

Aus dem Institut für Gewebeforschung (Prof. Dr. med. ELSE KNAKE)
der Deutschen Forschungshochschule Berlin-Dahlem.

Über Transplantation von Milzgewebe*.

Von
ELSE KNAKE.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. August 1951.)

Berücksichtigt man bei der Transplantation von Milzgewebe die von WARBURG¹ definierte Grenzschnittdicke $d' = \sqrt{8c_0 \frac{D}{A}}$, wie es kürzlich für Lebergewebe beschrieben wurde², so bleiben autolytische und heterolytische Prozesse als Folgen anoxämischer oder dyshorischer Schädigungen³ aus. Das intraperitoneal verpflanzte Gewebe heilt in allen seinen Teilen lebend ein. Autotransplantate sind noch nach einem Jahr in bestem Zustand. Homotransplantate verhalten sich in der ersten Zeit wie Autotransplantate. Auch sie wachsen an ihrem neuen Standort ohne partielle Nekrosen an. Erst später machen sie allmähliche Veränderungen durch, die gewöhnlich zum Schwunde führen. Vielleicht ist dies die Folge einer Antigen/Antikörperreaktion; das Transplantat könnte als Antigen wirken und die Entstehung von Cytotoxinen hervorrufen. Die Art, wie es zugrunde geht, verträgt sich mit dieser Auffassung, die wir zur Zeit experimentell untersuchen.

Hier wird zunächst über Autotransplantation von Milzgewebe berichtet.

Versuchsanordnung.

In Äthernarkose wurde männlichen weißen Ratten im Gewicht von 150 g und darüber etwa ein Drittel der Milz herausgenommen. Aus dem exstirpierten Stück wurden sehr dünne Rasiermesserschnitte hergestellt und in eisgekühlter, von Sauerstoff durchperlter Ringerlösung mit 0,2% Traubenzucker aufgefangen. Die Schnitte waren 6—8 × 3 mm² groß und durchschnittlich 150—300 μ dick (ausgemessen an hochkant in Paraffin eingebetteten nach CARNOY fixierten Rasiermesserschnitten). Auf jedem Mesotestis wurden je nach seiner Größe 2—3 Schnitte ausgebreitet, das Mesotestis darüber behutsam zusammengelegt und in die Bauchhöhle zurückversenkt. Verschluß der Laparotomiewunde durch einschichtige Naht und Mastixanstrich. Abimpfung aus der Schale mit Schnitten auf Bouillon.

Die Operation wurde von den Tieren gut überstanden. Zeichen von Bartonellenanämie traten nie auf.

* Herrn Prof. R. RÖSSELE zum 75. Geburtstage gewidmet.

Die Ratten wurden in Abständen von 13 bis zu 389 Tagen nach der Operation getötet. Die Transplantate und ein Stück der regenerierenden Milz wurden fixiert (Carnoy, Paraffineinbettung, Stufenschnitte).

Befunde.

Makroskopisch. Die in die Mesotestes eingesprengten Transplantate fallen durch ihre milzhähnliche dunkelrote Farbe sofort ins Auge. Sie sind fest und trocken wie die normale Milz. Ihre Größe reicht meistens

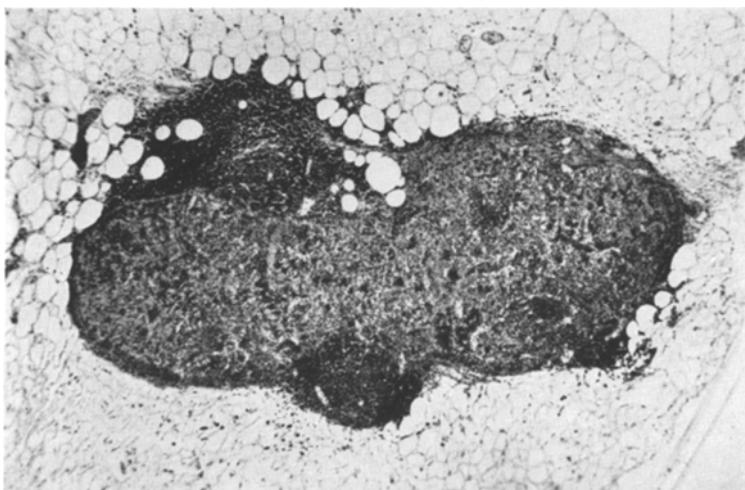


Abb. 1. 163 Tage altes Transplantat. Reizloses Einheilen. Carnoy. Hämatoxylin-Eosin.

von Linsengröße bis zu Ausmaßen von etwa $8 \times 4 \times 3$ mm³. Bei unserem ältesten Versuchstier lagen 13 Monate nach der Operation ein 7 mm langes und ein 12 mm langes Transplantat unmittelbar hintereinander und bildeten einen walzenförmigen Körper von 2—3 mm Durchmesser.

Mikroskopisch. Die Transplantate sind gegen das Fettgewebe der Mesotestes gewöhnlich scharf abgegrenzt. Fettgewebe und Milzpulpa berühren sich unmittelbar (Abb. 1). Ist das Transplantat teilweise von Kapselgewebe umgeben (Abb. 2), so dürfte es sich um mittransplantierte Milzkapsel handeln. Das kollagene Bindegewebe (Azan) der Kapsel enthält feine elastische Fasern (Orcein) und einige glatte Muskelfasern.

Wie das normale Organ so setzt sich das Milztransplantat aus weißer und roter Pulpa zusammen (Abb. 3). Es ist nur aus diesen beiden Bestandteilen aufgebaut. Im Gegensatz zu den kürzlich beschriebenen Lebertransplantaten enthält es niemals partielle Nekrosen oder Bezirke von Granulations- oder Narbengewebe.

Die weiße Pulpa besteht aus MALPIGHISCHEN Körperchen mit einer exzentrisch gelegenen Zentralarterie und feineren Gefäßverzweigungen

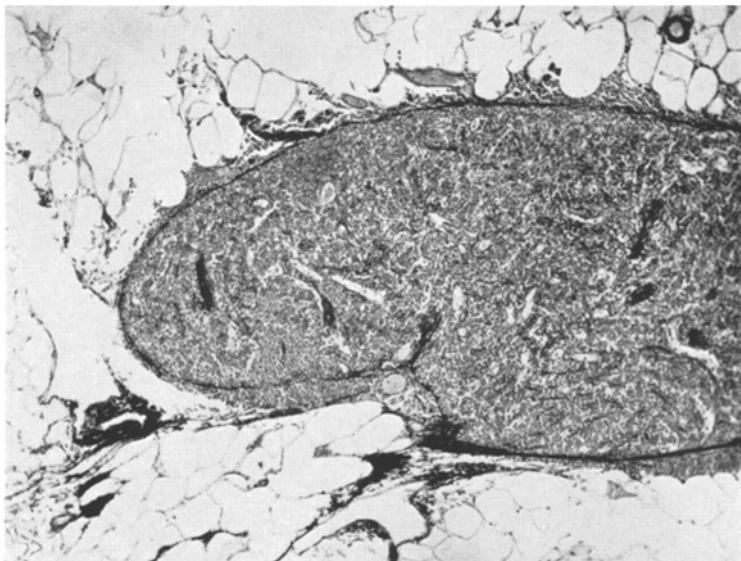


Abb. 2. 46 Tage altes Transplantat. Darstellung von Kapsel und Trabekeln. Carnoy. Azan.



Abb. 3. 120 Tage altes Transplantat. Aufbau aus weißer und roter Pulpa. Teils scharfe Begrenzung, teils kontinuierliches Vordringen in das Transplantationsbett. Carnoy. Hämatoxylin.

in der Peripherie (Abb. 4). Die Zentralarterie hat eine muskulöse Wand mit eingelagerten elastischen und spärlichen kollagenen und argyrophilen Fasern. Die MALPIGHISCHEN Körperchen enthalten oft ein Keimzentrum

aus großen Lymphocyten mit vielen Mitosen; so wurden in einem Keimzentrum eines 370 Tage alten Transplantats in einem Schnitt 14 Mitosen gezählt. Im MALPIGHISchen Körperchen des Transplantats fehlt wie in der intakten Milz das argyophile Gerüst im Zentrum fast ganz; in der Peripherie besteht es aus einzelnen Fasern (BIELSCHOWSKY). Ganz zarte

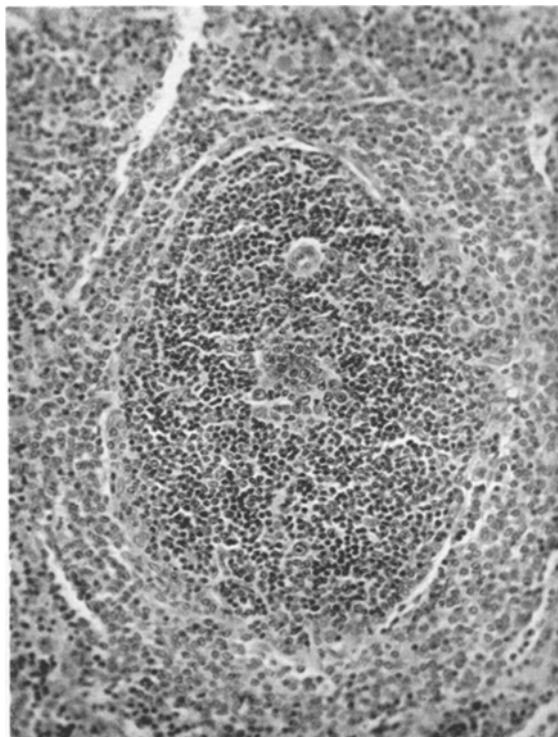


Abb. 4. 132 Tage altes Transplantat. MALPIGHISches Körperchen mit Zentralarterie.
Carnoy. Hämatoxylin-Eosin.

kollagene Fäserchen sind an der Grenze zwischen innerem und äußerem Teil vereinzelt vorhanden (Azan).

Die rote Pulpa ist aus Pulpasträngen und Sinus zusammengesetzt. Die Sinus sind weit offen (Abb. 5). Ihre Uferzellen stellen sich durch parallel zur Längsachse gerichtete, leicht vorspringende Kerne dar, die Zelleiber sind nicht zu erkennen. Die Pulpastränge werden von stark ausgebreiteten Reticulumzellen gebildet, die sich lebhaft mitotisch teilen und phagocytieren (Abb. 6). In Sinus und Pulpasträngen findet man Lymphocyten, Plasmazellen, Megacaryocyten und granulierte Leukozyten in großer Zahl, außerdem sehr viele Erythrocyten, die dem Transplantat seine dunkelrote Farbe geben. Das reticuläre Gerüst aus argyphilen Fasern ist in der roten Pulpa des Transplantats ebenso fein und

ebenso dicht wie in der Milz *in situ* (BIELSCHOWSKY) (Abb. 7). Elastische Fasern fehlen (Orcein), allerfeinste kollagene Fasern sind äußerst spärlich vorhanden (Azan).

Die Trabekel bestehen aus kollagenem, mit elastischen Fasern vermischten Bindegewebe und glatten Muskelzellen. In manchen Trans-

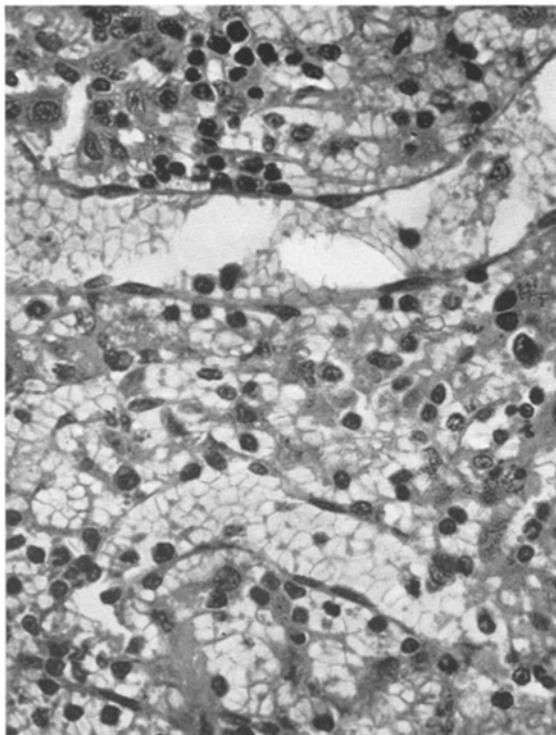


Abb. 5. 163 Tage altes Transplantat. Rote Pulpa. Weit offene Sinus mit deutlichen Uferzellen. Carnoy. Hämatoxylin-Eosin.

plantaten sind die elastischen Fasern in Kapsel und Trabekeln reichlicher als in der Ausgangsmilz zur Zeit der Entnahme des Transplantats oder als in der regenerierenden Milz am Ende des Versuchs. Die Transplantate enthalten verschieden viel Pigment in der roten Pulpa. Außerdem liegen an ihrem Rande im Fettgewebe der Mesotestes öfter ein paar pigmentbeladene Makrophagen. Ein Teil des goldgelben Pigments gibt positive Eisenreaktion (Berliner Blau).

Die Gefäßversorgung des Transplantats ist fast so vollkommen wie die des intakten Organs. Die MALPIGHISCHEN Körperchen enthalten eine Zentralarterie und außerdem einige Gefäßbästchen in der Peripherie. In manchen MALPIGHISCHEN Körperchen allerdings sind nur kleinere

Äste, nicht die Zentralarterie deutlich zu erkennen. Die Anordnung der venösen Sinus gleicht immer der der Milz *in situ*. In der roten Pula findet man außerdem die Fortsetzung der Zentralarterien.

Im Transplantatbett, dem Fettgewebe der Mesotestes, laufen stellenweise eine kleine Arterie und eine kleine Vene dicht nebeneinander; im

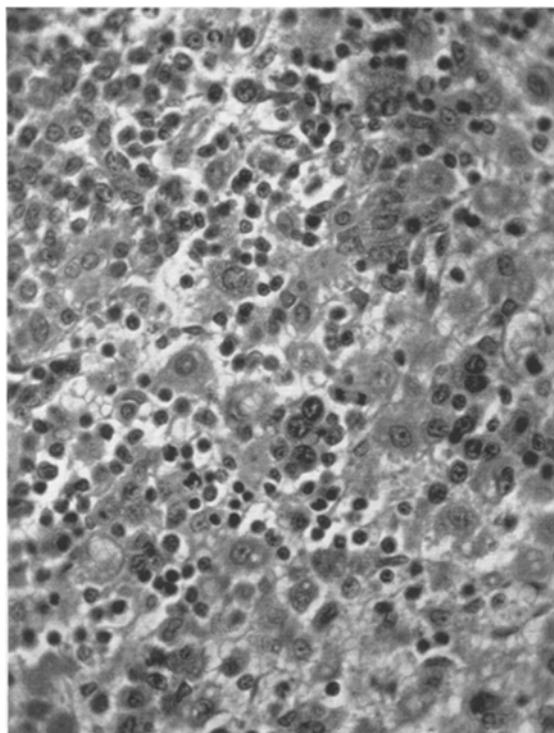


Abb. 6. 132 Tage altes Transplantat. Rote Pulpa mit stark ausgebreiteten Reticulumzellen, pigmenttragenden Makrophagen, granulierte und ungranulierte Leukocyten und Erythrocyten. Carnoy. Hämatoxylin-Eosin.

übrigen finden sich hier dünnwandige Gefäße. Anscheinend können auch sie zum Vas afferens des Transplantats werden.

Öfter findet man im Transplantationsbett eine kleine Vene, die eine größere Zahl von weißen, vorwiegend ungranulierten Blutkörperchen enthält. Hat man mehrere Durchschnitte des Gefäßes im Präparat, so sind die dem Transplantat näher gelegenen an weißen Blutkörperchen reicher als die peripheren.

Nicht immer sind die Transplantate allseitig mit einer scharfen Linie gegen das Transplantatbett abgegrenzt. Zuweilen findet an Teilen der Oberfläche eine Infiltration der nächsten Nachbarschaft mit Lymphocyten und vereinzelten Leukocyten statt (Abb. 3). Dabei werden

zunächst nur Spalten zwischen den aneinandergrenzenden Fettzellen eröffnet, schließlich aber die Fettzellen selbst ersetzt (Abb. 8). So bilden sich neue den MALPIGHISCHEN Körperchen ähnliche Gebilde. Zunächst haben sie weder reticuläres Fasergerüst noch ein Keimzentrum; in älteren Stadien sind sie vorhanden. Sehr häufig finden sich darin kleine dünnwandige Gefäße. Solche Protrusionen von lymphoidem Gewebe entstehen wie Milzhernien bevorzugt an der Stelle von Kapseldefekten oder an kapselfreien Stellen der Transplantatoberfläche. In der Rich-

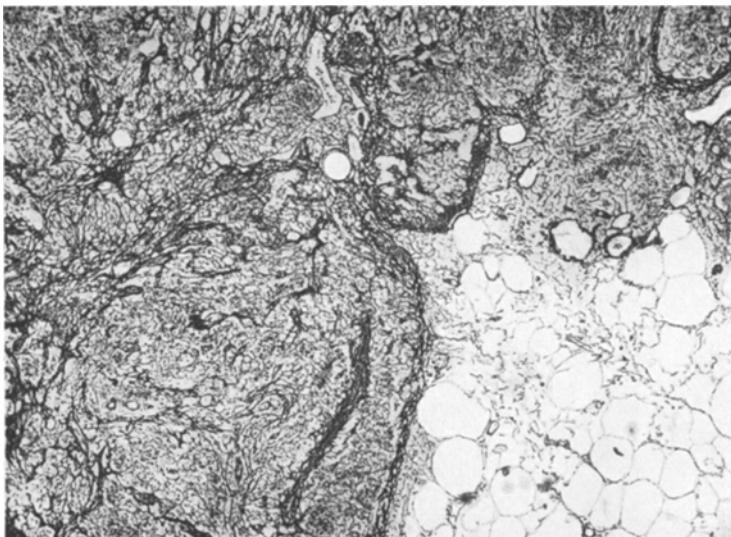


Abb. 7. 342 Tage altes Transplantat. Argyrophiles Gerüst der roten Pulpa. Carnoy. Versilberung nach BIELSCHOWSKY.

tung der Gefäße, die aus solchem appositionellen lymphoiden Gewebe herausziehen, kann das Fettgewebe durch ein paar feinste elastische Fäserchen verstärkt sein. Gelegentlich sieht man ein oder zwei weiße Blutkörperchen die Gefäßwand durchsetzen. So entsteht hier und da eine Auflockerung der im übrigen scharfen Grenze zwischen Transplantat und Fettgewebe.

Diskussion.

Vergleicht man die Ergebnisse der mit gleicher Methode und an derselben Tierart ausgeführten Autotransplantationen von Leber-² und Milzgewebe, so erkennt man, daß die Verpflanzung von Milzgewebe in manchen Punkten erfolgreicher ist als die von Lebergewebe. Milztransplantate behalten ihre Organstruktur bei, Lebertransplantate nicht. Sicherlich wird die Erhaltung der Milzstruktur durch den Umstand begünstigt, daß die Architektur dieses Organs nur von der Gefäß-

anordnung abhängt. Für die Leberstruktur ist dagegen neben den Blutgefäßen noch das Gallengangssystem bestimmd.

Weiterhin unterscheiden sich Leber- und Milzautotransplantate dadurch, daß Milztransplantate im ganzen erhalten bleiben, während in Lebertransplantaten einige Teile zugrunde gehen und durch Granu-

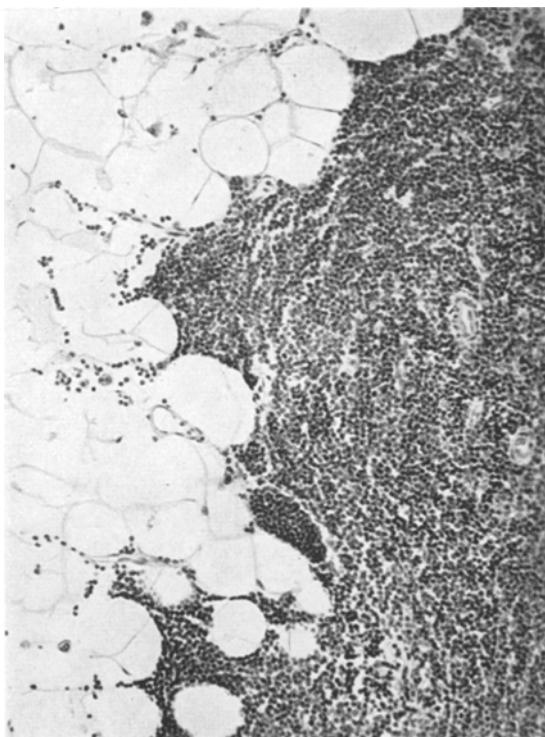


Abb. 8. 120 Tage altes Transplantat. Vordringen des lymphoiden Gewebes in das Fettgewebe des Transplantationsbettes. Zuerst Eröffnung von Spalten zwischen den Zellen, dann Ersatz der Fettzellen durch Transplantatgewebe. Beteiligung von kleinen Gefäßen. Carnoy. Hämatoxylin-Eosin.

lations- bzw. Narbengewebe ersetzt werden. Möglicherweise hängt das damit zusammen, daß Rasiermesserschnitte von Milzgewebe besser noch als die von Lebergewebe innerhalb der Grenzschnittdicke bleiben, die in der ersten Zeit nach der Verpflanzung eine genügende Sauerstoffversorgung durch Diffusion ermöglicht. Wahrscheinlich hat Milzgewebe einen geringeren Sauerstoffbedarf und damit eine größere Grenzschnittdicke als Lebergewebe. Man kann das aus den in der Tabelle aufgeführten Stoffwechselwerten⁴ ablesen, wobei vorausgesetzt wird, daß Milzgewebe den Geweben der Thymusdrüse, des Lymphknotens und der Rachenmandel im Energiestoffwechsel ähnelt.

Tabelle 1.

37,5°. Ringerlösung. $C_{NaHCO_3} = 2,5 \times 10^{-2}$. 0,2% Glucose. 5% CO_2 . $p_H = 7,66$.

| | QO_2 (Atmung) | N_2 QC_2 (Glykolyse in Stickstoff) |
|--|--------------------|---|
| Leber (Ratte) | — 11,6 | + 3,3 |
| Thymus (3 Wochen alte Ratte) | — 5,3 | + 8,2 |
| Lymphdrüse (normale, Mensch) | — 3,8 | + 4,7 |
| Rachenmandel (normale, Mensch) | — 5,1 | + 12,8 |

Es ist bemerkenswert, daß die in dem Milztransplantat vorgebildeten Gefäße an dem neuen fremden Ort ohne Umbau sofort wieder in Betrieb genommen werden. Offenbar schließen sich die Gefäße des Transplantatbettes ohne Schwierigkeit an die des Transplantats an. Das ist um so wunderbarer, als die Gefäße des Transplantatbettes nicht durchschnitten sind. Es heilen also nicht zwei Gefäßstümpfe zusammen, sondern intakte Gefäße vereinigen sich mit durchschnittenen zu harmonischer Funktion.

Schließlich ist die Tatsache einer Betonung wert, daß Milztransplantate bei der angewandten Methodik beträchtlich, und zwar organotypisch wachsen. MARCHAND⁵ bezweifelte Angaben der älteren Literatur, daß sich in Milzwunden, die von fettreichem Netz ausgefüllt wurden, regelrechtes Milzgewebe neu bildet. Nach unseren Versuchsergebnissen erscheint es gut möglich, daß sich abgesprengte Milzbröckel ähnlich wie unsere Transplantate im Netz weiterentwickelt haben.

Zusammenfassung.

Dünne Rasiermesserschnitte von Rattenmilzgewebe wurden streng aseptisch intraperitoneal auf ein gut vascularisiertes Gewebe auto-plastisch verpflanzt. Sie heilen ohne partielle Nekrose ein. Die alten im Transplantat vorgebildeten Gefäße werden wieder in Funktion gesetzt. Die Organstruktur bleibt erhalten, und die Transplantate wachsen beträchtlich. Sie zeigen 13 Monate nach der Verpflanzung denselben Aufbau wie nach 14 Tagen.

Literatur.

- ¹ WARBURG, OTTO: Über den Stoffwechsel der Tumoren, S. 70. Berlin 1926. —
- ² KNAKE, ELSE: Virchows Arch. **319**, 321 (1950). — ³ LETTERER, E.: Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939—1946, Bd. 70, S. 14. Wiesbaden 1948. (Literatur.) — ⁴ WARBURG, OTTO: Über den Stoffwechsel der Tumoren, S. 134 u. S. 136. Berlin 1926. — ⁵ MARCHAND, F.: Der Prozeß der Wundheilung mit Einschluß der Transplantation, S. 325. Stuttgart 1901.

Prof. Dr. ELSE KNAKE, Berlin-Dahlem, Institut für Gewebeforschung der Deutschen Forschungshochschule.