

Aus dem Pathologischen Institut Duisburg (Direktor: Prof. Dr. W. EICKHOFF)
und dem Pathologischen Institut der Universität Bonn a. Rh.
(Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen an der lebenden Rattenschilddrüse *

Von

WILHELM EICKHOFF und NORBERT SCHÜMMELFEDER **

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Juni 1955)

Die bei funktionellen oder krankhaften Beanspruchungen von Geweben oder Organen in Erscheinung tretenden histomorphologischen Veränderungen können verhältnismäßig selten in ihrem Ablauf fortlaufend beobachtet werden. Meist wird mehr oder weniger kasuistisch aus Einzelbefunden oder an Hand von Stichproben aus oft wenigen und willkürlich gewählten Stadien der Arbeitsrhythmus des Organes oder der Krankheitsablauf am Gewebe rekonstruiert. Der beste Weg zur morphologischen Erfassung von Funktions- und Krankheitsabläufen ist an sich die Lebendbeobachtung des tätigen oder des erkrankten Organes und dessen Zellen. Dieser Weg konnte jedoch bisher nur selten eingeschlagen werden, da hierfür meist die methodischen Voraussetzungen fehlten. Die vitale Fluorochromierung mit bestimmten, genau untersuchten und in ihren Eigenschaften charakterisierten Farbstoffen hat jedoch neuerdings die Möglichkeit geschaffen, in einzelnen Fällen mit Erfolg derartige Probleme unter fortlaufender mikroskopischer Beobachtung anzugehen (SCHÜMMELFEDER; PFAFF und HEROLD).

Uns interessierte vor allem der funktionelle Rhythmus der Schilddrüse, den unter anderem OKKELS, EICKHOFF, DEMPSEY und Mitarbeiter mit Hilfe histologischer Schnittpräparate sowie zum Teil mit dem Einsatz histochemischer Methoden, d. h. also am fixierten Gewebe, untersucht haben. Es schien uns lohnend, den Versuch zu machen, tierexperimentell mittels vitaler Fluorochromierung die Schilddrüse nicht nur in bestimmten Funktionsstadien, sondern auch während einer funktionellen Beanspruchung zu untersuchen.

* Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

** Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden im Pathologischen Institut der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster (damaliger Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. H. SIEGMUND †) ausgeführt.

Methoden

a) *Tierversuche.* Für unsere Versuche wählten wir als Versuchstiere ausgewachsene junge Ratten im Gewicht von durchschnittlich 150 g. In Pernoctonarkose wurde die Schilddrüse operativ freigelegt. Falls zur fluoreszenzmikroskopischen Beobachtung eine Ruhigstellung des Organes erforderlich war, wurde eine Trachealkanüle eingebunden, um die störenden Atembewegungen nach Möglichkeit auszuschalten. Auf die freigelegte Schilddrüse wurde der Fluoreszenzfarbstoff (Acridinorange oder dioxypyrendisulfosaures Natrium) aufgetropft. Nach etwa 5 min Einwirkungsdauer wurde der Farbstoff mittels körperwarmer Ringerlösung abgespült. In einzelnen Versuchen injizierten wir dann während der laufenden

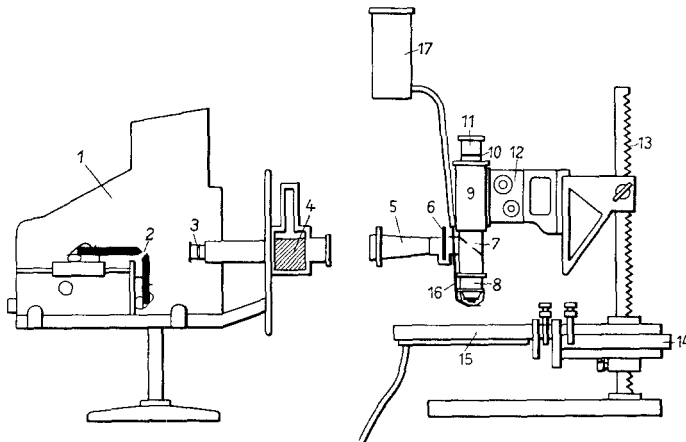


Abb. 1. Schematische Skizze des benutzten Fluoreszenzmikroskopes: 1 Bogenlampe, 2 Kohlen, 3 Hartglaslinse, 4 Cuvette mit 10 %iger CuSO_4 -Lösung, 5 Ultropak-Illuminator, 6 Blaufilter, 7 Ringspiegel, 8 Ultropak-Objektiv mit Ringkondensor und Eintauchkappe, 9 Mikroskoptubus, 10 Ocularsperfilter, 11 Ocular, 12 Halterung für Mikroskop, 13 Säulenstativ mit Zahnleiste, 14 Getriebe mit Kreuzverschiebung, 15 Tierwanne mit Abflussschlauch, 16 Zuleitungskanülen, 17 Vorratsgefäße mit Zuleitungsschläuchen

Beobachtung thyreotropes Hormon, um die daraufhin erfolgenden Abänderungen des morphologischen Bildes zu beobachten. Dauer der Versuche bis zu 4 Std.

Die fluoreszenzmikroskopische Beobachtung erfolgte mittels Ultropak-Objektiven (Leitz) unter Verwendung eines von SCHÜMMELFEDER für Vitalfluorochromierungen ausgebauten Fluoreszenzmikroskopes (vgl. Abb. 1).

An einem Leitz-Säulenstativ mit Zahnleiste (13) war in der oberen Hälfte ein Mikroskoptubus (9) mit Ultropak-Illuminator (5) fest angeschraubt. Darunter lief in der Zahnleiste ein Getriebe (14), an dem eine Kreuzverschiebung mit der Wanne für die Lagerung der Tiere (15) befestigt war, die mit 2 Abflußröhren für die verbrauchte Farb- und Spüllösung versehen war. Am Tubus führten 2 Kanülen (16) herab, die mit 2 Vorratsgefäßen (17) für Farb- und Spüllösung in Verbindung standen. Aus den Kanülen rieselte je nach Bedarf körperwarmer Farblösung oder Ringerlösung auf das untersuchte Objekt. Als Bogenlampe diente eine Leitz-Lumineszenzlampe.

b) *Farbstoffe.* Für die vitale Fluorochromierung der Schilddrüse wählten wir unter den verfügbaren Farbstoffen das basische Acridinorange und das saure dioxypyrendisulfosaure Natrium aus. Vom Acridinorange ist durch eine größere Zahl von Untersuchungen (SCHÜMMELFEDER, STRUGGER, KREBS, KOSENOW, STOCKINGER und STAUDENMAYER) bekannt, daß dieser Farbstoff auch im Tierversuch

seine von STRUGGER sowie BUKATSCH und HAITINGER angegebenen Vorzüge für eine distinkte Kernfärbung und Differenzfärbung verschiedenster Gewebe aufweist. Es war nach den bisherigen Erfahrungen mit diesem Farbstoff zu erwarten, daß bei der Vitalfluorochromierung mit Acridinorange eine dem mikroskopischen Bild bei der histologischen Färbung am fixierten Präparat sehr ähnliche Darstellung der einzelnen Gewebelemente zu sehen sei. Acridinorange (standardisierter Farbstoff der Farbenfabriken „Bayer“, Leverkusen) wurde in einer Konzentration von 0,05 % in Ringerlösung benutzt.

Als zweiten, jedoch sauren Farbstoff wählten wir das dioxypyrendisulfosaure Natrium. Die Untersuchungen von STRUGGER und PERNER an pflanzlichen Geweben haben gezeigt, daß dieses Fluorochrom wegen seiner außerordentlichen Fluoreszenzintensität und der auf Grund des sauren Charakters fehlenden Intrabilität in Zellen besonders gut geeignet ist, extracelluläre Komponenten (z. B. zwischenzellige Flüssigkeiten) anzufärben und zu demonstrieren. Der gleiche Farbstoff hat inzwischen auch seine Eignung zur Fluorochromierung fixierter Präparate tierischen Gewebes unter Beweis gestellt (SCHÜMMELFEDER und PFENNINGS). Auf Grund seiner bisher bekannten färberischen Eigenschaften konnte erwartet werden, daß mit diesem Farbstoff das Schilddrüsenkolloid vitalfärberisch erfaßt wird. Wir hofften dabei, daß Veränderungen in der Dichte und Konzentration des Schilddrüsensekretes bei funktioneller Beanspruchung morphologisch sichtbar sein würden. Auch dieser Farbstoff wurde in einer Konzentration von 0,05 % in Ringerlösung angewandt.

c) *Hormone.* Zur Auslösung einer Funktionsänderung der Schilddrüse wurde thyreotropes Hormon („Pretiron“ Schering) benützt. Dieses wurde während der fluoreszenzmikroskopischen Beobachtung in einer Dosis von 30 ME intraperitoneal injiziert.

Versuche

A. Vitale Fluorochromierung mit Acridinorange

Nach operativer Freilegung der Schilddrüse von Ratten und Rieselung mit Acridinorangefärbung ergab die Fluoreszenzbeobachtung eine präzise Darstellung des lebenden Schilddrüsenorgans, wobei deutlich die follikuläre Struktur herauskam sowie Parenchym, Stroma und Blutgefäße in ihren Einzelheiten zu unterscheiden waren. Im Epithel der Follikel war das Cytoplasma der Zellen in schwacher grünlicher Fluoreszenz, die Kerne hell leuchtend gelblich-grün dargestellt. Das Kolloid fluoreszierte nicht. An den Blutgefäßen leuchteten die Kerne des Endothels in mittelheller, grünlicher Fluoreszenzfarbe. Im Gegensatz zum Follikelepithel fluoreszierte am Gefäßendothel das Zellplasma nicht. Der Innenraum der Blutgefäße war dunkel, die Blutströmung war schattenhaft erkennbar. Im Zwischengewebe traten die Kerne in hellerer, gelblicher Fluoreszenzfarbe hervor. Auch hier war das Cytoplasma der Zellen nicht dargestellt. Auffällig war, daß im Zwischengewebe, insbesondere in der Umgebung von größeren Blutgefäßen und in den Winkeln zwischen den Follikeln Zellen hervortraten, deren Cytoplasma orangerot bis hellrot leuchtete und deren Kerne im deutlichen Unterschied zu den übrigen Kernen des Zwischengewebes mehr in grünlichem Farbton fluoreszierten. Während die Kerne des Zwischengewebes zumeist länglich oval geformt waren, war die

Form der Kerne in den rot fluorescierenden Zellen mehr rundlich. Die Kerne dieser Zellen waren bereits bei Beginn der Beobachtung sichtbar, die rote Fluoreszenz des Cytoplasmas trat jedoch erst nach etwa 20 min auf und erreichte nach 30 min ihren Höhepunkt. Zunächst fielen uns nur wenige dieser Zellen auf, im weiteren Verlauf des Versuches aber traten sie immer zahlreicher in Erscheinung. Einzelne dieser Zellen lagen an der Basis des Follikelepithels, wobei nicht eindeutig zu unterscheiden war, ob sie noch intra- oder aber — außerhalb der optischen

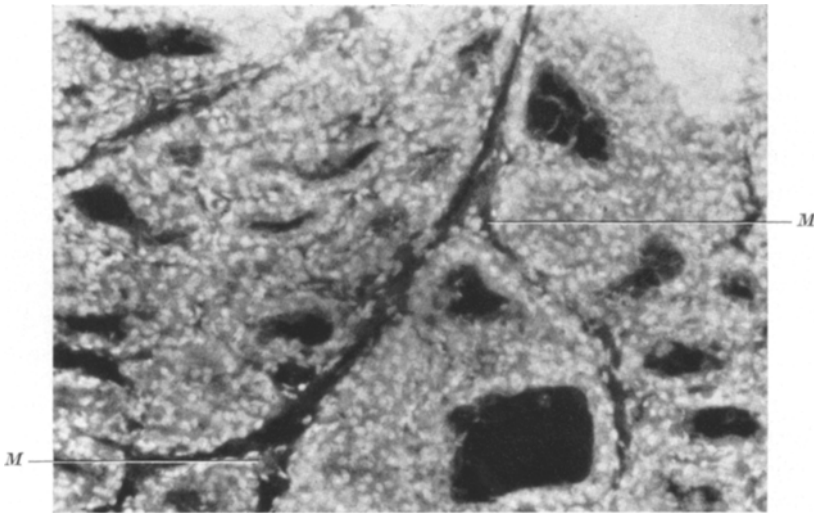


Abb. 2. Schilddrüse der Ratte. Vitale Fluorochromierung mit Acridinorange. *M* Mastzellen. Kopie von Agfacolor-Umkehrfilm, Leitz-Ultropak. Blaulicht-Fluoreszenzmikroskop

Ebene — extrafollikulär gelegen waren. Die weitaus überwiegende Zahl dieser Zellen fand sich jedenfalls eindeutig im Zwischengewebe und hier in unmittelbarer Nachbarschaft der Blutgefäße (vgl. Abb. 2).

Das Fluoreszenzbild blieb dann während der Dauer der Versuche (bis zu 4 Std) in gleicher Weise bestehen. Wurde jedoch mit Acridinorange nachgefärbt, dann kam es zunächst zu einer verstärkten Cytoplasmafluoreszenz und zu einer Farbverschiebung besonders an den Kernen zu gelblichen Farbtönen hin. Dabei ging oft die distinkte Färbung verloren und es ergab sich ein mehr diffuses Fluoreszenzbild, an welchem die Unterscheidung der einzelnen Gewebselemente immer unklarer und schwieriger wurde. Auch traten uncharakteristische rote Fluoreszenzfarben auf, die offenbar von Farbstoffniederschlägen herührten.

Die geschilderten Bilder der Vitalfärbung mit Acridinorange wurden an mehreren Tieren erzielt und konnten immer in gleicher Weise reproduziert werden.

Zur photographischen Darstellung des erzielten Fluoreszenzbildes wurde in einem Versuch auf eine Nachfärbung verzichtet und nach 2stündiger Versuchsdauer der Ratte 1,0 cm³ Pernocton intraperitoneal gegeben. Im gleichen Augenblick, als die Atmung aufhörte, erfolgte die Aufnahme des Schilddrüsenbildes in situ im Schwarz-weiß- und Buntbild. Das erzielte Bild steht in guter Übereinstimmung mit dem am lebenden Tier beobachteten. Lebendphotographien wurden selbstverständlich auch durchgeführt, auf ihre Wiedergabe wird jedoch verzichtet, da diese Aufnahmen — bedingt durch die Atemexkursionen — nicht die gleiche Schärfe aufweisen.

B. Vitalfluorochromierung mit dioxypyrendisulfosaurem Natrium

Nach Berieselung der freigelegten Schilddrüse mit der Farbstofflösung sah man im Fluoreszenzbild ungleichmäßig große, rundliche und ovale, hell weißlich-grün leuchtende, strotzend gefüllte Follikel. Die Blutgefäße waren als farblose, dunkle Streifen in charakteristischer Form ausgespart. Capillaren waren nur in verhältnismäßig geringem Umfange nachweisbar, insbesondere waren die Follikelfelder frei von einem überziehenden Capillarnetz. Die einzelnen Follikel wiesen bei homogener, gleichmäßiger Anfärbung eine unterschiedliche Fluoreszenzintensität auf. Im Laufe der Versuche trat langsam und allmählich ein gleichmäßiges Nachlassen der Fluoreszenzhelligkeit auf.

C. Kombinierte Vitalfluorochromierung mit beiden Farbstoffen

In einigen Versuchen wurde 1 Std nach Dioxypyrenfärbung mit Acridinorange nachgefärbt. Hierbei ergab sich eine Kombination beider bisher geschilderten Bilder, wobei deutlich in Erscheinung trat, daß durch das dioxypyrendisulfosaure Natrium ausschließlich das Schilddrüsenkolloid gefärbt wurde. Durch die kombinierte Färbung wurde eine kontrastreiche Darstellung des Gewebes einerseits und des Kolloids andererseits erreicht, so daß beide Komponenten unverwechselbar angesprochen werden konnten.

D. Hormonale Beeinflussung des Vitalbildes

10 min nach einer vitalen Fluorochromierung mit dioxypyrendisulfosaurem Natrium, welche das vorher beschriebene Bild ergab, wurde 30 ME thyreotropes Hormon injiziert. 10 min nach der Injektion trat in der beobachteten Schilddrüse eine starke Hyperämie auf mit Sichtbarwerden von zahlreichen Capillaren, welche als dunkles Netz jetzt auch die Follikel überzogen. Im Verlaufe der nächsten 30 min nahm die Fluoreszenzhelligkeit der meisten Follikelfelder in erheblichem Umfange ab. Allerdings fanden sich insbesondere in der Nähe größerer Gefäße einzelne Follikel, die ihre ursprüngliche Helligkeit beibehielten. Über diesen, nach wie vor hell fluoreszierenden Follikeln waren Capillaren nicht sichtbar. Um auszuschließen, daß die Minderung der Fluoreszenzintensität in den meisten Follikeln durch Auswaschen des aufgetropften

Farbstoffes verursacht sein könnte, wurde nochmals mit Dioxypyren nachgefärbt. Hierbei ergab sich eine im ganzen zwar verstärkte Fluoreszenzintensität, das Gesamtbild wurde jedoch nicht abgeändert. Insbesondere blieb die nach der Hormongabe in Erscheinung getretene Helligkeitsdifferenz zwischen den gefäßnahen Follikeln und den zahlreicheren, abgeblaßten, gefäßfernen Follikellichtungen bestehen. Die dunkel gewordenen Follikelfelder blieben dunkel.

Eine Stunde nach Injektion des thyreotropen Hormones wurde mit Acridinorange nachgefärbt. Bei dem sich ergebenden Bild war auffällig, daß in den gefäßnahen Follikeln, in denen noch eine Dioxypyrenfärbung des Kolloids vorhanden war, der Epithelsaum flach und schmal in Erscheinung trat, wobei sich die Zellkerne klein und rundlich darstellten. Im Gegensatz hierzu war in den Follikeln, aus denen die Dioxypyrenfärbung verschwunden bzw. sehr stark abgeschwächt war, das Epithel deutlich breiter und die Epithelzellkerne größer. Während die Epithelzellen in den erstgenannten Follikeln nur eine sehr geringe Cytoplasmafärbung aufwiesen, war diese in den Follikeln mit dem erhöhten Epithel in stärkerem Maße vorhanden.

Eine Neubildung von Follikeln unter der Hormonwirkung konnte bei der Vitalfluorochromierung nicht beobachtet werden.

Beurteilung der Versuchsergebnisse

Die durchgeführten Versuche zeigen, daß mittels Acridinorange-fluorochromierung eine differenzierte Darstellung der zelligen Gewebselemente und des histomorphologischen Aufbaues der Schilddrüse erreicht werden kann. Im Gegensatz hierzu ergibt der saure Farbstoff dioxypyrendisulfosaures Natrium am vitalen Präparat lediglich eine elektive Darstellung des Inhaltes der Schilddrüsenfollikel. Mit der Kombination beider Färbungen wird ein morphologisches Vitalbild erreicht, das weitgehend der bei der üblichen histologischen Technik zu sehenden Gewebsstruktur entspricht. Unseres Wissens wurde über eine vitale Darstellung der Schilddrüse in dieser Form von anderer Seite bisher noch nicht berichtet. Unsere Versuche zeigen weiterhin, daß hormonbedingte Funktionsänderungen an der Schilddrüse mit den benutzten Methoden fortlaufend beobachtet werden können.

Die Tatsache, daß bei der Färbung mit dioxypyrendisulfosaurem Natrium unter der Hormoneinwirkung die Fluoreszenzintensität des Kolloids nachläßt, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die in dem Kolloid vorhandenen bindungsfähigen basischen Gruppen verringert werden. Diese Verminderung dürfte einer Mobilisierung des Kolloids und Ausschwemmung aus den Follikeln entsprechen. Im gleichen Sinne ist die beobachtete Hyperämie in den plötzlich in Erscheinung tretenden Capillaren zu werten. Gegen diese Deutung spricht nicht der Befund,

daß einzelne Follikel an der Entfärbung nicht teilnehmen. Es ist bekannt, daß in der Schilddrüse nicht alle Follikel gleichzeitig und gleichmäßig arbeiten und auf Reize ansprechen. Vielmehr ist immer nur ein Teil zunächst von einem Stimulans betroffen, eine Erkenntnis, die aus zahlreichen histomorphologischen Bildern schon früher gewonnen wurde (EICKHOFF). Es überrascht auch nicht die Zeit, in der eine solche Kolloidmobilisierung vor sich geht. Wissen wir doch aus den Untersuchungen von SUNDER-PLASSMANN, EICKHOFF, KRACHT u. a., daß kurze Zeit nach Gaben thyreotropen Hormones im histologischen Bild ebenfalls eine Kolloidmobilisierung und -ausschwemmung festgestellt werden kann, ebenso wie nach Anwendung anderer Stimulantien (Schreck usw.).

Wie bereits beschrieben, fand sich während der Aktivierung der Schilddrüse durch thyreotropes Hormon eine Verbreiterung bzw. Erhöhung des Epithels. Man kann also das Höherwerden der Epithelzellen unmittelbar mit dem Auge am lebenden Organ verfolgen. Es besteht Veranlassung, dies ausdrücklich hervorzuheben, da gelegentlich geäußert worden ist, daß eine aktive Beteiligung der Schilddrüsenepithelien bei der Kolloidresorption nicht vorkomme. Das Epithel sei bereits ausdifferenziert und könne sich nicht noch einmal verändern oder eine bipolare Funktion annehmen. Nach SUNDER-PLASSMANN kann die niedrige Epithelzelle, der Thyreozyt, nicht zur aktiven (hellen) Zelle werden. Diese hellen Zellen sollen vom Thymus in die Schilddrüse einwandern und dann die Kolloidresorption vollziehen. Abgesehen von anderen Kriterien, die wir hier nicht weiter anführen wollen, da sie uns zu weit abseits führen würden, stellen wir an Hand unserer Beobachtungen fest, daß man bei der vitalen Fluorochromierung eine Einwanderung derartiger Zellen in die Schilddrüse nicht sehen kann, wohl aber die Umformung der niederen Epithelformen in höhere. Dies stimmt auch mit Beobachtungen aus früheren Experimenten (EICKHOFF) gut überein.

Die gesteigerte Fluoreszenzintensität des Cytoplasmas der Epithelzellen der Follikel bei der Acridinorange-Fluorochromierung läßt annehmen, daß in erhöhtem Ausmaß farbstoffbindende Gruppen sauren Charakters in dem Zellplasma vorhanden sind. Auf Grund der Vitalfärberversuche allein läßt sich nicht entscheiden, ob lediglich eine Freilegung solcher Gruppen oder aber ein vermehrtes Vorhandensein vorliegt. Letztere Annahme scheint nach den Untersuchungen von DEMPSEY und SINGER wenig wahrscheinlich, da diese feststellten, daß am fixierten Gewebspräparat aktivierter Schilddrüsen der Ratte die Basophilie des Cytoplasmas reduziert ist. Ohne weiteres sind aber die Versuche von DEMPSEY und Mitarbeiter mit unseren Ergebnissen nicht vergleichbar, da es sich um völlig verschiedene Untersuchungsmethoden handelt.

Besonderer Aufmerksamkeit bedarf noch das Vorkommen von stark rot fluoreszierenden Zellen im Stroma der Schilddrüse bei der Acridinorange-Fluorochromierung. Auf Grund der fluoreszenzmikroskopischen Befunde allein kann deren Einordnung schwerlich erreicht werden. Wir haben daher diesen Zellen noch besondere Untersuchungen gewidmet.

Histomorphologische und histochemische Untersuchungen

Da es sich nach der Acridinorange-Fluorochromierung bei den im Cytoplasmaanteil stark rot fluoreszierenden Zellen um basophile Zellelemente handeln mußte, wurden zunächst Schnittpräparate in Formalin fixierter Rattenschilddrüsen mit der metachromatischen Färbung nach HOLMGREN, d. h. also mit Toluidinblau gefärbt. Hierbei ergab sich, daß das Cytoplasma dieser Zellen angefüllt war mit verhältnismäßig groben, dicht gelagerten, metachromatisch rotviolett bis blauviolett gefärbten Granula, die häufig den Kern überdeckten (Abb. 3 A). Wie es für Mastzellen bekannt ist, fand sich an den Schnittpräparaten, daß die Granula aus angeschnittenen Zellen als intakte Korpuskel austreten und in der Einbettungsflüssigkeit dispergiert werden. Die granulierten Zellen fanden sich besonders reichlich auch im Schnittpräparat in der Umgebung von größeren und kleineren Blutgefäßen des Stromagewebes der Schilddrüse (Abb. 3 B), aber auch in deren bindegewebiger Kapsel und in den übrigen Geweben der weiteren Umgebung der Schilddrüse.

Zur Klärung der Natur dieser Zellen wurden folgende histochemische Methoden angewandt:

1. Perjodsäure-Leukofuchsinreaktion (McMANUS) = PAS-Reaktion.
2. Die gleiche Reaktion nach Acetylierung und Deacetylierung (Methodik zu 1. und 2. vgl. PEARSE).
3. Metachromatische Färbung nach HOLMGREN mit Toluidinblau (Methodik hierzu vgl. ROMEIS).
4. Acridinorange-Fluorochromierung am Schnittpräparat (Methodik hierzu vgl. SCHÜMMELFEDER).

Die Ergebnisse dieser Reaktionen und Färbungen ergeben sich aus Tabelle 1.

Tabelle 1. *Ergebnis histochemischer Untersuchungen*

Reaktion bzw. Färbung	Cytoplasmagranula
PAS-Reaktion.	stark positiv
PAS-Reaktion nach Acetylierung	positiv
PAS-Reaktion nach Deacetylierung	positiv
Färbung nach HOLMGREN mit Toluidinblau	Metachromasie
Acridinorange-Fluorochromierung	starke Rotfluoreszenz (= Basophilie)

Auf Grund der erzielten Ergebnisse — Basophilie, Metachromasie, positive PAS-Reaktion und dem Verhalten bei der Acetylierung und

Deacetylierung sowie auch dem morphologischen Befund muß geschlossen werden, daß in den Cytoplasmagranula der in Frage stehenden Zellen saure Mucopolysaccharide vorhanden sind. Bisher sind unseres Wissens als einzigste Zellelemente derartiger morphologischer Ausprägung, die isoliert im Zwischengewebe liegen und saure Mucopolysaccharide in granulärer Form enthalten, lediglich die *Mastzellen* bekannt.

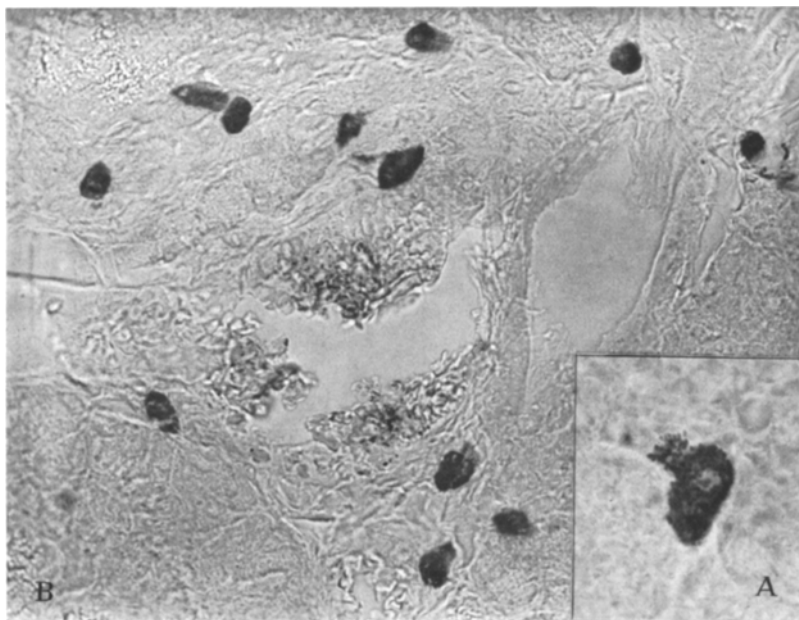


Abb. 3. Die granulierten Zellen des Stromagewebes der Rattenschilddrüse nach metachromatischer Färbung mit Toluidinblau.

Wir müssen daraus schließen, daß die mit Acridinorange rot fluoreszierenden Zellelemente Mastzellen darstellen. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit ähnlichen Feststellungen von DEMPSEY und SINGER an der Rattenschilddrüse.

Bei Ausdehnung der Untersuchungen auf andere Tierspecies konnten wir entsprechende Zellen bisher lediglich beim Fuchs zur Darstellung bringen. Es fanden sich hier schmale Zellen auf den Capillaren und im Stromagewebe, die einen dunklen Kern und ein bei der Holmgren-Färbung leuchtend rotviolett metachromatisch gefärbtes Cytoplasma besaßen. Die Farbtingierung war hier jedoch trotz gleicher Färbemethodik nicht so stark, wie bei den Zellen der Rattenschilddrüse. Auch waren die Zellen selbst kleiner. Die histochemischen Reaktionen ergaben das gleiche Ergebnis wie bei der Rattenschilddrüse.

Inwieweit bei der bekannten unterschiedlichen Empfindlichkeit der Mastzellengranula gegenüber Fixierungsmitteln das Vorhandensein oder Fehlen von Mastzellen bei den einzelnen Tierarten methodisch bedingt ist, wird von uns noch geprüft.

Bei der Ratte ist das Vorkommen und die Ausprägung der Mastzellen offenbar vollkommen unabhängig vom jeweiligen Funktionszustand der Schilddrüse. Es war daher von vornherein unwahrscheinlich, daß diese Zellen in Beziehung zur Funktion bzw. zum Funktionswechsel der Schilddrüse stehen. Um jedoch auch diese Frage nicht unberücksichtigt zu lassen, haben wir in orientierenden Versuchen an der Ratte geprüft, ob sich Form und Zahl der Mastzellen nach Gaben schilddrüsenprägender Stoffe verändern können. In den bisher durchgeführten Versuchen mit thyreotropem Hormon und Methylthiouracil ergab sich hierfür kein Anhalt.

Zusammenfassung

Bei fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen ließ sich die Gewebstruktur der lebenden Schilddrüse von Ratten mit den Fluorochromen Acridinorange und dioxyypyrendisulfosaurem Natrium differenziert darstellen. Im Fluoreszenzbild waren in Nachbarschaft der Gefäßbahnen rot leuchtende, granuliert Zellen zu beobachten, die histologisch und histochemisch als Mastzellen charakterisiert werden konnten. Die unter Hormongaben in Erscheinung tretenden histomorphologischen Veränderungen am Schilddrüsenparenchym und -kolloid wurden fortlaufend fluoreszenzmikroskopisch verfolgt. Während der Aktivierung der Schilddrüse durch thyreotropes Hormon fand sich eine Abnahme der Bindungsfähigkeit des Kolloids für dioxyypyrendisulfosaures Natrium sowie entsprechend den bisher an Hand histologischer Schnittpreparate geäußerten Vorstellungen eine Verbreiterung bzw. Erhöhung des Epithels. Mastzellen ließen sich bisher außer bei der Ratte nur noch in der Schilddrüse vom Fuchs nachweisen. An der Ratte war eine Beeinflussung von Form und Zahl dieser Zellen durch thyreotropes Hormon oder Methylthiouracil nicht festzustellen.

Literatur

BUKATSCH, FR., u. M. HAITINGER: *Protoplasma* (Berl.) **34**, 515 (1940). — DEMPSEY, E. W.: *Endocrinology* **34**, 27 (1941). — DEMPSEY, E. W., and M. SINGER: *Endocrinology* **38**, 270 (1946). — EICKHOFF, W.: *Schilddrüse und Basedow*. Stuttgart: Georg Thieme 1949. — *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **57**, 74 (1951). — *Virchows Arch.* **322**, 84 (1952). — HOLMGREN, H.: *Verh. anat. Ges.* **1937**. — *Z. wiss. Mikrosk.* **55**, (1938). — KOSENOW, W.: *Z. Kinderheilk.* **70**, 623 (1952). — *Acta haematol.* (Basel) **7**, 217 (1952). — KRACHT, J., u. U. KRACHT: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **213**, 429 (1951). — KREBS, A.: *Strahlenther.* **75**, 346 (1944). — *Naturwiss.* **34**, 59 (1947). — McMANUS, J. F. A.: *Nature* (Lond.) **158**, 202 (1946). — McMANUS, J. F. A., and J. E. CASON: *J. of Exper. Med.* **91**, 651 (1950). — OKKELS, H.: *Skand. Arch. Physiol.* (Berl. u. Lpz.) **69** (1934). — *La glande thyroide*. Paris:

Act. scient. et ind. 1936. — PEARSE, A. G. E.: Histochemistry, Theoretical and Applied. London: J. & A. Churchill 1953. — PERNER, E. S.: Studien über die Aufnahme und Speicherung sulfosaurer Fluorochrome durch lebende Pflanzenzellen und Gewebe. Diss. Münster 1949. — PFAFF, W., u. W. HEROLD: Beitr. Klin. Tbk. **87**, 519, 524 (1936). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München: Leibniz 1948. — SCHÜMMELFEDER, N.: Naturwiss. **35**, 346 (1948); **36**, 58 (1949). — Virchows Arch. **318**, 119 (1950); **319**, 294 (1950). — Verh. dtsh. Ges. Path. **33**, 65 (1949). — SCHÜMMELFEDER, N., u. K.-B. PFENNINGS: Mikroskopie (Wien) **4**, 202 (1949). — STAUDENMAYER, TH.: Naturwiss. **37**, 70 (1950). — STOCKINGER, L.: Mikroskopie (Wien) **4**, 53 (1949). — STRUGGER, S.: Arch. exper. Zellforsch. **19**, 199 (1937). — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Fiat-Berichte (Pflanzenzellen). Wiesbaden 1948. — Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover: M. & H. Schaper 1949. Dort weitere Literatur. — SUNDER-PLESSMANN, P.: Basedow-Studien. Berlin: Springer 1941.

Professor Dr. W. EICKHOFF, Pathologisches Institut Duisburg

Professor Dr. N. SCHÜMMELFEDER,

Patholog. Institut der Universität Bonn a. Rh., Venusberg