsum nimmt zu. Einige blasse Zellen mit großen chromatinarmen Kernen innerhalb der Follikel sind geschwollen und aufgetrieben. Lymphoide und Reticulumzellen sieht man zu diesem Zeitpunkt in der Pulpaa annähernd gleichviel.

Der wesentliche Befund, dem diese Untersuchungen vor allem gelten, erscheint erst bei den Versuchstieren der Gruppe III. Diese Mäuse erhielten 3 Injektionen Schweineserum in 24-Std-Abständen und wurden am Tag nach der 3. Injektion getötet. Die Milz ist bei ihnen auffällig geschwollen, ihre Kapsel prall gespannt, reichliche Hyperämie herrscht in den Sinus und in den großen Gefäßen.

Histologisch findet man zunächst eine Hyperplasie der Follikel mit Beteiligung der Reticulumzellen, die oft bis in die perifollikuläre Pulpaa hineinreicht. Dem Follikelzentrum sitzen häufig, bei Giemsa-Färbung

etwas dunklere, Zellelemente auf, zwischen denen Plasmazellen und auch unbeteiligte Reticulumzellen liegen können. In der Pulpa sieht man inmitten von geschwollenen Sinusendothelien und locker verteilten Lymphocyten zahlreiche, über die ganze rote Pulpa diffus verteilte und besonders unter der Milzkapsel angehäufte Herde von mittelkleinen basophilen runden Zellen, zuweilen mit Kernteilungsfiguren. Diese basophilen Zellen, die bei H.-E.-Färbung tiefdunkel blauschwarz gefärbt werden, sind nun etwas sehr Charakteristisches (Abb. 1). Sie werden nach

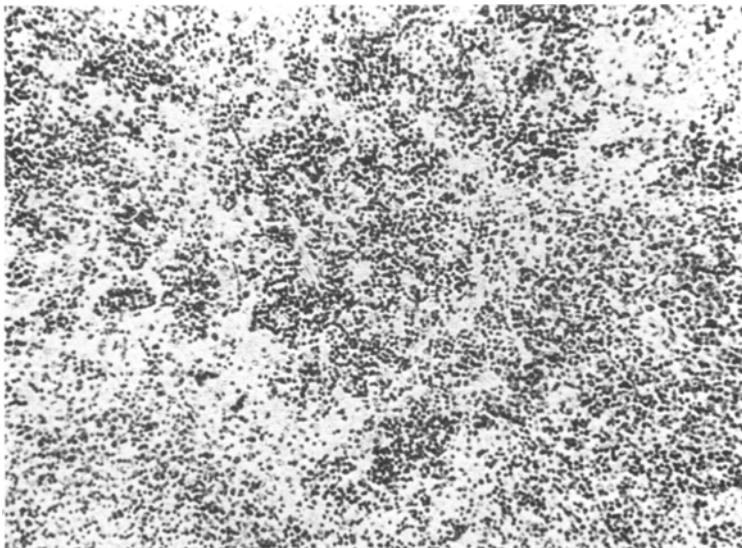


Abb. 1. Sog. basophile Zellen in der roten Pulpa der Milz. Hämatoxylin-Eosin.
Vergrößerung: 86fach.

der Zufuhr der verschiedenartigsten Antigene in regelmäßiger zeitlicher Konstanz immer wieder in typischer Form beobachtet. Nicht in der Beschreibung, sondern in der Interpretation gehen allerdings die Meinungen der Untersucher auseinander.

Wenn man diese Zellen zunächst histologisch und histochemisch charakterisieren soll, dann ist der kurzen prägnanten Beschreibung von APITZ 1933 kaum etwas hinzuzufügen: Ihr Cytoplasma färbt sich mit Methylgrün-Pyronin dunkelrot, es enthält reichlich Ribonucleinsäure; die Malachitgrün-Acridinrot-Färbung nach HITCHCOOK und EHRICH ergibt ein analoges Resultat. Der länglich-ovale Kern besitzt eine deutliche und dunkle, meist nur schmale Kernmembran; seine Größe liegt zwischen der der Kerne von Lymphocyten und den sog. Lymphoblasten (= großen Lymphocyten). Neben dem Kern liegt gelegentlich eine kleine Vacuole im Cytoplasma (vgl. dazu KABELITZ). Das Chromatin

des Kerns färbt sich intensiv mit Methylgrün und enthält reichlich Desoxyribonucleinsäure. Der Nucleolus erscheint ziemlich fein und scharf abgesetzt, etwas kräftiger als beim Reticulocyten. Neben diesen Zellen findet man nach APITZ sowohl die Reticulumzellen wie auch die Sinusendothelien der Milz unbeteiligt liegen.

Die beschriebenen Zellen werden, wie erwähnt, unterschiedlich benannt:

A. Plasmazellen. a) *Reife Plasmazellen* sind nach EHRICH 1929 der Hauptbestandteil der neugebildeten Elemente; die gleiche Ansicht vertreten BING und PLUM 1937, UNDRITZ 1938 und vor allem BJØRNEBOE und Mitarbeiter 1943, 1947.

b) Um vornehmlich *unreife Plasmazellen* handelt es sich nach BING-FAGRAEUS-THORELL 1945, FAGRAEUS 1946—1948, nach EHRICH und Mitarbeitern 1949 und nach KEUNING und VAN DER SLIKKE 1950. Die unreifen Plasmazellen proliferieren danach innerhalb der ersten 4 Tage, parallel damit steigt der Antikörpertiter im Blut; die reifen Zellformen indessen erreichen erst am 4.—6. Tag ein Maximum.

B. Lymphoide Zellen. Diese Bezeichnung ist vor allem in USA. verbreitet, besagt aber nur, daß die beschriebenen Zellen Lymphocyten ähnlich sehen. Hier sind Arbeiten zu nennen von McMMASTER und HUDACK 1935, RICH-LEWIS-WINTROBE 1939, DOUGHERTY und Mitarbeitern 1944 und 1947, HARRIS und Mitarbeitern 1945—1949, ältere Arbeiten von EHRICH und Mitarbeitern 1931, 1942, 1945/46, KASS 1945, WHITE und DOUGHERTY 1945 und von MCNEIL 1948.

Aus den Anhäufungen dieser Zellen wurden die höchsten Antikörpertiter erhalten, so z. B. KEUNING und VAN DER SLIKKE aus der roten Pulpa der Milz, HARRIS und HARRIS 1949 sowie OAKLEY-WARRACK-BATTY 1949 und 1951 aus den regionären Lymphknoten und aus dem lokalen Granulom in der Haut. Daß in der Lymphe zunächst keine Antikörper enthalten sind, wurde von VALENTINE-CRADDOCK-LAWRENCE 1948 und von SCHWEIZER und REBER 1950 am Ductus thoracicus nachgewiesen. — Besonders wesentlich erscheint hier der Hinweis von MCNEIL, der die unreifen basophilen Lymphocyten den Plasmazellen praktisch gleichsetzt.

C. Reticuloendothel. Sicher dürfte sein, daß die Zellen des reticuloendothelialen Systems das Antigen aufnehmen und assimilieren. Daß sie außerdem das Antigen in den Antikörper gewissermaßen transformieren und damit unmittelbar Antikörper bilden, vermuteten METSCHNIKOFF 1884, GAY und CLARK 1924, JUNGEBLUT und BERLOT 1926, ROBERTS 1929, CANNON und Mitarbeiter 1929 und 1945, HELLMAN und WHITE 1930, SABIN 1939, HARTLEY 1940, BUENO 1947 und EVERETT (zitierend) 1948. Es ist aber wohl, auch nach HILL-DEANE-COONS 1950, anzunehmen, daß die großen Makrophagen der Milz, besonders in der Follikelrandzone, ausschließlich resorbieren.

Die zweite Frage ist, inwieweit das Reticuloendothel einen Ausgangspunkt für andere, Antikörper bildende Zellen darstellt. Das nahm EHRICH 1931 für die Lymphocyten an, BING-CHRISTENSEN 1944 und FAGRAEUS 1948 für die Plasmazellen, für beide Zellformen DOUGHERTY und GORMSEN 1947, SUNDBERG 1947, BIANCHI 1948, KEUNING und VAN DER SLIKKE 1950 und andere. Einige machen allerdings nicht das RES selbst zum Ausgangspunkt, sondern eine weniger differenzierte Art von Zellen und berühren sich damit wieder eng mit der Ansicht von APITZ. Dieser hatte das eigentliche Reticuloendothel unbeteiligt

zwischen den gewucherten Zellelementen gefunden und auch von Abkömmlingen primitiver mesenchymaler Zellen gesprochen.

Dazu nimmt der Verfasser folgenden Standpunkt ein: Tatsächlich sind zahlreiche Reticuloendothelien geschwollen. Im Feulgen-Präparat sieht man aber, daß diesen reticuloendothelialen Zellen nicht die charakteristischen Veränderungen des perinucleären Chromatins zu eigen sind, die für eine erhöhte Funktion, im engeren Sinne: für eine erhöhte Produktion von cytoplasmatischen Eiweißkörpern sprechen würden. Damit gewinnt trotz des äußeren Eindrucks die Ansicht von APRITZ an Wahrscheinlichkeit, daß diese Zellen des RES an sich relativ unbeteiligt sind.

An diesem Ort muß auch Stellung genommen werden zu dem viel benutzten Begriff der „Aktivierung des Reticuloendothels“. Wenn Aktivierung bedeuten soll: gestaltlicher Ausdruck für irgendwelche, das physiologische Maß übersteigende Vorgänge des Zellstoffwechsels, dann entspricht das in dieser weiteren Fassung wahrscheinlich dem heute Bekannten. Wenn man unter „Aktivierung“ aber eine Stimulation von der Art verstehen soll, daß die Zelle fähig wird oder ist, aktiv und produzierend im eigentlichen Sinne an den Leistungen eines ganzen Zellverbandes teilzuhaben, dann erscheint das dem Verfasser zumindest unbewiesen.

D. Acute splenic tumor cells nennen schließlich einige amerikanische Forscher diese Zellen, ohne irgendetwas vorwegzunehmen.

Neben der histologischen Untersuchung wurde nun zunächst histochemisch die Desoxyribonucleinsäure mit dem von FEULGEN und ROSENBECK angegebenen Reagens nachgewiesen. Dabei sieht man folgendes: Die Zellen mit bei H.-E. tiefblauem Cytoplasma treten durch intensive feulgenpositive, violette Färbung ihres Zellkerns sehr charakteristisch hervor. Das Chromatin ist meist peripher, unter der Kernmembran, in kompaktem Saum angeordnet, während im Zentrum oft mehrere, sehr kleine, meist kreisrunde Partien weniger intensiv rötlich gefärbt sind. In der so zustande kommenden wabigen Struktur erscheinen die kompakten Stränge zwischen den Waben viel massiver als die feulgen-negativen Löcher innerhalb der Waben, ganz im Gegensatz zu den unten zu besprechenden Reticulumzellen. Diese Textur kann gelegentlich radspeichenartig, wie bei einer reifen Plasmazelle, aussehen. Wenn auch die meisten der feulgen-negativen Waben kreisrund und relativ klein sind, so sieht man doch manchmal, offenbar nur bei geeigneter Lage der Zelle, eine einzelne feulgen-negative Blase besonders deutlich hervortreten. Sie erscheint dann mit einem sehr charakteristischen, derben Ring umgeben (Abb. 2). Dieser Ring besteht aus feulgenpositivem desoxyribonucleinsäurehaltigem Chromatin, das Innere entspricht dem ribonucleinsäurehaltigen Nucleolus. Das Cytoplasma dieser Zellen bleibt

bei der Feulgen-Reaktion stets ungefärbt; es enthält, wie noch bei den Absorptionsverhältnissen im ultravioletten Licht besprochen wird, ebenfalls reichlich Ribonucleinsäure.

An zweiter Stelle können die ebenso charakteristischen Reticulumzellen genannt werden. Sie enthalten einen etwas rundlich aufgeblasenen Kern, den man versucht ist, als geschwollen zu bezeichnen. Im Gegensatz zu den basophilen Zellen sieht man aber nur sehr spärliche feulgen-

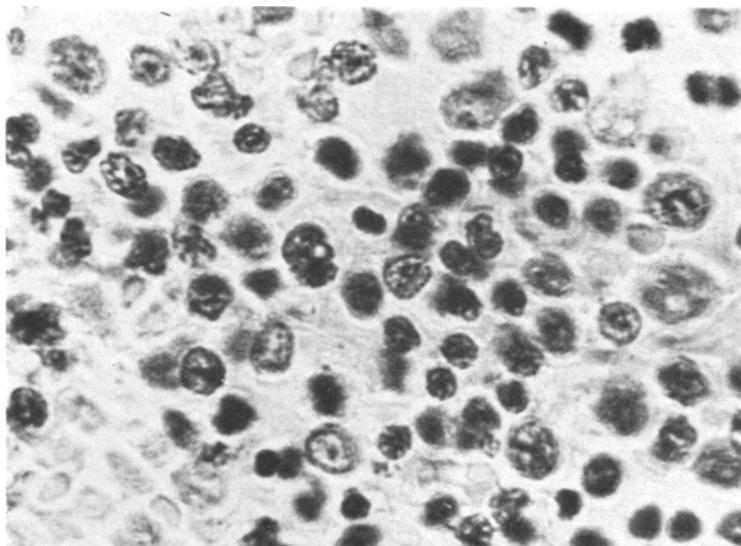


Abb. 2. Feulgenpositiver perinucleolärer Ring. Basophile Zellen in der roten Pula, nach dreimaliger Injektion von Schweineserum. Sublimat-Alkoholfixierung. Feulgen-Reaktion. Trichromfilter. Vergrößerung: 970fach.

positive Substanz, die, meist unzusammenhängend, dicht unter der Kernmembran und zum Teil auch im Innern des Zellkerns gelegen und gelegentlich durch feine Chromatinbrücken untereinander verbunden ist. Auch hier erscheint eine feine netzige Struktur, aber mit viel weiteren feulgennegativen Maschen als bei den oben beschriebenen basophilen Zellen. Diese Maschen sind so weit und unregelmäßig gestaltet, daß man sie nicht für die Negative nur von Nucleolen halten möchte. Auch findet man um die Maschen herum keine regelmäßigen Verdichtungen von feulgenfärbbarer Substanz. Man könnte also annehmen, daß *nicht* der gesamte feulgennegative Raum innerhalb des Reticulumzellkerns von Nucleolen eingenommen ist, sondern daß Nucleoli viel spärlicher als bei den basophilen Zellen vertreten sind. Es kommt hinzu, daß die Nucleoli in den Reticulumzellen nicht den für eine erhöhte Funktion sprechenden perinucleolären Ring erkennen lassen.

Schließlich sieht man im Feulgen-Präparat noch gänzlich ungefärbte Erythrocyten, wie es dem üblichen Befund entspricht.

Nach Ansicht verschiedener Untersucher geschieht die eigentliche Antikörperbildung in mehreren Phasen:

1. In der ersten Phase beginnt das Cytoplasma ausgesprochen basophil zu werden. Basophilie spricht generell für Reichtum an Ribonucleotiden; sie tritt im diskutierten Fall dann auf, wenn mesenchymale Zellen von einem Reiz, Antikörper zu bilden, getroffen werden. Die als erste erscheinenden basophilen Zellen, die zunächst noch keine Antikörper bilden können, werden von A. FAGRAEUS 1948 transitional cells genannt und von ihr von den Reticulumzellen, von APITZ 1933 von undifferenzierten Mesenchymzellen abgeleitet. Neben dem reichen Gehalt des Cytoplasmas an Ribonucleinsäure ist für dieses Stadium nach BING-FAGRAEUS-THORELL 1945, OLHAGEN-THORELL-WISING 1949, HARRIS und HARRIS 1949 und nach PETRONELLI 1949 ein großer, ribosenucleotidhaltiger Nucleolus kennzeichnend (s. auch WHITE 1947 und GöSSNER 1949). Den gleichen Befund kann der Verfasser im ultravioletten Licht erheben.

2. In der 2. Phase erreicht die Eiweißproduktion der Zelle mit der Bildung der spezifischen Antikörper einen ersten Höhepunkt. Außerdem wandelt sich mit fortschreitender Differenzierung ihre äußere Form: aus der transitional cell von FAGRAEUS wird die von vielen Beobachtern sog. unreife Plasmazelle mit etwas kleinerem Nucleolus und mit ange deuteter Exzentrizität und Radspeichenstruktur des Kerns. In dieser Phase werden reichlich und stetig Antikörper gebildet. Elektrophoresebefunde s. S. 390. Der grundsätzliche Unterschied zwischen diesen Antikörper produzierenden Zellen und den eigentlichen unreifen Plasmazellen im engeren Sinn (bei der typischen Plasmocytogenese) ist nach BING-FAGRAEUS-THORELL der, daß die hohe Ribonucleinsäurekonzentration im Cytoplasma über längere Zeit als bei der unreifen Plasmazelle erhalten bleibt. Dieser reiche Gehalt an Nucleinsäure kann mit der Ultraviolettabsorption bei etwa 2600 Å bestimmt werden und läßt den Schluß zu, daß die Zellen dieser Phase jetzt nicht länger wachsen, sondern eben Antikörper bilden. UV-mikroskopische Befunde s. S. 388.

3. Bei weiterer Reifung nimmt die Basophilie des Cytoplasmas nach EHRICH-DRABKIN-FORMAN und nach OLHAGEN-THORELL-WISING schließlich wieder ab. Das ist etwa vom 6. Tag nach der ersten Serum einspritzung an der Fall. Die basophilen Pulpazellen werden langsam weniger und wandeln sich in reife Plasmazellen vom sog. Marschalko-Typ um; gleichzeitig verschwinden die serologisch und elektrophoretisch bestimmten Antikörper im Gewebeextrakt. Noch später treten die typischen Plasmazellen allmählich hinter blassen, cytoplasmareichen, oft epitheloidzellig beieinanderliegenden Reticulumzellen oder anderen

mesenchymalen Elementen zurück; Mastzellen sieht man ganz vereinzelt.

Man kann also vermuten, daß diese basophilen Zellen eine Schlüsselstellung im Ablauf der Sensibilisierung einnehmen. Welcher Art sie ist, das darf nach den Ausführungen über die Antikörperbildung naheliegen und soll hier weiter untersucht werden.

Bekanntlich ist die Proteinsynthese eine Funktion der Nucleinsäuren. Nach CASPERSSON ist die Chromosomenteilung gekoppelt an Desoxyribonucleinsäure und die Bildung von Cytoplasmaeiweiß an Ribonucleinsäure. Der cytoplasmatische Nucleinsäurestoffwechsel weiterhin wird vom Zellkern bzw. vom Nucleolus gesteuert. Was nun die morphologischen Kernveränderungen bei einer Stoffabgabe der Zelle betrifft, so kann zunächst auf die Arbeiten von THORELL verwiesen werden. Nach THORELL 1945, BING-FAGRAEUS-THORELL 1945 und nach OLHAGEN-THORELL-WISING 1949 dürfen (nach Untersuchungen an Lymphocyten, Plasmazellen und an Zellen des multiplen Myeloms) für den Kernstoffwechsel folgende allgemeinere Charakteristica genannt werden:

1. Bei regem Nucleinsäurestoffwechsel findet sich im Zellkern bei UV-Licht von 2600 Å eine ausgedehnte zentrale und teilweise bis in die Peripherie reichende absorbierende Zone (Abb. 4). Bei der Feulgen-Reaktion läßt sich desoxyribosehaltige Nuclearsubstanz erkennen, die meist in kleineren Brocken oder diffus verteilt liegt. Die Nucleoli sind voll entwickelt und enthalten reichlich Ribosepolynucleotide. Sie bleiben bei der Feulgen-Färbung deutlich ausgespart und umgeben sich mit einem sehr charakteristischen Ring von feulgenfärbbarer Desoxyribonucleinsäure (Abb. 2). Diese Kernveränderungen finden sich z. B. auch bei den stärker Antikörper produzierenden basophilen Zellen der Milz und wurden oben genauer beschrieben.

2. Bei Zellen mit darniederliegendem Nucleinsäurestoffwechsel andererseits absorbiert nur ein umschriebenes, kompaktes, kleines Zentrum innerhalb des Kerns 2600 Å-UV-Licht. Durch die Feulgen-Färbung wird reichlich desoxyribosehaltiges Chromatin im Kern nachgewiesen, das in Form dichter, großer, zentral liegender Massen und einer ausgeprägten, chromatinreichen Kernmembran vorhanden ist. Nucleoli treten demgegenüber höchstens als kleine Aussparungen in Erscheinung und zeigen nicht den oben genannten perinucleolären Ring.

Ganz analog dazu fanden CUSMANO sowie BARIGOZZI und DELLEPIANE 1951 an Uteruscarcinomzellen bei Azocarminfärbung, daß die proliferierenden Zellen (mit häufigen Mitosen) dichte Chromatinbrocken enthielten, während große flächige Nucleoli in den nichtproliferierenden Zellen zu sehen waren.

In seiner 1950 erschienenen Monographie über Wachstum und Funktion der Zelle kommt CASPERSSON zu folgendem Schema:

Die Nucleinsäuren steuern die Eiweißsynthese, und zwar sowohl im Zellkern wie auch im Cytoplasma. Der Nucleinsäurestoffwechsel seinerseits wird vom perinucleolären Chromatin gesteuert. Diesem darf man das sog. Heterochromatin gleichsetzen. Die Desoxyribonucleotide sind bei der Reproduktion der Gen-Eiweiße in den Chromosomen von ausschlaggebender Bedeutung. Für die Bildung von Eiweiß im Cytoplasma andererseits gilt das gleiche von den Ribosepolynucleotiden. Zellen, die intensiv cytoplasmatische Eiweißkörper synthetisieren, bieten nach CASPERSSON 1950 demnach im Prinzip folgenden Aufbau dar:

Das primäre Agens ist das perinucleolare Chromatin. Diese (feulgenpositive) Substanz liegt teils als vollständiger Ring, teils nur als kleinere Kappe dem Nucleolus an; sie enthält reichlich Desoxyribonucleinsäure, diaminosäurereiche Eiweiße und geringe Mengen von Ribonucleotiden. Das perinucleolare Chromatin ist die führende Instanz und beeinflußt zunächst den Nucleolus. Der Nucleolus bleibt bei der Feulgen-Reaktion ungefärbt; er enthält reichlich Diaminosäuren und, etwas weniger reichlich, Ribonucleotide. Vom Nucleolus abhängig erscheint der Stoffwechsel des eigentlichen Zellkerns, der histochemisch durch seinen Gehalt an Eiweißkörpern und an Desoxyribopolynucleotiden charakterisiert ist. Schließlich induziert der Zellkern (vermittels Diffusion durch die Kernmembran hindurch) die Stoffwechselabläufe im ribonucleinsäurehaltigen Cytoplasma. Im Cytoplasma tritt dann also mit der Synthese neuer Eiweißkörper, z. B. der Antikörper, der endliche funktionale Effekt ein.

Die Untersuchungen von CASPERSSON und seiner Schule stützen sich, wie schon oben aus einigen Literaturhinweisen hervorging, weitgehend auch auf die Befunde im ultravioletten Licht. Diese Technik der mikroskopischen Untersuchung empfahl sich demnach auch bei der vorliegenden Fragestellung, um die oben wiedergegebenen histochemischen Befunde zu ergänzen und um exakttere Aussagen über die Natur und Funktion der beschriebenen basophilen Zellen machen zu können. Die Untersuchung im mittleren und kurzweligen ultravioletten Licht, insbesondere an den Absorptionsmaxima der Nucleinsäuren, erfordert aber einen größeren apparativen Aufwand und ist mit gewissen Schwierigkeiten verbunden, so daß hier zunächst auf die Technik genauer eingegangen sei.

Die mikroskopische Untersuchung im kurzweligen ultravioletten Licht kann prinzipiell mit Quarzmonochromaten oder mit dem Reflexionsmikroskop erfolgen. Das zweitgenannte Verfahren verdient im allgemeinen deswegen den Vorzug, weil bei der spiegeloptischen Abbildung die Absorption kürzerer UV-Wellenlängen durch das Linsenmaterial, die chromatische Abweichung und Focusdifferenz und die Schwierigkeiten bei der Focussierung des Bildes im UV wegfallen. Sphärische Aberration, Astigmatismus und andere Fehler lassen sich bei den (komplizierteren) Spiegelobjektiven durch Kombination mit einem zweiten Spiegel und mit Quarz-Fluoritlinsen ausgleichen (Übersicht darüber bei GREY 1950 und bei MELLORS 1950).

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde eine vom Verfasser angegebene Anordnung mit einem sphärischen Hohlspiegel benutzt

(1951/52), wie sie schematisch Abb. 3 zeigt¹. Bei diesem einfachen Spiegelmikroskop liegt der Hohlspiegel unterhalb der Objektebene. Das reflektierte Lichtbündel kann entweder das Präparat, das zwischen zwei dünnen Quarzplatten eingeschlossen ist, ein zweites Mal passieren, wie es Abb. 3 zeigt, oder das Präparat wird seitlich etwas aus der optischen Achse des Tubus herausgenommen. Dadurch wird das System zwar astigmatisch, gewinnt aber erfahrungsgemäß an Helligkeit. Die Beleuchtung erfolgte mit einem Gerät ähnlich dem Vertikalilluminator nach NACHET.

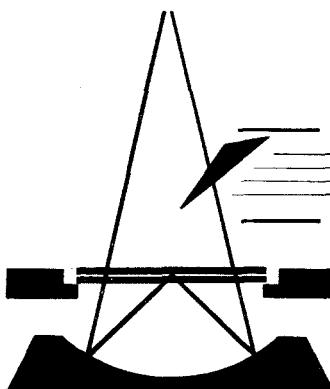


Abb. 3. Sog. einfaches sphärisches Reflexionsobjektiv. Sphärischer, aluminiumbedampfter Hohlspiegel von $r = 14$ mm; volle Öffnung = 13 mm; Bildweite 200 mm; Gegenstandsweite = 7,3 mm; freier Arbeitsabstand etwa 3 mm. Eigenvergrößerung 27fach. Beleuchtung: horizontal verschieblicher Vertikalilluminator nach NACHET. Apertur-Irisblende fortgelassen.

Aus einer Quecksilberdampfhochdrucklampe Osram HQE 42 wurden die in Frage kommenden Linien, zum Teil nach den Angaben der Firma Schott (3660 Å), von BÜCHER und KASPERS (3126 Å, 2800 Å) und von KASHA und dem Taschenbuch von D'ANS und LAX (2537 Å), herausgefiltert. Die einzelnen Filterkombinationen, bei deren Herstellung Herr Dozent Dr. Th. BÜCHER liebenswürdigerweise geholfen hat, waren folgende:

3660 Å: Schottfilter UG 2 2 mm, BG 12 2 mm. (CuSO_4 ist entbehrlich, da das verwendete Filmmaterial für langwelliges Rot und Infrarot nicht empfindlich war. Über die spektrale Empfindlichkeit von verschiedenen Photoschichten kann bei HÖRMANN und SCHOPPER nachgelesen werden.)

3126 Å: NiSO_4 (+ 7 H_2O), 68,0 g in 100 cm³ H_2O (60 mm Quarzküvette). Schottfilter UG 5 3 mm, WG 5 4 mm.

2800 Å: NiSO_4 (+ 7 H_2O), 51,0 g in 100 cm³ H_2O (30 mm Quarzküvette). Anthranilsäure 0,25 g in 100 cm³ Methanol, sauerstofffrei; stets neue Lösung, vor Gebrauch evakuieren (2 mm Quarzküvette). Schottfilter UG 5 3 mm.

¹ Durch die liebenswürdige Unterstützung von Herrn Dr. K. MICHEL angefertigt bei der Firma Zeiß-Winkel, Göttingen.

2537 Å: NiSO_4 (+ 7 H_2O), 51,0 g in 100 $\text{cm}^3 \text{H}_2\text{O}$ (30 mm Quarzküvette). CoSO_4 (+ 7 H_2O), 22,5 g in 100 $\text{cm}^3 \text{H}_2\text{O}$ (10 mm Quarzküvette). 1,4-Diphenylbutadien, 4,24 mg in 100 cm^3 Äthyläther (10 mm Quarzküvette).

Statt der letztgenannten Substanz kann auch genommen werden: Chlorgas, 1 at Druck (50 mm Quarzküvette) + Schottfilter UG 5 3 mm. (Diese Kombination läßt teilweise auch die Hg-Linie 2652 Å durch.)

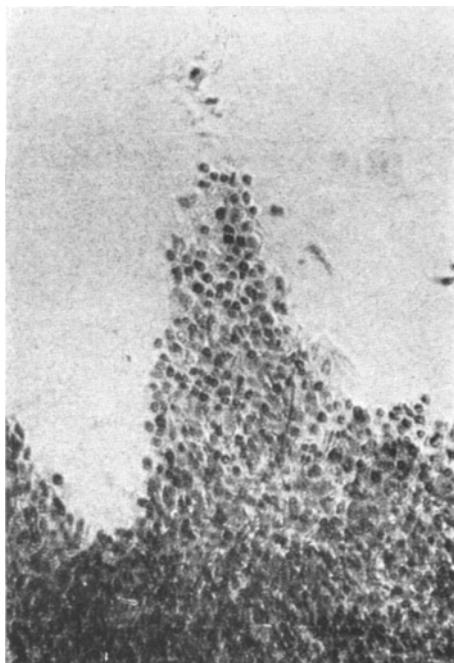


Abb. 4. Reflexionsoptisches Mikrophotogramm der sog. basophilen Zellen in den Milz im kurzwelligen ultravioletten Licht. Dreimalige Sensibilisierung, sog. Gruppe III. Milzausstrich. Fixation in Lanthan-Essigsäure. Einschluß in Quarzdeckgläschen. Aufnahme bei der Hg-Linie $\lambda = 2537 \text{ \AA}$. Kodak-Panatomie-Film (175/III). Direkte Vergrößerung etwa 100fach, photographisch nachvergrößert 4fach. Sehr weitgehende Extinktion durch die desoxyribonucleotidhaltigen Kernbestandteile. Etwas geringere, aber auch noch deutliche Absorption des UV-Lichtes durch das Cytoplasma. Trotz der optisch unbefriedigenden Eigenschaften des einfachen sphärischen Spiegelsystems erkennt man in einzelnen Zellkernen noch deutlich die Nucleoli, deren Extinktionswert etwa dem des Cytoplasmas entspricht.

Von den UV-Photogrammen, die bei diesen Wellenlängen angefertigt wurden, sind in diesem Zusammenhang nur jene bei 254—265 $\text{m}\mu$ von Interesse. Aus den Untersuchungen von CASPERSSON ergibt sich, daß das Absorptionsmaximum der Polynukleotide bei 2600 Å liegt; bei 2500 Å und bei 2700 Å beispielsweise beträgt die Extinktion immerhin noch 90 % des 2600 Å-Wertes. Dann aber fällt die Kurve besonders zum langwelligen Teil des Ultravioletts steil ab; bei 2800 Å beträgt die Extinktion nur noch $^{1/3}$ des Maximalwertes bei 2600 Å und ist photographisch nur weit schwerer zu erfassen als bei 2537 Å. Obenstehende Abb. 4 zeigt

die Extinktionsverhältnisse bei 2537 Å. Dieses Photogramm wurde mit dem beschriebenen Reflexionsmikroskop aufgenommen; es hat, bei dieser Anordnung, unvermeidbare Mängel der Güte der optischen Abbildung, da die numerische Apertur des Hohlspiegels nur etwa 0,2 betrug. Höhere Aperturen lassen sich mit einem einfachen sphärischen System nicht erreichen, ohne daß sehr beträchtliche andere Abbildungsfehler auftreten. Bei einer numerischen Apertur von 0,2 ist die förderliche Höchstvergrößerung in dem genannten Spektralbereich etwa 350fach. Das genügt an sich nur, um sich über die Extinktionseigenschaften von Cytoplasma und Zellkern im großen und ganzen zu unterrichten. Trotzdem sind in einzelnen Zellkernen sogar die Nucleoli zu erkennen. Die eigentliche Analyse der Zellstruktur erfolgt zweckmäßigerweise z. B. an Hand der Feulgen-Färbung, wie sie Abb. 2 zeigt.

Der Nachweis, daß es sich bei diesen basophilen Pulpazellen tatsächlich um die Bildungsorte der Antikörper handelt, wurde früher nur durch einen *Vergleich* zwischen dem histologischen Bild und dem serologisch bestimmten Antikörpertiter im Blut oder im Organextrakt geprüft (z. B. BIELING und GOTTSCHALK 1923). Erst in letzter Zeit gelang es, die Antikörper direkt am Entstehungsort aufzufinden. Der *Elektrophorese* bedienten sich zu diesem Zweck WHITE und DOUGHERTY 1945. Prinzipiell werden bei diesem Verfahren, sofern man nicht die Nachteile der angedeuteten Vergleichsmethode in Kauf nehmen will, die als Antikörperbildner angesehenen basophilen Zellen möglichst rein gewonnen und die in ihnen enthaltenen Eiweiße ausgepreßt und der elektrophoretischen Trennung zugeführt. Radioaktive Tracers benutzten zum gleichen Zweck LIBBY und MADISON 1947 und PRESSMAN-EISEN-FITZGERALD 1950, Farbstoffe SABIN 1939, KRUSE und McMASTER 1949 sowie COONS und KAPLAN 1950; chemische Analysen führten HAUROWITZ und Mitarbeiter 1932 und 1936 aus.

An dieser Stelle muß noch der Ansicht von BÜNGELER 1951 gedacht werden, der den Plasmazellen eine resorbierende Funktion zuerkennt. Das gilt vielleicht nur für reife Plasmazellen; bei dem hier vorliegenden Zelltyp dürften die Basophilie des Cytoplasmas und die charakteristische Anordnung des perinukleären Chromatins für eine sekretorische Leistung sprechen; beides wird bei passiver Immunisierung nicht gefunden.

Für die elektrophoretische Trennung gewannen WHITE und DOUGHERTY aus zerkleinerten Lymphknoten und Thymus durch mehrfaches Zentrifugieren und Waschen eine zu etwa 90% reine Lymphocyten- bzw. Lymphoidzellenaufschwemmung. Die zunächst noch intakten Zellen wurden durch Aqua dest. und hypertone NaCl-Lösung aufgesprengt und ihre flüssigen Eiweißbestandteile auf der Ultrazentrifuge abgetrennt. Nach Dialyse gegen destilliertes Wasser gelangte das Eiweißgemisch in die bekannte große Elektrophoreseapparatur nach TISELIUS, bei der die

optische Registrierung mit der PHILPOTschen Halbschattenmethode erfolgte. Der Verfasser ging (1950 b), seinerzeit ohne Kenntnis dieser Arbeit, insofern einen anderen Weg, als die Mäusemilz nicht fraktioniert, sondern dann verarbeitet wurde, wenn sich histologisch ergab, daß die

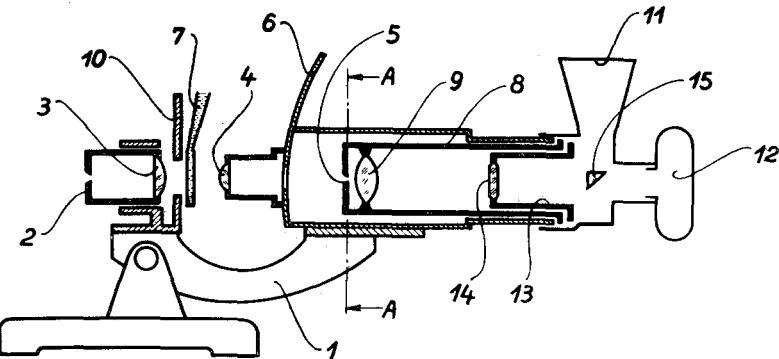


Abb. 5. Mikroskop zum Sichtbarmachen von optischen Inhomogenitäten, hier als Elektrophoresegerät (Leitz). 1 Mikroskopstativ mit Tisch (10) und Objektivrevolver (6). 2 und 5 Fester bzw. drehbarer Spalt. 3 und 4 Achromatischer sog. Schlierenkopf. 7 Mikrofotivette. 8 Drehbare Hülse, an Stelle eines Okulars in den Tubus eingeschoben. 9 Objektiv zur Abbildung der Kuvette auf die Photoschicht. 12 Kleinbild-Aufsetzkamera mit Mattscheibe (11) und Prisma (15). 13 Fester Innenstab mit Zylinderlinse (14).

basophilen Elemente ganz beträchtlich vorherrschten. Das Gewebe wurde ebenfalls zerrieben, mit destilliertem Wasser aufgesprengt und dialysiert. Die elektrophoretische Trennung geschah in einer eigens für

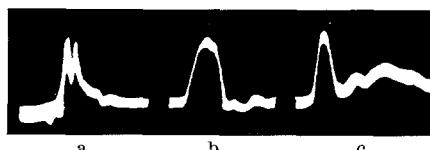


Abb. 6 a—c. Elektrophoresediagramme, erhalten nach der Philpot-Svensson-Methode in der oben beschriebenen Apparatur. a Originalaufnahme des als Antigen verwendeten Schweineserums. Mit Veronal-Natriumacetat-Puffer 3:2 · pH ~ 8,6. Spannung: 110 V, Stromstärke: etwa 0,2 mA. Trenndauer: 25 min. Kleinbildphotographie (75). b Extrakt aus der nicht vorbehandelten Milz. c Extrakt aus der Milz der weißen Maus nach dreimaliger Injektion von Schweineserum; sog. Gruppe III; reichlich basophile Zellen in den roten Pulpas. Charakteristische Vermehrung der β -Globuline. (Bezüglich näherer Einzelheiten muß auf Verh. Ber. dtsch. Ges. Path. 1950 verwiesen werden.)

die verfügbaren Mengen konstruierten Apparatur (1950 a), die schon die Analyse von $0,02 \text{ cm}^3$ Substrat erlaubte und deren Bauplan die Abb. 5 zeigt. Der optische Weg in diesem Gerät folgt dem von PHILPOT und SVENSSON angegebenen Prinzip der direkten Diagrammaufzeichnung. WHITE und DOUGHERTY und der Verfasser kamen nun zu ganz weitgehend identischen Ergebnissen, die man in vorstehenden Diagrammen (Abb. 6) am kürzesten zusammenfassen kann.

Die aus den basophilen Zellen gewonnenen Eiweiße wandern also im elektrischen Feld gleichartig wie die β - bzw. γ -Globuline, die praktisch alle spezifischen Antikörper enthalten. Die Ähnlichkeit der sog. lymphoiden Zellen von WHITE und DOUGHERTY mit denjenigen, die z. B. THORELL, FAGRAEUS oder EHREICH (neuere Arbeiten) als unreife Plasmazellen bezeichnen, ist augenfällig. Das ergibt sich sowohl aus dem histologischen Bild wie auch aus der Gleichzeitigkeit, mit der diese verschiedenen benannten Zellen und die elektrophoretisch bestimmten γ - und β -Globuline im Gewebssaft übereinstimmend einen charakteristischen Anstieg am 3. Tag zeigen. Die eigentlichen reifen Lymphocyten andererseits wie auch die reifen Plasmazellen nehmen erst später zu.

Die Reaktionen bei einmaliger Verabfolgung eines Antigens scheinen also folgende zu sein: Bestimmte Zellen des Mesenchyms resorbieren das Antigen und bauen es ab. Diese Zellen werden als Reticuloendothel bezeichnet und lassen sich z. B. an der Speicherung von Vitalfarbstoffen erkennen. Ob diese reticuloendothelialen Zellen aber gleichzeitig auch die Antikörper bilden, ist noch ungewiß. Andere Zellen des Mesenchyms entwickeln sich zu den basophilen sog. lymphoiden Zellen oder sog. unreifen Plasmazellen, bei denen eine Antikörperbildung mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden kann. Diese Zellen sind eine Art sui generis. Das primitive Mesenchym stellt offenbar ein Depot dar, aus dem sich diese beiden Formen von aktivem Mesenchym entwickeln können. Am Ende der Entwicklungsreihen stehen das resorbierende RES einerseits und die Antikörper produzierenden Zellen andererseits; es scheint, als sei diese Differenzierung auf der Höhe der Funktion nicht mehr reversibel und die fertigen Elemente könnten dann nicht mehr ineinander übergehen oder sich in die Ursprungszellen zurückverwandeln.

Damit ist gesagt, daß die Bildung der Antikörper an einem anderen Ort vonstatten geht als die Verarbeitung der Antigene. Ebenfalls erscheint sicher, daß das Antigen nicht direkt in den Antikörper transformiert wird. Die Masse des zur Reaktionsauslösung erforderlichen Antigens ist sowieso derart gering, daß das Antigen weniger stofflich, sondern mehr als Initiator oder „Katalysator“ wirkt, wenngleich eine gewisse Mindestmenge Antigen je reagierender Zelle wohl voneinander ist. Wie die zur Antikörperbildung fähigen Zellen in Kenntnis gesetzt werden, daß sie zu einem bestimmten Zeitpunkt Antikörper produzieren sollen, wenn sie nicht direkt vom Antigen getroffen werden, ist noch unklar. Offenbar handelt es sich bei diesen Meldesubstanzen um schwer nachweisbare Stoffe, vielleicht um niedermolekulare Eiweiße oder Polypeptide, die beim Abbau des Antigens im RES anfallen und mit dem Saftstrom zu den Zellen transportiert werden, deren Aufgabe dann die Antikörperbildung ist. Der Beweis, daß nicht das RES, sondern andere, wohlcharakterisierbare, unter anderem basophile Zellen die Antikörper bilden,

kann auf mehrererlei Weise erbracht werden: erstens durch Trennung der Zellelemente durch Zentrifugieren und anschließende immunbiologische oder elektrophoretische Untersuchung, und zweitens durch Untersuchung der morphologischen Eigenschaften, die für einen bestimmten Zellstoffwechsel charakteristisch sind, und zwar in weiter ausgedehnten Spektralgebieten als den gewöhnlich benutzten. Die beiden letztgenannten Methoden dienten vorliegender Arbeit zur Grundlage.

Man könnte demnach *zusammenfassend* folgendes sagen: Bei der Sensibilisierung der weißen Maus mit Schweineserum kommt es am 3. Tag zum Auftreten charakteristischer Zellen in der roten Milzpulpa. Diese Zellen können, wenn das Erfordernis, Antikörper zu bilden, an den Organismus herantritt, ad hoc aus anderen Elementen eigens entstehen; sie werden für diese ihre Aufgabe neu geschaffen. Man kann diese Zellen, einem Vorschlag von RÖSSLÉ folgend, vielleicht am besten als „Immunzellen der Milz“ bezeichnen. Von ihnen werden, vielleicht nicht ausschließlich, die spezifischen Antikörper produziert. Diese Immunzellen haben nun einen äußeren Habitus, der sie, da ja die Mittel des morphologischen Ausdrucks in diesen Dimensionen begrenzte sind, gewissen anderen Zellen ähnlich sehen läßt, ohne daß man sie diesen gleichsetzen dürfte. Chromatinreichtum, Kern-Plasmarelation und ähnliche Attribute sind aber wohl ganz äußerliche Begriffe, die verschiedene innere Ursachen haben und ebenso verschiedene Wirkungen bedingen können, und die in gewisser Hinsicht nur der Beengtheit unseres unmittelbaren optischen Vermögens oder der geringen Zahl wahrheitsgetreuer histochemischer oder histophysikalischer Arbeitsmethoden ihre Existenz verdanken. Die beschriebenen Zellen zeichnen sich aus durch herdförmige Lagerung, rundliche gleichförmige Gestalt, große Kern-Plasmarelation, große ribonucleinsäurerreiche Nucleoli, deutlichen feulgenpositiven perinucleolären Chromatinring, reichliches desoxyribosehaltiges Kernchromatin mit starker Ultraviolett-Extinktion bei 2537 Å bis 2650 Å und durch basophiles Cytoplasma mit auffällig lange erhalten bleibender hoher Ribonucleinsäurekonzentration mit einem Absorptionsmaximum bei den gleichen Wellenlängen. Diese Zellen können auf Grund histologischer, histochemischer, ultraviolettmikroskopischer und elektrophoretischer Untersuchungen als die Bildungsorte spezifischer Antikörper angesehen werden.

Literatur.

- ALBERTINI, A. v.: Beitr. path. Anat. **89**, 183 (1932). — ALTMANN, H. W.: Z. Naturforschg **4b**, 138 (1949). — ANDREASEN, E.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **15**, 254 (1948). — APITZ, K.: Virchows Arch. **289**, 46 (1933); **293**, 1 (1934). — BARIGOZZI, C., u. G. DELLEPIANE: Cancer **4**, 154 (1951). — BIANCHI, V.: Pathologica (Genova) **40**, 121 (1948). — BIELING, R., u. A. GOTTSCHALK: Z. Hyg. **99**, 125 (1923). — BING, J., u. N. O. CHRISTENSEN: Acta med. scand. (Stockh.) **106**,

- 382 (1944). — BING, J., A. FAGRAEUS u. B. THORELL: Acta physiol. scand. (Stockh.) **10**, 282 (1945). — BING, J., u. P. PLUM: Acta med. scand. (Stockh.) **92**, 415 (1937). — BJØRNBOE, M.: Acta path. scand. (Københ.) **20**, 221 (1943). — BJØRNBOE, M., u. H. GORMSEN: Acta path. scand. (Københ.) **20**, 649 (1943). — BJØRNBOE, M., H. GORMSEN u. F. LUNDQUIST: J. of Immun. **55**, 121 (1947). — BÖHMIG, R.: Beitr. path. Anat. **93**, 303 (1934). — BOUWERS, A.: Achievements in Optics. Elsevier Publ. Comp. 1946. — BÜCHER, TH., u. J. KASPERS: Naturwiss. **33**, 93 (1946). — BÜNGELER, W.: Verh. dtsch. path. Ges. **35**, (1951). — BUENO, P.: Arch. of Path. **44**, 635 (1947). — CANNON, P. R.: Advances Protein Chem. **2**, 135 (1945). — CANNON, P. R., R. B. BAER, F. L. SULLIVAN and J. R. WEBSTER: J. of Immun. **17**, 441 (1929). — CASPERSSON, T.: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **73**, Suppl. 8 (1936). — Naturwiss. **29**, 33 (1941). — Cell Growth and Cell Function. New York: W. W. Norton & Co. 1950. (Ausführliches Literaturverzeichnis.) — COONS, A. H., and M. H. KAPLAN: J. of exper. Med. **91**, 1 (1950). — CUSMANO, L.: Zit. nach BARIGOZZI u. DELLEPIANE. — D'ANS, J., u. E. LAX: Taschenbuch für Chemiker und Physiker, S. 1556. Berlin: Springer 1943. — DOUGHERTY, T. F., J. H. CHASE and A. WHITE: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **57**, 295 (1944). — DOUGHERTY, T. F., and H. GORMSEN: Anat. Rec. **97**, 330 (1947). — EHRICH, W. E.: J. of exper. Med. **49**, 361 (1929). — Beitr. path. Anat. **86**, 287 (1931). — EHRICH, W. E., u. W. VOIGT: Beitr. path. Anat. **93**, 354 (1934). — EHRICH, W. E., and T. N. HARRIS: J. of exper. Med. **76**, 335 (1942). — EHRICH, W. E., T. N. HARRIS, E. GRIMM and E. MERTENS: J. of exper. Med. **81**, 73 (1945). — EHRICH, W. E., T. N. HARRIS and E. MERTENS: J. of exper. Med. **83**, 373 (1946). — Ann. N. Y. Acad. Sci. **46**, 823 (1946). — EHRICH, W. E., J. SEIFTER and C. FORMAN: J. of exper. Med. **89**, 23 (1949). (Ausführliches Literaturverzeichnis.) — EHRICH, W. E., D. L. DRABKIN and C. FORMAN: J. of exper. Med. **90**, 157 (1949). — EVERETT, M. R.: Medical Biochemistry, S. 483ff. New York u. London: Paul B. Hoeber 1948. — FAGRAEUS, A.: Nord. med. **30**, 1381 (1946). — Nature (Lond.) **159**, 499 (1947). — J. of Immun. **58**, 1 (1948). — Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. **1948**, 204. — FEULGEN, R., u. H. ROSENBECK: Z. physiol. Chem. **135**, 203 (1924). — GAY, F. P., and A. R. CLARK: J. Amer. med. Assoc. **88**, 1296 (1924). — GLICK, D.: Techniques of Histo- and Cytochemistry. New York u. London: Interscience Publishers 1949. — GÖSSNER, W.: Zbl. Path. **85**, 434 (1949). — GORMSEN, H.: Sang **21**, 483 (1950). — GREY, D. S.: J. opt. Soc. Amer. **40**, 283 (1950). — HARRIS, T. N., E. GRIMM, E. MERTENS and W. E. EHRICH: J. of exper. Med. **81**, 73 (1945). — HARRIS, T. N., J. RHOADS and J. STOKES: J. of Immun. **58**, 27 (1948). — HARRIS, T. N., and S. HARRIS: J. of exper. Med. **90**, 169 (1949). — HARTLEY, G.: J. inf. Dis. **66**, 44 (1940). — HAUROWITZ, F., u. F. BREINL: Z. physiol. Chem. **205**, 259 (1932). — HAUROWITZ, F., u. F. KRAUS: Z. physiol. Chem. **239**, 76 (1936). — HELLMAN, T., u. G. WHITE: Virchows Arch. **278**, 221 (1930). — HILL, A. G. S., H. W. DEANE and A. H. COONS: J. of exper. Med. **92**, 35 (1950). — HITCHCOOK, C. H., and W. EHRICH: Arch. of Path. **9**, 625 (1930). — HÖRMANN, H., u. E. SCHOPPER: Veröff. Agfa **7**, 108 (1940). — JUNGEBLUT, C. W., and J. A. BERLOT: J. of exper. Med. **43**, 613 (1926). — KABELITZ, H.-J.: Acta Haematol. **5**, 232 (1951). — KASHA, M.: J. opt. Soc. Amer. **38**, 929 (1948). — KASS, E. H.: Science (Lancaster, Pa.) **101**, 337 (1945). — KEUNING, F. J., and L. B. VAN DER SLIKKE: J. Labor. a. clin. Med. **36**, 167 (1950). — KRUSE, H., and P. D. McMMASTER: J. of exper. Med. **90**, 425 (1949). — LIBBY, R. L., and C. R. MADISON: J. of Immun. **55**, 15 (1947). — LUBARSCH, O.: In F. HENKE u. O. LUBARSCH' Handbuch der speziellen Pathologie und Histologie, Bd. I/2, S. 513ff. Berlin: Springer 1927. — McMMASTER, P. D., and S. S. HUDACK: J. of exper. Med. **61**, 783 (1935). — MELLORS, R. C.: Science (Lancaster, Pa.) **112**, 381 (1950). — MEYER-ARENKT, J.: (a) Naturwiss. **37**, 310 (1950). — (b) Verh. dtsch.

path. Ges. **34**, 325 (1950). — Zbl. Path. **87**, 241 (1951). — Photogr. u. Forschg **5**, H. 1 (1951). — METSCHNIKOFF, E.: Virchows Arch. **97**, 502 (1884). — MCNEIL, C.: Amer. J. Path. **24**, 1271 (1948). — OAKLEY, C. L., I. BATTY and G. H. WARRACK: J. of Path. **63**, 33 (1951). — OAKLEY, C. L., G. H. WARRACK and I. BATTY: J. of Path. **61**, 179 (1949). — OLHAGEN, B., B. THORELL and P. WISING: Scand. J. Clin. a. Labor. Invest. **1**, 49 (1949). — PETRONELLI, A.: Riv. Anat. e Oncol. **1**, 397 (1949). (Ausführliches Literaturverzeichnis.) — PRESSMAN, D., H. N. EISEN and P. J. FITZGERALD: J. of Immun. **1950**. — RICH, A. R., M. R. LEWIS and M. M. WINTROBE: Bull. Hopkins Hosp. **65**, 311 (1939). — ROBERTS, E. F.: J. of Immun. **16**, 137 (1929); **17**, 273 (1929). — SABIN, F. R.: J. of exper. Med. **70**, 67 (1939). — SCHOTT & Gen.: Jenaer Glaswerk. Liste 8040. 1949. — SCHWEIZER, W., u. H. REBER: Z. exper. Med. **116**, 265 (1950). (Ausführliches Literaturverzeichnis.) — SUNDBERG, R. D.: J. Labor. a. clin. Med. **32**, 777 (1947). — THORELL, B.: Acta med. scand. (Stockh.) **1944**. — THORELL, B., u. P. WISING: Nord. med. **24**, 1842 (1944). — THORELL, B.: Nord. med. **28**, 2115 (1945). — UNDRITZ, E.: Helvet. med. Acta **5**, 548 (1938). — VALENTINE, W. N., C. G. CRADDOCK and J. S. LAWRENCE: Blood **3**, 729 (1948). — WHITE, A., and T. F. DOUGHERTY: Endocrinology **36**, 207 (1945). — WHITE, J. C.: J. of Path. **59**, 223 (1947). — WILLIAMSON, R.: J. of Path. **62**, 47 (1950).

Dr. med. JÜRGEN MEYER-ARENDT, Pathologisches Universitätsinstitut
Hamburg-Eppendorf.
