

## ÜBER DAS VERHALTEN DER HASSALLSCHEN KÖRPERCHEN NACH RÖNTGENBESTRAHLUNG

IRÉN PÁLYI und ESZTER KAPA

(Eingegangen am 14. April 1960)

Es ist bekannt, dass der Thymus die verschiedenen Reize die den Organismus treffen, immer mit einer spezifischen Reaktion beantwortet [5]. Nach Implantation von Eiweissen, nach Hungern und nach Hormonbehandlung wurde das Ausschütten der Thymozyten, die Zusammenziehung des Epithelretikulums und die Zunahme der Hassallschen Körperchen beobachtet [9]. Mehrere Autoren beschrieben das Entstehen von Zysten im Thymus nach Röntgenbestrahlung, welche von den Hassallschen Körperchen abstammen sollen [2, 8, 1]. TSCHASSOWNIKOW beobachtete nach Röntgenbestrahlung eine kompakte Epithelstruktur, die in der Gewebekultur intensiv proliferierte [10].

Vorliegende Arbeit behandelt das weitere Schicksal der nach Röntgenbestrahlung vermehrt auftretenden Hassallschen Körperchen und ihr Verhalten *in vitro*.

### Material und Methoden

Zu den Versuchen verwendeten wir 7 Tage alte Meerschweinchen. Der Thymus der Versuchstiere wurde in der medianen Linie des Halses auf einem Gebiet von  $2 \times 2$  cm mit Strahlendosen von 100, 200, 300, 500, 800, 1000 r behandelt. (kV 180, mA 10, Filter 0,5 Cu, Feld  $2 \times 2$  cm, Focus 40 cm, r/Min: 60). In jeder Versuchsgruppe wurden je 10 Tiere bestrahlt. Die Explantation erfolgte 48 Stunden nach der Bestrahlung. Ein Teil jeder bestrahlten Thymusdrüse wurde histologisch bearbeitet, aus dem anderen Teil wurden Gewebekulturen angesetzt. Es wurden Röhrenkulturen verwendet, als protektives Medium diente ein Gemisch von Hühnerplasma und Hühnerembryonalekt.

Die Nährflüssigkeit war ein Gemisch von Tyrodelösung, menschlichem Serum und Embryonalekt im Verhältnis 2:2:1. Die Kulturen wurden jeden zweiten Tag gewaschen und am 2., 4., 8., 14. Tag fixiert. Sowohl die Kulturen, als auch die histologisch bearbeiteten Thymuspräparate wurden in Carnoy fixiert und mit May-Grünwald-Giemsalösung gefärbt. Daneben wurde die Tetrazonium-Kupplungsreaktion und nach Fixieren in kaltem, 80%igen Alkohol die alkalische Phosphatase-Reaktion (3) angewendet. Die Kulturen wurden zum Teil nach Einbettung in Serienschnitten, zum Teil *in toto* untersucht. Der Thymus der Kontrolltiere wurde mit denselben Methoden bearbeitet.

### Befunde

Nach Irradiation mit verschiedenen Strahlendosen erfolgen charakteristische Veränderungen in den Hassallschen Körperchen. Nach Irradiation mit 100–300 r entstehen am zweiten Tage nach der Bestrahlung mehrere

kleinere Hassallsche Körperchen, nach 500 r kommt es zur Ausbildung von sehr grossen Körperchen. Die Gewebereaktion nach diesen Strahlendosen ist im Prinzip nicht verschieden, nur die Intensität der Reaktion nimmt mit zunehmender Dosis ebenfalls zu. Die Ergebnisse werden deshalb zusammengefasst behandelt.

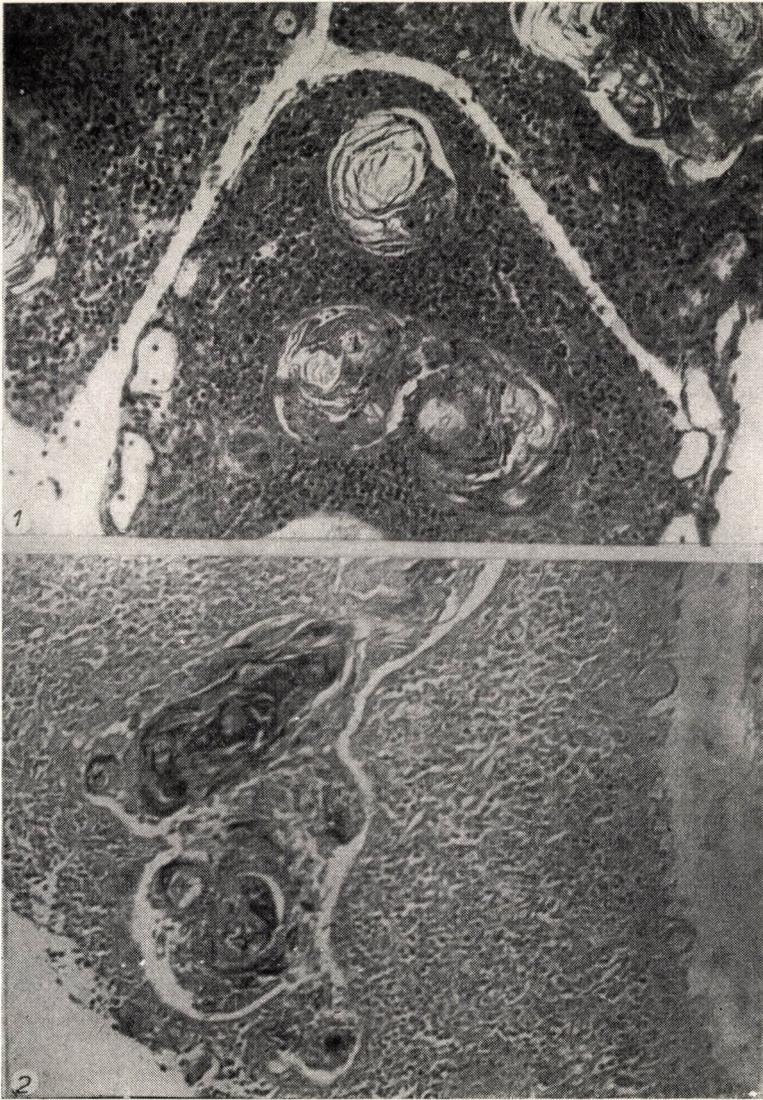


Abb. 1. Thymus nach Bestrahlung mit 1000 r. May-Grünwald-Giemsa

Abb. 2. Thymus nach Bestrahlung mit 800 r. Tetrazonium-Kupplungsreaktion

1. *Das histologische Bild der bestrahlten Thymusdrüsen*

Im Vergleich zu den Kontrollen ist das Mark-Rinden-Verhältnis in den bestrahlten Thymusdrüsen gestört. Nach Bestrahlung mit 100–300 r sind im Mark sehr viele, aus einer einzigen Zelle bestehende Hassallsche Körperchen sichtbar. Diese können mit May–Grünwald–Giemsa nur schwer festgestellt werden, sind aber mit der Tetrazonium-Kupplungsreaktion gut sichtbar.

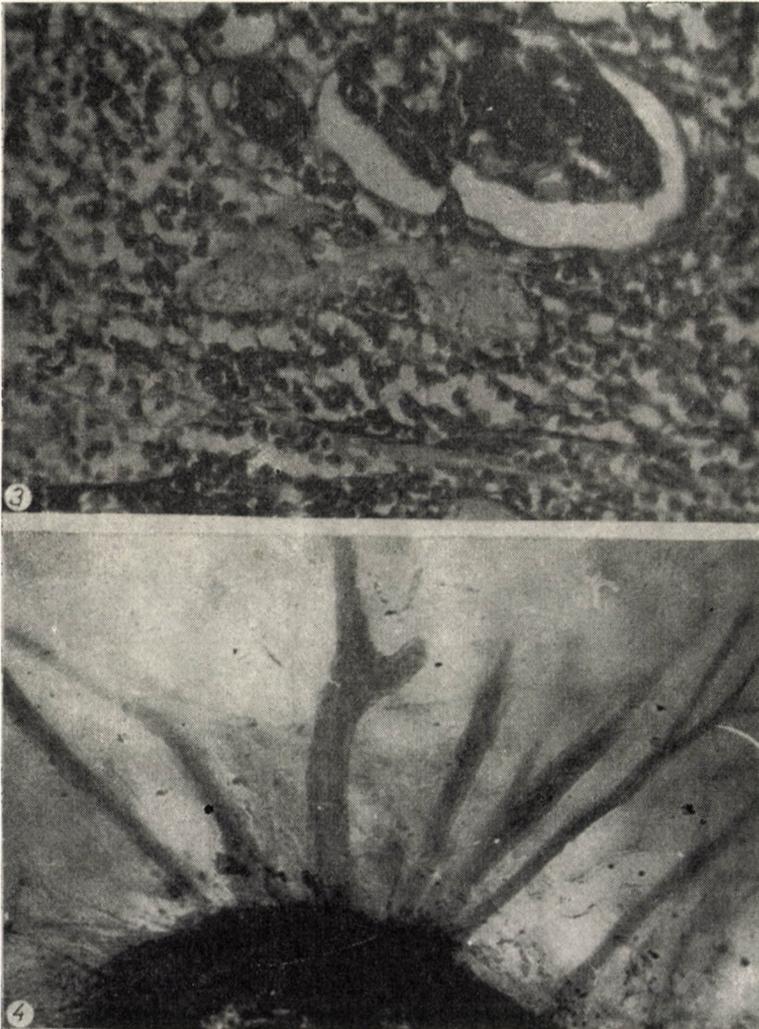


Abb. 3. Thymus nach Bestrahlung mit 800 r. Phosphatase-Reaktion

Abb. 4. Eintägige Gewebekultur aus einem mit 800 r bestrahlten Thymus. Tetrazonium-Reaktion



*Abb. 5.* Viertägige Gewebekultur aus einem mit 800 r bestrahlten Thymus. May—Grünwald—Giemsa

*Abb. 6.* Zehntägige Kultur aus einem mit 800 r bestrahlten Thymus. Tetrazonium-Reaktion

Nach Bestrahlung mit 500—800 r erscheinen sehr grosse Hassallsche Körperchen, welche aus mehreren Zellen bestehen (Abb. 1). Der zentrale Teil dieser grossen Körperchen zeigt zum Teil eine zelluläre, zum Teil eine konzentrische lamelläre Struktur. Die zentrale Struktur gibt eine sehr starke Tetrazonium-Kupplungsreaktion (Abb. 2), und zeigt eine bedeutende alkalische Phosphataseaktivität (Abb. 3). Diese Zentren werden von einem Zellring umgeben. Ausser den Hassallschen Körperchen können im Thymusgewebe neben Thymo-

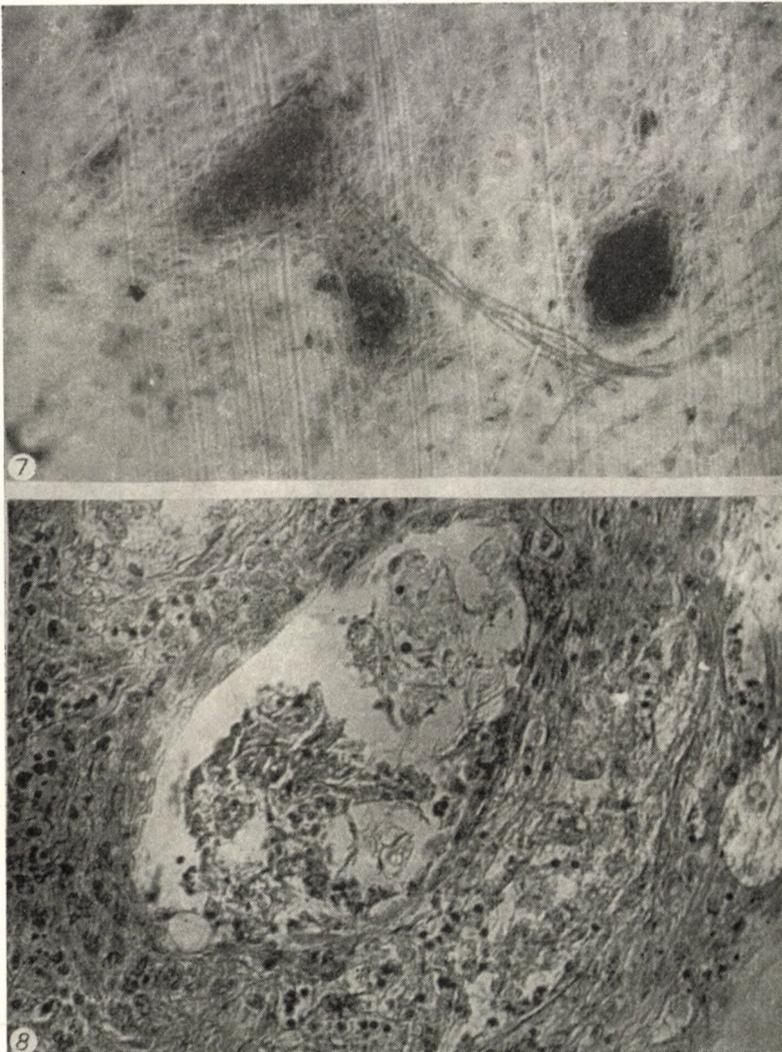


Abb. 7. 14tägige Kultur aus einem mit 800 r bestrahlten Thymus. Tetrazonium-Reaktion

Abb. 8. Schnitt-Präparat einer eintägigen Gewebekultur aus einem mit 800 r bestrahlten Thymus. May-Grünwald-Giemsa

zyten mit pyknotischen Kernen auch Plasmazellen und Histozyten beobachtet werden.

## 2. Die Kulturen von bestrahlten Thymusdrüsen

In den Kontrollkulturen dominiert in den ersten 3 Tagen das Wachstum des Bindegewebes und erst dann beginnt das Wachstum des Epithels. Kulturen die aus bestrahltem Thymusgewebe angesetzt wurden, zeigen demgegenüber

bereits am ersten Tage die Sprossung charakteristischer Epithelzapfen (Abb. 4). Am vierten Tag der Züchtung wird infolge des intensiven Epithelwachstums das ganze Explantat von einer grossen, zusammenhängenden Epithellamelle umgeben (Abb. 5). Am 10. Tag der Züchtung dissoziiert die Epithellamelle. Einzelne Epithelzellgruppen geben eine starke Tetrazonium-Kupplungsreaktion (Abb. 6). Diese Zellgruppen werden zum Zentrum der sich in der Wachstumszone ausbildenden Hassallschen Körperchen.

### 3. *Serienschnitte von Thymuskulturen bestrahlter Tiere*

Die Kontroll-Explantate enthielten schon beim Ansetzen der Kulturen weniger Hassallsche Körperchen, als die Mutterstücke aus bestrahlten Thymusdrüsen. Die Kulturen die nach Bestrahlung angesetzt wurden, zeigten nach eintägiger Züchtung eine Destruktion der grossen Hassallschen Körperchen. Die gequollenen Retikulumzellen des Zellringes, der die Körperchen umgibt, reichen bis an den Rand des Explantates (Abb. 8).

Am vierten Tag der Gewebekultur sind die Hassallschen Körperchen schon bedeutend kleiner und am Rand des Explantates bildet auch das Epithelretikulum einen breiteren Ring. In 14 Tage alten Gewebekulturen sind nur noch kleine Überreste der Hassallschen Körperchen zu beobachten. Ein ähnliches Verhalten der Körperchen konnte in den Kontrollkulturen nicht beobachtet werden.

### Besprechung

Die am meisten charakteristische Reaktion nach Röntgenbestrahlung ist im Thymus der Meerschweinchen ohne Zweifel die rapide Zunahme und Vergrösserung der Hassallschen Körperchen. In manchen Fällen wird am zweiten Tag nach der Bestrahlung sozusagen das ganze Mark zu einem einzigen riesigen Körperchen. Auch SMITH [6] und FLUHR [1] beobachteten nach Bestrahlung eine Zunahme der Hassellschen Körperchen, beschrieben aber keine solche Vergrösserung. SMITH [7] fasst die Zunahme der Hassallschen Körperchen nach Röntgenbestrahlung als ein Zeichen der Degeneration auf. Nach seinen Befunden dauert diese Phase der Degeneration 3 Tage lang nach der Bestrahlung, und nachher regeneriert sich der Thymus.

Auf Grund unserer Experimente stellen wir uns die kurz nach Bestrahlung auftretenden Veränderungen im Thymus folgendermassen vor: Der Thymus reagiert auf Röntgenbestrahlung ähnlich, wie auf andere Einwirkungen, (Hungern, Hormonbehandlung). Ein Zeichen dieser allgemeinen Reaktion die auch nach Röntgenbestrahlung erscheint, ist das Ausschütten der Thymozyten. Diese Reaktion ist auch bei geringen Strahlendosen (100–300 r)

ausgesprochen. Das Epithelretikulum zieht sich zusammen [9] und eine Folge dessen ist die Bildung von Hassallschen Körperchen. Die Stärke dieser Reaktion des Retikulums hängt weitgehend von der Strahlendosis ab. Geringere Dosen (100—300 r) führen nur zur Bildung von Anlagen der Hassallschen Körperchen (einzellige Hassallsche Körperchen), mit zunehmender Dosis nimmt aber auch die Intensität der Reaktion des Epithelretikulums zu. Nach 48 Stunden, d. h. zur selben Zeit wie in den Versuchen mit geringeren Dosen, entstehen in den Zentren Hassallsche Körperchen von bekannter Grösse bzw. Riesenkörper.



Abb. 9. Schnitt-Präparat einer viertägigen Gewebekultur aus einem mit 800 r bestrahlten Thymus. May—Grünwald—Giemsa

Die Beurteilung, ob der Thymus in diesen Fällen in Degeneration begriffen ist und auch die Hassallschen Körperchen inaktive Gebilde sind, ist auf Grund der Analyse histologischer Bilder schwer zu beantworten. Die histochemischen Reaktionen könnten bei der Beurteilung eine Hilfe leisten, müssen aber sehr vorsichtig bewertet werden. Die starke Tetrazonium-Kupplungsreaktion, die bereits bei der Ausbildung der Hassallschen Körperchen beobachtet wird, kann als ein Zeichen der Zunahme von Eiweisskörpern aufgefasst werden, woraus wiederum auf einen aktiven Prozess geschlossen werden kann. Ebenso kann auch die starke alkalische Phosphatasereaktion als ein Indikator einer intensiven Zelltätigkeit aufgefasst werden. Dies spricht aber gegen die Auffassung, dass die Hassallschen Körperchen degenerative Gebilde wären.

Auf Grund dieser Reaktionen kann aber die Frage nicht entschieden werden. Es ist nämlich bekannt, dass die Tetrazonium-Reaktion nicht für

gewisse Eiweiss-Komponenten spezifisch ist, sondern die Anwesenheit von eiweissreaktiven Gruppen nachweist und unter gewissen Umständen eine Koppelung auch mit anderen Verbindungen gibt [4]. Wenn diese reaktiven Gruppen angereichert werden, und das kann auch bei degenerativen Prozessen vorkommen, wird die Reaktion stärker ausfallen. Es gibt Angaben auch dafür, dass die Stärke der alkalischen Phosphatasereaktion bei degenerativen Prozessen zunimmt [7]. Dies kann damit erklärt werden, dass sich in diesen Fällen die Anordnung der Struktureiweisse ändert und dadurch auch solche Enzymmoleküle mit dem Substrat in Reaktion treten, welche sonst durch eine Grenzmembran von Substrat abgeschlossen waren. Dadurch wird natürlich die Intensität der Reaktion zunehmen. Diese Überlegungen führten dazu, dass wir in der Gewebekultur untersuchten, ob diese schnell ausgebildeten grossen Hassallschen Körperchen proliferieren.

Die Ergebnisse der Gewebekultur und ihr Vergleich mit den Serienschnitten der Mutterstücke zeigten Folgendes:

Mit zunehmendem Alter der Gewebekultur wurden in dem bestrahlten Thymus-Mutterstück die Hassallschen Körperchen ständig kleiner, ihre Struktur zerfiel immer mehr und die Zellen der umgebenden Zellmasse wurden später am Rand des Explantates gefunden.

Gleichzeitig mit diesen Prozessen, die im Inneren des Explantates ablaufen, erscheinen erst Epithelzapfen und später eine Epithellamelle in der Wachstumszone. Der zeitliche Vergleich der Serienschnitte und der Bilder der Wachstumszone zeigt, dass sich die Hassallschen Körperchen im Mutterstück in dem Masse verkleinern, in dem sich die auswachsenden Epithellamellen vergrössern. Am vierten Tag der Züchtung ist in der Wachstumszone die Epithellamelle sehr ausgesprochen, im Mutterstück sind aber nur noch sehr kleine Hassallsche Körperchen sichtbar.

Diese Ergebnisse können unseres Erachtens so ausgelegt werden, dass die Hyperfunktion des Epithelretikulums die nach Röntgenbestrahlung zustande kommt, und deren Ausdruck das Erscheinen von Hassallschen Körperchen ist, unter den Bedingungen der Gewebekultur wieder aufhört. Das zeigt sich in der bereits am ersten Tag bemerkbaren Proliferation der Epithelemente in den Randpartien des Explantates und im gleichzeitigen Zerfall der Hassallschen Körperchen und des Zellringes, der die Körperchen umgibt.

Unsere Untersuchungen zeigen also, dass die nach Röntgenbestrahlung entstehenden Hassallschen Körperchen aller Wahrscheinlichkeit nach einen nach Bestrahlung eintretenden funktionellen Zustand des Epithelretikulums anzeigen.

Es muss aber bemerkt werden, dass diese Hassallschen Körperchen nicht identisch sind mit den Hassallschen Körperchen der alten Tiere, welche sich in der Gewebekultur ganz anders verhalten.

### Zusammenfassung

Der Thymus 7 Tage alter Meerschweinchen wurde mit Röntgenstrahlendosen von 100—1000 r irradiert. In den bestrahlten Thymusdrüsen war die Zunahme der Zahl und Größe der Hassallschen Körperchen charakteristisch. Gewebekulturen aus dem Thymusgewebe der bestrahlten Tiere zeigten im Vergleich zu den Kontrollen eine charakteristische und rapide Epithelproliferation.

Es wird ein Zusammenhang zwischen den schnell verschwindenden Hassallschen Körperchen des Mutterstückes und der Epithelproliferation in der Wachstumszone angenommen. Die nach Bestrahlung erscheinenden Hassallschen Körperchen werden als eine Reaktion auf die Strahleneinwirkung und als Ausdruck eines bestimmten funktionellen Zustandes des Epithelretikulums aufgefasst.

### LITERATUR

1. FLUHR, R. (1956): Die Wirkung kleiner Röntgen-Dosen auf Milz und Thymus der Ratte nach einmaliger und wiederholter Applikation. *Strahlentherapie*. 100, 225—240. —
2. HAMMAR, J. A. (1931): Die normale morphologische Thymusforschung im letzten Vierteljahrhundert. Barth, Leipzig. —
3. KOVÁCH, A. G. B. red. *Kísérletes orvostudomány vizsgálat módszerei*. Akadémiai Kiadó, Budapest 1959. Bd. V. —
4. RAPPAY, GY.—PÓBALAKY, Z. (1959): Beiträge zur Frage der Spezifität der Tetrazoniumreaktion. *Acta histochem.* 7, 212—216. —
5. SELYE, J. (1950): *The Physiology and Pathology of Exposure to Stress*. Acta Inc. Montreal. —
6. SMITH, C. (1956): Studies on Thymus of the Mammal IX. *Histochemical Study of Irradiated Mouse Thymus*. *Proc. soc. exp. biol. N. Y.* 93, 310—314. —
7. SMITH, C.—WHARTON, T. J.—GERHARDT, A. M. (1958): Studies on the Thymus of the Mammal XI. *Histochemical Studies of Thymus, Spleen and Lymphnode in Normal and Irradiated Mice*. *Anat. Rec.* 131, 369—387. —
8. TESSERAUX, H. (1953): *Physiologie des Thymus*. *Zwanglose Abhandlungen aus dem Inneren Sekretion*. Bd. 9. Barth, Leipzig. —
9. TÖRÖ, I.—AROS, B. (1958): Die Gewebsreaktion des Thymus auf verschiedene Einwirkungen. *Acta morph. hung.* 8, 151—171. —
10. TSCHASSOWNIKOW, N. (1929): Über die in vitro Züchtung von röntgenisiertem Thymus. *Arch. exp. Zellforsch.* 8, 189—236. —
11. WORMS, G., KLOTZ, H. P. (1935): *Le Thymus*. Masson, Paris.

### ПОВЕДЕНИЕ ГАССАЛЕВСКИХ ТЕЛЕЦ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ РЕНТГЕНОВЫМИ ЛУЧАМИ

И. ПÁЛЫИ и Э. КАПА

Зобная железа 7 дневной морской свинки была местно облучена рентгеновскими лучами количеством 100—1000 г. В облученных зобных железах наблюдалось характерное и значительное размножение и увеличение гассалевских телец. Тканевые культуры облученных зобных желез показали — в противоположность контролям — характерное и быстрое разрастание эпителия. Между постепенно исчезающими из высаженного куска Гассалевскими тельцами и появляющемся в зоне роста разрастанием эпителия авторы полагают взаимосвязь. Следовательно, появление Гассалевских телец после облучения авторы рассматривают как реакцию на действие облучения, и эти тельца выражают функциональное состояние эпителия зобной железы.

### BEHAVIOUR OF HASSALL'S CORPUSCLES AFTER X-RAY IRRADIATION

I. PÁLYI and E. KÁPA

X-ray irradiation of the thymus of 7-day old guinea pigs with 100 to 1000 r was followed by a considerable increase in the size and number of Hassall's corpuscles. In contrast with the controls, the tissue cultures of irradiated thymus revealed characteristic and rapid epithelial proliferation. A correlation was assumed to exist between the gradual disappearance of Hassall's corpuscles from the explanted mother piece and the appearance of epithelial growth in the growth zone. The appearance of Hassall's corpuscles after irradiation is therefore regarded as a reaction to the effect of X-rays, expressing the functional state of thymic epithelium.

Dr. Irén PÁLYI }  
 Eszter KÁPA } Budapest IX. Tűzoltó u. 58. Ungarn