

AUS DEM ANATOMISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT IN UPSALA.

---

# **BEOBACHTUNGEN AN THYMUSKULTUREN IN VITRO.**

---

VON

**ANDERS L. WASSÉN,**  
UPSALA.

---

*Mit 15 Figuren auf den Tafeln 23/27.*

---

Ein neues wertvolles Hilfsmittel, das bisher nur in geringem Masse für noch schwebende, histologische Fragen in Anspruch genommen worden ist, bildet die von Harrison angegebene, dann von Carrel, Burrows u. a. weiter ausgearbeitete Methode der Kultur von Geweben ausserhalb des Organismus, „in vitro“. Zwar darf man nie ausser acht lassen, dass sich die wachsenden Zellen in derartigen Kulturen unter Verhältnissen befinden, welche in mehr als einer Beziehung von dem natürlichen Zustande abweichen. Andererseits aber bietet das Studium der wachsenden Zellen doch trotz derartiger Abweichungen im Milieu reiche Gelegenheit, über den feineren Bau, Wuchs, sowie über funktionelle Eigenschaften dieser Zellen Aufklärungen zu erhalten, die sonst überhaupt nicht oder nur auf Umwegen zu erlangen sind. Von besonderer Bedeutung erscheint mir die Methode als Kontrolle über Beobachtungen und Vorstellungen, die an dem fixierten Material gewonnen worden sind. Konstatiert man dieselben Erscheinungen bei den Zellen der lebenden Kultur, die man aus dem Verhalten der fixierten Gewebselemente herauslesen zu können vermeinte, so muss einem derartigen auf zwei verschiedenen Wegen gewonnenen, übereinstimmenden Resultat ein besonderer Wert zuerkannt werden.

Zu der Zeit, als ich auf Aufforderung des Herrn Professor Hammar im hiesigen anatomischen Institut vorliegende Untersuchung begann, lag, soweit mir bekannt war, kein Versuch in der Literatur vor, durch Anwendung dieser noch recht neuen

Methode das Verhalten der Thymusdrüse zu erforschen. Seitdem sind zwei Untersuchungen dieser Art veröffentlicht worden, die eine von Dustin und Baillez (1913: 1 u. 2), die andere von Pappenheimer (1913).

Dustin und Baillez haben mit dem Thymus von *Rana fusca* und *Bufo vulgaris* gearbeitet. Ihr Versuch dürfte jedoch kaum als eine Kultur in vitro, sondern eher als eine Modifikation von Dustins vorausgegangenen Transplantationsversuchen bezeichnet werden. Eine untergeordnete Bedeutung scheinen diese Autoren indessen dem grössten Verdienst der Kultur in vitro bei histologischen Arbeiten beigemessen zu haben, nämlich der Möglichkeit, das lebende Material direkt zu beobachten; denn sie haben bei ihren Versuchen das Organ nicht zerlegt, sondern den Thymus in toto kultiviert. Infolgedessen haben sie auch nicht eine aktive Auswanderung der Zellen von den Geweben in das Kulturmedium beobachten können; dieses Herauswachsen charakterisiert, gerade wie Carrel und Burrows mit Recht betonen, die Kulturen in vitro zum Unterschied von Versuchen mit überlebenden Organen. Dustin und Baillez glauben nichtsdestoweniger die Möglichkeit nachgewiesen zu haben, den Thymus von erwachsenen Amphibien zu kultivieren.

Pappenheimer dagegen hat Fragmente des Thymus vom Frosch und von der Ratte kultiviert und ein reichliches Wachstum der Zellen erhalten. Mit seinen Beobachtungen stimmen die meinen nun zum grössten Teil überein. In nachstehender Darstellung werde ich des öfteren Veranlassung haben, auf seine Resultate zurückzukommen.

---

## Eigene Untersuchungen.

### Technik.

Bei meinen Kulturen habe ich vorzugsweise Material vom Frosch (*Rana temporaria*) verwandt und zwar aus dem Grund, weil dieses Material leicht zu beschaffen ist, und weil die Technik ungemein leichter ist als bei der Gewebekultur warmblütiger Tiere. Die Präparate brauchen weder bei der Aufbewahrung noch bei der Beobachtung in einer bestimmten Temperatur gehalten werden. Ausserdem sind bei dem Frosch die leicht erreichbaren Lymphsäcke insofern vorteilhaft, als man daraus ohne weitläufige Vorbereitungen ein verwendbares Kulturmedium erhält. Aus ein paar an dem Thymus von Kaninchen in Blutplasma vom selben Tier vorgenommenen Serien von Voruntersuchungen habe ich in einzelnen Fällen ein Wachstum erzielt, das sich im allgemeinen den bei dem Frosch beobachteten Wachstumsphänomenen anschloss. In nachstehender Darstellung werden indessen hauptsächlich die am Frosch gewonnenen Erfahrungen geschildert werden.

Das von mir angewandte Verfahren lehnt sich der von Harrison ursprünglich verwendeten Technik, der Explantation der Gewebsfragmente in einem hängenden Lymphtropfen, nahe an. In einigen Fällen ist Carrels Methode, die Kultur zu regenerieren, dadurch dass man die gezüchteten Gewebe in Ringerscher Lösung wusch und sie dann in ein neues Medium einschloss, mit Erfolg angewandt worden.

Nur ausnahmsweise ist der Thymus für die Kultur so grossen Tieren entnommen, dass vom selben Individuum auch hinreichend Lymphe erhalten werden konnte. Meistens habe ich das Kulturobjekt sowie das Kulturmedium verschiedenen Individuen entnommen. Einen auffallenden Unterschied im

Wachstum bei Anwendung eines oder des andern Verfahrens habe ich nicht bemerken können, soweit das Tier, dem die Lymphe entnommen wurde, nicht zu alt war. Wurde die Lymphe von sehr grossen Tieren angewandt, so schien sich indessen eine Hemmung im Wachstum bemerkbar zu machen. Ähnliche Erfahrungen haben auch andere Untersucher sowohl an kaltblütigem als an warmblütigem Material gemacht. Betreffs des Thymus vom Frosch führt Pappenheimer jedoch eine hiervon abweichende Erfahrung an. Einige seiner besten Kulturen fanden gerade im Plasma von sehr grossen Fröschen statt. Die Tiere, denen die Lymphe entnommen wurde, wurden entweder durch Äthernarkose oder durch Ausbohren des Gehirns und des Rückenmarks getötet. Letzteres Verfahren hat den Vorteil, dass dem Blut oder der Lymphe auf diese Weise kein narkotisierender, differenter Stoff zugeführt wird, gleichzeitig aber wird der Rückenlymphsack, der meistens ergiebigste, geöffnet, und sein Inhalt vermischt sich in der Regel mit Blut. Auch in den Seitensäcken machen sich in derartigen Fällen gleiche Übelstände bemerkbar. Eine greifbar schädliche Einwirkung der Narkotisierung auf das Wachstum habe ich dagegen nicht beobachten können. Nachdem der Frosch getötet war bzw. während der Narkose wurde er eine Weile in senkrechter Stellung aufgehängt. Die Lymphe sammelte sich dann in den unteren Teilen der Säcke und wurde hiervon in sterilen paraffinierten Pipetten aufgenommen. Die Säcke wurden an ihrem oberen Teil mittels eines breiten quer durch die Haut laufenden Schnittes geöffnet. Der untere Rand der Wunde wurde mit einer sterilen Pinzette herabgezogen. In die so gebildete dreieckige Öffnung wurde die Pipette eingeführt, wobei eine Berührung der Wundränder vermieden wurde. Auf diese Weise habe ich sterile Lymphe erhalten können, ohne besondere Vorsichtsmassregeln gegen Infektion von der Einschnittsstelle aus treffen zu brauchen.

Der für die Kultur verwendete Thymus ist im allgemeinen jungen Tieren entnommen worden. Ich habe für diesen Zweck teils kleine, ausgebildete Frösche, teils Froschlarven angewandt.

Bei den ausgebildeten Fröschen liegt der Thymus am hinteren Rande des *M. mylohyoideus*, medial vom Kiefergelenk. In der Furche, die nach Entfernen der Haut zwischen dem Unterkiefer und dem Zungenbeinapparate hervortritt, wird am Kiefergelenk je nach dem Nahrungszustand des Tieres ein weisslicher oder graugelatinöser runder Körper angetroffen, der an einem Gefässstiel fest sitzt, im übrigen aber von lockerem Bindegewebe umgeben ist. Das ist der Thymus. Bei gut ernährten Tieren ist dieser stecknadelkopfgross oder auch grösser und verhältnismässig dick. Bei weit vorgeschrittener Involution ist er dünn und von so geringem Umfang, dass man ihn oft nur mit Schwierigkeit finden kann. Selbstredend muss man bei der Entfernung des Thymus für die Kultur in vitro eine möglichst genaue Asepsis beobachten. Ich habe bei meiner Arbeit die Haut durch Brennen mit einem heissen Spatel sterilisiert und dann mit sterilen Instrumenten weitergearbeitet. Das Tier ist vorher durch Ausbohren des Gehirns und des Rückenmarks getötet worden.

Bei den Froschlarven findet man den Thymus zwischen der Knorpelkapsel des inneren Ohres und dem Kiemenapparat. Er ist beträchtlich kleiner, sonst aber in Form und Aussehen dem des ausgebildeten Frosches gleich. Das Herauspräparieren ist bei den etwas älteren Larven am leichtesten und geschieht folgendermassen. Mit zwei Schnitten isoliert man an dem in Ätherwasser narkotisierten Tier eine gleich hinter dem Auge liegende keilförmige Partie. Man fährt mit der Dissektion unter dem Präpariermikroskop fort und findet dann in dem isolierten Stück die leicht erkennbare Knorpelkapsel, sowie unmittelbar ventrocaudal von dieser einen kleinen runden, weisslichen Körper, der der Thymus ist. Die Verwendung der Organe von

Froschlarven ist für das Wachstum günstig, erschwert aber die Sterilisierung des Präparates. Durch wiederholtes Spülen des Embryos in sterilem Wasser, sowie durch Waschen des exstirpierten Thymus in steriler, isotonischer Flüssigkeit ist es mir unter Beobachtung aseptischer Vorsichtsmassregeln im übrigen gelungen, praktisch genommen, bakterienfreie Präparate zu erzielen. Viele Kulturen haben bei längerer Aufbewahrung keine Spur von Infektion gezeigt; andere dagegen sind durch Bakterien zerstört worden, jedoch erst so spät, dass die Präparate für Beobachtungen noch verwendet werden konnten; wieder andere sind allerdings von Anfang an mit Bakterien überschwemmt und getötet worden<sup>1)</sup>.

Unmittelbar nach der Exstirpation ist der, gleichviel ob dem ausgebildeten Frosch oder der Froschlarve entnommene Thymus in eine Schale mit steriler, isotonischer oder schwach hypertotonischer Kochsalzlösung oder in Ringersche Lösung gelegt, worin er unter dem Präpariermikroskop in kleinere Stücke zerteilt wurde. Isotonische Kochsalzlösung ist jedoch gewissermassen eine differente Flüssigkeit, was auch Carrel und Burrows (1911, 3) betonen, deshalb muss die Isolierung schnell vor sich gehen, wenn das Gewebe am Leben erhalten bleiben soll. Die Ringersche Lösung ist ein viel unschädlicheres Medium und von grossem Wert, wenn man von ein und demselben Organ eine grössere Anzahl Kulturen anlegen will, weil man in diesem Fall hoffen darf, auch bei den zuletzt angefertigten Präparaten ein Wachstum erzielen zu können. Eine gewisse Schwierigkeit, die Ringersche Lösung steril

---

<sup>1)</sup> Dustin und Bailleux berichten, dass in infizierten Präparaten eine sehr schnelle Histolyse, schneller als eine aseptische postmortale Autolyse vor sich gehe. Sie sprechen von einem Verschwinden der Gewebe innerhalb 24—26 Stunden. Eine derartig schnelle Cytolyse habe ich nicht beobachten können. Oft sind noch Gewebe, die 14 Tage lang aufbewahrt wurden, trotz zahlreicher Bakterien, freilich etwas alteriert, aber doch mit deutlicher Charakteristik, vorgefunden worden.

zu erhalten, hat sich jedoch herausgestellt. Beim Kochen oder Erhitzen im Autoclave zerteilt sich das Natriumbikarbonat, wobei Kohlensäure freigemacht wird, und diese fällt das Kalciumsalz. Auch die Methode, die Salzmischung trocken zu sterilisieren, ergibt eine Zerteilung des Natriumbikarbonats in Natriumkarbonat und Kohlensäure. Um die Lösung möglichst steril zu erhalten, habe ich folgendes Verfahren angewandt. Der wärmefeste Komponent der Lösung ist durch Kochen für sich sterilisiert worden. Nach Abkühlung wurde eine bestimmte Menge einer in sterilem Wasser zubereiteten konzentrierten Lösung von Bikarbonat oder von dem trockenen Salz hinzugefügt. In letzterem Fall habe ich das Salz oft vorher einige Zeit mit Schwefeläther behandelt, der vor der Vermischung gänzlich verdunstet wurde. Das Ergebnis war befriedigend.

Beim Zerschneiden des Thymus ist es wichtig, scharfe Instrumente anzuwenden, so dass die mechanische Läsion auf das möglichste beschränkt wird. Oft genug dürfte ein ausgebliebenes Wachstum gerade in zu starkem Zerreißen beim Zerschneiden zu suchen sein. Aus demselben Grund dürfte es auch verfehlt sein, die zu explantierenden Gewebstücke so klein wie möglich herzurichten. Bei jedem Einschnitt quillt eine Menge frei gemachter Zellen, meist Lymphocyten, hervor, ein Kennzeichen, dass man es mit dem richtigen Organ zu tun hat. Bei älteren Froschlarven kann nämlich recht leicht eine Verwechslung unter anderem mit Teilen der vorderen Extremitätenanlage vorkommen. Nach der Isolierung werden die Thymuspartikel mit sterilen Instrumenten in einer feinen Pipette oder auf der Spitze einer Lanzette auf ein steriles Deckgläschen gebracht. Ein Tröpfchen Lymphe wird sofort darüber gegossen. Nachdem die Lymphe geronnen ist, wird das Deckgläschen umgestülpt und auf die Aushöhlung eines ausgeschliffenen sterilen Objektträgers gelegt. Um Verdunstung und Infektion zu verhindern, wird ein Paraffinrahmen rings um das



Deckgläschen gegossen. Das Präparat wird in gewöhnlicher Zimmertemperatur und -beleuchtung aufbewahrt.

Die Beschaffenheit der Lymphe ist von grosser Bedeutung. Dass es am vorteilhaftesten ist, sie einem jungen Tier zu entnehmen, wurde schon erwähnt. Ein gutes Resultat kann aber auch unter diesen Verhältnissen meistens nur dann erzielt werden, wenn die Lymphe ein festes Gerinnsel ergibt, das dem Gewebe des Explantats und den herauswachsenden Zellen eine genügende Stütze gewährt. Der Fibrinogengehalt der Lymphe scheint in entgegengesetzter Richtung wie die Lymphmenge des Tieres zu wechseln. Am besten ist die Lymphe, welche nur in spärlicher Menge vorhanden ist. Bei grossem Lymphreichtum dagegen wird das Gerinnsel lose und locker, und nach einigen Tagen findet man keine ganze Menge Zellen frei im Lymphtropfen herumfliessen. Ein üppiges Wachstum ist selten in einem derartigen Präparate erzielt worden.

Zwei Serien Präparate zu je 6 Stück habe ich unmittelbar bzw. einen Tag nach Anfertigung einer Röntgenbestrahlung ausgesetzt, um den Zerfall der Lymphocyten zu beschleunigen, ohne dadurch die Reticulumzellen beträchtlich zu schädigen. Bei relativ weichen Röhren (Bauer 7—9) sowie mit einer etwa 27 cm weiten Entfernung der Röhre von dem Präparate wurde eine Bestrahlungszeit von bzw. 14—20 Minuten entweder auf einmal oder in 2 Séancen an verschiedenen Tagen zur Erreichung dieses Zweckes angewandt.

Vergleichshalber habe ich Kulturen von verschiedenerlei Geweben, der Milz, dem intermuskulären und anderer institiellen Bindegewebe, sowie der Epidermis angelegt. Die Ergebnisse dieser speziellen Untersuchungen finden, insofern sie zur Erläuterung meiner Hauptaufgabe, des Thymusstudiums, beitragen, weiter unten Berücksichtigung.

Schliesslich mag hier noch ein paar Versuchen Erwähnung getan werden, die ich vornahm, um durch Ausbreiten einer

dünnen Farbschicht (von Neutralrot oder Brilliantkresylblau) auf dem Deckglas nach Nakanishis Methode eine vitale Färbung des wachsenden Gewebes hervorzubringen. Wie Pappenheimers entsprechende Vitalfärbungsversuche misslangen auch die meinen, das Wachstum des betreffenden Präparates blieb aus. Ich war deshalb auf die fixierten Kulturen bei meinen Färbungsversuchen angewiesen. Die Fixierung geschah entweder nach einer kurzen Behandlung mit Formalindämpfen in Formalin (1:10) oder durch Osmiumdämpfe. Die Färbung wurde dann mit Hämatoxylin und Scharlachrot ausgeführt. Die Untersuchung dieser Präparate geschah meistens in Glycerin.

### Beobachtungen.

Gleich nach Anfertigung des Präparates können keine aktiven Lebenszeichen an den Zellen bemerkt werden, etwa nach 2—4 Stunden jedoch beginnen einzelne Zellen mit deutlich lymphocytärem Charakter auszuwandern. Diese Auswanderung wird nach und nach lebendiger, und nach 12 Stunden sieht man rings um die Schnittfläche des explantierten Fragmentes einen breiten Saum derartiger Zellen (Taf. 23/24, Fig. 1). Unter diesen Zellen kann man oft auch grössere leukocytärer Natur, teils ungranulierte Formen, teils Formen mit zahlreichen, gleichmässig grossen, glänzenden Granula, zweifellos eosinophile Leukocyten erkennen. Dem Gewebestück zunächst sind die Zellen in mehreren Schichten aufgelagert, nach aussen zu wird die Zellenmasse dünner, so dass die Zellen ganz zu äusserst in der Peripherie nur recht spärlich verstreut liegen. Hier trifft man meistens die schönsten Wanderungsformen an. Die Dichtigkeit des in dieser Weise entstandenen Zellensaums rührt in gewisser Beziehung von der speziellen Konstitution des vorliegenden Organs her.

Hinsichtlich des oben Gesagten mag hier daran erinnert

werden, dass das Organ nach seiner frühzeitig beendeten „lymphoiden“ Umwandlung freilich immer noch aus einem zellulären Reticulum mit zwischen den Reticulumzellen liegenden Lymphocyten besteht, dass aber je nach dem Alter und dem oft — u. a. nach den Jahreszeiten — wechselnden Ernährungszustand des Tieres innerhalb des Rahmens dieses allgemeinen Baues die Struktureinheiten sehr erheblich variieren (Alters-, accidentelle und Saisoninvolution). Die Reticulumzellen sind während des Larvenstadiums von verhältnismässig einheitlicher Beschaffenheit, wandeln sich aber mit zunehmendem Alter in beträchtlicher Anzahl in andere differente Zelltypen von epithelialer Beschaffenheit um, namentlich in Flimmer- und Schleimzellen, sowie in Zellen von myoider Struktur. In den späteren Stadien der Altersinvolution nimmt die Anzahl der Lymphocyten gleichfalls ab. Die accidentelle Involution, sei es nun, dass sie den Charakter der Saisoninvolution trage oder nicht, wird dagegen mehr ausschliesslich durch eine progrediente Rareficierung der Lymphocyten innerhalb des Organes gekennzeichnet.

In Übereinstimmung hiermit ist bei einem etwas hochgradiger involvierten Thymus der zuerst auswandernde Zellenbestand geringer. Es scheint jedoch, als ob diese starke Lymphocytenausfuhr aus dem Fragment nicht in ihrem ganzen Umfang von einer aktiven Wanderung der Zellen abhinge. In gewissen Kulturen finden sich schon nach kurzer Zeit in der dichten Masse der freiliegenden Zellen, die das explantierte Gewebe umgeben, Lymphocyten von runder Form und mit pyknotischem Kern, die durchaus keine aktive Bewegung zeigen. Bisweilen können auch runde, myoide Zellen, die bei weiterer Beobachtung keine wesentlichen Veränderungen der Form aufweisen, frühzeitig ausserhalb des Thymusexplantates gefunden werden. Bei Kultur der Milz wird oft beobachtet, wie sich das bei der Explantation rote Gewebestück nach und nach entfärbt, während

sich gleichzeitig rote Blutkörperchen ausserhalb des Randes auflagern. In der Masse sich nicht von Anfang an derartige freie Zellen ohne Anzeichen selbständiger Bewegung in dem Präparat finden und also ganz einfach bei der ersten Präparation des Gewebefragmentes freigemacht wurden, scheint ihr Auftreten darauf hinzudeuten, dass ausser der zweifellos stattfindenden rein aktiven Auswanderung auch eine mechanische Auspressung loser Zellen vorkommen kann. Diese könnte auf eine Retraktion von Elementen in dem Gewebe oder ausserhalb desselben und auf einen dadurch erhöhten Gewebedruck zurückzuführen sein. Innerhalb des Gewebes kommen in dieser Beziehung zunächst wohl die Gefässe und das perivaskuläre Bindegewebe, vielleicht auch in gewissem Masse das Thymusreticulum selbst in Betracht. Eine Retraktion der Fibrinfäden in dem das Gewebe umgebenden Lymphgerinnsel könnte vielleicht in gleicher Weise wirken. Eine derartige passive Auspressung der Zellen findet jedoch in gut gelungenen Präparaten niemals allein statt. Neben solchen runden unbeweglichen Lymphocyten mit pyknotischem Kern kommen andere lappenförmige vor, die verhältnismässig schnelle Formveränderungen zeigen. Es ist leicht, sich durch eine von Zeit zu Zeit vorgenommene Abzeichnung eines Gesichtsfeldes zu überzeugen, dass es sich bei den derartigen Zellen nicht nur um Form-, sondern auch um Ortsveränderungen handelt, mit anderen Worten, dass diese Zellen wirklich wandern. Wenn diese Wanderung nun auch nach verschiedenen Richtungen hin vor sich geht, so ist doch das hauptsächliche Ergebnis eine exzentrische Verbreitung der Zellen von dem Geweberand nach aussen hin.

Bei Kultur des Thymus in toto von jungen Froschlarven scheint die Thymuskapsel kein absolutes Hindernis für eine aktive Auswanderung der Lymphocyten zu sein; man sieht, wenn auch in verhältnismässig geringem Massstab, derartige Zellen quer durch die Kapsel das Organ verlassen. Der Thymus

ausgewachsener Tiere hat eine festere Kapsel und in solchen Kulturen kann eine Auswanderung nur an den Schnittflächen beobachtet werden; man sucht vergebens nach emigrierenden Zellen von solchen präformierten Flächen, wo die Kapsel vorhanden ist. Dustin und Baillez haben, wie früher erwähnt, das unzerteilte Organ ausgewachsener Frösche verwendet und gefunden, „dass die kleinen Thymuszellen niemals die Tendenz zeigen, das Organ zu verlassen. Sie werden sehr leicht in loco besonders im Centrum des Organs durch Pyknose und Karyolyse zerstört“. Dieses stimmt mit meinen Beobachtungen soweit wohl überein. Diese Beobachtungen zeigen jedoch auch, dass das negative Resultat erwähnter Autoren keineswegs in einer mangelnden Wanderungsfähigkeit der Lymphocyten zu suchen ist, sondern nur in der Unzweckmässigkeit, das Organ bei der Kultur unzerteilt anzuwenden.

Die hier geschilderte Zone der ausgewanderten Lymphocyten verändert innerhalb des Präparates nach und nach ihre Lage, insofern als die meisten Lymphocyten sich allmählich in tiefere Teile des Gerinnsels senken. In erster Linie betrifft diese Lageveränderung die runden pyknotischen Zellen, die von Anfang an vorhanden waren oder später entstanden sind, aber auch die lebenden Lymphocyten gelangen zum grössten Teil in die unteren Abschnitte des Gerinnsels, wo sie fortwährend herumkriechen. Diese Verschiebung der Zellenmasse nach unten scheint offenbar unter Einwirkung der Schwerkraft zustande zu kommen und wird oft durch eine gleichzeitig statthabende partielle Auflösung des stützenden Fibrinnetzes erleichtert. Eine derartige weit vorgeschrittene Verflüssigung macht sich durch Strömungen der Zellen in dem Lymphmedium bei Bewegungen des Präparates bemerkbar. Auf diese Weise werden die Ränder des explantierten Stückes in der oberen Schicht mehr oder weniger von den Lymphocyten gereinigt. Hierdurch wird es auch leichter, das zu gleicher Zeit beginnende Herauswachsen der Reticulumzellen zu beobachten.

Nach einer Latenzperiode, deren Dauer meistens zwischen 1—3 Tagen wechselt, beobachtet man die ersten Zeichen eines Herauswachsens der Reticulumzellen. Aus dem freien Rande des Thymusstückes sieht man auf verschiedenen Stellen feine, protoplasmatische Fortsätze herausdringen. Sowohl bei diesem ersten Herauswachsen als auch immer weiterhin geschieht diese Verschiebung der Reticulumzellen hauptsächlich in einer Ebene dicht unter dem Deckgläschen und zwar meistens in so unmittelbarer Nähe an der unteren Fläche desselben, so dass man den Eindruck hat, als benutzten die Zellen diese als eine Art Gleitebene. Die Fortsätze verdicken und vergrössern sich; meistens dauert es nicht lange, so liegt auch der zugehörige Zellkörper ausserhalb des Geweberandes, und bald folgen ihm andere nach (Taf. 23/24, Fig. 2). In verschiedenen Präparaten zeigt dieser Auswuchs eine verschiedene Intensität, und im Zusammenhang hiermit sind die hervorwachsenden Zellkomplexe von verschiedenartigem Aussehen. Bei sonst gleichem Verhalten scheint der Auswuchs bei dem Thymus gut ernährter Tiere am kräftigsten zu sein, bei Organen dagegen, die sich in accidenteller Involution befinden, pflegt er auffallend schwach auszufallen.

Die hervorwachsenden Reticulumzellen bilden in der Regel ausserhalb des Thymusstückes einen Zellenverband von wechselnder, aber charakteristischer Anordnung. Die Zellen liegen nicht selten Rand an Rand wie ein geschlossenes Epithel (Taf. 23/24, Fig. 3). In anderen Fällen sieht man in solchen epithelialen Zellenverbänden grössere oder kleinere Lücken, die dann oft von fäden- oder hautähnlichen Fortsätzen durchkreuzt werden, und diese verbinden die Zellen (Taf. 27, Fig. 14). Derartige Gebilde stellen einen Übergang zu andern dar, wo die Zellen gelockert sind, verzweigte Formen haben und sich allseitiger zu einem Reticulum verbinden (Taf. 25/26, Fig. 10). Diese eben erwähnte reticuläre Anordnung habe ich vor allem

in Kulturen des Thymus vom Larvenstadium angetroffen. Auch wo die Zellen von Anfang an vereinzelt oder in kleineren Gruppen hervorgewachsen sind, bilden sie nicht selten durch sekundäres Zusammenschliessen grössere oder kleinere Zellenkomplexe eines oder des anderen Typus (Taf. 27, Fig. 13).

Überhaupt ist das Verhalten dieser herauswachsenden Reticulumzellen von ausserordentlich grosser Veränderlichkeit, diese ist meistens so erheblich, dass es auf grosse Schwierigkeiten stösst, auch mit Hilfe der Camera ein exaktes Bild eines Gesichtsfeldes aufzunehmen. Ehe das Bild abgeschlossen werden kann, hat sich der zuerst abgezeichnete Teil nicht selten bereits verändert, bisweilen sogar zur Unkenntlichkeit. Zellen, die in einem Augenblick weit voneinander entfernt liegen, vielleicht durch einen das ganze Gesichtsfeld durchkreuzenden Fortsatz miteinander verbunden, können sich verhältnismässig schnell nähern und so eng zusammenfügen, dass eine derartige Verbindung nicht mehr zu entdecken ist. Oder auch lösen sich die Verbindungen — eine oder mehrere — und die Zelle zeigt sich nun als ein freies, hauptsächlich sphärisches Gebilde (Taf. 23/24, Fig. 7, Zelle a). Durch längere Beobachtung derartiger Zellen eventuell mit Hilfe von Camerazeichnungen habe ich wiederholt feststellen können, dass so eine einmal freigemachte, sphärische Zelle durch hervorgeschobene Fortsätze aufs neue mit naheliegenden Zellen in Verbindung treten kann, was nicht ohne prinzipielle Bedeutung ist; ich werde weiter unten darauf zurückkommen (Taf. 25/26, Zelle c in Fig. 9 A—G).

Man könnte im Zweifel sein, ob sich dasjenige Verhalten der Reticulumzellen, worum es sich hier handelt, mit der Bezeichnung „Wachsen“ am besten deckt. Vielleicht könnte man es mit derselben Berechtigung als ein Wandern bezeichnen. Bilder, die mit Sicherheit auf eine Zellenteilung oder eine Zellenvermehrung zurückgeführt werden können, sind in dem lebenden Material nicht beobachtet worden. Eine Zerlegung einer an-

scheinend einheitlichen Protoplasamasse könnte sehr leicht als Ausdruck einer Zellteilung gedeutet werden. Eine derartige Masse ist jedoch oft lediglich durch intimes Zusammenfügen zweier Zellen entstanden, deren Kerne durch überlagerte Protoplasmastrukturen verborgen sind, und deren Grenzen sich temporär den Beobachtungen entziehen und die Teilung ist dann nur eine scheinbare. Dagegen habe ich nach der Fixierung und Färbung der Gewebekulturen in einzelnen Fällen in diesen Zellen das Vorkommen von Mitosen feststellen können. Pappenheimer berichtet von einer gleichen Beobachtung. Was man eigentlich in dem lebenden Präparat sieht, ist ein Herausdringen der Reticulumzellen, Form- und Lageveränderungen derselben, sowie das mit diesen Veränderungen verbundene oben angedeutete Wechseln im gegenseitigen Verhalten der Zellen — alles Erscheinungen, die in vielerlei an amöboide Bewegungssphänomene erinnern. Auch in Einzelheiten finden sich derartige Ähnlichkeiten. Die Fortsätze bestehen anfangs aus einem körnchenfreien Ektoplasma, oft von so schwacher Lichtbrechung und äusserster Durchsichtigkeit, dass eine scharfe Beobachtung bei genau angepasster Beleuchtung erforderlich ist, um diese delikaten Gebilde in ihren feinsten Verzweigungen verfolgen zu können. Erst sekundär kann das körnige Endoplasma in so einen Fortsatz hineinströmen und diesem dadurch mehr „Korpus“ verleihen. Trotz dieses amöboiden Charakters bei den Fortsätzen der Reticulumzellen weicht der Typus derselben doch erheblich von dem der Pseudopodien der Lymphocyten ab. Während letztere meistens einen ausgeprägt runden, zungen- oder lappenförmigen Charakter haben (Taf. 23/24, Fig. 1, 4), wie ihn H a m m a r (1907) in seinen Konturzeichnungen wiedergegeben hat, zeigen sich die Fortsätze der Reticulumzellen, bald als feine, in Spitzen ausgestreckte, nicht selten zu den feinsten Fibrillen ausgespinnene Fäden (Taf. 23/24, Fig. 4, 5, 7; Taf. 27, Fig. 13), bald als dünne



durchsichtige Häute (Taf. 23/24, Fig. 6), die an ihren freien Rändern häufig Fransen derartiger Fäden tragen. Lässt man das Präparat nach und nach spontan absterben, so lösen die meisten Reticulumzellen ihre Verbindungen, runden sich ab und treten als freiliegende Sphären im Präparate auf; bei sofortiger Fixierung mit Osmium- oder Formalindämpfen können die Fortsätze, wenn auch nicht immer in ihrer ganzen ursprünglichen Eleganz, konserviert werden.

Mit dem amöboiden Charakter der Formveränderungen der Reticulumzellen hängen wahrscheinlich auch ihre ausgeprägten phagocytären Eigenschaften zusammen, ein Umstand, worauf ich weiter unten zurückkommen werde. Wenn ich trotz des oben Angeführten nichtsdestoweniger oben von dem Verhalten der Reticulumzellen als von einem Wachsen gesprochen habe, und ich es auch weiterhin tun werde, so habe ich dafür mehrere Gründe. Nicht nur, weil ich dem Beispiel der meisten anderen Untersucher auf dem Gebiet der Kultur *in vitro* folge. Der expansive Charakter des Prozesses selbst und der Umstand, dass Mitosen doch faktisch vorkommen, berechtigen die angewandte Bezeichnung, die auch insofern angebracht erscheint, als sie das Verhalten der Lymphocyten und der Reticulumzellen, das der ersteren als ein Auswandern, das der letzteren als ein Herauswachsen, auch terminologisch scharf auseinanderzuhalten erlaubt.

Gleichzeitig mit dem Hervorwachsen der Reticulumzellen findet meistens eine stetige, wenn auch nunmehr verringerte Auswanderung der Lymphocyten statt. In vielen Kulturen, wo sich Reticulumzellen und Lymphocyten in demselben Plan befinden, macht man oft Beobachtungen, die den Gedanken an das Vorkommen einer positiven Cytotaxis zwischen denselben aufkommen lassen könnten. Um eine Reticulumzelle herum kann man einzelne Lymphocyten kriechen sehen, die, wie man bei weiterer Beobachtung konstatieren kann, häufig um ein und dieselbe

Zelle herumkreisen (Taf. 23/24, Fig. 6). Diesen Umstand habe ich in fast noch frappanterer Weise bei der Kultur von dem Kaninchenthymus angetroffen. Von Zeit zu Zeit sieht man, wie zwischen beiden Arten von Zellen ein sehr intimer Kontakt stattfindet. Der Lymphocyt legt sich an die Reticulumzelle an, die Grenze zwischen ihnen wird undeutlich, so dass der Lymphocyt wie eine gerundete Ausbuchtung auf der Kontur der grösseren Zelle aussieht. Nach ein paar Minuten wird der Kontakt wieder gelöst und der Lymphocyt nimmt wieder seine kriechende Form an. Eine wirkliche protoplasmatische Verbindung scheint jedoch nicht stattzufinden; die Grenze zwischen den Zellen kann mit einem Male wieder deutlich werden. Niemals habe ich bei einer derartigen Trennung eines Lymphocyten von einer Reticulumzelle sich eine Protoplasmabrücke zwischen ihnen bilden, ausdehnen und brechen gesehen, wie es ja der Fall zu sein pflegt, wo eine wirklich plasmatische Verbindung gelöst wird; ferner habe ich niemals einen Übergang von Plasmabestandteilen von der einen zu der andern Zelle beobachten können. Die Bedeutung der hier erwähnten Erscheinungen werde ich späterhin etwas näher erörtern.

Wie schon früher erwähnt, ist die Emigration der Lymphocyten aus dem Explantat die ersten Tage nach dem Einlegen am lebhaftesten; sie nimmt aber bald ab, und im Zusammenhang hiermit degenerieren eine ganze Reihe der schon ausgewanderten Zellen. Die Auswanderung fährt jedoch, wenn auch in erheblich geringerem Massstab, während der ganzen Lebensdauer des Präparates fort; diese Lebensdauer kann unter günstigen Bedingungen 14 Tage währen. Nach Waschen des eine Woche alten Präparates mit Ringerscher Lösung, sowie nach Applikation von neuer Lymphe nach der Carreischen Methode konnte die interessante Beobachtung gemacht werden, dass in Kulturen, wo fast alle Lymphocytenauswanderungen bereits aufgehört hatten, nicht nur das Herauswachsen der Reti-

culumzellen aufs neue begann, sondern dass auch wanderfähige Lymphocyten das reexplantierte Gewebe aufs neue verliessen. Es scheint also, als ob in gewöhnlichen Fällen nicht alle Lymphocyten das Thymusexplantat verliessen. In einem neu angefertigten Präparat des normalen Thymus sind innerhalb des Gewebestückes die kleinen Zellen in der Regel dominierend. Die Reticulumzellen treten da nur als zellenärmere, durchsichtigere Stellen im Präparat auf. Während die Lymphocyten innerhalb des Gewebes durch die Auswanderung nicht nur rarefiziert werden, sondern, wie es den Anschein hat, auch bis zu einem gewissen Grad durch Degeneration und Zerfall in loco verschwinden, erhält das Explantat nach und nach ein oft auffällig verändertes Aussehen. Die Reticulumzellen werden allmählich immer deutlicher und in gewissen gelungenen, älteren Präparaten erhält man sozusagen ein fast reinkultiviertes Reticulum, wo man vorzugsweise Reticulumzellen gewissermassen hypertrophiert und mit ihren Fortsätzen schön durcheinander verflochten findet.

So lange die Lymphocyten sich aktiv zu bewegen vermögen, behalten sie ihre typische Lymphocytenstruktur bei. Sie zeigen in der Ruheform einen abgerundeten Kern mit deutlicher Kernmembran und stark lichtbrechenden intranukleären Chromatinpartikeln, ausserhalb des Kernes findet sich ein schmaler Protoplasmasaum. Beim Herumkriechen der Zelle schickt das Protoplasma kleine Fortsätze aus; der Kern dehnt sich in die Länge und zeigt auffallende Längsstreifen, die auf eine Faltung der Kernmembrane und auf eine Längsstreckung der Fäden des chromatischen Kernnetzes zurückzuführen sein dürften. Bei Degeneration treten Veränderungen in der Lichtbrechung der Zellen ein, was sich hauptsächlich auf zwei verschiedene Weisen markiert. In einem Fall verschwindet die heterogene Lichtbrechung des Kernes; der Kern bekommt ein homogenes pyknotisches Aussehen und hebt sich scharf von dem Protoplasma

ab. Diese Degenerationsform ist die gewöhnlichere. Im anderen Fall dagegen verliert die ganze Zelle ihre starke Lichtbrechung, schwillt an und erhält eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Stroma eines roten Blutkörperchens. Oft zeigen diese Zellen in der Peripherie ein bis zwei glänzende Körnchen. Diese Beobachtungen der verschiedenen Degenerationsarten der Lymphocyten stimmen mit den diesbezüglich geschilderten Beobachtungen meiner Vorgänger Dustins und Baillez als auch Pappenheimers in vieler Hinsicht überein. In ein und demselben Präparat kann man Degenerationsbilder beider Arten finden; die Bedingungen, die die eine oder die andere Form hervorrufen, weiss ich nicht anzugeben. Die pyknotischen Zellen neigen in kurzer Zeit zum Zerfall, indem sich Tropfen von derselben Lichtbrechung wie der des Kernes abzutrennen beginnen. Derartige runde Tropfen in lebhafter Brownscher Molekularbewegung werden in dem umgebenden Lymphmedium angetroffen. In dem Protoplasma der Reticulumzellen finden sich Körnchen von gleicher Struktur, Färbbarkeit und von gleicher Lichtbrechung, die offenbar durch Phagocytose aufgenommen worden sind.

Der Zerfall der Lymphocyten bleibt niemals aus; anscheinend rührt er von einer den Lymphocyten eigenen, labilen Beschaffenheit her; er kann aber durch äussere Faktoren beschleunigt werden. Nach einer längeren Behandlung mit isotonischer Kochsalzlösung sind die Lymphocyten zum grössten Teil schon beim Einlegen pyknotisch, was auch nach einer schweren mechanischen Läsion des kultivierten Stückes der Fall ist. Dieses zeigt sich auch gewöhnlich darin, dass aktiv auswandernde Lymphocyten in geringerer Menge als sonst vorhanden sind. Ringersche Lösung ist, wie erwähnt, diesbezüglich ein erheblich indifferenteres Medium.

Eine andere Art und Weise, den Zerfall der Lymphocyten zu beschleunigen, ist die Röntgenbestrahlung der Gewebe-

kulturen. Heinekes, Rudbergs, Regauds und Crémieus Bestrahlungsergebnisse berücksichtigend, ist es mir ebenfalls gelungen, durch eine richtig abgepasste Bestrahlungszeit einen Zerfall der Lymphocyten ohne gleichzeitiges Abtöten der Reticulumzellen zu erreichen. Schon zwei Stunden nach der Bestrahlung konnte man Pyknose und Zerfall in vorher aktiven Wanderungszellen beobachten. Dass beim Zerfall auch die im Inneren des Gewebestückes befindlichen Lymphocyten in Mitleidenschaft gezogen wurden, ging daraus hervor, dass die Reticulumzellen im Gegensatz zu dem, was sonst der Fall zu sein pflegt, schon beim beginnenden Herauswachsen mit zahlreichen glänzenden, grossen Körnchen, die wie phagocytierte Lymphocytentrümmer aussahen, versehen waren. In Kontrollproben, die mit gewöhnlicher Lymphe vorgenommen wurden, konnte auch ein ähnlicher Zerfall der Lymphzellen beobachtet werden.

Die Mehrzahl der Reticulumzellen in dem Thymus des Frosches haben im frühen Stadium des Lebens *in vitro* ein homogenes Protoplasma mit darin verstreuten blassen Körnchen. Der Kern ist nur dann deutlich sichtbar, wenn die Zelle sehr abgeplattet ist. Er sieht wie ein körnchenfreier, homogener, ovaler Fleck mit einer, seltener zwei deutlichen Nukleolen aus (Taf. 23/24, Figur 6). Auch die Kernhaut kann zuweilen beobachtet werden. Die Körnchen in dem Protoplasma liegen diffus zerstreut. Nur bei Wanderung der Zellen zeigt sich an gewissen Stellen ein körnchenfreies Ektoplasma, von dem die Pseudopodien ausgehen. Während gewisser Bewegungsphasen nimmt das Protoplasma temporär nicht selten ein längsstreifiges Aussehen an, auch die Körnchen können sich dann in Reihen anhäufen; solche Körnchenreihen gleichen bisweilen durch die Regelmässigkeit der Fügung ihrer Körnchen quergestreiften Muskelfibrillen. Die Grösse der Körnchen variiert zwischen 1—5  $\mu$ ; sie sind von unregelmässiger Form und zeigen eine

etwas stärkere Lichtbrechung als das Protoplasma selbst. Es scheint, als sei dies dieselbe Art von Körnchen, die Pappenheimer angetroffen hat, und die er mit Bendas Mitochondrien-Färbung gefärbt hat. Ihr beständiges Vorkommen in den Zellen vom ersten Herauswachsen derselben an erweckt die Vorstellung, als handle es sich hier um Körnchen, die dem Protoplasma selbst angehörig sind.

Schon bald nach dem ersten Hervorwachsen der Reticulumzellen finden sich unter den eben beschriebenen Körnchen andere mit abweichendem Charakter. Sie sind rund, anfangs klein und ziemlich gleichmässig gross, später von wechselndem Umfang; schon in ihrer Lichtbrechung erinnern sie an Fetttropfen. Eine nähere Analyse ergibt, dass sie sich mit Scharlach R färben, sowie von Osmium grau tingiert werden; dieses Aussehen behalten sie auch im grossen und ganzen, nachdem das osmierte Präparat mit Spiritus behandelt wurde, bei. Sie ergeben somit, soweit aus meiner Analyse hervorgeht, dieselben Farbenreaktionen, wie Holmström und Hart sie bei Lipoiden, die normaliter bei der Involution in dem Thymus aufgetreten sind, nachgewiesen haben und dürften dem sudanophilen Lipoidtropfen, den Pappenheimer in seinen Kulturen nachgewiesen hat, entsprechen. Sie wechseln an Grösse und Anzahl; in einer Reihe Reticulumzellen beherrschen sie sogar das ganze Zellenbild. Freie Fetttropfen in der Umgebung, die zu der Annahme führen könnten, dass diese Tropfen fertig aus dem umgebenden Medium aufgenommen wären, habe ich nicht gefunden.

Mit diesen intracellulären Lipoidtropfen dürfen nun nicht ähnliche Gebilde, die aus phagocytierten Kernfragmenten der Lymphocyten bestehen, verwechselt werden. Diese können in älteren Präparaten ebenso gross sein wie die Fetttropfen und sind auf den ersten Blick schwerlich von ihnen zu unterscheiden. Sie besitzen jedoch nicht die starke Lichtbrechung der Lipoid-

tropfen und sind daher auch nicht wie diese von so scharfen dunklen Konturen umgeben. Erst durch Fixierung und Färbung des Präparates kann man aber die Gattung dieser beiden Körnchenarten sicher feststellen (Taf. 27, Fig. 11 u. 12). Pappenheimer hat zu demselben Zweck vitale Färbung angewandt. Die Zahl der phagocytierten Lymphocytenrümpfe wechselt in verschiedenen Präparaten. Dieses beruht wohl teilweise auf rein lokalen Faktoren; haben sich die degenerierenden Lymphocyten frühzeitig in die Tiefe des Lymphgerinnsels gesenkt, so sind sie nicht in derselben Masse wie sonst den phagocytierenden Reticulumzellen zugänglich. Auch Lymphocyten, die innerhalb des Gewebes zerfallen, sind der Phagocytose preisgegeben, eine Beobachtung, die sowohl direkt als auch nach Schnitten und Färbung des Kulturpräparates gemacht werden kann. Die phagocytäre Fähigkeit der Reticulumzellen kommt jedoch nicht allein Lymphocyten gegenüber zum Ausdruck. Rote Blutkörperchen, Pigmentkörnchen usw. können in den fraglichen Zellen angetroffen werden. Welches Schicksal den Lymphocytenfragmenten beschieden ist, habe ich durch direkte Beobachtung nicht verfolgen können. Es scheint jedoch, dass die Chromatinkörnchen sowohl die, die frei in der Lymphpe liegen, als auch die, die phagocytiert sind, nach und nach ihre stärkere Lichtbrechung verlieren, anschwellen und im Zusammenhang hiermit anfangs weniger, später gar nicht basophil werden (Taf. 27, Fig. 11). Sie sind also einer Art von Auflösungsprozess unterworfen, ähnlich dem, den schon Rudberg auf Grund der Bilder in Schnittpräparaten angenommen hat.

Von den bisher geschilderten gewöhnlichen Bildern der Reticulumzellen unterscheiden sich einzelne Zellen durch eine deutliche Schaumstruktur mit Körnchen, die in den Scheidewänden zwischen den Vacuolen liegen. Diese Gebilde treten beim Frosch nur sporadisch auf. Über die Bedingungen ihres Auftretens ist mir nichts Sicheres bekannt. Vielleicht sind sie

Degenerationsformen analog mit denen, die Rudberg in dem röntgenbestrahlten Thymus gefunden hat. Thymuskulturen von 3 Monate alten Kaninchen, die in verdünntem Plasma vom selben Tier vorgenommen wurden, ergaben eine überwiegende Mehrheit von Zellen mit Schaumstruktur. Diese Zellen zeigten eine ausgesprochene Neigung zu epithelialem Zusammenschluss, phagocytierten Lymphocyten und verhielten sich im übrigen wie die Zellen beim Frosch. Es wurden jedoch auch hier Zellen mit homogenem Protoplasma gefunden.

Schliesslich mögen hier einige Beobachtungen an solchen höher differenzierten Zellen, myoiden Zellen und Flimmerzellen, die hauptsächlich in dem Thymus des ausgebildeten Tieres vorkommen, und deren Verhalten innerhalb der lebenden Kultur von grossem Interesse ist, dargelegt werden.

Was nun zuerst die myoiden Zellen anlangt, so ist es mir ebensowenig wie Pappenheimer gelungen, an den auch im lebenden Zustand oft besonders deutlich quergestreiften Fibrillen dieser Zellen eine Verkürzung oder eine andere schnelle Veränderung zu beobachten, die die Annahme einer Kontraktilität dieser Fibrillen berechtigen könnte. Meistens findet man auch diese Zellen frei und abgerundet in der Kultur liegen, ohne jegliche Verbindung mit der Umgebung. In einem Fall habe ich jedoch einen deutlichen, unverkennbaren Zusammenhang zwischen einer abgerundeten myoiden Zelle, die im Laufe des Wachstums ausserhalb der eigentlichen Gewebsgrenze ausgetreten war, und einer in dem Randteil des Explantates befindlichen typischen Reticulumzelle beobachten können. Die Verbindung wurde durch einen hyalinen, fadenförmigen Fortsatz des Ektoplasmas der myoiden Zelle vermittelt, wogegen die myoiden Fibrillen hiebei unbeteiligt waren. Gleichzeitig zeigte die myoide Zelle an anderen Teilen ihrer Peripherie ähnliche, sich relativ schnell verändernde, bald verlängernde, bald ausdehnende Protoplasma-Fortsätze. Nach einer Stunde etwa löste



sich nach und nach diese Verbindung, ohne sich später zu erneuern.

Ebenso wie über das fixierte Material berichtet worden ist [Hammar (1905)] findet man Flimmerzellen in der Kultur des Froschthymus, die bald einzeln mitten in dem Parenchym eingebettet liegen, bald eine mehr oder weniger vollständige Auskleidung intraparenchymatöser Cysten bilden. In einigen Fällen haben die Verhältnisse es gefügt, dass die Flimmerzellen in der Gewebekultur entweder von Anfang an an den Rand zu liegen kommen oder im Lauf des Wachstums eine derartige Lage angenommen haben. In ein paar Fällen sind auch Flimmerzellen zusammen mit anderen Reticulumzellen ausgewachsen und in einem Zellenverband ausserhalb des Gewebestückes liegen geblieben. In allen diesen Fällen konnte ohne die geringste Schwierigkeit konstatiert werden, dass sich die Flimmerhäärchen in einer typischen unaufhörlichen, kräftigen Bewegung befanden. Ein besonders auffallendes Bild boten die kleineren Cysten, die, wie es meistens der Fall ist, einen sekretartigen Klumpen, der den ganzen Cystenraum ausfüllt, einschliessen. Dieser war dann in einer stetigen wälzenden oder rotierenden Bewegung begriffen. Obgleich kaum eine Veranlassung vorgelegen hat, das Gegenteil anzunehmen, so dürfte doch hierdurch zum ersten Male durch direkte Beobachtung die Aktivität der intrathymischen Flimmerzellen festgestellt worden sein. Eine in der Literatur vorliegende, von Hammar (1910) zitierte Beobachtung von Remak (1843) scheint nämlich eher auf eine parathymische Flimmercyste Bezug zu haben.

Von besonderem Interesse scheint es mir zu sein, dass ich wiederholt in dem Inneren eines Präparates, das ich vorher genau untersucht habe und in dem ich gut orientiert war, nach Verlauf einiger Zeit (z. B. einer Nacht) kleine Flimmercysten angetroffen habe, die, wie ich mit ziemlicher Sicherheit behaupten kann, vorher nicht existiert haben. Die Lage im

Präparat ist leider immer derartig gewesen, dass ein Studium des eigentlichen Entstehungsmodus dieser Cysten nicht in Betracht kommen konnte. Erst als die Bewegungen innerhalb derselben begannen, haben sie die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt. Andererseits habe ich in ein paar Fällen gefunden, dass die Bewegungen der Flimmerzellen aufhörten einige Zeit nachdem eine vorher intraparenchymatös eingebettete Flimmerzelle gegen den freien Rand des Explantates hin gewachsen war und diesen erreicht hatte. Diese beiden Beobachtungen scheinen für eine labile Beschaffenheit der Flimmerhärchen der Thymuszellen zu sprechen.

Eine gewisse Veränderlichkeit in der Form der Cysten hat sich auch beobachten und durch Skizzierung mit der Camera feststellen lassen. Ich habe also gesehen, wie eine früher runde Cyste allmählich eingeschnürt wurde, ohne mit Sicherheit eine wirkliche Abschnürung konstatieren zu können. Höchst wahrscheinlich stehen diese und andere derartige Variationen in Zusammenhang mit der Formveränderlichkeit der umgebenden Zellen und werden durch diese hervorgerufen.

### Diskussion und Schlüsse.

Die Thymuslymphocyten. Was die kleinen Thymuszellen angeht, so stimmen meine Beobachtungen in den meisten Punkten mit dem überein, was von anderen Untersuchern hierüber schon veröffentlicht ist. Die amöboide Bewegung und die Wanderungsfähigkeit dieser Zellen wurden schon von Hammar (1906) und von Pappenheimer (1913) beschrieben, auch meine Beobachtungen bekräftigen diese Angaben. Dass Dustin und Bailleux in ihren Kulturen eine derartige Auswanderung nicht gefunden haben, lässt sich, wie oben erwähnt, dadurch erklären, dass diese Autoren eine unzweckmässige Kulturmethode — die Verwendung des unzerteilten Organs — angewandt haben.

Auch die von dem erst erwähnten Autor hervorgehobene morphologische Übereinstimmung zwischen diesen Zellen und anderen Lymphocyten wird durch meine Erfahrungen bestätigt. Ebenso auch die besonders durch Rudbergs Untersuchungen festgestellte Empfindlichkeit dieser Zellen für Röntgenstrahlen. Die Degenerationsbilder derartiger Zellen, die ich angetroffen habe, erinnern nahe daran, was u. a. Laurell (Cit. nach Hammar, 1910) an überlebendem Material gefunden hat. Offenbar liegt in der Auflösung des absterbenden pyknotischen Kerns unter Knospenbildung und Abschnürung kleiner Chromatinkugeln nichts für die Röntgenwirkung Spezifisches; ebensolche Gebilde, wenngleich nicht in demselben Umfang, werden angetroffen, wenn die Zellen aus einem anderen Grund abgestorben sind. Es scheinen solche Gebilde zu sein, die auch Pappenheimer (1911) in gewissen von Sektionsmaterial stammenden Thymusdrüsen, namentlich bei Fällen von Lymphatismus angetroffen hat. Pappenheimer fasst diese Bilder so auf, als gehörten sie gewissermassen dem pathologisch-anatomischen Bild des erwähnten Krankheitszustandes an. Da man jedoch aus der Publikation erfährt, dass das Organ in den zwei Fällen, wofür ich diesbezügliche Angaben finde, erst 15 Stunden bzw. 2 Tage nach dem Tode zur Konservierung gelangte, liegt es nahe an der Hand anzunehmen, dass die Veränderungen einzig und allein postmortaler Natur waren. In gewisser Beziehung ähnliche Bilder scheinen Dustin und Baillez nicht nur bei ihren Kulturversuchen, sondern auch bei ihren Transplantationsversuchen angetroffen zu haben. In beiden Fällen dürften in den inneren Teilen des Organs nekrobiotische Veränderungen der empfindlichen Lymphocyten vorgelegen haben.

Dass aber bei der Explantation kleinerer Thymusfragmente die Sache in gewisser Beziehung anders liegen kann, zeigen meine auf S. 295 angeführten Regenerationsversuche der Kulturen. Eine Auffrischung der Kultur durch Waschen bewirkte

eine neue, wenn auch nicht so reichliche Auswanderung lebensfähiger Lymphocyten aus dem Inneren eines Präparates, in dem die früher ausgewanderten Zellen schon tot waren und fast jegliche Auswanderung bereits vor dem Waschen aufgehört hatte. Es stellt sich unwillkürlich die Frage, was sind es für Faktoren, die hier auf eine Reihe im Inneren des Gewebes befindlicher Lymphocyten konservierend gewirkt und sie dem Schicksal, das die auswandernden Zellen getroffen hat, entzogen haben?

Betreffs des oben angeführten Zusammenschlusses der Lymphocyten und der Reticulumzellen beim Herauswachsen der letzteren habe ich schon erwähnt, dass diese Bilder unwillkürlich die Gedanken auf das Vorkommen einer positiven Cyto taxis zwischen diesen beiden Zellenarten lenken. Zweifellos lassen sich jedoch auch andere Erklärungen annehmen. Zunächst könnte man an die Möglichkeit eines ganz mechanischen Festklebens der kleineren Zellen an den grösseren denken. Wie sich die wandernden Zellen ja im allgemeinen einer nahe gelegenen Fläche, z. B. der des Deckglases, eines Fibrinfadens oder dgl., anschliessen, so handelt es sich vielleicht auch hier nur um ein derartiges Ausnutzen der grösseren Zellen als „Krieebene“ seitens der kleineren. Diese Sache ist ihrer Bedeutung nach, wie man sieht, recht unklar, sie scheint mir jedoch eine gewisse Berücksichtigung zu verdienen, wenn man in Betracht zieht, dass die „Symbiose“, worin sich Lymphocyten und Reticulumepithel tatsächlich in dem Thymus befinden, wohl, wie man annehmen muss, eine gewisse Wechselwirkung, vielleicht einen Stoffaustausch bedeutet, und als Ausdruck eines derartigen Austausches könnte man sich dann das Anschliessen der Zellen aneinander denken. Jedenfalls ist es bemerkenswert, dass die Verbindung nie intimer ist, als dass sie jeden Augenblick gelöst werden könnte, und dass diese Trennung der Zellen voneinander auf eine Weise vor sich geht, die nicht den ge-

ringsten Grund dafür liefert, eine ~~wirklich~~ plasmatische Verbindung zwischen ihnen anzunehmen. Überhaupt ist der Umstand, dass man die reichlich miteinander kommunizierenden Reticulumzellen niemals eine wirkliche Verbindung mit den Lymphocyten bilden sieht, wie mir scheint, nicht besonders geeignet, die von gewissen Autoren (Stöhr u. a.) vertretene Auffassung von der nahen genetischen Zusammengehörigkeit dieser Zellenarten zu stützen.

Wenn man die Entwicklung des Präparates eine Weile nicht verfolgt hat, sondern die Beobachtung zu einem Zeitpunkt einsetzt, wo sich ein intimer Kontakt zwischen einem Lymphocyten und einer Reticulumzelle ausgebildet hat, kann leicht, wenn man beobachtet, wie diese beiden Zellen sich trennen, der Gedanke entstehen, die kleinere wäre durch Teilung aus der grösseren hervorgegangen. Ich möchte deshalb ausdrücklich betonen, dass ich nirgends Bilder gefunden habe, die eine derartige Annahme bestätigen. Im Gegenteil, wo einmal durch Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung, Röntgenbestrahlung oder auf eine andere Weise in grösserem Massstabe ein Untergang und Rarefizierung der Lymphocyten zustande gekommen ist, ist dieses Verhalten niemals ausgeglichen worden, sondern das Präparat hat auch weiterhin seinen mehr rein epithelialen Charakter beibehalten. Andererseits habe ich auch nie Bilder gefunden, die die Annahme, die Lymphocyten seien innerhalb der Kultur in grössere leukocytaire oder reticuläre Zellformen übergegangen, begründen könnten.

Die Reticulumzellen. Hier kommt zuerst die Frage nach der Identität der hier als Reticulumzellen beschriebenen Zellen in Betracht. Dustin hat in wiederholten Veröffentlichungen die Ansicht verfochten, die epitheloiden und myoiden Zellen seien Derivate von endothelialen oder perithelialen Zellen der Gefässwand. Es könnte nun in Frage gestellt werden, ob nicht die hier in den Kulturen als Reticulumzellen geschilderten

Formen tatsächlich Zellen der von Dustin angegebenen Herkunft seien.

Es ist nicht leicht, gleich beim ersten Anblick einer wachsenden Thymuskultur sich bestimmt davon zu überzeugen, ob die auswandernden grossen Zellen tatsächlich vom Reticulum und nicht von anderen intrathymischen Zellen herkommen. Bei fortgesetzten Studien erhält man indessen bald die Gewissheit, dass sie reticulären Ursprungs sind. Von den Wanderzellen unterscheiden sie sich sowohl durch die Beschaffenheit ihres Protoplasmas als durch ihre sonstigen biologischen Eigenschaften. Ausser den Thymuslymphocyten mit ihrer charakteristischen geringen Grösse und Kernplasmarelation finden sich nämlich in dem Thymus des Frosches grössere Wanderzellen von leukocytärem Aussehen, jedoch mit erheblich reichlicherem Protoplasma. Diese Leukocyten variieren in der Anzahl; in gewissen Präparaten kommen sie sehr selten vor. Sie wandern zum grössten Teil gleichzeitig mit den kleinen Zellen aus, haben im Gegensatz zu den Reticulumzellen häufig keine Granula und bilden in vitro niemals Verbände. Auch die granulierten Wanderzellen unterscheiden sich morphologisch und biologisch scharf von den Reticulumzellen.

Dass fixe Bindegewebszellen in dem Thymus Anlass zu den fraglichen grossen Zellen der Gewebeskultur geben sollten, lässt sich auch ausschliessen. Die Bindegewebszellen oder, genauer ausgedrückt, die Fibroblasten scheinen nämlich in dem von mir angewandten Material in vitro nur geringe oder gar keine Neigung zum Auswandern zu haben. Zum Vergleich habe ich aus intramuskulärem Bindegewebe und aus Periost Kontrollkulturen angefertigt; diese Kulturen haben entweder gar keinen Auswuchs gezeigt oder aber auch sind nur einige einzelne Zellen herausgewachsen. An den Stellen in den Thymuskulturen, wo die Kapsel mit anliegendem Bindegewebe oder die Gefässadventitia vorhanden ist, kann man beobachten, wie die platten

Zellkörper der Fibroblasten und Endothelien unverändert zwischen den Fibrillenbündeln liegen, ohne jegliche Tendenz zum Wachsen oder Emigrieren. An der mit der Kapsel bekleideten Fläche bleibt also das Wachstum aus, an den Flächen dagegen, wo das Parenchym blossgelegt ist, kann es zu gleicher Zeit beträchtliche Dimensionen angenommen haben.

Dass es sich hier nicht um andere als um die eigenen Elemente des Reticulum handeln kann, tritt auch auf eine überzeugende Weise klar zutage, wenn man solche Präparate berücksichtigt, wo aus einem oder dem anderen Grunde die meisten Lymphocyten untergegangen sind und die fraglichen Elemente dann als die Hauptbestandteile des Explantates auftreten. Handelte es sich hier um andere Elemente als die des Reticulum, so müsste eine Massenvermehrung dieser anderen Elemente und gleichzeitig ein Massenuntergang der Reticulumzellen stattgefunden haben, hiervon ist jedoch weder im lebenden noch im fixierten Material die geringste Spur zu bemerken. Man sieht dagegen in derartigen Präparaten grosse charakteristische Zellkomplexe aus den Gewebeteilen, wo nur Reticulumzellen zu finden sind, herauswachsen.

In dieser Beziehung mag auch daran erinnert werden, dass die Autoren, die ein reichliches Wachstum von Bindegewebszellen erzielt haben, z. B. Carrel und Burrows von der Thyreoidea und vom Herzen, Pappenheimer von der Milz, Zellen und Zellverbände von ganz anderem Aussehen als die hier fraglichen beschreiben und abbilden. Besonders bemerkenswert sind Carrels und Burrows' Resultate bei der Thyreoidea, wo zwei durch zeitliche und formative Eigenschaften getrennte Generationen von Zellen hervorwuchsen, die eine derselben als Bindegewebszellen, die andere als Epithelzellen gedeutet. Im Zusammenhang hiermit ist es angesichts der in letzter Zeit von Salkind gestellten Behauptung über das Vorkommen eines zweifachen Reticulums mit Elementen von

verschiedener Embryonalabstammung schliesslich nicht unnütz hervorzuheben, dass irgendwelche Zeichen von einem solchen Dualismus nicht von mir beobachtet wurden. Trotz aller Variationen in der Form und in der gegenseitigen Anordnung fraglicher Zellen haben sie doch in struktureller und biologischer Hinsicht zu viel gemeinsam, als dass das Präparat einen derartigen Verdacht aufkommen lassen könnte.

Es scheint also jeglicher Zweifel ausgeschlossen, dass die Elemente, die ich oben als Reticulumzellen beschrieben habe, tatsächlich das sind, was ihr Name besagt; ein Resultat, zu dem auch Pappenheimer bei seiner Analyse dieser Zellen gekommen ist. Nun haben sich in letzter Zeit die grössere Anzahl der Autoren über die Ansicht geeinigt, dass das Thymusreticulum ein direkter Abkömmling der ursprünglichen epithelialen Thymusanlage ist und somit aus Epithelzellen besteht. Für eine solche Auffassung scheint es nun vielleicht befremdend, was ich über das Verhalten dieser Reticulumzellen in den Kulturen berichtet habe, nämlich ihre Formveränderlichkeit, ihr amöboides Wandervermögen und ihre hiermit verbundene ausgeprägte phagocytäre Tätigkeit — alles Eigenschaften, die man von alters her vorzugsweise als die den mesodermalen Zellen eigen anzusehen geneigt war. Ein derartig entgegengesetztes Verhalten existiert indessen tatsächlich nicht. In dieser Beziehung kann ich auf einige Beobachtungen über wachsende Epidermiszellen hinweisen, die mir besonders klärend erscheinen. In Kulturen in vitro der Epidermis des Frosches zeigte es sich nämlich, dass die Zellen nicht nur in geschlossenen Gruppen wie kompakte Epithellappen hervorzuschossen, sondern dass sich von diesen Lappen einzelne Zellen losmachten und unter amöboider Bewegung, die auffallend an die der Reticulumzellen erinnerte, selbständig weiter wandern konnten. Sie rundeten sich hierbei bald zu einer sphärischen Form ab, bald verbanden sie sich netzartig mit ihren Fortsätzen mit anderen



gleichartigen Zellen, indem sie kleine Zelleninseln bildeten, die ihrerseits wieder der grösseren Zellenmasse einverleibt wurden. (Taf. 23/24, Fig. 8, die jedoch nach einem fixierten Präparat gezeichnet worden ist, wo die freiliegenden Zellen bei der Fixierung und der hiermit in Zusammenhang stehenden Manipulation leider weggespült worden sind, und nur der grössere Zellkomplex vorhanden ist.)

Wenngleich wir also im hier berührten Verhalten der Reticulumzellen einen Ausdruck für eine Fähigkeit, die wenigstens unter gewissen Umständen auch anderen Epithelzellen zukommt, zu sehen haben, so sind diese Beobachtungen doch in mehr als einer Beziehung von Wert als Erläuterung gewisser in dem fixierten Organ angetroffener Bilder, die Gegenstand verschiedener Auslegungen gewesen sind und es auch noch sind.

Die Literatur über den Thymus zeugt davon, dass man sehr oft beim Antreffen von Zellen, die ohne jeglichen Zusammenhang mit dem Reticulum frei im Parenchym vorhanden waren, geneigt war, in solchen Zellen Derivate nicht vom Reticulum, sondern von den freien Elementen des Parenchyms, den Lymphocyten, zu sehen. So sind auch die sogen. einzelligen Hassalschen Körper, die zentralen Zellen der mehrzelligen Hassalschen Körper und gewisse körnig degenerierende Reticulumzellen mehr oder weniger ausschliesslich aus dem Grund als Lymphocyten gedeutet worden. Die Erfahrung, die an den Kulturpräparaten gemacht worden ist, ergibt, dass eine derartige Folgerung der Berechtigung entbehrt; die Reticulumzellen besitzen auch die Fähigkeit, sich von Verbindungen mit umgebenden Zellen frei zu machen, ziehen ihre Fortsätze ein und nehmen den Charakter freier sphärischer Zellen an.

Andererseits verdient auch die aus den Kulturen gewonnene Erfahrung, dass sich eine derartige Zelle nach Verlauf einer kürzeren oder längeren Zeit, nach mehr oder weniger ausgedehnten Wanderungen wieder mit anderen Reticulumzellen verbinden und abermals als ein integrierender Bestandteil des

Reticulums eintreten kann, eine gewisse Beachtung. Ob und in welchem Masse analoge Verhältnisse in dem lebenden Organ normal auftreten, entzieht sich zurzeit freilich unserer Beurteilung. Ausgeschlossen kann diese Möglichkeit jedenfalls nicht werden; beim Beurteilen der Bilder im fixierten Gewebe ist es fortan nicht mit derselben Sicherheit wie bisher anzunehmen, dass das Dasein einer Reticulumzelle immer gerade an den Teil des Organs, wo wir sie angetroffen haben, gebunden war, oder wo eine Ortsveränderung stattgefunden hat, dieselbe nur den Charakter einer passiven Verschiebung getragen hat; man muss fortan bei Beurteilung der Schnittbilder mit der Möglichkeit einer aktiven Wanderfähigkeit dieser Zellen rechnen. Um ein konkretes Beispiel anzuführen: Es ist recht gewöhnlich, dass sich in dem Inneren der Thymuscysten abgerundete oder verzweigte Zellen finden, die eine mehr oder weniger unverkennbare Ähnlichkeit mit den Reticulumzellen tragen; bisher hat man angenommen, dass diese Zellen durch eine lokale Auflösung des Gewebes freigemacht worden sind. Künftighin muss man auch mit der Möglichkeit rechnen, dass eine selbständige Einwanderung derartiger Zellen vorkommt. Und findet eine derartige Wanderung auch bei den Reticulumzellen des intakten Organes statt, so muss man sich fragen, wie weit können sich diese Wanderungen erstrecken? Können fragliche Zellen die Grenzen des Organs überschreiten? Können sie unter Umständen in die Blut- und Lymphgefäße eindringen? usw. Dies alles sind Fragen, die eine erneute Revision der Schnittbilder in Hinsicht auf die aus den Gewebekulturen gewonnenen Erfahrungen erforderlich machen.

Auch der wechselnde Charakter des Zusammenschlusses dieser Reticulumzellen untereinander scheint mir hier einer Betonung wert zu sein, da Analogien in den Schnittbildern des fixierten Organs leicht anzutreffen sind. Das dichte epitheliale Zusammenschliessen innerhalb des Kulturpräparates ist offenbar ein Gegenstück zu dem epithelialen Zellenverband, der im

Thymusmark so häufig ist, unter gewissen Verhältnissen aber auch an anderen Stellen, z. B. innerhalb der sogen. Randschicht, in dem ganzen Organ bei accidenteller Involution usw. angetroffen werden kann. Die lockere reticuläre Anordnung dagegen entspricht sowohl in der Rinde als im Mark dem gewöhnlichen Verhalten des typischen Thymusreticulum. Hierbei ist es nicht ohne Interesse, dass die Zellen spontan, ohne besondere Einwirkung äusserer mechanischer Faktoren, z. B. durch Druck zwischenliegender Zellen oder dgl., eine derartige reticuläre Anordnung annehmen (Taf. 25/26, Fig. 10). Gewisse Autoren, z. B. Mietens und Maximow, neigten zu der Ansicht, dass bei der embryonal auftretenden Invasion der Lymphocyten die Zellen der bisher kompakteren epithelialen Organanlage auseinander gedrängt werden und den Charakter eines Reticulums annehmen; andere Autoren [Hammar (1905) betreffs des Menschen, Ankarsvård und Hammar (1913) betreffs gewisser Ganoiden] haben hervorgehoben, dass bei gewissen Species die Auflockerung der Epithelzellen zu einem Reticulum frühzeitiger als die Lymphocytenwanderung und unabhängig von dieser stattfinden kann. Die Möglichkeit eines solchen Auseinanderwachsens der Epithelzellen durch Ausbilden gegenseitig anastomosierender Fortsätze scheint durch die eben erwähnten Bilder im Kulturpräparat bestätigt zu werden.

Einen nicht uninteressanten Beitrag zu der Charakteristik der Reticulumzellen als Epithelzellen liefert die Beobachtung, dass diese Zellen typisch bewegliche Flimmerhärchen besitzen, ja solche sogar in den Kulturpräparaten auszubilden vermögen.

Auch die bisher freilich einzig dastehende, meiner Meinung nach aber völlig sichere Beobachtung einer plasmatischen Verbindung einer typischen Myoidzelle mit einer typischen Epithelzelle, sowie von amöboiden Fortsätzen wechselnder Form von der Peripherie einer myoiden Zelle kann Interesse beanspruchen. Ginge man von der herrschenden, vielleicht doch nicht ganz unanfechtbaren Vorstellung aus, dass im ausdifferenzierten

Organismus nur zwischen nahe verwandten Zellen derartige Verbindungen eingegangen werden, so würde man vielleicht in fraglicher Beobachtung eine Stütze für die Lehre von der Verwandtschaft der myoiden Zellen mit den Reticulumzellen finden können. Aus demselben Gesichtspunkt verdient auch der Umstand, dass man niemals wirkliche plasmatische Verbindungen zwischen Reticulumzellen und Lymphocyten findet, Berücksichtigung als ein Moment, das jedenfalls nicht geeignet ist, die Ansicht von der nahen genetischen Zusammengehörigkeit dieser Zellen zu stützen.

Von besonders auffallender Natur ist die ausgeprägt phagocytäre Fähigkeit der Reticulumzellen. Rudberg hat auf Grund der Bilder nach Röntgenbestrahlung diesen Zellen zuerst eine derartige Fähigkeit zuerkannt, und seiner Auffassung haben sich andere Autoren auch betreffs des normalen Zustandes des Organs angeschlossen. Was das Kulturpräparat angeht, will es mir scheinen, als wären die Bilder in dieser Beziehung ganz besonders überzeugend. Es ist wohl wahr, dass es nicht einmal hier gelingt — wenigstens ist es mir nicht gelungen —, durch direkte Beobachtung den Vorgang der Aufnahme sicher zu verfolgen, weil hier zu viele Schwierigkeiten und Fehlerquellen vorliegen. Man erhält jedoch, wenn man sieht, dass ein Partikel, der in einem Augenblick extracellulär gelegen hat, im nächsten in dem Inneren der Reticulumzellen zu finden ist, eine hinreichende Gewissheit.

Durch diese ihre phagocytäre Fähigkeit stehen die Reticulumzellen in einem auffallenden und bemerkenswerten Gegensatz zu den Thymuslymphocyten, bei denen ich niemals Zeichen einer aktiven Phagocytose angetroffen habe. Bei dem beachtenswerten Unterschied in der Resistenz der empfindlichen, leicht degenerierenden Lymphocyten einerseits und der Reticulumzellen andererseits richtet sich im Gegenteil die Phagocytose der Reticulumzellen in hohem Grade gegen die absterbenden Lymphocyten. Ebenso wie Rudberg habe auch ich Zeichen

einer intracellulären Verdauung der in dieser Weise aufgenommenen Lymphocyten gefunden.

Von nicht unbedeutender Tragweite sowohl betreffs der Fettbildungstheorie im allgemeinen als auch mehr speziell betreffs der Frage nach den Funktionen des Thymus ist — wenn sich die aus den Kulturpräparaten gewonnene Auffassung bestätigt — der Umstand, dass die in den Reticulumzellen auftretenden Lipoidtropfen nicht phagocytoisch von aussen aufgenommen werden, sondern Produkte der eigenen Tätigkeit der Zellen sind. Es mag betont werden, dass auch Pappenheimer betreffs des Fettes der Reticulumzellen zu einer ähnlichen Auffassung seines autochthonen Entstehens gekommen ist, ja, dass er hier sogar Anhaltspunkte, die ihn eine granuläre Fettsynthese annehmen lassen, zu finden glaubte.

Ohne hier näher auf diese Frage einzugehen, möchte ich im übrigen nur daran erinnern, was vor nicht langer Zeit aus Holmströms und Harts Untersuchungen in dieser Beziehung hervorgegangen ist. Das Auftreten von morphologisch sichtbaren Lipoidtropfen in den Reticulumzellen wird von diesen Autoren als Ausdruck einer regressiven Veränderung dieser Zellen gedeutet. Die Ergebnisse der von mir vorgenommenen Färbungen — positive Scharlachfärbung und Graufärbung mit Osmium —, die geringe Anzahl und Grösse der Lipoidkörnchen in ihrem ersten Auftreten, sowie die quantitative Zunahme der Fettmenge mit steigendem Alter des Präparates, sind Erscheinungen, die dafür sprechen, dass es sich in meinen Präparaten um eine Lipoidbildung von gleicher Art handelte, wie die es war, die erwähnte Autoren in ihren Schnittpräparaten gefunden haben. Sichere Kennzeichen einer degenerativen Bedeutung der Lipoidbildung innerhalb der Zellen der Gewebekultur konnte ich allerdings nicht nachweisen.

Upsala, im Mai 1914.

---

## Literaturverzeichnis.

---

1. Ankarstjärn, G. und J. A. Hammar (1913), Zur Kenntnis der Gano-identhymus (*Amia calva*, *Lepidosteus osseus*). Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontogen. Bd. 36.
2. Burrows, N. T. (1911), The Growth of Tissues of the Chick Embryo outside the Animal Body, with Special Reference to the Nervous System. Journ. Exper. Zool. Vol. 10. Nr. 1.
3. Carrel, A. (1912), On the Permanent Life of Tissues outside of the Organism. Journ. Exper. Med. Vol. 15. Nr. 5.
4. — and N. T. Burrows (1911), 1. Cultivation of Tissues in vitro and its Technique. Journ. exper. Med. Vol. 13. Nr. 3.
5. — (1911), 2. Cultivation in vitro of the Thyroid Gland. Journ. Exper. Med. Vol. 13. Nr. 4.
6. — (1911), 3. An Addition to the Technique of the Cultivation of Tissues in vitro. Journ. Exper. Med. Vol. 14. Nr. 3.
7. Dustin, A. P. (1913), Recherches d'histologie normale et experimentale sur le thymus des Amphibiens Anoures. Arch. de biologie. T. 28.
8. — et G. Bailleux (1913), Recherches sur les cultures de thymus „in vitro“. Bull. de la Soc. R. des Sc. méd. et nat. Bruxelles.
9. Hammar, J. A. (1905), Zur Histogenese und Involution der Thymusdrüse. Anat. Anz. Bd. 27.
10. — (1907), Über die Natur der kleinen Thymuszellen. Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt.
11. — (1910), Fünfzig Jahre Thymusforschung. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 19.
12. Harrison, R. G. (1910), The Outgrowth of the Nerve Fibre as a Mode of Protoplasmic Movement. Journ. Exp. Zool. Vol. 9. Nr. 4.
13. Hart, K. (1912), Thymusstudien. I. Über das Auftreten von Fett in der Thymus. Die pathologische Involution der Thymus. Virchows Arch. Bd. 107.
14. Holmström, R. (1911), Über das Vorkommen von Fett und fettähnlichen Substanzen im Thymusparenchym. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 77.

15. Maximow, A. (1909), Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. II. Über die Histogenese der Thymus bei Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 74.
  16. Mietens, H. (1908), Zur Kenntnis des Thymusreticulums und seiner Beziehungen zu dem der Lymphdrüsen nebst einigen Bemerkungen über die Winterschlagdrüse. Jenaische Zeitschr. Bd. 44.
  17. Pappenheimer, A. M. (1910), A Contribution to the Normal and Pathological Histology of the Thymus Gland. Journ. of Med. Research. Vol. 22.
  18. — (1913), Further Studies of the Histology of the Thymus. Amer. Journ. Anat. Vol. 14.
  19. Régaud, Cl. et R. Crémieu (1912), Sur l'involution du thymus produite par les rayons X. Resultats expérimentaux. Deductions thérapeutiques. (Lyon. méd. T. 118. Nr. 1. Cit. n. Zentralbl. f. exper. Med.).
  20. Rudberg, H. (1907), Studien über die Thymusinvolution. I. Die Involution nach Röntgenbestrahlung. Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt.
  21. Salkind, J. (1912), Sur l'organisation du thymus. Anat. Anz. Bd. 41.
-

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel 23/24.

Figg. 1—7. Nach lebendem Material gezeichnet.

Fig. 1. Partie des Lymphocytensaumes ausserhalb eines Präparates, 18 Stunden nach der Anfertigung. Reticulumzellen sind noch nicht hervorgewachsen. Links sind die hier nur skizzierten Lymphocyten in mehreren Schichten aufgelagert, rechts Lymphocyten zum Teil in kriechender Form. Die körnige Zelle ist ein eosinophiler Leucocyt. Leitz  $\frac{1}{12}$  Hom.-Immers., Oc. I.

Fig. 2. Herauswachsende Reticulumzellen. Mehrere dieser Zellen sind temporär abgerundet. Leitz Obj. 7, Oc. I.

Fig. 3. Epithelialer Zellenverband ausserhalb des Explantates. Ein Teil der Bilder sind wegen der Veränderlichkeit des wachsenden Gewebes nur skizziert. Leitz Obj. 7, Oc. 3.

Fig. 4. Zwei kleinere Gruppen von Reticulumzellen mit Lymphocyten. Letztere grösstenteils in beginnender Pyknose; einzelne in Wanderung begriffen. Im Protoplasma der Reticulumzellen sind teils Protoplasmakörnchen, teils Lipoidgranula, ferner phagocytierte Lymphocyten (phag.) angedeutet. Leitz Obj. 7, Oc. 4.

Fig. 5. Zwei Reticulumzellen, die eine mit kaum sichtbarem Kern. Typische lange amöboide Fortsätze. Die grössten Granula sind Lymphocyten-derivate, die kleineren und gleichmässig grossen Lipoidgranula. Leitz  $\frac{1}{12}$  Hom.-Immers., Oc. 1.

Fig. 6. Reticulumzelle mit breiten, hautähnlichen ektoplasmatischen Fortsätzen. Das Protoplasma sonst von körniger Struktur. Die Körnchen mit schärferer Kontur sind Lipoidgranula. Leitz  $\frac{1}{12}$  Hom.-Immers., Oc. 1.

Figg. 7a und 7b. Präparat von Froschlarve. Abschnürung der Zelle a. unter Bildung eines langausgezogenen Fadens; e. eosinophiler Leucocyt. Reichert Obj. 7a, Oc. 4.

Fig. 8. Präparat von der Epidermis des Frosches, durch Osmiumdämpfe fixiert. Die Epidermiszellen wuchsen teils mit epithelialer Anordnung hervor, teils schnürten sie sich ab und wanderten aus, indem sie kleine Epithelinseln ausserhalb des Präparatrandes bildeten. Die freien verzweigten Zellen sind jedoch bei der Nachbehandlung des Präparates hinweggespült. Leitz Obj. 4, Oc. 4.



## Tafel 25/26.

Sämtliche Bilder, lebendem Material entnommen, im Masstab 2:3 verkleinert.

Figg. 9 A—G sind eine Serie Kameraskizzen, von einer Zellengruppe im Zwischenraum von 15—25 Minuten aufgenommen; sie beleuchten die beständige Form- und Lageveränderung der Zellen. Jede Zelle ist in den verschiedenen Bildern mit dem gleichen Buchstaben signiert. Zelle h. in Fig. A. und die Zellen h. und k. in Fig. B. sind aus dem Gesichtsfeld gewandert und deshalb forthin nicht gezeichnet. In Fig. D. ist von der nahegelegenen Gewebemasse eine Zelle i. ausgewachsen, die später in allen Bildern wiederzufinden ist. Einzelne Lymphocyten, die rings um die Zellen kreisen, sind wegen der Schwierigkeit diese, ehe sich das mikroskopische Bild veränderte, aufnehmen zu können, nicht in die Skizze mit aufgenommen worden. Leitz Obj. 7, Oc. 4.

Fig. 10. Präparat von Froschlarve. Gruppe von Reticulumzellen mit ausgeprägt reticulärer Anordnung. Die Körnchen in den Zellen sind zum grössten Teil phagocytierte Lymphocyten. Reichert Obj. 7, Oc. 4.

## Tafel 27.

Fig. 11. Zwei Reticulumzellen von einem in Formalin fixierten mit Hämatoxylin und Scharlach R. gefärbten Präparat. Die Lipoidkörnchen zeichnen sich rot ab, sind aber weniger scharf als gewöhnlich konturiert. Im Protoplasma zeigen sich auch einige phagocytierte Lymphocyten (phag.) mit blasserer Farbe als die der freiliegenden Lymphocyten. Leitz  $\frac{1}{12}$  Hom.-Immers. Oc. 3.

Fig. 12. Reticulumzellen von in Formalin fixiertem und mit Hämatoxylin gefärbtem Präparat. Durch Spiritusbehandlung sind die Lipoidkörnchen aufgelöst worden und haben Pseudovacuelen hinterlassen. Phagocytierte Lymphocyten; e. rotes Blutkörperchen. Leitz Obj. 7, Oc. 4.

Fig. 13. Präparat in Osmiumdämpfen fixiert. Hämatoxylin. Die Reticulumzellen bilden einen Verband von hauptsächlich epithelialeem Charakter. Die scharf gefärbten kleinen Kerne gehören den Lymphocyten, die den Reticulumzellen folgen. Leitz Obj. 4, Oc. 4.

Fig. 14. Detailbild des vorigen. Der Zellenverband deutet gewissermassen eine reticuläre Anordnung an. In ein paar Zellen finden sich gefärbte Lipoidtropfen. Deutliche Protoplasmakörnchen. Die Lymphocyten liegen nicht in derselben Ebene wie die Reticulumzellen. Leitz  $\frac{1}{12}$  Hom.-Immers., Oc. 1.

Fig. 15. Präparat in Formalin fixiert. Hämatoxylin. Die Reticulumzellen wachsen teils in einer von Anfang an epithelialen Anordnung heraus (a.), teils schliessen sie sich sekundär zu einem derartigen Verband zusammen (b.).





