

Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. P. Mühlens)
Pathologisch-anatomische Abteilung — (Leiter: Prof. Dr. E. G. Nauck)

Über das Verhalten der
Marksubstanz der Niere
erwachsener Kaninchen
und Ratten in der
Gewebekultur

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der Doktorwürde der
medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg

Vorgelegt von
Carl Robinow
aus Hamburg

Februar 1935

Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. P. Mühlens)
Pathologisch-anatomische Abteilung — (Leiter: Prof. Dr. E. G. Nauck)

Über das Verhalten der
Marksubstanz der Niere
erwachsener Kaninchen
und Ratten in der
Gewebekultur

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der Doktorwürde der
medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg

Vorgelegt von
Carl Robinow
aus Hamburg

Februar 1935

Referent:
Prof. Dr. P. Mühlens
Prof. Dr. E. G. Nauck

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der
Universität Hamburg.

Über das Verhalten der Marksubstanz der Niere erwachsener Kaninchen und Ratten in der Gewebekultur

Von

Carl Robinow

Mit 15 Textabbildungen

Sonderabdruck aus
**Zeitschrift für Zellforschung und
mikroskopische Anatomie**

Fortsetzung des Schultze-Waldeyer-Hertwigschen Archiv für Mikroskopische Anatomie und der Zeitschrift für Zellen- und Gewebelehre

22. Band, 3. Heft

Abgeschlossen am 21. Januar 1935



Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1935

ISBN 978-3-662-40534-5
DOI 10.1007/978-3-662-41011-0

ISBN 978-3-662-41011-0 (eBook)

Die Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie

steht Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der beschreibenden und experimentellen Zellen- und Gewebelehre sowie der Mikroskopischen Anatomie der Menschen und der Tiere offen.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften; mit etwa 50 Bogen wird ein Band abgeschlossen.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von RM. 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle RM. 60.— für eine Arbeit.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten 40 Sonderdrucke unentgeltlich. Weitere 40 Exemplare werden, falls bei Rücksendung der I. Korrektur bestellt, gegen eine angemessene Entschädigung geliefert. Darüber hinaus gewünschte Exemplare müssen zum gleichen Preise berechnet werden, den die Arbeit im Heft kostet, da die umfangreiche Versendung von Sonderdrucken den Absatz der Zeitschrift schädigt. Dissertationsexemplare werden von der Verlagsbuchhandlung grundsätzlich nicht geliefert.

Die Herren Autoren werden ferner gebeten, den Text ihrer Arbeiten so kurz zu fassen wie es irgend möglich ist, sich in den Abbildungen auf das wirklich Notwendige zu beschränken und nach Möglichkeit Federzeichnungen (für Strichätzung) zu verwenden.

Aufnahmebedingungen siehe III. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. R. Goldschmidt, Berlin-Dahlem, Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie
oder an

Professor Dr. W. von Möllendorff, Freiburg i. Br., Anatomisches Institut, Albertstr. 17.

Die Herausgeber

Goldschmidt von Möllendorff

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin W 9, Linkstr. 23/24

Fernsprecher: Amt B 1, Kurfürst 8111. Drahtanschrift: Springerbuch-Berlin

Reichsbank-Giro-Konto und Deutsche Bank, Berlin, Dep.-Kasse C

22. Band.

Inhaltsverzeichnis.

3. Heft.
Seite

SCHAFFSTEIN, GERHARD, Untersuchungen über den Feinbau der Prophasenchromosomen in der Reduktionsteilung von Liliun martagon. Mit 4 Textabbildungen	275
FURROW, CLARENCE LEE, Development of the hermaphrodite genital organs of Valvata tricarinata. With 80 figures in the text	282
SEMENOFF, W. E., Mikrochemische Bestimmung der Aktivität der Succindehydrase in den Organen der Rana temporaria	305
SELL, WILHELM, Die Trypanblauspeicherung in verschiedenen peripherischen Ganglien der weißen Maus. Mit 4 Textabbildungen	310
OLARA, MAX, Untersuchungen über die spezifische Färbung der Körnchen in den basalgekörnten Zellen des Darmepithels durch Beizenfarbstoffe. Zugleich III. Beitrag zur Theorie der Hämatoxylinfärbungen. Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern)	318

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses auf der III. Umschlagseite.

(Aus dem Institut für Schiffs- u. Tropenkrankheiten Hamburg
[Direktor: Prof. Dr. P. MÜHLENS]. Pathologisch-anatomische Abteilung
[Leiter: Prof. Dr. E. G. NAUCK]).

ÜBER DAS VERHALTEN DER MARKSUBSTANZ DER NIERE ERWACHSENER KANINCHEN UND RATTEN IN DER GEWEBEKULTUR.

Von

CARL ROBINOW.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. September 1934.)

Wird die Rindensubstanz der Niere *in vitro* gezüchtet, so gehen, wie NORDMANN gezeigt hat, die gewundenen Kanälchen schon wenige Stunden nach der Auspflanzung zugrunde. Das Epithel der Sammelrohre bleibt dagegen erhalten, umwächst das Explantat und bildet „epithelähnliche Membranen“. Nach diesen Befunden war anzunehmen, daß die Marksubstanz der Niere mit ihrem Reichtum an Sammelrohren für die Epithelzüchtung sehr geeignet sei. Die meisten der Untersucher, die sich mit dem Verhalten der Niere in der Gewebekultur beschäftigten, gingen dabei vom Rindengewebe aus. CHAMPY als Einziger¹ hat neben Stücken aus der Nierenrinde einige Tage alter Kaninchen auch Marksubstanz des gleichen Organes ausgepflanzt. Er beobachtete die Entwicklung schmaler Wachstumszonen, aufgebaut aus Zellen: «Soit cubiques, soit fusiformes, sans caractère précis. elles peuvent être d'origine épithéliale, conjonctive ou mixte.» Auch NORDMANN gibt an, daß die von den Sammelrohren abstammenden Zellen, die anfänglich deutlichen Epithelcharakter besaßen, sich nach 17 Tage währender Züchtung (ohne Umbettung) soweit verändert hatten, daß sie von Fibroblasten nicht mehr mit Sicherheit zu unterscheiden waren.

Die vorliegende Untersuchung vergleicht das Verhalten des *Nierenmarkes* erwachsener Säugetiere (Kaninchen, Ratten) bei der Züchtung *in vitro* mit dem von anderer Seite schon mehrfach geschilderten Verhalten der *Rindensubstanz*.

¹ *Anmerkung bei der Korrektur:* Bei der Durchsicht der Literatur ist mir zu meinem Bedauern der Bericht von EPHRUSSI und LACASSAGNE in C. r. Soc. Biol. Paris 113, 976 (1933) über die Züchtung des Nierenmarkes entgangen. (MARKEES in seiner ein halbes Jahr später erschienenen Arbeit erwähnt ihn nicht.) In bezug auf das allgemeine Verhalten der in Hühnerplasma gezüchteten Kulturen kann ich die Angaben der Autoren bestätigen. Auf die Züchtung in Kaninchenplasma wurde von ihnen wegen der rasch einsetzenden Verflüssigung verzichtet. In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, daß die über verflüssigtem Kaninchenplasma unmittelbar am Glimmer auswachsenden Membranen ein besonders günstiges Objekt für das Studium der Zellstrukturen darstellen.

Material und Methoden.

In mehr als 450 Kulturen wurde das Verhalten der Marksubstanz der Niere erwachsener Kaninchen untersucht, vom Nierenmark erwachsener Ratten wurden zweimal Serien von je 6 Kulturen angelegt. Anfänglich wurde die von FISCHER für die Epithelzüchtung angegebene Methode verwendet, später zeigte es sich, daß es genügt, die Nierenmarksexplantate unmittelbar auf den Glimmer zu setzen und sie erst nachträglich mit Nährmedium zu bedecken, um ein Wachstum von Epithelmembranen zu erreichen. Nach dem Vorgang von MARKEES wurde zur Züchtung vielfach Hühnerplasma verwendet, weil das Wachstum der Epithelmembranen darin ausgiebiger war und mit geringerer Verflüssigung des Nährmediums einherging, als bei der Züchtung im homologen Plasma. Die Kulturen wurden verschieden behandelt. Der größere Teil wurde in der üblichen Weise fortgeführt; die Mutterstücke wurden alle 4—6 Tage aus dem Plasmagerinnsel herausgeschnitten, gewaschen und in ein frisches Nährmedium übertragen. Eine kleine Anzahl wurde nach der MAXIMOWSchen Methode bis zu 3 Wochen auf dem gleichen Glimmerblättchen gezüchtet. In diesen Fällen wurde das Mutterstück bei der ersten Waschung entfernt, so daß Epithelreinkulturen zurückblieben. Die Kulturen wurden im allgemeinen 2—3 Wochen, in einigen Fällen über 4 Wochen am Leben erhalten.

Die Kulturen wurden als Totalpräparate nach MAXIMOW fixiert und mit HEIDENHAIN'Schem Eisen-Hämatoxylin gefärbt.

Kulturen in Kaninchenplasma.

Werden die Gewebsfragmente unmittelbar auf den Glimmer gesetzt, so ist das Plasmagerinnsel in der Umgebung des Explantates schon nach 24 Stunden zum größten Teil verflüssigt. Nach dem zweiten oder dritten Tag beginnt an einer oder mehreren Stellen eine Membran zwischen Glimmer und verflüssigtem Medium auszuwachsen, die aus großen, vieleckigen, durchsichtigen Zellen besteht, die in einer für Epithelgewebe kennzeichnenden Weise angeordnet sind (Abb. 1). In gleicher Weise verhalten sich die nach der FISCHERSchen Methode angelegten Kulturen; beginnt bei diesen eine Membran anfänglich zwischen fester und flüssiger Phase auszuwachsen, so bedeckt sie doch bald den Glimmer über der langsam an Ausdehnung zunehmenden verflüssigten Zone. Zwischen dem Rand des unverflüssigten Plasmagerinnsels und dem Mutterstück kommt es vielfach zur Ausbildung langer Zellstränge, die sich an der Peripherie des Verflüssigungshofes arkadenartig verbreitern und bei Erschütterungen der Kultur leicht zerreißen. Es entwickeln sich die gleichen Bilder, wie sie von Kulturen der Froschhaut, der Magenschleimhaut und der Bauchspeicheldrüse des Kaninchens bekannt sind (UHLENHUTH, JELISSEJEW, CHLOPIN 1930). Vom zweiten Tage an erscheint der Rand des Mutterstückes — auch in den Fällen, wo es nicht zu einem Auswachsen von Membranen kam — scharf begrenzt, durchscheinend und stark lichtbrechend. In Schnitten durch die Kulturen findet man die Gewebsfragmente allseitig von einem flachen einschichtigen Epithel bedeckt. Wie schon CHAMPY hervorhebt, haben die Sammelrohre den Hauptanteil an der Bildung dieser Zellschicht (Abb. 2). Doch

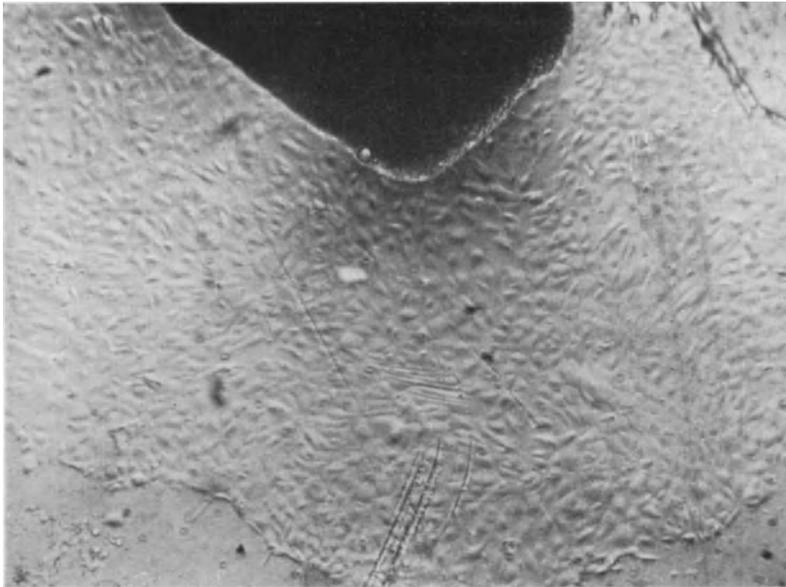


Abb. 1. Membranwachstum. 4. Tag. Kaninchenplasma. Lebend, ungefärbt. 40fach vergrößert.

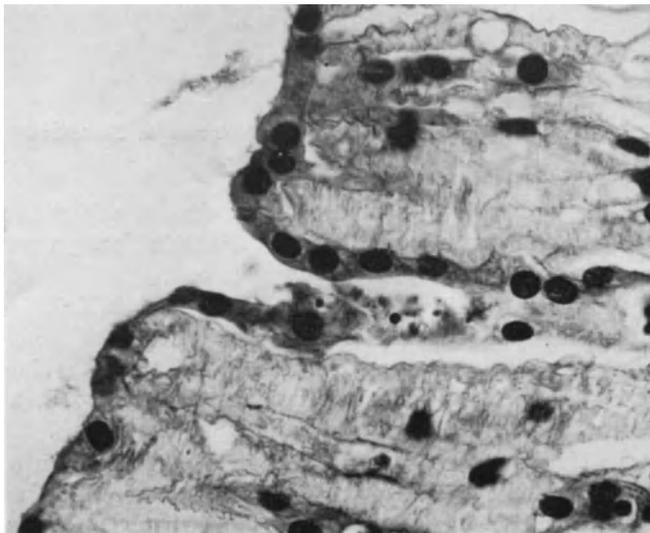


Abb. 2. Aus einem Schnitt durch das Mutterstück einer viertägigen Kultur. Deckepithel in Zusammenhang mit einem Sammelrohr. Hämatoxylin. 600fach vergrößert.

scheinen stellenweise auch einzelne HENLESche Schleifen mit dem Deckepithel in Verbindung zu stehen; sie gehen innerhalb der ersten Tage des Lebens *in vitro* zugrunde.

Außer in Membranen, die mit dem Mutterstück breit in Verbindung stehen, finden sich in älteren Kulturen die Zellen auch in Inseln angeordnet, die, ohne an Flächeninhalt zu wachsen, sich in ihren Umrissen von Tag zu Tag ändern. In allen Kulturen finden sich am Glimmer ausgebreitet einzelliegende Epithelzellen von der allerverschiedensten

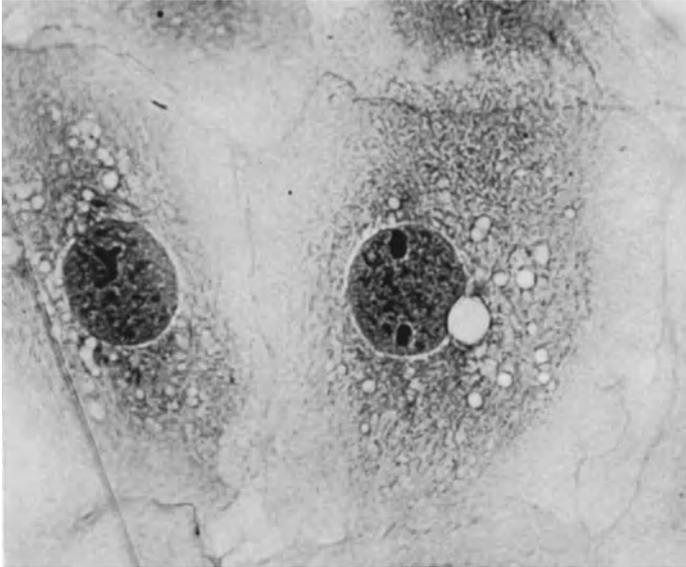


Abb. 3. Helle große Zellen, typisch für das Wachstum in Kaninchenplasma.
1040fach vergrößert.

Form. Die Randzellen der Membranen und Inseln, wie auch die isolierten Epithelien strecken lange spitze oder schaufelartig verbreiterte, hyaline Fortsätze aus, von großer Beweglichkeit.

Wachstum von *Spindelzellen* wurde in 4 von 450 Kulturen beobachtet, in keinem Fall nach der ersten Auspflanzung, immer erst nach einigen Umbettungen. Während bei einer Kultur nach abermaliger Passage Spindelzellen nicht mehr anzutreffen waren, wuchsen sie bei einer anderen von nun an mit dem Epithel gemeinsam aus.

Die in Kaninchenplasma auswachsenden Zellen sind von sehr verschiedener Größe und zeigen auch je nach ihrer verschiedenen dichten Lagerung Unterschiede in der Struktur. Die runden bis ovalen Kerne enthalten neben staubförmigem Chromatin zwei oder mehr Nukleolen von sehr wechselnder Gestalt. Bei starker Vergrößerung sieht man, daß

der helle Saum, der in vielen nach MAXIMOW fixierten Präparaten die Kerne umgibt, von senkrecht zur Kernoberfläche verlaufenden Fädchen durchzogen ist (Abb. 3, 15). Während im allgemeinen die Zellumgrenzungen nach Färbung mit Eisen-Hämatoxylin sehr deutlich hervortreten, findet man in allen Kulturen große helle Zellen am Glimmer ausgebreitet, deren Protoplasma nur in der Umgebung des Kernes gefärbt erscheint, und auch hier nur sehr zart, „amincissement illimité“ (POLICARD) (Abb. 3). Wegen der Übereinstimmung im Bau der Kerne und des Protoplasmas

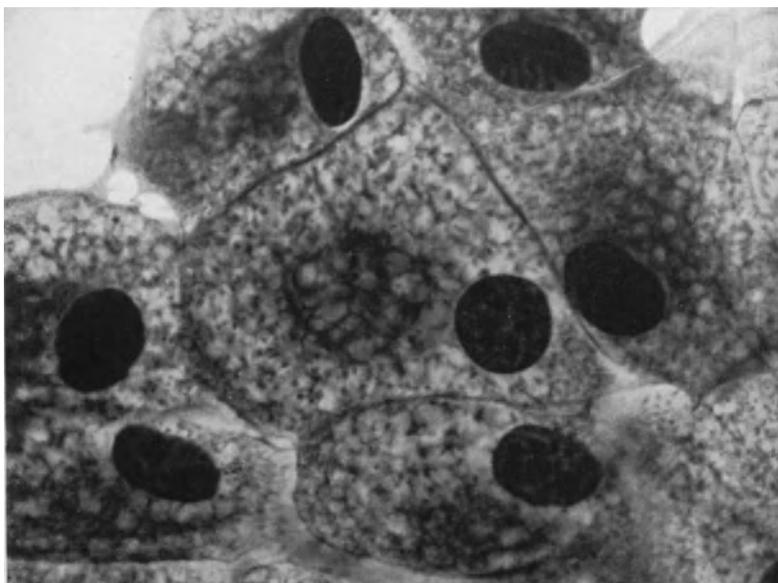


Abb. 4. Kleine, dunkelfärbbare Zellen. GOLGI-Apparat erkennbar. Gleiche Vergrößerung wie Abb. 3.

bei wenig und bei stark färbbaren Zellen muß man annehmen, daß es sich hier nur um verschiedene Erscheinungsformen der gleichen Zellart handelt, zumal wenn man sieht, wie sehr sich unmittelbar nebeneinanderliegende Zellen in der Färbbarkeit des Protoplasmas unterscheiden können.

Wesentliche Strukturverschiedenheiten zwischen Zellen der gleichen Kultur wurden nur einmal beobachtet. Hier fanden sich nach der zweiten Kaninchenplasmassage: 1. geschlossene Verbände der oben beschriebenen großen, blassen Zellen mit hellen, runden oder ovalen Kernen und einem in der Nähe der Zellgrenzen nur schwach gefärbtem Protoplasma. 2. Unmittelbar angrenzend sowie zu großen Inseln zusammengefaßt, kleine Zellen mit sehr dicken Membranen, kleinen dunklen Kernen und einem grobwabigen Protoplasma, in dem der GOLGISCHE

Apparat sehr deutlich zu erkennen ist (Abb. 4, 5). Wie in diesem Präparat einzelne helle Zellen im Gebiete der dunklen liegen, so finden sich umgekehrt auch Inseln der dunklen im Gebiete der hellen. Über die Abstammung der kleinen Zellen von bestimmten Abschnitten der Nierenkanälchen läßt sich nichts aussagen, da Schnitte durch diese Kultur nicht angefertigt wurden. Wie sehr sich aber Zellformen bei Änderung äußerer Bedingungen umgestalten können, zeigt Abb. 6; hier handelt es

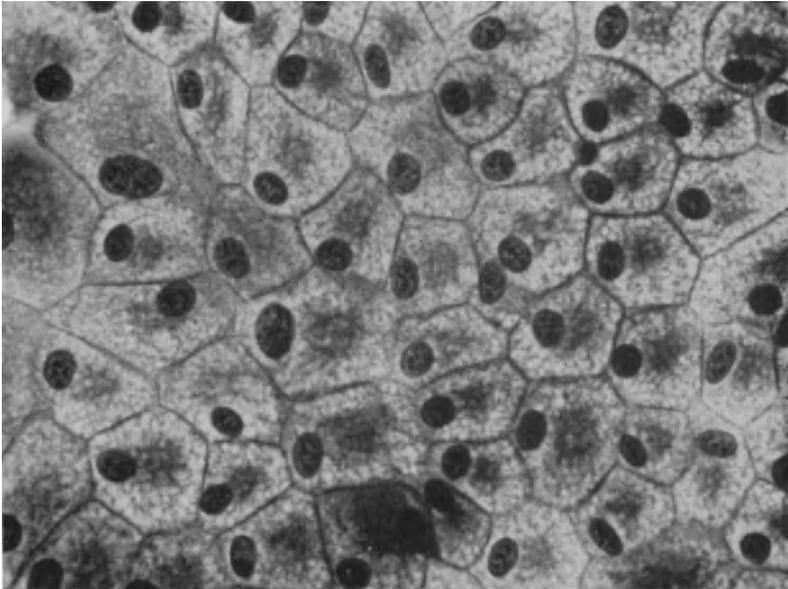


Abb. 5. Kultur der Abb. 4. GOLGI-Apparat fast überall rechts vom Kern gelegen. Totalpräparat. 356fach vergrößert.

sich um eine Kultur, die ohne Umbettung 9 Tage gezüchtet wurde. Nach dem fünften Tage wurde das Mutterstück entfernt, die Kultur gewaschen und gefüttert. Die neu auswachsenden Zellen unterschieden sich deutlich von den alten in ihrer Größe, in der Form ihrer Kerne und der Färbbarkeit ihres Protoplasmas.

In manchen älteren Kulturen erscheint die Mehrzahl der Zellen von einem Schaumwerk kleiner Vakuolen ausgefüllt, deren Inhalt sich weder mit Sudan III, noch mit Neutralrot färben läßt. Solange die Vakuolen noch in geringer Zahl ausgebildet sind, zeigen sie eine deutliche Beziehung zum GOLGI-Apparat (Abb. 7). Die Zellen vieler Präparate lassen nach Eisen-Hämatoxylin-Färbung die gleichen fadenförmigen Strukturen erkennen, die von ZWEIBAUM und ELKNER durch Osmierung in den Fibroblasten des Kaninchens dargestellt wurden.



Abb. 6. Kultur in Hühnerplasma. 9. Tag. 200fach vergrößert. Erklärung im Text.

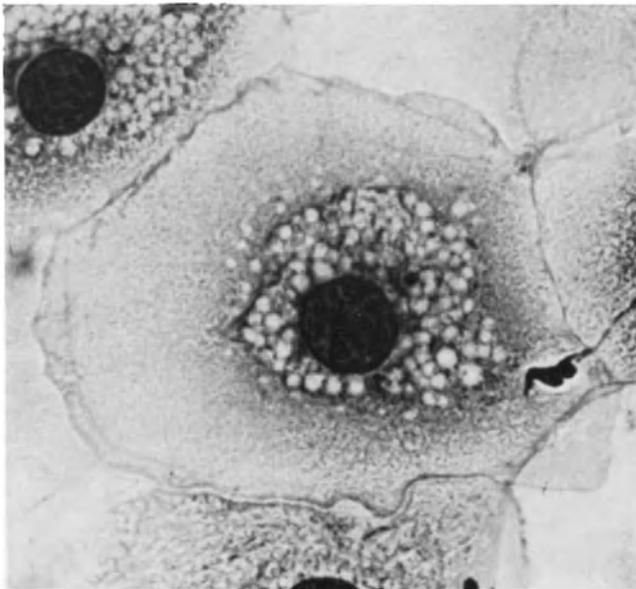


Abb. 7. Vakuolen innerhalb des GOLGI-Apparates. 5. Tag. Vgl. Abb. 4 und 9. 1200fach vergrößert.

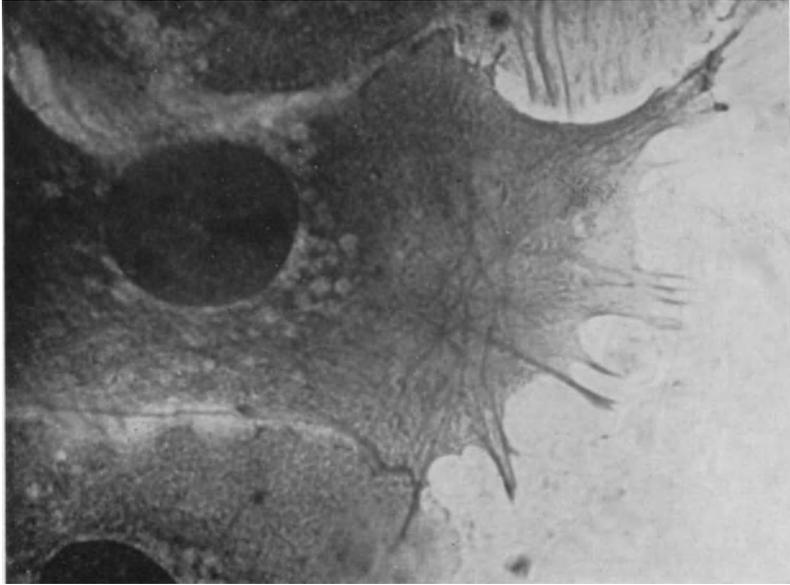


Abb. 8. Faserbildung. 8. Tag. 1600fach vergrößert.



Abb. 9. Zelle vom Rande einer fünftägigen Kultur. Golgi-Apparat (?) durch Vakuolen aufgetrieben. 1000fach vergrößert.

Die schon erwähnten Fortsätze einzelliger oder den Rand der Membranen bildenden Zellen erscheinen bei der Färbung nach GIEMSA rosa, der eigentliche Zelleib dagegen blau. Während den Fortsätzen im allgemeinen die körnigen und tropfigen Einschlüsse des Zellinneren fehlen, zeigen einige eine gerichtete Anordnung solcher Körnchen. Ein Beispiel für Faserbildung gibt Abb. 8. Die Struktur eines „ektoplasmatischen“ Saumes und sein Zusammenhang mit dem Zellinneren ist in Abb. 9 wiedergegeben. An Stelle eines breiten Saumes zeigen

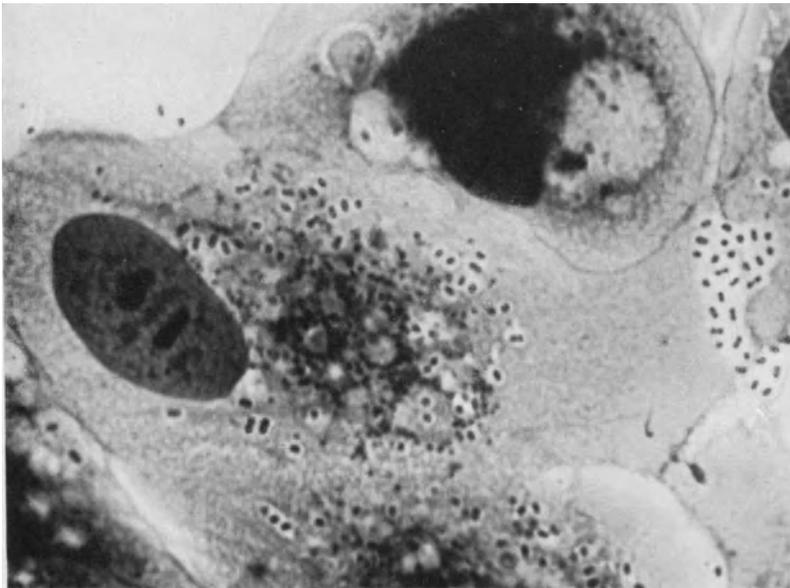


Abb. 10. Zelle aus einer zwölftägigen Kultur. Zwei Tage nach Mischinfektion. 1750fach vergrößert. Kaninchenplasma.

einige Randzellen feine spießförmige Fortsätze, wie sie PINKUS von einzelligenden Zellen in Kulturen menschlicher Epidermis beschreibt.

Spalträume zwischen den Zellen werden vielfach von feinen Ausläufern überbrückt, die aus dem Inneren der Zellen kommend deren Membranen durchbohren. Häufiger sind schmalere und breitere Protoplasmastränge, die sich wohl bei einem mechanisch bedingten Auseinanderweichen der Zellen gebildet haben.

In allen Kulturen finden sich Zellen, die irgendwelche *Einschlüsse* enthalten. Am häufigsten finden sich Einlagerungen in Form grober Schollen, die sich sehr dunkel färben; die Randzellen der Membranen werden von ihnen oft ganz ausgefüllt (Abb. 14). Sie entsprechen den von CHLOPIN in Kulturen der Harnblasenschleimhaut, von MJASSOJEDOW in Kulturen der GRAAFschen Follikel des Kaninchens beobachteten

Einschlüssen. Wahrscheinlich stellen sie unverdaulichen Detritus aus dem Nährmedium dar, der von den Zellen aufgenommen wurde. Ohne besondere Verteilung finden sich die bekannten Epithelzellen, die von einer Vakuole umgebene Rundzellen enthalten. Man findet alle Übergänge von noch erhaltenen, zu weitgehend verdauten Zellen. Gelegentlich findet man mitten unter normal ausschenden Epithelzellen einzelne Zellen, die von kleinen kantigen Einschlüssen ausgefüllt sind, die sich sehr dunkel färben.

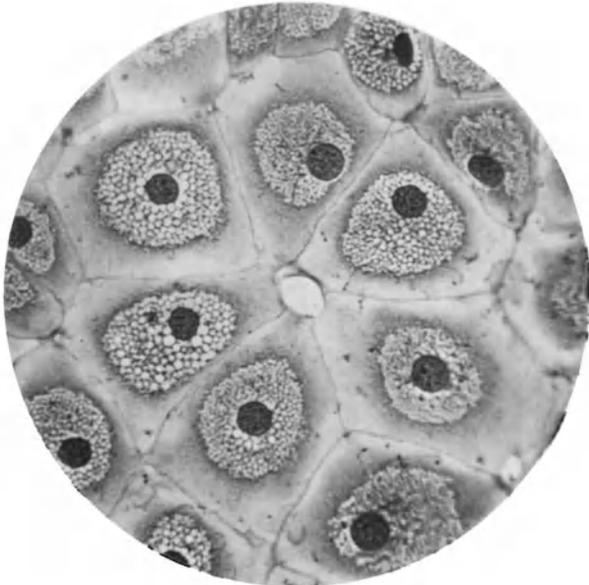


Abb. 11. Sternförmige Anordnung von Zellen einer 6 Tage in Hühnerplasma gezüchteten Kultur. 350fach vergrößert.

Groß ist die Widerstandsfähigkeit der Nierenmarkepithelien gegenüber bakteriellen Verunreinigungen. Reichliche Aufnahme von Bakterien in das Zellinnere zeigt Abb. 10 aus einer Kultur, die 2 Tage gemeinsam mit den Keimen gezüchtet worden war.

Die Anordnung der Zellen innerhalb der Membranen ist nicht ganz indifferent. Es finden sich häufig Stellen, wo durch eine sternförmige Anordnung der Zellen Gebilde entstanden sind, die eine gewisse Ähnlichkeit mit einem querschnittenen Drüsengang besitzen (Abb. 11).

Das Verhalten der Kulturen bei der Züchtung in Hühnerplasma.

Die Hühnerplasmazellen sind klein, schmal und langgestreckt. In den von ihnen gebildeten, sehr einförmigen Membranen (Abb. 12) sind häufig wirbelartige Anordnungen zu beobachten. Die Randzellen

der Membranen zeigen wenige und nur schwach ausgebildete Fortsätze. In einigen Fällen kommt es auch bei der Züchtung in Hühnerplasma zur Bildung von Verflüssigungshöfen, die unmittelbar unter dem Glimmer liegen. Die hier auswachsenden Zellen gleichen den oben geschilderten Kaninchenplasmazellen. Ausnahmen kommen vor; so wuchs einmal auf der Oberfläche eines Gerinnsels von Hühnerplasma eine Membran mit den für Kaninchenplasma charakteristischen Zellformen aus, in

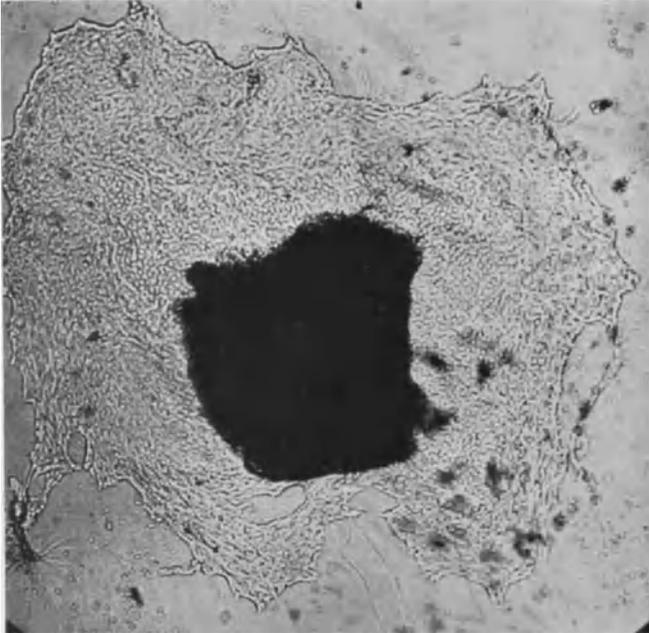


Abb. 12. Kultur in Hühnerplasma. Vierter Tag nach erster Passage. Lebend, ungefärbt. 23fach vergrößert.

einem anderen Falle gingen nach Fütterung einer alten Hühnerplasmakultur aus kleinen undeutlich begrenzten Zellen mit länglichen, vielfach eingebuchteten Kernen, große polygonale Zellen mit runden Kernen hervor (Abb. 6).

Während in Kulturen, die in Kaninchenplasma umgesetzt werden, neue Membranen spät und langsam oder gar nicht mehr auswachsen, zeigen sich ausgedehnte und schnell wachsende Membranen häufig nach 24 Stunden, regelmäßig aber am zweiten Tage in Kulturen, die in Hühnerplasma angesetzt oder umgebettet wurden. In Zweischichtenkulturen schließt die auswachsende Membran in vielen Fällen scharf mit der Grenze des deckenden Extrakttröpfens ab und ist durch dessen Vergrößerung zu weiterem Wachstum zu veranlassen. Wurden die Gewebsfragmente

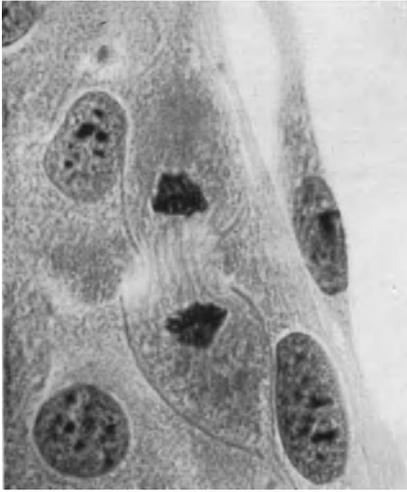


Abb. 13. Zweiter Tag nach erster Passage in Hühnerplasma. 1000fach vergrößert.

unmittelbar auf den Glimmer gesetzt, so bildete sich von selbst eine Zweischichtenkultur aus, indem die in einigem Abstand vom Glimmer auswachsende Membran das Plasmagerinnsel fortschreitend unter sich verflüssigte.

Sternförmige Anordnungen wurden in Hühnerplasmakulturen nur an solchen Zellen beobachtet, die über Verflüssigungshöfen unmittelbar am Glimmer auswuchsen.

Mitosen wurden in lebenden Zellen nicht beobachtet, in gefärbten Präparaten finden sich selten mehr als 3—4, in einigen gar keine. Zellen in den verschiedensten Zuständen der mitotischen Teilung fanden sich sehr reichlich in einer am zweiten Tage nach der letzten Umbettung fixierten Kultur (Abb. 13). Tripolare Mitosen fanden sich mehrfach. Amitosen und



Abb. 14. Epithel aus dem Nierenmark. Drei Wochen ohne Beimengung von Bindegewebe in Hühnerplasma gezüchtet. Kerne blaß. 600fach vergrößert.

Kernsprössungen, Vielzahl von Kernen in nicht vergrößerten Zellen und einkernige Riesenzellen wurden sehr häufig gefunden.

Versuche, durch Übertragung abgetrennter Epithelschleier zu Reinkulturen zu gelangen, ergaben in 5 Fällen ein Auswachsen neuer Membranen, weitere Passagen gelangen damit nicht. Eine Kultur, die nach Herausnahme des Mutterstückes die entstandene Lücke mit einer neuen Membran ausgefüllt hatte, wurde 3 Wochen als Reinkultur lebend erhalten (Abb. 14). Ebensolange bzw. 17 Tage wurden Kulturen mit Mutterstück und größeren Epithelinseln gezüchtet. Auffallend ist die Lockerung des Zellverbandes und die geringe Färbbarkeit der Kerne; beides Veränderungen, die vielleicht nur Stufen auf dem Wege zu den „fibroblast-like epithelial-cells“ darstellen, zu denen sich die Nierenepithelien in den Kulturen von NORDMANN entwickelten.

Kulturen der Marksubstanz der Niere erwachsener Ratten.

Kulturen, die in Rattenplasma angelegt wurden, zeigten keinerlei Wachstum, nur starke Verflüssigung. In Hühnerplasma angelegt gleichen sie in ihrem Verhalten den Hühnerplasmakulturen des Kaninchens. Wurden die Gewebsfragmente unmittelbar auf den Glimmer ausgepflanzt, so begann in jedem Falle am zweiten Tage das Wachstum von Epithelmembranen gleichzeitig in verschiedenen Schichten. In 2 von 12 Kulturen zeigte sich einige Tage später ein geringes Wachstum von Spindelzellen. Die schnellwachsenden Membranen umgeben das Mutterstück bald allseitig. Am sechsten Tage waren an den Kulturen Alterserscheinungen noch nicht wahrzunehmen, weder traten wie in älteren Kulturen vom Kaninchen Lücken in den Membranen auf, noch zeigte sich Vakuolisierung oder Abrundung der Zellen. Wie in den Hühnerplasmakulturen vom Kaninchen erscheinen die Ränder der Membranen scharf begrenzt. Ablösung von Zellen wurde nur einmal beobachtet, die Zellen nahmen aber nicht die von Kaninchenkulturen beschriebenen amöboiden Formen an, sondern behielten ihr polygonales Aussehen. Zellgrenzen sind auch nach Eisen-Hämatoxylin-Färbung oft schwer zu erkennen. Die Kerne enthalten regelmäßig 2 Nucleolen und sind kreisrund.

Merkwürdigerweise wachsen die Zellen von vorneherein in gänzlich verfettetem Zustand aus. Sie erscheinen bei schwacher Vergrößerung von dunklen Tröpfchen erfüllt, von denen sich die durchsichtigen Kerne als helle Scheiben sehr deutlich abheben. (Das gleiche Bild ergibt sich gelegentlich in Hühnerplasmakulturen vom Kaninchen.) Während die meisten Membranen gleichmäßig verfettet sind, weisen einige großen Bezirke fettarme Zellen auf. Auch in Gebieten, die über Verflüssigungshöfen liegen, fehlt die Verfettung. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Fettinfiltration, wie sie von I. A. LUDWIG in Kulturen von Fibroblasten aus dem Hühnerherzen beobachtet wurden.

Sternförmige Anordnungen wurden nicht angetroffen, doch findet sich ein Beispiel dafür auf einer Abbildung bei CRACIUN. Im einzelnen gleichen die Zellen der Nierenmarkkulturen vollkommen denen, die A. H. DREW sowie MARKEES von Kulturen der Rindensubstanz beschreiben (Abb. 15).

Besprechung der gewonnenen Ergebnisse.

Das *Fehlen jeglichen Fibroblastenwachstums* bei der Züchtung in vitro stellt das Nierenmark in Gegensatz zur Rindensubstanz, bei der es

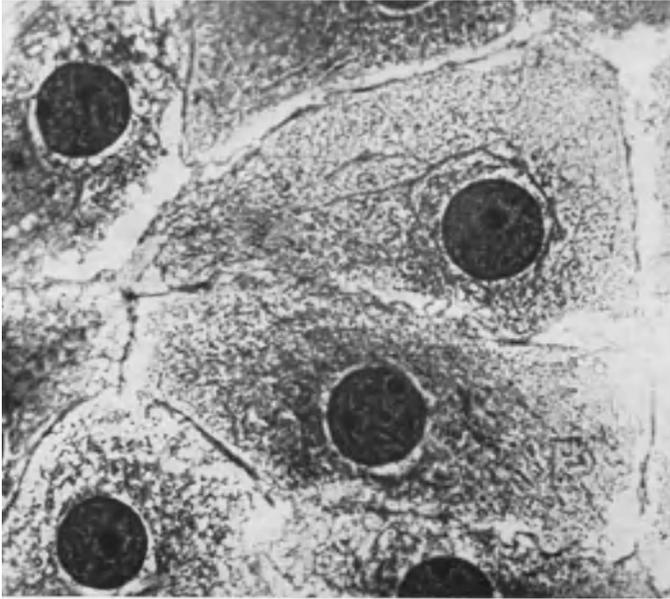


Abb. 15. Nierenmark erwachsener Ratte. Am Glimmer ausgebreitete Zellen Hühnerplasma. 1100fach vergrößert.

regelmäßig neben der Entwicklung epithelialer Membranen zu einem Wachstum des Bindegewebes kommt (CHAMPY, CHLOPIN 1922, A. H. DREW, POLICARD, MARKEES). Lediglich NORDMANN schreibt: "Fibroblasts happen to grow very rarely in our cultures".

Fortsatzbildungen von Rand oder Einzelzellen wurden in gleicher Weise bei der Züchtung anderer epithelialer Organe des Kaninchens gesehen (MAXIMOW, CHLOPIN, STRELIN, GALSTJAN). In Kulturen der Haut und der Niere des Frosches sind sie ebenso anzutreffen wie in Kulturen menschlicher Plazentarzotten und menschlicher Epidermis (UHLENHUTH, NISHIBE, SUNTZOWA, FRIEDHEIM, PINKUS). Da spezifische Fibrillenfärbungen nicht ausgeführt wurden, läßt sich nicht entscheiden,

ob die in manchen Fortsätzen beobachteten Strukturen den von PINKUS beschriebenen Epithelfasern entsprechen.

Während mehrfach angegeben wurde, daß die Randzellen von Epithelmembranen durch einen ihnen allen gemeinsamen „ektoplasmatischen Randschleier“ verbunden seien (FISCHER, HERZOG, DEMUTH), lassen sich in meinen Präparaten die den einzelnen Randzellen angehörenden Fortsätze deutlich voneinander abgrenzen.

Vakuolenbildung in räumlicher Beziehung zum GOLGI-Apparat wurde bereits von CHLOPIN (1924) in Kulturen der Harnblasenschleimhaut des Kaninchens beobachtet. Es erscheint mir bemerkenswert, daß die kleineren und größeren Vakuolen, in welchen die von den Zellen aufgenommenen Bakterien eingeschlossen werden, sich an den gleichen Stellen entwickeln, an denen sich sonst der GOLGI-Apparat nachweisen läßt. Die häufig anzutreffenden *sternförmigen Anordnungen* der Epithelzellen lassen sich vielleicht in Beziehung setzen zu von CHAMPY beschriebenen Gebilden in Kulturen der Niere embryonaler Kaninchen, die er als «des ébauches d'organisations élémentaires» bezeichnet. Es sind mit dem Mutterstück zusammenhängende Knollen und Stränge, die auf dem Durchschnitt drüsenähnliche Struktur aufweisen. Die gleichen sah POLICARD in Kulturen der Rattenniere. In beiden Fällen handelt es sich um gleichmäßig nach allen Richtungen des Raumes ausgehende Gebilde, während die Abb. 11 einen Ausschnitt aus einer Membran wiedergibt. Durch dieses Verhalten unterscheiden sich die beschriebenen Strukturen auch von den Drüsenazini, über deren Auftreten im Epithel neugebildeter Mittelstücke von Pankreaskulturen sich Bemerkungen in den Arbeiten von PINKUS und von AMOROSO finden. PINKUS betont, daß die betreffenden Zellen keinerlei morphologisch erkennbare Polarität aufweisen, was für die oben geschilderten Bildungen ebenfalls zutrifft. In gleicher Weise lehnt DEMUTH es ab, die um Lücken konzentrisch angeordneten Epithelzellen, die er in Mittelstücken seltener geteilter Schilddrüsenkulturen antraf, als Differenzierungsprodukte zu deuten. Größere und kleinere Lücken finden sich in den Membranen sehr häufig, doch fehlt ihnen eine besondere Beziehung zu den sternförmigen Anordnungen; die in Abb. 11 wiedergegebene Stelle bildet darin eine Ausnahme. Die Lücken sind auch den von SCHOPPER in Kulturen seröser Häute beobachteten Lochbildungen, die durch allmählichen Zelluntergang zustande kommen, nicht gleichzusetzen, entsprechen aber wohl den Stomata in Kulturen von Meta- und Mesonephrose des Hühnchens, die KAPEL beschreibt.

Ob die *Seltenheit von Mitosen* in gefärbten Präparaten durch ihr Gebundensein an einen bestimmten Rhythmus bedingt ist (FISCHER, STÄHLFELD) oder damit zusammenhängt, daß die meisten Kulturen erst am vierten oder fünften Tag ihres Wachstums fixiert wurden, blieb unentschieden. Das Vorkommen tripolarer Kernteilungsfiguren hat

G. H. DREW in einem Hautepithel beobachtet, das während der Regeneration einer dauernden Reizwirkung ausgesetzt war. CHLOPIN sah sie in Kulturen der Bauchspeicheldrüse des Kaninchens.

Von den Zellen einiger Pflanzen ist bekannt, daß eine bereits eingeleitete Kernteilung durch Einwirkung von Kälte zu einem vorzeitigen Abschluß gebracht werden kann. Die bereits verdoppelten Chromosomen bilden sich zu einem „diploiden“ Kern zurück. Spätere ungestörte Teilungen führen zu vergrößerten Zellen (Näheres bei v. WETTSTEIN). Bei der täglichen Durchmusterung werden die Kulturen einer Kälteeinwirkung ausgesetzt; vielleicht liegt hier eine der Ursachen für das Auftreten von in ihren Ausmaßen riesig vergrößerten Zellen.

Als Ausgangsmaterial für die Züchtung reiner Stämme von Epithelzellen wurden bisher vorwiegend Gewebe embryonaler Organismen verwendet: Iris-, Leber-, Pankreasepithel. DEMUTH gelang die Dauerzüchtung von Schilddrüsengewebe erwachsener Hühner; in der vorliegenden Untersuchung wurde gezeigt, daß sich *aus dem Nierenmark erwachsener Kaninchen leicht Reinkulturen von Epithelzellen gewinnen lassen*. Experimente zur Lösung von Fragen, für welche die Methode der Gewebezüchtung geeignet erscheint, könnten in diesen Fällen schon vor der Explantation am lebenden erwachsenen Tier eingeleitet werden.

Zusammenfassung.

Die Marksubstanz der Niere erwachsener Kaninchen liefert bei der Züchtung *in vitro* in über 99% der Fälle reine Epithelmembranen ohne Beimengung von Fibroblasten. Dabei ist es gleichgültig, ob die Züchtung im festen oder zwischen festem und flüssigem Medium erfolgt. Durch Abschneiden der Membranen oder durch Herausnahme des Mutterstückes lassen sich Epithelreinkulturen erhalten. Die in Hühnerplasma gezüchteten Zellen sind kleiner als die in Kaninchenplasma gezüchteten.

Die Marksubstanz der Niere erwachsener Ratten liefert bei der Züchtung in Hühnerplasma in den meisten Fällen ebenfalls reine Epithelmembranen.

Die Epithelreinkulturen aus dem Nierenmark sind für Untersuchungen über die Morphologie der Epithelzelle besonders geeignet.

Am Schlusse meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. E. G. NAUCK für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seiner Abteilung und für die meiner Arbeit erwiesene Teilnahme und Förderung meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Die Mikrophotogramme wurden gemeinsam mit cand. med. WALTER Loos hergestellt, dessen großer photographischer Erfahrung und uner müdlichen Arbeitswilligkeit ihr Gelingen zu danken ist.

Die Aufnahmen wurden, mit Ausnahme der Bilder lebender Kulturen, mit einer Zeiß-Hegener Kamera unter Verwendung Zeißscher Apochromate hergestellt.

Literaturverzeichnis.

Amoroso, E.: Arch. exper. Zellforsch. **12** (1932). — **Champy, Ch.:** Archives de Zool. **54** (1914). — **Chlopin, N.:** Arch. mikrosk. Anat. **96** (1922). — Virchows Arch. **243** (1923); **252** (1924). — Arch. exper. Zellforsch. **9** (1930). — **Craciun, E.:** Arch. exper. Zellforsch. **2** (1926). — **Demuth, F.:** Arch. exper. Zellforsch. **13** (1933). — **Drew, A. H.:** Brit. J. exper. Path. **3** (1922). — **Drew, G. H.:** J. of Path. **17** (1912/13). — **Fischer, A.:** Handbuch der Biologie der Gewebezellen in vitro. München 1933. — **Friedheim, E. A. H.:** C. r. Soc. Biol. Paris **98**, 123 (1928). — **Galstjahn, S.:** Arch. exper. Zellforsch. **13** (1933). — **Herzog, R.:** Verh. dtsch. path. Ges. **26**. Jena 1931. — **Jelissejew, W. G.:** Arch. exper. Zellforsch. **9** (1930). — **Kapel, O.:** Arch. exper. Zellforsch. **8** (1929). — **Markees, S.:** Arch. exper. Zellforsch. **14** (1933). — **Mjassojedow, S.:** Arch. mikrosk. Anat. **104** (1925). — **Maximow, A.:** Virchows Arch. **256** (1925). — **Nishibe, M.:** Arch. exper. Zellforsch. **7** (1928/29). — **Nordmann, M.:** Arch. exper. Zellforsch. **9** (1930). — **Pinkus, H.:** Arch. exper. Zellforsch. **10** (1931). — Arch. f. Dermat. **165** (1932). — **Policard, A.:** Bull. Histol. appl. **2** (1925). — **Stälfeld, M. G.:** Sv. Vetensk.akad. Hdl. **62** (1921). — **Schopper:** Beitr. path. Anat. **88** (1932). — **Uhlenhuth, Ed.:** J. of exper. Med. **22** (1915). — **Wettstein, F. v.:** Erg. Biol. **2** (1927). — **Zweibaum u. Elkner:** Arch. exper. Zellforsch. **9** (1930).

	Seite
v. KORFF, K., Der Zahndurchbruch mit seinen Begleiterscheinungen. Mit 22 Textabbildungen	353
KEDROWSKI, BORIS, Untersuchungen über die Kondensatoren für basische Farbstoffe. III. Mitteilung. Die Rolle der Eiweißabbauprodukte bei der Bildung der Kondensatoren (Farbstoffgranula) und bei der Farbspeicherung. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern)	399
KEDROWSKI, BORIS, Über die Verteilung der Stoffe in der Zelle, hauptsächlich in der tierischen Zelle. Mit 6 Textabbildungen	411
GRAUPNER, HEINZ u. ILSE FISCHER, Die Entwicklung und Degeneration der Melanophoren von <i>Atherina mocho</i> . Mit 5 Textabbildungen (8 Einzelbildern)	434
SEKI, MASAJI, Zur Kenntnis der intra- und supravitalen Färbung. VI. Elektrische Ladung der Histiocyten und Retikuloendothelien. Mit 3 Textabbildungen	445
TSCHISTOWITSCH, A. N., Über die Veränderungen des Lungenparenchyms und Stromas bei der Entzündung. III. Mitteilung. Über die Genese der Alveolarphagozyten	457
ROBINOW, CARL, Über das Verhalten der Marksubstanz der Niere erwachsener Kaninchen und Ratten in der Gewebekultur. Mit 15 Textabbildungen	467
AMPRINO, R. u. A. BAIRATI, Nachtrag zu der Arbeit «Studi sulle trasformazioni delle cartilagini dell'uomo nell'accrescimento e nella senescenza»	484

Aufnahmebedingungen.

I. Sachliche Anforderungen.

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.
2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen.

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zur Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.
2. Die Arbeiten müssen *kurz* und in gutem Deutsch geschrieben sein. Arbeiten in den anderen Kongreßsprachen können nur aufgenommen werden, wenn es sich um die Muttersprache des Autors handelt. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargestellt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweise auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen“, Handbüchern) herzustellen.
3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.
4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen.
5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden¹.

¹ Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken. Entscheidend für die Frage, ob Bild oder Text, ist im Zweifelsfall die Platzersparnis. Kurze, aber erschöpfende Figurenunterschrift erübrigt nochmalige Beschreibung im Text. Für jede Versuchsart, jedes Präparat ist nur ein gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig ist im allgemeinen die *doppelte* Darstellung in Tabelle und Kurve. *Farbige* Bilder können nur in seltenen Ausnahmefällen Aufnahme finden, auch wenn sie wichtig sind. Didaktische Gesichtspunkte bleiben hierbei außer Betracht, da die Aufsätze in den Archiven nicht von Anfängern gelesen werden.

7. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

8. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen zwecks Erweckung des Anscheins größerer Kürze ist unzulässig.

9. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

10. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig hingegen sind einzeilige Fußnoten mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt und geleitet oder wer die Mittel dazu gegeben hat. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Vor kurzem erschien der dritte Band der

Fortschritte der Botanik. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen herausgegeben von **Fritz von Wettstein**, Professor an der Universität München.

Bericht über das Jahr 1933. Mit 53 Abbildungen. IV, 257 Seiten. 1934. RM 22.—

A. Morphologie

Inhaltsverzeichnis:

1. **Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle.** Von Privatdozent Dr. Lothar Geitler, Wien. — 2. **Morphologie, einschließlich Anatomie.** Von Professor Dr. Wilhelm Troll, Halle a. S. — 3. **Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung.** Von Dr. Ludwig A. Schlösser, München.

B. Systemlehre und Stammesgeschichte

4. **Systematik.** Folgt in Band IV. — 5. **Paläobotanik.** Von Professor Dr. Max Hirmer, München. — 6. **Systematische und genetische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. Edgar Irmscher, Hamburg.

C. Physiologie des Stoffwechsels

7. **Physikalisch-chemische Grundlagen der biologischen Vorgänge.** Von Privatdozent Dr. Erwin Bünning, Jena. — 8. **Zellphysiologie und Protoplasmatik.** Von Professor Dr. Karl Höfler, Wien. — 9. **Wasserumsatz und Stoffbewegungen.** Von Professor Dr. Bruno Huber, Tharandt i. Sa. — 10. **Mineralstoffwechsel.** Von Privatdozent Dr. Karl Pirschle, München. — 11. **Stoffwechsel organischer Verbindungen.** Von Privatdozent Dr. Kurt Mothes, Halle a. S. — 12. **Mikrobiologie des Bodens.** Von Professor Dr. A. Rippel, Göttingen. — 13. **Ökologische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. Heinrich Walter, Stuttgart.

D. Physiologie der Organbildung

14. **Wachstum und Bewegung.** Von Professor Dr. Hermann von Guttenberg, Rostock i. M. — 15. **Vererbung.** Von Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br. — 16. **Entwicklungsphysiologie.** Von Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br.

E. Anhang

17. **Ökologie.** Von Professor Dr. Theodor Schmucker, Göttingen. Sachverzeichnis.

Früher erschienen:

Erster Band: Bericht über das Jahr 1931. Mit 16 Abbildungen. VI, 263 Seiten. 1932. RM 18.80

Zweiter Band: Bericht über das Jahr 1932. Mit 37 Abbildungen. IV, 302 Seiten. 1933. RM 24.—

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Lebenslauf.

Am 10. April 1909 wurde ich, Carl Robinow, in Hamburg als Sohn des Regierungsrates Dr. Franz Robinow geboren. Ich besuchte die Gelehrtenschule des Johanneums, das Wilhelmgymnasium, das Landerziehungsheim am Solling bei Holzminden und bestand 1928 die Reifeprüfung an der Siemens-Oberrealschule Berlin-Charlottenburg. Ich studierte Medizin in Freiburg i. B., Berlin, Wien und Hamburg, wo ich im Dezember 1934 das Staatsexamen bestand.