

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin [Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. O. Lubarsch].)

Über den Einfluß der Umwelttemperatur auf die Widerstands- und Lebensfähigkeit von Geweben.

Von

Dr. M. Chuma (Japan).

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. November 1923.)

1. Speicheldrüse des Kaninchens.

Die nachfolgende, auf Veranlassung von Herrn Geheimrat *Lubarsch* angefertigte Arbeit schließt unmittelbar an die ebenfalls unter *Lubarsch* ausgeführten Untersuchungen von *Nasu* an. Ich kann deswegen hinsichtlich der Literatur auf diese Arbeit verweisen und gebe nur einige notwendige Ergänzungen. Das Problem, das ich lösen sollte, war vor allem, den Einfluß der verschiedenen Temperaturen auf die Lebensfähigkeit von aus dem Zusammenhang gelösten, außerhalb des Körpers aufbewahrten Organ- und Gewebsteilen festzustellen.

So zahlreiche Untersuchungen auch über die Überlebensfähigkeit der Gewebezellen vorliegen, so wenige sind es doch, die den Einfluß verschiedener Temperatur berücksichtigt haben oder überhaupt nähere Angaben darüber machen.

Saltykow untersuchte die *Vita propria* der Gewebe nach dem Abtrennen vom Organismus bei Ratten und Mäusen, deren desinfizierte Schwänze er abschnitt, in sterilen Glasröhrchen auf Gelatine oder Agar-Agar bei Temperaturen von $+2^{\circ}$ bis $+29^{\circ}$ aufbewahrte und dann auf dasselbe Tier transplantierte. Er fand, daß die Grenze der Aufbewahrungszeit bei dem verschiedenen Gewebe schwankt. Während der hyaline Knorpel sich schon nach 7 tägiger Aufbewahrungszeit nicht mehr als regenerationsfähig erweist, sind andere Gewebe noch nach 14 tägiger Aufbewahrungszeit regenerationstüchtig.

Auch Periost und Knochen wurden auf ihre Lebenskraft untersucht.

Grohé benutzte zu seinen Transplantationsversuchen Periost von der Tibia und vom Radius möglichst jugendlicher Kaninchen von demselben Wurf. Er bewahrte sein Material bei Temperaturen von 0° bis $+4^{\circ}$ auf, da er erkannte, daß niedrige Temperaturen für die Erhaltung der Vitalität der Zelle sehr vorteilhaft seien. Als Implantationsort wählte er Oberarm und Oberschenkel. Als Ergebnis seiner Untersuchungen stellte er das lebenskräftige Fortleben des Periostes bis zu 100 Stunden fest.

Morpurgo unternahm seine Versuche an Hühnern und konnte dabei die *Vita propria* des bei niedriger Temperatur außerhalb des Organismus gehaltenen Periostes bis über 192 Stunden hinaus nachweisen.

Lyunggreen bewahrte die Hautläppchen in menschlicher Ascitesflüssigkeit bei Zimmertemperatur auf und erzielte nach 6—7 Tagen noch völlige Regeneration der Epithelien.

Prochowmik, der unter Leitung von *Lubarsch* arbeitete, verpflanzte Speicheldrüsen, Hoden, Nebenhoden, Brustdrüse, Pankreas, Schilddrüse und untersuchte dabei die Widerstands- und Lebensfähigkeit der transplantierten Stückchen unter dem Einfluß von gewöhnlicher Luft, physiologischer Kochsalzlösung und des Brutschrankes. Ferner setzte er die Stückchen vor der Implantation einer chemischen Noxe aus (Chloroform, 10 proz. Formol). Dadurch wurde die Proliferationsfähigkeit vernichtet und eine Art Konservierung herbeigeführt. Eine Untersuchung des Einflusses von Wärme ergab, daß Speicheldrüse, Hoden und Nebenhoden 15—20 Min. lang ohne Vernichtung ihrer Regenerationskraft einer Temperatur von 60° ausgesetzt werden können und ebenso einer Temperatur von 21° resp. 15°. Daraus erhellt, daß sich Kälte der Erhaltung des Lebens günstig erweist.

Ebenfalls unter Leitung von *Lubarsch* führte *Nasu* sehr genaue Untersuchungen über die Überlebensfähigkeit und Regenerationskraft der Speicheldrüse aus, und zwar beschränken sich seine Versuche auf das Aufbewahren des Transplantates im Eisschrank. Dabei stellte er fest, daß die *Vita propria* nach 32 Tagen Aufbewahrungsdauer noch erhalten blieb und das Transplantat regenerationsfähig war. Dagegen fielen Versuche mit 4—5 Tage in NaCl-Lösung bei 37° aufbewahrten Speicheldrüsenstückchen negativ aus. — Das ist ungefähr alles, was ich darüber finden konnte. Es geht aus diesen Angaben allerdings schon hervor, daß niedrige Temperaturen für die Erhaltung der Lebensfähigkeit sehr günstig sind, systematische vergleichende Untersuchungen fehlen aber noch ganz.

Material und Methode.

Zu meinen Untersuchungen habe ich mittelgroße Kaninchen benutzt. Dem Kaninchen wurde die Haut in der Gegend der Speicheldrüsen (*Glandula submaxillaris*) abrasiert, und eine davon wurde ohne Narkose streng aseptisch herausgenommen, in eine sterile Petrischale getan und dort in erbsengroße Stückchen zerschnitten. Jedes der Stückchen wurde in ein keimfreies Reagensglas gebracht und 15—20 Tropfen keimfreie physiologische Kochsalzlösung zugesetzt, die das Stückchen vollständig bedeckten.

In anderen Fällen füllte ich ein sterilisiertes Reagensglas mit 2 bis 3 ccm keimfreier physiologischer Kochsalzlösung, ließ ein erbsengroßes Stückchen vollständig darin eintauchen und schmolz das Gläschen oben zu. Die zu untersuchenden Stückchen der *Glandula submaxillaris* wurden zu T. im Eisschrank aufbewahrt, eine andere Gruppe bei Zimmertemperatur und eine dritte im Brutschrank bei 37°. Die so aufbewahrten Gewebstückchen wurden einerseits zum histologischen Studium benutzt und auf Veränderungen untersucht, andererseits wurden sie unter die rasierte, sterilisierte Rückenhaut desselben Kaninchens überpflanzt. Nach verschieden langer Zeitdauer wurden diese Stückchen herausgenommen, in 10 proz. Formollösung fixiert — ebenso wie die Kontrollstückchen — in Paraffin eingebettet und Serienschnitte davon angefertigt. Als Färbemethoden wurden angewandt: Hämatoxylin-

Eosin, van Gieson, Ehrlich-Biondi-Heidenhain, Altmann und Giemsa. Zur Fettfärbung wurden Stückchen in Gelatine eingebettet, Gefrierschnitte gemacht und mit Sudan III und Nilblausulfat gefärbt.

I. Veränderungen des im Eisschrank aufbewahrten, transplantierten Stückes.

Die nach obiger Beschreibung vorbereiteten Stückchen wurden im Frigo (—1 bis —3°) aufbewahrt.

Vorausschicken möchte ich, daß ich mit Rücksicht darauf, daß die histologischen Veränderungen an dem transplantierten Gewebe schon genauer von *Lubarsch* und später unter *Lubarschs* Leitung teilweise von *Nasu* beschrieben worden sind, auf eine genaue Wiedergabe der einzelnen Versuchsprotokolle verzichten und nur zusammenfassend den histologischen Befund wiedergeben will, und dann eine tabellarische Übersicht beifügen werde. Ich schicke eine kurze Zusammenstellung der bisherigen Ergebnisse über die Speicheldrüsenüberpflanzungen voraus.

W. Podwyszołki untersuchte die partielle Regeneration nach traumatischen Eingriffen an der Infraorbitalis und Submaxillaris von Kaninchen und fand, daß das durch den Eingriff vernichtete Drüsenparenchym teils durch eine Wucherung von Sekretionszellen wieder ersetzt wird, teils durch partielle Umwandlung der neugebildeten Drüsengänge in Drüsenalveolen.

Ribbert stellte genauere Untersuchungen über Neubildungsvorgänge bei der Speicheldrüse an, von der er den größten Teil, wenigstens die Hälfte, exstirpiert hatte. Nach 2—3 Wochen ließ sich auf dem Reststück schon makroskopisch neugebildetes Drüsengewebe erkennen, auffallend durch die etwas röttere Farbe, die leicht uneben-höckerige Beschaffenheit und das tiefere Niveau. Eine mikroskopische Untersuchung stellte fest, die Neubildung der Drüsenläppchen gehe von den Ausführungsgängen aus. Die kleineren Drüsengebilde hatten das Aussehen normaler Acini. Sie enthielten ein kubisches Epithel, zeigten aber stets noch ein Lumen. Die neuen Alveolen glichen dadurch, daß der Hohlraum sehr klein, oft nicht zu erkennen war, nach 3 Wochen ganz oder fast den normalen Alveolen.

Lubarsch ließ Emulsionen von Speicheldrüsenparenchym in die Vena jugularis des Kaninchens einspritzen und sah in der Peripherie der injizierten Partien eine Neubildung ganzer Kanälchen, die jedoch vorübergehend war; nach ca. 3 Wochen waren sie wieder vollständig atrophiert.

Bei der Einpflanzung von Speicheldrüse in die Niere desselben Tieres zeigten sich in den ersten 48 Stunden nur geringe Veränderungen, spärlicher Kernzerfall. Am 3. Tage stärkere Zerfallerscheinungen sowohl an den Epithelien der Speichelläppchen wie der Ausführungsgänge, im Zentrum am stärksten. Am 4. Tage, neben Zerfallerscheinungen, Neubildungen. Besonders in der Peripherie bemerkt man Züge und Stränge von mehr platten Epithelien mit äußerst chromatinreichem Kern und dunklem Protoplasma, die sich vielfach um nekrotische Ausführungsgänge und Speichelgänge herumlegen. Die Herde treten inselartig auf und gehen in der Zeit vom 5. bis 7. Tage immer mehr zum Zentrum. Den Höhepunkt erreicht die Wucherung in der Zeit vom 7. bis 9. Tage; zahlreiche Mitosen, Einwanderung von Leukocyten.

Vom 10. Tage an Abnehmen der Wucherung, die Epithelien haben mehr niedrig zylindrische und kubische Form, in den soliden Strängen treten Hohlräume auf, sodaß nun das Gewebe den Bau einer tubulären Drüse annimmt. Vom 14. Tage an Zunahme des Bindegewebes, Abnahme der drüsigen Bestandteile.

Noch nach $\frac{1}{4}$ Jahr findet man in der bindegewebigen Narbe drüsige Bestandteile, in den Hohlräumen kolloide Massen.

Dieselben Ergebnisse hat man, wenn man die Speicheldrüse von einem Kaninchen auf die Niere eines anderen implantiert. Man kann die Speicheldrüsenstückchen stundenlang, ja bis zu 3 Tagen in sterilen Gläsern im Dunkeln und in der Kälte aufbewahren.

„Bei den in andere Organe verlagerten Speicheldrüsen- und Hodenstückchen findet keine eigentliche Regeneration statt; das, was an Gewebe neugebildet wird und zurückbleibt, hat nie vollkommen die Struktur von Speicheldrüsen oder Hoden, sondern ist reduziert oder atrophisch.“

Lenghi transplantierte Speicheldrüsen in die Niere und Milz und konnte keine soliden Epithelstränge nachweisen; das Wachstum, welches auftrat, leitet er von den Korbzellen her.

Bizzozero und *Marzocchi* kommen zu dem Ergebnis, daß die differenzierten Zellen meist zugrunde gehen, und auch nur an der Peripherie vereinzelt tubulöse Reste erhalten bleiben.

Carraro exstirpierte $\frac{2}{3}$ der Submaxillardrüse des Kaninchens, ohne den Ausführungsgang und die großen Blutgefäße abzuschneiden. Der im Tiere verbliebene Drüsenteil wurde nach 24 Stunden bis 120 Tagen untersucht. Dabei hatte er folgende Ergebnisse: Bei weitgehenden Exstirpationen findet man in dem übrigen Teil eine Hyperplasie der acinösen Elemente, gleichzeitig einen echten Regenerationsprozeß von Epithelsträngen, die aus den kleinen Ausführungsgängen stammen. Diese Neubildung stellt kein normales Parenchym dar. Das übriggebliebene Parenchym erfährt eine Rückbildung, und zwar wandeln sich die Acini in kleine, mit Zylinderepithel ausgekleidete Schläuche um.

1. *Histologischer Befund an den überpflanzten Speicheldrüsen nach 1—10 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank (—1 bis —3°).*

Makroskopisch findet man, daß das überpflanzte Gewebestück von einer Kapsel von Bindegewebe schalenartig umgeben ist, daher sieht man auf Schnitten einen matt weißlichen Kern, der das transplantierte Gewebe darstellt, und eine helle weißliche Schale, die die bindegewebige Kapsel zeigt. Diese ist nur schwer abziehbar, da sie mit dem Parenchym innig verwachsen ist. Auf der Schnittfläche sieht man sehr häufig, daß sie auch strangförmige Ausläufer in das Parenchym geschickt hat. Wenn aber das Speicheldrüsenengewebe schon nekrotisch geworden, wie ich nach über 60 tägiger Aufbewahrungszeit gesehen habe, so konnte man gewöhnlich die Kapsel sehr leicht abziehen.

Ich möchte im voraus bemerken, daß die Strukturverhältnisse der Gewebe nicht nur von der Länge der Aufbewahrungsdauer abhängen, sondern auch von der individuellen Disposition, der bald geringeren, bald stärkeren Widerstandsfähigkeit. Eine weitere wichtige Rolle für ein gutes Gelingen spielt natürlich auch die Technik.

Betrachtet man bei schwacher Vergrößerung ein Schnittpräparat einer überpflanzten Speicheldrüse, die höchstens 10 Tage im Eisschrank aufbewahrt und dann transplantiert wurde, so zeigt sich, daß die Strukturverhältnisse gegenüber der Norm fast nur geringfügig verändert sind. Das Gewebe zerfällt in zwei Abschnitte:

1. das zentrale Mutterstück,
2. die periphere Regenerationszone.

Das Zentralgebiet ist noch sehr gut erhalten. Man kann in den einzelnen Läppchen die Alveolen scharf trennen, und auch die einzelnen Alveolarepithelien sind noch deutlich voneinander abzugrenzen.

Sie färben sich etwas stärker oxyphil als im Kontrollpräparat. Doch ist das Protoplasma fast von normaler Struktur, und nur vereinzelt kommen Vakuolen vor. Bei der *Altmanns*chen Färbung sind die Granula schön rötlich. Der Zellkern zeigt auch nur sehr geringe Veränderungen und ist gut umgrenzt. Teilweise ist der Chromatingehalt etwas angereichert.

Die Sekrettröhrchen fallen deutlich durch ihre rötlichere Färbung auf, da ihr Zellprotoplasma noch stärker eosinophil ist. Ihre Zellkerne sind stellenweise chromatinreicher. Das Epithel, welches nahe dem Grenzgebiet liegt, ist stärker degeneriert als im Zentrum, das Zellprotoplasma ist mehr oxyphil und die Kerne schon pyknotisch.

Das interlobuläre Bindegewebe ist fast normal, dann und wann findet man darin Kerndetritusmassen, die vielleicht von zugrundegegangenen Drüsenepithelien herrühren. Die Gefäßendothelien sind ganz unverändert und zeigen keine Besonderheiten.

Die hauptsächlichsten regenerativen Prozesse spielen sich an den Rändern ab; schon bei schwacher Vergrößerung sieht man mitten im Bindegewebe teils rundliche, teils strangförmige regenerierende Zellnester, die manchmal untereinander in Zusammenhang stehen. Das Bindegewebe in der Peripherie ist noch sehr jung und besteht aus lockerem faserigen Gewebe mit vielen spindeligen Fibroblasten. Zwischen den Bindegewebssträngen beobachtet man bisweilen eosinophile Zellen und Rundzelleninfiltration. Weniger häufig dagegen ist das Auftreten von Fremdkörperriesenzellen.

Bei stärkerer Vergrößerung sehen wir, daß die neugebildeten Epithelien etwas verschieden von den normalen sind. Die Zellen haben eine mehr kubische bis rundliche Gestalt. Das Zellprotoplasma ist fein gekörnt und färbt sich gut basophil. Der Zellkern ist ziemlich groß mit gut erkennbaren Kernkörperchen. Häufig sind deutliche, gut ausgebildete Mitosen zu beobachten. In der Mitte dieser Nester ist oft schon ein Lumen gebildet. In einigen Fällen macht das gewucherte Gewebe einen ähnlichen Eindruck wie ein kleines Gewächs.

In der Umgebung des Epithels findet man große bläschenförmige

Kerne, die gut Kernkörperchen erkennen lassen. Diese gehören zu regenerierenden Fibroblasten. An der Grenze zwischen Mutterstück und Peripherie findet man vorzugsweise spindelige Fibroblasten.

Die Regenerationsfähigkeit ist in den ersten 10 Tagen am besten, es finden sich dabei in den Epithelien die meisten Mitosen. Die Neubildung der Epithelzapfen schreitet von der Peripherie nach dem Zentrum des Stückes fort, sodaß die Mantelzone im Verhältnis zum Mutterstück immer größer wird. Betonen möchte ich ausdrücklich, daß die Regenerationskraft nach 10tägiger Aufbewahrung vollkommen ungeschwächt ist. Doch kann man schon nach 3tägiger Aufbewahrung im Eisschrank schlecht die Eiweiß- und Schleimdrüsen voneinander trennen. Meine Tabelle zeigt, daß jeder Versuch ohne Ausnahme positiv ist, sofern die Technik einwandfrei war.

2. *Histologischer Befund an transplantierten Speicheldrüsenstücken nach 10—20 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank.*

Makroskopisch wiesen die Stückchen ähnliche Veränderungen auf, wie ich sie schon im vorigen Kapitel besprochen habe.

Mikroskopisch: Im Übersichtsbild zeigt sich der Randteil gegenüber dem Mutterstück sehr ausgedehnt und das ganze Schnittpräparat, mit besonderem Hervortreten der Sekret Röhrchen, ist stark oxyphil gefärbt. Ebenso fällt die geringe Färbbarkeit der Kerne auf. Betrachtet man ein Endstück oder ein Sekret Röhrchen des Mutterstückes unter stärkerer Vergrößerung, so zeigt sich, daß die Strukturverhältnisse wesentlich schlechter geworden sind. Die Zellgrenzen sind nicht mehr so deutlich, und manchmal findet sich statt des Endstückes eine strukturlose nekrotische Masse. Einige Zellen enthalten ziemlich viel Vakuolen. Der Zellkern ist chromatinreicher, oft aber auch etwas gebläht. In manchen Zelleibern findet sich statt des Zellkerns nur noch eine feine Trümmermasse.

Die Sekret Röhrchen sind auch in eine mehr oder minder homogene strukturlose Masse umgewandelt. Die Kerne weisen dieselben Veränderungen auf wie die der Endstückzellen. Trotzdem sind diese degenerativen Veränderungen nicht allgemein, sondern es gibt noch Zellen, die fast ganz normal sind.

Das interlobuläre Bindegewebe ist völlig unversehrt, und wie ich es schon bei kürzerer Aufbewahrungsdauer beschrieben habe, finden sich darin bisweilen Zell- oder Kerntrümmer.

Ohne bemerkenswerte Veränderungen sind auch die Gefäßendothelien. Die Grenzzone ist stark verbreitert und enthält viel derbes Bindegewebe. Die Zahl der jungen Epithelzapfen ist verringert; was ihre Form betrifft, so finden wir rundliche, ovale, langgestreckte oder gabelige Gebilde vor. Die Form der regenerierten Epithelien ist kubisch,

sie enthalten einen vergrößerten, mit Chromatin angereicherten Kern. Häufig kann man Mitosen beobachten. In solchen Epithelzapfen hat sich bisweilen ein Lumen gebildet.

Am Rande überwiegt das lockere Bindegewebe; es gibt reichliche Fibroblasten mit längsovalen blasigen Kernen. Bisweilen trifft man zwischen Bindegewebsfasern eosinophile und Rundzellen an.

3. Histologischer Befund an transplantierten Speicheldrüsen nach 20 bis 30tägiger Aufbewahrung im Eisschrank.

Vorweg möchte ich betonen, daß bei solch langer Aufbewahrungszeit natürlich die Ergebnisse nicht alle mehr positiv waren, sondern einzelne Präparate keine Regeneration mehr zeigten.

Die makroskopischen Verhältnisse waren in dieser Versuchsreihe ähnlich, wie ich sie schon in den vorigen Zusammenfassungen geschildert habe.

Mikroskopisch: Bei schwacher Vergrößerung können wir einen noch ziemlich gut erhaltenen Kern, eine nekrotische Mittelzone ohne deutliche Strukturverhältnisse und einen bindegewebigen Mantel unterscheiden.

Der Zelleib der Endstückzellen ist stark vakuolig, doch ist der histologische Bau noch deutlich und die Zellgrenzen gut erkennbar. Die Kerne sind etwas chromatinreich und pyknotisch.

Der Zelleib der Sekretörchrenzellen ist stärker rot gefärbt, vakuolig, und die Strukturverhältnisse sind verwischt. Die Kerne sind auch pyknotisch und in einigen Fällen karyorrhektisch.

Die Gefäßendothelien und die Zellen des interlobulären Bindegewebes sind noch unverändert.

Die sich an den Kern des Stückes anschließende Zone ist fast völlig nekrotisch und besteht meistens aus scholligem Gewebe ohne bestimmte Struktur, bisweilen finden sich noch einzelne Kerne.

Die Außenzone besteht größtenteils aus faserigem und lockerem Bindegewebe. Dazwischen finden sich eingestreut die spindeligen Fibroblasten, außerdem noch vereinzelt regenerierte Epithelstränge von ovaler, länglicher oder gabeliger Gestalt. Ihr Zelleib ist basophil, die Kerne sind chromatinreich und lassen gut ausgebildete Mitosen nachweisen. Im Verhältnis zu den früheren Bildern hat die Zahl der regenerierten Epithelzapfen stark abgenommen.

4. Histologischer Befund an transplantierten Speicheldrüsen nach 30- bis 40 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank.

Hier zeigt sich, daß die positiven Resultate mit der Länge der Aufbewahrungszeit stark abnehmen und in noch höherem Maße wie im vorigen Abschnitt.

Makroskopisch sind keine Besonderheiten zu bemerken.

Mikroskopisch ist das Gewebe in noch höherem Grade der regressiven Metamorphose anheimgefallen; die Kerne der einzelnen Endstückzellen sind sehr schwach gefärbt. Dies gilt noch mehr für die Sekretörhrchenzellen. Im allgemeinen ist die Zahl der Kerne sehr vermindert.

Bei starker Vergrößerung zeigt sich das Protoplasma der Endstückzellen noch stärker oxyphil gefärbt als früher. Doch sind die einzelnen Zellen noch gut voneinander zu trennen. Die Kerne sind stark pyknotisch und karyorrhaptisch. Nach der Peripherie hin nehmen die degenerativen Veränderungen noch zu, und das Zellprotoplasma der Drüsenepithelien wird stark vakuolig.

Die Sekretörhrchenzellen weisen ähnliche Strukturverhältnisse auf und sind deutlich durch ihre rote Färbung gekennzeichnet. Das interlobuläre Bindegewebe ist teils intakt, teils hyaliner Degeneration anheimgefallen. In den Bindegewebsstücken kann man Kerntrümmernmassen nachweisen.

Die Gefäßendothelien sind ohne besondere Veränderungen.

In der Peripherie findet man ziemlich viel faseriges Bindegewebe mit Fibroblasten. Dazwischen sind vereinzelt eosinophile Zellen nachweisbar.

Trotz dieser langen Aufbewahrungsdauer sind noch stellenweise regenerierte Epithelzapfen von ovaler oder länglicher Gestalt vorhanden. Die Zellen sind stark basophil, enthalten chromatinreiche Kerne und bisweilen Mitosen.

5. Histologischer Befund an transplantierten Speicheldrüsen nach 40- bis 90 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank.

Die Tabelle zeigt, daß meine Resultate nur bis zu 45 tägiger Aufbewahrung positiv waren, später transplantierte Fälle immer negativ ausfielen. Daher werde ich mich darauf beschränken, zuerst die histologischen Bilder an dem 45 Tage aufbewahrten Präparate zu schildern, und dann die Befunde an den länger aufbewahrten Objekten kurz zusammenfassen.

Makroskopisch zeigt das Präparat keine Veränderungen.

Mikroskopisch findet man im allgemeinen ein Bild noch stärkerer degenerativer Veränderungen. So sind die Drüsenepithelien stark rot gefärbt, die Kerne teils chromatinreich, teils der Karyolyse anheimgefallen. Der Bau der Drüsenepithelien und der Sekretörhrchenzellen ist ziemlich verwaschen, die Kerne der Sekretörhrchenzellen in manchen Fällen sehr chromatinreich, in anderen schwach gefärbt und karyorrhaptisch. Die interlobulären Bindegewebsstraßen sind mit Kerntrümmern angefüllt. Die Gefäßendothelien

sind noch gut erhalten und ohne Veränderungen. In der Peripherie findet man vereinzelt neugebildete Alveolen, doch sind die Kerne der Zellen schwach gefärbt und blasig, mitunter enthalten sie Mitosen. Ihr Zellprotoplasma ist basophil gefärbt. Es liegen im faserigen Bindegewebe viele Fibroblasten, vereinzelt eosinophile Zellen.

Bei den länger aufbewahrten Stücken (46—90 Tage) kann man fast gar keine Regenerationserscheinungen mehr wahrnehmen. Die Stücke wandeln sich immer mehr in schollige Massen um, sodaß wir bei 90 tägiger Aufbewahrung entweder fast keine Kerne der Drüsenepithelien nachweisen können, oder sie sehr schwach gefärbt finden. Das interlobuläre Bindegewebe enthält viel Kernbröckel und ist zum Teil hyaliner Degeneration verfallen, teils noch intakt. Die Gefäßendothelien sind fast unverändert. Das Protoplasma der Sekretörzellen hebt sich durch seine stärkere Rotfärbung ab, die Kerne sind zum Teil karyorrhektisch, zum Teil schwach gefärbt.

Die Ränder werden von lockerem, faserigem Bindegewebe gebildet, das sich ähnlich verhält, als ob das Stück nur 50 Tage aufbewahrt worden wäre. Im Gegensatz zu dem 45 Tage aufbewahrten Material sind hier an den Rändern keine sich regenerierende Epithelzapfen mehr nachweisbar.

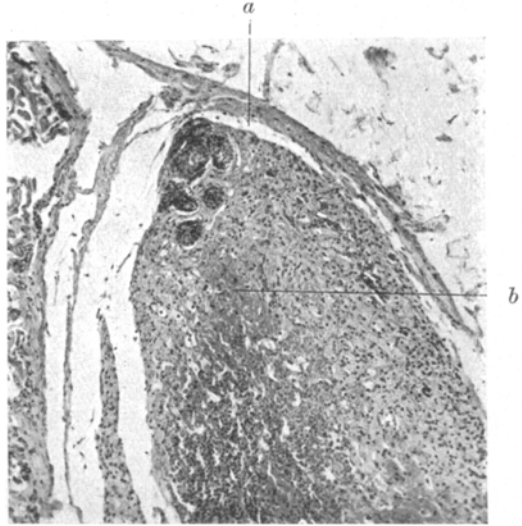


Abb. 1. Kaninchen Nr. 51. Regenerierende Epithelzapfen an transplantierten Speicheldrüsenstückchen nach 45 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank. *a* = neugebildete Epithelzapfen; *b* = nekrotisches Drüsengewebe. Leitz. Ok. 3. Obj. 3.

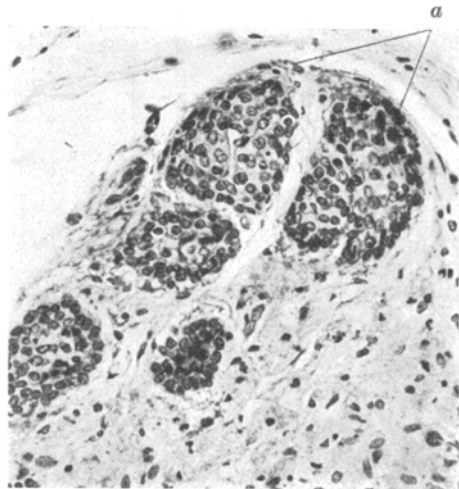


Abb. 2. Kaninchen Nr. 51. Das gleiche Präparat bei starker Vergrößerung. *a* = rechts oben im Epithelzapfen beginnende Lumenbildung. Leitz. Obj. 6. Okul. 3.

Tabelle I. Transplantationsversuche.

Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer vor der Transplantation im Eisschrank. 1 bis 3 Grad. Tage	Transplantationsdauer Tage	Resultat	Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer vor der Transplantation im Eisschrank. 1 bis 3 Grad. Tage	Transplantationsdauer Tage	Resultat
1	3	8	+	31	26	8	+
2	3	9	+	32	27	9	—
3	4	7	+	33	28	13	—
4	4	7	+	34	29	9	+
5	4	7	+	35	31	10	—
6	4	7	+	36	31	14	+
7	5	10	+	37	32	8	+
8	5	7	+	38	34	12	+
9	5	12	+	39	35	10	—
10	5	13	+	40	35	14	—
11	5	9	+	41	38	14	+
12	6	10	+	42	40	15	—
13	6	9	+	43	40	10	—
14	7	8	+	44	40	15	+
15	7	9	+	45	40	13	—
16	8	10	+	46	40	15	+
17	8	8	—	47	40	14	+
18	9	10	+	48	40	13	—
19	10	10	+	49	42	10	—
20	11	11	+	50	45	8	—
21	11	15	+	51	45	14	+
22	12	7	+	52	50	15	—
23	13	8	+	53	51	15	—
24	15	10	+	54	60	14	—
25	17	11	+	55	60	14	—
26	18	10	+	56	60	12	—
27	20	8	+	57	70	12	—
28	22	10	+	58	70	10	—
29	24	15	+	59	80	12	—
30	25	10	—	60	90	15	—

Histologischer Befund am transplantierten Speicheldrüsenstückchen nach verschieden langer Aufbewahrungsdauer bei Zimmertemperatur (18—20°).

1. Speicheldrüsenstückchen nach 1 tägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur überpflanzt.

Makroskopisch ist das Stück ohne Veränderungen. Bei schwacher Vergrößerung fällt auf, daß es sehr gut erhalten ist. Man kann die Alveolarepithelien deutlich voneinander trennen. Die Sekrettröhrchen sind etwas stärker oxyphil, aber ihre Kerne gut färbbar. Das interlobuläre Bindegewebe zeigt, abgesehen von an einzelnen Stellen auftretenden Kerntrümmernmassen, keine Besonderheiten. Die Gefäßendothelien sind völlig unverändert. In der Peripherie finden sich zahlreiche

neugebildete Zellnester von runder, ovaler oder strangförmiger Gestalt. Die Zellzapfen bestehen aus einer ein- oder mehrschichtigen Lage kubischer Epithelzellen mit großen Kernen.

Bei starker Vergrößerung erscheint das Protoplasma der Endstückzellen schwach eosinophil und der Chromatingehalt der Kerne etwas reicher. Die Struktur der Zellen ist teils wabig, teils verwaschen, doch sind die Zellgrenzen noch sehr deutlich.

Das Protoplasma der Sekrettröhrenchenzellen ist in höherem Grade eosinophil, und ihre Zellgrenzen beginnen undeutlich zu werden. Der Chromatingehalt der Kerne ist vermehrt.

Die Zellen der neugebildeten Epithelien sind kubisch oder platt; das Protoplasma ist basophil. Die Kerne sind groß, rundlich oder oval und enthalten oft gut ausgebildete Mitosen.

Zwischen den Zellzapfen findet man junges faseriges Bindegewebe. Außerdem sind viel eosinophile Leukocyten im jungen Bindegewebe nachweisbar.

*2. Speicheldrüsenstückchen, nach 2 tägiger Aufbewahrung in Zimmer-
temperatur transplantiert,*

lassen makroskopisch nichts an bemerkenswerten Abweichungen erkennen. Mikroskopisch zeigt sich, daß der Kern des Stückes von einem großen Mantel neugebildeten Gewebes umgeben wird. Das transplantierte Stück ist ziemlich kernarm, das Zellprotoplasma etwas oxyphil, und die Grenzen der Alveolarepithelien sind etwas undeutlich. Wiederum sind die Sekrettröhrenchen charakteristisch stärker rot gefärbt und ziemlich kernarm.

Das interlobuläre Bindegewebe ist intakt und enthält Kerndetritusmassen. In der Peripherie gibt es viele rundliche, ovale oder strangförmige Zellzapfen aus neugebildeten Epithelien. Manchmal beginnt in ihnen schon die Lumenbildung. Die Struktur des Protoplasmas der Endstückzellen ist etwas verwaschen. Die Zellkerne sind pyknotisch oder schon karyorrhektisch, in anderen Fällen nur noch schwach gefärbt. Dieselben Veränderungen zeigen auch die Kerne der Sekrettröhrenchenzellen, deren Protoplasma durch ihre leuchtend rote Farbe auffällt.

Die Gefäßendothelien und Bindegewebszellen sind ohne Veränderung. Die neugebildeten Epithelzellen sind von kubischer oder platter Gestalt und haben ein basophiles Protoplasma. Ihre Kerne sind groß und rundlich und enthalten deutlich Kernkörperchen. Bisweilen findet man deutliche Mitosen.

In den Zellzapfen sind die Epithelien ein- oder mehrschichtig angeordnet und weisen manchmal ein Lumen auf.

Die Randzone ist reich an jungen, spindeligen oder sternförmigen Bindegewebszellen, bisweilen kommen dazwischen eosinophile Zellen vor.

3. *Speicheldrüsenstückchen, nach 3 tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur transplantiert,*

zeigten makroskopisch nichts Besonderes.

Mikroskopisch erscheint bei schwacher Vergrößerung das Transplantat ziemlich kernarm. Der histologische Bau der Alveolarzellen ist undeutlich und das Protoplasma rot gefärbt.

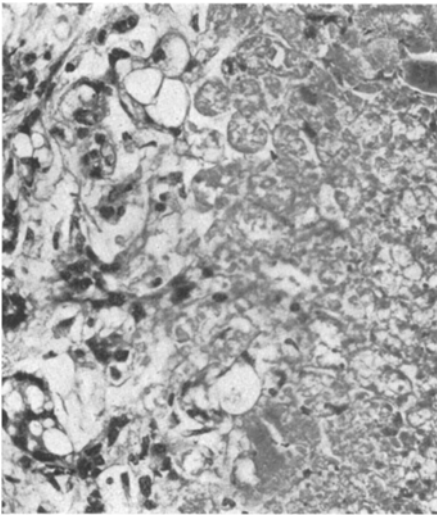
Die Sekretörhrchen sind fast kernlos und zeichnen sich durch ihre rote Färbung aus. Im interlobulären Bindegewebe ist teilweise schon hyaline Degeneration eingetreten, und es enthält Kernbröckel. Die Gefäßendothelien sind ohne Besonderheiten. In der Peripherie findet man in geringerem Maße als bei den vorigen Versuchsreihen neugebildete Epithelien.

Hier sind sie im Gegensatz zu den letzten Versuchen nur in schmalen Strängen oder Gruppen angeordnet.

Bei starker Vergrößerung betrachtet, enthalten die Endstückzellen ein strukturloses oder homogenes Protoplasma.

Ihre Kerne sind nur noch schwach gefärbt oder karyorrhektisch. Die Sekretörhrchenzellen weisen ein homogenes, leuchtend rot gefärbtes Protoplasma auf. Ihre Kerne sind teils zerstört, teils nur noch schwach gefärbt.

Die neugebildeten Epithelzellen sind nicht so regelmäßig angeordnet, sondern liegen in Haufen nebeneinander. Es sind kubische oder platte Zellen mit basophilem Protoplasma und großem rundlichen Kern. Bisweilen enthalten sie Mitosen. Mitunter kann man junge Bindegewebszellen und eosinophile Leukocyten nachweisen.



4. *Speicheldrüsenstückchen, nach 4tägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur transplantiert.*

Die Veränderungen stimmen in der Hauptsache mit den bei 3 tägiger Aufbewahrung festgestellten überein. Von neugebildetem Epithelgewebe kann man nur noch Spuren nachweisen. Die Zellen sind in Gruppen oder Haufen unregelmäßig angeordnet.

Sie sind von platter oder kubischer Form mit großem

Abb. 3. Kaninchen Nr. 11. Regenerationsepithel an transplantiert. Speicheldrüsenstückchen nach 4tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemper. Leitz. Ok. 3. Obj. 6.

bläschenförmigen Kern. Ihr Protoplasma ist mehr basisch gefärbt. Mitosen sind nur vereinzelt nachweisbar.

5. *Speicheldrüsenstückchen, nach 5—13 tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur transplantiert.*

Bei Präparaten, die länger als 4 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, konnten keine Regenerationszeichen mehr nachgewiesen werden. Ich habe noch 13 Tage lang die Präparate unter den erwähnten Bedingungen gehalten, doch da an allen Präparaten immer die gleichen Abbauerscheinungen auftraten, werde ich sie gemeinsam schildern. Vorweg möchte ich betonen, daß die Präparate bis zu 9tägiger Aufbewahrung relativ gut erhalten waren, trotzdem sich keine Zeichen für Regeneration zeigten. Doch ist natürlich auch hier keine Regel-

Tabelle II. Transplantationsversuche.

Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer vor der Transplantation bei Zimmertemperatur (+18 bis 20 Grad). Tage	Transplantationsdauer Tage	Resultat	Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer vor der Transplantation bei Zimmertemperatur (+18 bis 20 Grad). Tage	Transplantationsdauer Tage	Resultat
1	1	15	+	13	5	7	—
2	1	10	+	14	5	8	—
3	1	9	+	15	5	9	—
4	1	14	+	16	6	12	—
5	2	14	+	17	6	10	—
6	2	13	+	18	6	8	—
7	3	10	+	19	7	10	—
8	3	15	+	20	8	10	—
9	4	16	+	21	9	10	—
10	4	6	—	22	9	10	—
11	4	8	+	23	12	15	—
12	5	10	—	24	13	7	—

mäßigkeit festzustellen, denn manchmal waren sie schon nach 6tägigem Verweilen schlechter als andere. Hier spielt das individuelle Verhalten eine große Rolle. Im allgemeinen gilt aber der Satz, daß mit der Länge der Aufbewahrungsdauer die regressiven Veränderungen zunehmen.

Speicheldrüsenstückchen bei Brutschranktemperatur (37°) aufbewahrt und dann überpflanzt.

1. *Speicheldrüsenstückchen, nach 15 Stunden Aufbewahrung bei Brutschranktemperatur (37°) überpflanzt.*

Bei schwacher Vergrößerung sieht man, daß die Endstückzellen noch gut erhalten und gut voneinander zu trennen sind, doch ist das Proto-

plasma etwas oxyphil. Die Sekretörhrchenzellen heben sich durch ihre stärkere rote Färbung ab. In der Peripherie sind zahlreiche teils solide, teils lumenhaltige Zellstränge nachweisbar von ovaler, runder, strangförmiger oder andersartiger Gestalt, die das neugebildete Epithelgewebe darstellen.

Bei stärkerer Vergrößerung erscheint das Protoplasma der Endstück- und Sekretörhrchenzellen etwas vakuolig, die Kerne sind in ihrem Chromatingehalt etwas angereichert, mitunter schon etwas pyknotisch. Die Gefäßendothelien und das interlobuläre Bindegewebe sind unverändert.

In der Peripherie liegen die neugebildeten Epithelstränge. Es sind ein- oder mehrschichtige große kubische Zellen mit basophilem Protoplasma; der Kern ist groß und etwas rundlich und enthält deutliche Kernkörperchen. Bisweilen lassen sich Mitosen erkennen. Am Rande findet man viel junge spindelige oder sternförmige Bindegewebszellen mit großem, ovalem Kern. Manchmal sieht man auch eosinophile Zellen.

*2. Speicheldrüsenstückchen, nach 24 Stunden Aufbewahrung bei Brut-
schranktemperatur (37°) überpflanzt.*

Die Schnitte erscheinen im Übersichtsbild etwas kernreich, das Protoplasma der Zellen etwas oxyphil, besonders bei den Sekretörhrchenzellen. Die Zellgrenzen sind noch deutlich. In dem interlobulären Bindegewebe findet man Kerndetritusmassen. In der Peri-

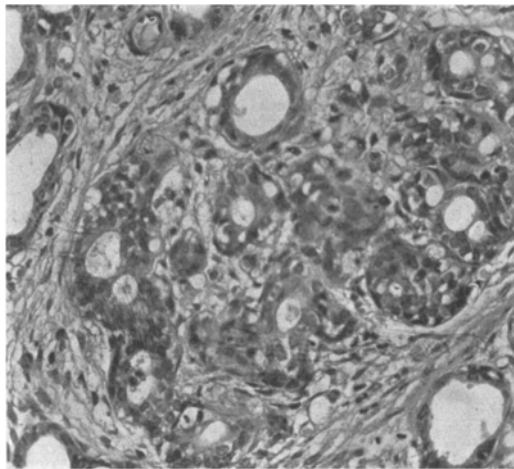


Abb. 4. Kaninchen Nr. 4. Speicheldrüsenstückchen 24 Std. im Brutschrank aufbewahrt und dann überpflanzt. a) Zellzapfen mit vereinzelter Lumenbildung. b) Fibroblastenreiches Bindegewebe. Leitz Objektiv 6. Okular 2.

pherie sind nur sehr spärlich neugebildete Epithelstränge nachweisbar. Bei starker Vergrößerung ist das Zellprotoplasma in der Kernzone in höherem Maße vakuolig als in der Randzone. Die Kerne der Endstückzellen und Sekretörhrchezellen sind zum Teil noch gut erhalten, teils ist schon der Chromatingehalt vermehrt.

Die regenerierten Epithelzellen sind mehrschichtig, zwiebel förmig angeordnet und enthalten ein basophiles Protoplasma. Die Kerne sind groß und blasig mit deutlichen Kernkörperchen. Bisweilen sind Mitosen nachweisbar. Im Bindegewebe finden sich junge Fibroblasten und mitunter eosinophile Zellen.

3. Speicheldrüsenstückchen, 2—10 Tage bei Brutschranktemperatur (37°) aufbewahrt und dann transplantiert.

Ich habe die Stücke bis zu 10 Tagen im Brutschrank aufbewahrt, doch konnte ich keine Zeichen von Regeneration mehr nachweisen. Die Strukturverhältnisse der Stücke wurden mit der Länge der Aufbewahrungszeit immer schlechter. Allmählich nahm die Färbbarkeit

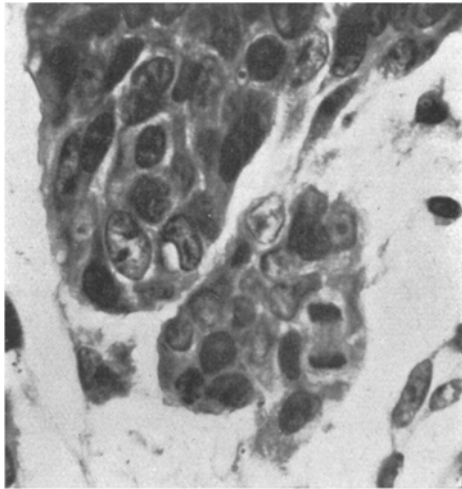


Abb. 5. Derselbe Fall. Mitotische Teilung in einer neugebildeten Epithelzelle. Leitz Objektiv $\frac{1}{12}$ Immersion. Okular 2.

der Kerne ab, die Zellgrenzen wurden immer undeutlicher, so daß das Stück nach 10 tägiger Aufbewahrungsdauer zum größten Teile eine nekrotische Masse wurde. Die Kernrümpfer häufen sich im interlobulären Bindegewebe an, bis auch dieses allmählich hyalinisiert.

An diese Versuche schlossen sich nun solche an, in denen die Lebensfähigkeit nicht durch Im- sondern durch Explantation geprüft wurde. Es erübrigt sich, hier noch auf die gesamte so bedeutungsvollen Ergebnisse der Gewebszüchtung einzugehen. Ich beschränke mich nur, die zu erwähnen, die sich auf die Auspflanzung von Speicheldrüsen gewebe beziehen.

Chlopin (1923) untersuchte das Drüsenepithel der Submaxillaris von neugeborenen Kaninchen *in vitro*. Dabei konnte er dessen bedeutende Lebens- und Vermehrungsfähigkeit feststellen. Er fand niemals, daß Epithelzellen und Bindegewebszellen sich zu einem gemeinsamen Gewebe entdifferenzierten.

Tabelle III. Transplantationsversuche.

Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer im Bruttofen (37 Grad) v. der Transplantation	Transplantationsdauer Tage	Resultat	Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer im Bruttofen (37 Grad) v. der Transplantation	Transplantationsdauer Tage	Resultat
	Tage — Stunden				Tage — Stunden		
1	15 St.	13	+	12	5	10	—
2	1 Tag	14	+	13	5	10	—
3	1	11	—	14	5	8	—
4	1	10	+	15	5	11	—
5	2	8	—	16	6	8	—
6	2	9	—	17	6	10	—
7	3	10	—	18	7	11	—
8	4	9	—	19	8	8	—
9	4	10	—	20	8	10	—
10	4	8	—	21	10	13	—
11	5	8	—				

Neuerdings wurden von *Mitsuda* unter Leitung von *Lubarsch* Arbeiten über die Regenerationskraft der Speicheldrüse vorgenommen, die eingehende Erläuterungen der histologischen Veränderungen geben, wobei im Gegensatz zu den meisten Arbeiten der amerikanischen Forscher die Organe erwachsener Tiere benutzt wurden.

Bei meinen Untersuchungen handelt es sich darum, den Vergleich der Einwirkung verschiedener Temperaturen auf die Lebenskraft der herausgeschnittenen Teile, wie vorher durch Einpflanzung, nun in Gewebekulturen durchzuführen.

Untersuchungsmethode.

Zu meinen Explantationsversuchen benutzte ich sterile, innen vollständig mit einer dünnen Paraffinschicht ausgekleidete, oben durch eine Gummikappe luftdicht verschlossene Zentrifugierröhrchen. In die Gummikappe war eine Kanüle eingestochen.

Diese Röhrchen wurden 2 Stunden im Dampftopf sterilisiert. Nachdem beim Erkalten das zuvor verflüssigte Paraffin gleichmäßig verteilt war, wurde 1 ccm keimfreies steriles Paraffinöl hinzugegeben und das Röhrchen nunmehr in ein Gefäß mit einer Kältemischung gestellt.

Dem Tiere, von welchem das Gewebe stammte, wurden durch Herzpunktion 20 ccm Blut entnommen, wovon je 10 in ein in der beschriebenen Weise vorbereitetes Zentrifugenröhrchen kamen, dann wurde sofort 3—5 Min. lang zentrifugiert. Die Schichten, die sich dann gebildet haben, bestehen, von unten nach oben, aus einer Blutzellen- und einer Blutplasmasschicht. Das Blutplasma wurde mit einer sterilen Spritze entnommen und in eine streng aseptische Plasmakammer gebracht, in die ein nach obiger Methode vorbereitetes linsengroßes Stückchen gelegt war. Die Plasmakammer wurde durch Paraffin luftdicht verschlossen und im Brutschrank bei 37° aufbewahrt, nach verschieden langer Zeit herausgenommen, in *Susa* oder in 10proz. Formol fixiert und Paraffin- resp. Gefrierschnitte angefertigt. Die Färbungsmethoden waren dieselben wie oben. Erwähnt sei noch, daß selbstverständlich nur völlig bakterienfreie Präparate benutzt wurden.

Speicheldrüsenstückchen, nach verschieden langer Aufbewahrungsdauer im Eisschrank in autogenem Plasma gezüchtet.**1. Speicheldrüsenstückchen, nach 20 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank in autogenes Plasma 8 Tage explantiert.**

Schon bei schwacher Vergrößerung fällt dem Beobachter auf, daß das Schnittpräparat im allgemeinen ziemlich kernarm geworden ist. Nur stellenweise findet man — besonders im Zentrum des Stückes — ziemlich viele Kerne. Das Parenchym ist natürlich stärker eosinophil als normal, aber man kann sehr gut, besonders in der Mitte, die Endstückstellen voneinander unterscheiden, ebenso heben sich deutlich die Alveolen von dem umgebenden Bindegewebe ab. Die Kernzone des Explantates ist von einem nekrotischen Mantel umgeben.

Bei stärkerer Vergrößerung ist in den Endstückchenzellen das Plasma eosin gefärbt und weist eine feine Körnelung auf. Die Kerne der Endstückzellen sind etwas rundlicher geworden und zeigen teilweise einen stärkeren Chromatingehalt. In manchen Alveolen finden wir sie von etwas größerer Gestalt als normal. Die Sekretörhrchen sind scharf von dem umgebenden Bindegewebe getrennt. Das Zellprotoplasma ist oft stärker rot gefärbt als das der Alveolarepithelien. Die Kerne zeigen im allgemeinen ähnliche Veränderungen wie die der Alveolarepithelien, doch sind einzelne noch besser als jene erhalten. Man beobachtet auch hier teilweise einen stärkeren Chromatingehalt.

Faßt man die im interlobulären Bindegewebe sich abspielenden Vorgänge kurz zusammen, so kann man sagen, daß das Bindegewebe nicht vermehrt ist. In der Nähe des Kerndetritus kann man die schon oft beschriebenen spindeligen Fibroblasten mit dem schaumigen Protoplasma sehen, die ihren Ursprung, nach *Maximow*, von den Makrophagen nehmen.

An den Gefäßendothelien sind trotz der schon 20 tägigen Aufbewahrung keine Veränderungen zu beobachten. In der Randzone sieht man einzelne Alveolarepithelien, die Zeichen von regenerativen Vorgängen zeigen. Ihre Kerne sind etwas vergrößert und zeigen manchmal eine mehr länglich ovale Form; einzelne lassen Abschnürungen erkennen. An manchen Kernen sind sehr gut ein oder zwei Kernkörperchen zu sehen, zuweilen sind deutliche Mitosen nachweisbar. Das Protoplasma der Zellen ist von wabigem Bau und bei einigen stärker basophil gefärbt.

2. Speicheldrüsenstückchen, 21 Tage im Eisschrank aufbewahrt und 9 Tage in autogenes Plasma explantiert.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Veränderungen gegen das vorher beschriebene Präparat so geringfügig sind, daß schlecht zu unterscheiden ist, von welchem der beiden Fällen das Präparat her stammt.

Hauptvorherrschend ist eine etwas ausgeprägtere Pyknose der Kerne der Drüsenepithelien und an andern Stellen — auch im interlobulären Bindegewebe — schwächere Kernfärbbarkeit.

In dem Mantelteil des Explantates sind die Zellen besser erhalten und noch viele Alveolenepithelien mit Kernen nachweisbar. Ihr Protoplasma ist stärker basophil, und die Kerne zeigen deutliche Kernkörperchen, sind bisweilen etwas länglich und zeigen Einschnürungen, vereinzelt deutliche Mitosen.

3. *Speicheldrüsenstückchen, 24 Tage im Eisschrank aufbewahrt und 10 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Im Übersichtsbild erscheint die Kernzahl noch stärker vermindert. Die Endstückzellen sind manchmal mehr eosinophil; teilweise aber ist das Protoplasma von wabigem Bau und basophil. Die Zellkerne sind oft vergrößert und in einzelnen Fällen stark chromatinreich. In der Mehrzahl aber sind sie nur noch schwach sichtbar. Bisweilen finden wir schon pyknotische Veränderungen, stellenweise noch Mitosen. In den Sekrettröhrchen ist das Zellprotoplasma stärker oxyphil, und die Kerne weisen größere regressive Veränderungen auf. Die Endothelien der Gefäße sind gut erhalten. Im interlobulären Bindegewebe findet man spindelige Fibroblasten, besonders in der Umgebung von Zelltrümmern; im übrigen ist das Bindegewebe nicht vermehrt. Im Mantelteil sind deutliche Zeichen von Regeneration an den Epithelzellen nachweisbar.

4. *Speicheldrüsenstückchen, 25 Tage im Eisschrank aufbewahrt und 9 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Es heben sich deutlich die Sekrettröhrchenzellen von denen der Alveolen ab. Bei starker Vergrößerung sieht man in einzelnen Alveolarepithelien noch eine gute Struktur und deutliche Kerne. Andererseits ist das Zellprotoplasma schon manchmal rein homogen, die Kerne sind teils zerstört, teils im Zustand regressiver Metamorphose. Die Sekrettröhrchenzellen weisen ähnliche Veränderungen auf, auch die Gefäßendothelien sind nicht mehr völlig intakt. In der Nähe der Sekrettröhrchen- und Endstückzellen, meistens in der Randzone, sieht man große basophile, sich regenerierende Epithelzellen, die gewöhnlich ringförmig liegen und ein Lumen bilden. Einige dieser Zellen zeigen schön ausgebildete Mitosen.

5. *Speicheldrüsenstückchen, 28 Tage im Eisschrank aufbewahrt und 9 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Bei schwacher Vergrößerung zeigt der Schnitt eine fast völlig homogene, rötliche Masse. Erst bei stärkerer Vergrößerung kann man vereinzelt Kerne der Alveolarepithelien erkennen. Gegenüber kürzere Zeit

aufbewahrten Stücken zeigen sie eine geringere Färbbarkeit. Stellenweise sind die Kerne pyknotisch, vereinzelt ist aber der Chromatingehalt vermehrt. Die Sekretörhrchen heben sich deutlich durch ihre stärkere Eosinfärbung ab; Kerne sind noch in einzelnen Zellen nachweisbar. Auch an den Gefäßendothelien sind schon deutliche regressive Veränderungen zu beobachten: in manchen Zellen sind die Kerne pyknotisch. Im Mantelteil findet man noch Zeichen deutlicher Regeneration in den Drüsenepithelien: die Zellen sind dann etwas vergrößert und basisch gefärbt. Das Protoplasma zeigt einen wabigen Bau. Die Kerne der Zellen sind etwas gebläht und lassen vereinzelt Mitosen erkennen.

6. Speicheldrüsenstückchen, 30 Tage im Eisschrank aufbewahrt und 9 Tage in autogenes Plasma explantiert.

Die regressiven Veränderungen überwiegen hier in noch stärkerem Maße, die Zahl der Kerne hat weiter abgenommen. Doch sind noch

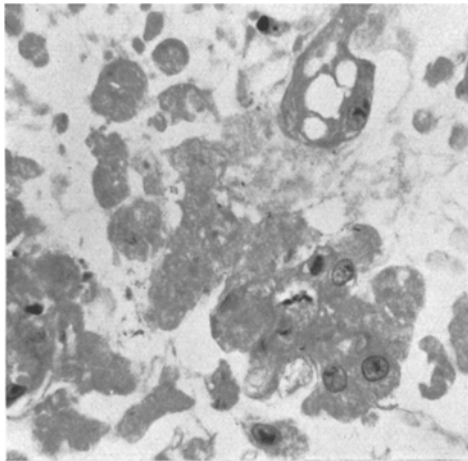


Abb. 6. Kaninchen Nr. 18. Mitose an 30 Tage im Eisschrank aufbewahrten und dann in autogenem Plasma explantiertem Speicheldrüsenstückchen. Leitz Okular 3. Obj. 7.

in einigen Alveolenepithelien Kerne, die ziemlich schwach gefärbt sind, nachzuweisen. Ihr Chromatingehalt ist stark verringert. In manchen Zellen sind nur noch kleine Kerndetritusmassen zu erkennen. Trotzdem findet man Epithelien mit Mitosen. Die Sekretörhrchenzellen zeigen dasselbe Bild wie die Alveolarepithelien. An den Gefäßendothelien sind auch schon Zeichen der regressiven Metamorphose nachweisbar, die Kerne sind nur schwach gefärbt. Im interlobulären

Bindegewebe überwiegt degenerativer Zerfall, Zellkerne sind wenig vorhanden und oft zu Bröckeln aufgelöst. In diesen Präparaten kann man regenerierende Epithelzellen nachweisen, wenn auch etwas spärlich. Es sind große Zellen mit basischem Protoplasma, in denen Mitosen zu finden sind.

7. Speicheldrüsenstückchen, über 30 Tage im Eisschrank aufbewahrt und 8—10 Tage in autogenes Plasma explantiert.

Ich habe die Präparate bis 54 Tage im Eisschrank gelassen und dann explantiert, doch konnte ich keine positiven Ergebnisse mehr erzielen.

Bei Stückchen, die bis 38 Tage im Eisschrank gelegen hatten, kann man noch gut die Strukturverhältnisse erkennen. Es finden sich bisweilen Alveolen mit deutlichen Zellgrenzen. Die Kerne sind wenig chromatinreicher, die Sekrettröhrenchenzellen stärker rot gefärbt, die Kerne etwas pyknotisch. In den Bindegewebszellen sind die Kerne gering gefärbt, teilweise aber noch gut erhalten, in einzelnen Gebieten jedoch schon der regressiven Metamorphose anheimgefallen. Die Gefäßendothelien sind zum Teil relativ wenig angegriffen, zum Teil degenerativ verändert.

Trotz dieser noch verhältnismäßig guten Strukturverhältnisse sind keine Regenerationszeichen mehr nachzuweisen.

Tabelle IV. Explantationsversuche.

Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer i. Eisschrank (1 bis 5 Grad)	Aufbewahrungsdauer der Plasmakulturen im Brutofen (37 Gr.)	Resultat	Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer i. Eisschrank (1 bis 3 Grad)	Aufbewahrungsdauer der Plasmakulturen im Brutofen (37 Gr.)	Resultat
	Tage	Tage			Tage	Tage	
1	20	8	+	13	30	8	+
2	20	9	—	14	30	10	—
3	20	8	—	15	32	10	—
4	21	9	+	16	36	8	—
5	24	10	+	17	37	9	—
6	24	8	—	18	37	8	—
7	24	9	—	19	38	10	—
8	24	10	+	20	40	10	—
9	25	10	+	21	40	9	—
10	25	8	+	22	40	10	—
11	28	9	+	23	52	10	—
12	30	8	—	24	54	8	—

Bei noch längerer Aufbewahrungszeit werden die Strukturverhältnisse immer schlechter. In den meisten Fällen sind die Alveolen ohne deutliche Zellgrenzen, doch gibt es natürlich Ausnahmen, wo der histologische

Bau besser ist. Für gewöhnlich sind die Kerne nur noch schwach sichtbar und karyolytisch. Die Sekretörchrenzellen sind ohne deutliche Struktur und ihre Kerne mitunter zerstört. In dem interlobulären Bindegewebe überwiegt die regressive Metamorphose, man findet chromatinangereicherte, pyknotische oder vollkommen zerstörte Kerne. Die Gefäßendothelien sind auch degenerativ verändert. Im Mantelteil sind im allgemeinen die Veränderungen degenerativ noch stärker, die Zellen strukturlos, homogen und stark eosinophil.

Speicheldrüsenstückchen, verschieden lange Zeit bei Zimmertemperatur (18—20°) aufbewahrt und dann in autogenes Plasma explantiert.

1. Speicheldrüsenstückchen, nach 24 Stunden Aufbewahrung in Zimmertemperatur, 10 Tage in autogenes Plasma explantiert.

In den Schnittpräparaten bei schwacher Vergrößerung ist das Zentrum des Stückes ziemlich reich an Kernen. Die Alveolarepithelien sind etwas oxyphil gefärbt, doch kann man die Zellgrenzen sehr deutlich erkennen. Die Sekretörchrenzellen sind deutlich stärker eosinophil. Die Peripherie des Explantates ist im Vergleich zum Zentrum relativ kernarm, die Alveolarepithelien sind dort stärker rot als im Zentrum, die Zellgrenzen ziemlich verwaschen. Die Sekretörchrenzellen weisen in gleichem Maße die degenerativen Veränderungen auf wie die Alveolarepithelien.

Bei starker Vergrößerung ist im Zentrum die Struktur der Alveolarepithelien verwaschen, sie enthalten oft Vakuolen. Ihre Kerne sind etwas chromatinreich. Das Protoplasma der Sekretörchren ist teilweise vakuolig, teilweise stellt es eine leuchtend rot gefärbte homogene Masse dar. In den Kernen ist der Chromatingehalt vermehrt. Die Eiweiß- und Schleimzellen kann man schwer unterscheiden. An den Rändern sind die Kerne manchmal chromatinreich, teilweise aber schon karyorrhektisch. Daneben findet man große rundliche Zellen, deren Protoplasma basophiler ist als das der Umgebung. Diese Zellen enthalten einen runden Kern mit deutlichem Kernkörperchen und oft Mitosen. Es handelt sich dabei um neugebildete Epithelien. Diese Zellen sind oft zu zweit oder dritt ringförmig angeordnet. Diffus zerstreut findet man im interlobulären Bindegewebe spindelige, sternförmige oder polygonale Zellen mit ovalem, großem Kern.

2. Speicheldrüsenstückchen, nach 2tägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur, 10 Tage in autogenes Plasma explantiert.

Befunde sind im wesentlichen wie nach 24stündiger Aufbewahrung. Mantelteil fast kernlos, viel Kerntrümmer an anderen Stellen in den Randteilen, protoplasmareiche Epithelien mit eosinophilem Zelleib und einigen Mitosen, die teils gabelförmig zusammenhängen, teils ringförmig ein Lumen umschließen. Dazwischen reichlich junge sternförmige und langgestreckte Bindegewebszellen.

3. *Speicheldrüsenstückchen, nach 3tägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur, 8—10 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Zerfall im wesentlichen wie in früheren Stadien.

Die schon oben erwähnten, neugebildeten Epithelien sind auch nachweisbar. Es sind runde, große Zellen mit großem, rundlichem Kern und deutlichem Kernkörperchen, bisweilen enthalten sie Mitosen.

Sie sind ringförmig oder oval angeordnet. Junges spindeliges oder sternförmiges Bindegewebe ist nur wenig nachweisbar.

4. *Speicheldrüsenstückchen, nach 4tägiger Aufbewahrung in Zimmertemperatur, 9 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Das Stück ist ziemlich kernarm geworden. Die Struktur der Endstückzellen ist undeutlich, die Sekrettröhrchen heben sich durch ihre stärkere rote Farbe ab und sind größtenteils kernlos. Das interlobuläre Bindegewebe ist fast völlig hyalinisiert und enthält an einigen Stellen Zelltrümmer.

Außerdem finden wir an verschiedenen Stellen der Peripherie neugebildete Epithelzellen von großer, rundlicher Gestalt mit basophilem Protoplasma. Sie enthalten einen großen bläschenförmigen Kern. Die Zellen sind — wie oben beschrieben — gewöhnlich ringförmig um ein Lumen angeordnet. Daneben gibt es auch mehr strangförmig gelagerte Epithelien. In geringer Menge finden sich auch noch große, spindelige oder sternförmige Zellen mit großem, ovalem Kern.

5. *Speicheldrüsenstückchen, 5—10 Tage in Zimmertemperatur aufbewahrt und 7—10 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Die Protokolle meiner länger als 5 Tage aufbewahrten Stücke fasse ich kurz zusammen, da die Ergebnisse negativ waren. Unter schwacher Vergrößerung sehen wir die Strukturverhältnisse mit der Länge der Aufbewahrungsdauer immer schlechter werden, so daß bei 10tägiger

Tabelle V. Explantationsversuche.

Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer bei Zimmertemperatur (+18 bis 20 Grad C.) vor der Explantation. Tage	Aufbewahrungsdauer der Plasmakulturen im Brutofen (87 Gr.) Tage	Resultat	Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer bei Zimmertemperatur (+18 bis 20 Grad C.) vor der Explantation. Tage	Aufbewahrungsdauer der Plasmakulturen im Brutofen (87 Gr.) Tage	Resultat
1	24 St.	10	+	8	5	9	—
2	2	10	+	9	6	10	—
3	2	9	+	10	7	10	—
4	3	8	+	11	8	8	—
5	3	10	+	12	9	9	—
6	4	9	+	13	10	7	—
7	5	10	—				

Aufbewahrung nur eine homogene rote Masse vorhanden ist. In den Präparaten werden die Kerne der Endstückzellen und Sekretörhrchenzellen immer undeutlicher, und nur noch sehr vereinzelt findet man in dem allgemeinen Zelltod eine überlebende Zelle. Gewöhnlich sind nur pyknotische Kerne oder weiterer regressiver Metamorphose verfallene Kerndetritusmassen in den einzelnen Zellen vorhanden.

Das Protoplasma der Endstück- und Sekretörhrchenzellen ist leuchtend und ohne Struktur. Das interlobuläre Bindegewebe hyalinisiert

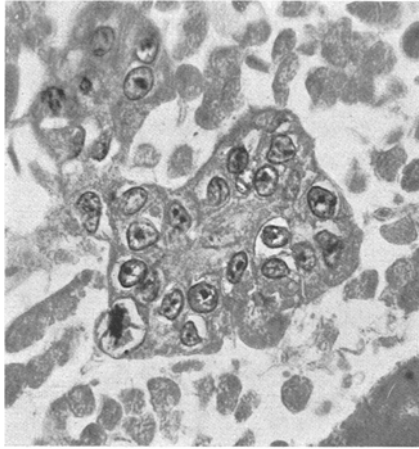


Abb. 7. Kaninchen Nr. 6. Mitose im Regenerationsepithel von 4 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann in autogenem Plasma explantiertem Speicheldrüsenstückchen. Leitz Objektiv Immers. $\frac{1}{12}$. Okul. 2.

und enthält noch hier und da Kerntrümmer. Von Regenerationszeichen innerhalb des Stückes ist nichts mehr zu finden, sondern nur hier und dort eine überlebende Zelle, die auch sicher bald absterben wird.

Speicheldrüsenstückchen, verschieden lange Zeit im Brutschrank (37°) aufbewahrt und dann in autogenes Plasma explantiert.

1. *Speicheldrüsenstückchen, 15 Stunden im Brutschrank aufbewahrt und 10 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Das Stück ist relativ kernarm. Das Protoplasma der Endstückzellen ist stark vakuolisiert und oxyphil, bisweilen enthalten die Zellen Kerne mit vermehrtem Chromatingehalt. Die Sekretörhrchenzellen sind stärker rot gefärbt. In der Peripherie sieht man Zellringe, die das neugebildete Epithel enthalten. Die Zellen sind nicht mehr zwiebelförmig, wie bei der Transplantation angeordnet, sondern bilden Stränge oder Ringe. Es sind große Zellen mit basischem Protoplasma und großem Kern mit deutlichem Kernkörperchen. Sie enthalten mitunter Mitosen. Im

interlobulären Bindegewebe finden sich junge sternförmige oder spin-delige Fibroblasten mit großen, ovalen Kernen.

2. *Speicheldrüsenstückchen, 24 Stunden im Brutschrank aufbewahrt und 8—9 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Im Übersichtsbild erscheint das Präparat ziemlich nekrotisch; man kann nur schlecht die Zellgrenzen der Alveolarepithelien unterscheiden. Die Zellen der Endstücke und Sekretröhrchen sind stark oxyphil

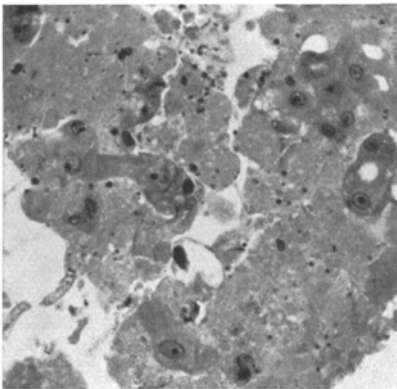


Abb. 8. Kaninchen Nr. 3. Speicheldrüsenstückchen 24 Std. im Brutschrank aufbewahrt und 9 Tage in autogenes Plasma explantiert. Neugebildete Epithelien inmitten nekrotischer Zellmassen. Leitz Obj. 6. Okul. 3.

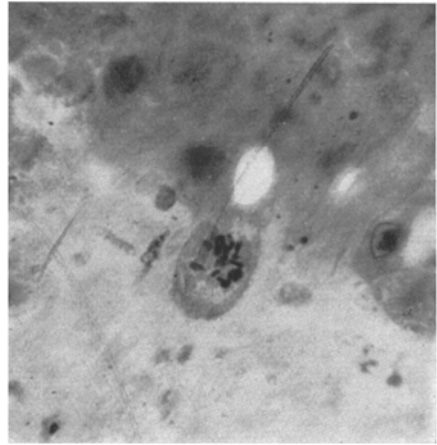


Abb. 9. Kaninchen Nr. 3. Derselbe Fall bei starker Vergrößerung. Mitotische Teilung in einer Epithelie. Leitz Objektiv $\frac{1}{12}$ Immers. Okul. 2.

und bilden oft eine homogene Masse. Mitunter enthalten sie noch Kerne, die gewöhnlich schon pyknotisch und karyorrhektisch sind und teilweise vermehrten Chromatingehalt zeigen.

In der Peripherie finden sich neugebildete Epithelien mit großem, basophilem Kernleibe und deutlichem Kern, der mitunter Mitosen enthält. Diese Zellen sind ringförmig angeordnet.

3. *Speicheldrüsenstückchen, 2—8 Tage im Brutschrank (37°) aufbewahrt und 8—10 Tage in autogenes Plasma explantiert.*

Die Stücke verfallen bei längerer Aufbewahrungsdauer immer mehr der regressiven Metamorphose, so daß nach 8—10 Tagen fast alle Zellen abgestorben und Kerne nur schlecht nachzuweisen sind. Zeichen von Regeneration lassen sich schon nach länger als 24stündiger Aufbewahrungszeit nicht mehr nachweisen, trotzdem das Stück noch gut erhalten ist.

Die Strukturverhältnisse sind natürlich außer von der Länge der Aufbewahrungsdauer auch noch von der biologischen Kraft des Stückes abhängig.

Tabelle VI. Explantationsversuche.

Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer vor der Explantation im Brutofen (37 Grad)	Aufbewahrungsdauer der Plasmakulturen im Brutofen (37 Grad)	Resultat	Nr. der Versuchstiere	Aufbewahrungsdauer vor der Explantation im Brutofen (37 Grad)	Aufbewahrungsdauer der Plasmakulturen im Brutofen (37 Grad)	Resultat
	Tage	Tage			Tage	Tage	
1	15 St.	10	+	6	4	8	—
2	1	8	+	7	5	9	—
3	1	9	+	8	6	9	—
4	2	10	—	9	7	8	—
5	3	10	—	10	8	10	—

Zusammenfassung der Transplantationsergebnisse.

Bei den im Eisschrank aufbewahrten Speicheldrüsenstückchen konnte man an dem Transplantate nach 3 Tagen Schleimdrüsen- und Eiweißdrüsenzellen nur schwer unterscheiden. Von der Peripherie zum Zentrum nahmen die regressiven Veränderungen zu. In den Endstückchen waren die Kerne pyknotisch, chromatinreich und zerfielen schließlich. Das Protoplasma war stark oxyphil, teils vakuolisiert; endlich verwischten sich die Zellgrenzen, und es blieb eine strukturlose, homogene Masse übrig. Die Kerne in den Sekretörhrchen waren ebenfalls chromatinreich und zeigten Kernzerfall bei lange aufbewahrten Stücken. Das Protoplasma war stärker eosinophil als in den Endstückchenzellen, die Zellgrenze wurde undeutlich. Die Endothelzellen und die Zellen des interlobulären Bindegewebes waren relativ gut erhalten im Vergleich zu den Zellen der Sekretörhrchen und der Endstückchenzellen. Bei einem Material, das über 40 Tage im Eisschrank aufbewahrt und dann transplantiert wurde, sieht man die Gefäßendothel- und Bindegewebszellen auch nekrotisch werden. Die Kerne sind nur sehr schwach gefärbt. Schließlich wurden die Zellen strukturlos und hyalinisierten.

Die Fibroblasten und Bindegewebszellen in der Umgebung der Speicheldrüse zeigen eine gute Färbbarkeit mit Sudan III. Man sieht in ihrem Protoplasma große, runde Fettkörnchen. Die Affinität für Sudan III nimmt bei den Endstückchen- und Sekretörhrchenzellen allmählich zu. Wenn man ein Speicheldrüsenstückchen 40 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt und dann transplantiert, kann man intrazellulär bei Sekretörhrchen- und Endstückchenzellen sehr feine Fetttropfchen erkennen.

Regenerationsepithel findet man in allen Speicheldrüsenstückchen, die bis 15 Tage im Eisschrank aufbewahrt und dann transplantiert

wurden, ohne Ausnahme ziemlich reichlich. Bei über 15 Tagen aufbewahrten Stücken nahm die Regenerationskraft allmählich ab. Wurden die Stückchen über 35 Tage aufbewahrt, so war die Regenerationskraft sehr schwach, nur ein Teil des Stückchens regenerierte. Die Befunde des regenerierten Epithels sind ganz so, wie *Carraro* sie an dem von ihm untersuchten Reststück der Speicheldrüse, deren größter Teil herausgeschnitten wurde, beschrieben hat. Die ein- oder mehrschichtigen Epithelzellen bilden Zellnester, häufig mit einem Lumen in der Mitte. Das Protoplasma ist mehr basophil, die Kerne sind groß und chromatinreich und zeigen Mitosen. Man nimmt darin kleine Fetttropfchen wahr.

Bei den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Stückchen tritt die regressive Metamorphose bedeutend schneller auf, als bei den im Eisschrank gehaltenen. Schon nach 24 Stunden sind die Kerne der Endstückchenzellen pyknotisch geworden, das Protoplasma zum Teil vakuolig. Bei Stückchen, die nach 3 Tagen Aufbewahrungszeit transplantiert werden, sind die Zellgrenzen noch deutlich zu unterscheiden, das interlobuläre Bindegewebe und die Gefäßendothelzellen ganz intakt. Bei Präparaten, die 6 Tage verweilt hatten, war die Degeneration stark vorgeschritten, die Kerne der Endstückchenzellen zeigten Zerfall, das Protoplasma war strukturlos homogen.

Bei Anwendung der Färbung mit Sudan III ähneln die Bilder der bei Zimmertemperatur aufbewahrten Stückchen denen, die im Eisschrank aufbewahrt wurden. In dem interlobulären Bindegewebe kann man gut zerfallende Zellen unterscheiden. Die Affinität der Endstückchen und Sekretörchenepithelzellen zu Sudan III ist auch hier zunehmend, bis man bei lange Zeit aufbewahrten Stücken im Protoplasma kleine Fetttropfchen wahrnehmen kann.

Die Regenerationserscheinungen des Epithels an den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Stückchen verhalten sich ähnlich wie die im Eisschrank. Bei bis 48 Stunden aufbewahrten Stücken ist die Regenerationskraft ohne Ausnahme sehr gut. Nach dieser Zeit wird sie schwächer. Nach 5 Tagen und später ist die transplantierte Speicheldrüse noch gut erhalten, das histologische Bild besser als bei den 45 Tage im Eisschrank aufbewahrten Stückchen; aber während man in den letzteren, wenigstens in einem kleinen Teil Regenerationserscheinungen vorfindet, fehlen sie bei den 4 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrten Stücken ganz.

An den Speicheldrüsenstücken, welche im Brutschrank bei 37° aufbewahrt wurden, läßt sich makroskopisch nach 15 Stunden eine Umwandlung der ursprünglich roten in eine grau-weißliche Färbung konstatieren.

Mikroskopisch sieht man an Stücken, die nach dieser Zeit transplantiert wurden, Erscheinungen der regressiven Metamorphose, die

schnell zunehmen. Nach 24 Stunden kann man in den Endstückchenzellen pyknotische Kerne und oxyphiles Protoplasma erkennen. Bei den Sekretörchrenzellen sind die Kerne ebenfalls pyknotisch und das Protoplasma ist stark rot gefärbt. Bewahrt man die Stückchen 4 Tage und länger im Brutschrank auf, transplantiert sie unter die Haut, so sieht man auf Schnitten die regressive Metamorphose zunehmen, bis endlich nur eine strukturlose, homogene Masse übrigbleibt.

Färbt man die im Brutschrank aufbewahrten Stückchen mit Sudan III, so sieht man ein allmähliches Zunehmen der Affinität der Endstückchen- und Sekretörchrenzellen. Bei 4 Tage aufbewahrten und transplantierten Stücken erkennt man auf Schnitten in dem Protoplasma der Endstückchen- und Sekretörchrenzellen feine Fetttröpfchen. Im interlobulären Bindegewebe sind zerfallende Zellmassen ebenfalls gut mit Sudan III gefärbt. Bei Fibroblasten und Bindegewebszellen lassen sich intrazellulär gut Fetttröpfchen unterscheiden.

Bei allen im Brutschrank aufbewahrten Stücken ist im allgemeinen die Regenerationskraft sehr geschwächt. Bei meinen Untersuchungen hatte ich bei einer Aufbewahrungszeit bis zu 15 Stunden positive Ergebnisse. Längere Aufbewahrungszeit erwies sich für die Regeneration immer schlechter, doch konnte ich sie bis 24 Stunden konstatieren. Nach dieser Zeit war keine Regeneration mehr nachzuweisen. An den transplantierten Stückchen waren jedoch nach dieser Zeit die Kernstruktur, die Zellgrenzen und das Protoplasma noch gut erhalten.

Das mikroskopische Bild bot keine Besonderheiten dar.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Explantationsversuche.

Bei den im Eisschrank aufbewahrten Stückchen ließ sich nach 20 Tagen eine vom Mantelteil nach innen zunehmende regressive Metamorphose erkennen. In den Endstückchen- und Sekretörchrenzellen waren die Kerne pyknotisch, das Protoplasma stark rot gefärbt. Je länger man das Stückchen aufbewahrt, um so mehr nimmt die regressive Metamorphose zu. Die Regenerationskraft ist bei 20 und mehr Tagen aufbewahrten Stücken nicht sehr stark. Das Maximum, eine Regeneration zu erreichen, ist nach meinen Erfahrungen 30 Tage. Über diese Zeit hinaus konnte ich hin und wieder zwei bis drei in Neubildung begriffene Zellen finden, aber es war mir unmöglich zu erkennen, ob diese dem Bindegewebe oder dem Epithel angehören. Auch *Champy* konnte ebenso in einigen Fällen bei Zellen maligner Tumoren nicht erkennen, ob die Elemente epithelialen oder bindegewebigen Ursprunges seien.

An den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Stückchen schreitet die regressive Metamorphose vom Mantelteil nach dem Innern zu fort. Endstückchen- und Sekretörchrenzellen zeigen pyknotische Kerne,

das Protoplasma färbt sich stark rot. Die Erscheinungen der regressiven Metamorphose nehmen mit der Länge der Zeit zu, bis man endlich nur eine strukturlose, homogene Masse erkennt. Nach meinen Erfahrungen ließen sich Regenerationserscheinungen noch nach 4 Tagen Aufbewahrungszeit erkennen. Nach 5 Tagen und länger zeigt das mikroskopische Bild zwar gut erhaltene Kernstruktur und intakte Zellen, aber die Regenerationskraft ist erloschen.

Die Stücke, die im Brutschrank aufbewahrt wurden, zeigten ebenfalls ein Zunehmen der Degenerationserscheinungen von dem Mantelteil nach innen, und dieselben regressiven Prozesse wie die bei Zimmertemperatur aufbewahrten Stücke. Nach meinen Erfahrungen läßt sich eine Regeneration nur bei bis zu 24 Stunden aufbewahrten Stücken nachweisen. An Stücken, die 2—3 Tage aufbewahrt wurden, ließ sich im Explantat die Zellstruktur noch sehr gut erkennen, während Regenerationserscheinungen nicht wahrzunehmen waren. Im allgemeinen fand man in allen Auspflanzungsversuchen eine stärkere Wuchersfähigkeit bei den Bindegewebszellen, als bei den Epithelien.

Zusammenfassung.

Vergleicht man die Resultate der Transplantation unter die Haut und der Explantation in Blutplasma, so liefert die erstere günstigere Ergebnisse als die letztere. Gründe dafür kann man ohne weiteres nicht angeben, sie hängen sicherlich von den verschiedensten Bedingungen ab: der individuellen Disposition, den Aufbewahrungsbedingungen, dem Kulturmedium, dem Alter des Versuchstieres, der Technik des Operateurs usw. ab.

Eine wichtige Rolle spielen natürlich die Zirkulations- und Ernährungsverhältnisse, die bei den Transplantaten viel besser sind als bei den Explantaten, wo die Stücke außerhalb des Organismus ihre Nähr- und Baustoffe aus dem Plasma nehmen müssen, und insbesondere eine stete Erregung der Nährstoffe und Abfuhr der Stoffwechselschlacken ausgeschaltet ist.

Nach meiner Erfahrung erhält man auch verschiedene Resultate, wenn man z. B. drei Stückchen ein und derselben Speicheldrüse unter durchaus gleichen Bedingungen unter die Haut transplantiert, oder wenn man dieselben in Blutplasma explantiert, eine Tatsache, die mit den verschiedenen biologischen Potenzen zusammenhängt.

Zusammenfassend kann ich nach meinen vielen Versuchen behaupten, daß eine Transplantation unter die Haut bessere Regenerationserscheinungen zeigt. Wenn man Stückchen einer Speicheldrüse unter gleichen Bedingungen aufbewahrt, sie zum Teil unter die Haut transplantiert, zum anderen Teil einen Explantationsversuch macht, so wird man diesem

letzteren das Auftreten einer regressiven Metamorphose viel früher bemerken als an dem ersteren.

Die Versuche von *Carraro* aus dem Bonner pathologischen Institut haben ergeben, daß eine subcutane Transplantation der Schilddrüse bessere Resultate liefert, als eine Transplantation in die Bauchhöhle, Leber, Milz und in das Knochenmark. *Carraro* hatte die besten Erfolge, wenn er platte Schichten transplantierte und sucht den Grund darin, daß sie rascher und besser ernährt werden.

Ich habe nach dieser Richtung keine erneuten Prüfungen vorgenommen, sondern nur die oben erwähnten von der Aufbewahrungstemperatur abhängigen Verschiedenheiten festgestellt.

Die geringere Widerstandsfähigkeit gegen Wärme bemerkte schon *Wentscher* an menschlichen Epidermiszellen.

Morpurgo ist ebenfalls der Ansicht, daß sich Kälte zur Erhaltung des Lebens am besten eignet, weil sie die Lebensprozesse auf niedriger Stufe erhält und die Reserven langsamer verbrauchen läßt.

Lubarsch hat Versuche mit zerriebenen Speicheldrüsenstückchen von Kaninchen gemacht, die er im Eisschrank bei Temperaturen von $+8$ und $+2^{\circ}$ aufbewahrte und nach 10, 12, 14 Tagen implantierte. Dabei machte er die Erfahrung, daß sich die Vitalität der Zellen am besten erhält, wenn man sie in Kältestarre versetzt.

Prochownik, *Lubarschs* Schüler, spricht vom Scheintod der Zelle in der Kälte. Nach der Überpflanzung in eine neue Umgebung genüge der gebliebene Energievorrat, ihr das Leben zu erhalten, bis ihr neues Ernährungsmaterial zur Verfügung stehe.

In einem Falle gelang es *Ehrlich*, Tumorzellen der Maus 2 Jahre lang im Kältespind bei -8 bis -12° zu erhalten und nach der Übertragung noch Wachstumsvorgänge zu erkennen.

Der Grund dafür, daß die Regenerationskraft in der Kälte solange erhalten bleibt, bei Zimmertemperatur abnimmt und bei Aufbewahrung im Brutschrank sehr schwach ist, kann meines Erachtens in chemischen Vorgängen der Zelle gesucht werden. Es ist eine bekannte Tatsache, daß die meisten chemischen und besonders die autolytischen Vorgänge durch Wärme beschleunigt werden. So hat auch der Stoffwechsel in der Zelle eine Beziehung zur Temperatur, indem er in der Kälte herabgesetzt ist, bei Zimmertemperatur zunimmt und im Brutschrank sehr lebhaft ist. Wenn man ein Gewebstückchen im Eisschrank aufbewahrt, so kann man sich von dem langsamen, fast stillstehenden Stoffwechsel überzeugen (Winterschlaf — Anabiose). Bei höherer Temperatur, also Zimmertemperatur oder Brutschrank sieht man ein Lebhafterwerden der Stoffwechselvorgänge in der Zelle.

Wenn man drei Stückchen ein und derselben Speicheldrüse so aufbewahrt, daß man das eine im Eisschrank, das zweite bei Zimmer-

temperatur und das dritte im Brutschrank hält und Gefrierschnitte davon anfertigt, so sieht man drei durchaus verschiedene Bilder.

Stückchen, die 250 Tage im Eisschrank (-1 bis -3°) aufbewahrt wurden, zeigen ein fast normales histologisches Bild. Die Zellgrenzen

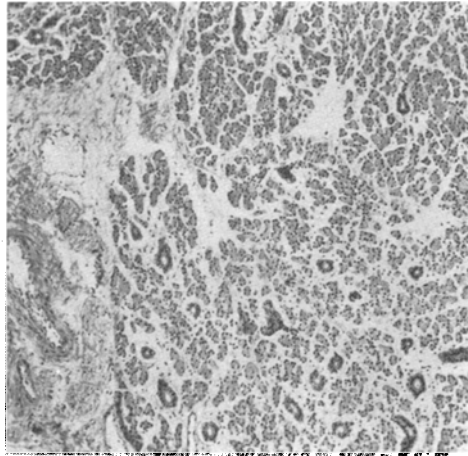


Abb. 10. Speicheldrüsenstückchen, 250 Tage im Eisschrank aufbewahrt. Leitz Okul. 2. Obj. 3.

der Alveolarepithelien sind deutlich. Die Sekretröhren und Gefäßendothelien sind fast völlig intakt.

Bei starker Vergrößerung zeigen sich im Paraffinschnitt bei Hämatoxylin-Eosinfärbung pyknotische, geschrumpfte Kerne und einvakuoliertes Protoplasma in den Endstückchenzellen. Die Sekretröhren sind ebenfalls charakterisiert durch dieselben Kernveränderungen und ein sehr rotes, also stark oxyphiles Protoplasma. Bei gleich behandelten Präparaten lassen sich am Gefrierschnitt weder am Schaltstück noch an den Endstückchenzellen Fetttropfchen erkennen.

Nasu hat dieselbe Beobachtung gemacht und ein Gewebstückchen aus der Speicheldrüse 120 Tage im Eisschrank aufbewahrt, ohne mit Sudan III oder Nilblausulfat eine Färbung zu erreichen.

Wurde dagegen ein Speicheldrüsenstückchen bei Zimmertemperatur aufbewahrt bis die regressiven Veränderungen deutlich geworden waren, und dann Gefrierschnitte davon angefertigt, so zeigte das Protoplasma schließlich eine stärker werdende Affinität zu Sudan III, und in den Endstückchenzellen ließen sich nach 280 Tagen deutlich sehr kleine lipide Tröpfchen feststellen.

Beim Aufbewahren im Brutschrank bei 37° tritt diese Erscheinung erheblich schneller auf, als in den oben beschriebenen Präpa-

raten. Die Affinität zu Sudan III nimmt in den Sekrettröhrchen und in den Endstückchenzellen allmählich zu, und man kann in den Endstückchen- sowohl wie in den Sekrettröhrchenzellen — besonders in der Basalschicht — deutlich große Lipoidtröpfchen feststellen.

Wenn auch die Ansichten über das Auftreten von Lipioden in den Zellen noch etwas auseinandergehen, so kann doch hier kaum ein Zweifel bestehen, daß es sich um autolytisch gebildete Lipoide handelt, daß also auch hier der Unterschied zwischen den im Eisschrank und bei hoher Temperatur aufbewahrten Stücken auf dem Ausbleiben bzw. Auftreten der Autolyse beruht.

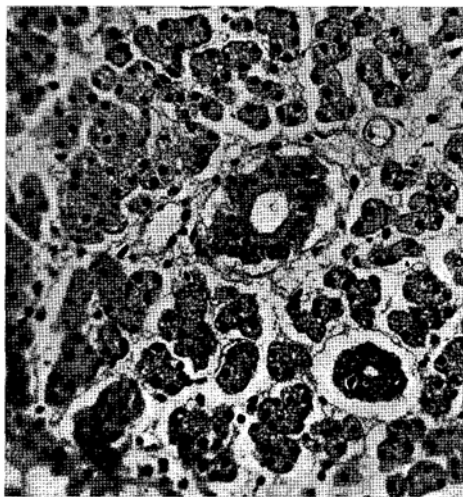


Abb. 11. Derselbe Fall bei starker Vergrößerung. Leitz Obj. 6. Okul. 3.

Würde man bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank ein Gewebstückchen in einem idealen Nährmedium aufbewahren, so bliebe die Vitalkraft der Zelle vielleicht sehr lange erhalten. Bei meinen Versuchen habe ich als Medium nur physiologische Kochsalzlösung und *Ringersche Lösung* angewandt.

Champy erklärt bei seinen Kultivierungsversuchen, daß die Elemente, die im Zentrum des Explantates liegen, sehr schnell degenerieren und an Asphyxie sterben, während diejenigen Teile, die in unmittelbarer Berührung mit dem Plasma stehen, eine gewisse Zeit auf Kosten des in dem Plasma aufgelösten Sauerstoffes atmen können. Er fand dabei einen Unterschied zwischen aus erwachsenen Tieren stammenden Geweben und Embryonalgeweben. Da die letzteren sich lebhaft vermehren, absorbieren sie in kurzer Zeit den aufgelösten Sauerstoff,

während die ersteren ihn langsam genug verbrennen, um den Sauerstoff der Luft durch den im Nährmedium gelösten Sauerstoff durch eine genügend langsame Diffusion ersetzen zu können.

Meine Nährmedien waren keine idealen, und außerdem war die Zufuhr von Sauerstoff sehr gering, darum konnte sich die Wachstumsfähigkeit der Zellen bei Zimmertemperatur nur 4 Tage, bei Aufbewahrung im Brutschrank 24 Stunden, dagegen im Eisschrank 45 Tage erhalten. Falls man die Bedingungen verbessern könnte, so käme man sicherlich zu günstigeren Resultaten.

Es bleibt bei der Trans- und Explantation der Speicheldrüse noch die wichtige Frage offen, ob die neugebildeten Epithelien den spezifischen Speicheldrüsenzellen durchaus gleichen und ebenso funktionszünftig sind oder nicht.

Ribbert knüpft die Möglichkeit einer normalen Funktion der Zelle an die regelrechten Beziehungen zur Nachbarschaft, an eine ausreichende Ernährung und Innervation. Über die transplantierte Speicheldrüse schreibt er, daß die neugebildeten Alveolen ein Epithel besitzen, daß sich aus indifferenten, kubischen Zellen aufbaut, und dem der ersten Ausführungswege entspricht. Bei Drüsenteilen, die einen Monat lang in der Bauchhöhle geblieben waren, sah er, wie das Zylinderepithel der größeren Ausführungsgänge in eine aus kubischen Elementen bestehende, geschichtete Zelllage übergegangen war.

Carraro, der ausgedehnte Teile der Submaxillaris excidierte und den im Körper verbliebenen Rest untersuchte, stellte für diesen wegen der nachfolgenden Rückbildung den Verlust seiner Funktionsfähigkeit fest.

Lubarsch übertrug Speicheldrüsenstückchen in andere Organe: Niere, Leber, Peritoneum und erkannte an der Neubildung der drüsigen Substanz, daß es sich um keine echte Regeneration handelte, da weder nach Form noch Anordnung mit Speicheldrüsengewebe übereinstimmende Zellelemente gebildet werden. Über die Neubildung von Gewebszellen äußert er, daß differenzierte Zellen nur unter gleichen Bedingungen gleichartige Abkömmlinge hervorbringen können.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen stimmen vielleicht nicht vollständig mit denen anderer Autoren überein, weil meine Methoden andere gewesen sind. Während die meisten Autoren (*Lubarsch*, *Lenghi* und andere) die extirpierten Speicheldrüsenstückchen sofort in ein anderes Medium (Niere, Leber, Lymphdrüsen, Bauchhöhle) übertrugen, haben andere Forscher (*Podwysotszki*, *Ribbert*, *Fuckel*, *Carraro* u. a.) die Regenerationskraft an dem Reste der Speicheldrüse studiert, nachdem ein Teil excidiert wurde.

Noch andere Forscher haben die Folgen der Verletzung des Ausführungsganges auf die Regenerationskraft untersucht.

Bei meinen Versuchen bewahrte ich die Speicheldrüsenstückchen

verschieden lange Zeit in physiologischer Kochsalz- oder *Ringerscher* Lösung bei Zimmertemperatur, im Brutschrank oder Eisschrank auf, ehe ich sie zu Plasmakulturen oder als Transplantat unter die Haut benutzte. Dabei versuchte ich jedesmal, das Maximum der Aufbewahrungsmöglichkeit festzustellen.

Meine Beobachtungen an regenerierten Zellen stimmen mit denen von *Lubarsch* und *Ribbert* überein, die in dem neugebildeten Gewebe Drüsenräume mit kubischem Zylinderepithel ausgekleidet sahen und in den neuen Alveolen häufig einen kleinen Hohlraum und runde Form, bei einigen ein undeutliches Lumen feststellen. *Lubarsch* beschreibt in den Randteilen des implantierten Stückchens noch 90—96 Stunden nach der Implantation solide Zellstränge von auffallendem Aussehen. Die Zellen bilden platte Epithelien, zeigen sehr chromatinreiche Kerne und dunkles Protoplasma. Dasselbe oder sehr ähnliches geben meine mikroskopischen Bilder.

Bei meinen Präparaten beobachtete ich, wie *Lubarsch* und *Ribbert*, im Mantelteil bald runde, bald ovale, bald mehr langgestreckte solide oder lumenbildende Zellzapfen mit großen kubischen Zellen, die einen runden oder polygonalen, chromatinreichen Kern enthielten.

Die Epithelien lagern sich konzentrisch und sind perlenartig angeordnet. Das Protoplasma hob sich von der Umgebung durch seine basophile Farbe ab. In den Kernen sind deutliche Kernkörperchen. Bisweilen sieht man Mitosen.

Das Bild meiner regenerierten Epithelzellen weicht verschiedentlich von dem normalen Speicheldrüsengewebe ab, deshalb kann ich nicht entscheiden, ob das regenerierte Gewebe funktionell dieselbe Rolle spielt wie das normale.

Lubarsch sagt von allen Gewebszellen, daß einmal differenzierte Zellen nur unter gleichen Bedingungen gleichartige Abkömmlinge hervorbringen. Da ich meine Versuchsobjekte unter künstlichen Bedingungen, was Nährmittel, Zirkulation und Temperatur anbetrifft, aufbewahrte, so wurde die Vitalkraft der Zellen dadurch geschwächt. Daher zeigen meine Resultate nicht dieselben Zahlen wie bei anderen Autoren, da mit der Vitalkraft auch die Regenerationskraft abnimmt. Brächte man das Regenerationsepithel unter die denkbar günstigsten Bedingungen, so wäre es vielleicht möglich, daß es dem normalen Gewebe gliche.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Geheimrat *Lubarsch* für die Anregung zu dieser Arbeit und sein freundliches Entgegenkommen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1) *Aschoff*, Pathologische Anatomie. 1923. — 2) *Barfurth, D.*, Regeneration und Transplantation in der Medizin. Sammlung anatomischer und physiologischer

Vorträge und Aufsätze. 1910. — ³⁾ *Brusis, A.*, Untersuchungen über die Veränderungen an der Kaninchenspeicheldrüse nach Unterbindung ihres Ausführungsganges. Diss. Marburg 1903. — ⁴⁾ *Busse*, Über das Fortleben losgetrennter Gewebsteile. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **149**. 1897. — ⁵⁾ *Carraro*, Über Regeneration in den Speicheldrüsen. Frankfur. Zeitschr. f. Pathol. 1909. — ⁶⁾ *Champy, C.*, Notes de biologie cytologique. Le Rein. Arch. de zool. exp. et gén. **54**. 1914. — ⁷⁾ *Champy, C.*, Arch. de zool. exp. et gén. **53**. 1914. — ⁸⁾ *Champy, C.*, Extrait des Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **72**. 1912. — ⁹⁾ *Champy, C.*, Résultats de la méthode de culture des tissus en dehors de l'organisme. Extrait de la Presse méd. 1914, Nr. 9. — ¹⁰⁾ *Chlopin, N. G.*, Über in vitro Kulturen von Geweben der Säugetiere mit besonderer Berücksichtigung des Epithels. 1. Kulturen der Submaxillaris. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **243**. 1923. — ¹¹⁾ *Dietrich* und *Hegler*, Die morphologischen Veränderungen aseptisch aufbewahrter Organe in ihren Beziehungen zur Autolyse und fettigen Degeneration. Arb. a. d. pathol. Inst. Tübingen. — ¹²⁾ *Dilger, A.*, Über Gewebeskulturen in vitro unter besonderer Berücksichtigung der Gewebe erwachsener Tiere. Dtsch. Zeitschr. f. Chirurg. 1913. — ¹³⁾ *Ebeling, A. H.*, A strain of connective tissue seven years old. Journ. of exp. med. **12**, 1. 1919. — ¹⁴⁾ *Ehrlich*, Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen. Arbeit aus dem Institut für experimentelle Therapie Frankfurt a. M. 1906. — ¹⁵⁾ *Enderlen*, Über die Anheilung getrockneter und feucht aufbewahrter Hautlappchen. Dtsch. Zeitschr. f. Chirurg. **48**. 1898. — ¹⁶⁾ *Erdmann, Rhoda*, Einige grundlegende Ergebnisse der Gewebezüchtung aus den Jahren, 1914—1920. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgeschichte 1921. — ¹⁷⁾ *Fischler, F.*, Über den Fettgehalt von Niereninfarkten. (Beitrag zur Frage der Fettdegeneration.) Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **10**, 170. 1902. — ¹⁸⁾ *Fuckel, F.*, Über die Regeneration der Glandula submaxillaris und infraorbitalis beim Kaninchen. Inaug.-Diss. 1896. — ¹⁹⁾ *Goldmann*, Über die morphologischen Veränderungen aseptisch aufbewahrter Gewebstücke und deren Beziehung zur Koagulationsnekrose. Fortschr. d. Med. 1888. — ²⁰⁾ *Goldzieher* und *Makai*, Regeneration, Transplantation und Parabiose. Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. des Menschen und der Tiere. Lubarsch-Ostertag 1912. — ²¹⁾ *Grawwitz*, Biologische Studie über die Widerstandsfähigkeit lebender tierischer Gewebe. Dtsch. med. Wochenschr. 1897. — ²²⁾ *Griesser, W.*, Versuche über Fettbildung in implantierten Organen. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 1911. — ²³⁾ *Grohé*, Die Vita propria der Zellen des Periosts. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **155**. 1899. — ²⁴⁾ *Harrison, R. G.*, The reaction of embryonic cells to solid structures. Journ. of exp. zool. **17**, Nr. 4. 1914. — ²⁵⁾ *Krontowski*, Über die Kultivierung der Gewebe außerhalb des Organismus bei Anwendung der kombinierten Medien. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **241**. 1923. — ²⁶⁾ *Lubarsch*, Über Gewebsembolien und Gewebsverlagerungen. Verhandl. d. dtsh. pathol. Ges. Berlin 1899. — ²⁷⁾ *Lubarsch*, Zur Lehre von den Geschwülsten und Infektionskrankheiten. 1899. — ²⁸⁾ *Lubarsch*, Über destruirendes Wachstum und Bösartigkeit der Geschwülste. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1907. — ²⁹⁾ *Maximow*, Die histologischen Vorgänge bei der Heilung von Hodenverletzung usw. Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 1899. — ³⁰⁾ *Mitsuda*, Über die Beziehungen zwischen Epithel und Bindegewebe bei Transplantation und Explantation. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **242**. 1923. — ³¹⁾ *Morpurgo*, Die Vita propria der Zellen des Periostes. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **157**. 1899. — ³²⁾ *Nasu*, Beiträge zur Frage der Überlebensfähigkeit der Gewebe. Eine Untersuchung über die Veränderungen an Zellen, die von der normalen Zirkulation abgeschnitten sind. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **243**. 1923. — ³³⁾ *Oppel*, Gewebekulturen und Gewebepflege im Explantat. 1914. — ³⁴⁾ *Prochownik, S.*, Über Widerstands- und Lebens-

fähigkeit epithelialer Zellen. Zeitschr. f. allg. Physiol. 1904. — ³⁵⁾ *Podwyssozki*, Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe. Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. u. Physiol. **1**. 1886. — ³⁶⁾ *Podwyssozki*, Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe **2**. 1887. — ³⁷⁾ *Ribbert*, Über tumorähnliche Epithelwucherungen in Speicheldrüse und Leber. Verhandl. d. dtsch. pathol. Ges. 1904. — ³⁸⁾ *Ribbert*, Über die Veränderungen transplantiertter Gewebe. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **6**. 1898. — ³⁹⁾ *Ribbert*, Einige Mitteilungen zur Transplantation und Regeneration. Verhandl. d. Ges. dtsch. Naturforsch. u. Ärzte. 80. Versamml. 1908. — ⁴⁰⁾ *Ribbert*, Beiträge zur kompensatorischen Hypertrophie und zur Regeneration. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **1**. 1895. — ⁴¹⁾ *Lambert* und *Hanes*, Beobachtungen an Gewebeskulturen in vitro. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **211**. 1913. — ⁴²⁾ *Saltykow*, Neue Versuche über die Vita propria. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. 1900. — ⁴³⁾ *Saltykow*, Über Transplantation zusammengesetzter Teile. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen 1900. — ⁴⁴⁾ *Schade*, Biologische Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von ganzen Organismen und einzelnen Zellen. Med. Diss. Greifswald 1898. — ⁴⁵⁾ *Virchow*, Über die Erregbarkeit der Flimmerzellen. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **6**. 1854. — ⁴⁶⁾ *Virchow*, Ernährungseinheiten und Krankheitsherde. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **4**. 1852. — ⁴⁷⁾ *Wentscher*, Experimentelle Studien über das Eigenleben menschlicher Epidermiszellen außerhalb des Organismus. Zieglers Beitr. **24**. 1898.
