

99  
N° 7 B II

JUILLET

1929

BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE  
DES SCIENCES ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES  
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (II)

CRACOVIE  
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ  
1929



rcin.org.pl

Publié, par l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, sous la direction de  
M. S. Maziarski. (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15)

Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności.  
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

*O wpływie tkanek prawidłowych, zwłaszcza tkanek gruczołów dokrewnych, na wzrost komórek mięsaka Jensen'a w hodowli poza ustrojem. — Über den Einfluß von Normalgeweben, insbesondere von Geweben endokriner Drüsen auf das Wachstum von Jensen-Sarkomzellen in vitro.*

Mémoire

de M. Z. ZAKRZEWSKI,

présenté, dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. Ch. Klecki m. c.

Durch die Gewebezüchtung in vitro ist es möglich geworden, die gegenseitige, direkte Beeinflussung von isolierten Geweben kennen zu lernen. Es wurden Versuche angestellt, die die gegenseitige Beeinflussung von Normalgeweben [Ebeling (1), Carra (2)] und von Normal- und Tumorgeweben zeigen sollten. Diese Versuche sind nicht zahlreich und die Ergebnisse dieser Forschungen widersprechen sogar zum Teil einander.

Nach Angaben von Carra (3) soll Schild- und Geschlechtsdrüsengewebe in affrontierten Kulturen das Wachstum eines Mäuseadeno-Karzinoms stimulieren, Milzgewebe dagegen hemmen. A. Fischer (4) fand, daß Schilddrüsen-, Thymus- und Milzgewebe sich zur Züchtung des Rous'schen Hühnersarkoms sehr gut eignet. Roffo (2) gibt an, zugesetztes Normalgewebe hätte keinerlei Einfluß auf das Wachstum von Tumorkulturen.

Da zur Zeit, als Carra und Roffo ihre Experimente ausführten, eine Dauerzüchtung von Tumorgeweben noch nicht geglückt war und da nur an Dauerkulturen, was besonders betont werden möge, eine exakte Wachstumsmessung möglich ist, so ist es fraglich, ob ihre Kulturen wirklich wuchsen, oder auch nur eine Zeit lang überlebten. Außerdem widersprechen die Befunde beider Autoren einander.

Das von A. Fischer (6) gezüchtete Rous-Sarkom wächst zwar entschieden in vitro, infiltriert aber und zerstört zugesetztes

Normalgewebe. Man kann somit in diesem Falle nicht von einer Symbiose, einer gegenseitigen Beeinflussung wachsender Gewebe sprechen; außerdem ist es unmöglich, eine exakte Wachstumsmessung dieser Tumorkulturen vorzunehmen, da die Tumorzellen in dem zugesetzten Normalgewebe wuchern und somit größtenteils unsichtbar sind.

Da nunmehr Tumorstämme bekannt sind, von denen man eine Reinkultur leicht züchten kann, so schien es angezeigt, die Experimente exakt nachzuprüfen.

Daher wurden auch Versuche angestellt, in denen Normalgewebe, insbesondere Gewebe endokriner Drüsen, Kulturen des Jensen'schen Rattensarkoms affrontiert wurden, und zwar Fragmente von Schilddrüse, Hoden, Eierstock, Speicheldrüse und Embryonalgewebe von Ratten. Nach Carrel und Ebeling (7), wächst dieses Sarkom gut *in vitro* und verflüssigt, im Gegensatz zu vielen anderen Tumoren, ein zum Teil oder absolut heterologes Medium fast gar nicht. Da es leicht ist, die Zellen dieses Sarkoms in Dauerkulturen zu züchten und da diese, wie ich mich davon überzeugen konnte, zugesetztes Normalgewebe *in vitro* nicht zerstören, so eignen sie sich sehr gut zu diesen Untersuchungen.

#### Technik.

Als Kulturmedium diente Ratten- und Hühnerplasma sowie Rattenserum. Um das Gerinnen des zur Plasmagewinnung genommenen Rattenblutes zu verhüten, wurde Heparin zugesetzt. Hühnerblut wurde zwecks Plasmagewinnung in eisgekühlte und paraffinierte Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Das Normalgewebe stammte von 2—3 Wochen alten Ratten. Die Gewebe wurden den Tieren steril entnommen, sogleich in Fragmente von 0·5 bis 1 mm Seitenlänge zerschnitten und in Ringerlösung gewaschen.

Zu den Experimenten wurden nur schon mindestens durch fünf Passagen gezüchtete Tumorkulturen genommen. Es wurde nämlich gefunden, daß erst nach dieser Zeit, also nach 10—15 Tagen, die Auswanderung der Zellen aus dem Originalfragment aufhört. Erst dann kann jede Größenzunahme der Kulturen als ein wahres Wachstum angesehen werden. In einer 10 Tage alten Kultur wachsen die Zellen — fast ausschließlich spindelförmige Sarkomfibroblasten — in einer Schicht.

Eine gut wachsende Sarkomfibroblasten-Reinkultur wurde mit einem scharfen Starrmesser aus dem alten Medium ausgeschnitten und in zwei möglichst gleiche Stücke geteilt. Der einen Hälfte wurde das Normalgewebe, dessen Einfluß studiert werden sollte, affrontiert, die andere diente als Kontrolle. Nach Carrel (8) und Ebeling (9) ist das Wachstum zweier Hälften einer Kultur von Normalgewebe und nach A. Fischer (10) zweier Hälften einer Kultur des Ehrlich'schen Mäuseadenokarzinoms in gleichen Bedingungen fast gleich. Die Größenunterschiede im Wachstum beider Hälften sind nicht größer als 5—10%.

Es wurde von mir gefunden, daß die Unterschiede in der Wachstumsintensität zweier Hälften einer Kultur des Jensen'schen Rattensarkoms, in gleichen Bedingungen gezüchtet, 5% nicht übersteigen.

Es wurden sowohl Deckglas- als auch Flaschenkulturen angelegt. Das Medium der Deckglaskulturen war zusammengesetzt aus einem Tropfen einer Mischung von Hühner- und Rattenplasma zu gleichen Teilen und einem Tropfen Rattenserum. Bevor das Medium koagulierte, wurden die Gewebefragmente eingesetzt. Normalgewebe wurde dem Tumorgewebe in einem Abstand von ungefähr 1 mm affrontiert. Das Fibrinmaschenwerk des Gerinnsels diente den auswandernden Zellen als Stütze, das Serum als Nährmedium. Die Flaschenkulturen wurden in D.-Flaschen von 3 cm Durchmesser und 10 cm<sup>3</sup> Inhalt angelegt. Das Medium setzte sich aus zwei Teilen zusammen, einem festen, dem Gerinnsel, und einem flüssigen, dem Nährmedium. Der feste Teil war zusammengesetzt aus: 0.25 cm<sup>3</sup> Hühnerplasma, 0.5 cm<sup>3</sup> Ringerlösung und 0.25 cm<sup>3</sup> Rattenserum. Vor der Gerinnung wurden die Gewebe eingesetzt. Nach völliger Gerinnung wurde das Coagulum mit 6 cm<sup>3</sup> Ringerlösung 30 Minuten lang gewaschen, was nach Carrel (11) genügen soll, um aus dem Gerinnsel das heterologe Serum praktisch vollständig zu entfernen. Schließlich wurde der flüssige Teil eingefüllt. Der flüssige Teil bestand aus 0.75 cm<sup>3</sup> einer 30%-igen Lösung von Rattenserum in Ringerlösung. Der flüssige Teil wurde alle zwei Tage gewechselt, dabei wurde immer der feste Teil vor dem Einfüllen des neuen Mediums mit Ringerlösung gewaschen.

Im hängenden Tropfen wurden die Gewebe 48 bis 72 Stunden lang, in Carrel-Flaschen bis zu 12 Tagen gezüchtet.

Die Wachstumsmessung wurde nach Ebeling (9) in folgender Weise ausgeführt: Die Umrise der Kulturen wurden gleich nach dem Anlegen der Kulturen und nach einer bestimmten Zeit mit Hilfe des Zeiß'schen Zeichenapparates gezeichnet und hierauf die Flächen beider Umrise mit einem Planimeter berechnet. Die Fläche der Kultur nach einer bestimmten Zeit minus Anfangsgröße ergibt das absolute Wachstum; wenn wir dieses durch die Anfangsgröße dividieren, erhalten wir die relative Wachstumszunahme.

## I.

**Schilddrüse.**

Es wurden 108 Kulturen mit affrontiertem Schilddrüsengewebe angelegt. Der Einfluß des Schilddrüsengewebes auf das

TABELLE I.

Wachstum von Jensen-Sarkomzellenkulturen mit affrontiertem Schilddrüsengewebe junger Ratten.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme		Quotient: Experiment Kontrolle
				Experiment	Kontrolle	
1.	3162	6	72 h.	4.4	1.4	3.10
2.	3163	"	"	8.7	2.2	3.20
3.	3164	"	"	6.5	2.2	2.90
4.	3165	"	"	4.0	3.2	1.20
5.	3166	"	"	3.7	3.7	1.00
6.	3167	"	"	5.5	2.0	2.70
7.	3168	"	"	3.6	2.7	1.30
8.	3169	"	"	4.0	4.0	1.00
9.	3170	"	"	6.6	2.3	2.90
10.	3171	"	"	8.0	2.2	3.60
11.	3219	7	10 Tage	20.0	10.0	2.00
12.	3220	"	"	18.5	10.3	1.79
13.	3221	"	"	17.0	10.0	1.70
14.	3222	"	"	16.6	10.6	1.56
15.	3223	"	"	23.0	12.6	1.84
Mittelwert des Quotienten $\frac{E}{K}$						2.12

Wachstum der Sarkomkulturen ist deutlich. Die Experimentkulturen wuchsen besser als die Kontrollen ohne Schilddrüsengewebe. Das Wachstum begann immer zuerst an der affrontierten Seite und hier lagen auch später die Sarkomzellen am dichtesten. Dasselbe wurde schon früher von Carra (3) beobachtet (Tabelle I). Das Drüsengewebe wuchs ebenfalls. Es wuchsen aus ihm sowohl Mesenchymzellen, als auch Epithelzellen heraus. Wie schon erwähnt, wurden zu den Experimenten nur Gewebe von ganz jungen Tieren genommen. Gewebe von erwachsenen Tieren eignen sich nicht gut zu diesen Experimenten, da sie in Kulturen fast gar nicht wachsen, schnell absterben und daran anschließend das Medium stark verflüssigen. Dadurch wird ein regelmäßiges Wachstum der Tumorkulturen unmöglich gemacht, so daß die Experimentkulturen manchmal sogar schlechter wuchsen, als die Kontrollen ohne Drü-

TABELLE II.

Wachstum von Jensen-Sarkomzellenkulturen mit affrontiertem Schilddrüsengewebe erwachsener Ratten.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme		Quotient: Experiment Kontrolle
				Experiment	Kontrolle	
1.	3362	8	72 h	3.1	2.9	1.07
2.	3363	„	„	5.0	5.2	0.96
3.	3364	„	„	3.3	3.6	0.92
4.	3365	„	„	4.9	4.4	1.11
5.	3366	„	„	3.7	4.5	0.82
6.	3367	„	„	4.0	6.0	0.66
7.	3368	„	„	3.0	5.0	0.60
8.	3369	„	„	1.6	2.3	0.69
9.	3370	„	„	5.3	4.8	1.10
10.	3371	„	„	4.3	3.7	1.16
Mittelwerte:				3.82	4.24	0.90

sengewebe. Unter 108 Sarkomkulturen, denen junges Schilddrüsengewebe affrontiert wurde, wuchsen nur 4 ebenso stark wie

die Kontrollen. Der Mittelwert des Quotienten  $\frac{E}{K}$  (Experiment: Kontrolle) von 108 Kulturen betrug 2·27.

## II.

**Geschlechtsdrüsen.**

Es wurden 66 Sarkomkulturen, denen Geschlechtsdrüsengewebe affrontiert wurden, angelegt.

Zu Sarkomkulturen zugesetztes Eierstock- oder Hodengewebe stimuliert, so wie Schilddrüsengewebe, deutlich ihr Wachstum. Das Auswachsen der Sarkomzellen begann ebenfalls zuerst an der dem Normalgewebe affrontierten Seite der Kulturen. Aus dem Normalgewebe wuchsen helle, stark verzweigte Zellen in das Medium. Es ist jedoch schwer zu beurteilen, ob es sich um Mesenchym- oder Epithelzellen handelte (Tabelle III, IV). Unter 66 Sarkomkulturen

TABELLE III.

Wachstum von Jensen-Sarkomzellenkulturen mit affrontiertem Eierstockgewebe.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme		Quotient: Experiment Kontrolle
				Experiment	Kontrolle	
1.	3372	8	72 h	5·4	3·8	1·39
2.	3373	„	„	7·9	4·7	1·67
3.	3374	„	„	4·7	2·6	1·80
4.	3375	„	„	7·3	4·7	1·55
5.	3376	„	„	6·3	4·2	1·50
6.	3377	„	„	7·5	5·2	1·44
7.	3378	„	„	6·4	4·1	1·56
8.	3379	„	„	5·2	2·8	1·85
9.	3380	„	„	4·9	3·4	1·44
10.	3381	„	7 Tage	19·5	12·0	1·62
11.	3382	„	„	19·0	13·0	1·46
12.	3383	„	„	20·7	12·5	1·65
13.	3384	„	„	19·8	13·2	1·50
Mittelwert des Quotienten $\frac{E}{K}$						1·57



TABELLE IV.

Wachstum von Jensen-Sarkomfibroblastenkulturen mit affrontiertem Hodengewebe.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme		Quotient: Experiment Kontrolle
				Experiment	Kontrolle	
1.	3042	6	12 Tage	27·0	15·0	1·80
2.	3043	„	„	39·0	18·0	2·16
3.	3044	„	„	41·0	24·0	1·70
4.	3045	„	„	33·0	21·0	1·57
5.	3046	„	„	30·0	22·0	1·37
6.	3047	„	„	36·2	25·9	1·39
7.	3048	„	„	36·0	18·0	2·00
8.	3049	„	„	36·0	21·0	1·71
9.	3050	„	„	39·0	18·0	2·16
10.	3051	„	„	24·3	16·6	1·46
Mittelwerte:				34·1	19·9	1·73

denen junge Geschlechtsdrüsenngewebe affrontiert wurden, wuchs nur eine schlechter und eine ebenso gut wie ihre Kontrolle. Der Mittelwert des Quotienten  $\frac{E}{K}$  von 66 Kulturen betrug 1·91. Bei Zusatz von Hodengewebe 1·93, von Eierstockgewebe 1·89.

III.

**Speicheldrüse und Embryonalgewebe.**

Es wurden 16 Sarkomkulturen mit affrontiertem Speicheldrüsengewebe und 24 mit affrontiertem Embryonalgewebe angelegt. Nicht nur Gewebe von endokrinen Drüsen stimulieren das Wachstum der Sarkomkulturen. Auch ein Zusatz von Speicheldrüsengewebe junger Tiere und von Embryonalgewebe bewirkt ein besseres Wachstum der Kulturen, als in den Kontrollen (Tabelle V, VI). Das Normalgewebe wuchs die ganze Zeit neben dem Sarkomgewebe. Alle Experimentkulturen wuchsen mit Ausnahme von zweien bes-

TABELLE V.

Wachstum von Jensen-Sarkomzellenkulturen mit affrontiertem Speicheldrüsengewebe.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme		Quotient: Experiment Kontrolle
				Experiment	Kontrolle	
1.	3478	13	9 Tage	33·0	20·0	1·65
2.	3479	„	„	20·6	15·0	1·37
3.	3480	„	„	17·0	14·5	1·17
4.	3481	„	„	28·0	20·0	1·40
Mittelwerte:				24·5	17·4	1·39

TABELLE VI.

Wachstum von Jensen-Sarkomzellenkulturen mit affrontiertem Rattenembryonalgewebe.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme		Quotient. Experiment Kontrolle
				Experiment	Kontrolle	
1.	3253	6	60 h	3·6	2·9	1·24
2.	3254	6	„	2·9	3·1	0·93
3.	3255	6	„	3·4	3·1	1·09
4.	3256	6	„	3·5	3·7	0·94
5.	3257	6	„	3·5	3·0	1·16
Mittelwerte:				3·38	3·24	1·07

ser als ihre Kontrollen. Der Mittelwert des Quotienten  $\frac{E}{K}$  betrug bei Speicheldrüse 1·59, bei Embryonalgewebe 1·40.

Um die wachstumstimulierende Wirkung von verschiedenen Geweben zahlenmäßig zu bestimmen, wurde eine gut wachsende Sarkomkultur in vier gleiche Stücke geteilt. Unter gleichen Be-

dingungen wachsen vier Teile einer Kultur so analog, daß die Unterschiede der Wachstumsintensität eines jeden 10% nicht übersteigen. Eine dieser Teilkulturen wurde zusammen mit Schilddrüsen-, die zweite mit Eierstock-, die dritte mit Speicheldrüsengewebe gezüchtet; der vierte Teil diente dagegen als Kontrolle für die anderen. Die beigegebene Tabelle zeigt das Ergebnis dieser Experimente (Tabelle VII).

TABELLE VII.

Wachstum von vier Teilen einer Jensen-Sarkomzellenkultur, denen Schilddrüsen-, Eierstock-, und Speicheldrüsengewebe affrontiert wurden.

Experiment No	Kultur No	Passage No	Experimentdauer	Relative Wachstumszunahme			
				Sarkom + Schilddrüse	Sarkom + Eierstock	Sarkom + Speicheldrüs	Sarkom-Kontrolle
1.	3466	12	48 h	1·8	1·5	1·5	1·0
2.	3467	„	„	2·3	3·0	3·8	2·0
3.	3468	„	„	3·1	2·7	2·1	2·0
4.	3469	„	„	3·0	2·8	2·2	1·7
Mittelwerte:				2·55	2·50	2·40	1·67

**Besprechung der Ergebnisse.**

Man ersieht aus den Tabellen, daß der Zusatz von Fragmenten eines und desselben Gewebes nicht immer das Wachstum der Sarkomkulturen gleich stark stimuliert. Das liegt daran, daß es einerseits technisch unmöglich ist, immer gleich große Stücke von Normalgewebe den Sarkomkulturen zu affrontieren, und somit wechselt das Quantum des wachstumstimulierenden Reizes von Fall zu Fall; außerdem aber wächst jede Kultur sogar unter gleichen Bedingungen individuell verschieden. Daher ist auch nach einer bestimmten Zeit das absolute Wachstum einer jeden Kultur verschieden, mit Ausnahme von zwei Hälften einer Kultur.

Die das Wachstum stimulierende Wirkung des Normalgewebes kann verschiedene Gründe haben. Das intensive Wachstum der

Sarkomkulturen kann angeregt werden sowohl durch die Inkrete der Drüsengewebe, als auch durch das Wirksamwerden von zellulären Faktoren, die A. Fischer (12) »Desmone« nennt, schließlich durch die von Guillery (13) beschriebenen Strahlungen, deren Quelle jede wachsende Kultur sein soll und die das Wachstum anderer Kulturen stimulieren können. Da die Wachstumsareale der Normal- und der Sarkomkulturen schon nach 24 Stunden zusammengewachsen waren, so waren alle Bedingungen gegeben, die ein Zustandekommen aller drei Faktoren möglich machen. Es ist jedoch unmöglich zu entscheiden, welchem von diesen Faktoren und in welchem Maße die wachstumstimulierende Wirkung zugeschrieben werden sollte. Soviel ist sicher, daß einerseits, abgesehen von den beiden bis jetzt noch hypothetischen Faktoren, solche Faktoren wirksam sind, die im Zusammenhang mit der spezifischen Funktion der Gewebe stehen, von denen die affrontierten Gewebe stammten, im gegebenen Falle die Hormone; andererseits aber daß außer den Hormonen noch andere, entweder zelluläre oder humorale Faktoren mit im Spiele sind, die wie beim Zusatz von Embryonalgewebe das Wachstum der Sarkomkulturen begünstigen.

#### Zusammenfassung.

1) Das Wachstum von Kulturen des Jensenschen Rattensarkoms, das exakt gemessen werden kann, wird stimuliert durch die Gegenwart von Schild-, Geschlechts- und Speicheldrüsengewebe junger Ratten, sowie von Ratten-Embryonalgewebe im Kulturmedium.

2) Diese Befunde stimmen mit denen von Carra und A. Fischer überein, stehen dagegen im Widerspruch mit denen von Roffo.

3) Nicht alle untersuchten Gewebe stimulieren das Wachstum der Sarkomkulturen gleich stark.

4) Es ist möglich, zahlenmäßig die stimulierende Wirkung von verschiedenen Geweben zu bestimmen.

5) Am stärksten stimuliert das Wachstum der Sarkomkulturen Schilddrüsengewebe, etwas schwächer Geschlechtsdrüsengewebe, dann Speicheldrüsengewebe, am schwächsten Rattenembryonalgewebe.

Herrn Prof. Dr. K. Klecki, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke, erlaube ich mir an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Jagiellonischen Universität in Kraków. Direktor: Prof. Dr. K. Klecki. Ausgeführt mit Unterstützung der Polnischen Akademie der Wissenschaften, aus der Stiftung von weil. Paul Tyszkowski.

---

### Literaturverzeichnis.

1. Ebeling A. H., C. R. Soc. Biol. 1924, Bd. 90, S. 1449. — 2. Carra I., Boll. d. soc. med. chirurg. di Modena 1924. Zitiert nach Bisceglie: »Die Gewebezüchtung in vitro«. Julius Springer. Berlin 1928. — 3. Carra I. Les néoplasmes. 1924, H. 3. — 4. Fischer A., Arch. f. exp. Zellforsch. 1925, Bd. 1, S. 355. — 5. Roffo A. H., Bol. Med. exper. 1926, Bd. 2, S. 303. — Fischer A., C. R. Soc. Biol. 1924, Bd. 90, S. 1181. — 7. Carrel A. and Ebeling A. H., Journ. Exp. Med. 1928, Bd. 48, S. 285. — 8. Carrel A. Journ. Exp. Med. 1923, Bd. 38, S. 407. — 9. Ebeling A. H., Journ. Exp. Med. 1921, Bd. 34, S. 231. — 10. Fischer A., Ztschrft. f. Krebsforsch. 1928, Bd. 26, S. 235. — 11. Carrel A., C. R. Soc. Biol. 1927, Vol. 96, S. 60. — 12. Fischer A., Acta pathol. et microbiol. Scand. 1925, Bd. 2, S. 7. Zitiert nach Fischer, A. Ztschrft. f. Krebsforsch. 1928, Bd. 26, S. 234. — 13. Quillery H., Verhandlung der Deutschen Pathol. Gesellsch. Wiesbaden 1928.



*Rozwój zatok krwionośnych we włosach czuciowych. —  
Die Entwicklung der Blutsinus in den Tasthaaren.*

Mémoire

de M<sup>lle</sup> **H. BULSIEWICZ**,

présenté dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. H. Hoyer m. t.

(Planches 14—15).

Die Sinushaare (*Pili tactus*) sind im Verhältnis zu anderen Haaren nicht nur durch ihre Größe und Länge ausgezeichnet, sondern vor allem durch die Empfindlichkeit auf äußere Eindrücke, wodurch sie den Charakter feiner Fühlorgane annehmen. Leydig hat diese Haare als Organe »sui generis« anerkannt. Diese Haare befinden sich an der Oberlippe (*Pili labiales superiores*), an der Unterlippe (*P. labiales inferiores*), an dem oberen Augenlid (*P. supraorbitales*), an dem unteren Augenlid (*P. infraorbitales*), an der Wange (*P. zygomatici*) und an dem Kinn (*P. submentales*) (Fig. 1, Taf. 14). Obige Nomenklatur führte zum erstenmal Maurer ein. Alle diese Gruppen sind bei verschiedenen Arten nicht immer an den angeführten Stellen vorhanden, z. B. bei den Ursiden sind sämtliche Tasthaare reduziert. Bei Carnivoren, Omnivoren und Nagetieren sind diese Haare zahlreicher und besser entwickelt als bei Pflanzenfressern. Die stärkste Entwicklung erreichen sie nach den bisherigen Forschungen bei Robben, was vielleicht mit der Lebensweise der Tiere im Zusammenhang steht. Bei Nachttieren sind die Sinushaare im Verhältnis zu Tagtieren besser entwickelt. Nach der Ansicht von Martin hängt die Entwicklung dieser Haare von der Gestalt des Kopfes der Tiere ab. Es haben nämlich die langköpfigen Pflanzenfresser eine dürftigere Behaarung mit Sinushaaren als die kurzköpfige Raubtiere.

Die Sinushaare besitzen sämtliche wesentliche Bestandteile gewöhnlicher Haare, nämlich im herausragenden Teile das Oberhäutchen, die Rinde und das Mark und im Wurzelteile noch den Haarbalg, die äußere und die innere Wurzelscheide und Papille. Außer diesen gemeinsamen Bestandteilen besitzen die Sinushaare im Wurzelabschnitte noch das für sie charakteristische *corpus cavernosum* und den Ringsinus. Statt der die *Arrectores pilorum* bildenden, glatten Muskelfasern sind quergestreifte Muskelfasern vorhanden und ferner zahlreiche Nerven, wodurch sie sich von anderen Haaren besonders auszeichnen.

Über die Sinushaare besteht eine reichhaltige Literatur, doch berücksichtigen die Forscher, wie Dietel, Loewe und verschiedene andere hauptsächlich die histologischen Verhältnisse. Bonnet, Tretjakoff und Kadanoff und andere richteten ihre Aufmerksamkeit auf das Nervensystem der Sinushaare. Am wenigsten beschäftigte man sich mit den Blutgefäßen, den Sinus und deren Entwicklung.

Nach Dietl werden die Sinushaare durch die Arterien, welche sich an dem Haarbalg in verschiedener Höhe ausbreiten, mit Blut versorgt. Die Gefäße sollen ohne Verzweigung durch das Netz des Corpus cavernosum in dem inneren Teil des Haarbalges verlaufen. In anderen Fällen lösen sich diese Gefäße, nachdem sie den Haarbalg durchbohrt haben, in ein Kapillarnetz auf und verlaufen samt dem Netz des Corpus cavernosum in dem inneren Teil des Haarbalges. Größere Arterien dringen in den unteren Teil des Haarbalges ein, wo sie die Nervenbündel begleiten, mit ihnen weiter verlaufen und sich in der Nähe des Ringsinus verzweigen. Außerdem dringen in die Haarpapille eigene Gefäße aus dem subkutanen Netze ein. Die Talgdrüsen erhalten das Blut aus benachbarten Gefäßen.

Am meisten erschöpfend beschäftigte sich mit der Gefäßversorgung der Haare Martin, so daß die meisten Autoren sich mit der Anführung seiner Darstellungsweise begnügen. Er beschreibt, daß man in den ersten Entwicklungsstadien der Sinushaare ein verhältnismäßig starkes Blutgefäßnetz bemerken kann, welches das Haar von außen umfaßt. In späteren Stadien erfolgt eine weitere Differenzierung der Gefäße, nämlich eine Sonderung des ursprünglichen Netzes in ein äußeres und ein inneres. Nach Martin bildet das erstere die Anlage des Sinuskörpers, während das in-



neren Netz das eigentliche Kapillarnetz bildet. Eine derartige Anordnung des Blutgefäßsystems dauert bis zum Stadium des Haardurchbruchs. Dann erst bildet sich der Ringsinus aus. Die Arterie dringt in den Haarbalg in schräger Richtung auf einem Viertel der Höhe des ganzen Haarbalges ein, nachdem sie zuvor einen Ast in die Haarpapille abgegeben hat. Hierauf durchläuft sie den Haarbalg und die Bindegewebsbalken des Corpus cavernosum, gelangt an dessen innere Wand und verzweigt sich hier in zahlreiche Äste. Ein Teil dieser Äste lenken nach unten ab und anastomosieren mit den Gefäßen der Haarpapille, die anderen öffnen sich in das Corpus cavernosum. Weiter beschreibt Martin im oberen Teile des Haarbalges oberhalb des Ringsinus eine ziemlich große Anzahl kleiner Arterien, welche sich zu einem stärkeren Stamm verbinden, der samt den Venen und Kapillargefäßen der Haut ein zartes, die Mündung des Haarbalges in Ringform umfassendes Netz bilden.

Tretjakoff beschreibt bei Pinnipediern eine im unteren Teile des Haarbalges eindringende Arterie samt einem Nerv. Nach dem Eindringen teilt sie sich und verläuft durch die Sinuskörperbalken zur inneren Wand des Haarbalges, wo sie zwei Kapillarnetze, ein äußeres und ein tieferliegendes bildet. Außerdem münden Arterienzweige in die Blutgefäßräume des Corpus cavernosum. Bei Pinnipediern liegen die Verhältnisse insofern anders, als der Ringsinus sich in halber Höhe des ganzen Haarbalges befindet und nicht in seinem oberen Teile wie beim Schwein, der Katze, Ratte und anderen. Deshalb besitzen die Haare der letzteren ein zweifaches Blutgefäßsystem, d. h. am distalen und am proximalen Ende des Haarbalges. Sehr genau beschreibt Tretjakoff die Blutgefäße der Haarpapille, welche das Blut von einer kleinen, im Stiel der Haarpapille verlaufenden Arterie erhält.

Bonnet beschäftigt sich in seiner Abhandlung, die dem Nervensystem der Sinushaare gewidmet ist, auch mit dem Blutgefäßsystem. Nach seiner Meinung kann man die zuführenden Blutgefäße der Sinushaare einteilen in: 1) Gefäße, welche das Netz der äußeren Wurzelscheide bilden (*rami perforantes*), 2) Gefäße, welche das Netz der inneren Wurzelscheide bilden (*arteria follicularis perforans*), 3) in Gefäße der Haarpapille (*arteria papillaris*), 4) in Gefäße, die, aus dem subkutanen Gefäßnetze stammend, ein Netz an der Haarbalgmündung und um die Drüsen herum

bilden. Die letztgenannten sind Gefäße, welche das Blut zuführen und den Ringsinus ernähren. Auch fand Bonnet, wie schon vorher Dietl, die Verbindung zwischen dem Ringsinus und dem Corpus cavernosum, welche den Blutzufuß erleichtert.

Von den neuesten Arbeiten seien hier noch die Abhandlungen Eggermanns, Scheubers und Müllers erwähnt, die sehr ausführlich die Entwicklung und Verteilung der Sinushaare bei den Schweinen behandeln. Obige Abhandlungen berücksichtigen jedoch sehr wenig die Frage der Blutgefäß- und Sinusbildung. Nur Eggermann erwähnt bei der Beschreibung der Stadien die Veränderungen, welche die Blutgefäße in den Haaren erfahren. Da Eggermann seine Untersuchungen an nicht injizierten Präparaten anstellte, sind seine Beschreibungen unvollständig. Der Unterschied zwischen den Beschreibungen Eggermanns und den meinigen wird bei der Besprechung der einzelnen Stadien hervorgehoben werden.

Ich führte meine Untersuchungen an Schweineembryonen von 8—35 cm Scheitel-Steißlänge aus, indem ich dieselben mit wasserlöslichem Berlinerblau vom Herzen aus injizierte. Alsdann wurden die Embryonen oder nur entsprechende Teile derselben in 10%-igem Formalin, 96%-igem Alkohol oder in Bouins Flüssigkeit fixiert und in toto entweder in Glyzerin oder nach ihrer Durchführung durch Alkohole in Zedernöl aufgehellt. Gleichzeitig wurden einzelne Stücke nach dem üblichen Verfahren nach vorheriger Färbung in Zelloidin bzw. Paraffin eingebettet und in Serienschnitte zerlegt. Bei älteren Schweineembryonen und bei einer erwachsenen Ratte und Katze wurde doppelte Injektion angewendet. Zuerst wurden die Gefäße durch die Arterie mit Berlinerblau angefüllt und dann mit roter Schellackmasse nachgespritzt. Diese Masse gelangt infolge der Diffusion des Alkohols durch die Blutgefäßwände nur bis zu den kleinsten Arterien. Auf diese Art kann man sehr genau die Arterien von Kapillaren und Venen unterscheiden. Nach erfolgter Fixierung wurden die Präparate mit Boraxkarmin in toto gefärbt, in Zelloidin eingebettet und geschnitten. Zu diesen Untersuchungen eignen sich am besten die Sinushaare von der Oberlippe oder dem Oberlid, weil sie am besten injiziert werden.

### **I. Stadium. Schweineembryonen vom 8 cm Länge.**

In diesem Stadium kann man bereits makroskopisch die Haarkeime der Sinushaare in Form von Erhöhungen bemerken, wogegen die Haarkeime gewöhnlicher Haare bei starker Vergrößerung kaum bemerkbar sind. Diese Erhöhungen sind auf der Oberlippe in fünf ziemlich regelmäßigen, auf der Unterlippe in zwei unregelmäßigen Reihen, auf dem Oberlid in einer Bogenlinie in 2—3 Reihen, auf dem Unterlid in 4—5 Reihen gruppiert. Das Kinn weist eine Haargruppe auf und in der Wangenwarze treten drei Keime auf (Müller) (Fig. 1, Taf. 14). Jeder einzelne Haarkeim vertieft sich, wie auf mikroskopischen Durchschnitten ersichtlich ist, in schräger Richtung in das darunter liegende Bindegewebe in Form von zapfenförmigen Fortsätzen der Epidermis. Im Bindegewebe häufen sich die Zellen unter dem Zapfen an und stellen die Anlage der Haarpapille dar. Die Blutgefäße bilden in der Höhe der Haarkeime ein Netz von unregelmäßiger Struktur und vom Charakter eines subkutanen Kapillarnetzes (Fig. 2). In diesem Stadium kann man noch keine speziellen Blutgefäße unterscheiden, die die Ernährung der Sinushaare zum Zweck hätten. Diese Beobachtungen stimmen mit den Wahrnehmungen Eggermanns nicht vollständig überein, welcher bereits bei 4·5 cm langen Embryonen Blutgefäße im Haarbalg selbst und bei solchen von 7 cm Länge eine ausgesprochene Blutgefäßschicht, die am Haarbalg eine äußere und eine innere Lage unterscheiden läßt, beschreibt.

### **II. Stadium. Embryonen von 10·4 cm Länge.**

In diesem Stadium sieht man bereits deutlich die gewöhnlichen Haare (Borsten) als weißliche Pünktchen, die über den ganzen Kopf verstreut sind, angedeutet. Sie sind bedeutend kleiner als die Anlagen der Sinushaare, worin sich schon ein ausgesprochener Unterschied im Vergleich zu jenen bemerkbar macht. Nach Eggermann entwickeln sich sämtliche Fühlhaare in diesem Stadium gleichmäßig. Doch konnte ich an injizierten Präparaten, und zwar sowohl an den in toto aufgehellten sowie in den mikroskopischen Schnitten feststellen, daß nicht alle Sinushaare auf der gleichen Entwicklungsstufe stehen. In den stärker entwickelten Haaren kann man schon inmitten des Haarbalges die Anlage des Blutgefäßnetzes in Gestalt von sehr dünnen Gefäßen bemer-

ken. In diesem Stadium ist dies noch eine ziemlich seltene Erscheinung. Hingegen differenziert sich um die Sinushaare ziemlich deutlich ein Netz von Blutgefäßen, die aus stärkeren und schwächeren Ästen bestehen (Fig. 3, Taf 14). Dieses Netz dringt, wie ich es schon oben erwähnt habe, nur bei besser entwickelten Haaren in das Innere des Haarbalges, wogegen die auf niedriger Entwicklungsstufe stehenden Sinushaaranlagen nur ein äußeres Netz besitzen.

### III. Stadium. Embryonen von 11·4 cm Länge.

Die Anlagen der Sinushaare dieses Stadiums stehen noch immer nicht auf gleicher Entwicklungsstufe, nichtsdestoweniger sind sie bedeutend größer als die des vorhergehenden Stadiums. Der Haarkeim hat die Gestalt einer Flasche, ist von außen von einer starken Bindegewebsschicht begrenzt und die einzelnen Haarschichten heben sich ziemlich deutlich voneinander ab. Die Haarpapille hat eine kugelige Gestalt. Inmitten der Haarbalgschichten wird das innere Gefäßnetz bemerkbar (Fig. 4). Außerdem ist der ganze Haarkeim vom äußeren Blutgefäßnetze umgeben. Das Blutgefäßsystem stellt solche Verhältnisse dar, wie sie im folgenden Stadium genau beschrieben wurden.

### IV. Stadium. Embryonen von 16 cm Länge.

In diesem Stadium sind die Anlagen der Sinushaare schon so weit entwickelt, daß man die Entwicklung des Haares selbst als beendet betrachten kann. An mikroskopischen Präparaten lassen sich sämtliche wesentliche Haarteile unterscheiden: außen der Bindegewebshaarbalg, die Glashaut, die äußere, die innere Wurzelscheide und das Mark. Es bildet sich bereits der Markkanal, doch bricht das Haar noch nicht nach außen durch. Der Haarbalg ist im unteren Teile am breitesten. Die Haarpapille, die in die Haarzwiebel eindringt, sitzt auf einem dünnen Stiel und besteht aus großen, kugeligen Bindegewebszellen. Sämtliche Sinushaare dieses Stadiums befinden sich bereits auf gleicher Entwicklungsstufe im Gegensatz zu den gewöhnlichen Haaren.

Bedeutende Unterschiede weist die Blutgefäßversorgung der Haare auf. Das Blutgefäßnetz, welches sich bereits im früheren Stadium deutlich zwischen den Haarbalgschichten bemerkbar

machte, erweitert sich nun stellenweise zu Räumen des Corpus cavernosum. Diese Räume sind noch spärlich, am frühesten und noch am besten im oberen Teile des ganzen Haarbalges entwickelt, wo später der Ringsinus entsteht. Injizierte und aufgehellte Präparate dieses Stadiums geben das beste Übersichtsbild über die Blutversorgung der Haare. Aus den tieferen Hautschichten verlaufen die Arterien gegen die Oberfläche und geben dem subkutanen Netze seinen Ursprung. Dieses Netz ist der Hautoberfläche parallel ausgebreitet, gibt nach oben Abzweigungen ab und bildet an der Grenze der Papillarschicht ein zweites Netz, aus welchem die präkapillaren Arterien, die das Haar ernähren, entspringen (Ellenberger). Inmitten dieser Blutgefäße kann man eine größere Arterie, welche in der Richtung des Haares beinahe senkrecht verläuft und von zwei Venen begleitet wird, unterscheiden. Diese Arterie teilt sich unter dem Haare selbst in drei Zweige, von denen der eine zur Haarpapille verläuft, dagegen die zwei übrigen in das Blutgefäßnetz übergehen, welches die Haaranlage von außen umgibt. Das ist eben jenes Netz, welches man an den jüngsten Anlagen bemerkt. In diesem Stadium gelang es noch nicht, die Stelle zu finden, wo die Arterien in das Innere des Haarbalges eindringen, trotzdem das Corpus cavernosum, welches sich inmitten des Haarbalges befindet, schon deutlich mit Injektionsmasse ausgefüllt war.

#### V. Stadium. Embryonen von 18 und 19·5 cm Länge.

Die Anlagen der Sinushaare selbst, welche bereits auf gleicher Entwicklungsstufe stehen, weisen im Bau, der bereits im vorherigen Stadium in den Grundzügen beendet war, keine größeren Unterschiede auf. Man kann nur die Anlagen der quergestreiften Muskeln in der Umgebung des Haares, sowie die Anlagen der Talgdrüsen bemerken. Schweißdrüsen fehlen gewöhnlich an den Sinushaaren. Die Haarkeime nehmen an Größe und Stärke zu, so daß die bereits in früheren Stadien sichtbaren Einzelheiten nunmehr deutlicher zum Vorschein kommen. Vor allem kann man die Stelle, wo die Arterie in das Innere des Haarbalges eindringt, bemerken (Fig. 5, Taf. 15). Man sieht ferner, daß vom äußeren Blutgefäßnetz in den Haarbalg eine große Arterie samt einem Nerv eindringt, welche weiterhin in Gefäße, die sich nach oben und nach un-

ten ausbreiten, zerfällt. Auf diese Art entsteht das innere Netz, welches man schon bereits in früheren Stadien bemerken konnte. Dieses Netz besteht aus Kapillaren, welche sich in die Venenräume des Corpus cavernosum öffnen, aus dem die Venen das Blut ableiten. Das Corpus cavernosum dehnt sich längs des ganzen Haarbalges an der Stelle des früheren inneren Blutgefäßnetzes aus und besteht in diesem Stadium aus größeren Räumen als im vorherigen. Am weitesten sind diese Räume in der Hälfte des ganzen Haarbalges und am schmalsten in der Umgebung der Haarpapille. Vom Corpus cavernosum gelangt das Blut in das venöse Gefäßnetz, welches sich unter der Epidermis oberhalb des Haarbalges befindet (Fig. 6). Man kann es sehr gut an den doppelt mit Berlinerblau und Schellackmasse injizierten Präparaten beobachten. Außer der Hauptarterie, welche das Blut dem Corpus cavernosum zuführt, existiert noch eine zweite dünnere, die zugleich mit einem zweiten Nerv auf der entgegengesetzten Seite in das Innere des Haarbalges eindringt. Diese Arterie ist bedeutend kleiner als die erstere und man könnte glauben, daß sie hauptsächlich zur Ernährung des Nerven dient; da sie sich jedoch samt dem Nerven bis in das Corpus cavernosum verfolgen läßt, so muß man annehmen, daß beim Schwein wenigstens jedes Sinushaar von zwei Nerven und zwei Arterien versorgt wird.

#### VI. Stadium. Embryonen von 21 cm Länge.

In diesem Stadium brechen die Sinushaare bereits nach außen durch. Eggermann beschreibt den Durchbruch des Haares bei Embryonen von 20·2 cm Länge. In der Nachbarschaft des Haarbalges befinden sich bereits gut entwickelte, quergestreifte Muskelfasern. Die Talgdrüsen stellen sich in Form von großen Bläschen in der oberen Hälfte des Corpus cavernosum dar. Im unteren Teile des Haarbalges sind die Balken des Corpus cavernosum bedeutend dichter als im oberen, trotzdem kann man hier jedoch noch nicht von der Entwicklung des Ringsinus, wie dies Martin beschreibt, sprechen. Das Corpus cavernosum bildet sich aus dem ursprünglichen Kapillarnetz durch Erweiterung der Gefäße aus. Die Blutgefäße verlieren teilweise ihre Wände und es entsteht eine Art schwammigen Körpers, welcher sich mit venösem Blute füllt, und dieses wird von den Venen nach außen abge-

führt. In diesem Stadium kann man auch die Blutgefäßversorgung der Haarpapille deutlich beobachten. Eine kleine Arterie, welche sich unter dem Haare vom Hauptstamm abgezweigt hat, verläuft im Papillenstiel in den Papillenkopf, wo sie in ein Kapillarenetz übergeht, welches sich hauptsächlich in den oberflächlichen Teilen der Papille ausbreitet und in zwei Venen übergeht, die im Papillenstiel neben der Arterie verlaufen und das Blut in die Hautvenen abführen.

#### **VII. Stadium. Embryonen von 23·5 und 24 cm Länge.**

In den vorhergehenden Stadien wurde sowohl die histologische Entwicklung des Haares als auch des Corpus cavernosum beendet. Das Haar nimmt im weiteren Verlauf an Größe zu, die Balken des Corpus cavernosum werden dünner, die Räume dagegen größer und sind deutlich mit Blut erfüllt. Gut sichtbar wird hier der Bewegungsapparat der Haare, zusammengesetzt aus quergestreiften Muskeln, die von der Haarbasis ausgehen. Ob sie sich jedoch zum Gipfel des nächsten Haarbalges hinziehen, wie dies Dietl beschreibt, ist sehr zweifelhaft, schon aus dem Grunde, da zwischen zwei benachbarten Sinushaaren sich gewöhnliche Haare befinden. Durch das Zusammenziehen dieser Muskeln können die Sinushaare zur Oberfläche senkrecht gestellt werden.

#### **VIII. Stadium. Embryonen von 33 und 35 cm Länge.**

Die Schweineembryonen erreichen hier selbst diese Länge, während Eggermann als größtes Stadium Embryonen von 20·2 cm und Müller solche von 25·5 cm Länge beschreibt. Trotzdem die Embryonen unmittelbar vor der Geburt stehen, kann man an den Sinushaaren noch keinen Ringsinus im eigentlichen Sinne bemerken, wie dies verschiedene Autoren sogar für frühere Stadien beschrieben haben. Man kann lediglich an der Stelle des zukünftigen Ringsinus eine gewisse Ausbauchung des Haarbalges und im Corpus cavernosum spärliche und dünne Balken beobachten. Manchmal kann man wahrnehmen, daß die Haarpapille mancher Haare nicht in der gleichen Linie wie die Haarachse steht, sondern hakenartig gebogen ist.

Beim erwachsenen Schwein wurden die Sinushaare herauspräpariert, fixiert und auf Schnitten untersucht, da die Injektion infolge der starken Verengung der Arterien auf große Schwierigkeiten stieß.

Die erhaltenen Bilder stellten in bedeutend vergrößertem Maßstabe diejenigen des vorhergehenden Stadiums dar und ließen Ringsinus und Schwellkörper deutlich unterscheiden. Im übrigen konnte ich durch Präparation am Kopfe die Angaben Ellenbergers betreffs Versorgung der Sinushaare mit Arterien und Nerven und betreffs Anordnung derselben bestätigen.

Zum Vergleiche mit der Gefäßverteilung an den Sinushaaren des Schweines wurden noch eine erwachsene Katze und eine solche Ratte untersucht. Beide Tiere wurden vom Herzen mit Berlinerblau und Schellackmasse injiziert. Die Sinushaare der Katze unterscheiden sich in ihrer Gesamtheit durch die Form von denen des Schweines, indem ihr der Papille aufsitzendes Wurzelende schmal ist, die Mitte aber etwa in halber Höhe des Haarbalges breit ist. Der Sinus ist groß und von ellipsoider Gestalt. Unterhalb desselben befindet sich das Corpus cavernosum, dessen kleine und dicht gedrängte Räume mit Blut ausgefüllt sind. Da die Injektion sehr vollkommen war, konnten die Blutgefäße, deren Anordnung nur wenig von der des Schweines abweicht, leicht verfolgt werden. Ähnlich wie beim Schwein verläuft von unten gegen das Haar eine Arterie, welche unter dem Haar selbst sich in drei Zweige teilt, von denen einer die Haarpapille ernährt und die zwei übrigen in das äußere Blutgefäßnetz übergehen. Auf einem Viertel der Höhe des ganzen Haarbalges, von unten gemessen, dringt eine sehr starke Arterie, welche unmittelbar darnach sich in zwei Äste teilt, nur von einer Seite und nicht von zwei Seiten, wie beim Schwein, ein.

Bei der Katze kann man deutlich beobachten, daß der Ringsinus außer den Blutgefäßen von der Seite des Corpus cavernosum noch einen Arterienzweig von oben erhält, der aus den subkutanen Arterien stammt. Die Haarpapille hat eine charakteristische, längliche Gestalt und dringt tief in das Haar ein. Diese Papille ist bis zum Gipfel mit reichlichen Blutgefäßen versehen, welche ebenso wie beim Schwein angeordnet sind (Fig. 7, Taf. 15). Die Venen, die das Blut vom Corpus cavernosum und dem Ringsinus



ableiten, befinden sich wie beim Schwein an der Mündung des Haarbalges.

Bei der Ratte ist die Gestalt der Sinushaare insofern verschieden, als sie sich unterhalb des Sinus verschmälern und an der Haarpapille breiter werden. Dementsprechend ist das Corpus cavernosum unterhalb des Sinus am breitesten, dagegen in dessen Bereich sehr dünn. Im übrigen sind die Blutgefäße an den Sinushaaren bei der Ratte wie bei der Katze verteilt.

Die wichtigsten Untersuchungsergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

Die ersten Anlagen der Sinushaare beim Schweine treten schon in sehr frühzeitigen Entwicklungsstadien in Form von Erhöhungen, und zwar bedeutend früher als die der gewöhnlichen Haare auf und stehen in diesen Stadien nicht alle auf gleicher Entwicklungsstufe. In den frühesten Stadien kann man ein Blutgefäßnetz, das speziell die Sinushaare ernährt, noch nicht unterscheiden. Erst bei Embryonen von 10·4 cm Länge erfolgt die Differenzierung der Blutgefäße des Ernährungsnetzes in ein inneres und ein äußeres Netz des Haarbalges. Sobald die Entwicklung des Haares beendet ist, entsteht das Corpus cavernosum. Die Blutgefäßversorgung der Sinushaare stellt sich folgendermaßen dar. Die Arterie, die das Blut dem Haare zuführt, teilt sich unmittelbar unter dem Haar in den Papillenzweig und zwei andere, welche das äußere Netz bilden. Von diesem Netz dringen in das Innere des Haarbalges zusammen mit den Nerven zwei Arterien, von denen eine bedeutend stärker ist und hauptsächlich das Corpus cavernosum mit Blut versorgt. Der zweite Ast hat die gleiche Funktion, ist aber bedeutend schwächer. Die Venen, die das Blut vom Corpus cavernosum ableiten, entspringen am distalen Ende des Haarbalges. Die Haarpapille erhält das Blut vermittelt einer speziellen Papillenarterie. Beim erwachsenen Schwein kann man einen gut entwickelten Ringsinus beobachten. Bei der Katze und der Ratte bestehen Unterschiede in der allgemeinen Gestalt der Sinushaare. Diese erhalten Blut nur von einer Seite und nicht von zwei Seiten wie beim Schwein.

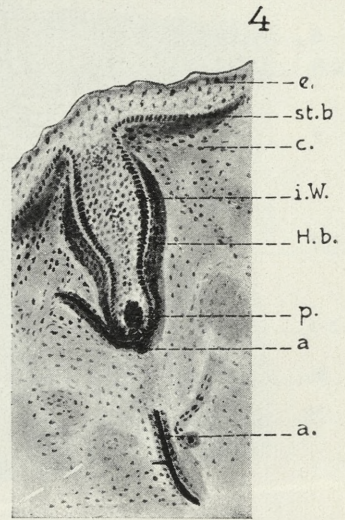
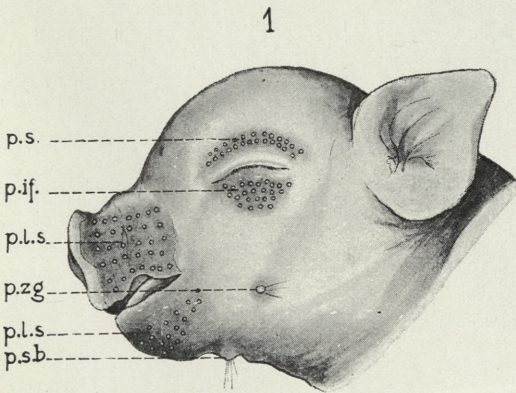
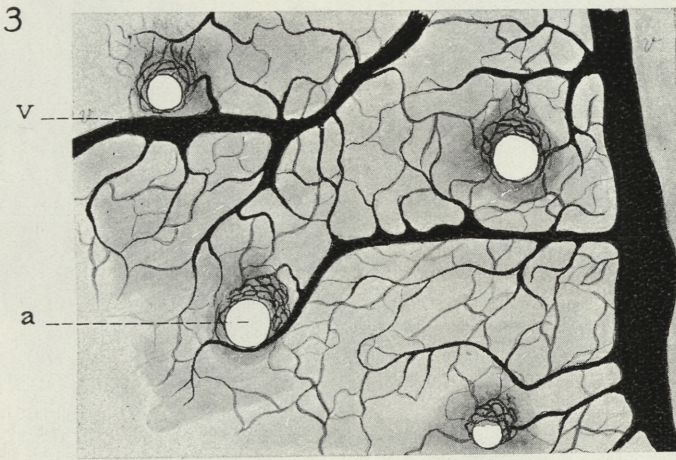
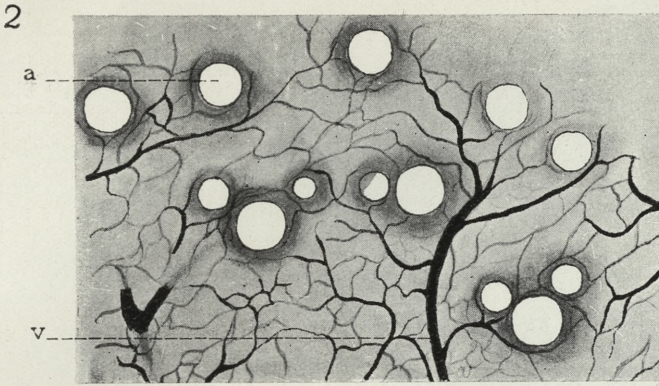
Zum Schlusse sei es mir erlaubt, dem Herrn Prof. Dr. H. Hoyer, dem ich das Thema und viele wertvolle Ratschläge während der Ausführung der vorliegenden Arbeit verdanke, meinen besten

Dank auszusprechen. Auch bin ich dem Herrn Dr. K. Wodzicki für seine Hilfe bei meiner Arbeit zu Dank verpflichtet.

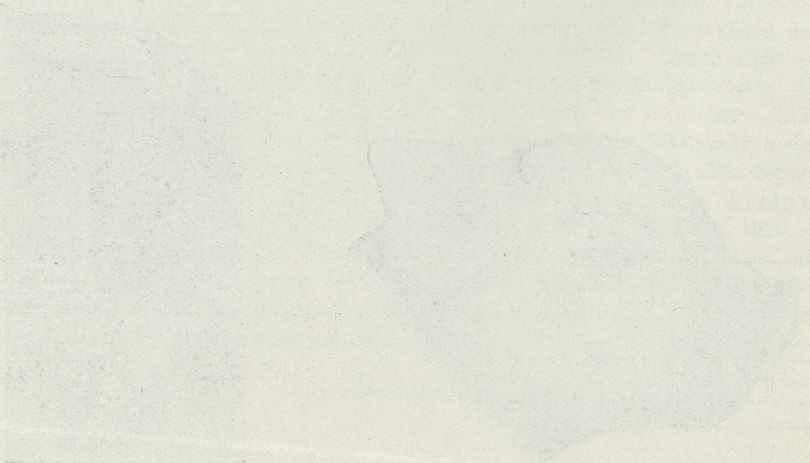
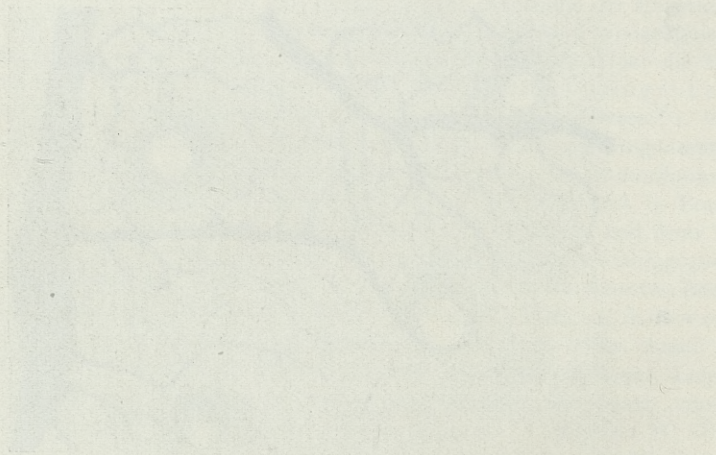
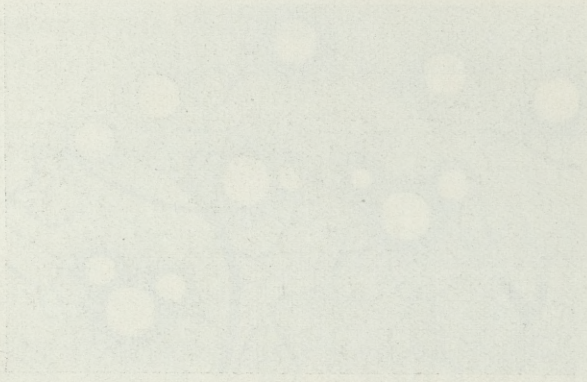
Im Institut für vergleichende Anatomie der Jagellonischen Universität in Kraków. Vorstand Prof. Dr. H. Hoyer.

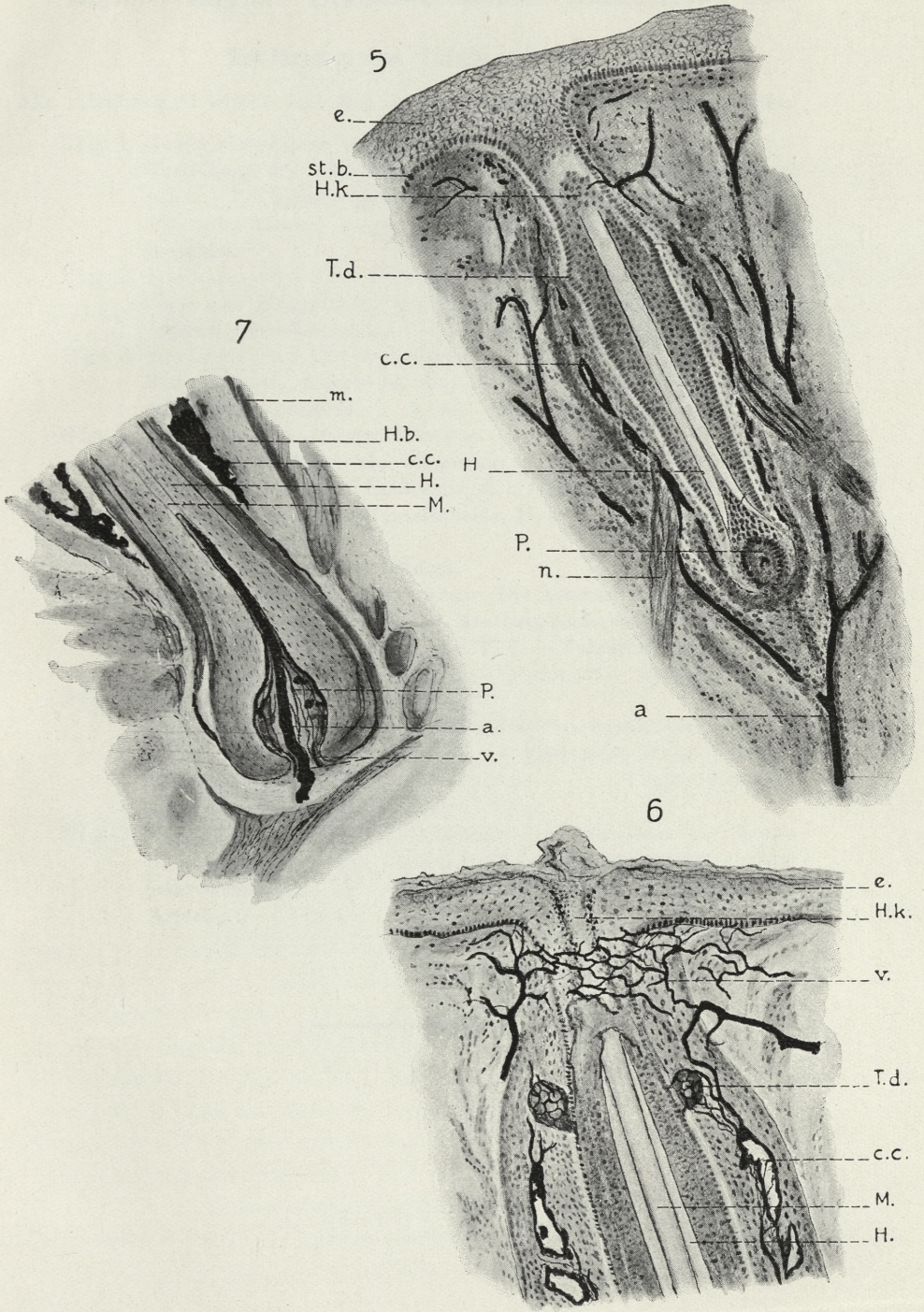
### Literatur.

- Bonnet R. — »Studien über die Innervation der Haarbälge der Haustiere«. Morph. Jahrb., Bd. IV. 1878. — Dietl M. J. — »Untersuchungen über die Tasthaare«. Sitzungsber. d. k. k. Akad. Wien, Bd. LXIV. 1872. — Ellenberger W. »Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere«. Berlin 1921. Ellenberger und Baum. »Systematische und topographische Anatomie des Hundes«. Berlin 1891. — Eggermann M. »Über die Entwicklung der Sinushaare des Schweines«. Zürich 1919. — Gegenbaur. »Untersuchungen über die Tasthaare einiger Säugetiere«. Zeitschr. f. Wissensch. Zoolog. Bd. III. 1851. — Kadanoff D. »Über die Regeneration der hypolemmalen Nervenendigungen der Sinushaare nach Nervendurchschneidung«. Verhandlungen der Anat. Gesellsch. auf d. 37. Versamml. in Frankfurt a. M. 1928. — Krause W. »Die Entwicklung der Haut und ihrer Nebenorgane«. In O. Hertwigs Handbuch der vergl. u. exp. Entwicklungsgesch. der Wierbeltiere. Bd. II. 1906. Jena. — Leydig. »Über die äusseren Bedeckungen der Säugetiere«. Archiv f. Anat. u. Physiol. 1859. — Loewe L. »Bemerkungen zur Anatomie der Tasthaare«. Archiv f. Mikr. Anat. Bd. L. 1878. — Maurer F. »Die Epidermis und ihre Abkömmlinge«. Leipzig 1895. — Martin P. »Beitrag zur Entwicklung der Sinushaare unserer Haussäugetiere«. Zeitschr. f. Tiermed. Bd. X. 1884. — Müller H. »Über das Vorkommen von Sinushaaren bei den Haussäugetieren«. Zürich 1919. — Odenius. »Beitrag zur Kenntniss des anatomischen Baues der Tasthaare«. — Patzelt V. »Haut und Haar von der Oberlippe des Blauwales«. Verhandl. d. Anat. Gesellschaft 1928. — Schreiber J. »Über die Entwicklung der Haare und Drüsen auf der Rüsselscheibe des Schweines«. Zürich 1920. — Stofs A. »Die äußere Bedeckung mit Einschluß des Epithelgewebes«. In Ellenbergers »Handbuch der vergl. mikroskop. Anat. der Haustiere«. Berlin 1906. — Tretjakoff. »Die Nervenendigungen an den Sinushaaren des Rindes«. Zeitschr. f. wiss. Zool. B. 131. 1928. — Tretjakoff. »Die Sinushaare der Flossenfüßer«. Zeitschr. f. wiss. Zool. B. 131. 1929. — Tretjakoff. »Das Gallertgewebe der Sinushaare«. Anat. Anz., Bd. XXXVII. 1910. — Unna P. »Untersuchungen über die Lymph- und Blutgefäße der Haut mit besonderer Berücksichtigung der Haarfollikel«. Archiv f. mikr. Anat., Bd. XII. 1876. — Zietzschman O. »Die früheste Entwicklung der Sinushaare des Schweines«. Anat. Anzeiger, LII. 1920.



*H. Bulsiewiczówna.*





H. Bulsiewiczówna



**Erklärung der Tafeln 14—15.**

Alle Abbildungen wurden mit dem Abbe'schen Zeichenapparate gezeichnet.

- Fig. 1. Schweineembryo von 18 cm Länge.  
Verteilung der Sinushaare. p. l. s. — Pili labiales superiores, p. l. i. — Pili labiales inferiores, p. s. — Pili supraorbitales, p. i. f. — Pili infraorbitales, p. zg. — Pili zygomatici, p. sp. — Pili submentales.
- Fig. 2. Embryo von 8 cm Länge.  
Netz von Blutgefäßen, das die ersten Anlagen der Sinushaare umgibt. Flächenansicht. a — die erste Haaranlage, v — Vene.
- Fig. 3. Embryo von 10.4 cm Länge.  
Blutgefäßnetz, welches an den Anlagen der Sinushaare dichter wird. Flächenansicht. a — die erste Haaranlage, v — Vene.
- Fig. 4. Embryo von 11.4 cm Länge.  
Längsschnitt durch ein Sinushaar. Erste Anlage des inneren Blutgefäßnetzes. e — Epidermis, st. b. — Stratum basale, c — Corium, i. W. — innere Wurzelscheide, H. b. — Haarbalg, p — Papille, a — Arterie.
- Fig. 5. Embryo von 18 cm Länge.  
Längsschnitt durch ein Sinushaar. Die Arterien dringen zugleich mit den Nervenbündeln in den Haarbalg beiderseits ein. e — Epidermis, st. b. — Stratum basale, T. d. — Talgdrüse, c. c. — Corpus cavernosum, H — Haar, n — Nerv, a — Arterie.
- Fig. 6. Embryo von 18 cm Länge.  
Längsschnitt durch ein Sinushaar. Das Venengefäßsystem am distalen Ende des Haarbalges. e — Epidermis, H. k. — Haar kanal, v — Vene, T. d. — Talgdrüse, c. c. — Corpus cavernosum, M — Mark, H — Haar.
- Fig. 7. Blutgefäßversorgung der Haarpapille im Sinushaar der Katze im Längsschnitt. m — Muskeln, H. b. — Haarbalg, c. c. — Corpus cavernosum, H — Haar, M — Mark, p — Papille, a — Arterie, v — Vene.
-

Erklärung der Tafeln 14-15

Alle Abbildungen zeigen mit dem linken Nervenstrang verbunden

Fig. 1. Entwicklung der Blutbahn in der ersten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der ersten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 2. Entwicklung der Blutbahn in der zweiten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der zweiten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 3. Entwicklung der Blutbahn in der dritten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der dritten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 4. Entwicklung der Blutbahn in der vierten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der vierten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 5. Entwicklung der Blutbahn in der fünften Larve.

Verlauf der Blutbahn in der fünften Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 6. Entwicklung der Blutbahn in der sechsten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der sechsten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 7. Entwicklung der Blutbahn in der siebten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der siebten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 8. Entwicklung der Blutbahn in der achten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der achten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 9. Entwicklung der Blutbahn in der neunten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der neunten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 10. Entwicklung der Blutbahn in der zehnten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der zehnten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 11. Entwicklung der Blutbahn in der elften Larve.

Verlauf der Blutbahn in der elften Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 12. Entwicklung der Blutbahn in der zwölften Larve.

Verlauf der Blutbahn in der zwölften Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 13. Entwicklung der Blutbahn in der dreizehnten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der dreizehnten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -

Fig. 14. Entwicklung der Blutbahn in der vierzehnten Larve.

Verlauf der Blutbahn in der vierzehnten Larve. a - Blutgefäß, b - Nervenstrang, c -



*Studja nad srebrzeniem królików III. Gen hamujący jednolitość srebrzenia. — Studies on Silvering in Rabbits. III. A factor inhibiting uniform colouring.*

Mémoire

de M. **T. MARCHLEWSKI**,

présenté, dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. E. Godlewski m. t.

(Planche 16).

It is a well established fact, that various features exhibited by plants and animals, when subject to continuous selection, are apt to show a great range of variation in intensity and general degree of expression.

This fact is the direct consequence of selectional processes induced by the craft of the breeder, and a thing obviously to be expected under conditions of constructive husbandry.

Still, on the other hand, it must be admitted that different features behave differently under the discussed conditions, in so far, that the action of specific genetic modifiers, which are the cause of the mentioned hereditary variations, in some cases may be very limited in degree. Such cases will always strike the observer as cases relatively simple in inheritance whilst others, with a wider range of perceptible variation furnish material for the cases of genetic complexities, and may turn the scale of observed phenomena into the sphere of blending or non mendelian inheritance, or to use still a different phrase, they furnish instances of multifactorial inheritance.

As far as coat colour in Mammals is concerned, various *Genera* exhibit certain features, which are evidently subject to the influence of a number of modifying genes acting often in diffe-

rent directions, and thus furnish the ideal material for the complex cases, that often defy all genetic analysis.

It should be mentioned as well, that most of these features may be regarded as instances of parallel phenomena existing in only very remotely akin order of Mammals, and thus are increasingly interesting from general evolutionary reasons.

To quote certain instances of interest, let us remember that most of the so called simple colours, of Rodents, Ruminants, or Carnivora, like black or brown, though they do exhibit certain differences in the shade or intensity of pigmentation, do not cause much labour in their recognition, and when emerging from later generations of crosses, are readily classified, without practically any error or confusion.

On the other hand, however, such colours, like roaning, met in cattle horses and dogs, grey body colour, met in both the former for instance, are typical examples of the complex and troublesome class.

It is for the most part conceded, that roaning in cattle, is caused by heterozygosity in red and recessive white. Still the exact genetic situation of the case is not by any means solved.

The question why the White Shorthorn and Galloway cross yields far the greater percentage of blue greys than, the Shorthorn. Aberdeen Angus cross, is by no means nearer its solution than the causes of the extraordinary variation of the colour, which in some cases may be almost self colour with a few white hairs scattered about the flanks of the animal in others, like in some Blue Albions almost white with a certain amount of dark ticking.

All the above difficulties may to a certain extent be explained by the circumstance, that the discussed class of facts, rather intricate in itself, in the case of the cow or the horse has never been subject to really critical genetic test, but subject to statical and for the most part observational study of pedigrees of breeds, that exhibit the features in question.

Under these circumstances it seems well worth while to direct our attention to these animal forms which for practical reasons offer easy opportunity for study on experimental lines.

The so called Silver colouring met within the domesticated Rabbit must be regarded as a character excellently adjusted

to the above end. Though the feature as such is by no means based on heterozygous conditons, yet in many respects bears strict similarity to roaning met in horses and in cattle.

The feature is genetically complex in a far greater degree than roaning found in the large farm animals. This in the writers opinion is a direct consequence of selection. The analogy is expressed also physiologically. For Silvering in Rabbits as well as roaning in cattle and horses and the so called ticking or roaning in dogs, find their expression after the first period of the animals life is passed, commencing about, or shortly after the animal is weaned.

Silvering in Rabbits as well as the very pronounced longearredness in Rabbits have been regarded as instances of features showing so called blending inheritance, where Mendalian segregation is wanting.

The work of Marchlewski & Wodzicki has however proved, that in reality, the case is less complex than it would appear at first sight. It was found, that the colouring can be explained from the geneticists point of view, by the assumption of a main gene for silvering and a few genes, that under given conditions, may act as modifier of the basic one, exaggerating or exhibiting its action in one direction or other, as the case may be. The above findings, though they do not exhaust the case entirely, offer certain clues, which undoubtedly tend to the solving of similar genetic complexities, or at least, to their correct apprehension.

Silvering in Rabbits, as understood from the point of view of the Rabbit fancier, is however, not limited to peculiarities, which may be covered by the term »Silvering proper«, which will be connected with features concerned with the phenomenon of silvering, which have been the object of the above, and other investigations, connected with Silvering as such.

The interests of the fancier in the case under discussion extend to further peculiarities of certain individuals or strains, points which may be of some value in regard to the pelt as furriers ware, or to certain purely chimerical demands of the Standard.

Such points, as for instance, the uniformity of the shade of pelt through the entire body, the presence or absence of lighter or darker patches on the belly or breast e. t. c. are undoubtedly

inherited traits, though their mode of inheritance is most probably in no way connected with the inheritance of the genic complex responsible for the silvering tendency.

Another peculiarity of this order, consists of a marked tendency met within certain strains of Silver Rabbits, for their paws, nasal region and very often the tail as well, not to undergo the change from self coloured to roan i. e. Silver, which other parts of the body do, but to retain their original black, or dark hue.

Silver Rabbits of this description do resemble Himalyas in a very marked degree. Undoubtedly owing to this, the Silver has often been connected with the Himalaya. The origin of the latter breed having been connected with the Silver.

Further taking things in a purely descriptive manner, a certain similarity between silver rabbits of this class and certain roan horses and cattle, cannot be denied.

These likenesses have caused a certain amount of discussion and resulted in a new term »acromelanism«, which was meant to cover all forms with very strongly pigmented extremities. It must be stated however, that the above mentioned term covers a number of fundamentally different features and therefore is scarcely of any value.

Nevertheless the relation of the uniformly coloured Silver rabbit, which complies with the demands of the fancy and the type »dark« i. e. black paws, nose etc., is of considerable interest for reasons that are to follow.

It should be stated, that as far as the observations of the present writer go, no correlation exists between the shade of the fur of a rabbit, and the colour of its extremities.

Extremely light individuals may exhibit black colour on their paws which may reach over the carpal joint, whilst extremely dark shaded rabbits, may be entirely uniformly »silvered« from the tip of nose to the end of the tail.

A further question arises in our considerations is this. Do the black markings of a Silver Rabbit, its »acromelanistic« features in any way suggest, that such an animal may be heterozygous for himalayan albinism?

Earlier observations on breeding Silver Rabbits, point to the conclusion, that black pointed animals may breed entirely true for the colour factor, without producing any albinistic throwbacks.

A further proof in this direction was offered by the Silver buck Nr. 4 mentioned in the work of Marchlewski & Wodzicki.

This animal though descending from a line carrying himalayan blood, was proved by breeding tests to be homozygous for the so called colour factor. He was a medium shaded dark Silver with strongly marked dark tips.

These dark markings were to be observed also in his silver coloured progeny.

Thus, the writer feels satisfied, that the dark tipped type of the Silver Rabbit, is caused by other agencies than the manifestation of the recessive gene for Himalayan albinism under certain favourable conditions.

Further tests concerning the inheritance of the feature in question were found to be appropriate.

Consequently a pair of pure bred Silver Rabbits, which though dark in shade were entirely uniformly silvered was purchased at an exhibition in the autumn of 1927.

The fact, that both animals were awarded a first prize, may serve as a proof, that the specimens in question complied closely with the demands of the Standard.

All progeny bred from the above pair, numbering over twenty, though varying in shade, without exception exhibited the uniformly silvered shade.

It may be therefore safely assumed, that the strain referred to at present, represented a true breeding uniformly coloured line.

The original doe with uniformly silvered strain was then bred to a buck belonging to the original stock, on which our studies on Silvering were conducted.

Two litters resulting from the above matings resulted in 11 young, all black tipped in a varying degree.

A doe of the above breeding, mated with a buck of the uniform line produced 7 young 4 distinctly tipped and three entirely uniformly coloured. The above evidence, though the numbers are small, is quite sufficient to prove, that the black tipped type behaves as a simple dominant in relation to the uniformly silvered Standard type of the Silver Rabbit.

Thus we are compelled to accept the existence of a gene inhibiting the uniformity of silvering, and causing that the tips of

the animals body remain black, and do not undergo the process of Silvering, to which the remainder parts of the body are subject. Most likely this gene manifests its action only in the presence of the silvering complex, otherwise its presence is obviously undetectable.

In relation to the standard type of uniform silvering the gene in question behaves as an obvious dominant.

To summarise: On the face of the above evidence, the writer concludes, that the black, or acromelanistic tips found occasionally in the Silver Rabbit are brought about by the action of a specific gene, which inhibits the uniform silvering, restricting it to the parts of body which are situated more proximately to the trunk.

The converse conception, namely that the »acromelanism« of the Silver Rabbit, is a sign of heterozygosity for the main genes of the Silvering complex does not hold good in face of the above facts.

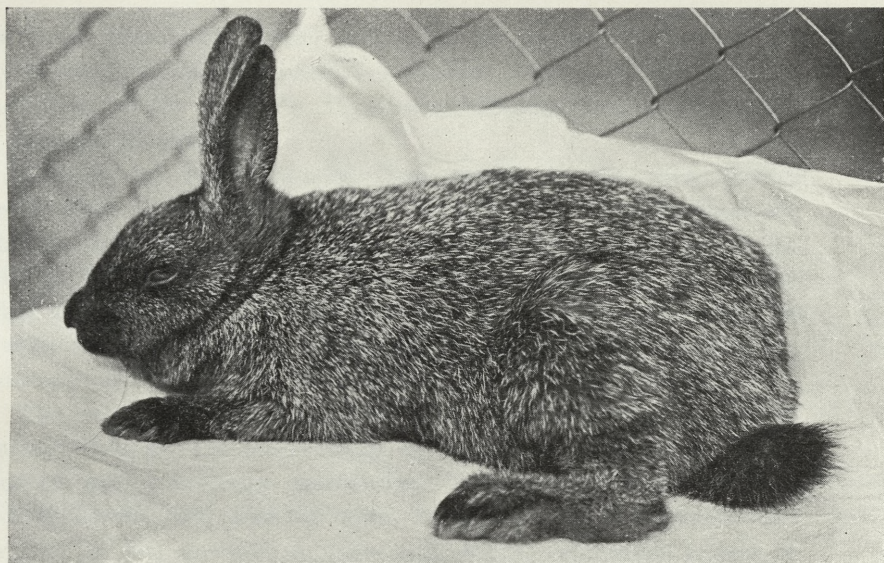
The acromelanistic strain of Silver Rabbits with which the writer has been in close contact for a longer period, was found to breed as true for the main factors for silvering, as far as any genetically complex feature may be expected to breed true under conditions of average breeding.

A strain of Silver rabbits known as the Argentes de Champagne is almost entirely composed of the black tipped type, and is likewise true breeding.

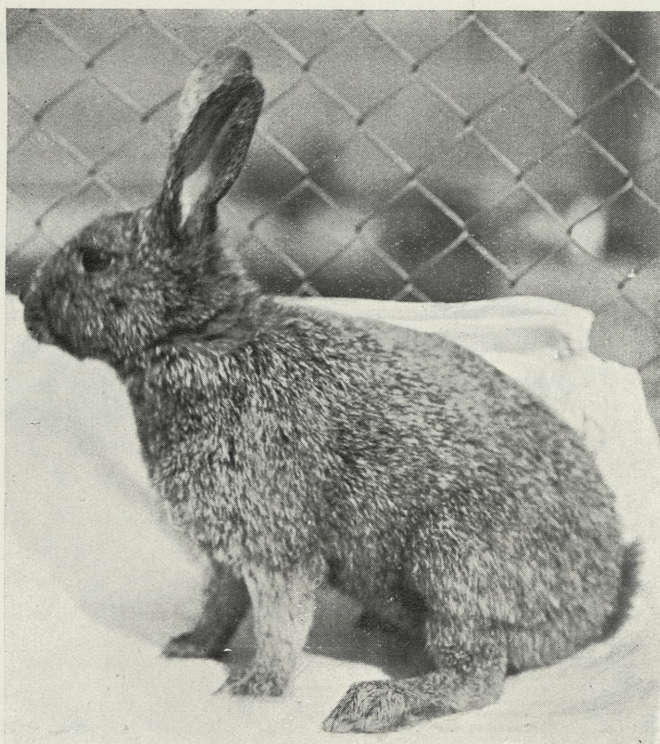
Lastly certain points of comparison should be mentioned here. It may be remembered, that amongst roan animals especially in the horse two types of animals are observed.

One with roaning extending comparatively far along the extremities, and a second, where the extremities and the head are almost entirely free from any roaning whatever. What are the causes of these differences, the question whether they are caused by similar causes which are responsible for the existence of the two types of Silver rabbits depicted on photos Nr. 1 & 2 is yet not known. A study on the above lines even if carried out solely on herdbook material would in the writers opinion be of comparatively great value, for general comparative reasons.

Obviously such a study, should be carried out on roans with red faces and legs. Black tipped horses are either black or bay

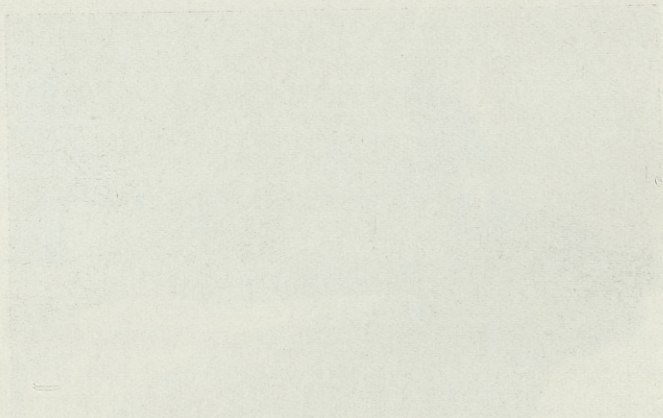
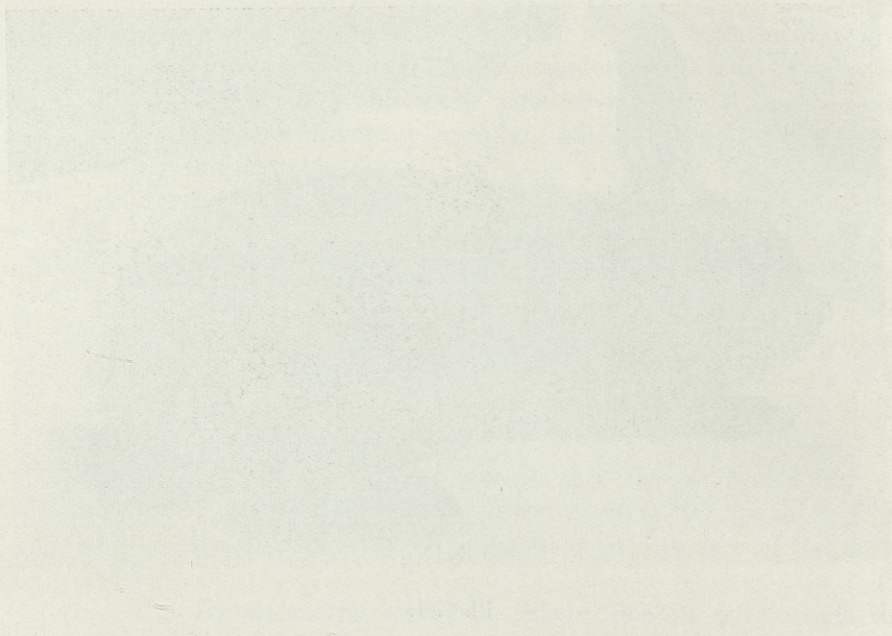


Phot. 1.



Phot. 2.

*T. Marchlewski*





roans and this latter class, owing to the peculiar action of the bay factor, may lead to a similar confusion, such as existed between the action of the gene for Himalayan albinism and our inhibitor of uniform silvering.

A study on the suggested lines owing to the fact, that it would open opportunity to work out the effects of eventual inhibitors or perhaps also genes exaggerating the effects of the roaning factor or factors proper, besides deepening our knowledge as to the genetic basis of roaning in Mammals would be a very valuable asset to our knowledge concerning the allied phenomenon of Silvering met in Rabbits.

The existence of a gene inhibiting the uniform extension of roaning through the entire body of the Silver Rabbit, especially adds to our knowledge concerning the genetics of the species, and its hoped, will play its part in unravelling the complexities involved in the genetics in Silvering, which represents a case of multifactorial inheritance, presenting until recently great difficulties in attempts of analytical enquiry.

From The Experimental Station for Animal Husbandry of The Zenon and Wanda Suszycki Foundation, Boguchwała, Poland.

---

### Bibliography.

Castle E. W. Carn.-Publ. 1927. Pap. E. Zeitschr. f. Idf. etc. 1921. Marchlewski T. Bull. Int. Pol. Ac. Sc. 1924. Marchlewski T. & Wodzicki K. Bull. Int. 1927.

### Explanation of plate 16.

Phot. 1. Silver Rabbit with black tips, carrying the inhibitor.  
Phot. 2. Silver Rabbit uniformly coloured.



*Studja nad genetyką owcy karakułowej. II. Wartość poszczególnych tryków w wytwarzaniu futerek. — Studies of the Genetics of Kharakhul Sheep. II. The comparative value of different sires as fur producers.*

Mémoire

de M. **T. MARCHLEWSKI**,

présenté dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. E. Godlewski m. t.

(Planche 17).

**Introduction.**

The genetics of the so called Kharakhul sheep have been lately rather intensively studied in various countries in which a certain number of individuals belonging to this Central Asiatic breed has been imported.

As present day developments show, the interest for these animals has passed the stage of purely scientific curiosity, and has reached a period, in which the economic possibilities of establishing a more or less extensively planned fur industry on a commercial basis is often the object of serious consideration.

The main facts, that are responsible for this attitude may briefly be summarised as follows: The observations of Kühn Adametz and others, beyond any doubt point to the conclusion, that firstly, the valuable features of the pelts of newly born lambs of the discussed breed do not change their type under conditions of European climate, and secondly that, the type and quality of pelts may, to a very considerable extent be improved far above the average qualities of pelts imported from the original habitat of the breed, in the Kchanates of Bockhara and Khiva.

As a second consideration, the fact that a Kharakhul cross materially does improve the density of wool covering in adult sheep of the coarse woolled varieties, and thus raises the value of sheep skin as winter ware, the so called »kozuch« of central eastern European countries, does come into account in considering the value of the breed under conditions of European sheep raising. From a purely genetical point of view, the factorial basis of the curling qualities met in pelts of newly born lambs of the breed present, according to a number of investigations in to the problem, a case of complex inheritance of the multifactorial type.

This fact. presents a number of interesting moments, both from the point of view of practical breeding, as well as from theoretical considerations.

It is proposed to discuss some of them in the following.

## II. The Evidence.

The curling tendencies of the pelt of newly born lambs of the Kharakhul breed, are inherited for the most part in a strongly dominant manner, and in consequence first crosses with most of the coarse woolled breeds or breeds of wool of the lustrous type yield pelts, with a fair amount of curling, and often pelts of considerable commercial value.

A fair ammount of evidence pertaining to the dominant nature of Kharakhul curling may be found in the work of Adametz, C. C. Young and more recently that of Frölich and his coworkers. — The present writer has previously made an attempt to bring in to a line, the different types of curling met in the breed and its crosses, with the distinct types of newly born lambs pelage discerned by Nichols, and other workers of the Edinburg School of wool investigators.

The results of crossing Kharakhuls with a number of native ewes and with Eastern Friesian milch sheep, as far as the  $F_1$  generation is concerned has been summarised by the writer in a previous paper.

According to these data the main quality, or grade of  $F_1$  cross-bred pelts ranges about grade 3 (tertia) of a grading schema that does closely correspond to the grading scale adopted by the fur trade.

A comparison of the produce of various Kharakhul rams, would suggest, that, broadly speaking, the main grade of cross-bred pelts is of about similar quality.

An exception from the above rule, would have to be granted for the progeny of rams, that are the produce of continuous selective breeding for high pelt quality.

Thus as stated in a preceding paper, the offspring of the pure bred ram Nr. 24. imported from a well known herd of Professor Adametz excelled in pelt quality, all other crossbreds observed, giving grade »2« as average quality, which is slightly above the grade exhibited by the majority of imported pelts.

On the other hand, considering the origin of Kharakhul flocks found in Poland, and the lack of selective breeding practiced there, one can suppose, that these flocks represent the average grade of pelt quality found in the home country of the breed. This fact, does, I suppose, lend a general interest to our inquiry.

Taking into consideration the pelt quality of the first cross-bred generation off crosses between pure bred Kharakhul rams and native, shorttailed ewes of the so called heather sheep (wrzósówki) type, our evidence may be summarised as follows:

1. Progeny of the Kharakhul ram Nr. 4 and 25 native ewes (the years 1928/29).

Type of pelt	grade of pelt	number of individuals
pea shaped	C (tertia)	18
pea shaped	B (secunda)	3
bean shaped	C (tertia)	4
bean shaped	B (secunda)	1
pea shaped(?)	D (quarta)	4
		30

2) Progeny of the Kharakhul ram Nr »Ol« and 11 native short-tailed ewes.

Type of pelt	Grade of pelt	Nr. of individuals.
pea shaped	C (tertia) . . . . .	7
pea shaped	B (tertia) . . . . .	1
bean shaped	C (tertia) . . . . .	1
		9

Though the above figures are obviously small, there is no doubt that the first cross progeny of both these sires of different type and origin (phot. 1, 2) is on the whole, of an approximately similar grade. The main grade of pelt quality in this cross, with the average type of rams found in the country lies about grade *C* (tertia) which according to previous observations is the mean grades, of crosses made with the Karpathian cakiel and the Eastern Friesian milch sheep. The latter cross however, in which 138 lambs have been under observation, exhibited an average grade in the  $F_1$  generation, that fell slightly below the above standard yielding 35 grade *C* and 58 grade *D* respectively.

The above data show, that with the average ram, that can be obtained in the country, the grade of pelts found in the  $F_1$ , lies about *C* that is grade that lies slightly below the quality capable of yielding fur ware of a moderate quality.

A different result may be gained by using rams from flocks, that were subject to a period of prolonged selection for fur quality. Occasionally certain individuals possessing the powers of transmitting high fur quality are met within unselected stock. Thus, it may be reminded that amongst the stock exported by CC. Young to America, one individual, the ram »Teddy« excelled all others in fur quality, the same observations were made by Adametz on a large importation of original Bockhara stock.

The results of crossing rams from highly selected herds on native sheep, frequently are expressed by grade *B*, reached by the majority of offspring, a fact, obviously not without significance.

Further interest is evoked, by the results gained in the second crossbred generation obtained by backcrossing the first cross ewes with pure bred Kharakhul rams.

The results of backcrossing cakiel kharakhul crosses have been briefly reported in our previous communication. The material is numerically small and does not warrant any broader generalisations.

Still amongst 14 »three parts bred lambs« sired by a ram indirectly descended from a highly selected flock, six exhibited *B* grade pelts whilst the remainder cover 6 Grade, *C* and 2 Grade *D* lambs respectively. Later experiences with a different ram, resulted in 9 »three parts bred lambs« 6 of which were

graded as *C* 2 as *D*, whilst 1 reached the *B* grade of our grading scheme.

The last named results are in a way suggestive and may, it is thought, be fairly well extended by grading results obtained in crossing Kharakhul with Eastern Friesian milch sheep.

Here, the following considerations should be taken into account. — This cross was carried out in the Estate of Lipowa belonging to the Polish Academy of Sciences. The Friesian Sheep where crossed with a Kharakhul ram imported from Roumania. As stated above the average grade of pelts ranged between grade *C* & *D* in the first crossbred generation. To repeat the results of backcrossing the crossbred ewes with three different Kharakhul sires, summarised previously, it may be said, that their grade of pelts varied from grade *A* to *D*, with a mean of 16 *C* and 23 of the *D* class. It should be emphasised, that 11 young of the *C* grade and all of the offspring of grade *D*, were begotten by the ram Nr 44, which, in no way was related to the sire of the first crossbred generation.

A further light into the problem was gained during the lambing season of 1929 through crosses that yielded results, summarised on the following Table.

Results of mating the Kharakhul ram Nr 23 with half bred Kharakhul-Friesian ewes sired by the above ram.

Type of pelt	grade of pelt	Number of individuals
Pea shaped	<i>B</i> (secunda)	. . . 1
Pea shaped	<i>C</i> (tertia)	. . . 1
Pea shaped	<i>B</i> (secunda)	. . . 1
		3

Results of mating the Kharakhul ram Nr 4 with half bred Kharakhul-Friesian ewes sired by the ram Nr. 23.

Type of pelt	grade of pelt	Number of individuals
Pea shaped	<i>C</i> (tertia)	. . . 7
Pea shaped	<i>B</i> (secunda)	. . . 2
Pea shaped	<i>C</i> (tertia)	. . . 2
		11

The figures are undoubtedly scanty. Yet, the fact that comparatively no improvement of the average grade obtained in the  $F_1$  generation was reached by the »threeparts bred progeny« of the ram Nr 4 and on the other hand, that comparatively good results are indicated by mating of Nr 23 with his own daughters may have, and probably has some deeper significance.

As a further instance, the matings of a three parts bred ram, gained in a second cross of crossing Friesians an Kharakhuls, with half bred Kharakhul-Friesian ewes should be quoted, the ram himself exhibited a grade *B*, peashaped pelt at birth, and this in part may perhaps to a certain extent be responsible for the results. The fact however, that the said rams grandfather was the ram Nr 23, who was at the same time the sire of all the crossbred ewes is in the writers opinion not without significance.

The results of mating the »Three parts bred ram« »Experiment« with half bred Friesian Kharakhul ewes progeny of ram Nr. 23.

Type of pelts	grade of pelts	Number of individuals
pea shaped	<i>B</i> (secunda)	. . . 3
pea shaped	<i>C</i> (tertia)	. . . 5
bean shaped	<i>B</i> (secunda)	. . . 1
bean shaped	<i>D</i> (quarta)	. . . 1
(piebald not fit for grading)		. . . 1

---

11

The above results, though again rather scant numerically, are significant owing to the fact, that almost half of the pelts produced by a not pure bred ram, rank comparatively high in grade and compare favourable with the produce, of pure bred sires. The fact that selection is, or rather was lacking within most of the flocks bred in the country does to a certain degree explain why. a comparatively low grade animal can compete with pure bred stock. Besides this however, there are undoubtedly moments which come here in to account that are of a rather general interest.



### III. Discussion.

The genetic basis of the characteristic curling of the pelt on a newly born Kharakkul lamb is generally said to be of a highly complex nature, furnishing an instance of so called multiple or »polymeric« inheritance.

Putting the above interpretation in to termes of recent genetic developments, this should mean that different genetic factors, together with a number of so called »modifiers« of minor influence by themselves, are responsible for the various stages and grades of development of the Kharakhul pelts and for often complex and undefinable results in first and latter crosses of the breed.

In point of fact, it must be admitted, that all hitherto gained evidence points to the above stated conclusion.

On the other hand it should be remained, that the type of pelt shown by a lamb differs very widely from individual to individual not only within the Kharakhul type, but in different breeds and even within single individuals belonging to one and the same breed.

It has been pointed out previously, that most likely the basic pattern of coat formation is identical in Kharakhuls just as in all other types of sheep. The action of specyfic »Kharakhul« or rather, »curling« genes, is again in its end-effect dependend from the basic type upon which the »Kharakhul complex« is acting.

The action of Kharakhul genes upon the delicately curled or waved type of pelts met occasionally in the coarse woolled breeds and most likely typical to fine woolled types of sheep, cause the delicately curled or »pea shaped« type of fur. — Again the curling factors, when working on the dense uncurled coat met mostly in coarse woolled types, produces the largely curled »bean shaped« type of pelt. Obviously all these processe do occur in pure bred material as well as in crosses (Phot. Nr. 3).

The results obtained in backcrossing experiments often suggest, that after all, the genetic basis of Kharakhul curling is not necessarily so complex, as stated in the forerunning in so far, as roughly speaking half of the progeny resembles the  $F_1$  generation, and the second half excedes it in the grade of pelts.

This would suggest a fairly close analogy between the Kharakhul curling and silvering met in Rabbits, where the case

was often referred to as to an instance of »blending non mendelian« inheritance, and yet, as shown by Marchlewski & Wodzicki, under the application of appropriate methods deductable to a comparatively simple genetic basis, to the action of one or two main factors and a number of minor and in different strains undoubtedly different modifiers.

In conjunction with the Kharakhul case, it has been found that in many instances the second grade crossbred generation did not correspond in quality to the observations outlined above, but correspondingly to figures presented in the preceding section, fell below the main grade of the first generation.

In point of fact, in a few herds, were after gaining a fairly satisfactory *F*, in crosses with Kharakhuls, a ram of different breeding was introduced and mated with the first cross ewes, often a deterioration of pelt quality in the young has been noted.

The practical breeder, is under the circumstances only too apt to interpret the undesired results, by absolute inferiority of the respective sire.

These interpretation is in most cases faulty.

The tables in the preceding section, in spite of the relative scantiness of the material illustrate the position pretty fairly.

The »three parts bred progeny« of the ram Nr 4 out of first cross cakiel — Kharakhul ewes is mostly of *C* (tertia) grade a grade that as a whole is typical to first crosses sired by »fairly good« rams. — This result would suggest that ram Nr 4, is a rather inferior animal.

On the other hand however, the records show, that first crosses sired by him, for instance with the short tailed heather sheep, — are on the whole of a satisfactory grade. — Second crosses from half bred heather ewes sired by Nr 4, backcrossed to this animal yielded up to now, only five young, but all of them were of good quality lying well in the *B* grade.

Further, the ram Nr 23, used in the Friesian Kharakhul crosses according to the first generation results, must be regarded as an only moderately valuable animal.

Still amongst his progeny, out of his own daughters bred on the Lipowa Estate as well as the few specified of the Table-notla few reached the *B* grade, and on the whole yielded better results than the second cross progeny sired by the ram Nr 44,

which judging from first crosses, may be regarded as a better sire than Nr 23.

Lastly the records of the three parts bred ram »Experiment« are worthy of some comment.

The average pelt qualities of the offspring of this animal (Phot. Nr 4) are one the average good and favourably compare with the produce of pure bred rams. This is undoubtedly due to cautious selection that has been employed in selecting this sire.

Further the fact, that his produce is relatively intensively line bred is undoubtedly of considerable importance here.

On the multifactorial hypothesis, especially on the assumption supported by facts, tht the crosses are about of an intermediate type between pure breeds and common stock, and higher grades to a certain extent intermediate between both, it would be rather difficult to expect such an extent of homozygosity in a comparatively »low 2« bred animal as the ram under discussion.

Thus taking all evidence into account, it seems that the most probable explanation of the genetic basis of Kharachul curling may be as follows: The Kharakhuls and allied breeds of sheep differ from all others by the possession of a gene or genes, (probably not more than two), that being of a dominant character already in a heterozygous condition cause a fair amount of curling in pelts of newly born lambs. The type of curling the pelt acquires is not caused by the action of the Kharakhul gene-complex, but a result of the performance of the latter complex, upon a basic type of pelage found in all breeds. In relation to the basic type, dense uncurled or wavy of this basic pelage, under the action of Kharakhul genes either the »peashaped« or the large curled »bean shaped« type of pelt is produced.

A different type of curling occurs under the form of so called »catterpillar« or »elongated pipe like« curls. It seems, that this type is caused by different genetic agencies than the Kharakhul genes proper and that the effect of the latter is slightly different according to the case whether they are acting on the dense and uncurled or the wavy basic type of pelage (Phot. Nr. 5, 6, 7).

To return to the curling tendencies it cannot be stated definitely, what degree of curling is brought about by the action of the »Kharakhul« genes alone.

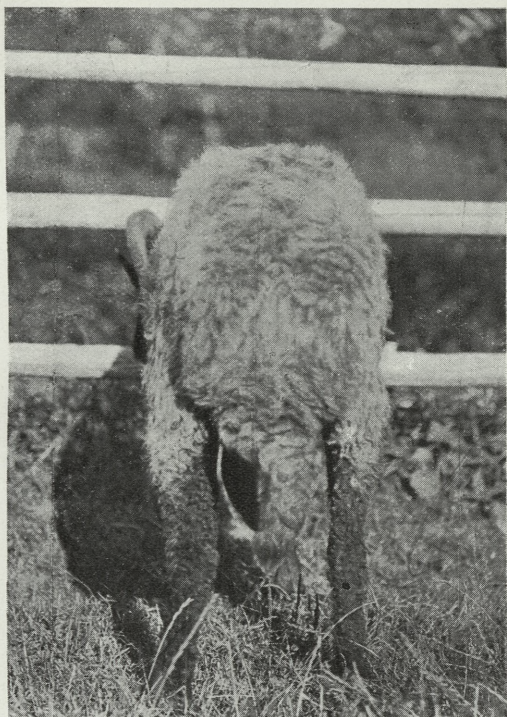
The grade of pelts is however affected by various circumstances such as the uniformity of curling the density, hardness and lustre of the fur. These qualities, as the amount of curling are undoubtedly strongly affected by a number of genetic factors, factors that may and most likely are of totally different type and nature than the basic genes that cause the Kharakhul type of curling.

Here lies the crucial point of the whole question.

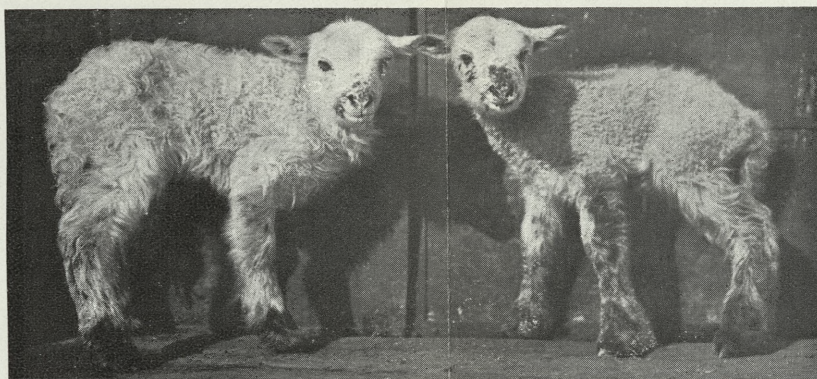
The results obtained in various flocks by selection and by inbreeding are by themselves a test, that the characters under discussion are to a large extent modifiable by the action of various genetic agencies differing in nature from the curling genes proper.

If that is the case then, the undesirable results observed in grading experiments Kharakhuls, are obviously due to the fact, that the modifiers under discussion are in each case of a distinct nature. Thus the modifying agencies brought in to the organism of the first cross products by their Kharakhul sire, may to a great extent be paralysed by the different and diverse genetic agencies, carried by a non related ram used to produce the second crossbred generation. From a theoretical point of view, there is nothing astonishing in this fact. That genes totally different in nature and their linkage relations, may produce similar effects is a well known phenomenon that does not require any comments. The outlined situation is simultaneously to cause and the effect of positive selection that to a certain extent was carried in within the breed. Owing to the same causes the results of strict genotypic selection where such was practiced have been apparent and positive. Owing to all the above facts, the practical conclusions that can be drawn from all our evidence are as follows: Strict selection based on the grade of pelts of the breeding stock, is essential for the upbringing of a flock of high quality. Inbreeding presents itself as the only method of fixing the type and forming a flock of a certain degree of homozygosity in the desired features.

In all crossbreeding and grading up schemes it should be reminded that the high value of furs of the Kharakhul breed, is brought about by very different causes, and at it is safe to assume, that as almost all flocks differ more or less distinctly as



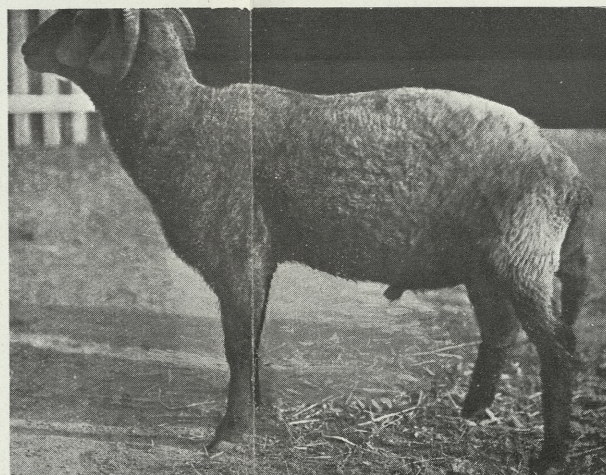
2



3



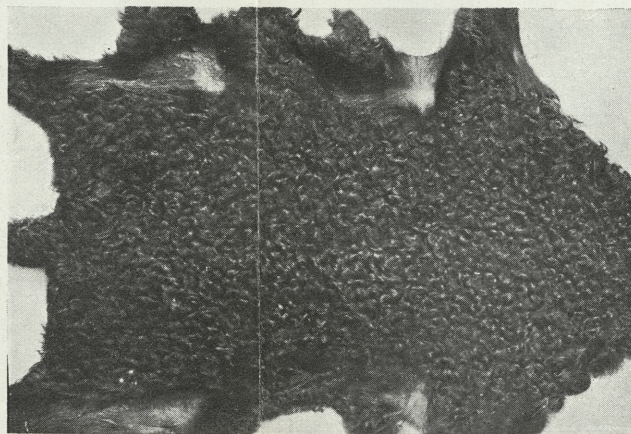
5



1



4



7



6

T. Marchlewski photo.



to their genetic make up, only and solely the use of related sires in the various stages of grading may ensure continuous progress without the danger of producing great numbers of worthless products.

From the Experimental Station For Animal Husbandry of the Zenon and Wanda Suszycki Foundation Boguchwała, Poland.

---

### Explanation of plate 17.

Phot. 1. Kharakhul ram Nr. 4 side view.

Phot. 2. Kharakhul ram Nr. 4 rear view.

Phot. 3. Two basic types of lambs pelage in not Kharakhuls (South-downcrosses).

Phot. 4.  $\frac{3}{4}$  breed ram »Experiment«.

Phot. 5.  $F_1$  wrzosówka  $\times$  Kharakhul good quality.

Phot. 6. High grade second cross Kharakhul Friesian pelt of good quality peashaped with inclination to pipe formation.

Phot. 7. Second grade Friesian-Kharakhul cross low quality lacking in lustre.

---

to that genetic make up, only and solely the use of related sires in the various stages of crossing may ensure continuous progress without the danger of producing great numbers of worthless products.

From the Experimental Station for Animal Husbandry of the Zoo and Wanda Pawłowski Foundation Rogoźnica, Poland.

---

### Explanation of plate IV.

- Fig. 1. Karakul ram No. 4 side view.  
Fig. 2. Karakul ram No. 1 rear view.  
Fig. 3. Two basic types of lamb heads from Karakul sheep (Sofka-Downs).  
Fig. 4. \* Head ram (Experiment).  
Fig. 5. \* Head ram X Karakul head quality.  
Fig. 6. High grade second year Karakul female lamb of good quality, reared with attention to give lambs.  
Fig. 7. Second year Karakul female cross for quality factors in lambs.
-



*Badania serologiczne nad odpornością w nowotworach złośliwych. — Recherches sérologiques sur la résistance aux tumeurs malignes.*

Mémoire

de **M. K. PELCZAR,**

présenté dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. K. Klecki m. c.

Les résultats des recherches sur l'immunité acquise à la greffe des tumeurs malignes, nous ont appris qu'il est possible de la provoquer par l'injection de tissus néoplasiques vivants ou morts, puis de tissus d'organes normaux, en particulier de la rate, ainsi que par des injections d'albumines hétérogènes. L'immunité acquise se manifeste également à la suite de l'irradiation des animaux avec des rayons de radium, ainsi que sous l'action des rayons X.

Les résultats que donnèrent les recherches sur l'immunisation passive à la suite de l'emploi du sérum d'animaux traités avec de tissus néoplasiques, ne s'écartent pas de ceux que permirent d'obtenir les investigations au cours desquelles on s'efforçait d'agir sur la croissance de la tumeur par l'application de protéines hétérogènes.

Les tentatives entreprises dans le but de produire l'immunité soit active, soit passive, n'ont cependant pas abouti à élucider le problème de la résistance aux néoplasmes.

Il n'est pas possible de répondre d'après les résultats actuels des recherches, à la question de savoir si les anticorps spécifiques qui se développent dans l'organisme traité par le tissu néoplasique, sont appelés à jouer un rôle dans l'immunité aux tumeurs malignes et en quoi il consiste. D'autre part, on peut observer sous influence des agents non spécifiques une réaction générale de l'organisme ainsi qu'une réaction locale dans le néoplasme, qui abou-

tit fréquemment à la décomposition de la tumeur, mais souvent ne l'empêche pas de croître.

L'influence de tous ces agents peut être ramenée aux effets d'une action non spécifique (de l'albumine hétérogène) qui provoque une réaction générale de l'organisme, accompagnée de l'irritation de l'appareil réticulo-endothélial ainsi que de l'appareil lymphatique. Les tentatives de produire l'immunité passive par l'application de sérum, aussi bien que l'immunité active dans le cas où l'organisme est atteint de carcinome, n'ont pas donné d'autres résultats que ceux qu'on avait obtenus à la suite de l'action d'agents non spécifiques; en d'autres termes elles provoquaient une réaction générale de la part de l'organisme, ainsi que des changements locaux dans la tumeur et dans le milieu dans lequel elle se développait, changements qui dans certains cas avaient comme conséquence une régression du néoplasme.

Les résultats négatifs des recherches, de v. Leyden et Blumenthal, de Gaylar, Baeslack, Clowes, C. Lewin, Boyksen, Jamagiva et ses collaborateurs, de Lumsden enregistrés après l'application d'un sérum antinéoplasique qui devait contenir des anticorps agissant sur les néoplasmes, pourraient parler en faveur de la supposition suivant laquelle ces substances sont absentes dans le sérum d'animaux immunisés par les tumeurs. D'autre part, on ne saurait considérer ces résultats comme probants, car le sérum d'animaux immunisés peut contenir des anticorps agissant sur les cellules néoplasiques, mais leur mode d'action pourrait être différent de l'action exercée sur la cellule normale. Il est possible, qu'en qualité d'élément biologique indépendant, la cellule néoplasique lie dans l'organisme les anticorps agissant sur elle d'une façon différente que ne le font les cellules normales. Les résultats de ces recherches sont une preuve qu'il ne saurait être question d'une résistance spécifique aux néoplasmes. Nous ne pouvons provoquer dans l'organisme que des réactions non spécifiques, qui aboutissent chez les animaux non réfractaires aux néoplasmes greffés, à l'immunité acquise, tandis que chez les animaux et chez l'homme atteints de tumeurs, elles provoquent aussi bien certaines réactions générales, que des réactions locales qui sont suivies dans certains cas de leur régression.

Nous ignorons la nature de ces réactions, aussi a-t-on tâché d'étudier les changements qui se manifestent dans l'organisme

atteint de néoplasme. Les recherches entreprises à cet effet intéressent surtout les changements de la composition chimique du sang et des liquides circulant dans l'organisme, ainsi que les réactions sérologiques qui les accompagnent.

La cellule néoplasique provoque par l'intermédiaire des produits de son métabolisme, ou de sa décomposition, certaines réactions liées aux changements que subit la composition chimique du sang et des liquides circulant dans l'organisme. Ils peuvent encore entraîner certains changements dans le système des colloïdes du sang et produire certaines réactions sérologiques qui correspondent à ses propriétés chimiques et physico-chimiques différentes.

Les réactions en rapport avec les propriétés hémolytiques du sérum provenant d'un organisme atteint de néoplasme, sont actuellement d'un emploi diagnostique peu fréquent. Il nous faut nommer à ce propos la réaction découverte en 1905 par Kelling, qui le premier a trouvé que le sérum tiré d'un organisme atteint de néoplasme, provoque l'hémolyse des globules rouges hétérogènes, notamment celle des globules rouges de la poule, du cochon, du mouton et des représentants de l'espèce bovine. Des auteurs comme Fuld, Rosenbaum, Buchheim, Kostrzewski, Sterling-Okuniewski et d'autres, ont confirmé l'existence de cette réaction. Comme beaucoup d'autres, elle n'est pas spécifique, car quoiqu'on l'ait observé dans 66% des cas chez des malades carcinomateux, on peut la constater également dans la tuberculose, dans la pneumonie fibrineuse, dans l'anémie pernicieuse etc.

Les hémolysines dont on a observé la présence dans le sérum de malades atteints de carcinome, agissent sur les globules rouges du mouton, du boeuf et surtout sur ceux du cochon et de la poule. Il ne s'agit ici à proprement parler que d'une augmentation du titre hémolytique, vu que le sérum de personnes saines hémolyse également les globules rouges des animaux mentionnés, quoique son action soit plus faible. Nous avons affaire par conséquent à une réaction caractérisée par des différences quantitatives, c'est-à-dire par une augmentation de la quantité de l'hétérohémolysine des globules rouges hétérogènes mentionnés, dans un organisme atteint de carcinome.

Ce n'est que ces temps derniers, à la suite de la découverte de l'antigène lipoidique décrit par Forsman, que cette réaction a pris une grande importance au point de vue théorique.

L'ambocepteur découvert par Forssman agissant sur les globules rouges du mouton, est le prototype d'une substance sensibilisatrice qui exerce une action sur les globules rouges des animaux appartenant à des espèces différentes. L'ambocepteur de Forssman est produit sous l'influence de l'antigène lipoïdique que contiennent les organes de certains animaux, dont le cobaye est un représentant.

D'après les recherches de Hirszfeld et de Mlle Halber, on trouve cet antigène dans les organes et les endothéliums d'animaux et les globules rouges le contiennent également suivant Witebski. D'après H. Schmidt, ce sont surtout les organes du cobaye qui le renferment, toutefois ceux du mouton, de la chèvre, de la poule, du cheval, de la souris, du chien, du chat, etc., en sont aussi pourvus. Il fait cependant défaut dans les organes du lapin, du boeuf, du cochon, du rat, etc.

Les organes de différents animaux appartenant à la même espèce, ne contiennent cependant pas la même quantité d'antigène lipoïdique.

Il semble que la teneur des organes en antigène lipoïdique est susceptible de varier. Ainsi M. H. Powell a observé, il n'y a pas longtemps, qu'il était possible de produire l'antigène de Forssman dans les organes de lapins en nourrissant ceux-ci avec des globules rouges de poule ou de mouton, avec de la substance du rein de chevaux, de cobayes, etc.

Bail et Margulies avaient déjà observé que l'antigène de Forssman n'était pas lié aux cellules et qu'il était possible de l'en extraire en se servant de certains dissolvants graisseux. Il passe des organes dans l'extrait alcoolique qui d'après les recherches d'Amako, de Sordelli, de Sachs et Guth, de v. Gutfeld, de Sordelli et de K. Meyer, lie les anticorps hémolytiques, produits dans le sang du lapin sous l'influence des globules rouges du mouton et fixe le complément. Un pareil extrait alcoolique, injecté au lapin sans y avoir ajouté de l'albumine, ne provoque pas la production des hémolysines. On s'aperçoit encore que l'extrait alcoolique lui-même n'est pas complètement dépourvu des propriétés dont dispose l'antigène; en effet, celles-ci dépendent du degré d'impureté de l'extrait. Nous ne connaissons pas la composition chimique de l'antigène. C'est de la lécithine d'après Jamniguchi, un mélange de lécithine et de céphaline d'après

K. Meyer, Wernicke et Sordelli le considèrent comme des cérébrosides, enfin Doerr et Pick affirment qu'il est un nucléoprotéide. Il est peut-être composé de différentes fractions lipoidiques, surtout que Takenomato prétend à l'exemple de Landsteiner et de Simms, qu'il renferme deux fractions, dont l'une a des propriétés antigéniques, tandis que la fraction alcoolique qui lie l'anticorps, réclame la présence d'albumine pour pouvoir agir comme antigène.

Lorsqu'on injecte à des lapins de l'extrait alcoolique tiré des organes d'animaux appartenant au groupe du cobaye, et le mélange avec du sérum de cochon, on voit se former les hémolysines des globules rouges du mouton.

On peut s'en convaincre par le fait que les ambocepteurs produits sous l'action de l'extrait tiré des organes, se combinent non seulement avec les lipoides extraits à l'aide d'alcool des organes d'animaux appartenant au groupe du cobaye, car ils hémolysent également les globules rouges du mouton qui contiennent eux aussi de l'antigène lipoidique. Le sérum des animaux dont les organes contiennent l'antigène de Forssman, est en général privé de l'hémolysine des globules rouges du mouton. Par contre, le sérum des animaux appartenant au groupe du lapin, par conséquent le sérum des animaux dont les organes n'ont pas les propriétés de l'antigène de Forssman, contient les hémolysines des globules rouges du mouton et de ceux d'autres animaux.

Le sérum de l'homme contient des hémolysines qui peuvent lier les lipoides; en d'autres termes, il renferme les hémolysines des globules rouges du mouton, lesquelles n'agissent comme hémolysines normales qu'en présence du complément. Le titre des hémolysines est d'habitude peu élevé. Ainsi que l'a observé Friedeman en liant ces hémolysines à des émulsions d'organes qui contiennent l'antigène de Forssman, elles ont le caractère d'anticorps lipoidiques.

La présence de l'hémolysine normale des globules rouges du mouton dans le sang de l'homme, ne peut cependant être régulièrement observée. Les recherches de Schiff et d'Adelsberg ainsi que celles de Witebski, peuvent expliquer ce phénomène dans une certaine mesure. En effet, ces auteurs ont fourni la preuve que les globules rouges de l'homme qui appartiennent aux

groupes A et AB d'après le classement de v. Dungern et de Hirszfeld, sont censés contenir l'antigène de Forssman comme antigène partiel.

Il n'est pas possible de savoir pour le moment, si le rapport déjà mentionné entre la teneur du sérum en hémolysines et l'absence de l'antigène de Forssman dans les globules rouges, ainsi que le rapport inverse, peuvent également être observés chez l'homme.

Les auteurs américains E. B. Perry et G. B. Roodes, ainsi que les auteurs russes Kritschewski et Messik, puis Melnikow, ont montré que la teneur du sérum en hémolysines n'exclut pas la présence simultanée de l'antigène des globules rouges. Ces recherches ne jettent cependant pas lumière suffisante sur la question.

J'ai déjà dit qu'il résulte des recherches de Kelling et d'autres auteurs, que le sérum de personnes atteintes de cancer, est doué dans 60% des cas, de propriétés hémolytiques agissant plus fortement sur les globules rouges du mouton, que le sérum de personnes saines.

La question de savoir si l'hétérohémolyse plus forte qu'on observe dans l'organisme atteint de carcinome, s'explique d'accord avec la théorie de Weichardt, par un stimulus non spécifique issu du néoplasme, ou si celui-ci, en particulier les produits de sa décomposition qui contiennent l'antigène de Forssman, sont la cause des propriétés hémolytiques du sérum de personnes et d'animaux carcinomateux, respectivement la cause de leur augmentation — cette question-là n'a pas encore été suffisamment étudiée.

Morgenroth et Bieling ont fourni la preuve qu'une émulsion du tissu carcinomateux de la souris, injectée au lapin, produit les hémolysines des globules rouges du mouton. Il peut s'agir ici d'une action non spécifique, car le sérum du lapin contient des hémolysines normales de ce genre.

Doerr et Pick déclenchaient dans l'organisme du lapin la production des hémolysines des globules rouges du mouton, en injectant une émulsion des tissus d'un sarcome médullaire de l'homme. L'injection du tissu d'un épithélioma du sein ne donnait aucun résultat.

Il résulte des recherches de Lehman-Facius, de Kritschewski et de Rubinstein, dont je n'ai eu connaissance qu'après

avoir fini le présent travail, que les extraits alcooliques du carcinome de l'homme et du rat, peuvent lier l'anticorps normal qui hémolyse les globules rouges du mouton, autrement dit que cette tumeur dispose de propriétés analogues à celles dont sont doués les organes des animaux appartenant au groupe du cobaye. Lehman-Facijs a encore observé qu'il est possible de déclencher chez le lapin la production des hémolysines des globules rouges du mouton, en se servant d'une suspension de cellules carcinomateuses, ainsi que de l'extrait lipoïdique de ce néoplasme. Les résultats de ces recherches sont une preuve que le néoplasme est doué des propriétés de l'antigène lipoïdique de Forssman.

Les résultats enregistrés à la suite des recherches mentionnées, ne jettent pas de lumière sur le problème de la production des hétérohémolysines dans l'organisme atteint de néoplasme. En effet, si le néoplasme dispose dans l'organisme des propriétés de l'antigène de Forssman, on devrait s'attendre d'après les opinions universellement admises, que chez les animaux appartenant au groupe du lapin dont le sérum contient les hétérohémolysines normales, par conséquent également chez l'homme atteint de tumeur et chez le rat porteur de tumeurs, non seulement la quantité des hétérohémolysines déjà existantes, ne devrait pas augmenter, mais ces substances devraient au contraire disparaître, parce qu'elles sont liées à l'antigène que contient la tumeur.

Nous ignorons également comment sont produites les hétérohémolysines sous l'influence du néoplasme, dans l'organisme qui en est atteint. Nous savons qu'aussi bien les extraits du néoplasme, que les extraits des organes du cobaye contiennent l'antigène de Forssman et que lorsqu'on les injecte au lapin, ils déclenchent la production d'hétérohémolysines.

Tandis que l'antigène que renferment les organes du cobaye ne provoque pas chez cet animal la production d'hétérohémolysine, l'antigène contenu dans la tumeur maligne déclenche la production de ces substances dans l'organisme atteint d'un néoplasme.

La production des hétérohémolysines dans le sang d'un organisme porteur d'une tumeur, pourrait encore dépendre de la présence, respectivement de l'absence de l'antigène de Forssman dans les organes de l'animal étudié. En effet, les hétérohémolysines produites dans l'organisme de l'animal porteur d'un carci-

nome, appartenant au groupe du cobaye pourraient être liées à l'antigène de Forssman que contiennent les organes de l'organisme étudié et ne pas apparaître ainsi dans le sang.

Les recherches dont nous avons résumé les résultats, ne permettent pas de répondre à la question, si le néoplasme produit des anticorps spécifiques dans l'organisme.

Les recherches sur l'immunité acquise aux tumeurs greffées, nous apprennent que cette propriété se développe sous l'influence d'agents non spécifiques et que par conséquent elle dépend de certaines réactions générales qui peuvent être liées aux fonctions de la rate et de l'appareil réticulo-endothélial.

Dans l'organisme atteint de néoplasme, il se produit des changements intéressant la composition chimique du sérum du sang, ainsi que d'autres, en rapport avec ses propriétés physico-chimiques, toutefois ces changements ne sont pas spécifiques.

On ignore également jusqu'ici comment ont lieu dans l'organisme atteint de néoplasme les processus de la formation des anticorps, c'est-à-dire on ne sait pas comment ceux-ci sont produits sous l'action de différents antigènes et comment ils sont liés. Toutefois, lorsqu'on tient compte des changements que subissent la composition chimique et le système colloïdal du sang, puis lorsqu'on ne perd pas de vue le rapport entre le développement et la croissance de néoplasme d'une part et les fonctions de l'appareil réticulo-endothélial de l'autre, il est permis de supposer que ce néoplasme a de l'influence sur la marche des différents processus en rapport avec la production des anticorps dans l'organisme. Il résulte également des recherches d'Auler et de Pelczar, que les processus en rapport avec l'immunité pendant les différentes périodes de celle-ci, exercent une influence considérable sur le développement et la croissance de la tumeur greffée.

Il appert de ce qui précède, que nous ignorons si la résistance au néoplasme se développe sur un fond spécifique, ou s'il faut l'expliquer par des changements non spécifiques dont l'organisme est le siège.

Comme la production des hétérohémolysines dans l'organisme atteint de néoplasme est une d'entre les réactions immunisatrices et comme les néoplasmes contiennent l'antigène de Forssman j'ai voulu contribuer à élucider le problème en question, en exécutant les recherches dont on lira le résumé.



**Partie expérimentale.**

J'ai entrepris mes recherches sur des rats porteurs de greffes de sarcome ou d'épithélioma. J'ai tâché de connaître les conditions dans lesquelles a lieu la production des hémolysines des globules rouges du mouton dans l'organisme porteur de tumeur et j'ai voulu me rendre compte du rapport entre l'antigène de Forssman que contiennent les tumeurs et les anticorps hémolytiques, aussi bien à l'état normal, que lorsqu'ils sont produits à la suite de la sensibilisation des animaux avec des globules rouges de mouton.

Dans ce but, j'ai fait des recherches pour me rendre compte si vraiment et dans quelle mesure les hémolysines des globules rouges du mouton apparaissent dans le sérum d'animaux non sensibilisés avec ces globules et porteurs de greffe de sarcome ou d'épithélioma; j'ai étudié ensuite les différences entre les propriétés hémolytiques du sérum d'animaux sains, sensibilisés avec des globules rouges de mouton, et les mêmes propriétés du sérum d'animaux porteurs de sarcome ou d'épithélioma, sensibilisés de la même manière avec les mêmes globules; enfin, en inoculant des néoplasmes d'animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton à des animaux non sensibilisés, j'ai voulu me rendre compte si la propriété dont jouissent les néoplasmes de déclencher la production d'hémolysines n'a pas subi de changements après la sensibilisation avec des globules rouges d'animaux, porteurs de tumeurs.

J'ai donc déterminé les propriétés hémolytiques et complémentaires du sang:

- 1) de rats sains,
- 2) de rats porteurs de sarcome de Jensen;
- 3) de rats porteurs d'épithélioma de Flexner;
- 4) de rats sensibilisés avec des globules rouges de mouton;
- 5) de rats auxquels on avait inoculé le sarcome de Jensen, ainsi que l'épithélioma de Flexner, et qu'on avait sensibilisés avec des globules rouges de mouton;
- 6) de rats sains, auxquels j'avais inoculé le sarcome de Jensen et l'épithélioma de Flexner, provenant d'animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton.

### Méthodes.

Je déterminais le titre hémolytique du sérum de rats, d'après les méthodes recommandées par Sachs pour étudier les propriétés hémolytiques et complémentaires du sérum actif de rats, ainsi que celles du sérum inactivé pendant 30 minutes à 56° C et après y avoir ajouté le complément sous forme de sérum de cobaye. Pour pouvoir observer l'action complémentaire du sérum de rats, je me servais de sérum hémolytique titré de cheval, que j'avais obtenu de l'Institut Pasteur et auquel j'ajoutais en qualité de complément, du sérum de rat, ou bien en vue d'un contrôle, du sérum de cobaye.

J'étudiais les propriétés hémolytiques du sérum de rats sains ou porteurs de néoplasmes, que j'avais sensibilisés avec des globules rouges de mouton, au plus tôt 5 jours, d'habitude 12 à 25 jours et au plus tard 70 jours, après la dernière injection de globules. Je déterminais toujours par comparaison parallèle le titre de l'ambocepteur hémolytique et du complément chez des rats sains et chez d'autres porteurs de néoplasme, mais non sensibilisés avec des globules rouges, puis chez des rats sains et chez les mêmes animaux carcinomateux, sensibilisés avec des globules rouges de mouton. Je déterminais en outre en vue d'un contrôle, le degré de l'hémolyse des globules rouges de mouton, par le sérum hémolytique inactivé de cheval, additionné de sérum de cobaye et d'une solution de chlorure de sodium. Dans les expériences de contrôle, je me servais de sérum du même cobaye.

Dans les recherches sur l'hémolyse, je me servais de globules rouges et de sérum dont la quantité et le degré de dilution étaient les mêmes dans toutes les expériences. Je complétais le système hémolytique jusqu'à un volume de 2.5 cm<sup>3</sup> en y ajoutant de la solution physiologique de sel commun, puis je déterminais le degré de l'hémolyse après 15 et 30 minutes et après 4 heures dans une étuve réglée à 37° C.

### Recherches expérimentales.

1. Je déterminais en appliquant la méthode indiquée ci-dessus, les propriétés hémolytiques du sérum de rats mâles sains pour le sérum actif et inactivé, avec ou sans addition de complément sous forme de sérum de cobaye. J'employais comme contrôle dans

ces expériences, du sérum hémolytique inactivé de cheval, additionné de complément de cobaye, puis du sérum pur de cet animal, enfin de la solution physiologique de sel commun. Je déterminais en outre en employant le même complément, le titre hémolytique du sérum de rat, sensibilisé avec des globules rouges de mouton.

Je déterminais la quantité de complément dans le sérum de rat sain, en ajoutant de ce sérum aux globules rouges de mouton, sensibilisés à l'aide de sérum hémolytique de cheval que j'ajoutais de sérum de cobaye pour servir de contrôle. J'ai encore fait des recherches pour me rendre compte si ce dernier sérum n'entrave pas l'action du complément et j'ajoutais à cet effet du sérum de rat au système hémolytique, c'est-à-dire aux globules de mouton sensibilisés avec du sérum hémolytique de cheval et additionnés de sérum de cobaye.

0.1 à 0.2 cm<sup>3</sup> de sérum de rat sain, actif après y avoir ajouté du complément (0.05 cm<sup>3</sup> de sérum de cobaye), de même que le sérum inactif après l'addition du complément, n'hémolysaient pas les globules rouges de mouton.

Après avoir ajouté 0.05 cm<sup>3</sup> de sérum de rat sain ainsi que des quantités décroissantes, c'est-à-dire 0.05, 0.025, 0.012 cm<sup>3</sup> de ce sérum aux globules rouges de mouton que j'avais additionnés de 0.05, ou de 0.02 cm<sup>3</sup> de sérum hémolytique de cheval ou encore de quantités décroissantes de celui-ci -- je n'ai pu observer d'hémolyse après que le système hémolytique eût été mis pendant quatre heures à l'étuve réglée à 37° C. J'en ai conclu que le sérum de rat sain n'avait pas de propriétés complémentaires dans ces conditions. Je n'ai pas observé d'arrêt de l'hémolyse après avoir ajouté du sérum de rat sain au système hémolytique composé de globules rouges de mouton, de sérum de cheval et de sérum de cobaye.

Il résulte de ces recherches que le sérum de rats blancs sains n'est pas doué de propriétés complémentaires suffisantes et qu'il ne contient pas les hémolysines normales des globules rouges de mouton.

2. J'ai exécuté mes recherches concernant les propriétés hémolytiques du sérum sur 12 rats porteurs de sarcome de Jensen, provenant de l'Institut Radium à Paris et sur 15 autres, porteurs de sarcome de Jensen, que m'avait fournis l'Institut pour les re-

TABLEAU I.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats sains.

10% de globules rouges de mouton	Sérum de rat normal	Sérum de Cobaye	Hémolyse après 4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		0
"	0.1 "		0
"	0.05 "		0
"	0.025 "		0
"	0.0125 "		0
"	0.0 "		0
	Sérum chauffé de rat		
"	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	0
"	0.075 "	"	0
"	0.05 "	"	0
"	0.025 "	"	0
"	0.0125 "	"	0
"	0.0 "	"	0
Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum hémolytique de cheval, après addition de sérum de rats sains.			
10% de globules rouges de mouton	Sérum de cheval <sup>1)</sup>	Sérum normal de rat	
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	0
"	0.05 "	"	0
"	0.025 "	"	0
"	0.0125 "	"	0
"	0.006 "	"	0
"	0.0 "	"	0
"	0.5 cm <sup>3</sup>	0.2 cm <sup>3</sup>	0
"	"	0.12 "	0
"	"	0.08 "	0
"	"	0.06 "	0
"	"	0.04 "	0
"	"	0.02 "	0
"	"	0.0 "	0

<sup>1)</sup> Titre hémolytique du sérum de cheval = 0.01 cm<sup>3</sup> (++++), après l'addition de 0.05 cm<sup>3</sup> sérum de cobaye.

Le tableau I et les suivants indiquent l'hémolyse caractéristique dans les expériences décrites. Tous les systèmes hémolytiques étaient complétés jusqu'au volume de 2.5 cm<sup>3</sup> par l'addition de solution physiologique de sel commun.

cherches sur le cancer à Berlin. En saignant les rats, j'examinais toujours l'état de la tumeur, je mesurais ses dimensions et tenais compte de l'époque où l'animal avait été inoculé.

J'étudiais les propriétés hémolytiques du sérum, avec ou sans addition de complément, puis celles du sérum inactivé, après y avoir ajouté du sérum de cobaye. Dans les expériences de contrôle, j'ajoutais aux globules rouges de mouton, du sérum de rats sains, puis du sérum de cobaye et de la solution physiologique de sel commun. Dans certaines épreuves, je les additionnais de sérum de rats sensibilisés avec des globules rouges de mouton, ainsi que de sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner. Pour exécuter les expériences de contrôle, j'employais toujours comme complément le même sérum de cobaye.

0.1 cm<sup>3</sup> de sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen, n'hémolysait pas les globules rouges de mouton, lorsque la croissance du néoplasme était vigoureuse et lorsque la nécrose de tumeur n'était pas avancée. Ce n'est qu'après l'application du sérum de quatre rats, chez lesquels j'ai trouvé des nécroses prononcées des tumeurs, qu'on voyait se produire une hémolyse d'intensité moyenne des globules rouges de mouton, lorsqu'on se servait de 0.1 cm<sup>3</sup> de sérum inactivé après y avoir ajouté du complément. Le sérum hémolytique de cheval provoquait l'hémolyse des globules rouges de mouton après y avoir ajouté du sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen, toutefois ce phénomène ne se produisait que lorsque la croissance de la tumeur était vigoureuse. On assistait à une hémolyse presque complète (+++), après avoir ajouté 0.05 cm<sup>3</sup> de sérum de rat. Lorsque le sarcome ne croissait pas ou était en voie de régression, 0.05 cm<sup>3</sup> de sérum de rat avait comme conséquence une faible hémolyse — (±), ou bien ne la provoquait en général pas du tout, après la sensibilisation des globules rouges avec du sérum de cheval.

Il appert de ces recherches que dans les cas où les tumeurs croissent, le sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen ne contient pas les hémolysines des globules rouges de mouton. Ces hémolysines font leur apparition dans le sérum, lorsque la tumeur est vouée à une nécrose prononcée. Les propriétés complémentaires du sérum de rats sarcomateux, apparaissent chez les animaux porteurs de sarcome

TABLEAU II.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen.

10% de globules rouges de mouton	Sérum de rat normal	Sérum de cobaye	Hémolyse après	
			1/2 h.	4 h.
0.5 cm <sup>3</sup>	0.2 cm <sup>3</sup>		0	0
"	0.1 "		0	0
"	0.05 "		0	0
"	0.025 "		0	0
"	0.0125 "		0	0
"	0.2 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	(-) +	(-) +
"	0.12 "	"	0	± 0
"	0.08 "	"	0	0
"	0.04 "	"	0	0
"	0.02 "	"	0	0
"	0.0 "	"	0	0

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum hémolytique de cheval, après l'addition de sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen.

10% de globules rouges de mouton	Sérum de cheval	Sérum normal de rat 1)	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.02 cm <sup>3</sup>	0.5 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	"	0.025 "	++	++
"	"	0.0125 "	+	+
"	"	0.06 "	0	0
"	"	0.03 "	0	0
"	"	0.0 "	0	0
	"	" 2)		
0.5 cm <sup>3</sup>	0.02 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	+	+
"	"	0.025 "	(-) +	(-) +
"	"	0.0125 "	0	0
"	"	0.06 "	0	0
"	"	0.0 "	0	0

1) Tumeur avec changements nécrotiques très peu prononcés.

2) Tumeur à l'état de résorption.

en voie de croissance. Dans le cas-là, où j'ai observé l'arrêt de la croissance des tumeurs ou bien leur régression, j'ai constaté l'affaiblissement des propriétés complémentaires du sérum.

3. Je me suis servi de 12 animaux pour étudier les propriétés hémolytiques du sérum de rats porteurs de carcinome de Flexner. En tirant le sang des rats, je tenais compte de l'état de la tumeur et de l'époque où elle avait été greffée. Je déterminais les propriétés hémolytiques du sérum actif pur, celles du sérum actif après y avoir ajouté du complément, puis les propriétés du sérum inactivé après l'addition de la même substance. Dans les expériences de contrôle, je me servais de sérum de cobaye et de solution physiologique de sel commun; j'employais en outre du sérum de rats sains et appliquais également celui de rats sensibilisés avec des globules rouges de mouton; enfin dans certaines expériences, je me servais de sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen, en administrant du complément provenant du même cobaye.

J'ai étudié de plus dans quatre expériences les propriétés complémentaires du sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, sérum que j'ajoutais aux globules rouges de mouton, sensibilisés avec du sérum de cheval.

Le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, hémolysait les globules rouges de mouton, surtout lorsque la tumeur n'était pas en état de décomposition avancée. En appliquant alors 0.05 ou 0.04 cm<sup>3</sup> de serum actif ou inactif de rat, on voyait se produire une hémolyse moyenne (++) , mais seulement après l'addition du complément. L'application de 0.05 cm<sup>3</sup> de sérum actif non additionné de complément, ne provoquait qu'une très faible hémolyse (±+).

Lorsque la tumeur était nécrosée, les propriétés hémolytiques du sérum étaient en décroissance, de sorte qu'une hémolyse d'intensité moyenne (++) se manifestait après l'application de 0.1 cm<sup>3</sup> de sérum, auquel on avait ajouté 0.05 cm<sup>3</sup> de sérum de cobaye.

Le sérum hémolytique de cheval dont la quantité administrée s'élevait à 0.025 cm<sup>3</sup>, provoquait une hémolyse presque complète (+++) après l'addition de 0.1 cm<sup>3</sup> de sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner. Comme je ne disposais pas d'un matériel approprié, je n'ai pu établir le rapport entre ces

faibles propriétés complémentaires du sérum et l'état de la tumeur.

Il ressort de ces recherches que le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, hémolyse à un degré

TABLEAU III.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner.

10% de globules rouges de mouton	Sérum normal de rat	Serum de cobaye	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	(-) ++	++++
"	0.06 "	"	(-) +	(-) ++
"	0.04 "	"	0	+
"	0.02 "	"	0	(-) +
"	0.0 "	"	0	0
Sérum chauffé de rat				
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	++	++++
"	0.06 "	"	+	(-) +++
"	0.04 "	"	0	++
"	0.02 "	"	0	
"	0.0 "	"	0	0
Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum hémolytique de cheval après l'addition de sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner.				
10% de globules rouges de mouton	Sérum hémolytique de cheval	Sérum normal de rat <sup>1)</sup>	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	"	0.05 "	++	++
"	"	0.025 "	+	+
"	"	0.012 "	+	+
"	"	0.0 "	0	0

<sup>1)</sup> Tumeur en voie de croissance.



moyen les globules rouges de mouton. Ces propriétés dépendent dans une certaine mesure de l'état de la tumeur, car les changements nécrotiques prononcés dont elle est le siège, contribuent à les affaiblir. Le sérum de rats porteurs d'un épithélioma de Flexner dispose par lui-même de faibles propriétés complémentaires, qui se manifestent après en avoir ajouté au sérum hémolytique de cheval.

4. Je me suis servi de 24 animaux sains pour étudier les propriétés hémolytiques du sérum de rats sensibilisés avec des globules rouges de mouton. J'injectais à trois reprises, à des intervalles de 4—6 jours, dans le péritoine des rats une suspension saline (1:2) de globules rouges lavés de mouton dont j'administrerais 1 cm<sup>3</sup>. J'injectais de la même façon des rats porteurs de sarcome de Jensen et de l'épithélioma de Flexner.

J'étudiais le sérum des animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton entre le 6<sup>e</sup> et le 36<sup>e</sup> jour après la dernière injection de ces globules. Je déterminais les propriétés hémolytiques du sérum actif pur et du même sérum additionné de complément, puis les propriétés du sérum inactivé, après y avoir ajouté du complément. Dans les expériences de contrôle, je me servais de sérum de rats sarcomateux et carcinomateux, sensibilisés de la même façon et à la même époque avec des globules rouges de mouton, puis de sérum de cobaye et d'une solution physiologique de sel commun.

Le sérum hémolytique inactivé provoquait une hémolyse presque complète (+++) lorsqu'on en appliquait 0.025 cm<sup>3</sup> avec addition de complément (sérum de cobaye) dont la quantité s'élevait à 0.05 ou à 0.02 cm<sup>3</sup>.

L'application de 0.1 cm<sup>3</sup> de sérum actif non additionné de complément ne provoquait qu'une très faible hémolyse (±±). Il ressort de ces recherches que le titre hémolytique du sérum de rats sains sensibilisés avec des globules rouges de mouton n'était pas très élevé (l'hémolyse presque complète était produite par l'emploi de 0.025 cm<sup>3</sup> de sérum).

5. Dans le but de déclencher la production des hémolysines des globules rouges de mouton chez des rats porteurs de sarcome de Jensen, ainsi que chez d'autres, porteurs

TABLEAU IV.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats sains, sensibilisés avec des globules rouges de mouton.

10% de globules rouges de mouton	Sérum normal de rat	Sérum de cobaye	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		+++	+++
"	0.05 "		+	+
"	0.025 "		(-) +	(-) +
"	0.0125 "		0	0
"	0.006 "		0	0
	Sérum chauffé de rat	Sérum de cobaye		
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.02 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	0.05 "	"	++++	++++
"	0.025 "	"	(+) +++	++++
"	0.012 "	"	++	(+) ++
"	0.006 "	"	+	+
	Sérum normal de rat	Sérum de cobaye		
0.5 cm <sup>3</sup>	0.025 cm <sub>g</sub>	0.06 cm <sup>3</sup>	(-)++++	
"	"	0.03 "	+++	
"	"	0.01 "	(-)++	
"	"	0.005 "	(-) +	
"	"	0.0 "	0	

de l'épithélioma de Flexner, j'ai implanté à des rats les néoplasmes mentionnés pendant la période des injections de globules rouges ou immédiatement avant ces opérations. Je procédais à l'inoculation, en introduisant dans le tissu sous-cutané des morceaux de néoplasmes mesurant 3 mm. sur 4. Cette façon de sensibiliser et de greffer simultanément les animaux, par conséquent l'inoculation des tumeurs à des rats chez lesquels la production des anticorps hémolytiques n'avait pas encore eu lieu, m'a paru indiquée pour les raisons suivantes:

1°) elle permettait à la greffe de prendre, car, ainsi qu'il résulte des travaux d'Auler et de Pelczar, la greffe des tumeurs malignes réussit plus facilement chez les animaux pendant la période de sensibilisation ou immédiatement après; 2°) l'injection de substances douées de propriétés antigéniques à des animaux porteurs de néoplasmes déjà développés, exerce de l'influence sur la croissance des tumeurs et entraîne souvent des nécroses étendues; 3°) l'inoculation de néoplasmes d'animaux non sensibilisés avec des globules rouges, à d'autres qui l'ont été, rend plus difficile la greffe réussie, si elle ne l'empêche pas complètement dans certains cas, car, comme je l'ai déjà dit, cette opération provoque dans l'organisme un certain état de résistance. Cette résistance est très manifeste, surtout après des injections d'une suspension de phosphatides et d'albumine, par conséquent après avoir appliqué un mélange doué des propriétés d'un antigène lipoïdique. Les globules rouges de mouton contiennent également un antigène pareil.

J'étudiais le sérum des animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton auxquels j'avais inoculé les néoplasmes, entre le 6<sup>e</sup> et le 36<sup>e</sup> jour après la dernière injection de ces globules. Je déterminais le titre hémolytique du sérum: de 18 rats porteurs de sarcome de Jensen, enfin de 13 rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, tous ces animaux ayant été préalablement sensibilisés avec des globules rouges de mouton. En saignant les rats, j'observais chaque fois l'état de la tumeur et je notais ses dimensions. Je déterminais les propriétés hémolytiques du sérum actif et du sérum additionné de complément, puis les propriétés du sérum inactivé, après y avoir ajouté de cette substance. Dans les expériences de contrôle, je me servais de sérum de rats sains, sensibilisés de la même façon et à la même époque avec des globules rouges de mouton, puis de sérum de cobaye et d'une solution physiologique de sel commun.

Le sérum hémolytique actif de rats porteurs de sarcome de Jensen, provoquait une hémolyse pour ainsi dire complète (+++), lorsqu'on en appliquait 0.1 cm<sup>3</sup>, sans addition de complément sous forme de 0.05 ou de 0.02 cm<sup>3</sup> de sérum de cobaye.

L'hémolyse des globules rouges de mouton était par conséquent plus intense lorsqu'on appliquait du sérum actif de rats sarcomateux sensibilisés avec les dits globules, que lorsqu'on se

servait de sérum actif de rats sains, sensibilisés de la même façon, sans addition de complément. En revanche, les propriétés hémolytiques du sérum inactif étaient moins fortes que celles de la même quantité de sérum de rats sains, sensibilisés avec des globules rouges de mouton. J'ai pu observer chez plusieurs animaux que le titre hémolytique était peu élevé ( $0.05 \text{ cm}^3$ ,  $\pm +$ ) après l'addition de sérum, tandis que les propriétés complémentaires ne variaient pas. Lorsque la tumeur cessait de croître, les propriétés hémolytiques devenaient un peu plus prononcées ( $+++$ ) quand on appliquait  $0.05 \text{ cm}^3$  de sérum.

Ainsi, chez les rats porteurs de sarcome de Jensen, que j'avais sensibilisés avec des globules rouges de mouton, le titre hémolytique du sérum était un peu moins élevé que chez les rats sains sensibilisés de la même façon. Les propriétés complémentaires dépendaient en général de l'état de la tumeur, dont la nécrose ne faisait pas baisser le titre hémolytique du sérum.

Le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner que j'avais sensibilisés avec des globules rouges de mouton, hémolysait ceux-ci au même degré, si ce n'est plus fortement, que le sérum de rats sains sensibilisés par le même procédé. On voyait apparaître l'hémolyse complète ( $\pm + + +$ ), après avoir appliqué  $0.2 \text{ cm}^3$  de sérum inactivé, auquel on avait ajouté  $0.05 \text{ cm}^3$  de complément. L'hémolyse se produisait un peu plus vite qu'après l'application de sérum de rats sains; on pouvait l'observer en effet déjà après 10 à 15 minutes.

On voit se manifester dans les résultats de ces expériences, la différence entre le sérum d'animaux sensibilisés avec des globules rouges, auxquels on avait inoculé un carcinome et le sérum de rats sensibilisés par le même procédé, auxquels on avait greffé un sarcome. Tandis que chez les animaux sarcomateux les propriétés hémolytiques du sérum étaient un peu moins prononcées que chez les rats sains, sensibilisés avec des globules rouges de mouton et que ses propriétés complémentaires étaient manifestes — on voyait chez les animaux porteurs de l'épithélioma de Flexner les propriétés hémolytiques du sérum plus développées, sans un renforcement sensible des propriétés complémentaires. Il semble que l'action hémolytique dépend dans une

TABLEAU V.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen et sensibilisés avec des globules rouges de mouton.

10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> de globules rouges de mouton	Sérum normal de rat <sup>1)</sup>	Sérum de cobaye	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		++++	++++
"	0.05 "		+++	(+)+++
"	0.025 "		+	(+)+
"	0.0125 "		0	(-)+
"	0.006 "		0	0
"	0.0 "		0	0
	Sérum chauffé de rat	Sérum de cobaye		
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.02 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	0.05 "	"	(+)+++	(-)+++
"	0.025 "	"	+++	+++
"	0.012 "	"	(-)+	+
"	0.006 "	"	0	0
Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum hémolytique de cheval, additionné de sérum de rats porteurs de sarcome de Jensen et sensibilisés avec les globules rouges de mouton.				
10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> de globules rouges de mouton	Sérum chauffé de cheval	Sérum normal de rat	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.01 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	"	0.025 "	(-)+++	+++
"	"	0.012 "	+++	+++
"	"	0.006 "	+	+
"	"	0.003 "	0	0
"	"	0.0 "	0	0

certaine mesure de l'état de la tumeur, car elle est moins intense lorsque l'épithélioma de Flexner est le siège de changements nécrotiques prononcés. Quant à la nécrose du sarcome de Jensen, elle ne fait pas diminuer les propriétés hémolytiques du sérum.

1) Tumeur en voie de croissance.

TABLEAU VI.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner et sensibilisés avec des globules rouges de mouton.

10% de glo- bules rouges de mouton	Sérum normal de rat <sup>1)</sup>	Sérum de co- baye	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		++++	++++
"	0.05 "		+++	+++
"	0.025 "		++	++
"	0.0125 "		+	+
"	0.0125 "		0	0
"	0.0 "		0	0
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	0.05 "	"	++++	++++
"	0.025 "	"	(+)++++	++++
"	0.012 "	"	+++	(+)+++
"	0.0 "	"	0	0
	Sérum chauffé de rat <sup>1)</sup>			
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	0.05 "	"	++++	++++
"	0.025 "	"	+++	+++
"	0.00 "	"	0	0
	Sérum normal de rat <sup>2)</sup>			
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		+++	+++
"	0.05 "		(-)+++	+++
"	0.025 "		(-)++	(-)++
"	0.0 "		0	0
0.05 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	+++	+++
"	0.05 "	"	(-)+++	+++
"	0.025 "	"	(+)++	+++
"	0.0 "	"	(+)0	0
	Sérum chauffé de rat <sup>2)</sup>			
0.05 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	+++	+++
"	0.05 "	"	(-)+++	+++
"	0.025 "	"	++	+++
"	0.0 "	"	0	0

<sup>1)</sup> Tumeur en voie de croissance.

<sup>2)</sup> Tumeur nécrotisée.

6. J'ai étudié sur 18 rats, les propriétés hémolytiques du sérum d'animaux non sensibilisés avec des globules rouges de mouton, auxquels j'avais inoculé le sarcome de Jensen et l'épithélioma de Flexner d'animaux sensibilisés. Les greffes ne prenaient en général que difficilement.

J'ai fait des recherches sur le sérum de 8 rats porteurs de sarcome de Jensen et sur celui de 10 autres, chez lesquels s'était développé l'épithélioma de Flexner après implantation. Je déterminais l'action du sérum actif et du sérum inactivé après y avoir ajouté du complément. Dans les expériences de contrôle, je me servais de sérum de rats non sensibilisés avec des globules rouges de mouton auxquels j'avais inoculé l'épithélioma de Flexner et le sarcome de Jensen de rats également non sensibilisés, puis de sérum de rats sains sensibilisés avec les mêmes globules rouges. Je notais l'état de la tumeur en saignant les animaux.

Le sérum des rats non sensibilisés, auxquels j'avais inoculé le sarcome de Jensen d'animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton, n'hémolysait pas ces globules pendant la croissance des tumeurs, lorsque celles-ci n'étaient pas le siège de changements nécrotiques prononcés. On pouvait observer une hémolyse d'intensité moyenne, dans les cas où ces changements se produisaient dans le néoplasme.

Le sérum de rats non sensibilisés avec des globules rouges auxquels j'avais greffé l'épithélioma de Flexner d'animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton, produisait l'hémolyse de ceux-ci à un degré plus fort que ne le faisait le sérum d'animaux sains sensibilisés de la même façon. On pouvait observer une hémolyse complète (++++) après avoir administré 0.02 cm<sup>3</sup> de sérum. Le rapport de dépendance entre le degré de l'hémolyse et l'état de la tumeur était alors très manifeste. Comme j'ai eu déjà l'occasion de le dire, la greffe des tumeurs d'animaux sensibilisés avec des globules rouges, inoculées à des animaux non sensibilisés, réussit plus rarement et l'on voit ces néoplasmes offrir le tableau d'une dégénérescence kystique. Lorsque j'avais observé une dégénérescence avancée des néoplasmes en saignant les animaux, je pouvais constater une hémolyse d'intensité moyenne

TABLEAU VII.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats normaux, inoculés avec le sarcome de Jensen, provenant d'un rat sensibilisé avec les mêmes globules rouges.

10% de globules de mouton	Sérum normal de rat <sup>1)</sup>	Sérum de co-baye	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		0	0
"	0.05 "		0	0
"	0.025 "		0	0
"	0.012 "		0	0
"	0.0 "		0	0
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	(-)+++	++
"	0.06 "	"	+	+
"	0.04 "	"	(-)+	(-)+
"	0.02 "	"	0	0
"	0.01 "	"	0	0
	Sérum chauffé de rat <sup>1)</sup>	Sérum de co-baye		
0.5 cm <sup>3</sup>	0.06 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	+	++
"	0.04 "	"	(-)+	(-)++
"	0.02 "	"	0	(-)+
"	0.0 "	"	0	0
	Sérum normal de rat <sup>1)</sup>	Sérum de co-baye		
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		0	0
"	0.05 "		0	0
"	0.03 "		0	0
"	0.02 "		0	0
"	0.01 "		0	0
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	(-)+++	++
"	0.05 "	"	(-)+	+
"	0.03 "	"	(-)+	(-)+
"	0.02 "	"	0	0
"	0.01 "	"	0	0
"	0.0 "	"	0	0

<sup>1)</sup> Tumeur nécrotique en voie de régression.



TABLEAU VIII.

Hémolyse des globules rouges de mouton par le sérum de rats normaux, inoculés avec l'épithélioma de Flexner, provenant d'un rat sensibilisé avec les mêmes globules rouges.

10% de globules rouges de mouton	Sérum normal de rat <sup>1)</sup>	Sérum de cobaye	Hémolyse après	
			1/2 h	4 h
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	—		++
"	0.06 "	—		+
"	0.04 "	—		0
"	0.02 "	—		0
"	0.0 "	—		0
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	0.06 "	"	++++	++++
"	0.04 "	"	(-)++++	++++
"	0.02 "	"	++++	++++
"	0.0 "	"	0	0
Sérum chauffé de rat <sup>1)</sup>				
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++++	++++
"	0.06 "	"	(+)++++	++++
"	0.04 "	"	(+)++++	++++
"	0.02 "	"	++++	++++
"	0.0 "	"	0	0
Sérum normal de rat <sup>2)</sup>				
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>		0	0
"	0.06 "		0	0
"	0.04 "		0	0
"	0.02 "		0	0
"	0.0 "		0	0
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++	++
"	0.06 "	"	+	(-)+
"	0.04 "	"	(-)+	+
"	0.02 "	"	0	0
"	0.01 "	"	0	0
Sérum chauffé de rat <sup>2)</sup>				
0.5 cm <sup>3</sup>	0.1 cm <sup>3</sup>	0.05 cm <sup>3</sup>	++	++
"	0.06 "	"	+	(+)+
"	0.04 "	"	(-)+	(-)+
"	0.02 "	"	0	(-)+
"	0.01 "	"	0	0
"	0.0 "	"	0	0

1) Tumeur en voie de croissance.

2) Tumeur en partie nécrotique.

(+++) en appliquant 0.01 cm<sup>3</sup> de sérum, ou dans un cas, une faible hémolyse (±+).

Il appert de ces recherches que le sérum d'animaux auxquels j'avais inoculé l'épithélioma de Flexner de rats sensibilisés avec des globules rouges de mouton, contenait une plus forte quantité d'hémolysine que celui d'animaux inoculés avec la même tumeur d'animaux non sensibilisés avec des globules rouges de la même espèce. La nécrose prononcée de la tumeur affaiblissait l'action hémolytique du sérum.

Trois fois, après une période assez longue qui avait suivi la sensibilisation, j'ai réussi à inoculer à des animaux sains sensibilisés avec des globules rouges de mouton, l'épithélioma de Flexner, provenant d'animaux sensibilisés avec des globules rouges. Lorsque les tumeurs qui croissaient difficilement, s'étaient développées, le sérum des animaux inoculés hémolysait à peine les globules rouges de mouton, de sorte que quand on appliquait 0.1 cm<sup>3</sup> de sérum, le titre hémolytique correspondait à ± 0. Comme le nombre des animaux étudiés était restreint, les résultats de ces recherches ne sauraient être considérés comme probants.

#### Discussion des résultats.

Il ressort des expériences décrites ci-dessus, que le sérum de rats sains n'a pas de propriétés complémentaires par rapport à l'ambocepteur hémolytique du sérum de cheval, tandis que le sérum de rats porteurs de tumeurs greffées en dispose et qu'elles sont surtout manifestes dans le sérum de rats sarcomateux, notamment dans les cas où les néoplasmes croissent.

Les recherches exécutées jusqu'à présent, ne permettent pas de se prononcer sur la nature des changements mentionnés, intéressant les propriétés complémentaires dont jouit le sérum du rat sain.

Les variations que subit la quantité d'alexines et le rôle que jouent ces substances dans différents processus en rapport avec la résistance aux néoplasmes, ne sont pas suffisamment connus. Wasserman, Nolf et Pagnèz admettent que l'action complémentaire du sérum est très importante dans l'immunité. Néanmoins, on n'a pas réussi à prouver qu'il y a un rapport direct

entre la teneur du sérum en complément et la résistance de l'organisme. Le sang des animaux qui succombent au charbon, contient le complément en plus grande quantité d'après Bordet, que le sang d'animaux sains.

Les résultats des recherches sur la nature de certaines réactions de l'organisme, notamment les faits observés par Potthof et Kahn, par Lehman, Facius et autres, nous ont appris que le sang d'animaux porteurs de néoplasmes et d'hommes qui en sont atteints, subit certains changements intéressant aussi bien la quantité d'albumines et le rapport entre ces substances, que le degré de leur dispersion, puis, que les lipoides sont appelés à jouer ici un rôle important. Les résultats des investigations sur la répartition des différents lipoides entre les albumines du sérum, suivant la quantité de ces dernières, témoignent en faveur de cette opinion (Kate Frankenthal).

Les réactions au cours desquelles on put observer un affaiblissement des propriétés du sérum dans l'organisme atteint de néoplasme, propriétés qui arrêtent l'hémolyse que provoquent la saponine, le venin du cobra, l'oléate de sodium etc., sont censées dépendre de la diminution de la quantité de cholestérine dans le sérum de l'organisme atteint de néoplasme.

Le rapport de l'action complémentaire du sérum de rat et le genre ainsi que l'état de la tumeur, peuvent s'expliquer par conséquent par des changements secondaires intéressant la composition du sérum.

Comme je n'ai pas observé d'action complémentaire du sérum de rats sains et comme d'autre part je l'ai constatée pour le sérum des rats chez lesquels se développaient les sarcomes de Jensen de même que l'épithélioma de Flexner, il faut l'attribuer uniquement aux modifications par suite de l'influence qu'exercent sur l'organisme le sarcome et l'épithélioma, ainsi qu'aux différents états dans lesquels se trouvent ces tumeurs, soit à leur croissance ou à leur régression.

On ne saurait donner de réponse à la question, s'il est possible d'expliquer l'augmentation de la quantité de complément, uniquement par les changements que subit le métabolisme des lipoides dans l'organisme atteint d'un néoplasme. Il est permis de supposer que la diminution de la quantité de cholestérine dans le sang d'animaux porteurs de néoplasmes, entraîne une action

complémentaire plus intense du sérum. L'arrêt de la croissance des tumeurs et la résorption des lipoides dont, comme nous savons elles sont plus abondamment pourvues que les tissus normaux, peuvent faire augmenter la quantité de cholestérine que renferme le sérum et affaiblir ainsi ses propriétés complémentaires. Néanmoins, il faut également tenir compte d'autres agents capables d'entrer en jeu pendant la résorption des parties décomposées des néoplasmes. La désagrégation des tissus peut notamment abaisser la tension superficielle du sérum, augmenter son action antihémolytique et antitrypsique, élever sa teneur en globulines, etc.

Les résultats des recherches sur les changements que subissent les propriétés complémentaires du sérum en rapport avec différents états morbides et avec l'action d'agents non spécifiques, permettent de supposer que les variations des propriétés complémentaires que nous avons établies au cours de nos expériences, peuvent dépendre des changements qui se produisent dans la composition chimique et le système colloïdal du sérum dans l'organisme porteur d'une tumeur maligne.

Les faits relatés ci-dessus n'expliquent pas la production des hémolysines dans l'organisme atteint d'un épithélioma. D'autres recherches jettent de la lumière sur la nature du rapport entre les néoplasmes et leur état d'une part, et la production des hémolysines des globules rouges de mouton, de l'autre.

Nous apprenons par nos expériences, que le sérum du rat sain ne contient pas les hémolysines normales des globules rouges de mouton. Friedman, H. Schmidt et d'autres, qui répartissent les animaux en deux groupes en ce qui concerne les propriétés hémolytiques du sang et la teneur des organes en antigène lipoïdique de Forssman, rangent le rat dont les organes en sont privés, dans le groupe du lapin. Or, d'après ce classement, le sérum de rat devrait renfermer les hémolysines des globules rouges de mouton. Cependant, il ressort de nos recherches que le sérum de rat ne contient pas ces hémolysines. Cette absence est confirmée par les recherches de Rubinstein, de l'école de Kritschewski, qui n'a pas observé chez le rat les hémolysines des globules rouges normaux de mouton, mais a fourni en revanche la preuve que le sérum de rat contient les hémolysines des globules rouges de la poule (antigène de Kritschewski).

Nous ne pouvons donc pas ranger sans faire de restrictions, le rat dans le groupe du lapin, comme le voudrait Friedeman.

L'absence des hémolysines normales des globules rouges de mouton dans le sérum du rat sain, tranche définitivement la question de savoir s'il faut considérer les hémolysines de ces globules que contient l'organisme atteint de carcinome, comme des hétérohémolysines normales ayant apparu en plus grande quantité sous l'action non spécifique du néoplasme, ou si elles sont des anticorps dont la production a été déclenchée par la tumeur. Comme le sérum de rats sains est dépourvu des hémolysines normales des globules rouges de mouton et comme ces substances apparaissent dans celui de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, il est probable que le néoplasme déclenche leur production et qu'il ne renforce pas l'action des hémolysines normales, uniquement grâce à l'action non spécifique de la tumeur. On comprend par conséquent pourquoi le titre hémolytique du sérum de rats sains est relativement peu élevé après avoir sensibilisé ces animaux avec des globules rouges de mouton. En effet, ce titre était inférieur à 0.02 dans plusieurs expériences, tandis que chez des animaux, tels que le lapin, dont le sérum contient les hémolysines normales des globules rouges de mouton, il était supérieur à 0.001 après la sensibilisation.

Après avoir injecté aux rats des globules rouges de mouton, on voyait dans nos expériences, apparaître des hémolysines spécifiques ainsi que des anticorps agissant également sur les lipides. Ces substances étaient produites en effet sous l'influence des globules rouges de mouton, qui renferment eux aussi l'antigène lipoïdique de Forssman. D'autre part, comme les hémolysines apparaissant chez les animaux porteurs d'un épithélioma de Flexner, jouissaient de la propriété d'hémolyser les globules rouges de mouton et étaient produites sous l'influence du néoplasme, nous devons admettre que celui-ci était doué des propriétés de l'antigène de Forssman. Ainsi que l'apprennent nos recherches, l'apparition, respectivement la disparition, des hémolysines dans le sérum d'animaux porteurs de néoplasmes, dépend non seulement de l'espèce de la tumeur, mais elle est également en rapport avec son état. J'ai observé en effet, que les hémolysines apparaissaient dans le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, mais qu'on ne trouvait pas dans celui d'ani-

maux porteurs de sarcome de Jensen, dans les cas de croissance de ces tumeurs.

Ces substances faisaient leur apparition, mais en petite quantité seulement, lorsque les sarcomes étaient nécrotisés. J'ai encore observé que l'épithélioma de Flexner d'un animal sensibilisé avec des globules rouges de mouton, que j'avais inoculé à un rat non sensibilisé, renforçait à un plus haut degré l'action hémolytique du sérum, que ne le faisait le même carcinome d'un animal non sensibilisé, que je greffais ensuite sur un rat qui ne l'avait également pas été. Dans des expériences analogues que j'ai exécutées en me servant de rats porteurs de sarcome de Jensen, on ne voyait pas apparaître les hémolysines dans le sérum d'animaux auxquels j'avais inoculé le même sarcome de rats sensibilisés avec des globules rouges de mouton. A cet égard également, le sarcome et le carcinome offrent par conséquent certaines différences.

Nous pouvons donc admettre que le sarcome de Jensen n'est pas doué du pouvoir de déclencher la production d'hémolysines dans les cas de croissance de ce néoplasme. Ce pouvoir se manifeste, quoique à un faible degré, seulement pendant la nécrose de la tumeur.

Il est permis de supposer que l'antigène de Forssman que renferment les cellules sarcomateuses sous une forme inactive, ne déclenche la production d'hémolysines que pendant la désagrégation de la tumeur, c'est-à-dire probablement après la mise en liberté des lipoïdes que contiennent les cellules sarcomateuses.

Les rats sarcomateux jouiraient par conséquent de propriétés particulières aux animaux du groupe du cobaye, dont les organes renferment l'antigène de Forssman et dont le sérum est privé d'hémolysine normale. Cet antigène ne fait pas apparaître les hémolysines normales chez le cobaye. On réussit à l'isoler en l'extrayant des organes avec de l'éther, ou en injectant aux animaux immunisés une suspension de tissus des organes du cobaye.

La supposition d'après laquelle le sarcome pourrait contenir l'antigène de Forssman est encore corroborée par le fait que le titre hémolytique du sérum de rats auxquels on avait inoculé les sarcomes de Jensen et qu'on avait sensibilisés avec des globules rouges de mouton, était généralement un peu moins élevé que celui du sérum de rats sains sensibilisés de la même

façon. Nous savons que la quantité des hémolysines des globules rouges de mouton est plus petite dans l'organisme dont les organes contiennent de l'antigène de Forssman, que dans celui qui en est privé. Ce phénomène s'explique probablement par la circonstance que les hémolysines sont liées à l'antigène des organes. Mes recherches ne permettent pas de résoudre la question de savoir, si les hémolysines produites dans l'organisme d'un rat porteur de sarcome de Jensen, se combinent avec l'antigène que renferme la tumeur.

Les hétérohémolysines apparaissent dans le sérum de rats sarcomateux dans les cas de nécrose de ce néoplasme, tandis que chez les animaux porteurs de l'épithélioma de Flexner, elles se manifestent dans les cas où la nécrose des tumeurs n'était pas prononcée.

Ichivara a constaté que la réaction de méiostagmine d'Izar et d'Ascoli se manifeste chez les rats sarcomateux souvent après 20 jours ou plus tard, en tous cas presque toujours dans l'espace de 40 jours après l'inoculation de la tumeur, par conséquent pendant la période où la nécrose du sarcome de Jensen dont la croissance, assez rapide chez le rat, est assez prononcée. Le moment où la réaction de méiostagmine apparaît chez les rats sarcomateux, coïncide ainsi avec la période de la production des hémolysines, en d'autres termes, il correspond à 26, 28, 31, 34 jours etc. après la greffe de la tumeur. On peut expliquer ce phénomène, en supposant que les lipoides des cellules sarcomateuses à l'état vivant, ne sont pas doués de propriétés antigéniques et qu'ils ne les acquièrent qu'après la nécrose de ces cellules.

La question relative à la production des hétérohémolysines dans l'organisme d'animaux porteurs d'un épithélioma de Flexner, se présente sous un aspect différent. J'ai d'abord pu établir la présence des hémolysines des globules rouges de mouton dans le sérum d'animaux porteurs de ce néoplasme, puis j'ai constaté une hausse du titre hémolytique du sérum après avoir sensibilisé les animaux avec des globules rouges. La décomposition de la tumeur entraînait une baisse du titre hémolytique du sérum d'animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton et l'on voyait également baisser le titre du sérum de rats non soumis à la sensibilisation. Cette baisse était surtout prononcée pour le

sérum de rats non sensibilisés, auxquels j'avais inoculé des tumeurs d'animaux sensibilisés. Nous pouvons admettre que la greffe d'un néoplasme déclenche dans l'organisme la production d'anticorps hémolytiques, par conséquent elle y fait apparaître des anticorps hétérogénétiques. Les recherches de Lehman-Facius, puis celles de Kritschewski et Rubinstein, ont jeté de la lumière sur cette question. Ces auteurs ont pu constater en effet qu'un extrait de lipoïdes tirés du néoplasme, en particulier la fraction alcoolique de l'extrait, jouit de la propriété de lier les anticorps lipoïdiques et d'absorber avec les hémoly-sines des globules rouges de mouton. Les anticorps agissent par conséquent non seulement sur ces globules rouges, mais exercent également une action sur les lipoïdes de la tumeur.

Je venais de finir la présente étude, lorsque parurent les travaux de Hirszfeld, de Mlle Halber et de Laskowski, dont il résulte que le néoplasme (l'épithélioma de l'homme) renferme des lipoïdes doués de propriétés d'antigènes hétérogènes et qu'ils peuvent même se manifester dans les organes qui ne les renferment pas d'habitude.

En dehors de la présence d'antigène hétérogène dans le cancer, ces auteurs ont constaté que dans certains cas, ce néoplasme renferme un antigène lipoïdique spécifique. Le caractère spécifique de cet antigène consisterait dans le fait que cette substance déclenche la production d'anticorps qui ne réagissent pas avec les antigènes lipoïdiques des organes sains de l'homme, mais bien avec ceux que contiennent les organes carcinomateux. Le fait que le carcinome contient un antigène spécifique est la preuve des propriétés à part de cette tumeur par rapport à l'organisme entier.

Comme le sérum de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, hémolyse *in vitro* les globules rouges de mouton et comme d'autre part l'ambocepteur hémolytique n'est pas lié dans les mêmes conditions à l'antigène lipoïdique que contient la cellule vivante du néoplasme, il nous faut admettre que celle-ci n'est pas douée de la propriété de lier l'ambocepteur agissant sur elle. Cette supposition est corroborée par les résultats des recherches sur la réaction de Freund et de Mlle Kaminer, résultats d'après lesquels le sérum de personnes saines qui renferme l'agent lytique jouissant de la propriété d'un ambocepteur, ne dissout pas



les cellules carcinomateuses tout à fait fraîches, mais n'exerce une action dissolvante que sur les cellules néoplasiques mortes. J'ai pu établir dans le courant de mes recherches que la quantité des ambocepteurs diminue pendant la décomposition de l'épithélioma de Flexner et qu'on observe un certain affaiblissement des propriétés hémolytiques du sérum à la suite de cette diminution.

Nous pouvons supposer que les propriétés antigéniques du néoplasme disparaissent au fur et à mesure qu'il se décompose. Cette supposition n'explique pourtant pas la diminution de la quantité des hémolysines du sérum, respectivement la disparition de ces substances, car nous savons qu'une fois que les anticorps ont été formés, ils se maintiennent pendant un temps assez long, même lorsque l'antigène a cessé d'agir. Il est donc permis d'admettre que les anticorps hémolytiques se combinent avec les lipoides mis en liberté après la dégénérescence du néoplasme, en d'autres termes, que les lipoides que contient l'épithélioma de Flexner, ne jouissent de la propriété de lier les anticorps qu'après la désagrégation de la cellule carcinomateuse. Les lipoides correspondraient par conséquent à la fraction alcoolique de l'extrait d'organes pourvus d'antigène de Forssman. On peut s'expliquer ainsi certaines différences entre les cellules en voie de croissance de l'épithélioma de Flexner et les cellules en état de dégénérescence dans ce néoplasme. Les différences relatives au pouvoir de produire et de lier les anticorps, comme on les observe pour le sarcome et le carcinome, s'expliquent par conséquent par les caractères biologiques différents de ces néoplasmes, caractères qui dépendent probablement des différentes fractions lipoidiques que contiennent les cellules néoplasiques.

Les observations que Doerr et Pick ont enregistrées en exécutant leurs expériences, s'expliquent par cette différence. En injectant à un lapin une suspension du tissu d'un sarcome médullaire, ces auteurs purent faire augmenter en effet la quantité des hémolysines des globules rouges de mouton, tandis que la sensibilisation du sein avec un carcinome ne produisait pas le même effet. Dans l'un comme dans l'autre cas, ce n'étaient pas les cellules vivantes des néoplasmes qui jouaient le rôle d'antigène, mais bien les produits de leur désintégration dans l'organisme du lapin.

Je veux encore insister sur le fait que le sérum de rats auxquels j'avais inoculé l'épithélioma de Flexner d'animaux sensibilisés avec des globules rouges de mouton, hémolysait plus fortement ces globules que ne le faisait le sérum de rats auxquels j'avais greffé le même néoplasme de rats non soumis à la sensibilisation. On peut en conclure que grâce aux injections de globules rouges de mouton, l'épithélioma acquiert un plus fort pouvoir d'hémolyser les globules rouges de mouton que celui dont disposent les tumeurs d'animaux non sensibilisés. Ainsi, on pourrait admettre que la tumeur jouit de la propriété de lier l'antigène lipoïdique que contiennent les globules rouges de mouton.

On peut admettre que les tissus carcinomateux se distinguent par leur affinité pour certains colloïdes ou composés colloïdaux (Waterman). Le tissu néoplasique est doué à un plus haut degré de la faculté d'absorber ces substances que le tissu normal. Il est cependant difficile d'établir si l'antigène est absorbé après l'injection de globules rouges de mouton. Auler et moi, nous avons observé toutefois certains changements intéressants aussi bien la structure histologique que les propriétés biologiques de la tumeur après l'injection d'albumines ou d'un mélange d'albumines et de phosphatides. Il est donc permis de conclure que les lipoides des globules rouges liés au néoplasme, modifiaient les propriétés biologiques de celui-ci et renforçaient les propriétés de l'antigène, qui se manifestaient après la greffe de la tumeur. Comme l'antigène des globules rouges de mouton est un antigène partiel des tumeurs, l'augmentation de l'action antigénique des néoplasmes pourrait aussi bien être une conséquence de l'absorption de cette substance renfermée dans les globules rouges, qu'un effet du renforcement des propriétés des tumeurs mêmes.

Nos recherches nous autorisent à conclure que l'organisme porteur d'un épithélioma greffé produit des anticorps agissant sur les lipoides de la cellule carcinomateuse. Ces anticorps se distinguent par des caractères propres aux anticorps hétérophiles et ne sont pas l'expression immédiate de la résistance au néoplasme de l'organisme porteur de néoplasme comme ils ne la produisent pas.

La présence de ces substances dans le sérum d'animaux porteurs de néoplasmes, dépend non seulement

de la nature de la tumeur, mais aussi de l'état de celle-ci. En effet, les propriétés dont dispose la tumeur de produire et de lier les anticorps lipoïdiques, peuvent varier non seulement suivant la présence des lipoïdes dans la cellule néoplasique vivante ou suivant leur mise en liberté après la désagrégation de cette cellule, car elles peuvent changer également sous l'influence de la sensibilisation des animaux porteurs de néoplasmes avec de l'antigène lipoïdique.

### Résultats.

1) Le sérum des rats blancs sains n'a pas de fonctions complémentaires par rapport à l'ambocepteur hémolytique du sérum de cheval.

2) Le sérum de rats porteurs de greffe de sarcomes de Jensen, ne dispose de propriétés complémentaires dans le système hémolytique en présence du sérum hémolytique de cheval, que dans les cas où la tumeur était en train de croître. Dans ce sens, l'arrêt de la croissance de la tumeur ou sa résorption, sont suivis de la perte des propriétés complémentaires du sérum en question.

Les propriétés complémentaires du sérum de rats atteints d'épithélioma de Flexner sont moins prononcées et il n'est pas possible d'observer un rapport entre ces propriétés et la croissance ou la dégénérescence de la tumeur.

3) Le sérum de rats sains ne contient pas les hémolysines normales des globules rouges du sang de mouton, phénomène qui nous apprend qu'on ne doit pas ranger sans restrictions, le rat dans la catégorie des animaux faisant partie du groupe du lapin, d'après le classement de Friedeman.

4) Le sérum du sang de rats porteurs de sarcomes de Jensen à l'état de croissance, ne contient pas les hémolysines des globules rouges de mouton. Celles-ci font en revanche leur apparition dans les tumeurs en voie de dégénérescence.

Le sérum de rats atteints d'épithélioma de Flexner, contient les hémolysines des globules rouges de mouton. Elles font leur apparition dans le cas de croissance des tumeurs, et leur action devient plus faible dans les cas de leurs dégénérescence.

5) Le titre hémolytique du sérum de rats sains, sensibilisés avec des globules rouges de mouton est peu élevé, phénomène qui confirme l'absence des hémolysines normales des globules rouges de mouton. Le titre hémolytique du sérum du sang de rats porteurs de l'épithélioma de Flexner, sensibilisés de la même façon que les rats sains, est un peu plus élevé que celui de ces derniers, contrairement à ce qu'on observe pour les rats greffés avec le sarcome de Jensen, sensibilisés avec des globules rouges de mouton.

6) L'épithélioma de Flexner provenant de rats sensibilisés avec des globules rouges et transplanté à des rats non sensibilisés, élève le titre hémolytique du sérum, phénomène qu'on n'observe pas après la transplantation de l'épithélioma de Flexner provenant d'un rat normal.

Le sarcome de Jensen provenant d'un rat sensibilisé avec des globules rouges de mouton et transplanté à un rat non sensibilisé, n'élève pas le titre hémolytique du sérum.

7) Les anticorps hémolytiques d'un organisme porteur de tumeurs malignes, ont le caractère d'anticorps lipoïdiques et leur apparition dans le sérum dépend non seulement de l'espèce de la tumeur, mais aussi de l'état dans lequel elle se trouve. Le sarcome de Jensen et l'épithélioma de Flexner, diffèrent donc en ce qui concerne leur faculté antigénique. Les anticorps dont la production dans l'organisme est provoquée par les tumeurs ne réagissent pas sur la cellule vivante inaltérée, par conséquent les tentatives de provoquer l'immunité aux tumeurs uniquement par voie humorale, sans modifier les propriétés biologiques de la cellule néoplasique, ne sauraient être efficaces.

Les frais qu'entraînent les recherches ici résumées, que j'ai exécutées à l'Institut Radium à Paris et à l'Institut de Pathologie Générale et Expérimentale de l'Université des Jagellons à Cracovie, ont été couverts en partie par la Fondation de feu Paul Tyszkowski, dont dispose l'Académie polonaise des Sciences et des Lettres.

### Index bibliographique.

1. Amako T., Zt. f. Immunf. u. exp. Th. 1914. T. 22, p. 641. —
2. Auler H. u. K. Pelczar, Zt. f. Krebsf. 1928. T. 27, p. 104. —
3. Bordet, Traité de l'Immunité. Paris 1920. p. 430. —
4. Boyksen O., Zt. f. Krebsf. 1923. T. 23, p. 110. —
5. Clowes et Baeslack, Bull. de l'Inst.

Pasteur 1906. p. 847. — 6. Doerr u. Pick, Zt. f. Immunf. u. exp. Ther. 1913. T. 13. Bioch. Zt. 1913. T. 50. p. 129. Zt. f. Immunf. u. exp. Th. T. 45, p. 251. — 7. Forssman J., Bioch. Zt. 1911. T. 37, p. 78. — 8. Forssman J. u. A. Hintze, Bioch. Zt. 1912, T. 44, p. 336. — 9. Frankenthal Kate, Zt. f. Immunf. u. exp. Th. T. 44, p. 503. — 10. Friedeman, Bioch. Zt. 1917. T. 80. — 11. Freund R. u. C. Brahm, Münch. med. Woch. 1914, p. 1664. — 12. Fuld, Berl. kl. Woch. 1905. Nr. 18 et 30. — 13. Halber W. u. Hirszfeld L., Zt. f. Immunf. u. exp. Th. 1926, T. 48, p. 34, 69. — 14. Hirszfeld, Halberówna i Laskowski, Warsz. Czas. lek. 1929, p. 468. — 15. Ichivara, Zentrbl. f. Bacter. 1913. T. 71, p. 80. — 16. Kahn H., Ergebn. der inn. Med. u. Kindhk. T. 27, p. 365. — 17. Kelling, Arch. f. kl. Chirurg. 1906. T. 80, p. 77. — 18. Kritschewski S. u. Rubinstein, Zt. f. Krebsf. 1928. T. 28, p. 96. — 19. Kritschewski J., Zt. f. Immunf. u. exp. Ther. T. 36. — 20. Kritschewski J. u. Messik, Zt. f. Immunf. u. exp. Th. 1928. T. 59, p. 130. — Landsteiner K., Bioch. Zt. 1921. p. 119, p. 294. — 22. Lehman-Facius, Zt. f. Immunf. u. exp. Th. 1924. T. 40. p. 335. 1926. T. 48, p. 397. — 23. v. Leyden u. Blumenthal Ferd., Deutsch. med. Woch. 1904. p. 203. — 24. Lumsden Th., Arch. f. exp. Zellf. 1928, T. 6, p. 206. — 25. Nolf, Annales. Inst. Pasteur. 1900. T. 14, Nr. 5. — 26. Rosenbaum, Münch. med. Woch. 1908. Nr. 9, p. 443. — 27. Rubinstein, Zt. f. Immunf. u. exp. Ther. T. 50, p. 114. — 28. Pelczar et Auler, An. Soc. Sci. de Bruxelles. 1928. T. 48. — 29. Perry E. B. a. C. B., Rhodes. Journ. of inf. Diseases. 1828. T. 44, p. 61, — 30. Powell H. M., Am. Journ. Hyg., 1925. T. 5, 288. — 31. Sachs H. u. A. Klopstock, Bioch. Zt. T. 148. p. 491. — 32. Sachs H. u. A. Klopstock, Methoden der Haemolyseforsch. Abderhaldens biol. Arbmet. 1928. — 33. Schiff u. Adelsberg, Zt. f. Immunf. u. exp. Th. 40, p. 335. — 34. Schmidt H., Die heterogenetische Hammelblutantikörper u. ihre Antigene. Leipzig. 1924. — 35. Sordelli A. H. Fischer, R. Wernicke et C. Pico, C. R. Soc. Biol. 1921. T. 84, p. 173. — 36. Sterling-Okuniewski Med. i Kron. Lek. 1912. — 37. Wasserman, D. [med. Woch. 1901. — 38. Waterman N., Der heutige Stand der Chemother. u. Carcinomforsch 1926. — 39. Weichardt, Proteintherapie u. unspez. Leistungssteig. Berlin. 1923. — 40. Witebsky, Zt. f. Immunf. u. exp. Ther. T. 51, p. 161. T. 48, p. 369. — 41. Yamagiva, Katsusabaro, Shigero Tsukahara u. Shigeki Morimoto Communication de la Zt. f. Krebsf. T. 28, fascic. 6, p. 129.



*O hodowli tkanek nowotworowych poza ustrojem. — Über Tumorgewebeulturen in vitro.*

Mémoire

de **Z. ZAKRZEWSKI,**

présenté dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. K. Klecki m. c.

Die Züchtung von Tumorzellen in vitro ist schon seit langem Gegenstand intensiver Forschungen vieler Autoren. Trotzdem ist es jedoch bis jetzt noch nicht gelungen, eine Technik zu finden, die eine längere, oder auch eine Dauerzüchtung sämtlicher Tumorstämme gestatten würde.

Volpino (1) züchtete als erster schon vor 1910 ein Mäusekarzinom. 1910 erschienen die Arbeiten von Carrel und Burrows (2) über die Züchtung von Tumorgewebe in vitro. Dann erschienen die Arbeiten von Maccabruni (3), Lambert u. Hanes (4), Thomson (5), Losee u. Ebeling (6), Klecki (7), A. Fischer (8), Rhoda Erdmann (9) und anderen. Es wurde versucht, sowohl Menschen- als auch Tiermaterial zu züchten, jedoch war es infolge unüberwundener technischer Schwierigkeiten nicht möglich, auch nur zum Teil befriedigende Resultate zu erzielen.

Um den aus dem Originalfragment herauswandernden Zellen das Auswandern ins Kulturmedium möglich zu machen, züchtet man die Gewebe in geronnenem Blutplasma. Das Fibrinmaschenwerk des Gerinnsels dient den Zellen als Stützgerüst. Ohne dieses, also bloß im flüssigen Medium, ist eine Züchtung der Gewebe nicht möglich. Die Zellen runden sich ab und gehen binnen kurzer Zeit zugrunde. Nach Angaben sämtlicher Autoren liegt die Hauptschwierigkeit der Züchtung von Tumorgewebe in der Leichtigkeit, mit der bösartige Zellen das Kulturmedium verflüssigen.

Die Zellen schwimmen nach einiger Zeit in dem verflüssigten Medium und sterben ab. Man fand jedoch, daß Tumorzellen heterologes Gerinnsel nicht so leicht verflüssigen wie homologes; darum werden sie auch heutzutage von den meisten Forschern in heterologen Medien gezüchtet. So gelang es auch, einige wenige Tumorstämme längere Zeit hindurch *in vitro* zu züchten. In heterologem Medium züchtete Carrel und Ebeling (10, 11) das Rattensarkom Crocker N° 10 und das Jensen'sche Rattensarkom, A. Fischer (12) das Ehrlich'sche Mäuseadenokarzinom. Nach Angaben von Fischer (13) verflüssigen bösartige Zellen das Medium nicht so stark, wenn man sie nur mit kleinen Mengen von Embryonalextrakt züchtet. Der Grund dazu soll darin liegen, daß Embryonalextrakt in kleinen Mengen nur eine geringe Aktivität der Zellen herbeiführt. Von A. Fischer (14, 15) wurde eine neue Methode zur Züchtung von Tumorzellen ausgearbeitet. Er züchtete nämlich bösartige Zellen des Rous-Sarkoms unter Zusatz von kleinen Stückchen von Normalgewebe zum Medium. Die Tumorzellen infiltrieren das Normalgewebe und wachsen in demselben. Mit dieser Methode konnten folgende Tumorstämme längere Zeit hindurch *in vitro* gezüchtet werden:

a) Das Rous'sche Hühnersarkom. A. Fischer zeigte, daß nur sehr wenige, ja sogar eine einzige Tumorzelle genügt, um das zugesetzte Normalgewebe zu »infizieren«. Es genügt, die beiden Gewebefragmente im Medium nur kurze Zeit nebeneinander wachsen zu lassen, damit einige Sarkomzellen in das Normalgewebe eindringen. Die Tumorzellen proliferieren lebhaft in dem zugesetzten Gewebe und zerstören es binnen einigen Tagen. Beim Übertragen ins neue Medium können wieder frische Gewebefragmente zugesetzt werden, die wiederum von den Sarkomzellen durchsetzt werden. Auf diese Weise ist es leicht, die Kulturen dieser bösartigen Zellen binnen kurzer Zeit zu vervielfältigen.

b) In gleicher Weise züchtete A. Fischer (12) das schon oben erwähnte Ehrlich'sche Mäuseadenokarzinom und

c) Laser (12) die Flexner-Jobling Karzinomzellen.

Nach Angaben von Laser gelingt die Züchtung der Zellen des zuletzt genannten Karzinoms mit dieser Methode nur schwer, da die Zellen zugesetztes Normalgewebe nur schwer zu infiltrieren vermögen. Angeblich infiltrieren sie noch am besten embryonale Rattenmuskulatur.



Wie gesagt, infiltrieren die Zellen des Rous-Sarkoms so leicht das dem Medium zugesetzte Gewebe, daß eine einzige Tumorzelle ausreicht, um das Gewebe zu »infizieren«; das Ehrlich'sche Mäusekarzinom muß schon gut in das Normalgewebe hineinwachsen, um darin nach Trennung vom Originalfragment zu gedeihen; Flexner-Jobling-Karzinomzellen infiltrieren das Normalgewebe *in vitro* nur schwer und die Versuche von Lauche (17), mit dieser Methode Menschentumoren zu züchten, schlugen ganz fehl.

Aus den Ergebnissen der soeben genannten Forschungen ist ersichtlich, daß das Verhalten verschiedener Tumorzellen *in vitro* verschieden ist, daß somit die mit verschiedenen Methoden erzielten Ergebnisse nicht allgemein gültig sind und daß darum auch die biologischen Eigenschaften eines jeden Tumorstammes gesondert untersucht werden müssen. Dasselbe wurde schon von A. Fischer (18) und Carrel (19) betont. Daher auch wurden vorliegende Versuche angestellt, die die Brauchbarkeit der Methoden zur Züchtung von Tumorzellen prüfen sollten.

Als Material für die Untersuchungen diente:

- a) das Jensen'sche Rattensarkom,
- b) das Mäusekarzinom N<sup>o</sup> 63 — (Londoner Stamm)
- c) das Mäusesarkom N<sup>o</sup> 37 — (Berliner Stamm).

### Technik.

Als Kulturmedium diente sowohl Hühner-, Ratten-, Mäuse- als auch Meerschweinchenplasma mit Zusatz von Ratten- oder Mäuseserum, Hühnerembryonaleextrakt, Ringer- oder Thyrodelösung. Die Plasmagewinnung geschah unter Zusatz von Heparin oder auch ohne Heparin in eisgekühlten Zentrifugenröhrchen. Embryonaleextrakt wurde nach Angaben von A. Fischer (13) bereitet. 9 bis 10 Tage alte Hühnerembryonen wurden mit Ringerlösung gewaschen und mit einer Schere zu Brei zerschnitten. Der Brei wurde bei einer Tourenzahl von zirka 3.200 bis 3.500 pro Minute 12 Minuten lang zentrifugiert und der klare Embryonalsaft mit einer sterilen Pasteurpipette abgesogen. Es wurde womöglich immer frisch bereiteter Saft genommen. Ein schon länger als 3—4 Tage im Eisschrank aufbewahrter Embryonalsaft wurde nicht mehr benützt.

Das Tumorgewebe wurde sofort nach Entnahme vom Tiere mit Lanzettmessern in kleine Stücke von 0·5—1 mm Seitenlänge zerschnitten und in Ringerlösung übertragen.

Die Gewebe wurden sowohl an Deckgläsern in hängendem Tropfen als auch in Carrelflaschen Typ D von 3 cm Durchmesser und 10 cm<sup>3</sup> Inhalt nach A. Fischer (20) gezüchtet. Das Medium der Deckglaskulturen bestand aus einer Mischung von einem Tropfen Plasma und einem Tropfen Ringer-, Thyrodelösung, Serum oder Embryonalextrakt. In Carrelflaschen setzte sich das Medium aus einem festen Teil, dem Gerinnsel mit den darin eingebetteten Gewebefragmenten und einem flüssigen Teil, mit Ringer- oder Thyrodeflüssigkeit verdünntem Serum oder Embryonalextrakt zusammen.

Die Umsetzung der Kulturen in ein neues Medium geschah bei Deckglaskulturen je 48 bis 72 Stunden, bei Flaschenkulturen je 10 bis 12 Tage.

Die Wachstumsmessung wurde nach Ebeling (21) vorgenommen: Mit einem Zeiß'schen Zeichenapparat wurde gleich nach dem Anlegen der Kulturen der Umriss des Originalfragmentes und in einem bestimmten Zeitabstand der Umriss der ganzen Kultur gezeichnet. Darnach wurden die Flächen beider Umrisse mit einem Planimeter berechnet. Die Größe der ganzen Kultur nach einer bestimmten Zeit minus Anfangsgröße ergibt das absolute Wachstum, dieses dividiert durch die Anfangsgröße, die relative Wachstumszunahme.

Die Methode von Ebeling erlaubt zwar nicht, die absolute Massenzunahme einer Kultur zu bestimmen, gibt jedoch bei vergleichenden Messungen des Wachstums von Kulturen einer und derselben Gewebeart, in unserem Falle eines und desselben Tumoren, ganz befriedigende Resultate, da so der Versuchsfehler stets gleich bleibt.

#### **Jensensches Rattensarkom (*Sarcoma fusocellulare*).**

Wenn die Impfung angeht, wächst dieses Sarkom auf nicht rassenimmunen Ratten ziemlich schnell. Schon in einer Woche nach der Impfung entsteht ein Tumor von Haselnußgröße. Zum Anlegen von Kulturen wurden nur kleine, aus der aktiven Wachstumsphase stammende Tumoren genommen.

Angelegt wurden ungefähr 1000 Sarkomkulturen.

Als Kulturmedium der Deckglaskulturen diente ein Gemisch von einem Tropfen Hühner- und Rattenplasma zu gleichen Teilen und einem Tropfen mit Ringerlösung verdünnten Hühnerembryonalextrakt oder Rattenserum.

Ohne Embryonalextrakt, also in bloßem Serum, wächst dieses Sarkom sehr gut. In einigen Stunden nach dem Anlegen der Kulturen wandern aus dem Tumorfragment ins umgebende Medium Wanderzellen und Makrophagen aus. Diese Zellen sind sämtlichen Tumorkulturen, sowohl Sarkom wie Karzinom, gemein. Nach einigen weiteren Stunden umgibt sich das Fragment mit einem Schleier von großen, hellen, spindelförmigen Zellen, den sogenannten Sarkomfibroblasten. Die Zellen wachsen in den ersten Tagen in mehreren Schichten, bilden ein Netz um das Originalfragment und liegen am dichtesten um dieses herum. Nach 60 Stunden beträgt die relative Wachstumszunahme durchschnittlich 6 bis 7. Eine Verflüssigung des Mediums tritt nicht ein.

Die Kulturen dieses Sarkoms waren und werden jetzt noch, nach neunmonatiger Züchtung, je 48 bis 72 Stunden in ein neues Medium umgesetzt. Hierbei gibt man acht, daß die Schnitte, mit welchen man die Kulturen vom Gerinnsel trennt, womöglichst nahe dem Originalfragmente geführt werden. Zwar wächst dabei die Masse des kultivierten Gewebes nur langsam, da der größte Teil des Wachstumsareals nicht mit umgesetzt wird, jedoch erhält man dabei leicht gut wachsende Kulturen, da die Zellen an der ganzen Schnittfläche in einer dichten Schicht wachsen. Von Zellen nicht dicht genug durchsetzte Partien des Gerinnsels werden nicht mit umgesetzt und können ein regelrechtes Wachstum der Kulturen nicht verhindern. Diese Art des Umsetzens hat noch einen Vorteil. Sie macht es nämlich leicht, binnen kurzer Zeit Reinkulturen von Sarkomfibroblasten zu erhalten. Die Makrophagen wandern schnell ins umgebende Medium aus und kommen immer am meisten an der Peripherie der Wachstumszone zu liegen. Sie werden somit bei dieser Art des Umsetzens nicht mit umgesetzt. Nach einigen Passagen sind die Makrophagen in den Kulturen schon nicht mehr zu sehen. Die Kultur setzt sich ausschließlich aus großen Spindelzellen zusammen, die in einer Schicht aneinandergedrängt wachsen. Eine solche Kultur sieht einer Endothelzellenkultur ähnlich.

Die relative Wachstumszunahme beträgt nach einigen Passagen durchschnittlich 3 und bleibt auch noch bis jetzt, nach fast 9 Monaten, gleich groß.

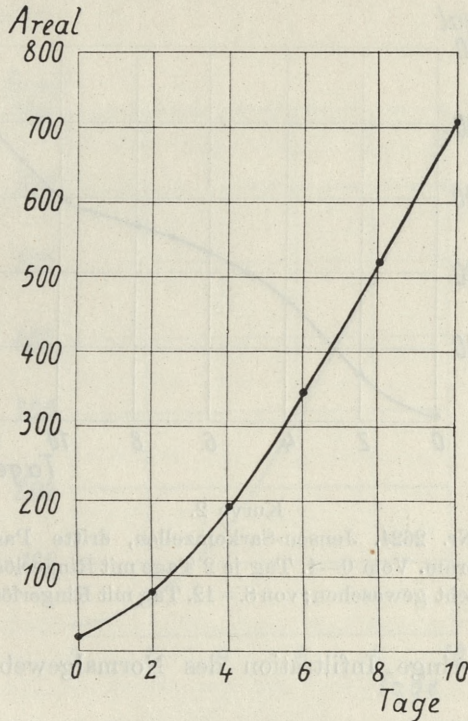
Das intensive Wachstum ist während der ersten Tage nach dem Anlegen der Kulturen nur scheinbar und wird durch das Auswandern der Zellen aus dem Originalfragment vorgetäuscht. Das anfänglich undurchsichtige Fragment wird allmählich durchscheinend. Es muß somit eine Auswanderung der Zellen mit anschließender Massenabnahme des Fragmentes stattgefunden haben. Die Untersuchungen von Klecki (7) haben gezeigt, daß das Wandern in Kulturen *in vitro* keine aktive Vitalfunktion der Zellen zu sein braucht. Daher ist auch die relative Wachstumszunahme erst nach einigen Passagen, wenn jede Größenzunahme des Kulturareals von einem wahren Wachstum begleitet wird, ein richtiges Maß der Aktivität des gezüchteten Gewebes.

Die Züchtung dieser Sarkomzellen gelingt ebensogut in einem Medium, das aus einem Gemisch von einem Tropfen Hühner- und Rattenplasma zu gleichen Teilen und einem Tropfen 12%-igen Embryonalextrakte in Ringerlösung besteht. Eine doppelt so starke Konzentration des Embryonalextraktes im Medium schädigt binnen kurzer Zeit die Kulturen.

In Carrelflaschen werden die Sarkomzellen in einem Medium gezüchtet, das aus 0.25 cm<sup>3</sup> Hühnerplasma, 0.5 cm Ringer und 0.25 cm<sup>3</sup> Rattenserum als fester Teil und 0.75 cm<sup>3</sup> einer 30%-igen Lösung von Rattenserum in Ringerlösung als flüssiger Teil besteht. Nach dem Anlegen der Kulturen wird das Gerinnsel mit 6 cm<sup>3</sup> Ringerlösung 30 Minuten lang gewaschen, um nach Angaben von Carrel daraus das heterologe Serum auszuschleiden. Der flüssige Teil wird jeden zweiten Tag gewechselt, und das Gerinnsel mit Ringerlösung gewaschen.

In diesem Medium wachsen die Sarkomzellen sehr gut. Das morphologische Verhalten der Kulturen ist dasselbe wie in Deckglaskulturen. Nach 10 Tagen wachsen schon fast nur Spindelzellen. Die Makrophagen leben nur kurze Zeit und sterben nach etwa 10 Tagen ab. Eine 10 Tage alte Kultur hat einen Durchmesser von ungefähr 9 mm. Die relative Wachstumszunahme einer solchen Kultur beträgt durchschnittlich 40. (Kurve 1). Da nach Angaben von A. Fischer (20) Kulturen bösartiger Zellen verhältnismäßig langsam wachsen, so muß das Wachstum der

Zellen des Jensen'schen Rattensarkoms als verhältnismäßig intensiv angesehen werden. Das intensive Wachstum verdanken die Kul-



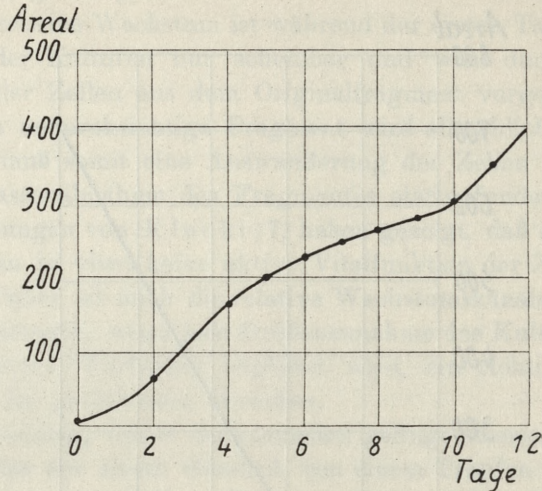
Kurve 1.

Flaschenkultur Nr. 2947. Jensen-Sarkomzellen, erste Passage. Flüssiges Medium-Rattenserum.

turen dieses Sarkoms vornehmlich den oftmals wiederholten Waschungen mit Ringerlösung. Den Effekt des Waschens der Kulturen zeigt Kurve 2.

In Carrelflaschen verflüssigen die Zellen dieses Sarkoms das Gerinnsel gar nicht. In den zentralen Partien der Kulturen sterben zwar die Zellen ab, zerfallen aber nicht. Sie verhalten sich somit anders als die Zellen des Ehrlich'schen Mäuseadenokarzinoms, die in den zentralen Partien der Kulturen nach einigen Tagen absterben, zerfallen und daran anschließend das Medium verflüssigen. Sowohl lebendiges als auch totes zugesetztes Normalgewebe vermögen die Zellen des Jensen'schen Sarkoms nicht zu

infiltrieren, auch dann noch nicht, wenn sie das Gewebe von allen Seiten umgeben. Nur ausnahmsweise und erst nach einigen Tagen



Kurve 2.

Flaschenkultur Nr. 2624. Jensen-Sarkomzellen, dritte Passage. Flüssiges Medium-Rattenserum. Vom 0—4. Tag je 2 Tage mit Ringerlösung gewaschen; vom 4.—8. Tag nicht gewaschen; von 8.—12. Tag mit Ringerlösung gewaschen.

konnte eine geringe Infiltration des Normalgewebes beobachtet werden.

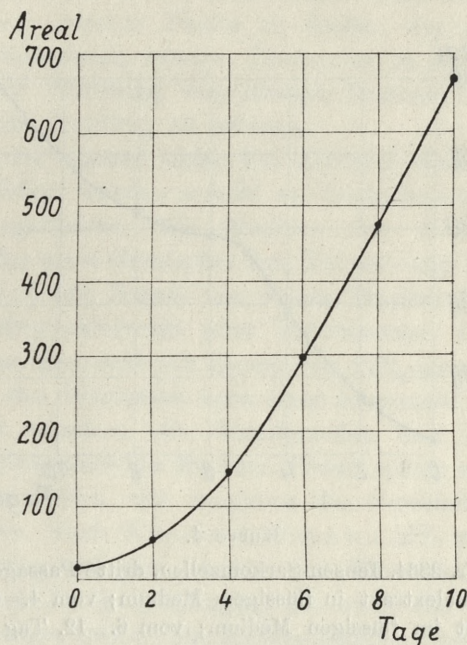
Die Flaschenkulturen dieser Sarkomzellen werden alle 10 bis 12 Tage umgesetzt. Jede Kultur wird in 4 bis 16 Stücke zerschnitten und diese werden wiederum nach gründlichem Waschen in Ringerlösung in ein neues Medium eingesetzt.

Nach dem Umsetzen in ein neues Medium wachsen die Kulturen anfänglich etwas langsamer, erreichen jedoch nach 10 bis 12 Tagen fast die gleiche Größe wie in der ersten Passage. (Kurve 3).

Wird 6%-iger Embryonalextrakt in Ringerlösung als flüssiger Teil des Mediums verwendet, so wachsen die Kulturen ebenso aktiv wie bei Zusatz von Serum; 15%-iger Embryonalextrakt schädigt dagegen ihr Wachstum und kann sogar die Kulturen nach zwei Tagen abtöten. (Kurve 4).

In einem mit Ringerlösung gewaschenen Gerinnsel und in Ringerlösung als flüssiges Medium wachsen die Kulturen in Carrel-

flaschen 9—10 Tage lang und gehen nach dieser Zeit ein. Die Residualenergie dieser Zellen ist somit gleich dieser von Normalzellen. Dieser Befund stimmt mit dem von Carrel u. Ebeling (11) überein.



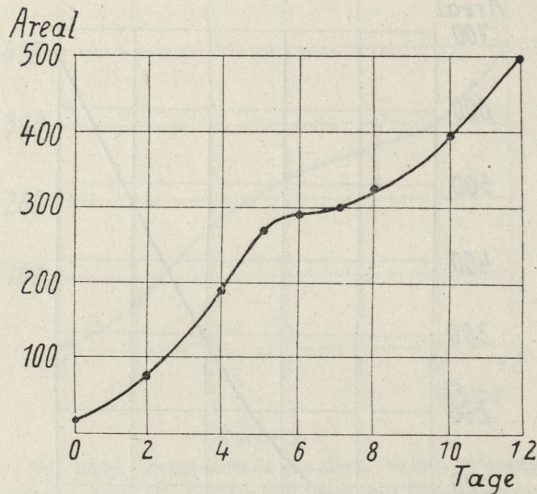
Kurve 3.

Flaschenkultur Nr. 2948. Jensen-Sarkomzellen, zweite Passage. Flüssiges Medium-Rattenserum.

Eine vier Monate lang in Rattenserum gezüchtete Kultur wurde einer Ratte in die Schilddrüse eingepflegt. Nach Flachs (27) soll nämlich eine so vorgenommene Impfung ein besseres Angehen und Wachstum des Tumoren bewirken. An Stelle der Impfung erschien nach 18 Tagen ein kastaniengroßer Tumor, der dann weiter bis zu Hühnereigröße heranwuchs und nach vier Wochen den Tod des Tieres herbeiführte. Der Tumor konnte auf andere Ratten verimpft werden und entsprach im Kleinbau dem Bau des Ausgangstumoren.

Es ergibt sich aus diesen Untersuchungen des Wachstums des Jensenschen Rattensarkoms *in vitro*, daß diese Sarkomzellen lange,

bis jetzt schon fast 9 Monate, in einem aus teilweise heterologem Plasma und homologem Serum bestehenden Medium mit Beibehaltung ihres bösartigen Charakters gezüchtet werden können, was die Befunde von Carrel u. Ebelig (11) bestätigt, die diese



Kurve 4.

Flaschenkultur Nr. 2834. Jensen-Sarkomzellen, dritte Passage. Vom 0—2. Tag 6%-iger Embryonalextrakt in flüssigem Medium; vom 4.—6. Tag 30%-iger Embryonalextrakt im flüssigen Medium; vom 6.—12. Tag Rattenserum im flüssigen Medium.

Sarkomzellen 4 Monate lang züchteten. Die Zellen wachsen jedoch in meinen Versuchen fast zehnmal so intensiv wie in den Untersuchungen der letztgenannten Forscher. Die Sarkomzellen verflüssigen ein zum Teil heterologes Medium überhaupt nicht. Die Wachstumsintensität läßt sich erst nach Aufhören der Zellauswanderung exakt bestimmen und zeigt von da an 9 Monate keine merklichen Schwankungen. Der Embryonalextrakt eignet sich in niedriger Konzentration gut zur Züchtung dieser Zellen, schädigt sie jedoch schon in einer Konzentration von 15% im Medium. Oftmals wiederholtes Waschen der Flaschenkulturen bewirkt ein besseres Wachstum der Kulturen. Die Jensen'schen Sarkomzellen infiltrieren nur ausnahmsweise das dem Kulturmedium zugesetzte Normalgewebe.



## Mäusekarzinom Nr. 63. (Carcinoma planocellulare).

Auf Mäuse geimpft, wächst das Karzinom Nr. 63 ziemlich langsam und ergibt erst in einigen Wochen einen mandelgroßen Tumor. Der Tumor wird später größtenteils nekrotisch, so daß es schwer fällt, eine gesunde Partie zu finden, der man Material zur Züchtung entnehmen könnte. Darum ist es auch vorteilhaft, das Material zur Züchtung von kleinen Tumoren in den ersten Wochen nach der Impfung zu nehmen.

Es wurden im ganzen zirka 400 Kulturen dieses Karzinoms angelegt. Die Zellen wurden sowohl an Deckgläsern, als auch in Carrelflaschen gezüchtet. Als Medium der Deckglaskulturen diente ein Tropfen eines Gemisches von Hühner- und Rattenplasma im Verhältnis 1:3 mit Zusatz von einem Tropfen Ringerlösung, verdünntem Embryonalextrakt oder Rattenserum. In einem Medium aus Plasma, gemischt mit Zusatz von 12%-igem Embryonalextrakt beginnt das Wachstum nach einer Latenzzeit von wenigen Stunden. Zuerst wandern die Wanderzellen und Makrophagen aus dem Gewebefragment ins Medium. Etwas später wachsen helle, stark verzweigte Zellen. Sie umgeben das Gewebefragment mit einem feinen Netz. Nach Rhoda Erdmann (2?) stammen diese Zellen vom bindegewebigen Stroma der Tumoren. Sowohl die Wanderzellen und die Makrophagen, als auch die Stromazellen sind keine bösartigen Zellen. Die Karzinomzellen wachsen *in vitro*, ähnlich wie normales Epithel, erst nach einer Latenzzeit von 24 bis 36 Stunden. Ungefähr 24 Stunden nach dem Anlegen der Kulturen runden sich die Ränder des Originalfragmentes ab. Das Wachstum der Karzinomzellen ist anfangs gleichmäßig. Das Fragment wird von einer Membran von Tumorzellen umgeben. Später proliferieren die Zellen an einigen Stellen schneller und wachsen in fingerförmigen Ausstülpungen in das Medium. Die Ausstülpungen werden dann an ihrem distalen Ende breiter, wachsen mit anderen benachbarten zusammen, so daß das Originalfragment nach 72 Stunden von einer hie und da Lücken aufweisenden Membran umgeben ist. Nach außen von ihr liegen die Makrophagen und die Stromazellen. Die relative Wachstumszunahme beträgt nach 72 Stunden, für die Karzinomzellen berechnet, 1·5. Das Medium wird fast gar nicht verflüssigt.

Die Umsetzung der Kulturen erfolgte jeden dritten Tag. Da diese Kulturen nur sehr langsam wachsen, ist es schwer, das Gewebe so aus dem Gerinnsel herauszuschneiden, daß keine von Zellen nicht durchsetzte Partien des alten Mediums daran haften bleiben, die dann in frischem Medium schrumpfen und ein gutes Wachstum der Kulturen unmöglich machen.

In der zweiten Passage wachsen die Kulturen etwas schlechter. Die relative Wachstumszunahme beträgt schon nunmehr nach 3 Tagen 1·0. Aus dem Originalfragment wachsen immer weniger Stromazellen heraus. Die Makrophagen sterben schnell ab. In weiteren Passagen wachsen die Kulturen noch langsamer und stellen nach ungefähr 9 bis 10 Tagen ihr Wachstum ganz ein. Eine 10 Tage alte Kultur setzt sich schon nur aus Karzinomzellen zusammen. Wenn eine schon nicht mehr wachsende Kultur alle 3 Tage immer neu umgesetzt wird, dann findet kein weiterer Zellzerfall statt und das Medium wird nicht verflüssigt. Eine schon seit 3 Wochen nicht wachsende Kultur, die im ganzen einen Monat lang gezüchtet war und der außer Karzinomzellen keine anderen Zellen beigemischt waren, ergab, einer Maus eingepfht, nach drei Wochen einen Tumor, dessen histologischer Bau dem Ausgangstumor gleich war. Der Tumor konnte auf andere Mäuse geimpft werden.

Es wurde nun versucht, dieses Karzinom in anderen Medien zu züchten, um schließlich das für die Züchtung geeignetste zu finden. Das Karzinomgewebe wurde in einem Medium gezüchtet, das zusammengesetzt war aus einem Tropfen Ratten- und Hühnerplasma im Verhältnis 3 : 1 und einem Tropfen 6%-igen, 30%-igen oder 50%-igen Embryonalextrakt in Ringerlösung, einem Tropfen Plasma und einem Tropfen Ratten- oder Mäuseserum, einem Tropfen Plasma und einem Tropfen Ringerlösung. In jedem von diesen Medien wuchsen die Karzinomzellen ungefähr 10 Tage und stellten sodann ihr Wachstum ein. Die Wachstumsintensität der Kulturen war in sämtlichen hier angegebenen Medien die gleiche. Ungefähr nach 25 Tagen sterben die Zellen ab, zerfallen und verflüssigen das Medium. Nur in Plasma mit Ringerlösung tritt das Absterben der Zellen schon nach 10–12 Tagen ein. Es wurde versucht, die Zellen dieses Karzinoms nach der Methode von A. Fischer unter Zusatz von Normalgeweben zu züchten. Es wurden verschiedene, sowohl lebendige wie tote Gewebe von erwachsenen oder embryo-

nalenen Tieren dem Medium zugesetzt, jedoch keines von ihnen eignete sich zur Züchtung dieser Karzinomzellen. Die Karzinomzellen infiltrierten es überhaupt nicht, trotzdem sie mit den Normalgeweben in Kontakt blieben.

Um die Schwierigkeiten des Übersetzens ins neue Medium zu umgehen und um in den Kulturen womöglich mechanische Traumen des Umsetzens zu vermeiden, wurde das Karzinomgewebe in Carreflaschen gezüchtet. Als fester Teil des Mediums dienten  $0.5 \text{ cm}^3$  eines Gemisches von Ratten- und Hühnerplasma im Verhältnis von 3 : 1 und  $0.5 \text{ cm}^3$  6%-igen Embryonalextrakt in Ringerlösung. Der flüssige Teil,  $0.75 \text{ cm}^3$  6%-igen Embryonalextrakts in Ringerlösung wurde jeden zweiten Tag gewechselt, wobei immer so wie bei Kulturen des Jensen'schen Sarkoms das Waschen des Gerinnsels mit Ringerlösung vorgenommen wurde. Flaschenkulturen dieser Karzinomzellen wachsen ebenso wie Deckglaskulturen 10 bis 11 Tage lang, wonach sie jegliches Wachstum einstellen. Nach 25—30 Tagen sterben die Zellen ab, zerfallen und verflüssigen das Medium. Wurde statt Embryonalextrakt Ringerlösung als flüssiges Medium gebraucht, so wuchsen die Kulturen ebenfalls 10 Tage lang, gingen jedoch schon nach dieser Zeit ein. Die Zellen dieses Karzinoms können sich so wie die Zellen des Rous'schen Sarkoms isoliert teilen und aus wenigen Zellen durch ihr Wachstum eine Kultur bilden. Da das Gewebe dieses Karzinoms sehr brüchig ist, so geschieht es oft, daß sich winzige, aus wenigen Zellen zusammengesetzte Klümpchen vom Originalfragment ablösen und isoliert im Medium zu liegen kommen. Man kann beobachten, wie sich die Zellen eines solchen Klumpens abflachen und eine Membran bilden, die allmählich größer wird, eine Kultur bildet und schließlich so groß wird, daß sie mit bloßem Auge gut sichtbar ist. Das Wachstum einer solchen Kultur hört aber leider ebenfalls nach 10 Tagen auf.

Auch in Flaschenkulturen infiltrieren diese Karzinomzellen kein zugesetztes Normalgewebe.

Alle diese Experimente zeigen, daß die Zellen des Karzinoms Nr. 63 in vitro 10 Tage lang in einem Medium mit oder auch ohne Zusatz von Embryonalextrakt wachsen; nach dieser Zeit stellen sie das Wachstum ein, um nach ungefähr einem Monat abzusterben. Erst nach dem Absterben verflüssigen sie ein heterologes Medium. Die Zellen dieses Karzinoms können sich isoliert

teilen, so daß schon eine sehr kleine Zahl von Zellen ausreicht, um eine Kultur zu bilden. Dem Kulturmedium zugesetztes Normalgewebe vermögen sie nicht zu infiltrieren. Karzinomzellen einer drei Wochen alten Reinkultur behalten ihren bösartigen Charakter.

#### Mäusesarkom Nr. 37. (*Sarcoma polymorphum*).

Die Zellen des Sarkoms Nr. 37 wachsen, auf Mäuse geimpft, sehr intensiv. Schon eine Woche nach gelungener Impfung bildet sich ein Tumor von Bohnengröße.

Es wurden zirka 1.500 Kulturen dieses Sarkoms angelegt.

In Deckglaskulturen wurde es in einem Medium, das aus einem Tropfen Ratten-, Mäuse-, Meerschweinchen- oder auch gemischtem Plasma und einem Tropfen 24%-igen Embryonalextrakts in Ringelösung bestand, gezüchtet. In diesem Medium wachsen diese Sarkomzellen anfangs sehr gut. Einige Stunden nach der Anlage der Kulturen erscheinen um das Fragment herum zahlreiche Wanderzellen und Makrophagen. Man kann hauptsächlich zwei Zelltypen unterscheiden: kleine Wanderzellen mit granuliertem Plasma und kurzen, dicken Pseudopodien und große, helle, sehr stark verzweigte Makrophagen. Nach einigen weiteren Stunden der Bebrütung wandern aus dem Gewebefragment große, stark granuliert, spindelförmige Zellen in das Medium hinein, die sogenannten Sarkomfibroblasten. Die Zellen umgeben das Originalfragment dichtgedrängt in mehreren Schichten.

Nach 48 Stunden bilden die Fibroblasten die innere Zone, die Makrophagen und die kleinen Wanderzellen die äußere Zone des Wachstumsareals. Die relative Wachstumszunahme beträgt nach 48 Stunden ungefähr 10, jedoch das Kulturmedium ist nach dieser Zeit schon fast vollständig verflüssigt. Nach Übertragung in ein neues Medium wächst das Gewebe schon fast gar nicht mehr. Nur einzelne Makrophagen wandern aus den Fragmenten ins Medium hinaus. Um einer zu starken Plasmaverflüssigung vorzubeugen, wurden zur Züchtung nunmehr Medien benützt, die aus einem Gemisch von Hühner- und Rattenplasma im Verhältnis von 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, einem Gemisch von Meerschweinchen- und Rattenplasma in gleichen Verhältnissen wie oben, reinem Hühner- oder reinem Meerschweinchenplasma, bestanden. Jedoch

kein einziges von diesen Medien erwies sich als zur Züchtung dieser Sarkomzellen geeignet. In jedem starben die Zellen ab, zeigten Zerfall, verflüssigten das Gerinnsel stark und wuchsen nach der Übertragung in ein neues Medium schon fast gar nicht.

Sowohl bei Zusatz geringer Mengen von Emryonalsaft, z. B. nur 6%, als auch verdünntem Ratten- oder Mäuseserum zum Medium anstatt des Embryonalsaftes, wurde das Medium stark verflüssigt und die Kulturen wuchsen zwar sehr gut 48 Stunden lang, stellten aber nach Umsetzen in ein neues Medium ihr Wachstum ein.

Die Sarkomkulturen verflüssigen nach ihrem Übersetzen in ein neues Medium das Gerinnsel, jedoch nicht alle. Eine Plasmaverflüssigung tritt nämlich bloß in solchen Kulturen ein, in denen noch Makrophagen aus dem Originalfragment auswandern. Kulturen, die in der ersten Passage mit einem Zusatz von 12% oder mehr von Embryonalextrakt zum Kulturmedium gezüchtet waren, verflüssigen in der zweiten Passage das Gerinnsel nicht, da die Makrophagen in einer hohen Konzentration von Embryonalsaft im Medium schnell absterben.

Es wurden Versuche angestellt, durch die ermittelt werden sollte, ob ein Zusammenhang zwischen dem Phänomen der Plasmaverflüssigung und der Gegenwart von Makrophagen im Medium tatsächlich vorhanden ist. Es wurden zu Kulturen, die in der ersten Passage in einem Medium von hoher Embryonalsaftkonzentration wuchsen, Stückchen Mäuseknochenmark zugesetzt. Sobald die aus dem Knochenmark stammenden Makrophagen die Sarkomzellenkultur umschlossen hatten, wurde das Medium verflüssigt. Kontrollkulturen von Knochenmarkgewebe allein verflüssigten das Gerinnsel fast gar nicht (Tabelle I—III).

Da die Züchtung dieser Sarkomzellen in einem heterologen Medium keine befriedigenden Resultate ergab, wurde versucht, sie nach der Methode von A. Fischer zu züchten. Es wurden Fragmente von Muskelgewebe sowohl erwachsener Mäuse, als auch von Mäuseembryonen zugesetzt. Jedoch infiltrieren die Sarkomzellen zugesetztes Normalgewebe gar nicht, sterben nach Umsetzen in ein neues Medium ab und wenn lebendes Gewebe zugesetzt wurde, wachsen nur noch die von diesem stammenden Normalzellen.

Verhältnismäßig bessere Resultate konnten beim Züchten dieses Sarkoms in Carrelflaschen erzielt werden. Der feste Teil des Me-

TABELLE I.

Kulturen des Sarkoms No. 37, gezüchtet während der ersten Passage mit hoher Konzentration von Embryonalextrakt im Medium.

Kultur No.	Passage No.	Verflüssigung des Mediums
2035	2	(—)
2036	2	(—)
2037	2	(—)
2038	2	(—)
2039	2	(—)
2040	2	(—)
2041	2	(+)
2042	2	(—)
2043	2	(—)
2044	2	(—)
2045	2	(—)
2046	2	(—)

TABELLE II.

Kulturen des Sarkoms No. 37, gezüchtet mit Zusatz von Mäuseknochenmark zum Medium.

Kultur No.	Passage No.	Verflüssigung des Mediums
2047	2	++++
2048	2	++
2049	2	++
2050	2	++
2051	2	++
2052	2	++
2053	2	+
2054	2	++++
2055	2	++++
2056	2	++
2057	2	++++
2058	2	++++
2059	2	++++

TABELLE III.  
Mäuseknochenmark-Kulturen.

Kultur No.	Passage No.	Verflüssigung des Mediums
1793	1	(—)
1794	1	(—)
1795	1	(+)
1796	1	(—)
1797	1	(+)
1798	1	(+)
1799	1	(—)
1800	1	(—)
1801	1	(—)
1802	1	(+)
1803	1	(—)
1804	1	(—)
1805	1	(—)
1806	1	(—)

diems bestand aus 0.25 cm<sup>3</sup> Hühnerplasma, 0.5 cm<sup>3</sup> Ringerlösung und 0.25 cm<sup>3</sup> verdünnten Embryonalextrakt, der flüssige Teil aus 0.75 cm<sup>3</sup> verdünnten Embryonalextrakt, verdünnten Serum oder auch Ringerlösung. Nach der Gerinnung wurde der feste Teil mit 6 cm<sup>3</sup> Ringerlösung 30 Minuten lang gewaschen. Der flüssige Teil wurde alle zwei Tage gewechselt.

Bei einer Konzentration von 6% Embryonalextrakt in flüssigem Medium wachsen die Sarkomkulturen vier bis fünf Tage und gehen dann zugrunde. Schon nach zwei Tagen verflüssigen sie das Medium, es bilden sich um die Fragmente Lücken im Gerinnsel und das Wachstum der Kulturen hört auf. In diesem Falle wurde ein wenig Plasma und Extrakt zugegeben, die die Lücken ausfüllten und so ein weiteres Wachstum der Zellen möglich machten. Ebenso schlecht wachsen die Kulturen in einem Medium mit 15% oder 30% Extrakt im flüssigen Teil des Mediums. Noch schlechter wachsen die Kulturen, wenn statt Extrakt Ringerlösung als flüssiger Teil eingebracht wird.

Da, wie schon erwähnt, nach A. Fischer (13) das Verflüssigen des Gerinnsels durch eine Verminderung der Konzentration der

wachstumaktivierenden Stoffe im Medium vermieden werden kann, da diese die Aktivität der Zellen herabsetzen, so wurde der Embryonalextrakt vor Gebrauch 30 Minuten lang auf 56° C erwärmt. Nach Carrel (23) büßt ein so erhitzter Extrakt den größten Teil seiner Aktivität ein. Ein so vorbehandelter Extrakt erwies sich auch wirklich zur Züchtung dieser Sarkomzellen als besser geeignet. Sie wuchsen darin eine Woche lang, gingen jedoch auch dann noch nach dieser Zeit ein.

Da nach den Untersuchungen von A. Fischer (20) und Carrel (11) Tumorzellen in einem protektiven Medium, — in einem Medium also, das keine Nährsubstanzen führt, — etwa 10 Tage lang wachsen, ehe sie ihr Wachstum einstellen, und dann absterben, so lag die Vermutung nahe, daß die Zellen dieses Sarkoms in vitro schädigenden Einflüssen ausgesetzt sind und darum bald eingehen. Diese Einflüsse sind nicht auf das Medium zurückzuführen, da auch in Ringerlösung allein die Zellen dieses Sarkoms binnen 4—5 Tagen absterben; sie könnten vielmehr durch toxische Zellabbauprodukte bedingt sein. Der schädliche Einfluß von Zellabbauprodukten auf das Wachstum von Normalzellkulturen wurde schon von Kimura (28) betont. Der feste Teil des Mediums wurde auch deshalb mit Ringerlösung nicht nur nach dem Gerinnen, sondern auch bei jedesmaligem Mediumwechsel, später sogar täglich tüchtig gewaschen und als Nährmedium wurde bloß noch inaktivierter Extrakt benützt, da dieser eine geringere Aktivität den Zellen verleiht und so einen geringeren Stoffwechsel derselben herbeiführt.

Auf diese Weise gelang es, diese Sarkomzellen 16 Tage lang zu züchten, und eine 16 Tage alte Kultur ergab, einer Maus eingepft, nach drei Wochen einen erbsengroßen Tumor, dessen histologischer Bau dem Ausgangstumor glich und der auf andere Mäuse übergeimpft werden konnte. Sechzehn Tage alte Kulturen dieser Sarkomzellen wuchsen jedoch nach Umsetzen in ein neues Medium schon nicht mehr.

Aus den Untersuchungen von Kulturen des Sarkoms No. 37 folgt also, daß die Zellen dieses Sarkoms 2 Tage lang in einem Medium mit oder auch ohne Embryonalextrakt wachsen und nach Übertragung in ein neues Medium absterben. Sie verflüssigen sowohl homo- wie auch heterologes Plasma. Zugewetztes Normalgewebe vermögen diese Zellen nicht zu infiltrieren. Das Phäno-



men der Plasmaverflüssigung steht mit dem Vorhandensein von Makrophagen in den Kulturen im Zusammenhang. Bei 56° C. inaktivierter Embryonalextrakt eignet sich zum Züchten dieser Zellen besser als ein aktiver. In Carrelflaschen gelang es, die Zellen dieses Sarkoms bei Zusatz von inaktiviertem Extrakt als Nährmedium 16 Tage lang zu züchten, wobei diese ihren bösartigen Charakter bewahrten. Es gelang jedoch nicht, eine solche Kultur umzusetzen. Einer Maus eingepflicht, ergab eine 16 Tage alte Kultur einen Tumor, der im Kleinbau dem Ausgangstumor glich, es gelang somit zum erstenmal, die Zellen dieses Sarkoms 16 Tage lang *in vitro* zu züchten, wobei die Zellen ihren bösartigen Charakter bewahrten.

### Besprechung der Ergebnisse.

Wie gesagt, stimmen die Befunde sämtlicher Autoren darin überein, daß die Hauptschwierigkeit der Züchtung von bösartigen Zellen in der Leichtigkeit besteht, mit der diese das Plasmagerinnsel verflüssigen. Daher verfolgen auch sämtliche Versuche der Autoren das Ziel, ein Stützgerüst zu finden, das von den Tumorzellen nicht so leicht angegriffen werden könnte. Der Mechanismus des Phänomens der Plasmaverflüssigung ist noch nicht klar. Die Eigenschaft, das Fibringerüst zu verdauen, wurde als eine charakteristische Vitalfunktion der Tumorzellen aufgefaßt und mit ihrem proteolytischen Vermögen in Zusammenhang gebracht. Neuerdings glauben jedoch Policard (24) und A. Fischer (25), daß die Verflüssigung des Mediums eine Folgeerscheinung des Absterbens der Tumorzellen ist. Diese Auffassung der zuletzt genannten Autoren wird durch meine Befunde zum Teil bestätigt.

Die Kulturen des Jensen'schen Rattensarkoms verflüssigen heterologes Medium überhaupt nicht, man sieht jedoch in ihnen keinen Zellzerfall, trotzdem immer ein Teil der Zellen abstirbt. Die Zellen des Karzinoms No. 63 verflüssigen heterologes Plasma erst dann, wenn sie absterben und zerfallen. Die Kulturen des Sarkoms No. 37 verflüssigen ein heterologes Medium, erst nachdem sie eine Zeitlang bebrütet wurden, und zwar erst dann, wenn schon ein Teil der Zellen zerfallen ist. Der Zellzerfall geht hier immer der Plasmaverflüssigung voraus. In den Kulturen dieses Sarkoms steht die Plasmaverflüssigung mit dem Vorhandensein von Ma-

krophagen im Zusammenhang. Das Vermögen, Plasmagerinnsel zu verflüssigen, haben die Tumorzellen mit Normalzellen gemein, worauf schon Rhoda Erdmann (22) hingewiesen hat. Auf Grund eigener Versuche kann ich diesen Befund vollauf bestätigen. Ein heterologes Medium wird auch von Normalzellen verflüssigt, sobald diese in den Kulturen zerfallen. Wenn jedoch die Zellen, so wie beim Muskel- oder Bindegewebe, absterben, jedoch keinen Zellzerfall zeigen, dann wird das Medium nicht verflüssigt.

Ich nehme somit an, daß die Plasmaverflüssigung eine Folgeerscheinung des Zellzerfalls ist und nicht nur durch das Absterben der Zellen bewirkt wird. Der Zellzerfall *in vitro* ist jedoch keine Charaktereigenschaft bösartiger Zellen. Die Rolle der Makrophagen in der Plasmaverflüssigung durch die Zellen des Sarkoms No. 37 ist unklar.

Aus meinen Experimenten geht weiter hervor, daß die Plasmaverflüssigung nur ein Faktor ist, der die Züchtung von bösartigen Zellen schwer oder auch unmöglich macht.

Die Zellen des Karzinoms No. 63 verflüssigen nämlich ein zum Teil heterologes Medium gar nicht, solange sie nur leben, und dennoch gelang es sie nur 10 Tage lang zu züchten. Später stellten die Kulturen ihr Wachstum ein und gingen schließlich ein. Da die Wachstumsintensität der Kulturen in allen angewandten, sowohl nutritiven als auch protektiven Medien die gleiche war, also in Medien, die außer dem als Stütze dienenden Fibringerüst Embryonalextrakt in wechselnder Konzentration, Blutserum mit oder auch ohne Zusatz von sowohl lebendem, als auch totem Normalgewebe, oder auch nur Ringerlösung enthielten, so muß angenommen werden, daß alle die zur Züchtung von Normal- sowie Tumorgeweben angewandten Medien zur Züchtung dieser Karzinomzellen unzureichend sind, da sie diejenigen Faktoren, sei es humoraler oder zellulärer Natur, nicht enthalten, die zur Züchtung dieser Karzinomzellen unbedingt nötig sind und die diesen das Wachstum im Tumorträger möglich machen.

In diesem Falle ist die Schwierigkeit der Züchtung nicht durch mechanische Faktoren — nämlich das Stützgerüst — sondern andersartige, wahrscheinlich nutritive Faktoren, das Nährmedium bedingt.

Es gibt noch ein Moment, das die Züchtung von Tumorgeweben *in vitro* erschwert.

Aus den Versuchen ist ersichtlich, daß das Wachstum des Jensenschen Rattensarkoms durch toxische Zellenabbauprodukte geschädigt wird und daß man diese durch oftmals wiederholte Waschen der Kulturen mit Ringerlösung beseitigen kann, so daß das Wachstum der Kulturen merklich gesteigert wird. Warum die Kulturen dieses Sarkoms in meinen Experimenten, wie schon erwähnt, zehnmal so stark wuchsen, wie in den Experimenten von Carrel, ob etwa dieses Wachstum durch Waschen begünstigt wurde, ist schwer zu entscheiden, da Carrel (11) in seiner Arbeit nicht angibt, ob und wie oft er seine Kulturen gewaschen hat. Jedenfalls werden die Kulturen dieses Sarkoms schneller durch ihre Abbauprodukte geschädigt als Kulturen von Normalgeweben. Durch die Versuche wird gezeigt, daß die Kulturen des Sarkoms No. 37 im hängenden Tropfen zwei Tage lang wachsen und dann eingehen, ganz gleich in welchem Medium sie gezüchtet werden; dagegen leben sie in Carrelflaschen, wenn man sie nur oft mit Ringerlösung wäscht, 16 Tage lang.

Da Embryonalextrakt oder Serum für die Zellen dieses Sarkoms ein geeignetes Nährmedium darstellt, wie wir es aus dem Größenunterschied der Wachstumsintensität der Kulturen im Embryonalextrakt oder in Ringerlösung ersehen; da ferner die Untersuchungen von Carrel (11), A. Fischer (26) und meine eigenen mit Kulturen des Karzinoms No. 63 und Jensen-Sarkoms gezeigt haben, daß sowohl Tumor- wie Normalgewebe, in Ringerlösung gezüchtet, in ungefähr 10 Tagen, die Zellen des Sarkoms No. 37 aber schon nach zwei Tagen absterben; da es endlich gelingt, die Zellen dieses Sarkoms in Carrelflaschen lediglich durch oftmals wiederholtes Waschen der Kulturen 16 Tage lang zu züchten, so muß man annehmen, daß die Zellen dieses Sarkoms sich *in vitro* vergiften und daher eingehen.

Auf Grund meiner Untersuchungen komme ich somit, im Gegensatz zu anderen Autoren, die sich mit der Züchtung von Tumorgeweben *in vitro* befaßten, zu dem Schluß, daß die Plasmaverflüssigung nur als eine der Schwierigkeiten der Tumorgewebezüchtung aufgefaßt werden kann; weitere von anderen nicht betonte Schwierigkeiten liegen: erstens darin, daß Embryonalextrakt und Serum als Nährmedium für die einen Tumorstämme nicht genügen, ferner darin, daß es kaum möglich ist, die toxischen Stoffwechselprodukte aus den Kulturen der

anderen Tumorstämme zu entfernen, wozu alltägliches Waschen der Kulturen nicht ausreicht.

Auch wenn man ein Stützgerüst findet, das von den Tumorzellen nicht angegriffen werden kann, und dies ist gerade seit langem das Endziel vieler Bemühungen bei Krebskulturen *in vitro*, wird man noch keine Methode geschaffen haben, die das Züchten sämtlicher Tumorstämme ermöglicht. Daher ist es auch bisher nur einige wenige Tumorstämme zu züchten gelungen, und zwar nur solche, wo die Züchtungstechnik die Plasmagerinnselverflüssigung als wirklich einzige Schwierigkeit zu überwinden hatte, wie z. B. bei Ehrlich-Adenokarzinomzellen und Jensen-Sarkomzellen. Erst nach Überwindung aller dieser Schwierigkeiten wird es gelingen, eine Technik der Tumorgewebezüchtung auszuarbeiten. Für die Richtigkeit dieser Auffassung mögen sämtliche mißlungene Versuche, Tumorgewebe zu züchten, als Beweis herangezogen werden.

#### Zusammenfassung.

1) Jensen-Sarkomzellen wachsen *in vitro* in einem Medium mit Zusatz von Embryonalextrakt oder Rattenserum in Dauerkulturen. Dieser Befund bestätigt die Angaben von Carrel u. Ebeling. Höhere Konzentration von Embryonalextrakt im Medium schädigt die Kulturen. Durch oftmals wiederholtes Waschen der Kulturen mit Ringerlösung kann ein besseres Wachstum erzielt werden.

2) Mäusekarzinom No. 63 zeigt ein für Karzinomzellen charakteristisches Aussehen der Kulturen und wächst ebenso stark in nutritivem als auch protektivem Medium 10 Tage lang. Die Zellen überleben in einem nutritiven Medium bis zu 30 Tagen, wobei sie in Reinkulturen ihren bösartigen Charakter beibehalten, solange sie leben. Heterologes Medium verflüssigen diese Zellen erst nach ihrem Zerfall.

3) Mäusesarkom No. 37 wächst in Deckglaskulturen bei Zusatz von Embryonalextrakt, als auch Mäuse- oder Rattenserum zwei Tage lang, in Flaschenkulturen vier bis fünf Tage, wonach die Kulturen absterben. Durch oftmals wiederholtes Waschen der Kulturen mit Ringerlösung und Zusatz von inaktiviertem Em-

bryonalextrakt zum Medium kann ein Wachstum der Zellen 16 Tage hindurch erzielt werden. Die Zellen einer 16 Tage alten Kultur bewahren ihren bösartigen Charakter. Sowohl ein homo- als auch heterologes Medium wird von den Zellen dieses Sarkoms verflüssigt.

4) Die Methode von A. Fischer eignet sich nur zur Züchtung vereinzelter Tumoren. Die Eigenschaft, Normalgewebe in vitro zu infiltrieren, ist somit nicht allen Tumorzellen gemein.

5) Die Eigenschaft, ein heterologes Medium zu verflüssigen, ist für Tumorzellen nicht charakteristisch. Sowohl Tumor- wie Normalzellen verflüssigen ein heterologes Medium, sobald ihre Zellen in der Kultur zerfallen. Die Plasmaverflüssigung durch die Zellen des Sarkoms No. 37 steht in einem gewissen Zusammenhang mit dem Vorhandensein von Makrophagen in den Kulturen.

6) Die Verflüssigung des Plasmagerinnsels kann nur als eine der Schwierigkeiten der Tumorzellenzüchtung angesehen werden. Weitere Schwierigkeiten bestehen erstens darin, daß Embryonal-extrakt und Serum zur Züchtung gewisser Tumorzellen, wodurch sie sich von Normalzellen unterscheiden, nicht genügen, ferner weil Tumorzellen in vitro durch toxische Zellabbauprodukte sehr bald geschädigt werden.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Jagellonischen Universität in Kraków. Direktor: Prof. Dr. K. Klecki. Ausgeführt mit Unterstützung der Polnischen Akademie der Wissenschaften, aus der Stiftung von weil. Paul Tyszkowski.

#### Literaturverzeichnis.

1. Volpino. *Pathologica*. 1910, Bd. 12, S. 495, zitiert nach Bisceglie »Die Gewebezüchtung in vitro«. J. Springer, Berlin 1928. — 2. Carrel A. et Burrows T. *C. R. Soc. Biol.* 1910, Bd. 69, S. 332. — 3. Maccabruni F. *Ann. di ostetr. e ginecol.* 1914, Bd. 37, S. 57, zitiert nach Bisceglie »Die Gewebezüchtung in vitro«. J. Springer, Berlin 1928. — 4. Lambert R. and Hanes F. *Journ. Am. Med. Ass.* 1911, Bd. 56, S. 33, zitiert nach A. Fischer »Gewebezüchtung«, München 1927. — 5. Thomson D. and J. G. *Proc. Roy. Soc. Med.* 1914, Bd. 7, zitiert nach A. Fischer »Gewebezüchtung«, München 1927. — 6. Losee J. R. and Ebeling A. H. *Journ. Exp. Med.* 1914, Bd. 19, S. 593. — 7. Klecki K. *Rozprawy Wydziału mat.-przyrodn. Akad. Umiejętn. w Krakowie*, 1916, T. 155, serja B. — 8. Fischer A., *C. R. Soc. Biol.* 1924, Bd. 90, S. 1181. — 9. Erdmann *Rh. Ztschr. f. Krebs-*

forsch. 1923, Bd. 20, S. 322. — 10. Carrel A. and Ebeling A. H. Journ. Exp. Med. 1928, Bd. 48, S. 105. — 11. Carrel A. and Ebeling A. H. Journ. Exp. Med. 1928, Bd. 48, S. 285. — 12. Fischer A. Ztschr. f. Krebsforsch. 1927, Bd. 25, S. 89. — 13. Fischer A. »Gewebezüchtung«. München 1927. — 14. Fischer A. C. R. Soc. Biol. 1924, Bd. 90, S. 1105. — 15. Fischer A. Münchener Med. Wochenschrift 1926, S. 1079. — 16. Laser H. Ztschr. f. Krebsforsch. 1927, Bd. 25, S. 297. — 17. Lauche. Verhandl. der Deutsch. Path. Gesellschaft., Wiesbaden 1928. — 18. Fischer A. Ztschr. f. Krebsforsch. 1928, B. 26, S. 463. — 19. Carrel A. and Ebeling A. H. Journ. Exp. Med. 1928, Bd. 28, S. 285. — 20. Fischer A. Ztschr. f. Krebsforsch. 1927, Bd. 27, S. 80. — 21. Ebeling A. H. Journ. Exp. Med. 1921, Bd. 34, S. 231. — 22. Erdmann Rh. Med. Klinik. 1925, S. 592. — 23. Carrel A. Journ. Exp. Med. 1913, Bd. 14, S. 17. — 24. Policard. C. R. Soc. Biol. 1926, Bd. 94, S. 531. — 25. Fischer A. »Gewebezüchtung«, München 1927. — 26. Fischer A. Ztschr. f. Krebsforsch. 1928, Bd. 26, S. 235. — 27. Flachs J. Ztschr. f. Krebsforsch. 1928, Bd. 27, S. 548. — 28. Kimura. Arch. f. exp. Zellforsch. 1928, Bd. 6, S. 206.

*Unaczynienie wyrostków skórnych głowy ptaków. — La vascularisation des appendices cutanés de la tête chez les Oiseaux.*

Mémoire

de M. K. WODZICKI,

présenté dans la séance du 1 Juillet 1929, par M. H. Hoyer m. t.

(Planches 18—21).

**Introduction.**

La peau des Oiseaux se distingue de celle des Mammifères par une structure délicate et bien moins épaisse. Néanmoins, dans certaines régions du corps, l'aspect de la peau est différent; ainsi la peau des extrémités inférieures se distingue par la présence d'une couche cornée bien développée de l'épiderme. Mais c'est surtout dans la région céphalique et dans la partie supérieure du cou que nous trouvons des appendices cutanés. Leur forme et leur développement varient beaucoup suivant l'espèce, voire même suivant la race, car tantôt ce sont de petits appendices cutanés, tantôt il s'agit d'organes érectiles d'une structure compliquée. Ces excroissances atteignent un développement particulier dans la famille des Gallinacés (*Phasianidae*), chez lesquels des espèces rapprochées possèdent souvent des appendices cutanés différents. En étudiant la structure des différentes excroissances, les auteurs ont surtout fixé leur attention sur la structure histologique et ont négligé de s'occuper de la vascularisation. Aussi m'a-t-il paru intéressant d'entreprendre une étude comparée de la vascularisation des appendices cutanés de quelques espèces d'oiseaux.

### Matériel et méthodes.

J'ai étudié la structure des appendices cutanés: 1) chez le Coq (*Gallus domesticus* L.), 2) chez la Pintade (*Numida meleagris* L.), 3) chez le Faisan (*Phasianus colchicus* L.), chez le Coq de bruyère (*Lyrurus tetrix* L.), enfin chez le Dindon (*Meleagris gallopavo* L.).

La plus grande partie du matériel fut injectée immédiatement après avoir tué les animaux. Comme l'injection des parties distales du corps des oiseaux offre des difficultés, il était indispensable d'introduire la canule le plus près possible de la tête, en ligaturant les vaisseaux collatéraux. Une solution gélatineuse de bleu de Prusse ou simplement une solution aqueuse saturée de ce colorant, m'a rendu d'excellents services. J'ai également appliqué des injections doubles; en effet, après avoir rempli par les artères les vaisseaux sanguins d'une solution de bleu de Prusse, j'injectais, par les mêmes vaisseaux une masse composée de gomme-laque additionnée de cinabre. Le matériel ainsi préparé, était disséqué et traité *in toto* après l'avoir rendu translucide. Comme agents éclaircissants, j'employais la glycerine et les essences de bois de cèdre ou de girofle. Dans d'autres cas, les pièces étaient enrobées dans de la paraffine ou de la celloïdine, puis coupées au microtome. La confection des coupes microscopiques des appendices cutanés de la tête des oiseaux offre de sérieuses difficultés. La plus grande partie du matériel a dû être coupée exclusivement après avoir été enrobée dans de la celloïdine. Le choix des agents fixateurs variait suivant le but dans lequel je fixais le matériel. J'ai employé les solutions suivantes: le liquide de Bouin, le sublimé, le liquide de Gilson, la formaline à 4, 6 et 10 p. 100, l'alcool etc. Les coupes étaient colorées d'après différentes méthodes, principalement avec de l'hématoxyline-éosine, du colorant de Van Gieson et du carmin à alun aqueux ou alcoolique. Pour colorer les fibres élastiques, je me servais de l'excellente méthode d'Unna-Tänzer. Enfin, je me servais de mucicarmin et de thionine comme réactifs du mucus.

Pour étudier les communications immédiates entre les artères et les veines, j'employais différentes méthodes soit directes, soit indirectes. Comme méthode indirecte, je me servais de l'injection de la masse de gomme-laque additionnée de cinabre. Une des propriétés de cette masse est de ne pas passer au-delà des capillai-



res (Hoyer père, 1876). Dès que j'avais trouvé la masse injectée dans les veines, je pouvais supposer la présence de communications artério-veineuses. Dans certains cas, j'ai pu suivre à la loupe le parcours des principaux vaisseaux et observer à un faible grossissement les communications directes. Je préfère cependant de beaucoup la méthode de Hoyer père (1876)<sup>1)</sup> et de Vastarini-Cresi (1903), d'après laquelle on procède au lavage des vaisseaux avec une solution isotonique de sulfate de sodium, en y ajoutant 1 p. 100 d'acide lactique comme vaso-dilatateur. Grâce à ce procédé, les communications s'ouvrent largement et sont faciles à découvrir. Comme seconde injection, on applique aux pièces une solution de nitrate d'argent, puis on injecte une solution concentrée de gélatine. La solution de nitrate d'argent ne colore que les limites des cellules endothéliales et celles des fibres musculaires des parois, tandis que la gélatine remplit les vaisseaux et les rend plastiques. Des parties de ce matériel étaient fixées, traitées par des agents éclaircissants, montées au baume et recouvertes d'un couvre-objet, pour être directement examinées au microscope.

Comme troisième procédé pour étudier les communications directes, j'employais la méthode de préparation par corrosion. J'ai obtenu les meilleurs résultats avec la masse à base de celloïdine (Schiefferdecker), qui se distingue par sa malléabilité. Cette méthode permet également de s'orienter dans la topographie des vaisseaux dans différentes excroissances.

Les résultats obtenus par l'application de chaque méthode mentionnée, étaient toujours contrôlés sur des séries de coupes microscopiques.

### *Les appendices du Coq (Gallus domesticus L.).*

En fait d'excroissances, le Coq domestique (fig. 1 Pl. 18) est pourvu d'une crête, de barbillons, de joues et d'oreillons dans la région céphalique. La peau de la région du cou est richement vascularisée chez les poules de la race à cou nu. Enfin, comme presque chez tous les oiseaux, nous trouvons chez la poule des taches

<sup>1)</sup> Je dois à la grande bonté de M. le Professeur H. Hoyer fils, d'avoir pu examiner les préparations de Hoyer aîné. Quoiqu'elles datent d'un demi siècle, elles sont admirablement conservées, aussi en les comparant avec les miennes, ai-je pu confirmer les résultats auxquels j'ai abouti.

d'incubation. Quoique plus ou moins réduites, toute les excroissances du Coq se retrouvent chez la poule, le phénomène de dysharmonie sexuelle étant assez prononcé chez cette espèce.

La variabilité spécifique et raciale des appendices cutanés est très grande chez le Coq. Ce sont surtout la crête et les barbillons qui varient beaucoup dans différentes espèces du genre *Gallus*, principalement dans les nombreuses races du Coq domestique. Les nombreuses mutations qui ont produit les races de poules domestiques, paraissent affecter avec une sorte de prédilection les excroissances cutanés de la tête. C'est entre autres la race des poules Leghorn qui est pourvue d'appendices typiques, car ils ressemblent le plus à ceux de l'ancêtre sauvage de cette espèce. Chez cette race, la crête s'étend au sommet de la tête depuis la partie occipitale du crâne jusqu'à la naissance du bec. Les barbillons sont des appendices symétriques disposés des deux côtés du maxillaire inférieur. La crête et les barbillons sont vivement colorés et dépourvus de plumes, même de plumes filiformes, mais ils sont garnis en revanche de papilles coniques. En dehors de ces excroissances, nous trouvons chez le Coq Leghorn d'autres parties de la peau de la tête aux plumes rares mais richement vascularisées et pourvues de papilles ou plis dermiques; nous pensons aux oreillons dans le voisinage de l'orifice extérieur de l'oreille et à la peau de la région faciale.

Les appendices cutanés du Coq avaient attiré depuis longtemps l'attention des auteurs, mais c'est surtout depuis les travaux classiques de Pézard et d'autres qu'on s'y est intéressé. En fait d'auteurs plus anciens, il faut nommer: Gadow (1891), Moser (1906), Pangalo (1906), Conte (1909), et Sassenhagen (1912). Parmi les travaux récents, il importe de mentionner les recherches d'Oswald (1924), de Joosten (1922), de Freund et de ses élèves. C'est à Joosten que nous devons une description détaillée et exacte de la crête. Freund et ses élèves s'occupèrent dans plusieurs travaux de la structure de la peau du cou des poules à cou nu et des taches d'incubation. Ils comparèrent la structure et le développement de ces parties de la peau avec celles des appendices cutanés de la tête. D'après Freund, on observe dans la crête un réseau de vaisseaux sousépidermiques qui forment un corps spongieux.

Ce ne sont cependant que les travaux de Champy et Kritch (1926), puis d'Elkner et Słonimski (1927) qui ont

jeté une lumière nouvelle sur la structure histologique et cytologique de la crête. Ces auteurs ont décrit dans la crête et les barbillons du Coq un tissu particulier, composé d'une substance fondamentale, de cellules et de fibres collagènes et élastiques. La présence du mucus et d'une substance fondamentale bien développée donne à ce tissu fibro-mucoïde un caractère à part. Apposé symétriquement à la couche conjonctive axiale de la crête, riche en fibres collagènes, le tissu en question paraît être d'après Champy et Kritch un réactif très sensible de l'hormone sexuelle. La crête est très abondamment vascularisée suivant ces auteurs. Les principaux vaisseaux cheminent dans le tissu axial pour envoyer le sang par l'intermédiaire de petits vaisseaux à travers la lame du tissu fibro-mucoïde. Champy et Kritch expliquent la turgescence permanente de la crête par la compression que l'oedème du tissu muco-élastique exerce sur les veinules, de sorte que le sang affluant librement à travers la couche fibro-mucoïde »favorise la stase sanguine dans la couche vasculaire superficielle«.

Passons maintenant à nos observations. La première ébauche de la crête apparaît relativement d'assez bonne heure, car on l'aperçoit déjà au commencement du 9<sup>e</sup> jour d'incubation (fig. 2, pl. 18). À ce stade, la crête a la forme d'une petite éminence épithéliale du tissu mésenchymateux, richement vascularisé. Déjà à ce stade, la peau de cette région se distingue de la peau voisine par un réseau de capillaires et elle est complètement dépourvue d'ébauches de plumes. Pendant les stades plus avancés, le réseau très irrégulier des vaisseaux sousépithéliaux se différencie en plusieurs vaisseaux principaux, qui dans cette période, proviennent principalement de l'*a. facialis cutanea*. Ces vaisseaux principaux cheminent parallèlement et pénètrent perpendiculairement dans l'axe de la crête. Ce n'est que le 17<sup>e</sup> jour d'incubation que surviennent de nouveaux changements dans la structure de la crête et que l'on voit le tissu axial composé d'éléments conjonctifs commencer à se former, d'abord dans la partie postérieure de la crête. C'est ce tissu qui renferme le réseau profond des vaisseaux de la crête qui y cheminent en se dirigeant vers le sommet des crétilons, bien visibles dès l'apparition de la première ébauche de la crête. C'est encore à ce stade que les vaisseaux du tissu axial émettent des ramifications vers l'épiderme, qui ne sont autre chose que

l'ébauche des larges capillaires sousépidermiques de la crête du Coq adulte. Les stades suivants, antérieurs à l'éclosion, n'apportent, pas de grands changements et ce n'est que bien après celle-ci que se forment le tissu fibro-mucoïde et les vaisseaux de la crête pour atteindre leur plein développement. Néanmoins, déjà au moment de l'éclosion, la dysharmonie est suffisamment marquée chez certaines races pour permettre de distinguer les sexes. La crête est le seul appendice du Coq qui se développe pendant la vie embryonnaire, car toutes les autres excroissances apparaissent chez lui quelques semaines après l'éclosion. Voici comment se produisent ces changements: les plumes de contour disparaissent, de sorte que tout au plus les plumes filiformes se maintiennent; la région en question de la peau manifeste une abondante vascularisation, enfin les muscles cutanés s'atrophient ou disparaissent complètement. Ce processus est suivi de la croissance de l'appendice. Les barbillons se développent les premiers, puis c'est le tour de la peau de la région buccale, enfin celui des oreillons.

La crête, comme d'ailleurs les barbillons, est un replis de la peau; en effet, la couche axiale formée par du tissu conjonctif, dans les mailles duquel se trouve du tissu adipeux, correspond au tissu souscutané. Le tissu fibro-mucoïde des parois latérales correspond à la partie profonde du derme, enfin la couche vasculaire équivaut à la couche superficielle ou papillaire de celui-ci. Cette structure de la crête est identique dans toutes ces parties, avec cette différence toutefois, que les parties basales de la crête se distinguent par un tissu axial plus épais. Celui-ci est relativement plus mince dans les crétilons et la couche des vaisseaux sousépidermiques y est plus épaisse. Sur la coupe transversale d'un crétilon de Coq adulte on voit d'épais faisceaux entrecroisés de fibres conjonctives et élastiques occuper le centre de la crête (fig. 5, pl. 18). Cette couche contient également du tissu adipeux, mais c'est surtout à proximité de la base de la crête qu'il est particulièrement abondant; sa quantité varie d'ailleurs avec le sexe. Les faisceaux de tissu conjonctif de la couche axiale pénètrent dans les lames symétriques du tissu fibro-mucoïde qui entourent le tissu axial de la crête. Les faisceaux conjonctifs sont accompagnés de nombreuses ramifications qu'émettent les vaisseaux sanguins et les nerfs qui se détachent des vaisseaux et des nerfs plus gros du tissu axial de la crête. Les faisceaux comme les ra-

mifications vasculaires et nerveuses, se dirigent vers la couche superficielle du derme. La structure histologique du tissu fibro-mucoïde ne s'écarte guère de la description d'Elkner et de Sionimski. Cette couche est entourée de la couche papillaire du derme qui se distingue par de larges vaisseaux sousépidermiques et des papilles, visibles extérieurement (fig. 1). Il est aisé de constater sur des coupes microscopiques qu'il s'agit de vraies papilles, car elles contiennent une éminence formée par l'épiderme, la couche superficielle du derme et des anses vasculaires. Néanmoins, leur développement est bien moins important que celui des excroissances du Dindon ou du Coq de bruyère. Cette couche papillaire du derme se divise en une couche plus profonde reliée à la couche fibro-mucoïde et en une partie superficielle. Celle-ci se distingue par la présence de larges capillaires sinusoides, de sorte qu'il se forme un corps spongieux à mailles très fines. Entre ces larges capillaires qui occupent la plus grande partie de cette couche, se trouvent des faisceaux de fibres conjonctives et un réseau épais de fibres élastiques. La structure de l'épiderme de la crête diffère de celle de l'épiderme de la peau des oiseaux également par son épaisseur. Après une couche basale, on peut reconnaître plusieurs assises de cellules à espaces intercellulaires visibles, suivies d'une lame cornée relativement mince.

La crête, de même que les barbillons du Coq ne sont pas pourvus d'un pigment propre, car ce sont les vaisseaux sousépidermiques qui assument le rôle de celui-ci. La faible épaisseur de la couche cornée rend l'épiderme presque transparent. Le rôle des vaisseaux devient manifeste, lorsqu'on les injecte avec un liquide incolore, car la crête pâlit à mesure que le sang s'écoule des capillaires sousépidermiques.

Les barbillons se distinguent par une structure histologique semblable; la couche axiale se présente sous la forme d'un tissu conjonctif uniforme avec de rares cellules adipeuses entre les vaisseaux et l'on trouve dans cet appendice une couche symétrique de tissu fibro-mucoïde ainsi qu'une couche papillaire contenant d'abondants vaisseaux sanguins. Les deux premières couches sont beaucoup moins épaisses que celles de la crête. Comme la crête, les barbillons sont pourvus de papilles dermiques séparées par des sillons et sont complètement dépourvus de plumes. La peau de la région faciale du Coq se distingue par une plus forte épais-

seur que la peau normale, par une vascularisation abondante, par la présence de papilles dermiques et par des plumes rares. Les oreillons sont ovales et saillants. Sur toute leur surface on trouve de nombreux sillons qui se croisent dans toutes les directions. La couche superficielle est pourvue de vaisseaux sanguins moins nombreux que ceux des autres excroissances du Coq. La couche profonde du derme se distingue par la présence de muscles souscutanés et d'un tissu adipeux bien développé. La présence de ces tissus donne à cette excroissance un aspect caractéristique.

Les nerfs des appendices cutanés du Coq sont particulièrement développés. La crête est presque exclusivement innervée par le rameau externe de la première branche du trijumeau. Les branches frontales de ce nerf, fortement développées chez le Coq, se portent en avant et pénètrent dans le tissu axial de la crête où elles se divisent en plusieurs ramifications. La peau de la région faciale est innervée par des rameaux souscutanés de la seconde branche du trijumeau. Enfin, les nerfs des barbillons proviennent du *r. inframaxillaris externus* de la troisième branche du trijumeau. Sur les coupes microscopiques on ne trouve que rarement des corpuscules nerveux de Herbst, aussi ne puis-je confirmer l'opinion de Champy et Kritch sur ce sujet. On les trouve sur des coupes des excroissances plus ou moins couvertes de plumes, toujours dans le voisinage de celles-ci.

Chez le Coq le cou et la tête sont abondamment pourvus de vaisseaux sanguins qui s'anastomosent fréquemment entre eux. Les travaux plus anciens de Bauer (1825) et surtout l'ouvrage classique de Neugebauer (1844), de même qu'un travail récent de Hafferl (1921), m'ont rendu de grands services lorsqu'il s'agissait de préparer et d'étudier les vaisseaux sanguins des appendices cutanés chez le Coq et chez d'autres oiseaux.

En dehors du développement particulier des vaisseaux, les appendices du Coq sont caractérisés par des communications directes entre les artères et les veines. Ce fut Hyrtl (1864) qui découvrit grâce à des injections, les communications directes dans les orteils et dans la peau nue de la naissance du bec de l'Autruche. Hanau (1881) décrit des bourrelets artériels dans la partie plantaire des orteils des oiseaux. Il les considère comme des réseaux admirables artériels, d'où le sang s'écoule directement dans les veines.

Des recherches histologiques sur les communications directes entre les artères et les veines furent entreprises par v. Schumacher (1915). Cet auteur en découvrit un grand nombre dans les parties périphériques des membres inférieurs des oiseaux, où on les trouve dans les canaux osseux de la troisième phalange des orteils. Dans ces canaux osseux s'étendent les dernières ramifications des *nn. digitales*, puis une artère d'un côté et une veine de l'autre. Cette dernière forme de nombreuses cavités veineuses. Les communications directes s'ouvrent en si grand nombre dans ces veines que l'artère s'épuise presque complètement et abandonne le canal osseux comme petit vaisseau. En dehors de ces communications, on en trouve d'autres dans le derme des parties plantaires des doigts, dans les écailles et dans la partie distale de la membrane natatoire du Canard et de l'Oie. Sur des coupes microscopiques les communications décrites par v. Schumacher se distinguent par une lumière en forme de fissure ou d'étoile, limitée par des cellules endothéliales, fortement serrées et par des parois épaisses. Les fibrilles des fibres musculaires des parois subissent une modification épithéloïdale; elles ont la forme de baguettes et sont beaucoup moins longues que les cellules non modifiées des parois des vaisseaux artériels. Le noyau prend part à cette modification: il devient oval, voir même rond.

L'emploi des méthodes histologiques permit également à Clara (1925) de découvrir des communications directes entre artères et veines dans le bec du Canard et dans celui de la Bécassine (*Scotopax rusticola* L.). Ces anastomoses artério-veineuses se trouvent dans les couches profondes du derme à proximité des os rostraux. De même que celles que décrit v. Schumacher, elles se distinguent par des parois épaisses, par l'absence totale d'une tunique élastique interne et par la modification épithéloïdale des fibres musculaires. Celle-ci ne s'étend cependant pas à toutes les communications. Certaines d'entre elles ont une structure simplifiée et sont réduites à un simple anneau de fibrilles musculaires parcourant dans toutes les directions et sont tapissées à l'intérieur par de l'endothélium.

Voici les résultats de mes recherches sur la vascularisation des appendices cutanés du Coq: les artères de la crête proviennent des deux carotides; après avoir émis les *aa. oesophagea descendens*, *submentalès* et *auricularis posterior*, la carotide externe

se dirige en sens médial pour aboutir à la partie intérieure du maxillaire inférieur, où elle se branche en petites ramifications musculaires. Le tronc de la carotide continue son chemin, mais il émet bientôt un rameau distal, l'*a. lingualis*, qui pourvoit de sang la langue ainsi que ses alentours immédiats et donne des ramifications terminales, notamment l'*a. temporalis superficialis*, l'*a. maxillaris interna* et l'*a. facialis cutanea*. L'artère temporale très bien développée chez le Coq, suit une direction légèrement oblique et se porte dans la région faciale entre l'oeil et le conduit auditif externe. Elle se divise en plusieurs petites branches destinées à la peau richement vascularisée de cette région et en une branche qui s'anastomose avec les vaisseaux de l'orbite de l'artère interne. L'artère maxillaire interne est la seconde de ses branches terminales. Comme la précédente, elle part de la convexité de l'arc que décrit la carotide externe en se rapprochant de la face médiale du maxillaire inférieur. Cette artère longe le palais et se divise en deux branches terminales dont l'une est l'*a. palatina*, l'autre l'*a. alveolaris*, une petite branche qui s'étend le long du maxillaire inférieur. L'*a. facialis cutanea* représente enfin la troisième branche terminale de la carotide externe. Chez la plupart des oiseaux cette branche naît de l'artère temporale superficielle, toutefois chez les Gallinacés elle est très importante, étant le vaisseau artériel principal de la partie antérieure de la crête. Cette artère part au-dessous du *quadratum*, gagne la partie extérieure de celui-ci et se porte ensuite sous la peau en passant au-dessus de l'articulation temporo-maxillaire, sur la surface externe du muscle masséter à l'angle interne de l'os jugal. Elle s'applique ensuite à l'os lacrymal autour de l'orbite et se ramifie dans la partie antérieure de la crête. Le trajet et les ramifications de ce vaisseau rappellent de très près ceux de la *v. facialis cutanea*. Il se distribue dans la peau de la face et dans la partie antérieure de la crête. La partie postérieure reçoit des ramifications de la branche frontale de l'artère ethmoïdale qui naît de l'anastomose d'un rameau de l'*a. ophtalmica interna* avec le rameau ethmoïdal de l'*a. ophtalmica externa*. Ces ramifications se branchent et perforent la partie dorsale de l'anneau de la cavité orbitaire, pour se distribuer dans le tissu axial de la crête et s'anastomoser avec les rameaux provenant de l'*a. facialis cutanea*.



Les barbillons reçoivent le sang artériel par l'intermédiaire d'un rameau à part, l'*a. laciniaris* de Bauer, qui se détache de l'*a. lingualis*; la région faciale l'obtient de l'*a. facialis cutanea*, enfin ce sont des rameaux de l'*a. temporalis superficialis* et de l'*a. auricularis externa* qui pourvoient de sang les oreillons. Le parcours des veines est à peu près le même.

En résumant ces observations, nous pouvons constater que la présence des appendices cutanés est la cause d'un fort développement des vaisseaux cutanés de la tête, de sorte que certains vaisseaux qui chez d'autres oiseaux se présentent sous l'aspect de ramifications insignifiantes, se développent chez le Coq et deviennent des troncs importants.

Passons à présent à la disposition des vaisseaux sanguins dans la crête et dans les autres appendices. En fait de ramifications artérielles, la crête reçoit de puissants rameaux de l'*a. facialis cutanea* et de l'*a. ethmoidalis*. Leur nombre varie, mais il en est au moins 4—5 qui pénètrent des deux côtés de la crête verticalement par rapport à l'axe de celle-ci et s'anastomosent dans son tissu axial, de sorte qu'on ne saurait les distinguer même dans la partie basale (fig. 6, pl. 18) où elles se dirigent en s'irradiant vers le sommet, disposition en rapport avec la forme de la crête, élargie en sens distal. Les vaisseaux artériels se distinguent sur des coupes microscopiques par des parois relativement très épaisses et par un fort diamètre, tandis que les veines sont pourvues de parois extrêmement minces. Le parcours des vaisseaux artériels est plutôt irrégulier, surtout dans la partie basale de la crête, cependant ils se rejoignent à proximité du sommet pour former un arc artériel. Cet arc qui réunit la plus grande partie des principaux vaisseaux de la couche axiale, s'étend parallèlement au sommet de la crête et émet des ramifications terminales vers le sommet de la crête et des créteilons. C'est surtout dans la partie antérieure de la crête que cette disposition des vaisseaux est nettement visible. Le rôle de cet arc artériel consiste très probablement à fournir aux parties distales de la crête une quantité suffisante de sang artériel, vu l'éloignement de ces parties de la portion principale de l'appendice. Le parcours des veines de la couche axiale est analogue, avec cette différence cependant, qu'elles forment des réseaux serrés avant d'aboutir à la *v. facialis cutanea* ou aux veines de l'orbite. Les vaisseaux de la couche axiale émet-

tent à travers la couche fibro-mucoïde de la crête de minces vaisseaux précapillaires destinés à la couche papillaire du derme. Nous trouvons dans la couche papillaire du derme un réseau de larges capillaires souscutanés. J'ai pu confirmer les observations de Champy et Kritch sur ce sujet; il s'agit là de capillaires sous-épidermiques et sinusoides fortement développés. Immédiatement au-dessous de l'épiderme, leur diamètre est particulièrement large et ils ont l'aspect de corps spongieux. Cette couche atteint le plus grand développement au sommet de la crête (fig. 5).

*L'a. laciniaris* se développe simultanément avec l'appendice. Rameau insignifiant chez de jeunes spécimens, elle se présente chez le Coq adulte comme un vaisseau relativement large qui pénètre dans le tissu axial de l'appendice du côté médial des barbillons. La disposition des vaisseaux dans la couche axiale ressemble à celle des vaisseaux de la crête, toutefois avec cette différence que ce réseau est moins régulier (fig. 7, pl. 18). Du reste, comme dans la crête, la partie distale des barbillons est pourvue d'un arc artériel qui rassemble les vaisseaux de celle-ci pour en envoyer d'autres dans les bords des barbillons. Comme dans la crête, ces parties se distinguent par des anses vasculaires particulièrement bien développées. Les vaisseaux de la couche axiale envoient de fins rameaux précapillaires à la couche de larges capillaires souscutanés à travers la couche fibro-mucoïde. J'ai pu constater grâce aux injections, la présence de gros vaisseaux lymphatiques accompagnant les artères.

La vascularisation des oreillons et de la peau de la région faciale, rappelle celle des barbillons. Il existe dans les couches profondes du derme, un réseau de vaisseaux qui envoient de nombreuses ramifications vers l'épiderme. La couche superficielle du derme possède une couche vasculaire, cependant ces capillaires sont moins développés et n'ont pas le caractère propre aux vaisseaux sinusoides, comme ceux de la crête.

Déjà après les premières injections, je me suis aperçu que la masse injectée apparaissait dans les veines des appendices et de tête avant de pénétrer dans les capillaires du réseau sousépidermique. J'ai pu confirmer cette observation en faisant des injections avec de la masse de gomme-laque additionnée de cinabre; je vis alors que les veines contenaient une quantité variable de la masse en question et que, comme c'était d'ailleurs à prévoir, les

capillaires ne renfermaient pas de trace de la substance injectée. Disons en passant que la quantité de la masse de gomme-laque variait, comme si la masse injectée avait parfois à vaincre des difficultés pour passer directement dans les veines, sans prendre le chemin du réseau capillaire. Grâce à plusieurs méthodes indiquées précédemment, j'ai pu découvrir dans les excroissances du Coq des communications directes entre artères et veines, se trouvant dans le tissu axial de la crête et des barbillons, de même que dans la couche profonde du derme des oreillons. Voici la disposition et la structure la plus fréquente des anastomoses artérioveineuses (fig. 8, pl. 19 et 23, pl. 21): l'artère cheminant dans le tissu axial de la crête ou des barbillons, se divise en deux rameaux; le premier fournit plusieurs ramuscules précapillaires au réseau des capillaires de la couche fibro-mucoïde ainsi que les larges capillaires sinusoides de la couche papillaires du derme, tandis que le second rameau communique directement avec une veine, reconnaissable à ses parois larges et dilatées, complètement dépourvues de fibres musculaires. La partie anastomotique des communications est très courte (fig. 8), de sorte qu'il est très difficile de suivre, même sur des coupes microscopiques, la direction des fibres musculaires, d'ailleurs bien développées dans cette partie. Sur les coupes transversales des anastomoses artérioveineuses non injectées, on voit la lumière de celles-ci resserrée en forme d'étoile, phénomène qui rappelle les descriptions de v. Schumacher et de Clara. L'épaisseur de la partie anastomotique des communications varie entre 50 et 80  $\mu$ . Dans les pièces injectées, surtout quand on leur avait appliqué précédemment une injection de liquide vaso-dilatateur, les communications étaient largement ouvertes et dilatées comme les artères et les veines. La structure de leurs parois rappelle celle des artères. Dans les pièces injectées avec du nitrate d'argent, les parois des communications sont tapissées d'un endothélium identique à celui des artères et contiennent une couche de fibres musculaires bien développées sous forme d'un sphincter. On retrouve cette structure des parois des communications directes jusqu'à leur embouchure dans une veine. Le court trajet de la communication proprement dite, ne permet pas d'étudier la disposition et le parcours des fibres musculaires des parois. Ce n'est que dans plusieurs cas que je pus observer une modification épithéloïdale des cellules musculaires. Les veines dans lesquelles débouchent les

communications ont des parois très minces, formées presque exclusivement d'endothélium. Celui-ci est polygonal et non rectangulaire, comme dans les artères et les anastomoses. Les anastomoses de la crête et des barbillons se trouvent toujours dans le tissu axial; celles des oreillons dans les couches profondes du derme (fig. 12, pl. 19). Cette observation s'accorde fort bien avec celles des auteurs qui trouvaient les communications directes toujours dans les couches profondes du derme. Le plus grand nombre des communications correspond aux parties distales de la crête et des barbillons.

Les communications mentionnées correspondent plus ou moins aux descriptions des auteurs. Dans les excroissances du Coq, nous en trouvons d'autres qui présentent une modification de ce type et se rapprochent par leur structure du passage normal des artères dans les veines par l'intermédiaire des capillaires. Les figures 9 (pl. 19) et 22 (pl. 21) montrent des images pareilles. Sur la première de ces figures nous voyons un rameau artériel, communiquant directement avec une veine qui permet au sang artériel de s'écouler en partie seulement dans le réseau des petites veines et des capillaires. La plus grande partie du sang artériel se déverse directement dans une veine, sans passer par le réseau des capillaires. Nous voyons les choses se passer autrement sur la fig. 10 (pl. 19). Une artère d'un assez gros calibre émet une ramification plutôt forte, qui se divise en plusieurs ramuscules dont une partie fournit plusieurs artères précapillaires, avant de former le réseau des capillaires. D'autres ramifications de cette artère aboutissent directement à des petites veines précapillaires, sans passer par un réseau de capillaires. La fig. 10 fait voir des communications de ce type: l'une indiquée par  $an_1$  a le caractère d'une artère au diamètre relativement grand. Elle aboutit à une petite veine dont le calibre est également assez fort. Une seconde petite artère indiquée par  $an_2$ , est une précapillaire et passe directement dans un vaisseau d'un très faible diamètre qu'il faut considérer comme capillaire. Ici, comme dans le cas précédent, le réseau tellement caractéristique pour les capillaires n'existe pas et le sang artériel peut passer directement des petites artères dans les veines. Il faut considérer ces vaisseaux comme des précapillaires et non comme des capillaires dans le sens strict du terme. D'après Krogh (1924), il est relativement facile de discerner les vaisseaux précapillaires des capil-

lares: »...die Arteriolen haben eine gut entwickelte Muskelhülle von einfachen Ringfasern, welche die gesammte Oberfläche des Endothelrohres bedeckt. Auf dem Wege zu einer Capillare gibt es eine kurze Übergangszone, in der die Zahl der Muskelzellen abnimmt und das Endothel blossgelegt wird«. Les vaisseaux anastomotiques représentés dans les fig. 9 et 10, n'ont pas des parties intermédiaires dans lesquelles le nombre des fibres musculaires circulaires des parois diminuerait graduellement, pour laisser voir les cellules de l'endothélium. Dans le cas qui nous intéresse, la partie musculaire de l'artère disparaît subitement et l'endothélium propre aux artères fait place à celui des veines. Ces passages de petites artères dans de petites veines, se trouvent comme les communications typiques, uniquement dans la couche axiale des barbillons et de la crête. Il faudrait citer comme trait commun avec les capillaires, le petit diamètre de ces vaisseaux.

En résumant mes observations sur les communications directes entre artères et veines chez le Coq, je ne puis considérer les anastomoses artério-veineuses des appendices cutanés des oiseaux comme des formations d'un type uniforme. En effet, une partie de ces communications dans la crête et dans les autres excroissances du Coq rappellent les anastomoses artério-veineuses du type décrit par les auteurs (v. Schumacher, Clara). La partie anastomotique du vaisseau artériel est très courte, mais se distingue par un diamètre assez large et par la présence d'éléments musculaires bien développés. En dehors de ces communications, on en trouve dans les appendices du Coq d'autres, dans lesquels également le sang artériel s'écoule directement dans de petites veines, sans passer par le réseau des capillaires, communications qui sont caractérisées cependant par un calibre très réduit des vaisseaux anastomotiques. Les appendices du Coq sont très abondamment vascularisés. Il est fort probable que la présence de différentes communications dans la crête et les barbillons du Coq est en rapport avec la disposition assez particulière des vaisseaux sanguins dans ces parties. De grandes quantités de sang y circulent et les veines de la crête sont munies de parois très minces, circonstance qui pourrait facilement donner lieu à des stases. Les anastomoses artério-veineuses assumeraient par conséquent le rôle de régulateurs de la pression dans les veines efférentes des excroissances. Cette fonction ne rend cependant pas compte de l'importance des communications

directes dans la crête. Hoyer père (1876) leur attribue de plus un rôle thermique important. La plupart des anastomoses artérioveineuses se trouve presque exclusivement dans les parties distales du corps, comme dans les oreilles et le bout du nez chez l'Homme et chez la majorité des Mammifères. Dans ses études sur la circulation chez les Chiroptères et sur les communications directes dans ce groupe et chez d'autres Mammifères, Grosser (1900, 1902) aboutit à des conclusions analogues. Enfin, dans un travail sur les communications directes dans les orteils des Oiseaux, v. Schumacher (1915) considère que le rôle principal de celles-ci consiste à empêcher les grandes pertes de chaleur et à régler la pression du sang. Les communications directes dans les appendices du Coq jouent évidemment un rôle semblable. Ces excroissances sont richement vascularisées, mais très éloignées du centre de la circulation. Leur fonction consiste à régler la pression du sang et surtout à empêcher les pertes de chaleur.

#### *Les appendices cutanés de la Pintade (Numida meleagris L.).*

Les appendices de la Pintade sont très différents de ceux du Coq. Sur la tête, on aperçoit une protubérance cornée, puis, latéralement des barbillons (fig. 13, pl. 19). Le reste de la peau de la tête diffère de celle des autres Oiseaux par la présence de rares plumes filiformes et de pigments divers. Ainsi, la partie occipitale est presque noire, tandis que les parties latérales de la tête sont blanches, enfin la peau de la naissance du bec est relativement épaisse et a une teinte rougeâtre. Toutes ces excroissances sont communes aux deux sexes et leur développement ne présente aucune dysharmonie, surtout chez la Pintade domestique.

La structure du capuchon et des barbillons a été étudiée par Champy et Kritch (1926). D'après ces auteurs, le capuchon corné a comme base un appendice osseux, formé d'os spongieux. Le derme fibreux, pigmenté par de la mélanine, est couvert d'un épithélium superficiel, fortement épaissi. La structure des barbillons s'écarte de ceux du Coq: entre le tissu axial et le derme s'étend un tissu muco-élastique analogue, mais non identique à celui des barbillons et de la crête du Coq. Il est évident que le développement et la structure des excroissances de la Pintade se distinguent par des traits très particuliers.

D'après mes observations, ces excroissances apparaissent un certain temps après l'éclosion, simultanément chez les deux sexes. Par sa position et par le développement considérable de la couche cornée de l'épiderme, le capuchon corné rappelle les appendices fronto-oraux des Toucans. Ces appendices possèdent une couche cornée bien développée et sont fixés également sur une base osseuse. La structure de l'épiderme de l'appendice osseux ressemble dans les grands traits à celles de l'épithélium du bec des oiseaux. La couche basale de l'épiderme est formée de fines cellules filiformes à disposition lâche et perpendiculaire à la surface du derme, dans lequel elles pénètrent par leurs parties proximales. Cette couche est suivie de cellules cubiques, cependant la plus grande partie de la couche malpighienne est formée par les cellules de la couche épineuse de l'épiderme, séparées par des espaces intercellulaires nettement visibles. Elles forment au sommet du capuchon 8—10 assises. La structure de la couche cornée du capuchon ne diffère pas de celle de la couche analogue du bec, mais c'est surtout au sommet du casque qu'elle atteint une forte épaisseur. La structure du derme fibreux et de l'appendice osseux répond dans les grandes lignes à la description de Champy et Kritch. Les couches superficielles du derme se distinguent par un réseau serré de capillaires sousépidermiques et par la présence de follicules de rares plumes atrophiées. Elles ne sont pas visibles à la surface du capuchon qui est lâchement rattaché à l'appendice osseux basal. Les barbillons de la Pintade forment des replis de la peau, analogues à ceux qu'on voit chez le Coq. Néanmoins, même leur aspect extérieur s'écarte de ces derniers. Ils ne pendent pas librement, dévient sensiblement de la ligne médiane et donnent une impression de rigidité qui s'explique par le développement considérable du tissu fibro-mucoïde. Enfin, ils ne sont pas rattachés aux joues, mais communiquent par le bord supérieur avec la peau qui couvre le maxillaire supérieur. Leur couleur jaune tire sur le rouge au milieu et devient nettement rouge sur les bords. Je puis compléter la description histologique de Champy et Kritch par quelques détails. La partie germinative de l'épiderme bien développée, se compose d'une couche basale, suivie d'une couche épineuse de plusieurs assises de cellules séparées par des espaces intercellulaires nettement visibles, ainsi que de deux assises de cellules d'une structure granuleuse. Enfin la couche cornée est relative-

ment très épaisse. Le derme entoure comme un fourreau la partie fibro-mucoïde des barbillons. Le derme proprement dit se compose de fibres collagènes et élastiques et, comme toutes les excroissances des Oiseaux, il est pourvu de nombreux vaisseaux qui cheminent dans ses parties profondes. Le tissu fibro-mucoïde a la forme d'une lame homogène et symétrique, privée de tissu axial. Je ne puis confirmer à cet égard l'opinion de Champy et Kritch. L'absence complète d'éléments conjonctifs et adipeux dans l'axe de la crête, semble caractéristique pour les barbillons de la Pintade. La structure du tissu fibro-mucoïde ne s'écarte pas de la description de ces auteurs. La peau qui couvre le maxillaire supérieur est rouge comme les barbillons, dont elle est le prolongement. L'épiderme, surtout celui de la partie cornée, se distingue par une plus forte épaisseur. Le derme fibreux n'a pas de papilles, mais on y trouve en revanche de rares follicules de plumes atrophiées et de nombreux corpuscules nerveux. Dans la couche profonde du derme, on voit s'étendre un réseau d'abondants vaisseaux souscutanés.

La peau plissée et presque nue des joues et de la partie occipitale n'est couverte que de rares plumes filiformes clairsemées. Celle des joues est blanchâtre avec des taches foncées. La partie occipitale ainsi que le quart supérieur du cou, sont foncés ou presque noirs, avec une touffe de plumes sétacées dans la ligne médiane du cou et de nombreuses rides et sillons qui se croisent dans toutes les directions. Un plus fort développement de l'épithélium et une riche vascularisation, distinguent la peau de ces parties de celle qui couvre les autres parties du corps.

Les excroissances de la Pintade diffèrent des appendices du Coq par la présence de pigments. Cette forte pigmentation, différente dans les diverses régions de la tête, est uniquement attribuable aux pigments spéciaux soit dans l'épiderme, soit dans le derme.

La couleur du capuchon corné est jaunâtre. Des coupes histologiques de pièces enrobées dans de la paraffine ou simplement des coupes frigorifiées, révèlent la présence de deux pigments différents, dont l'un est propre à l'épiderme, tandis qu'on trouve l'autre, noir, dans le derme. Le premier prend la forme de granules dans les cellules de la couche basale de l'épiderme. Sa couleur, rose sur des coupes minces, paraît plus foncée sur des cou-



pes plus épaisses. Ce pigment soluble dans l'alcool, fait partie du grand groupe des pigments chromolipoïdes, si fréquents dans le tégument des oiseaux. Le second pigment se trouve sous forme de cellules espacées, disséminées dans la couche superficielle du derme et pigmentées avec de la mélanine. Il n'exerce aucune influence sur la coloration de la protubérance cornée. Sa couleur jaunâtre s'explique uniquement par le pigment rouge de l'épithélium.

Ainsi que je l'ai déjà dit en donnant une description générale des excroissances de la Pintade la couleur des barbillons est jaune rougeâtre au milieu, pour devenir franchement rouge sur les bords. On ne trouve le pigment des barbillons que dans les cellules de la couche germinative de l'épiderme, tandis que contrairement au capuchon le derme est privé de pigment. La quantité de pigment rouge varie beaucoup, aussi cette variabilité explique-t-elle la couleur rouge des parties distales des barbillons et la nuance jaunâtre des parties centrales. La peau qui recouvre le maxillaire supérieur contient en abondance un pigment rouge, absolument identique à celui des barbillons et du capuchon.

La peau du quart supérieur du cou et de la nuque est foncée, presque noire. Elle est exclusivement pigmentée par la mélanine qu'on trouve en grande quantité dans la couche superficielle du derme et le long des vaisseaux. L'épithélium n'est en général pas pigmenté. Il est beaucoup plus difficile d'expliquer la couleur blanchâtre de la peau sur les côtés de la tête. Des coupes frigorifiées révèlent la présence de rares cellules contenant de la mélanine dans le derme; quant à l'épithélium, il ne contient aucun pigment. Sur des coupes observées à la lumière incidente, la peau de cette partie se distingue cependant par une teinte blanchâtre, malgré l'absence de pigments spéciaux.

En résumé, il existe chez la Pintade deux pigments différents; l'un de couleur rouge, se trouve dans l'épithélium, l'autre représenté par la mélanine, est propre à la couche superficielle du derme. Ces deux pigments apparaissent en quantité variable et la couleur particulière des dispositifs de la Pintade s'explique exclusivement par leur présence. Des recherches histologiques sur la peau colorée et les caroncules du Casoar permirent à Hasskó (1929) de découvrir dans le derme de la mélanine et un pigment caractéristique, chromolipoïde, rouge. Ce sont ces deux pigments

qui donnent une couleur rouge et bleue aux excroissances de l'oiseau. Les cellules d'origine épithéliales dans les follicules des plumes de cette partie du tégument du Casoar, sont pigmentées par de la mélanine, pareille à celle du derme. Il résulte des observations de Hasskó, que le pigment de la peau des oiseaux peut aussi bien être produit par des cellules d'origine ectodermique, que par celles qui proviennent du mésoderme. Pour revenir à mes observations, j'ai pu observer que dans les excroissances de la Pintade, la mélanine se trouve également dans le derme et dans les follicules des plumes de ces parties. Les dispositifs de la Pintade sont un exemple et une preuve de plus en faveur de la théorie de Hueck, suivant laquelle les pigments se développent indépendamment de la provenance des cellules, aussi bien dans l'épithélium que dans le derme.

La vascularisation des appendices cutanés de la Pintade diffère de celle des dispositifs analogues du Coq, surtout par l'absence de vaisseaux sinusoides sousépidermiques. Le capuchon corné reçoit des rameaux à part des *aa. ethmoidales*, *temporales superficiales* et *auriculaires posteriores*. Ces vaisseaux cheminent dans les couches profondes du derme, s'anastomosent fréquemment surtout au sommet du casque et forment un réseau serré de capillaires dans les couches superficielles du derme fibreux. Grâce au développement de la couche cornée, ces capillaires ne forment pas de larges capillaires sousépidermiques. Le parcours des veines est pareil à celui des artères.

La disposition des vaisseaux est différente dans les barbillons. C'est un rameau indépendant de l'*a. facialis cutanea*, vaisseau principal de la crête du Coq, qui arrose les barbillons de la Pintade et non un rameau de l'*a. lingualis*, comme c'est le cas pour les barbillons du premier oiseau. Le parcours des veines est presque identique à celui des artères. Elles aboutissent par deux rameaux à la *v. facialis cutanea*. Le rameau artériel pénètre (fig. 12, pl. 19) dans les barbillons du côté médial, décrit un demi-cercle et s'y divise pour former deux réseaux dans les couches profondes du derme. Ces réseaux symétriques, placés des deux côtés de la lame homogène du tissu fibro-mucoïde, correspondent au réseau profond des vaisseaux du tissu axial de la crête ou des barbillons du Coq. Ils communiquent entre eux à travers la couche fibro-mucoïde centrale et émettent de nombreuses ramifications préca-

pillaires, destinées à la partie fibro-mucoïde et à la couche superficielle du derme. On trouve dans celle-ci un réseau des capillaires, mais il est bien moins serré que dans les excroissances du Coq. Cet état de choses s'explique sans doute par le développement de la couche cornée et par la présence du pigment rougeâtre de l'épiderme. Toutefois, comme presque dans toutes les excroissances plus ou moins en saillie de la tête des oiseaux, on observe dans les barbillons des anastomoses artério-veineuses (fig. 10). Comme toutes les communications directes, elles se trouvent exclusivement dans les couches profondes du derme à la limite de celui-ci et de la lame fibro-mucoïde asymétrique des barbillons. Leur parcours, leur structure et leur disposition sont absolument les mêmes que dans les barbillons et dans la crête du Coq. La lumière de la partie anastomotique des communications directes est reserrée et a l'aspect d'une fissure; l'épaisseur de cette partie y compris les parois variait de 50 à 80  $\mu$ . La disposition et le parcours des anastomoses artério-veineuses sont presque les mêmes que chez le Coq: un rameau artériel se divise en un ramuscule destiné au réseau des capillaires, tandis qu'un autre aboutit directement à une petite veine facilement reconnaissable, même sur des parties examinées *in toto*, grâce à sa lumière relativement large et dilatée par la masse injectée. Notons que le plus grand nombre des communications directes se trouve dans les parties distales des barbillons, disposition évidemment en rapport avec leur fonction thermique.

Les autres parties de la peau nue et colorée de la Pintade sont pourvues d'un réseau profond dans les couches profondes du derme. Ces vaisseaux se divisent en de nombreux capillaires qui se dirigent vers l'épiderme, mais ne forment pas de couche de larges capillaires sinusoides comme dans la crête du Coq.

### **Les appendices cutanés du Faisan (*Phasianus colchicus* L.).**

En fait d'appendices, le Faisan mâle est pourvu du rouge et des cornes charnues (fig. 13, pl. 19). Le rouge entoure l'oeil et s'étend de la naissance du bec au-dessus et au-dessous de l'oeil, de sorte que seule la paupière inférieure et ses alentours sont d'une couleur normale et sont privées des villosités épidermiques qui donnent à cette excroissance un aspect velouté. Le rouge est une surface quadrangulaire en relief, rouge écarlate. Les villosités épi-

dermiques ont la même couleur; ce sont de longues papilles qui vues grossies, ont une forme très variable dans les différentes parties du rouge. Ainsi, dans la partie qui recouvre le bec, leur forme conique rappelle les papilles basses des appendices du Coq, tandis que au-dessus de l'oeil et dans la partie saillante inférieure, elles ont la forme de villosités et atteignent une longueur de 2 mm. La présence de papilles basses intermédiaires est la preuve que celles dont la forme rappelle une épine aplatie, représentent la forme définitive. Entre les villosités on trouve de petites plumes noires, caractéristiques par le fait d'apparaître uniquement dans la région du rouge. Elles prennent deux formes. Les unes mesurent généralement 1—2 mm. de long et leur forme rappelle celle d'un pinceau terminé en pointe. La tige de ces plumes est très courte et les barbules partent au commencement même de la tige. Sur les bords du rouge, on voit des plumes d'une forme intermédiaire, qu'il faut considérer par conséquent comme des plumes de contour, ayant subi une modification. Quant aux autres plumes, elles rappellent les plumes sétacées. Du sommet de leur tige très mince et relativement très longue partent plusieurs ramifications très fines et presque invisibles à l'oeil nu. Ces plumes sont beaucoup plus longues que celles de la première catégorie, car elles mesurent 5—8 mm. La présence de ramifications au sommet de la tige les rapproche des plumes filiformes proprement dites, tandis qu'elles rappellent des crins par le manque d'un étendard. Il n'est guère facile d'expliquer la présence de ces plumes dans le rouge. Les excroissances cutanées des Oiseaux se distinguent presque toujours par l'absence totale ou partielle de plumes. Lorsque nous sommes en présence de plumes rares, nous avons affaire uniquement à des plumes sétacées. Comme nous l'avons dit, on rencontre dans le rouge du Faisan à côté de plumes filiformes également des plumes de contour. De même chez la femelle, on trouve entre les plumes brunes recouvrant l'ébauche du rouge, les mêmes plumes noires entre les petites papilles clairsemées que dans le rouge du Coq Faisan. Il paraît probable que l'apparition des plumes caractéristiques pour le rouge est liée aux facteurs qui conditionnent le développement de cette excroissance.

Les cornes charnues sont placées sur la partie postérieure de la tête. Elles ont la forme de petites éminences charnues recou-

vertes de plumes de contour noires, beaucoup plus longues que celles des régions voisines.

Le dimorphisme est très prononcé chez le Faisan. La dysharmonie du développement des appendices est aussi frappante que les différences du plumage. Le rouge de la Faisane se présente sous la forme d'une ébauche peu développée et les cornes charnues font complètement défaut. Chez la femelle, le rouge est réduit à la présence de rares papilles villeuses de couleur rouge orange, disséminées sur une peau blanchâtre parmi les plumes d'un brun clair, pareilles à celles qui couvrent le reste de la tête. On aperçoit cependant dans le voisinage immédiat des villosités, les petites plumes noires, caractéristiques pour le rouge du Coq. Les villosités des femelles plus âgées sont plus nombreuses et d'une teinte plus foncée. Il semble que ce caractère se développe avec l'âge, tout comme les ergots chez la poule.

Il faut ranger le rouge parmi les excroissances qui ne se développent qu'après l'éclosion, comme caractères sexuels secondaires typiques. La première ébauche du rouge se montre chez de jeunes coqs au commencement du troisième mois. A cette époque, les plumes de contour tombent dans cette région et sont remplacées peu à peu par les villosités écarlates et les petites plumes noires caractéristiques. Les cornes charnues n'apparaissent que beaucoup plus tard et n'atteignent leur plein développement que dans la période des amours.

Le rouge du Faisan a été étudié par Champy et Kritch (1925), par Zawadowsky et Kritch ainsi que par Régnier, qui a fait des recherches plus détaillées sur ce sujet. Grâce à des recherches histo-chimiques, Régnier a pu enregistrer les résultats suivants: au point de vue histologique le rouge se compose de deux couches faciles à distinguer par leur structure. La couche superficielle riche en fibres, se prolonge dans les villosités, tandis que la couche profonde possède de nombreuses cavernes à parois musculaires. Régnier n'entre pas dans l'explication des rapports entre les cavernes et les autres vaisseaux de cette couche. L'épiderme est formé de plusieurs assises de cellules. Le pigment se trouve exclusivement dans la couche basale de la partie germinative de l'épithélium sous forme d'inclusions cytoplasmiques, dont la teinte varie suivant l'épaisseur. Ce pigment — la zooérythrine — est soluble dans de l'éther, le toluène, l'alcool et le chloroforme. C'est

un caritinoïde non composé, dissous dans une solution de graisse. Ce pigment est identique à celui des villosités rouge orange de la Faisane et à ceux des extraits du foie et de la graisse du même oiseau. De l'avis de Régnier, les vaisseaux sanguins ont une certaine influence sur la coloration de ces parties. C'est également à cet auteur que nous devons d'intéressantes observations sur le développement du rouge dans la saison d'accouplement et sur sa régression après la castration.

Revenons à nos observations personnelles. Le rouge du Faisan, comme d'ailleurs presque toutes les excroissances des oiseaux, se distingue des autres parties de la peau par une forte épaisseur et par des différences concernant la structure histologique. L'épaisseur de la peau du Coq mesure en moyenne 1.139 mm, celle du Faisan s'élève à 1.137 mm (Wodzicki, 1928). Le rouge a une épaisseur d'environ 3.5—4.0 mm. Cette augmentation de l'épaisseur qui comme nous le verrons dans la suite, atteint des proportions bien plus considérables pendant la période de l'accouplement, s'explique par le puissant développement des couches profondes du derme, développement en rapport avec la présence d'un corps caverneux.

Le derme du rouge comprend deux couches: une couche superficielle ou papillaire et une autre profonde. La couche superficielle est nettement caractérisée par la présence de vaisseaux précapillaires et capillaires, la couche profonde est pourvue de vaisseaux plus gros et de nombreuses cavernes.

La couche superficielle du derme (fig. 17 et 18, pl. 20) est beaucoup plus mince que la couche profonde. Un faisceau de fibres musculaires lisses provenant des muscles souscutanés de cette partie qui s'étendent parallèlement à la surface, indique la limite inférieure de cette couche. Ces muscles paraissent peu développés et il n'est guère possible d'indiquer exactement leur fonction. Peut-être sont-ils en relation avec les plumes clairsemées du rouge. Cette partie du derme se compose de fibres conjonctives et élastiques. Les fibres collagènes sont très serrées et les fibres élastiques forment un réseau à mailles très étroites qui s'étend dans toutes les directions: une partie de ce réseau aboutit à la couche basale de l'épiderme, comme c'est d'ailleurs souvent le cas dans d'autres parties de la peau des oiseaux. La couche papillaire du derme se prolonge dans les villosités épidermiques. Les éléments élastiques

qui pénètrent dans les papilles avec des ramuscules nerveux et capillaires, y forment un réseau distinct, dont la forme rappelle sur les coupes celle d'un bouquet. Comme les papilles du rouge contiennent des éléments mésodermiques, nous devons les considérer comme de véritables papilles du derme.

La couche profonde du derme se distingue en premier lieu par son épaisseur qu'elle doit au développement considérable des vaisseaux sanguins. Cette particularité lui donne un aspect caractéristique. La structure du tissu conjonctif de cette couche est en général plus lâche que dans la couche précédente du derme. Des fibres élastiques très fines forment un réseau dans les mailles duquel s'étendent les abondants vaisseaux de cette couche.

L'épiderme du rouge du Faisan est relativement peu développé. La couche germinative se compose d'une couche basale pigmentée, puis de 3—4 assises de cellules d'une structure plus ou moins modifiée au-dessus desquelles s'étend une couche cornée relativement très mince et uniforme dont les éléments se desquamement en lamelles faiblement adhérentes. J'ai pu confirmer les observations de Régnier quant à la répartition du pigment; on le trouve exclusivement dans l'épiderme, principalement dans la couche basale, sous forme d'inclusions cytoplasmiques, le derme en étant complètement dépourvu. La couleur écarlate du rouge est presque exclusivement attribuable au pigment épithélial, le rôle des vaisseaux sousépidermiques étant réduit tout au plus à renforcer la teinte de ces excroissances. Inutile de dire que le tableau décrit diffère de celui qu'offrent les dispositifs du Coq.

Après avoir pris connaissance de l'aspect et de la structure histologique du rouge, occupons nous de la disposition des vaisseaux sanguins. Nous distinguons aisément sur des coupes transversales un réseau de capillaires dans la couche superficielle du derme ainsi qu'un réseau d'abondants vaisseaux souscutanés. En dehors de ces vaisseaux dans la couche profonde du derme, on en trouve d'autres qui diffèrent sensiblement par leur structure des vaisseaux cutanés. Sur les coupes microscopiques (fig. 17), ils rappellent de premier abord les communications directes entre artères et veines, par l'épaisseur des parois et par une lumière peu visible et reserrée. L'examen attentif des séries de coupes permet cependant de constater qu'il ne s'agit pas là d'anastomoses artério-veineuses, mais que nous sommes en présence des ca-

vernes mentionnées par Régnier dans sa description du rouge. Leurs parois d'une épaisseur variable suivant la direction de la coupe, sont composées d'un endothélium et de fibres musculaires au parcours compliqué et irrégulier. La lumière de ces cavernes est rétrécie, de sorte que l'ensemble fait l'impression d'être contracté. En plus des cavernes, cette partie du rouge se distingue par la présence de petites artères et de veines qui communiquent directement avec les cavernes (fig. 17 art<sub>1</sub>). Mais c'est seulement sur du matériel injecté que j'ai pu exactement fixer le parcours et les rapports réciproques des vaisseaux et des cavernes. Dans ce but j'ai profité de la période des amours, pendant laquelle le rouge grossit et atteint un très fort degré de développement, pour injecter les vaisseaux des excroissances du Faisan avec de la masse gomme-laque ou du bleu de Prusse, après avoir lavé ces vaisseaux avec des liquides vaso-dilatateurs. Je me suis aperçu ainsi qu'après une injection de gomme-laque, cette masse avait pénétré non seulement dans les cavernes, mais aussi dans les veines du rouge et de ses environs, les capillaires étant vides, tandis que l'injection du bleu de Prusse, surtout de la solution gélatineuse de ce colorant, rendait les appendices turgescents. Il résulte de ces deux expériences que le rouge du Faisan contient des anastomoses artério-veineuses et qu'il faut le considérer comme un organe érectile. J'ai pu vérifier ces suppositions sur des séries de coupes et sur des préparations obtenues avec du matériel injecté éclairci *in toto*, enfin j'ai pu les confirmer par des observations sur l'animal vivant.

Le rouge du Faisan est arrosé par des rameaux distincts de l'a. *ethmoidalis*, de l'a. *facialis cutanea*, de l'a. *temporalis superficialis* et de l'a. *auricularis posterior*. Ces ramifications forment dans la couche profonde du derme un réseau serré de vaisseaux souscutanés. Le parcours des veines est en général peu différent de celui des artères. Le réseau artériel souscutané communique par des anastomoses avec les vaisseaux des régions voisines du rouge et émet des petites branches artérielles qui se dirigent vers la surface de celui-ci. Nous pouvons ranger ces ramuscules dans deux catégories: la première comprend les vaisseaux qui forment le réseau des capillaires de la couche papillaire, tandis que les ramuscules qui communiquent directement avec les cavernes, entrent dans la seconde catégorie. Les ramuscules de la pre-



mière catégorie parviennent à la couche superficielle du derme et forment un fort réseau de capillaires souscutanés. La vascularisation des villosités constitue cependant une sorte d'exception. Elles sont vascularisées par de petites artères précapillaires centrales (fig. 15 et 16, pl. 20), qui se branchent à l'intérieur de chaque papille pour y former un riche réseau de capillaires sous-épidermiques à mailles serrées. Le sang veineux s'écoule par de petits troncs veineux qui le charrient dans le réseau des couches profondes du derme. Le réseau des capillaires sousépidermiques du rouge diffère sensiblement de celui des excroissances du Coq. Il ne forme pas de larges capillaires sinusoïdes immédiatement sous l'épiderme, mais s'étend dans toute la couche superficielle du derme. Cette particularité est en rapport avec la présence de la zooérythrine dans la couche basale de l'épiderme. Néanmoins, il vient s'ajouter une coloration provoquée par la couleur du sang, car après des pertes de sang, la teinte du rouge devient pâle et terne.

La seconde partie des ramifications du réseau profond du derme est constituée par des artères d'un calibre relativement faible qui communiquent directement avec les cavernes. Sur les coupes de matériel injecté, le rouge de ces parties offre un aspect différent. Le tissu conjonctif qui précédemment constituait la plus grande partie de cette couche, disparaît pour faire place aux cavernes gonflées et remplies de masse injectée (fig. 17 et 18). Les artères afférentes des cavernes se distinguent par un très faible calibre et par des parois épaisses complètement dépourvues d'éléments élastiques. Après un parcours plus ou moins long et sinueux, elles débouchent obliquement dans les cavernes. Celles-ci ont la forme de gros vaisseaux ronds ou ovales sur la coupe, dont les parois sont constituées par une couche d'endothélium et de fibres musculaires peu nombreuses. Les cavernes forment un système grâce auquel le rouge peut passer rapidement à l'état turgescence. Les cavernes aboutissent à de petites veines (fig. 24, pl. 21), par lesquelles le sang des cavernes se déverse dans le réseau profond du derme.

Les cornes couvertes de plumes du Faisan (fig. 13 et 14) diffèrent extérieurement du rouge et se composent d'une touffe de plumes plus longues que celles de l'entourage et d'un appendice charnu. Celui-ci est une éminence dermique lisse, privée de vil-

losités épithéliales et de pigment. En dehors de ces détails, la structure histologique des cornes charnues rappelle celle du rouge. Le derme comprend deux couches, dont l'une superficielle et l'autre profonde. La couche superficielle se distingue par la présence d'un réseau de capillaires, moins riche que dans la couche analogue du rouge. Le tissu conjonctif est plus lâche dans la couche profonde qui contient de nombreux follicules de plumes, des muscles souscutanés, des cavernes, enfin dans les parties plus profondes, un réseau formé par d'abondants vaisseaux sanguins. La structure de l'épiderme n'offre rien de particulier. Les cavernes ont la même structure que celles qu'on trouve dans le rouge: sur des coupes provenant d'un matériel non injecté, elles rappellent par leurs parois retrécies et par leur lumière reserrée les anastomoses artério-veineuses. Il est facile d'observer sur du matériel injecté leur forme ovale ainsi que leur structure identique à celle des cavernes du rouge. Les cavernes sont plus larges dans les couches plus profondes et l'on voit leur calibre diminuer dans les parties plus rapprochées de la surface. Il nous faut encore signaler le fort développement des muscles qui s'insèrent dans les follicules des plumes. Cette particularité est en rapport avec l'érectilité de cette partie au moment où les appendices deviennent turgescents et où les plumes qui les couvrent se hérissent. Le parcours et la disposition des vaisseaux sont les mêmes que dans le rouge, toutefois les ramifications qui forment le réseau capillaire sousépidermique, sont moins développées par suite de la présence de plumes et de l'absence de pigment épidermique. D'autres vaisseaux communiquent directement avec les cavernes qui aboutissent ensuite aux veines. Les cornes charnues du Faisan méritent par conséquent d'être considérées comme de vrais organes érectiles, en effet le sang pénètre rapidement dans les cavernes par les vaisseaux artériels largement ouverts et s'écoule par les veines, — arrangement auquel cet organe, comme du reste le rouge doit son érectilité.

J'ai pu confirmer l'érectilité du rouge et des cornes charnues en faisant des observations sur des animaux vivants pendant la période d'accouplement. A cette époque le rouge se gonfle, de sorte qu'il forme un barbillon, et les cornes à peine visibles en hiver, commencent à pointer. La turgescence du rouge et des cornes fait partie de l'attitude du coq, lorsque pendant cette pé-

riode il s'approche d'une femelle, attitude très particulière d'ailleurs. La turgescence augmente très vite et atteint son maximum immédiatement avant la copulation. Elle ne dure du reste que peu de temps. A l'état du maximum d'érection, le rouge mesure 5 cm. de long, les cornes se dressent perpendiculairement, atteignent une longueur de 1—2 cm. et paraissent rigides. Ce maximum d'érection ne dure pas longtemps; néanmoins, le retour à l'état de repos prend assez de temps. Je dois noter le fait intéressant, qu'en appliquant des injections, je n'ai jamais réussi à produire un état de turgescence aussi complet, que celui qu'on observe chez des animaux vivants.

#### *Les appendices du Coq de bruyère (Lyrurus tetrrix L.).*

Le Coq de bruyère et le Coq des bois possèdent dans la région de la paupière supérieure, des appendices en forme de «sourcils rouges». Nous connaissons des excroissances semblables chez d'autres Gallinacés européens, tel que *Lagopus lagopus* L. et *Tetrastes bonasia* L. Celles du Coq de bruyère sont plus développées, que chez le Coq des bois. Elles atteignent leur plein développement pendant la période des amours seulement et mesurent alors chez le Coq de bruyère environ 3—4 cm. de long sur 2—2½ cm. de large.

Les sourcils rouges du Coq de bruyère n'ont été que peu étudiés. Dans une étude sur la crête du Coq, Pangalo (1906) donne une description plutôt sommaire de la structure de cette excroissance. Wurm et Krukenberg ont étudié la structure du pigment rouge des sourcils et lui ont donné le nom de tetraoérythrine. Vu la difficulté d'obtenir du matériel se prêtant aux injections, j'ai étudié la structure des vaisseaux sanguins uniquement sur des coupes microscopiques.

Les sourcils rouges ne sont pas pareils au rouge du Faisan. Ils n'ont pas de petites plumes, ni les plumes sétacées tellement caractéristiques pour le rouge. Ce n'est que dans la région au-dessus de l'oeil que se trouvent quelques petites plumes de contour, cependant leur aspect est différent. Les papilles dermiques sont plus longues, mais moins nombreuses. Elles ont la forme d'une épine aplatie à base plus large et sont disposées sur plusieurs rangées. La longueur de ces villosités mesure de 4 à 5 mm.

Souvent elles se divisent en 2—3 papilles secondaires. Il n'y a pas de région intermédiaire entre l'excroissance et la peau voisine, comme dans les appendices du Coq.

Sur des coupes histologiques, les sourcils rouges se distinguent par leur épaisseur, surtout pendant la période des amours. A cette époque les sourcils forment une partie saillante de 8—10 mm. d'épaisseur. L'épiderme se compose d'une couche basale, de 3—4 assises de cellules aplaties et d'une couche cornée relativement très mince. Comme chez le Faisan, on trouve le pigment rouge sous forme d'inclusions cytoplasmiques dans la couche basale de l'épiderme, le derme en étant complètement dépourvu. Je n'ai pas étudié sa composition chimique, cependant à en juger par sa structure histologique, il faudrait lui attribuer une composition analogue à celle de la zooérythrine du rouge du Faisan. Le derme se compose d'une couche superficielle ou papillaire et d'une couche profonde. La disposition des fibres conjonctives qui constituent la couche papillaire, est peu régulière et plus serrée que dans la couche profonde du derme. A la limite de ces deux couches s'étendent des faisceaux de fibres musculaires lisses qu'il faut considérer comme des muscles en rapport avec les plumes modifiées. On trouve dans la couche profonde des fibres collagènes plus épaisses et de nombreux vaisseaux sanguins.

La vascularisation des sourcils rouges se distingue de celle du rouge du Faisan par l'absence d'un corps caverneux. Dans les couches profondes du derme s'étend un réseau de vaisseaux, d'un assez fort calibre, qui forme par l'intermédiaire de ramuscules précapillaires un réseau serré de capillaires dans la couche superficielle. Des anses vasculaires pénètrent dans les villosités et l'on se trouve en présence d'un tableau tout à fait analogue à celui qu'offre le rouge (fig. 15 et 16). Les différents détails en rapport avec la structure des sourcils rouges du Coq de bruyère, permettent de comprendre pourquoi l'érectilité leur fait défaut.

L'analogie de la structure des sourcils avec le rouge permettait de supposer la présence d'une ébauche chez la femelle. J'ai pu confirmer cette supposition en examinant des spécimens empaillés; en effet on découvre chez la femelle du Coq de bruyère des sourcils sous forme de rares villosités au milieu des plumes de contour analogues à celles des parties voisines de la tête.

*Les appendices cutanés du Dindon (Meleagris gallopavo L.).*

En fait d'appendices, nous trouvons chez le Dindon: l'appendice frontal, les caroncules charnues et la brosse (fig. 19, pl. 20). Les autres parties de la peau de la tête et de la région supérieure du cou sont verruqueuses et se distinguent par la présence de petites papilles dermiques, par une abondante vascularisation, enfin par des plumes filiformes clairsemées. Les papilles sont de petites dimensions sur la partie postérieure de la tête, mais deviennent un peu plus grosses latéralement et sur la partie supérieure du cou. Elles atteignent les plus fortes dimensions sur la partie antérieure du cou où elles forment chez les mâles adultes de grosses caroncules charnues. L'appendice frontal occupe à peu près la même place, que la crête du Coq. C'est un replis conique de la peau, couvert de rares plumes filiformes clairsemées. Enfin, sur le devant de la partie inférieure du cou, nous voyons chez le Dindon la brosse. C'est une caroncule charnue munie d'une touffe de crins.

L'anatomie des appendices du Dindon n'a été que peu étudiée. D'après Ingorow, Marshall (1895) considère l'appendice frontal comme un organe érectile. Des réseaux superficiels de vaisseaux sanguins auraient le pouvoir de se rétrécir, de sorte qu'en affluant par les artères et ne pouvant s'écouler par les veines, le sang produit la turgescence de l'appendice. Moser (1906) attribue le changement de la couleur de la peau de la tête à l'action des vaisseaux lymphatiques cutanés. Pangalo (1906) explique la turgescence de l'appendice frontal par la présence d'artères aux parois très épaisses; une large dilatation de ces vaisseaux produit suivant lui l'érection de l'appendice. Champy et Kritch (1926) donnent une description histologique plutôt sommaire de la structure de ce dispositif, enfin Freund et ses élèves (1926) attribuent aux vaisseaux des caroncules une disposition radiaire. Ce n'est que la structure et le développement de la brosse qui ont été étudiés dans les détails par Bulliard (1926).

Les appendices du Dindon se développent d'une façon semblable que chez le Coq: l'appendice frontal fait son apparition avant l'éclosion et les autres excroissances sont formées beaucoup plus tard. Leur croissance est précédée d'une vascularisation locale et de la perte des plumes de contour. Les caroncules se

montrent ensuite sous forme de petites papilles dermiques. C'est alors que se manifeste le dimorphisme sexuel dans le développement des excroissances. Chez la femelle, l'appendice et les caroncules continuent à être petits et faiblement vascularisés et la brosse est privée de crins. Chez le mâle, les caroncules et l'appendice frontal sont bien développés: leurs dimensions sont beaucoup plus fortes, les excroissances ainsi que la peau nue de la tête disposent de la faculté de changer de couleur et sont érectiles. Lorsque le Dindon fait la roue ou se met en colère, les appendices deviennent turgescents et changent de couleur, de sorte que de rouges, on les voit devenir bleus. Ils se distinguent par une assez forte érectilité qui est surtout développée dans l'appendice frontal dont la longueur mesure 1 à 2 cm. à l'état flasque et atteint 10 cm. quand l'oiseau fait la roue. Le maximum de longueur que j'ai pu obtenir après une injection de gélatine, s'élevait à 12 cm. tandis que la plus grande largeur mesurait 2.5 à 3.5 cm. La brosse est bien développée chez le mâle, et la caroncule charnue qui en forme la base, est pourvue d'une touffe de crins plus ou moins longs.

La peau verruqueuse de la tête du Dindon a l'aspect d'un derme richement vascularisé. On y voit de rares plumes filiformes entremêlées avec les petites papilles dermiques de cette région de la peau. La structure histologique de cette partie est relativement assez simple. On trouve dans le derme toutes les couches de la peau à l'exception du tissu sous-cutané. L'absence complète de cette couche, ainsi que le développement considérable des vaisseaux sanguins du derme contribuent à donner aux coupes de la peau de cette région un aspect caractéristique. La structure de l'épiderme est pareille à celle de la crête du Coq: au-dessus de la couche germinative basale s'étendent plusieurs assises de cellules séparées par des espaces intercellulaires nettement visibles. La couche cornée est relativement mince et peu développée. Le derme se compose de deux couches: d'une couche superficielle et d'une autre profonde. La couche superficielle se distingue par la présence de faisceaux de fibres conjonctives qui s'étendent dans tous les sens et se prolongent dans les papilles dermiques. Le tissu conjonctif de la couche profonde est plus lâche et contient en dehors de nombreux vaisseaux, des fibrilles musculaires et de rares follicules de plumes

sétacées qu'on aperçoit entre les papilles dermiques. La disposition des vaisseaux sanguins dans cette partie de la peau du Dindon est la suivante: la partie profonde du derme est pourvue de vaisseaux bien développés et l'on trouve dans cette couche de nombreuses anastomoses artério-veineuses dont la structure est tout à fait analogue à celle des communications entre les artères et les veines dans la crête du Coq. La partie anastomotique est très courte et les veines dans lesquelles débouchent les artères ont un aspect caverneux. Les vaisseaux de la couche profonde du derme se ramifient en ramuscules qui se dirigent vers l'épiderme pour y former des anses de capillaires sousépidermiques. Les ramuscules qui traversent la partie profonde de la couche papillaire du derme pour fournir les vaisseaux capillaires sousépidermiques, se distinguent par la présence de fibres musculaires dans leurs parois. La peau verruqueuse de la tête du Dindon étant complètement dépourvue de pigment, la couleur rouge ou bleuâtre des excroissances de cet oiseau s'explique exclusivement par l'action des vaisseaux souscutanés. Les excroissances du Dindon ont des vaisseaux souscutanés analogues, mais non identiques à ceux des excroissances du Coq. Les vaisseaux sanguins dans les dispositifs du Coq donnent à celles-ci une couleur rouge uniforme, tandis que chez le Dindon la structure des vaisseaux permet aux appendices de passer du rouge au bleuâtre. Moser (1906) attribue cette propriété à l'action de vaisseaux lymphatiques. Je n'ai pu confirmer cette opinion. D'après mes observations, la présence de fibrilles musculaires dans les parois des vaisseaux sanguins de la partie profonde de la couche papillaire du derme explique les changements de couleur de la peau verruqueuse du Dindon. En effet, la contraction de ces vaisseaux, consécutive à l'excitation de l'oiseau, produirait une stase de sang veineux dans les vaisseaux souscutanés et le changement de la couleur rouge en bleue.

Toute la peau verruqueuse de la tête du Dindon possède de grosses papilles, qui diffèrent de celles des excroissances des autres oiseaux étudiés, par leur forme demi-ovale. Ce sont de vraies papilles dermiques primaires, car l'éminence dermique est pourvue de ramuscules nerveux et d'anses de vaisseaux sanguins.

Les caroncules sont des papilles particulièrement développées, surtout dans le quart supérieur du cou (fig. 19 et 20, pl. 20). Elles se

distinguent sur des coupes par leur forte épaisseur. Ainsi l'épaisseur de la peau verruqueuse de la tête s'élève à 2.0—2.5 mm, celle des caroncules de la partie latérale du cou à 7—10 mm, enfin celle des parties antérieures atteint 25 mm. Cette augmentation de l'épaisseur est due en premier lieu au développement du réseau profond des vaisseaux souscutanés. La disposition des vaisseaux dans les caroncules est la suivante: les caroncules de la partie antérieure du cou sont pourvues de rameaux de l'a. *oesophagea descendens*; dans le centre de chaque papille se trouvent une artère et plusieurs veines efférentes qui après un parcours sinueux débouchent dans les veines jugulaires externes. Cette artère papillaire se divise en nombreux rameaux dont la plus grande partie forme la couche des capillaires sousépidermiques. D'autres rameaux communiquent directement avec les veines d'un aspect caverneux de cette couche. Ces anastomoses artério-veineuses ont une structure intermédiaire entre celles de la crête du Coq et celles de l'appendice frontal du Dindon. Elles se distinguent notamment de celles du Coq par la longueur de la partie anastomotique proprement dite et par la modification épithéloïdale assez prononcée des fibrilles musculaires de leurs parois. Elles débouchent obliquement dans des veines dont les parois sont très fines et délicates.

Il nous reste à décrire la structure et la vascularisation de l'appendice frontal (fig. 25, pl. 21). Sa structure histologique est presque identique à celle des caroncules. L'épiderme est ici peu épais, le derme se compose d'une couche superficielle et d'une couche profonde. La première forme de petites éminences épithéliales; dans sa partie profonde se trouvent de nombreux follicules de plumes sétacées, surtout au sommet de l'appendice. La couche profonde se distingue par la présence de gros vaisseaux, de nerfs et d'un corps caverneux qui occupe le centre de l'appendice. Il est constitué par de larges cavernes veineuses et par des rameaux artériels afférents qui cheminent dans un tissu conjonctif assez homogène et serré. Comme c'est le cas dans le dispositif frontal de la Pintade, de même chez le Dindon le tissu fibro-mucoïde est absent dans l'appendice frontal.

L'appendice frontal est vascularisé par des rameaux de l'artère ethmoïdale et de l'artère faciale cutanée. Le sang s'écoule principalement dans la veine faciale cutanée qui prend naissance



dans l'appendice et dans quelques rameaux faisant partie du système des veines de l'orbite. Ces vaisseaux sont situés du côté caudal de l'appendice et fournissent, comme dans presque toutes les excroissances des oiseaux, de nombreux vaisseaux destinés à pourvoir la couche des capillaires sousépidermiques. D'autres rameaux communiquent directement avec les cavernes du centre de l'appendice, facilement reconnaissables grâce à l'épaisseur de leurs parois et à leur lumière en forme d'une fissure (fig. 25 et 26 art.). Le parcours de ces communications est sinueux, de sorte qu'il est difficile de trouver sur la même coupe une partie du parcours du vaisseau anastomotique et son embouchure dans une caverne. Les communications ont une épaisseur de 80  $\mu$ . Les fibrilles musculaires de leurs parois accusent une modification épithéloïdale assez prononcée, de sorte que leur forme est ronde et non oblongue. Ces communications rappellent les artères hélicines des corps caverneux dans les organes génitaux des Mammifères. Les cavernes dans lesquelles débouchent les rameaux anastomotiques sont pourvues de parois très minces et sont séparées par de fines trabécules de tissu conjonctif. La présence de globules rouges et surtout la forme polygonale de l'endothélium les rapproche des veines. Le sang remplissant les cavernes s'écoule directement dans de petites veines, par lesquelles il passe dans les veines de l'appendice.

Il nous reste à expliquer le mécanisme de la turgescence de l'appendice frontal. A l'état de repos le sang se dirige presque exclusivement vers les capillaires de la couche superficielle du derme. Pendant l'excitation génésique de l'oiseau et surtout lorsqu'il fait la roue, les artérioles hélicines s'ouvrent largement, grâce au développement considérable des parois musculaires qui forment une sorte de sphincter et fournissent une quantité suffisante de sang pour remplir les cavernes et rendre l'organe turgescant. L'augmentation du volume intéresse surtout la longueur et non la largeur de l'appendice, la forme des cavernes étant allongée. Il résulte des observations sur l'animal vivant que la turgescence se produit relativement lentement, tandis que le retour à l'état de repos est très rapide. Cette particularité s'explique par la facilité avec laquelle le sang remplissant les cavernes s'écoule directement dans les veines, une fois que l'afflux du sang artériel par les artères hélicines est arrêté, de sorte que l'état de turgescence est rapidement suivi de l'état de repos.

### *Conclusions.*

Voici comment nous pouvons résumer les résultats de nos recherches sur les excroissances cutanées des oiseaux: comparées aux autres parties de la peau, elles sont relativement très épaisses chez tous les oiseaux étudiés; elles sont complètement privées de plumes ou n'en ont que très peu et se distinguent par la présence de papilles dermiques, par leurs couleurs vives et par une abondante vascularisation. Elles se présentent sous différentes formes, suivant le développement de telle ou autre partie du derme.

L'épiderme des excroissances atteint en général un plus fort développement que celui des autres parties de la peau des oiseaux. Nous pouvons distinguer plusieurs degrés de développement de l'épiderme; lorsqu'il n'est pas très développé, sa structure diffère peu de celle de la peau du corps, mais dans d'autres cas il atteint une forte épaisseur, grâce au développement de la couche cornée. L'épiderme des appendices du Coq de bruyère et du Faisan mâle, se distingue de l'épiderme de la peau du corps presque seulement par la présence de pigments spéciaux. L'épiderme des excroissances du Coq et du Dindon est plus épais, toutefois sa couche cornée est mince. Enfin chez la Pintade, les appendices cutanés offrent l'exemple d'une lame cornée bien développée: c'est surtout le casque qui par le développement considérable de la couche cornée rappelle les formations cornées du bec et des extrémités inférieures.

Lorsqu'on compare le derme des appendices avec celui des autres parties de la peau des oiseaux, on observe de grandes différences, surtout en ce qui concerne l'épaisseur et la structure histologique. Elles se traduisent par le relâchement des tissus du derme et par le développement considérable de ses vaisseaux sanguins. Dans d'autres cas, ces changements de structure aboutissent à la formation d'une couche particulière constituée par des tissus tout à fait étrangers à la peau des oiseaux. Les appendices de la Pintade, du Faisan, du Coq de bruyère et du Dindon entrent dans la première catégorie; le développement des vaisseaux sanguins est ici accompagné de changements intéressants l'épaisseur et la disposition des tissus. Les excroissances que nous rangeons dans la seconde catégorie, sont pourvues dans les couches profondes du derme d'une couche propre, constituée par du tissu

fibro-mucoïde. La crête et les barbillons du Coq, puis les barbillons de la Pintade appartiennent à cette dernière catégorie. Ces appendices se distinguent des autres excroissances des oiseaux par une rigidité permanente. Celle-ci s'explique uniquement par la présence d'une couche de tissu fibro-mucoïde dans la couche profonde du derme, mais non par l'action des vaisseaux sanguins.

Un autre trait caractéristique commun à presque toutes les excroissances cutanées des oiseaux est donné par la tendance très nette à une réduction plus ou moins forte du plumage de ces parties. La crête est totalement dépourvue de plumes, même dans des stades embryonnaires. Les barbillons du Coq, les caroncules du Dindon, le casque dur ainsi que les barbillons de la Pintade, sont couverts pendant leur développement de plumes filiformes clairsemées qui disparaissent complètement dans la suite. Les autres excroissances sont dépourvues de plumes de contour et possèdent uniquement de rares plumes sétacées. Le rouge de Faisan constitue une exception à cet égard; en effet entre les villosités de cet appendice, on aperçoit des plumes filiformes et de petites plumes de contour, toutefois dans ce cas là les plumes semblent former la partie essentielle de cette excroissance.

Le développement des papilles dermiques est très caractéristique pour les appendices, mais il est aussi très variable. Il est un processus parallèle à l'involution des plumes. On trouve les villosités dans toutes les excroissances des oiseaux étudiés, à l'exception de la Pintade; cependant la présence de nombreuses rides et de plis dermiques indique ici une tendance à former des papilles. Les papilles des excroissances affectent des formes très variables. Les appendices du Coq possèdent des papilles coniques et basses, celles du Dindon ont une forme intermédiaire, ovale ou arrondie, enfin les papilles des excroissances du Faisan ou du Coq de bruyère qui atteignent le plus grand développement, ont une forme villeuse ou rappellent une épine aplatie. Ce sont de vraies papilles dermiques primaires, formées non seulement par une éminence épidermique, mais constituées également par le derme et par des anses vasculaires. Les appendices cutanés seraient par conséquent encore une région de la peau des oiseaux caractérisée par la présence de papilles. Il semble clair que comme dans d'autres régions pourvues de papilles dermiques (le tégument du tarse et de l'angle

de l'orbite), il y a un rapport entre leur apparition et le plumage réduit.

Les couleurs vives sont un autre trait caractéristique des appendices cutanés. Cette coloration est soit attribuable à des pigments spéciaux, soit à l'action des vaisseaux souscutanés. Les excroissances du Faisan, du Coq de bruyère, du Coq des bois et de la Pintade, entrent dans la première catégorie, celles du Dindon dans la seconde. Dans les excroissances pigmentées, on trouve aussi bien le pigment dans le derme que dans l'épithélium. Les excroissances du Coq de bruyère et du Faisan présentent l'exemple d'un pigment localisé uniquement dans l'épiderme, le rôle des vaisseaux sanguins sousépidermiques étant secondaire. Les appendices de la Pintade se distinguent de ceux du Faisan et du Coq de bruyère par la présence de pigments aussi bien dans l'épiderme que dans le derme. Les appendices du Coq et du Dindon doivent leur vive coloration uniquement à l'action d'abondants vaisseaux sousépidermiques. Les oreillons et la peau rouge de la joue du Coq offrent un tableau relativement simple, semblable à celui que présentent le cou de la race des poules à cou nu et les taches d'incubation des oiseaux. Ces appendices ont sous l'épiderme un corps spongieux formé par un réseau de capillaires sousépidermiques. Il atteint un développement considérable dans la crête et les barbillons du Coq où la couche superficielle du derme est presque formée par de larges capillaires sinusoides. Enfin les appendices du Dindon disposent de la faculté de changer de couleur, faculté qui s'explique par la stase du sang veineux, qui est une conséquence du rétrécissement des vaisseaux souscutanés afférents.

La vascularisation des excroissances est extrêmement variée. Tous les appendices cutanés des oiseaux se distinguent par une abondante vascularisation qui comprend deux réseaux de vaisseaux, dont l'un s'étend dans la couche profonde du derme, tandis que l'autre est sousépidermique. Cette disposition des vaisseaux sanguins est déjà visible pendant des stades embryonnaires reculés et on la retrouve dans toutes les excroissances des oiseaux étudiés dans le présent travail. Les vaisseaux de la couche superficielle ou papillaire du derme forment un réseau capillaire sousépidermique serré qui atteint le plus grand développement dans les excroissances du Coq, notamment dans la crête et les barbillons

où il forme un corps spongieux composé de larges capillaires sinusoides. Le réseau profond se distingue par la présence de nombreuses anastomoses artério-veineuses. Ces communications directes ont une structure différente suivant leur fonction. Les anastomoses de la crête, des barbillons et des oreillons du Coq, puis celles des barbillons de la Pintade, assument principalement des fonctions thermiques, la rigidité de ces appendices étant exclusivement une conséquence de leur structure histologique. Ces communications se trouvent uniquement dans les couches profondes des appendices. Leur structure est variable: on en trouve d'analogues à celles qu'on a déjà décrit dans d'autres parties du corps des oiseaux, puis d'autres qui se distinguent par un calibre réduit. Ces dernières sont une forme intermédiaire entre les anastomoses artério-veineuses proprement dites et la communication habituelle au moyen des capillaires. Toutes ces communications ont un trait commun: le sang artériel pénètre dans les veines sans passer par le réseau des capillaires. Les appendices du Faisan et du Dindon sont des organes érectiles, pourvus d'un corps caverneux. La présence de petites artères anastomotiques aux parois épaisses permet aux larges cavernes de se remplir rapidement de sang, arrangement auquel ces organes doivent leur érectilité. Les rapports sont ici analogues à ceux qu'on trouve dans les corps caverneux des organes génitaux des Mammifères. Il existe pourtant une différence essentielle entre ces organes qui tout en étant analogues ne sont pas identiques; en effet, grâce aux artères hélicines on voit se produire le phénomène de la turgescence qui, quoiqu'elle soit souvent rapide, n'est pas toujours complète, aussi la rigidité de ces organes ne dure-t-elle pas longtemps. Néanmoins, il faut considérer les appendices cutanés du Faisan et du Dindon comme des organes érectiles, contrairement aux autres excroissances des oiseaux étudiés, qui sont ou bien privées de cette propriété, ou comme la crête du Coq et les barbillons de la Pintade, bien la doivent à leur structure histologique.

Il résulte du présent travail et de la littérature scientifique consacrée au sujet dont il traite, que les appendices cutanés sont particulièrement bien développés dans la famille des Gallinacés. Il est cependant facile de trouver dans presque tous les ordres d'Oiseaux des espèces pourvues d'excroissances. Il est curieux de voir que des espèces rapprochées au point de vue de leur classi-

fication, ont des appendices différents en ce qui concerne leur forme et leur structure. Les caractères de ces dispositifs sont certainement conditionnés par des facteurs spécifiques pour chaque espèce et même pour chaque race. Ainsi que plusieurs auteurs l'ont démontré, il y a pourtant un rapport intime entre le développement des excroissances et celui des glandes génitales. En rapport avec cette corrélation, il existe chez les oiseaux munis d'excroissances une dysharmonie plus ou moins prononcée entre les deux sexes. Parmi les oiseaux étudiés, le Faisan offre l'exemple d'un dimorphisme sexuel très prononcé, les appendices de la Faisane se présentant sous la forme d'ébauches insignifiantes, tandis que les excroissances de la Pintade sont presque identiques chez les deux sexes.

L'influence de l'espèce (respectivement celle de la race) se manifeste au premier plan et le facteur sexuel la modifie spécifiquement dans chaque espèce.

Il me paraît enfin utile de noter que les formations cornées de l'épiderme, la présence de papilles et la coloration vive des appendices cutanés ou simplement de certaines régions de la peau, se retrouvent dans d'autres classes de Vertébrés et sont souvent en rapport avec le sexe, tandis que la vascularisation locale de la peau, sous forme d'un réseau abondant de capillaires sousépidermiques ou bien la présence de corps caverneux bien différenciés et érectiles, est un caractère spécifique de la peau des oiseaux.

Laboratoire d'Anatomie Comparée de l'Université des Jagellons à Cracovie, sous la direction du Prof. H. Hoyer.

### Bibliographie.

1. Bělský J. Über den feineren Bau der Haut beim Nackthalshuhn. Tierärztl. Arch. Prag, 3, 1923. — 2. Bauer Fr. Disquisit. circa nonnularum avium systema arteriosum. Berolini 1825. — 3. Brehm. Das Tierleben. Leipzig u. Wien 1911. — 4. Bulliard H. La Brosse du Dindon (*Meleagris gallopavo* L.) Etude morphologique. C. R. de l'Ass. d. Anat. XXI, 1926. — 5. Conte A. Une variation brusque. Les poules à cou nu. C. R. Soc. Biol. Paris. 1909. — 6. Champy Ch. et Kritch N. Etude histologique de la crête des Gallinacés et de ses variations sous l'influence des facteurs sexuels. Arch.

Morph. Gén. et Expér. 25, 1926. — 6. Clara M. Kleine histologische Mitteilungen. Anat. Anz. 55. 1922. — 8. Clara M. Über d. Bau d. Schnabels d. Waldschnepfe (*Scolopax rusticola* L.) Zeitschr. f. mikr.-anat. Forschung 3, 1925. — Clara M. Die arterio-venösen Anastomosen d. Vögel u. Säugetiere. Ergebn. d. Anat. et Entwicklg. 27, 1927. (Contient toute la bibliographie en rapport avec les anastomoses artério-veineuses). — 10. Elkner A. et Slonimski P. Sur le tissu conjonctif de la crête du Coq adulte. Bull. d'Histol. Appl. 4. 1927. — 11. Freund L. Die Gefässnetze in der Vogelhaut. Prager Arch. f. Tiermed. u. vergl. Path. 6. 1926. — 12. Freund L. Besondere Bildungen im mikroskopischen Aufbau d. Vogelhaut. Verh. d. D. Zool. Ges. 31. Jahresversammlung. zu Kiel. 1926. — 13. Fehring O. Untersuchungen über d. Anordnungsverhältnisse d. Vogelfedern insbesondere d. Fadenfedern. Zool. Jahrb. (Abt. f. Syst., Geogr. u. Biol. d. Tiere) 33. 1912. — 14. Gadow H. Die Vögel, in Bronns Kl. u. Ordn. d. Tiere. 1891. Leipzig et Heidelberg. — 15. v. Graff L. Zur Naturgeschichte d. Auerhahnes (*Tetrao urogallus*) Zeitschr. f. wiss. Zool. 41. 1881. — 16. Grosser O. Zur Anat. u. Entwicklg. d. Gefässsystems d. Chiropteren. Anat. Hefte, Abt. I., H. 55. 1901. — 17. Grosser O. Über arterio-venöse Anastomosen an d. Extremitätenenden b. Menschen u. d. krallentragenden Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat. 60. 1902. — 18. Hafferl A. Zur Entwicklungsgeschichte d. Kopfarterien beim Kiebitz (*Vanellus cristatus*). Anat. Hefte, Abt. I. 59. 1921. — 19. Hasskó Al. Über d. Pigment d. Kasuarhaut. An. Anz. 67. 1929. — 20. Hasskó Al. Beiträge z. Bau d. Straussenhaut. Ibidem. — 21. Hanau A. Beiträge z. Histologie der Haut des Vogelfusses. Diss. Bonn. 1881. — 22. Hoyer H. père Über unmittelbare Einmündung kleinster Arterien in Gefässäste venösen Characters. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XIII. 1876. — 23. Hoyer H. père Beiträge zur anatomischen und histologischen Technik. Ibidem. — 24. Hyrtl J. Neue Wundernetze und Geflechte bei Vögeln und Säugethieren. Denkschr. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien, 22. 1864. — 25. Joosten A. Über den histologischen Bau des Kammes, und der Anhangslappen des Haushahnes. In. Diss. Hannover, 1921. — 26. Ingorow cité d'après Marshall (30). — 27. Koutnik J. Die Hautveränderungen der Brutfleckbildung beim Haushahn. Prag. Arch. f. Tiermed. et vergl. Pathol. 7. 1927. — 28. Krogh A. Anatomie u. Physiologie der Capillaren. Berlin 1924. — 29. Krukenberg cité d'après Moser (31). — 30. Marshall W. Der Bau der Vögel. Leipzig 1895. — 31. Moser E. Die Haut des Vogels. In Ellenbergers Handb. d. vergl. mikr. Anat. d. Haustiere. Berlin 1906. — 32. Murie J. Proc. Zool. Soc. London. 1872. Cité d'après Marshall (30). — 33. Neugebauer L. A. Systema venosum avium cum eo mammalium et inprimis hominis collatum. Acta Acad. Leop. Carol. Nat. Cur. Vol. XXI. P. II. 1844. — 34. Oswald G. Beitrag zur Kenntnis des normalen Baues u. der Sklerodermie der Hautanhänge beim Hahn und Truthahn. In. Diss. München 1921. — 35. Pangalo K. J. O strojeniu grebnia u kur. Ann. de l'Inst. Agron. de Moscou. Année XII. L. I. 1906. — 36. Plate L. Allgemeine Zoologie und Abstammungslehre. Jena 1922. — 37. Régnier M. V. Étude histochimique du »rouge« de Phasianus colchicus L. C. R. de la Soc. de Biol. Paris. 95. Nr. 21—22. — 38. Régnier M. V. Remarques sur le conditionnement physiologique du »rouge« du

Faisan. Ibidem. — 39. Sassenhagen F. Studien über pathologisch begründete Unterscheidungsmerkmale von Hühnerrassen speziell der Nackthäse und der Haubenhühner. In. Diss. Bern 1912. — 40. v. Schumacher S. Arterio-venöse Anastomosen in den Zehen der Vögel. Arch. f. mikr. Anat. 71, 1915. — 41. Stresemann E. Aves, in Kükenthal W. Handb. d. Zool. VII. Bd. 2 Hälfte. 1927. — 42. Schwalbe G. Über den Gehörgangswulst der Vögel. Arch. f. Anat. et Physiol. Anat. Abt. 1890. — 43. Trybulski M. Kury. Warszawa 1925. — 44. Vastarini-Cresi G. Comunicazione diretta tra le artérie e le vene (anastomosi artero-venose) nei mammiferi. Nota prelim. Monit. Zool. Ital. 13. 1902. — 45. Vastarini-Cresi G. Le anastomosi artero-venose nell'uomo e nei mammiferi. Studio anatomo-histologico. Napoli 1903. — 46. Wodzicki K. Beitrag zur Kenntnis der Haut des Fettansatzes bei Vögeln. Bull. Acad. Pol. d. Sc. et d. L. Série B. 1927. — 47. Wurm W. Das Auerwild, dessen Naturgeschichte, Jagd und Hege. Wien 1885. — 48. Wurm W. Die Taubheit des schleifenden Auerhahnes (Tetrao urogallus). Zeitschr. f. wiss. Zool. 41. 1888. — 49. Zawadowsky et Kritsch. Transactions of the Lab. of exper. Biol. of the Zoopark of Moscow.

### Explication des planches 18—21.

#### Planche 18.

Fig. 1. Tête d'un Coq Leghorn. Crête et autres appendices bien développés. c — crête, z — crétilion, dz — barbillons, za — oreillons, p — peau de la région faciale. Toutes les excroissances sont pourvues des séries linéaires de papilles.  $\frac{1}{3}$  de la grandeur naturelle.

Fig. 2. Coupe transversale de l'ébauche de la crête d'un embryon de Poulet, 10 jours avant l'éclosion. n — amas de cellules mésenchymateuses, v — vaisseaux sanguins. La crête et ses environs immédiats n'ont pas d'ébauches de plumes. Zeiss Oc. 2, Obj. D.

Fig. 3. Coupe transversale de la partie antérieure de la crête d'un embryon de Poulet, après 17 jour d'incubation. v — ébauche des vaisseaux de la couche axiale de la crête. v. c. — ébauche des vaisseaux sousépidermiques. Zeiss Oc. 2 Obj. D.

Fig. 4. Coupe transversale de la partie postérieure de la crête d'un embryon de Poulet, après 17<sup>e</sup> jour d'incubation. L'épiderme forme des plis, soit les futures papilles de la crête; au milieu on aperçoit des faisceaux de tissu conjonctif qui forment l'ébauche de la couche de la crête. Zeiss Oc. 2, Obj. D.

Fig. 5. Coupe transversale d'un crétilion de Coq adulte. Dessin demi-schématique. Hématoxyline-eosine. ep — épiderme, p — papilles, s. v. — réseau des capillaires sinusoïdes de la couche papillaire du derme, f. m. — couche fibro-mucoïde avec de rares vaisseaux sanguins, w. o. — Couche axiale de la crête, art. — artères, v. — veines.



Fig. 6. Les vaisseaux artériels de la partie antérieure de la crête d'un Coq adulte. Injection de gomme-laque, formaline, glycerine. af — vaisseaux afférents formant un arc artériel, arc — arc artériel, art — vaisseaux se dirigeant parallèlement vers l'extrémité de la crête, où ils forment des anastomoses artério-veineuses et se divisent en capillaires sousépidermiques.

Fig. 7. Les vaisseaux sanguins d'une partie d'un barbillon d'un Coq adulte. Dessin demi-schématique.  $2\frac{1}{2}$  de la grandeur naturelle. Les artères sont foncées, les veines claires.

Planche 19.

Fig. 8. Communication directe entre une artère et une veine dans le sommet d'un crétilion de la crête d'un Coq adulte. d — direction distale. Lavage des vaisseaux avec d'une solution isotonique de sulfate de soude avec addition d'acide lactique comme vaso-dilatateur, injection de nitrate d'argent suivie d'une injection de gélatine. La figure représente uniquement les vaisseaux principaux. art. — artère, v. — veine, an. — communication directe.

Fig. 9. Communication directe entre une artère et une veine dans un barbillon de Coq adulte. Explication comme fig. 8. L'artère s'ouvre directement dans une veine qui se divise en un réseau veineux avant de passer dans une veine plus importante.

Fig. 10. Tête de Pintade. b — la peau noire et blanche des parties latérales et postérieures de la tête, couvertes de rares plumes sétacées g — capuchon corné, r — la peau rosâtre latéralement.  $\frac{1}{3}$  de grandeur naturelle.

Fig. 11. La disposition des vaisseaux sanguins dans un barbillon de Pintade adulte. Dessin demi-schématique. Les artères sont noires, les veines claires.

Fig. 12. Tête d'un coq Faisan en hiver. cz — le rouge, r — cornes plumées à base charnue. Le rouge est peu développé. Environ  $\frac{2}{3}$  de grandeur naturelle.

Fig. 13. Tête de coq Faisan pendant la période des amours (mai), un moment après que les corps caverneux du rouge et des cornes charnues sont devenus turgescents. Le rouge est bien développé. Environ  $\frac{2}{3}$  de grandeur naturelle.

Planche 20.

Fig. 14. Papille du rouge de Faisan. Injection de gomme-laque. Artère centrale de la papille.

Fig. 15. Papille du rouge de Faisan. Injection de bleu de Prusse. Réseau des capillaires.

Fig. 16. Coupe transversale du rouge d'un coq Faisan tué pendant la saison de chasse. Liquide de Bouin, hématoxyline — éosine. ep. — épiderme, pa — papilles dermiques coupées un peu obliquement, sp — couche papillaire, spr — couche profonde du derme, m — muscles cutanés, c — capillaires de la couche superficielle du derme, art — artère, dont la plus grosse appartient au réseau des vaisseaux souscutanés, art<sub>1</sub> — petite artère se divisant en rameaux dont l'un destiné au réseau des capillaires de

la couche superficielle du derme, tandis que l'autre s'ouvre dans une caverne, cav — cavernes sur différentes coupes, v — veines, n — nerf.

Fig. 17. Coupe transversale du rouge d'un coq Faisan tué pendant la période des amours. Explications comme fig. 17.

Fig. 19. Tête d'un Dindon mâle. c — appendice cutané frontal, k — caroncules charnues, br — peau verruqueuse de la partie postérieure de la tête.  $\frac{1}{3}$  de la grandeur naturelle.

Fig. 20. Coupe transversale d'une partie d'une caroncule de Dindon. Formaline, hématoxyline-éosine. ep — épiderme, sp — couche papillaire du derme, s. pr — couche profonde, m — muscles cutanés, art — artères, v — veines, cav — cavernes.

Fig. 21. Coupe transversale de l'appendice frontal du Dindon. Sublimé, hématoxyline-éosine. ep — épiderme, pap — papilles dermiques, sv — couche des vaisseaux sousépidermiques, p — plumes filiformes, art — rameaux artériels, cav — cavernes.

Planche 21.

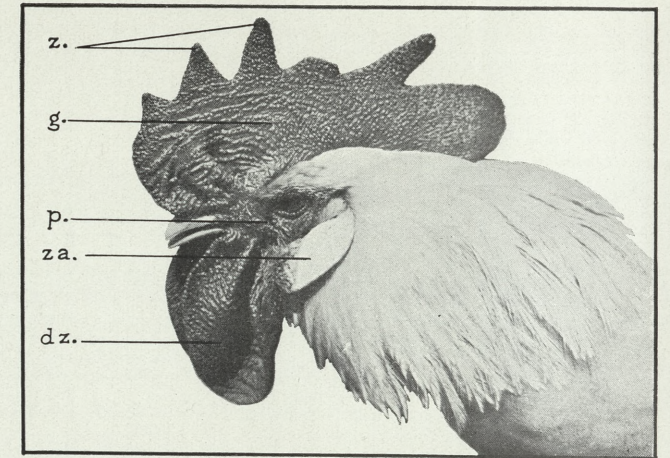
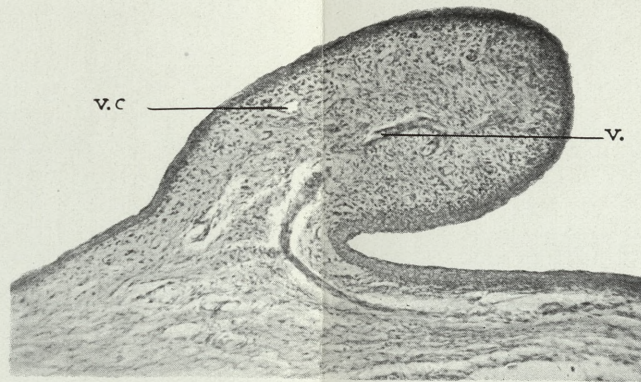
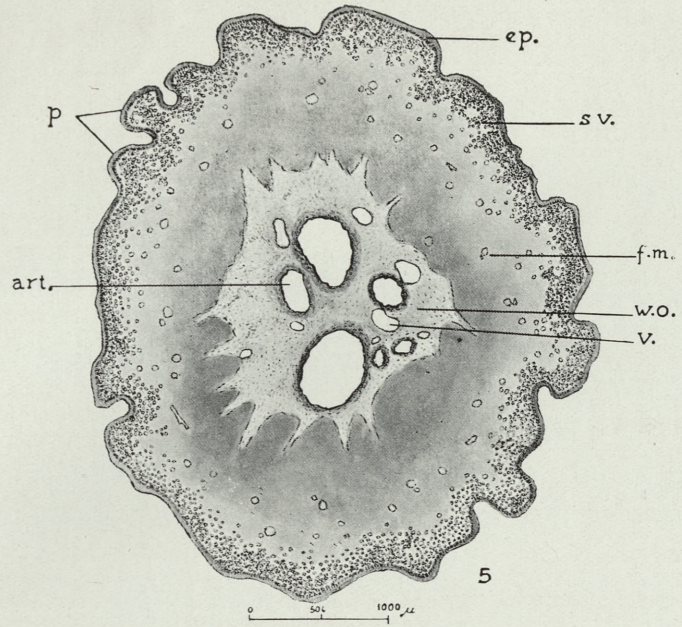
Fig. 22. Communication directe entre une artère et une veine dans les barbillons du Coq adulte. art<sub>1</sub> — artériole formant un réseau de capillaires, an<sub>1</sub> — communication directe entre une artère et une veine, intermédiaire entre une communication typique et le passage habituel des artères dans les veines par le réseau capillaire, art<sub>2</sub> — ramuscule artériel se jettant dans un capillaire. Les autres explications comme fig. 8.

Fig. 23. Communication directe entre une artère et une veine dans l'oreillon d'un Coq adulte. Lavage des vaisseaux avec une solution isotonique de sulfate de soude avec addition d'acide lactique comme vaso-dilatateur, injection de bleu de Prusse. Les autres explications comme fig. 8. Zeiss. Imm.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 2.

Fig. 24. Les vaisseaux sanguins de la couche profonde du bord du rouge d'un Coq Faisan. Injection de la masse gomme-laque, formaline, essence de girofle. Dessin demi-schématique. art<sub>1</sub> — artère du rouge, art<sub>2</sub> — autre rameau artériel de la région voisine du rouge, v — veines, cav — cavernes remplies de masse injectée, cav<sub>1</sub> — cavernes communiquant directement avec les artères, cav<sub>2</sub> — cavernes communiquant directement avec les veines.

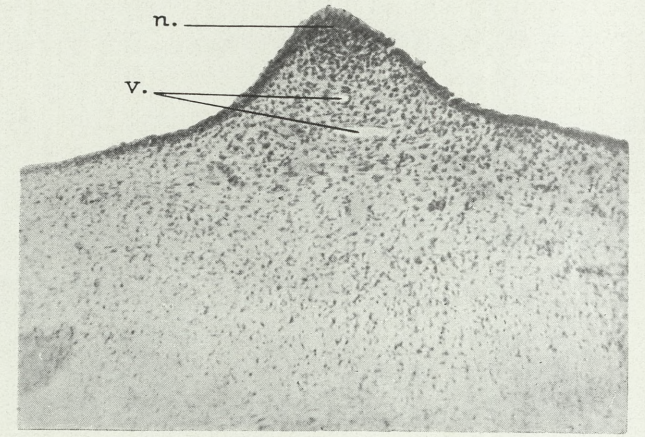
Fig. 25. Coupe transversale de l'appendice frontal du Dindon. art — artères communiquant directement avec les cavernes, v — veine, cav — cavernes.

Fig. 26. Communication directe entre une artère et une caverne. art — artère hélicine coupée obliquement, art<sub>1</sub> — autre artère coupée transversalement, cav — cavernes.

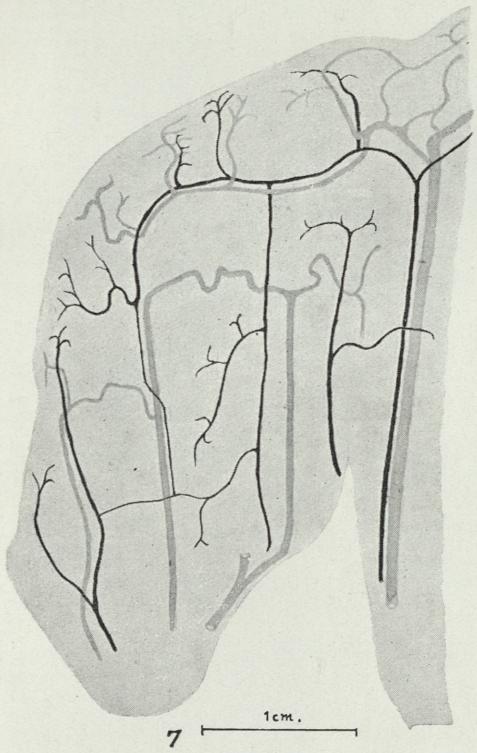


3

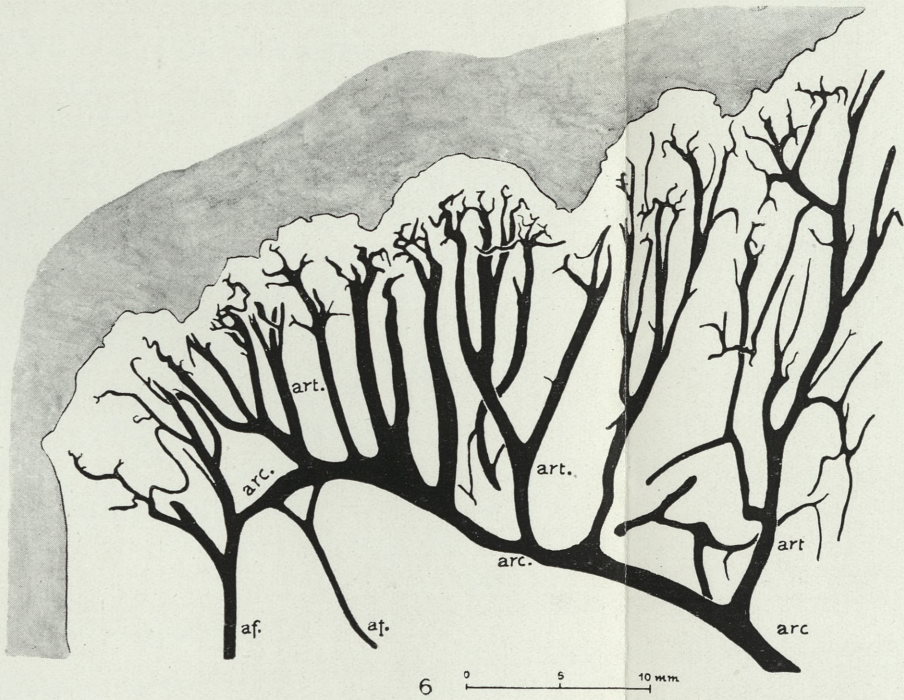
1



2



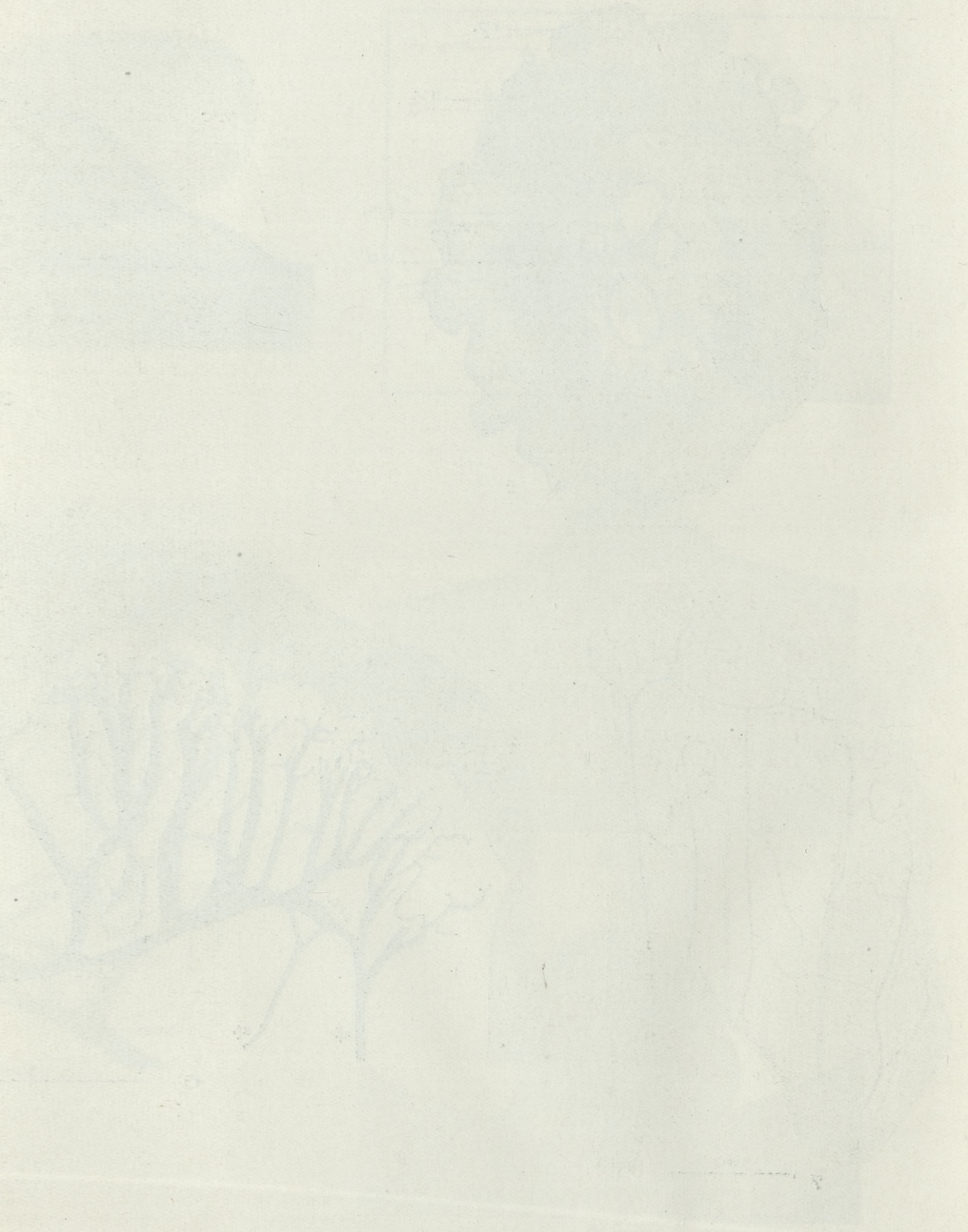
7

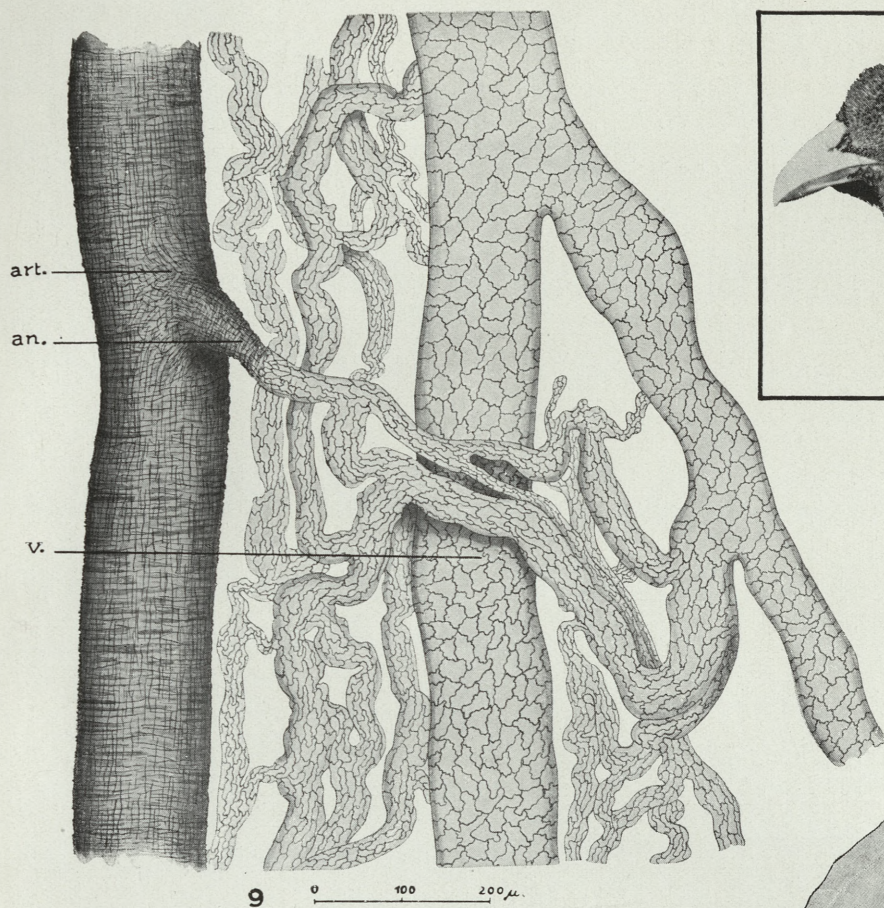


6

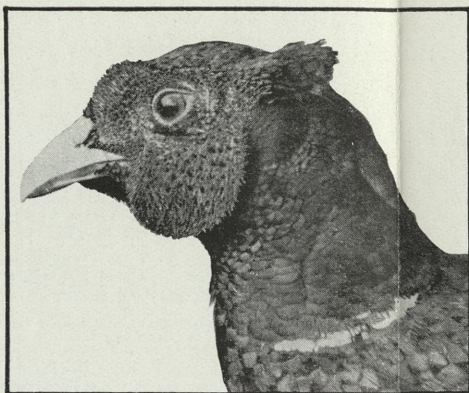


4

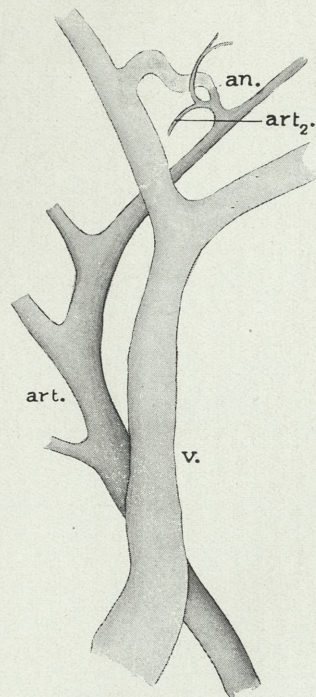




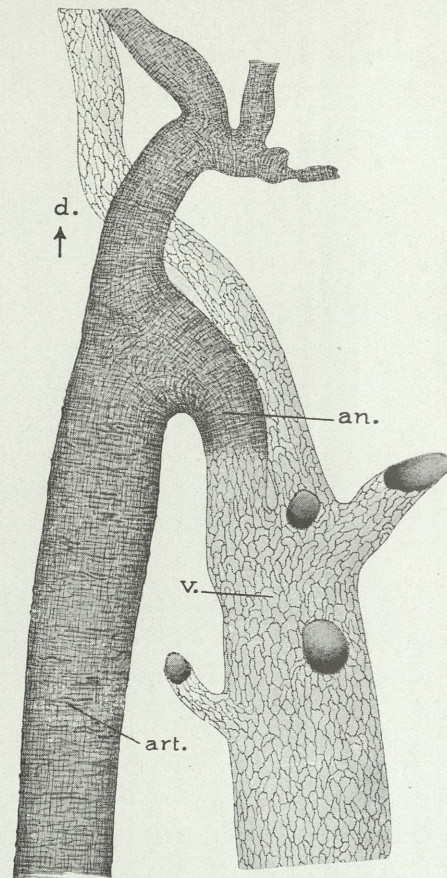
9



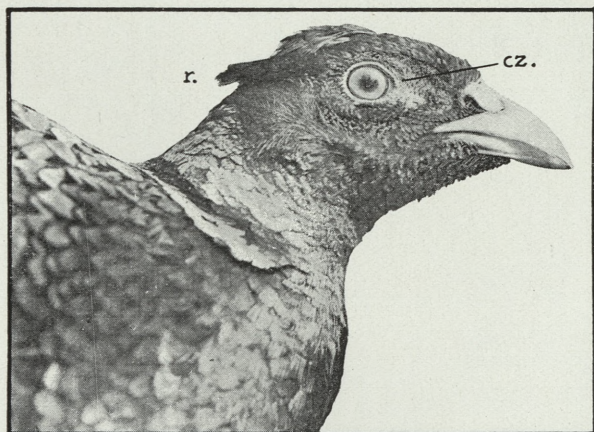
14



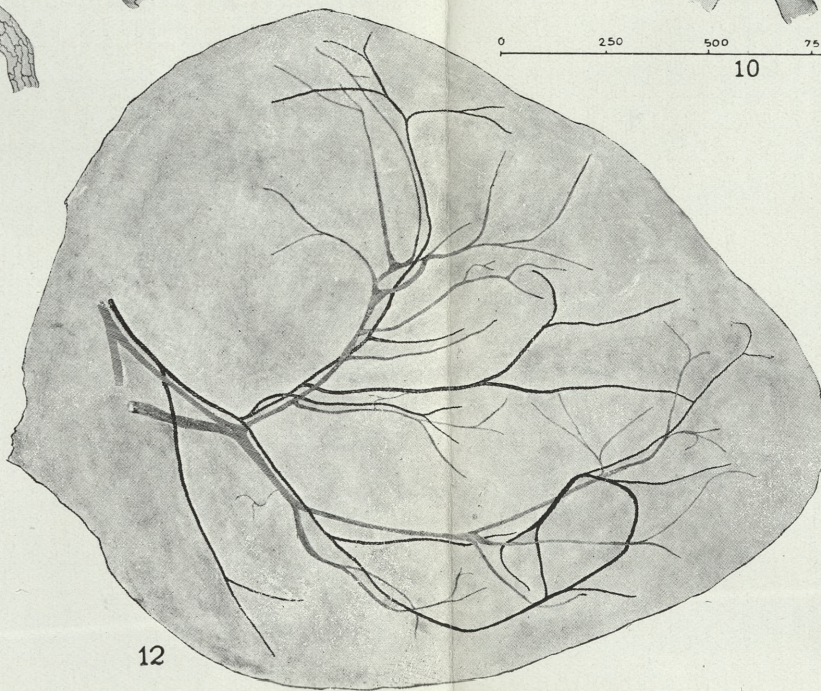
10



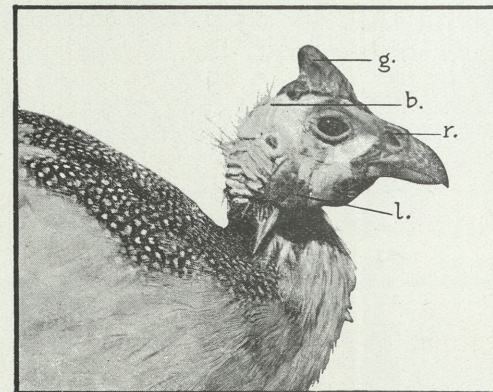
8



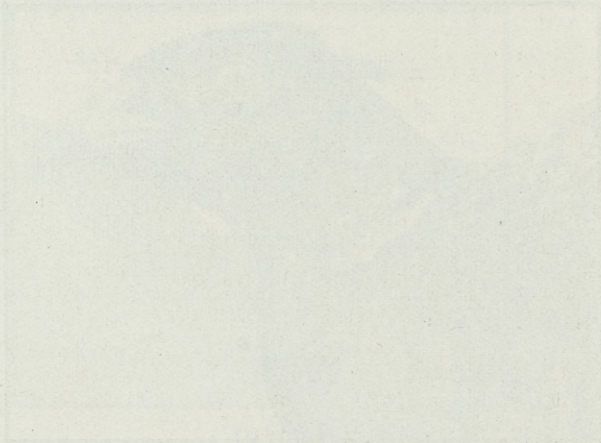
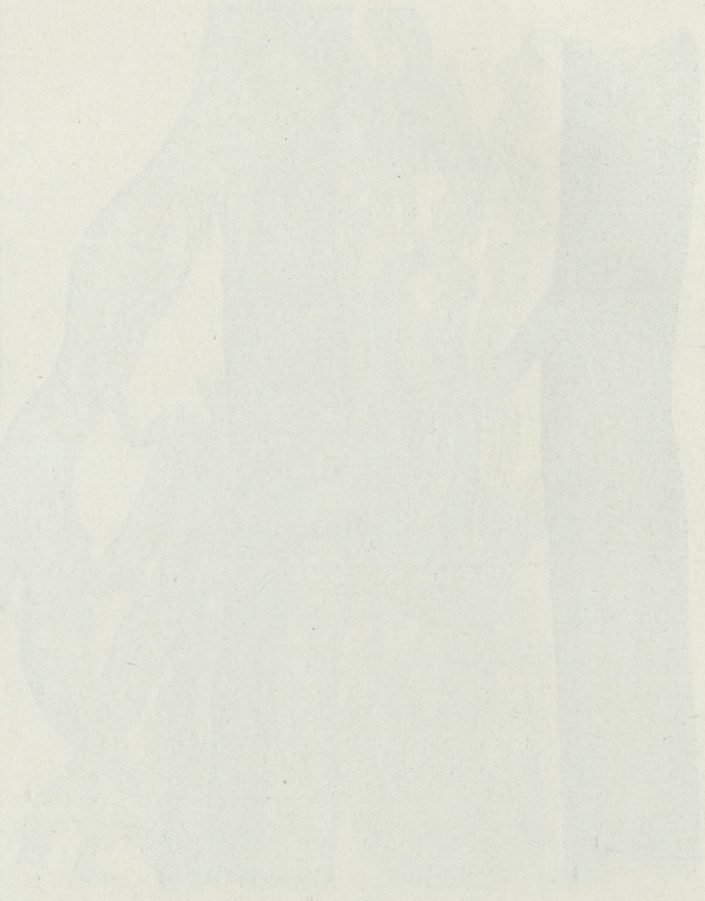
13

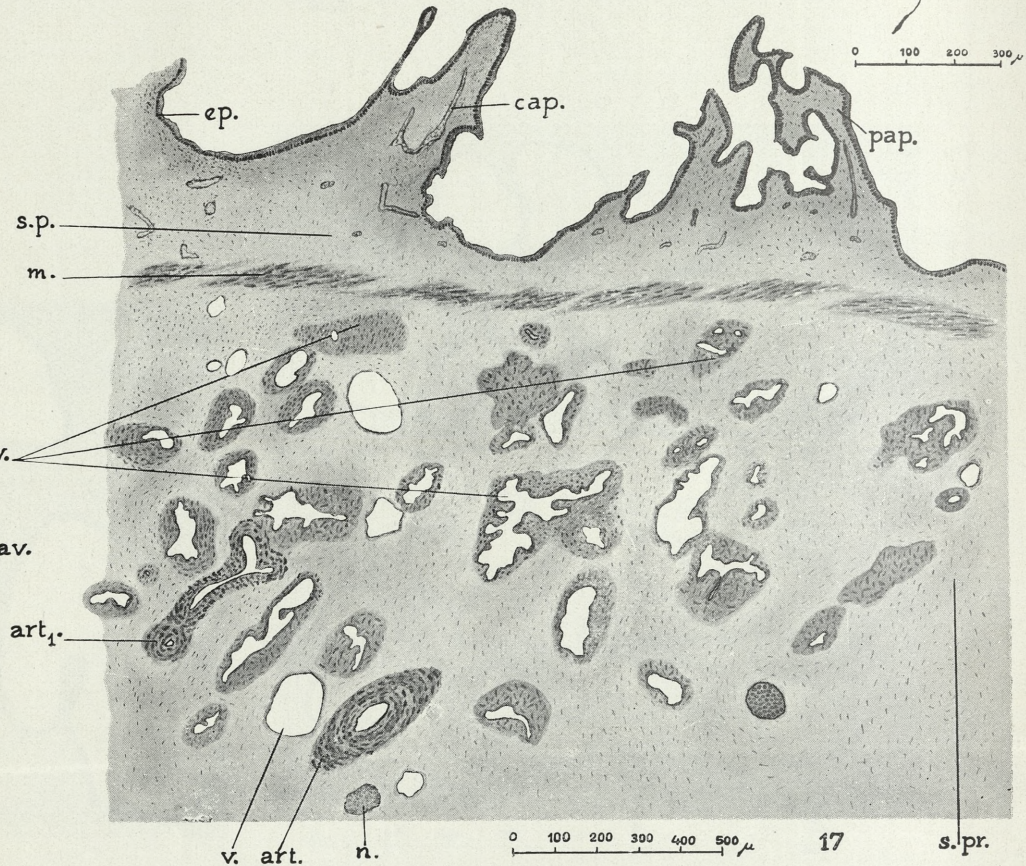
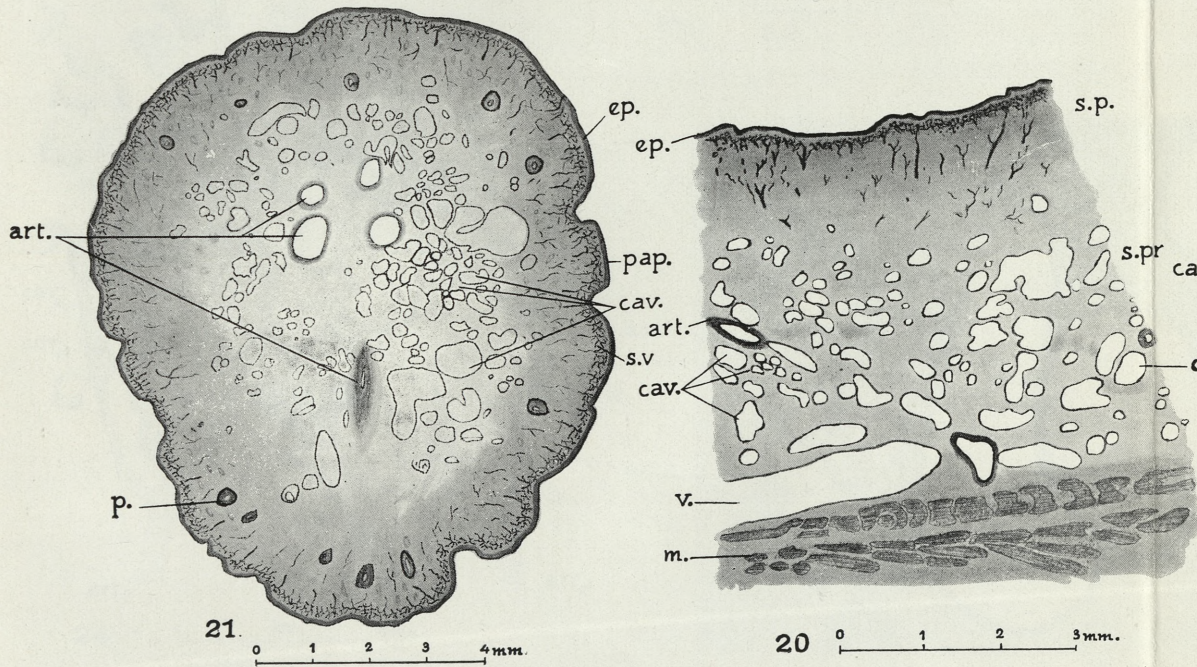
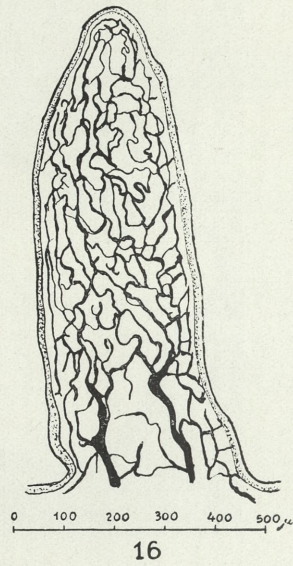
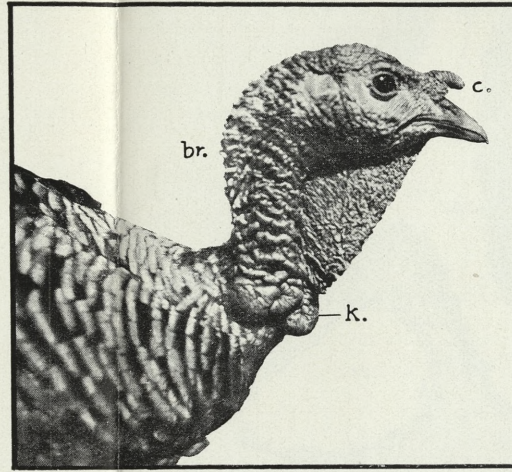
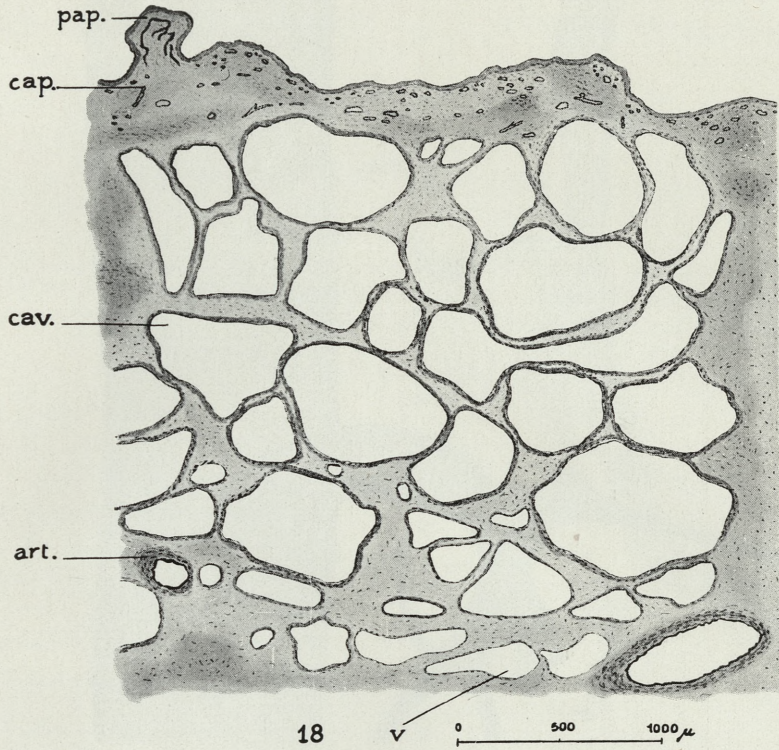


12

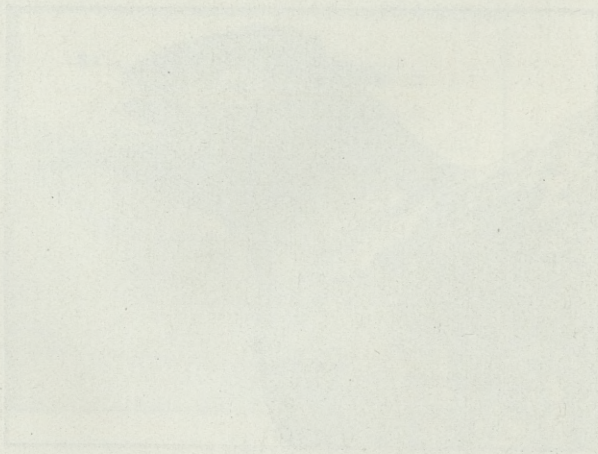
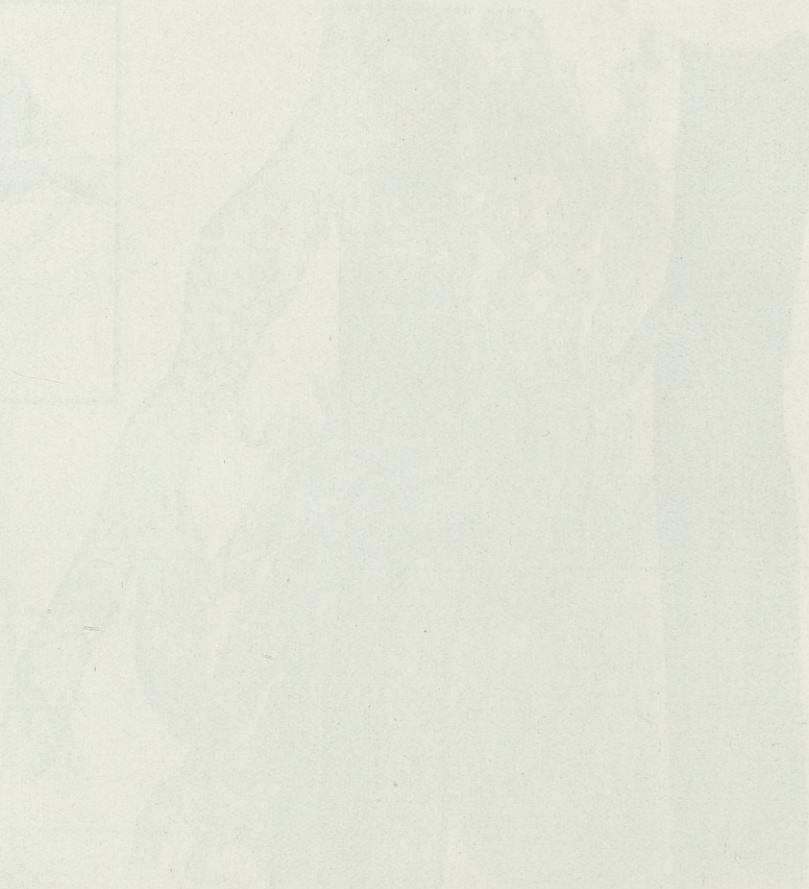


11

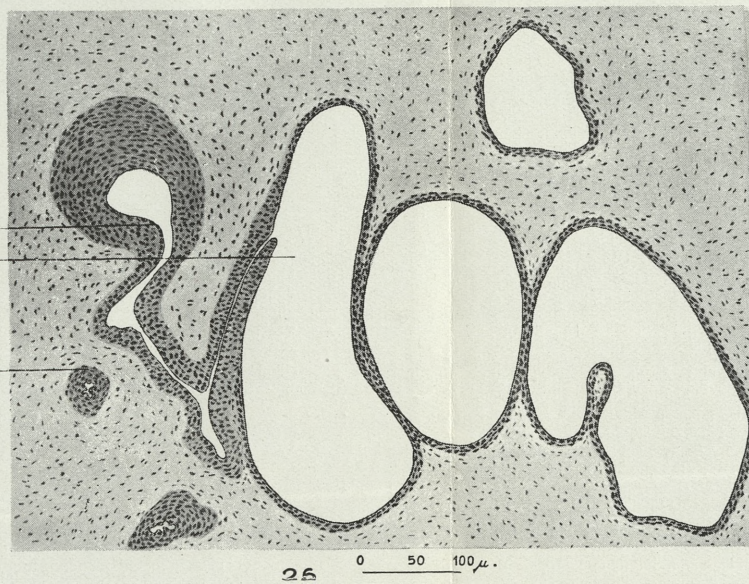
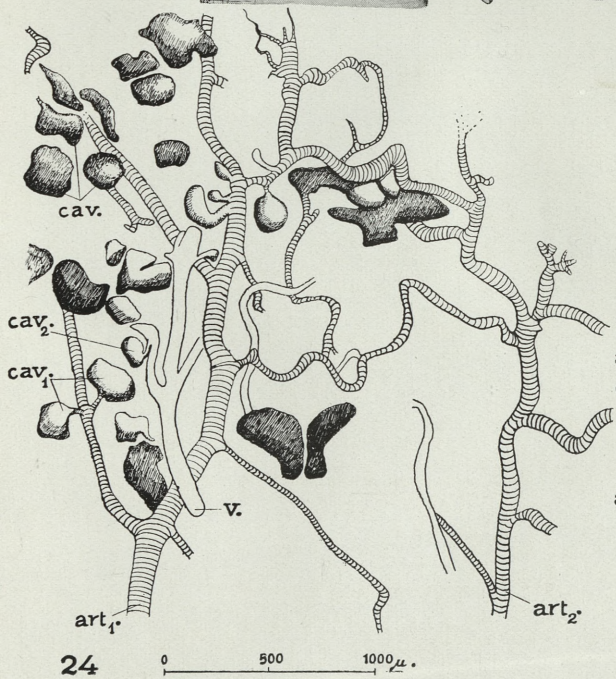
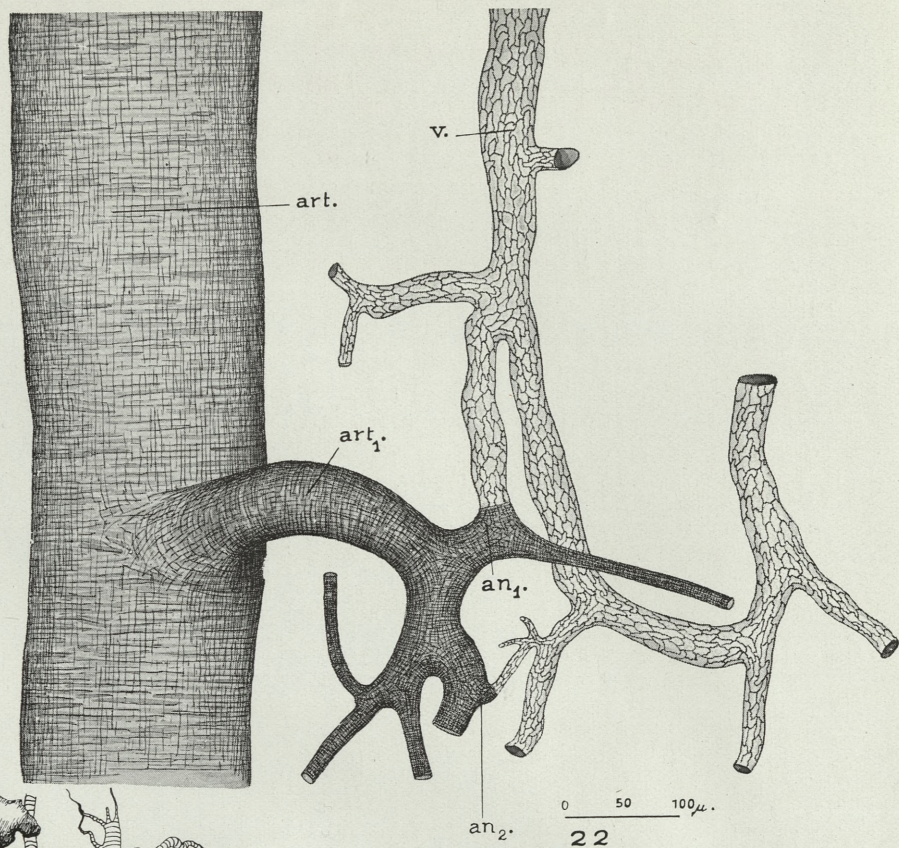




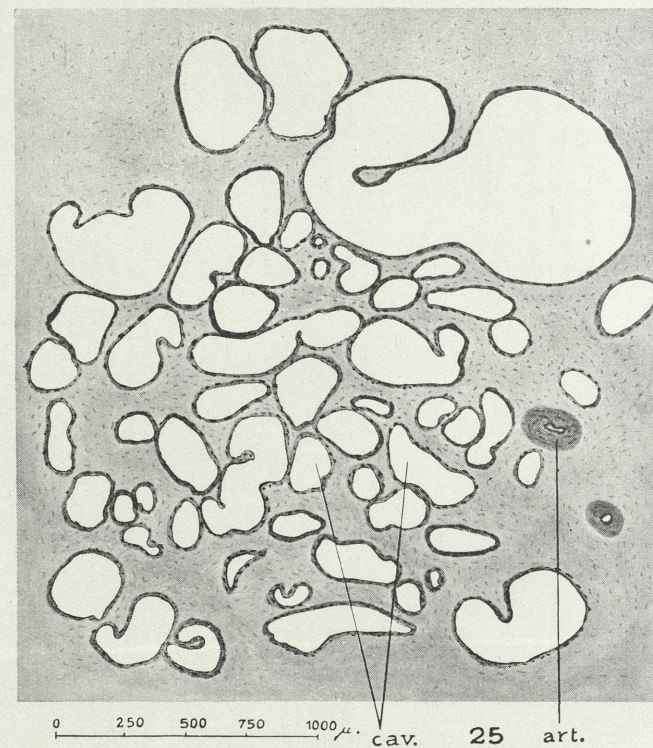
K. Wodzicki.







23





BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES  
ET DES LETTRES  
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES  
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES.  
DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

---

I.

- B. F. Petschenko.** Wenig bekannte und neue Wachstumsformen des *Bac. Megatherium* (De Bary) und seine Cytologie (Planches 24—27) . . . . . Févr.—Juill. 1929
- R. Kobendza et J. Motyka.** La végétation des éboulis des Monts de S-te Croix (Planches 28—33) . . . Févr.—Juill. 1929
- M. C. Fuja.** On the Formation and Development of Roots and Shoots on the Isolated Cotyledons of *Cucurbita*, *Cucumis* and *Lupinus* (Planches 34—37) . . Févr.—Juill. 1929
- F. Poznański.** Über die Raciborskische Nitrit- und Diazo-reaktion der pflanzlichen Zellmembranen (Planche 38) . . . . . Févr.—Juill. 1929
- Z. Koehler** (†). Sur les composés phosphorés des plantes. V. La solubilité des composés phosphorés des embryons de seigle . . . . . Févr.—Juill. 1929

II.

- S. Maziariski.** Les cellules musculaires striées ramifiées, dans le foie des Araignées (Planches 4—6) . . . Mars—Juin 1929
- J. Wiszniewski.** Zwei neue Rädertierarten: *Pedalia intermedia* n. sp. und *Paradicranophorus limosus* n. g. n. sp. (Planche 7) . . . . . Mars—Juin 1929
- M. Gieysztor.** Zur Kenntnis einiger *Dalyellia*-, *Castradella* und *Castrada*-Arten (Planches 8—10) . . . Mars—Juin 1929
- Z. Grabowska.** Über die Plasmakomponenten (Golgi-Apparat u. a.) in den männlichen Geschlechtszellen von *Potamobius Astacus* L. (Planches 11—13) . . Mars—Juin 1929
- C. Penkacki.** Recherches sur les vers parasites dans l'intestin du Chien . . . . . Mars—Juin 1929
- M. Gatty-Kostyal et M. Obtulowicz.** La synergie de l'action de certains glycosides du groupe de la Digitale et la théorie de Bürgi . . . . . Mars—Juin 1929

# TABLE DES MATIÈRES.

Juillet 1929.

	Page.
Z. ZAKRZEWSKI. Über den Einfluß von Normalgeweben, insbesondere von Geweben endokriner Drüsen auf das Wachstum von Jensen-Sarkomzellen in vitro . . . . .	237
H. BULSIEWICZ. Die Entwicklung der Blutsinus in den Tasthaaren (Planches 14—15) . . . . .	249
T. MARCHLEWSKI. Studies on Silvering in Rabbits. III. A factor inhibiting uniform colouring (Planche 16) . . . . .	263
T. MARCHLEWSKI. Studies of the Genetics of Kharakhul Sheep. II. The comparative value of different sires as fur producers. (Planche 17) . . . . .	271
K. PELCZAR. Recherches sérologiques sur la résistance aux tumeurs malignes . . . . .	283
Z. ZAKRZEWSKI. Über Tumorgewebekulturen in vitro . . . . .	321
K. WODZICKI. La vascularisation des appendices cutanés de la tête chez les Oiseaux (Planches 18—21) . . . . .	345

Le «*Bulletin International*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles) paraît en deux séries. La première (A) est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série (B) se divise en deux sous-séries; l'une d'elles «I» contient les mémoires qui se rapportent aux diverses branches de la Botanique (la Systématique, l'Anatomie et la Physiologie des Plantes), l'autre «II» est réservée aux publications qui concernent le vaste domaine des recherches morphologiques et physiologiques sur l'homme et les animaux (Anatomie, Biologie générale, Embryologie, Histologie, Pathologie, Pharmacologie, Physiologie, Psychologie, Zoologie systématique et expérimentale).

Depuis 1928, le «*Bulletin International*» ne contient que les communications dont l'étendue ne dépasse pas une limite strictement définie; les mémoires de plus vaste envergure sont réunis en un Recueil différent, les «*Mémoires*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles). Les *Mémoires* sont également publiés en deux séries: A et B. Chaque mémoire publié dans les *Mémoires* se vend séparément.

Les abonnements relatifs au «*Bulletin International*» sont annuels et partent de Janvier. Les livraisons de ce Recueil se vendent aussi séparément.

Adresser les demandes à l'Académie ou à la Librairie „Gebethner et Wolff“  
Rynek Gł., Cracovie (Pologne).