

Die Karzinome bilden von pathologisch-anatomischer und klinischer Seite das letzte Glied in der ununterbrochenen Reihe der infektiösen oder entzündlichen Prozesse, von denen das erste die Eiterungen waren; vom histologischen Standpunkt betrachtet, wiederholen die Karzinome die Veränderungen bei der Entzündung in der Weise, daß zuerst ein präkarzinomatöses Stadium durchlaufen werden muß, bei dem sich alle Zellformen finden, die beim Übergang einer akuten in eine chronische Entzündung angetroffen werden. Deswegen kann man logisch schließen: wie in der Physiologie die Ontogenese die Rekapitulation der Phylogenie ist, so stellt in der Pathologie die Entstehung des Krebses eine Rekapitulation der Entstehung der Entzündung dar.

Die Schlußfolgerungen, die ich aus allen meinen Auseinandersetzungen ziehe, sind die folgenden:

1. Nach dem heutigen Stande pathologisch-anatomischer und klinischer Untersuchungen muß der Krebs als Infektion oder Entzündung „sui generis“ betrachtet werden, deswegen muß man die gutartigen Geschwülste vollständig davon trennen, dagegen besteht mit den Infektionen und Entzündungen im allgemeinen und mit den infektiösen Granulomen im besonderen eine innige Verwandtschaft.

2. Die pathologisch-anatomischen, klinischen und therapeutischen Untersuchungen bestätigen, daß die Ätiologie der Karzinome durch mehrere Parasitenarten und deren Toxine gebildet wird, die Blastomyzeten und ihre Toxine stellen nur einen bekannten Faktor aus der großen Reihe der bis jetzt noch unbekannten Erreger des Krebses dar.

XIII.

Kultivierungsversuche von leukämischem Blute.¹⁾

(Aus dem Laboratorium der Allgemeinen Pathologie der Kaiserlichen Universität zu Tomsk.)

Von

Prof. Dr. P. P. Awrorow und Laboranten Dr. A. D. Timofejewski.

(Hierzu 6 Textfiguren.)

Im vorigen Jahre hielten wir am 29. Februar 1912 in der Sitzung der Gesellschaft der Naturforscher und Ärzte an der Kaiserl. Universität zu Tomsk einen

¹⁾ Vortrag gehalten am 28. Februar 1913 in der Gesellschaft der Naturforscher und Ärzte an der Kaiserl. Universität zu Tomsk.

Vortrag¹⁾ über die Kultivierung von Geweben außerhalb des Organismus nach der Methode von A. Carré und M. Burrows^{1, 2, 3, 4}. Während dieses Vortrags wurden mikroskopische Präparate der erhaltenen Kulturen von verschiedenen Organen und Geweben demonstriert, welche sowohl von Embryonen, als auch von erwachsenen Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden erhalten waren. Es wurde dabei auch ein Präparat der Kultur eines menschlichen Sarkoms gezeigt.

Damals wiesen wir schon auf den Umstand hin, daß verschiedene Organe und Gewebe keineswegs ein gleiches Wachstum äußern. Die einen beginnen gut und schnell zu wachsen, während andere schwach und langsam wachsen. Zu den gut und schnell wachsenden Organen gehörten die Milz, die Lunge, die Schilddrüse, die Speicheldrüsen, das Herz und besonders das Knochenmark. Aus den Elementen des Knochenmarks, welche durch mechanisches Ausquetschen aus dem spongiösen Teile einer ausgeschnittenen Hunderippe erhalten waren, resultierte bei Kultivierung in Hunde- resp. Kaninchenplasma eine üppige Kultur mit einer Menge karyokinetischer Zellteilungsfiguren, mit der Bildung einer großen Menge neuer junger Elemente. Dabei fiel uns besonders der Umstand auf, daß als Endresultat aus den kultivierten Elementen Zellen erhalten wurden, welche sich von den ursprünglichen durch ihre Form, ihre Größe und ihren Bau scharf unterschieden.

Zur Kultivierung gelangten Zellen von runder oder ovaler Form, welche frei in der Flüssigkeit schwammen; in den Kulturen erhielten wir häufig Inselchen, welche aus Zellen der verschiedensten Form bestanden. Es konnten da runde, ovale, verlängerte, spindelförmige, mit Fortsätzen versehene usw. konstatiert werden. Mit ihren langen dünnen Ausläufern traten benachbarte Zellen in eine enge Verbindung miteinander, indem sie sich verschiedenartig verflochten und ein einem lockeren, weitmaschigen Gewebe ähnliches Bild erzeugten. Beim Beobachten des wachsenden Gewebes im lebenden Zustande konnte man sehen, daß die beweglichen Elemente sich in wenig bewegliche Zellen von verschiedener, hauptsächlich aber von spindelförmiger Form verwandelten, wobei sie mehr oder weniger stabile Bildungen erzeugten.

Derartige Bilder gaben die Veranlassung zu der Annahme, daß bei der Kultivierung des Knochenmarks außerhalb des Organismus nicht nur Zellen erhalten werden von gleichem Aussehen wie die ursprünglichen, sondern daß auch deren weitere Entwicklung erfolgte, wobei deren Form verändert und sie selbst in neue Elemente verwandelt wurden. Bei unserer damaligen Anstellungsweise der Versuche war es schwer zu entscheiden, aus welchen ursprünglichen Elementen sich die beobachteten Gebilde entwickelten, aus den Elementen des Knochenmarks

¹⁾ Arbeiten der Naturforscher- und Ärztegesellschaft an der Kaiserl. Universität zu Tomsk. 1912. S. 26.

oder möglicherweise aus Bindegewebszellen, deren Hineingeraten in das Kultivierungsmaterial bei der von uns angewandten Art des Erhaltens von Knochenmark, d. h. bei der mechanischen Ausquetschung aus einer Rippe, keineswegs ausgeschlossen war.

Um aus dem Kultivierungsmateriale die Bindegewebelemente ganz zu entfernen und um die Frage nach der Möglichkeit der Verwandlung von Blutkörperchen unter gewissen Bedingungen in andere dem Aussehen nach zu beurteilende Formen zu klären, unternahmen wir Kultivierungsversuche von reinem Blute außerhalb des Organismus nach der Methode von C a r r e l. Zu diesen Versuchen verwandten wir Menschenblut sowie auch das Blut einiger Tiere, wie von Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden, ohne vorhergehende Defibrinierung. Als Nährboden diente das Plasma desselben Tieres oder das einer anderen Art.

Die ziemlich zahlreichen Versuche mit der Kultivierung von Blut außerhalb des Organismus gaben uns keine positiven Resultate. Bei der Beobachtung von Präparaten im lebenden Zustande konnte man bald nach der Herstellung der Kulturen bemerken, daß die einzeln unter einer großen Menge von roten Blutkörperchen anzutreffenden weißen Blutkörperchen lebhafte amöboide Bewegungen ausführten und dabei leicht ihre Lage veränderten, wobei sie starken Formveränderungen unterlagen. Auf fixierten und gefärbten Präparaten konnten weder Teilungsprozesse der weißen Blutkörperchen, noch deren Verwandlung in irgendwelche andere morphologische Elemente konstatiert werden. Man konnte bloß die Anwesenheit von verschiedenartigen protoplasmatischen Fortsätzen bemerken, wenn die Blutkörperchen im Moment ihrer Bewegung fixiert waren. Während der weiteren Beobachtung, welche in nicht geringem Grade durch die Anwesenheit einer großen Anzahl von Erythrozyten erschwert wurde, erwies es sich, daß die Lebensäußerungen der Leukozyten nach 3 bis 5 Tagen seit der Herstellung der Kulturen merklich schwächer wurden; ihre Bewegungen wurden immer hinfälliger und setzten endlich ganz aus, viele Zellen verwandelten sich in einen körnigen Zerfall. Die roten Blutkörperchen wiesen auch deutliche Bilder eines Unterganges und einer Vernichtung auf. Es gelang, keinerlei Erscheinungen progressiven Charakters, keinerlei Wachstums- und Vermehrungsscheinungen der Zellen zu konstatieren.

Augenscheinlich fand die Frage über die Möglichkeit, eine Kultur von den Elementen des zirkulierenden Blutes zu erhalten, eine negative Lösung. Jedoch konnte dabei jener Umstand nicht unbemerkt bleiben, daß die Bedingungen, unter welchen die Kultivierungsversuche des Blutes angestellt wurden, wenig günstig waren und deshalb keine besonderen Hoffnungen bezüglich des Erhaltens von positiven Resultaten erwecken konnten. Denn 1. war die Zahl der weißen Blutkörperchen, von welchen man ausschließlich Wachstumsäußerungen erwarten konnte, im Kultivierungsmaterial äußerst gering, da die prävalierende Masse der Elemente aus roten Blutkörperchen bestand; 2. gehörte von der geringen Menge

der kultivierten weißen Blutkörperchen die größere Hälfte zu den polymorphkernigen Leukozyten, also zu Elementen, in welchen es niemand gelang, unzweifelhafte Vermehrungsprozesse, weder im zirkulierenden Blute noch in den Geweben, bei der Auswanderung dieser Elemente aus den Gefäßen dahin, zu beobachten; 3. endlich konnte die Anwesenheit einer großen Anzahl von roten Blutkörperchen im Kultivierungsmateriale äußerst ungünstig auf die Ernährung sämtlicher kultivierten Körperchen, sowohl der roten, als auch der weißen, wirken. Die Nährstoffe, besonders die Gase, konnten von diesen zahlreichen, wenn auch nicht vermehrungsfähigen, so doch in jedem Falle lebendigen Zellen schnell verbraucht werden. Dabei wurde der Nährboden anderseits schnell durch verschiedene Produkte des Stoffumsatzes verunreinigt, was das weitere Leben und die Entwicklung aller kultivierten Elemente hinderte.

Somit hing das negative Resultat der Blutkultivierungsversuche möglicherweise von den erwähnten ungünstigen Bedingungen ab. Als wir die Herstellung geeigneterer Bedingungen zur Fortsetzung unserer Versuche überlegten, blieben wir bei dem Gedanken stehen, als Kultivierungsmaterial das Blut eines an Leukämie Erkrankten zu benutzen. Das leukämische Blut hatte für unsere Zwecke im Vergleich mit dem normalen Blute bedeutende Vorzüge. Im leukämischen Blute ist gewöhnlich in einem hohen Grade die absolute und relative Zahl der weißen Blutkörperchen erhöht, was einen für uns äußerst wichtigen Umstand darstellt. Im leukämischen Blute ist das prozentische Verhalten der einzelnen Arten der weißen Blutkörperchen zueinander ein anderes, hauptsächlich dank dem Auftreten von jüngeren und unreifen Zellen, welche weniger differenziert und daher zu Wachstums- und Vermehrungsprozessen geeigneter sind. Karyokinetische Teilungsfiguren weißer Blutkörperchen im zirkulierenden Blute bei Leukämie sind von einigen Autoren beschrieben (siehe Gräwitz⁵, Reprrew⁶). Bei der Durchsicht der im Laboratorium der allgemeinen Pathologie befindlichen Präparate leukämischen Blutes von neun Patienten fand einer von uns, der Dr. A. D. Timofejewski, in sieben Fällen derartige Figuren in einer geringen Anzahl. Alle diese Umstände ließen das leukämische Blut als besonders geeignetes und schätzbares Kultivierungsmaterial erscheinen und erweckten die Hoffnung, positive Resultate bei dessen Kultivierung außerhalb des Organismus zu erhalten.

Im Dezember 1912 trat in die therapeutische Fakultätsklinik des Professors M. G. Kurlow ein Patient mit scharf ausgesprochener myelogener Leukämie. Dank der liebenswürdigen Erlaubnis von M. G. Kurlow benutzten wir das Blut dieses Patienten zu den unten zu beschreibenden Versuchen. Zur Kultivierung wurde das Blut fünfmal genommen.

Kurze Krankheitsgeschichte.

Patient Winogradow, 22 Jahre alt, Bauer. Hat im Kindesalter Pocken und Masern gehabt. Im 20. Lebensjahr stellten sich Atembeschwerden beim Gehen und bei der Arbeit ein. Im Dezember

1911 wurde er Soldat. Bald darauf stellten sich eine Schwere und Schmerzen in der linken Bauchseite, eine allgemeine Schwäche, eine Verstärkung der Atembeschwerden, nächtliche Schweißabsonderung ein, infolgedessen er nach Verlauf von 5 Monaten seit Beginn des Militärdienstes von diesem ganz befreit wurde. Im August 1912 gesellten sich zu den angeführten Symptomen anhaltende Kopfschmerzen, eine Schwächung des Sehvermögens und des Gehörs. Anfang Dezember trat er in ein Krankenhaus ein, wo ihm subkutane Arseninjektionen verordnet wurden. Am 21. Dezember wurde er in die therapeutische Fakultätsklinik des Prof. M. G. K u r l o w aufgenommen.

Bei dem Eintritt in die Klinik war der Ernährungszustand des Patienten ein schwacher. An den unteren Extremitäten waren geringe ödematöse Anschwellungen bemerkbar. Beim Beklopfen einiger Knochen — der Tibien und des Sternum — wurde Schmerz empfunden. Die Lymphdrüsen, ausgenommen die inguinalen sowie die Mandeln und die Schilddrüse, sind nicht vergrößert. Die Lungen und das Herz bieten keine besonderen Abweichungen von der Norm. Die Milz ist stark vergrößert, nimmt die ganze linke Hälfte des Bauches ein. Ihr größter Längsdurchmesser ist 45 cm, ihr größter Breitendurchmesser 26 cm. Sie ist glatt, fest, schmerzlos. Die Leber tritt unter den Rippen auf vier Fingerbreit hervor. Das rechte Auge hat das Sehvermögen gänzlich verloren, die Sehkraft des linken Auges ist stark geschwächt.

Die Untersuchung des Blutes am 22. Dezember 1912 ergab folgendes Resultat. Hämoglobin nach S a h l i 50%; rote Blutkörperchen 3 100 000; weiße Blutkörperchen 1 043 000. Viele Myelozyten. Diagnose: myelogene Leukämie.

In der Klinik wurde der Patient einer Röntgenkur unterworfen. In der Zeit vom 22. Dezember bis zum 6. Februar fanden sechs Bestrahlungen statt. Vom März 1913 an wurde er mit Benzol behandelt.

Während des Aufenthalts in der Klinik verschlechterte sich das Allgemeinbefinden des Patienten allmählich, nach einer kurzen Verbesserung im Januar. Die hartnäckigen Kopfschmerzen dauerten fort, in der letzten Zeit verstärkten sich bedeutend die Schmerzen in der Milzgegend, es trat eine völlige Erblindung beider Augen ein (Ablösung der Retina, hämorrhagische Retinitis, Atrophie des r. Opticus). FieberTemperatur und Pulssteigerung. Patient verschied am 13. März bei Erscheinungen von Lungenödem.

Bei der Sektion wurden die Leber und die Milz stark vergrößert gefunden. In der Milz ein in die Bauchhöhle durchgebrochener Eiterherd. Diffuse Peritonitis. Eitriger Charakter des Knochenmarks der Röhrenknochen.

Die Zusammensetzung des Blutes während des Aufenthaltes des Patienten in der Klinik veränderte sich folgendermaßen. Zuerst stieg die Zahl der roten Blutkörperchen, allmählich wachsend, bis zu 4 Millionen, darauf kehrte sie zu der früheren Höhe (3,2 Millionen) zurück. Die allgemeine Zahl der weißen Blutkörperchen fiel unter dem Einfluß der Röntgenisation allmählich auf die Hälfte, von 1 000 000 auf 500 000 und stieg gegen Ende der Krankheit wieder etwas (bis 625 000).

Die Zusammensetzung des Blutes bei der ersten Herstellung der Kulturen, die von uns am 11. Januar 1913 vorgenommen wurde, war folgende: Hämoglobin 50%; rote Blutkörperchen 3,600 000; weiße Blutkörperchen 820 000. Die weißen Blutkörperchen verteilten sich nach unseren Bestimmungen wie folgt: Myeloblasten 3%; Promyelozyten 1,4; neutrophile Myelozyten 52,9; eosinophile Myelozyten 1,5; neutrophile Multinukleäre 35,8; eosinophile Multinukleäre 1,3; Basophile 2,1; Lymphozyten 1,1; Uninukleäre und Übergangsformen 0,9.

Bei den ferneren vier Kultivierungsversuchen, welche am 22. Januar und

am 1., 7. und 20. Februar ausgeführt wurden, waren die Zahlen der weißen Blutkörperchen ungefähr folgende: 800 000, 600 000, 550 000 und 500 000.

Das Blut dieses Patienten mit einem derartig gesteigerten Gehalt an weißen Blutkörperchen erwies sich für unsere Versuche als am meisten geeignet. Doch befanden sich außer diesem Patienten in der therapeutischen Fakultätsklinik des Professor K u r l o w noch zwei Kranke, welche an myelogener Leukämie, wenn auch nicht in so ausgesprochener Form, litten. Diesen Patienten wurde Blut zu Kultivierungszwecken je einmal entnommen. Bei der Kultivierung des Blutes desjenigen Patienten, welches 300 000 weißer Blutkörperchen in 1 cmm Blut enthielt, wurden dieselben Resultate erhalten wie beim ersten Patienten mit scharf ausgesprochener Form der Leukämie. Das Blut der dritten Patientin, welches bloß 100 000 weiße Blutkörperchen in 1 cmm enthielt, äußerte kein Wachstum in den Kulturen. Der Mißerfolg in diesem Falle hing, abgesehen von der relativ geringen Anzahl der weißen Blutkörperchen im Blute, wahrscheinlich auch von der in diesem Falle angewandten Behandlungsart der Kranken ab. Die Patientin wurde im Verlaufe längerer Zeit mit Benzol behandelt und Benzol wirkt auf die weißen Blutkörperchen vernichtend. Übrigens wurde dieser Patientin das Blut zu Kultivierungszwecken bloß einmal entnommen und daher darf angenommen werden, daß im Falle wiederholter Versuche auch positive Resultate erreicht worden wären¹⁾.

T e c h n i k d e r K u l t i v i e r u n g s v e r s u c h e v o n l e u k ä m i s c h e m B l u t e a u ß e r h a l b d e s O r g a n i s m u s .

D i e B l u t e n t n a h m e . Das Blut wurde der Fingerbeere des Patienten durch Stich nach sorgfältigem Waschen des Fingers mit Alkohol und Äther entnommen. Das aus der Stichwunde hervortretende Blut wurde in besondere Pipetten aufgesogen, ähnlich den P a s t e u r - schen, die an beiden Enden ausgezogen waren. Diese Pipetten wurden vorher bis zur Hälfte ihres Volums mit der R i n g e r s chen Lösung angefüllt, an beiden Enden zugeschmolzen und im Autoklav sterilisiert. Vor dem Gebrauch selbst wurden die zugeschmolzenen, ausgezogenen Enden abgebrochen, das Blut in die Pipette gesogen und dort durch Vermischung mit der R i n g e r s chen Lösung je nach Wunsch ungefähr 5 bis 10 mal verdünnt. Gleich darauf wurde das untere Ende der Pipette wiederum zugeschmolzen. Wenn jedoch das Blut längere Zeit bis zur Kultivierung aufbewahrt werden sollte, so wurde auch das obere ausgezogene Ende zugeschmolzen. In einem solchen Zustande wurde das Blut aus der Klinik ins Laboratorium gebracht.

Einige Zeit nach der Entnahme begann das Blut langsam zu koagulieren, wobei sich zuerst ein großes, aber sehr lockeres Koagulum bildete. Wenn das Blut nicht bewegt wurde, so schloß das Koagulum fast die ganze Menge der Blutkörperchen ein und die Flüssigkeit um das Koagulum wurde durchsichtig. Wenn jedoch die Pipette von Zeit zu Zeit geschüttelt wurde, so blieb ein beträchtlicher Teil der Blutkörperchen außerhalb des Koagulums frei in der Flüssigkeit. Das Koagulum zog sich mit der Zeit zusammen, sein Volum wurde kleiner, es wurde kompakter und

¹⁾ Die Mitteilungen über die Patienten verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. N. D. L i b e r o w , wofür wir ihm auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

nahm in Gestalt einer dünnen langen dunkelroten Schnur einen relativ kleinen Teil des Lumens der Pipette ein.

Aufbewahrung des gewonnenen Blutes bis zum Moment der Kulturherstellung. Das erhaltene Blut wurde bis zur Kultivierung auf verschiedene Weise aufbewahrt. Wenn die Herstellung der Kulturen in den nächsten Stunden nach der Blutentnahme erfolgte, so wurde das Blut entweder in einem Brutschrank bei 38° C. oder bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Wenn die Bereitung der Kulturen jedoch später, nämlich nach 6 bis 10 und mehr Stunden erfolgte, so wurde das Kultivierungsmaterial in zugeschmolzener Pipette bei 0° aufbewahrt.

Zwischen dem Moment der Blutentnahme und der Überführung der hergestellten Kulturen in den Brutschrank verlief gewöhnlich ziemlich viel Zeit. In den günstigsten Fällen war dieser Zeitraum gleich 1½ Stunden. Nicht selten verliefen 2 und sogar 3 Stunden. Wenn an einem Tage die Bereitung der Kulturen in Plasma erfolgte, das von zwei verschiedenen Tieren erhalten wurde, z. B. zuerst in Plasma vom Kaninchen und darauf in Hundeplasma, so verspätete die zweite Kultur noch um eine oder um 1½ Stunden. Diesen Zeitraum mehr oder weniger zu verkürzen gelang uns nicht, weil die Zahl der jedesmal hergestellten Kulturen 100 und mehr erreichte und weil nicht selten partielle Mißerfolge, besonders bei dem Erhalten des Plasmas, unterliefen.

Außerdem wurde bei einigen Versuchen die Zeit zwischen dem Moment der Blutentnahme und dessen Kultivierung absichtlich von uns verlängert, um den Einfluß längeren Aufbewahrens von Blut außerhalb des Organismus auf dessen vitale Eigenschaften zu eruieren. Zu diesem Zweck führten wir die Blutkulturen nach 6, 8, 10 Stunden und nach 1, 2, 3 und 9 Tagen vom Moment der Entnahme aus. Um zu dieser Frage nicht mehr zurückzukehren, wollen wir gleich hier anführen, daß die Kultivierung von Blut, welches im Laufe von 9 Tagen bei 0° aufbewahrt wurde, vollständig resultatlos verlief; es gelang hier keine Lebensäußerungen, geschweige denn Wachstumserscheinungen oder Vermehrungsprozesse zu beobachten. Jedoch lieferten die Kulturen von Blut, welches während einiger Stunden und sogar während 1, 2 und 3 Tagen bei 0° aufbewahrt war, im allgemeinen dasselbe Bild, wie die Kulturen von frischem Blute, nur mit dem Unterschiede, daß alle Lebensäußerungen in quantitativer Hinsicht viel schwächer ausgeprägt waren, während die Erscheinungen regressiven Charakters, wie die des Unterganges und der Zerstörung der Zellen, besonders stark zum Ausdruck gelangten.

Vorbereitung des Kultivierungsmaterials. Als Kultivierungsmaterial gebrauchten wir entweder jene Zellen des Blutes, welche nicht von dem Koagulum eingeschlossen waren und frei in der Ringerischen Lösung schwammen, oder wir benutzten das Koagulum selbst mit den in ihm eingeschlossenen Zellen. Unsere Versuche lehrten, daß das Koagulum als Kultivierungsmaterial bedeutende Vorteile im Vergleiche zu den im freien Zustande befindlichen Elementen des Blutes aufweist. Ein Stückchen des Blutgerinnsels hat die Bedeutung eines Ausgangspunktes für die Beobachtung der in der Kultur vor sich gehenden Veränderungen. Die Prozesse der Emigration und der Verbreitung der weißen Blutkörperchen aus dem Blutkoagulum über das ganze Präparat sind hier sowohl im lebenden Zustande, als auch auf fixierten Präparaten der Beobachtung besonders zugänglich.

Die Vorbereitung des Kultivierungsmaterials bestand darin, daß das Blutgerinnel aus der Pipette in ein Petrisches Schälchen mit sterilisierter Ringerischer Lösung übergeführt wurde. Hier wurde das Gerinnel bei Beobachtung der Forderungen der Aseptik mit einer Scheere in kleine Stückchen von der Größe eines Mohn- bis Hirsekorns zerschnitten. Diese Stückchen wurden darauf mit Hilfe einer Platinschlinge in die Schälchen mit dem Nährmilieu verteilt. Die Kultivierung von größeren Stückchen gab im allgemeinen schlechtere Resultate, da in solchen Kulturen das Wachstum und die Vermehrung der Zellen schneller zum Stillstand gelangte und die Erscheinungen der Vernichtung und der Zerstörung stärker ausgeprägt waren.

In den Fällen, wenn zur Kultivierung nicht Blutkoagulum, sondern frei in der Ringer-schen Lösung schwimmende Elemente verwandt wurden, war keine besondere Vorbereitung des Materials nötig; es genügte, einen kleinen Tropfen der Flüssigkeit direkt aus der Pipette in das Nährmilieu austreten zu lassen.

Gefäße zur Kultivierung von leukämischem Blute. Zur Vorbereitung der Kulturen erwiesen sich, wie auch bei unseren früheren Versuchen, als am geeignetsten die Petrischen Schälchen. Es wurden Schälchen von verschiedener Höhe und verschiedenen Durchmessers (von 2 bis 8 cm) gebraucht. Somit wechselte der Luftvorrat in den verschiedenen Kulturen in recht weiten Grenzen. Die Vorzüge der Petrischen Schälchen im Vergleich mit allen anderen Gefäßen bestehen darin, daß die Herstellung der Kulturen in den Schälchen schnell vor sich geht; eine Verunreinigung der Kulturen durch Mikroben kommt relativ selten vor; die Verkitzung der Schälchen mit Paraffin geht leicht vonstatten; die Beobachtung des Wachstums der lebenden Kultur verlangt keine besonderen Vorsichtsmaßregeln. Als wichtiger Mangel der Petrischen Schälchen erscheint bloß der Umstand, daß wegen der bedeutenden Dicke der Wandungen man zur Beobachtung des Wachstums der Kulturen im lebenden Zustande bloß schwache Vergrößerungen (nicht mehr als Nr. 4 der Objektive von Reichert oder Leitz) anwenden kann.

Hohlgeschliffene Objektträger wurden als Gefäße zur Herstellung von Kulturen bei den weiter unten zu beschreibenden Versuchen in geringer Anzahl angewandt und fast ausschließlich nur zu dem Zweck, um starke Vergrößerungen inklusive Immersionssysteme zur Beobachtung des Wachstums der Kulturen im lebenden Zustande benutzen zu können.

Nährboden der Kulturen. Nach den Beobachtungen Carrels und anderer sich mit dieser Frage befassender Forscher erweist sich als am meisten geeigneter Stoff zur Kultivierung von tierischen Geweben außerhalb des Organismus das Plasma desselben Tieres oder das Plasma eines anderen Tieres derselben Art. Das von einem Tiere einer anderen Art erhaltene Plasma erweist sich mit seltenen Ausnahmen schon als schlechteres Milieu. Verschiedene künstliche Nährmilieus erweisen sich noch weniger geeignet, obgleich es auch in ihnen bisweilen gelingt, ein deutliches Wachstum der Gewebe zu erhalten. Darauf basierend müßte vorausgesetzt werden, daß das am meisten geeignete Milieu für die Kultivierung des Blutes eines Leukämikers das Plasma derselben Person resp. eines anderen Menschen sein würde. Doch auf unseren eigenen von Erfolg begleiteten Versuchen der Kultivierung eines menschlichen Sarkoms in Kaninchen- und Hundeplasma fußend und um die überflüssige Mühe der Gewinnung von menschlichem Plasma zu vermeiden, haben wir den größten Teil der Kultivierungsversuche von leukämischem Blut mit Kaninchen- und Hundeplasma ausgeführt. Das eine Plasma sowohl wie das andere erwies sich als recht gutes Milieu für das Wachstum von leukämischem Blute. Im Plasma vom Kaninchen erhielten wir, wie es schien, ein etwas besseres Wachstum. Doch wurden auch im Hundeplasma in einzelnen Fällen sehr gute Kulturen erhalten. Auf die roten Blutkörperchen wirkte das Hundeplasma jedoch zerstörender als das Kaninchenplasma.

Nur einmal wurde parallel der Kultivierung in das Plasma einer anderen Tierart eine Kultivierung in menschlichem Plasma gemacht. Das Plasma schied sich in der Zentrifuge gut ab und koagulierte schnell nach der Herstellung der Kulturen. Jedoch in allen Kulturen verdünnte sich das geronnene Plasma über Nacht vollkommen und das Kultivierungsmaterial schwamm frei in dieser Flüssigkeit. Diese ungünstige Erscheinung, die Verdünnung von menschlichem geronnenen Plasma, wird auch von anderen Autoren erwähnt (Carrel⁷, Haddad⁸).

Wegen des Mißerfolgs bei der Kultivierung von leukämischem Blut in menschlichem Plasma, gebrauchten wir bei allen weiteren Untersuchungen als Nährmilieu fast ausschließlich Kaninchen- und Hundeplasma. Nur zu einigen speziellen Zwecken versuchten wir tierisches Blutserum, ferner eine Mischung von Serum mit Ringerscher Lösung oder die Ringersche Lösung allein

anzuwenden. Dabei können wir nicht unerwähnt lassen, daß alle diese Versuche keine wertvollen Resultate ergaben.

Um das Leben der Kulturen zu verlängern, versuchten wir nach den Angaben von Carré ^{9, 10, 11} eine Waschung der Kulturen mit sterilisierter Ringerscher Lösung bei 0° zur Entfernung der angesammelten Produkte des Stoffwechsels anzuwenden, führten darauf die Kultur in ein neues Nährplasma über oder setzten frisches Plasma zu der alten Kultur zu. Doch gelang es uns nicht, auf diesem Wege die Lebensdauer der Kulturen merklich zu verlängern.

Die Gewinnung von tierischem Plasma. Das Blut wurde aus den großen Arterien oder Venen in die durch Schnee abgekühlten Zylinder der Zentrifuge aufgefangen. Im Verlaufe von 10 bis 15 Minuten wurde das gewonnene Blut in einem Raum mit einer Temperatur von — 1 bis — 3° C. elektrisch zentrifugiert. Das erhaltene Plasma wurde je nach Bedarf mit Hilfe von Pipetten aufgesogen und in Petrische Schälchen verteilt. In je einen Tropfen dieses Plasmas wurde das Kultivierungsmaterial eingeführt. Bald darauf gerann das Plasma und fixierte das Stückchen in einer bestimmten Lage. Ferner wurden die Ränder des Schälchens mit verschmolzenem Paraffin verkittet und die auf diese Weise hergestellte Kultur in einen Brutschrank bei 38° C. übergeführt.

Beobachtungen über das Wachstum der Kulturen wurden vor allen Dingen im lebenden Zustande ausgeführt. Kulturen, welche auf hohlgeschliffenen Objektträgern hergestellt waren, konnten bei starker Vergrößerung mit Ölimmersion betrachtet werden. Die Kulturen in Petrischen Schälchen wurden bei schwacher Vergrößerung von 100 bis 180 betrachtet. Das Mikroskop befand sich die ganze Zeit über in einem besonderen Thermostat bei 38° C.

Im lebenden Zustande konnte bequem die amöboide Beweglichkeit der Zellen und deren Ausbreitung im ganzen Nährmilieu beobachtet werden. Die Größen- und Formveränderungen der Zellen, sowie deren regressive Prozesse des allmählichen Unterganges und der Zerstörung mit deren Verwandlung in körnigen Zerfall, alles das war einer unmittelbaren Beobachtung unter dem Mikroskop zugänglich.

Parallel mit der Beobachtung der Kulturen im lebenden Zustande ging eine detaillierte mikroskopische Untersuchung fixierter und tingierter Präparate derselben Kulturen vor sich. Zu diesem Zwecke wurden täglich ein oder mehrere Präparate von jeder Kulturenserie fixiert. Nach diesen Präparaten konnten Tag für Tag alle Haupterscheinungen, die in den Kulturen vor sich gingen, verfolgt werden.

Zur Fixierung der Kulturen wurde eine 4 prozentige Formalinlösung oder die Orthosche Flüssigkeit angewandt, welche von Schridde ¹² als besonders bei darauffolgender Färbung der Präparate nach Giemsa geeignet empfohlen wird. Die Fixierung dauert von $\frac{1}{2}$ bis 10 Stunden je nach der Dicke des Präparats.

Die Kulturen auf hohlgeschliffenen Objektträgern wurden auf diesen fixiert, gefärbt und untersucht, da sie in Gestalt ziemlich dünner Häutchen auftraten. Die in Schälchen hergestellten Kulturen wurden nach deren Fixierung in Zelloidin eingebettet und mit dem Mikrotom geschnitten.

Zum Färben wurde am häufigsten Hämatoxylin, allein oder mit Eosin, auch die Giemsa-Lösung angewandt. Zur Färbung des Fettes wurde Sudan III und Nilblausulfat gebraucht.

Die in den Kulturen beobachteten Erscheinungen.

Erster Tag. Wenn man sofort nach der Kulturbereitung ein Koagulum des leukämischen Blutes unter dem Mikroskop betrachtet, das in Hunde- oder Kaninchenplasma übergeführt ist, so erscheint es scharfkonturiert. Seine Farbe ist gesättigt rot, dank der Anwesenheit einer Menge von Erythrozyten. Es gelingt nicht, in ihm die einzelnen Elemente zu unterscheiden. Das

umgebende koagulierte Plasma erscheint fast durchsichtig. In ihm lassen sich gut die einzelnen Fibrinfasern unterscheiden, welche bisweilen ein sehr feines, in anderen Fällen ein gröberes Netz bilden, in welchem bloß in geringer Anzahl isolierte rote und weiße Blutkörperchen angetroffen werden, welche hierher zufällig bei der Herstellung der Kulturen geraten waren.

Doch schon nach kurzer Zeit ändert sich das Bild stark. Sowie die Kulturen im Brutschrank bis auf 36 bis 38° erwärmt werden, treten in den weißen Körperchen des leukämischen Blutes Lebensäußerungen auf. Die Zellen beginnen ihre ursprüngliche runde Form zu verändern, indem sie nach allen Seiten protoplasmatische Fortsätze aussenden. Man kann sich dabei leicht überzeugen, daß die weißen Körperchen nicht nur ihre äußere Form verändern, sondern sich auch recht schnell von einem Orte zu einem anderen fortbewegen. Diese amöboide Beweglichkeit der Zellen ist besonders gut in Kulturen zu beobachten, die auf hohlgeschliffenen Objektträgern hergestellt sind, wo man bei der Untersuchung von lebenden Präparaten eine Ölimmersion anwenden kann. In vielen Zellen kann man dabei deutlich besondere, in steter Bewegung befindliche, stark lichtbrechende Körner unterscheiden. In einigen Zellen sind diese Körner sehr klein und zahlreich, in anderen seltener anzutreffenden Zellen sind diese Körner weniger zahlreich, doch ist deren Größe bedeutender. Am geeignetesten für solche Beobachtungen sind die Kulturen, welche nur aus freien Elementen des Blutes ohne Koagulum bestehen. In solchen kann man deutlich die einzelnen Zellen unterscheiden, da sie in mäßiger Anzahl vorhanden und gleichmäßig im Nährmilieu verteilt sind. Mit Ausnahme dieses Vorzugs, der für die Beobachtungen während der ersten Stunden nach der Herstellung von Wichtigkeit ist, stehen solche Kulturen in jeder anderen Hinsicht den Kulturen von Stückchen des Blutkoagulums jedoch nach. Bei der weiteren Beschreibung werden wir daher fast ausschließlich diese letzteren zu berücksichtigen haben.

Bei der Betrachtung eines Koagulums von leukämischem Blute unter dem Mikroskop, ungefähr eine halbe Stunde, nachdem die Kultur in den Brutschrank übergeführt war, kann man schon die ersten Anzeichen des Austretens der weißen Körperchen aus dem Koagulum in den umgebenden Nährboden wahrnehmen. Der ursprünglich scharf konturierte Rand des Stückchens koagulierten Blutes erweist sich jetzt von einem schmalen Saume von Zellen umgeben, welche sich in lebhafter Bewegung hauptsächlich in der Richtung von dem Stückchen befinden. Diese Masse sich bewegender Zellen, welche aus dem kultivierten Gerinnsel auswandern, vergrößert sich sehr bald, wird kompakter, wodurch die Ränder des Koagulums allmählich undeutlicher werden.

Nach 2 bis 3 Stunden wird die Emigration der weißen Blutkörperchen in das umgebende Nährmilieu schon makroskopisch wahrnehmbar. Um das leuchtend rote Stückchen bemerkt man einen weißlichen, opaken, schmalen Ring mit ziemlich scharfen Konturen. Die Schärfe der Konturen hängt von der beinahe gleichen Schnelligkeit der Vorwärtsbewegung der größeren Zahl der ausgewanderten weißen Blutkörperchen ab. Doch bewegen sich immerhin einige Zellen schneller als die Hauptmasse, entfernen sich daher weiter vom Stückchen und liegen gänzlich isoliert in dem Nährmilieu. Je weiter vom Stückchen, desto seltener und seltener werden solche isolierte Zellen angetroffen. Nach 5 bis 10 Stunden seit erfolgter Kulturherstellung erreicht die Breite des weißen Ringes um das Koagulum 2 bis 3 mm.

N a c h 1 T a g e. Die Emigration der weißen Blutkörperchen von dem Verpflanzungsort in das umgebende Milieu erreicht nach 24 Stunden schon bedeutende Dimensionen. Bei Untersuchung der Kultur im lebenden Zustande behält das kultivierte Stückchen des Blutkoagulums seine leuchtend rote Farbe bei, da es hauptsächlich aus roten Blutkörperchen besteht. Es ist umgeben von einem dichten Ringe emigrierter weißer Blutkörperchen, welche sich in lebhafter Bewegung befinden. Dieser Ring, welcher auch makroskopisch deutlich bemerkbar ist, übertrifft häufig seiner Ausdehnung nach die Oberfläche des Koagulums, in der er bisweilen 4 bis 5 mm in der Breite erreicht. Um diese Hauptmasse der emigrierten Zellen verteilen sich die isolierten Elemente, deren Anzahl sich entsprechend der Entfernung vom Stückchen des Koagulums beständig verringert.

Bei Betrachtung der Kulturen im lebenden Zustande gelingt es nicht, die Frage nach der Natur der wandernden Zellen zu entscheiden. Jedoch bei der Untersuchung gefärbter Schnitte fixierter Kulturen ist es ziemlich leicht zu erkennen, mit was für weißen Blutkörperchen wir es zu tun haben, besonders wenn die Präparate nach G i e m s a tingiert waren.

Das allgemeine Bild der fixierten und tingierten Präparate ist folgendes. Im Zentrum des Präparates befindet sich das kultivierte Koagulum, das hauptsächlich aus roten Blutkörperchen, die deutlich auf dünnen Schnitten zu erkennen sind, besteht. Der größte Teil derselben hat sich zu dieser Zeit noch gut erhalten, doch einige haben schon ihre Farbe verloren, sind zusammengezurrt oder sind in einzelne Schöllchen zerfallen. Unter dieser Masse von Erythrozyten findet man auch recht viel weiße Blutkörperchen. Die innerhalb des Koagulums gebliebenen weißen Blutkörperchen gehören größtenteils zu den uninukleären Elementen. Multinukleäre Leukozyten findet man hier schon in geringer Anzahl.

Außerhalb des Koagulums in dem umgebenden Nährmilieu befinden sich fast ausschließlich allein weiße Blutkörperchen mit einer sehr geringen Beimengung von roten, zufällig bei der Kulturherstellung hierher gelangten Blutkörperchen. Unmittelbar um das Koagulum liegen die weißen Blutkörperchen in einer dichten Masse, weiterhin jedoch als einzelne Zellen. Unter diesen Elementen wiegen die multinukleären Leukozyten vor. Die Anzahl der uninukleären Formen ist geringer. Die Verteilung der multinukleären und uninukleären Zellen in der Nähe des Koagulums oder weiter von letzterem ist eine ungleiche. Unmittelbar um das Koagulum liegen in Gestalt eines schmalen Saumes fast nur die uninukleären Elemente. Etwas weiter in der dichten Zone der emigrierten Zellen prävalieren schon merklich die multinukleären Elemente. Endlich, noch weiter von dem kultivierten Stückchen, unter den isoliert liegenden Zellen bemerkt man schon eine recht starke Prävalenz der multinukleären Leukozyten gegenüber den uninukleären. Offenbar besitzen die multinukleären Zellen eine größere Beweglichkeit als die uninukleären und erweisen sich daher bei der Emigration in dem Nährmilieu den übrigen Elementen weit voraus.

Was den Charakter dieser emigrierten multinukleären Leukozyten betrifft, so besteht deren Hauptmasse aus neutrophilen Zellen, deren Granulation nicht selten sehr deutlich nach G i e m s a sich färben lässt. Unter den neutrophilen kann man nicht wenig eosinophile und basophile Leukozyten erblicken. Die basophilen Elemente lassen sich nur bei Fixierung mit absolutem Alkohol unterscheiden. Viele dieser Leukozyten sind von unregelmäßiger Gestalt und mit zahlreichen und verschiedenartigen protoplasmatischen Fortsätzen versehen. Der Kern dieser Zellen ist häufig in die Länge gezogen. Das alles ist das Resultat der amöboiden Beweglichkeit dieser Zellen. Es scheint, daß die eosinophilen und basophilen Elemente in dieser Hinsicht den neutrophilen keineswegs nachstehen, da sie nicht selten zwischen den am weitesten vom Verpflanzungsort entfernten Zellen angetroffen werden.

Was die uninukleären Elemente betrifft, so kann man zwischen ihnen neutrophile und eosinophile Myelozyten mit typischer Kernform und charakteristischer Granulation unterscheiden. Doch bei einigen sowohl neutrophilen wie auch eosinophilen Myelozyten erweist sich der Kern schon stark verändert. Er ist klein, rund, von undeutlicher Struktur und ist für Kernfarben stark empfänglich. Wahrscheinlich sind diese Myelozyten mit pyknotischem Kern dem Untergang geweiht. (Vgl. Textfig. I, 5.)

Die neutrophilen und eosinophilen Myelozyten besitzen zweifellos auch eine amöboiden Beweglichkeit. Dafür spricht 1. deren Emigration aus dem kultivierten Stückchen häufig auf große Entfernung und 2. die Mannigfaltigkeit ihrer äußeren Gestalt in Abhängigkeit von zahlreichen protoplasmatischen Fortsätzen, die auf tingierten Präparaten deutlich zu sehen sind.

Außer den Leukozyten und Myelozyten gelingt es um diese Zeit, d. h. 24 Stunden nach der Kulturbereitung, noch folgende Gruppen von Zellen zu unterscheiden.

Zellen von runder Form mit einem großen bläschenförmigen Kern und mit einer kleinen Menge von Protoplasma. Ihr Kern ist ziemlich arm an Chromatin und enthält 1 bis 3 Kernkörperchen,

welche sich intensiv färben lassen. Protoplasma ist sehr wenig vorhanden; es ist basophil und enthält keine Granulation (vgl. Textfig. II, 3; IV, 5; VI, 1 und 2). Augenscheinlich müssen diese Elemente zu den Myeloblasten von N a e g e l i gezogen werden. Diese Ähnlichkeit beruht auf

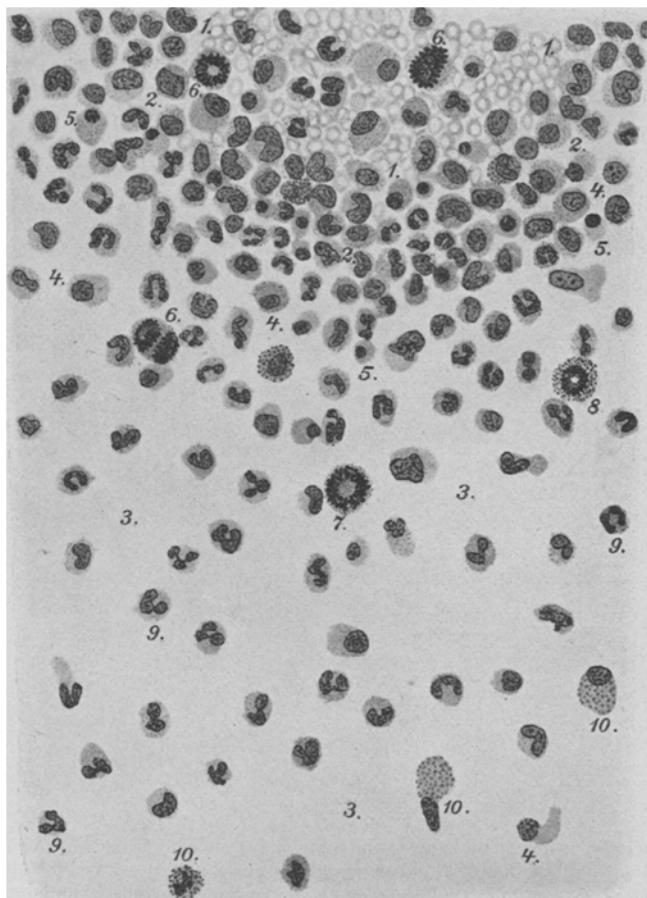


Fig. I. Eintägige Kultur von leukämischem Blute in Kaninchenplasma. Emigration und Vermehrung der weißen Blutkörperchen. Vergr. 800. 1. Rand des kultivierenden Blutkoagulums mit einer großen Menge roter Blutkörperchen. 2. Dichte Zone emigrierter weißer Blutkörperchen unmittelbar um das Koagulum. 3. Weniger dichte Lagerung der emigrierten Blutkörperchen weit vom Koagulum. 4. Uninukleäre Elemente teilweise mit neutrophiler Granulation im Protoplasma. 5. Uninukleäre Elemente mit pyknotischem Kern. 6. Karyokinetische Zellteilungsfiguren. 7. Teilungsfigur eines neutrophilen Myelozyten. 8. Teilungsfigur eines eosinophilen Myelozyten. 9. Wandernde neutrophile Leukozyten. 10. Wandernde Eosinophile: Leukozyten und Myelozyten.

der Basophilie und der geringen Menge von Protoplasma, auf der Größe und Form des Kerns, der mit einigen Kernkörperchen versehen ist. Man muß zugeben, daß diese Zellen sich etwas von jenen typischen Myeloblasten unterscheiden, welche wir gewohnt sind in gefärbten trockenen

Präparaten von leukämischem Blute zu sehen. Der Unterschied besteht darin, daß bei unseren Zellen der Kern eine bläschenförmige Gestalt hat, scharfe Konturen aufweist, während die Myeloblasten keinen scharfkonturierten Kern haben; die Kernkörperchen unserer Zellen lassen sich intensiv färben, die der Myeloblasten schwach. Doch hängt dieser Unterschied höchstwahrscheinlich von der Fixierungs- und von der Herstellungsart des Präparates selbst ab. Wenigstens sind auf den Abbildungen von Schridde¹³, dessen Methode wir beim Fixieren und Tingieren der Präparate folgten, die Myeloblasten mit einem ebensolchen bläschenförmigen Kern mit intensiv

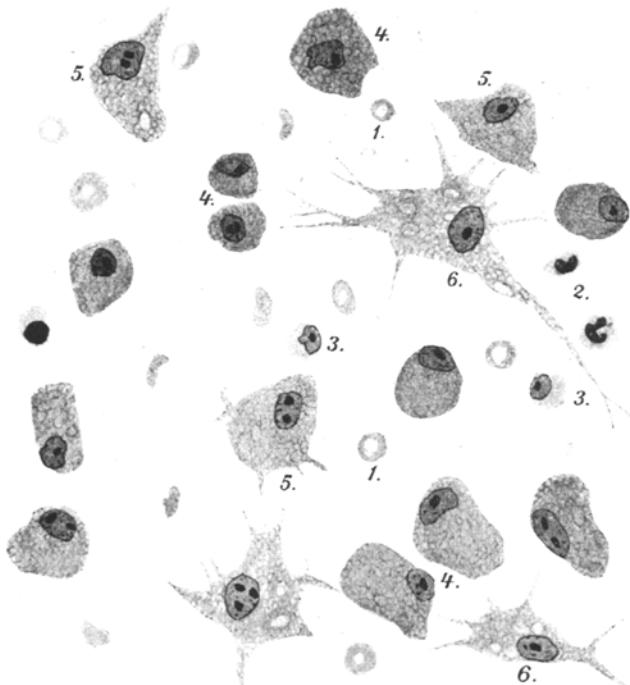


Fig. II. Viertägige Kultur von leukämischem Blute in Kaninchenplasma. Entwicklung der hypertrophierten Zellen; deren allmähliche Formveränderung; Bildung der Ausläuferzellen. Vergr. 800. 1. Rote Blutkörperchen. 2. Neutrophile Leukozyten. 3. Myeloblasten (Lymphozyten). 4. Hypertrophierte Zellen verschiedener Größe. 5. Übergangsformen zwischen runden und gestreckten hypertrophierten Zellen. 6. Ausläuferzellen.

färbbarem Kernkörperchen versehen, wie auf unseren Präparaten. Auf Grund des Angeführten halten wir diese Zellen für die Myeloblasten von Naegele¹⁴ resp. für die Lymphoidozyten von Pappenheim¹⁵, deren Gehalt im leukämischen Blute, das zur Kultivierung gelangte, ungefähr 3% betrug.

In dem Kultivierungsmateriale befanden sich außer den Myeloblasten auch Lymphozyten, ungefähr 1% bildend, sowie Uninukleäre und Übergangsformen in einer geringen Anzahl, weniger als 1%. Wenn es auf gefärbten Ausstrichpräparaten von leukämischem Blute nicht schwer fiel, diese Formen von den Myeloblasten zu unterscheiden, so war das bei der Untersuchung von Schnitten unserer Kulturen vollständig unmöglich. Die uninukleären Elemente mit basophilem nicht körnigem Protoplasma hatten auf Schnitten der Kulturen im allgemeinen dasselbe Aussehen und variierten

nur etwas in der Größe. Die Größe der Zellen, die überhaupt sehr wechselt, kann jedoch nicht als genügende Basis einer Klassifikation dienen. Z. B. verändert sich nach den Untersuchungen von A. M a x i m o w¹⁶ sehr schnell die Größe der bei einer Entzündung aus den Gefäßen in die Gewebe emigrierten Lymphozyten.

Daher waren wir bei der Untersuchung der Kulturen nicht imstande, die Lymphozyten und Uninukleären in besondere Gruppen zu trennen; sie wurden in eine gemeinsame Gruppe mit den Myeloblasten untergebracht. Somit werden wir unter der Bezeichnung Myeloblasten weiterhin nicht nur die Myeloblasten von N a e g e l i verstehen; sondern auch die Lymphozyten mit den Uninukleären. Wie wir weiter sehen werden, sind die Zellen dieser Gruppe bei der Kultivierung außerhalb des Organismus fähig, die verschiedenartigsten Metamorphosen durchzulaufen. Ihr weiteres Schicksal unter den gegebenen Bedingungen zu verfolgen, ist eine im hohen Grade interessante Aufgabe.

Außer den soeben beschriebenen Myeloblasten, welche von runder Form sind, kommen auch Elemente mit einem ebenso gestalteten Kern und mit gleichfalls basophilem Protoplasma vor, die sich aber durch ihre Form scharf von den ersteren unterscheiden. Der Kern dieser Zellen ist rund oder oval, hat scharfe Konturen und 1 bis 3 intensiv tingierbare Kernkörperchen. Protoplasma ist etwas mehr vorhanden; es hat eine wabige Struktur und bildet zahlreiche, recht grobe Vorsprünge, wodurch die Zellen die verschiedenartigsten unregelmäßigen Umrisse erhalten. Diese Elemente besitzen eine bedeutende amöboide Beweglichkeit, worauf sowohl die Form der Zellen selbst mit deren protoplasmatischen Fortsätzen sowie auch deren Vorkommen weit von dem Blutkoagulum hinweist (vgl. Textfig. IV, 3 und VI, 6). Dabei verfügen diese Zellen über phagozitäre Eigenschaften. In ihrem Protoplasma kann man bisweilen innerhalb besonderer Vakuolen ergriffene rote und weiße Blutkörperchen im Zustande allmählicher Zerstörung antreffen. Ihrem Äußern nach sind diese Zellen den Polyblasten von M a x i m o w^{17 18} ähnlich, unterscheiden sich jedoch von diesen durch den Charakter ihres Kerns, welcher im Gegensatz zu den Polyblasten von M a x i m o w relativ arm an Chromatin ist, scharfe Konturen hat und intensiv tingierbare Kernkörperchen enthält.

Ein derartiger Unterschied in der Struktur des Kerns kann wahrscheinlich von den Lebensbedingungen der Zellen abhängen. So hatte nach den Beobachtungen von H a d d a und R o s e n - t h a l¹⁹ der Kern ein und derselben Zellen, bei deren Kultivierung außerhalb des Organismus, ein verschiedenes Aussehen je nach dem Charakter des Nährmilieus. Und zwar war das Wachstum der Haut- und Knorpelzellen eines Hühnerembryos sowohl im Huhnplasma als auch im Plasma vom Kaninchen im allgemeinen ein gutes. Jedoch hatten die Kerne der im gleichartigen Plasma kultivierten Zellen scharfe Konturen, waren reich an Chromatin und enthielten je 2 große Kernkörperchen. Dieselben Zellen jedoch hatten, bei deren Kultivierung im Kaninchenplasma, chromatinarme Kerne mit undeutlicher Struktur und ohne wahrnehmbare Kernkörperchen. Es darf angenommen werden, daß die Strukturunterschiede der Kerne unserer Zellen und der der Polyblasten von M a x i m o w auf ungleichen Lebensbedingungen beruhen.

Außerdem muß betont werden, daß es uns nicht gelang, einwandfrei die Verwandlung unserer Zellen, im Gegensatz zu den Polyblasten von M a x i m o w, in irgendwelche andere stabile Gebilde zu beobachten, obgleich die Möglichkeit von deren Verwandlung in die weiter unten zu beschreibenden hypertrophierten Zellen wir nicht ausschließen können.

Außerdem erscheinen in einigen Kulturen in diesem frühen Entwicklungsstadium noch besondere Elemente, die im Blute absolut nicht angetroffen werden. Das sind Zellen von ausgezogener Form, mit zugespitzten Enden, ohne jegliche seitliche Fortsätze. Ihre Kerne sind oval, bläschenförmig, mit einem Kernkörperchen und liegen in der Mitte der Zellen. Im Protoplasma ist eine wabige Struktur gut wahrnehmbar (vgl. Textfig. VI, 5). Ihrer Größe nach übertreffen diese Zellen die übrigen Elemente nur um etwas. Sie werden recht selten und nicht auf allen Prä-

paraten angetroffen. Weiterhin werden wir sie auf Grund ihres Aussehens als *s p i n d e l f ö r m i g e Z e l l e n* bezeichnen.

Außerdem muß darauf hingewiesen werden, daß schon um diese Zeit, d. h. 24 Stunden nach der Kulturherstellung, Vermehrungsprozesse der Zellen, wenn auch in beschränktem Maße, beobachtet werden. Bei mikroskopischer Betrachtung gefärbter Präparate kann man recht leicht typische Figuren der Karyomitoze der weißen Blutkörperchen antreffen. Es vermehren sich die uninukleären Elemente, hauptsächlich die Myelozyten, sowohl die neutrophilen als auch die eosinophilien (vgl. Textfig. I, 6, 7, und 8). Die Teilungsfiguren der eosinophilen Myelozyten werden bedeutend seltener als die der neutrophilen angetroffen. Diese Teilungsfiguren befinden sich hauptsächlich in jener dichten engen Zone uninukleärer Elemente, von welcher das kultivierte Stückchen des Koagulums unmittelbar umgeben ist. Seltener kann man sie im Koagulum selbst unter den weißen Blutkörperchen, welche zwischen den roten verblieben, antreffen. Endlich können karyokinetiche Figuren auch weit vom Stückchen angetroffen werden, dort, wo die emigrierten Zellen einzeln liegen. Es ist klar, daß in diesem letzten Falle mit amöboider Beweglichkeit begabte Zellen sich vom Verpflanzungsorte beträchtlich in das umgebende Milieu entfernten und hier im Plasma sich zu vermehren begannen.

Schließlich ist noch zu erwähnen, daß gleichzeitig mit der Vermehrung gewisser Zellen ein Untergang anderer zu bemerken ist. Schon um diese Zeit befinden sich einige weiße Blutkörperchen im Zustande des Unterganges und der Zerstörung. Ihre Kerne schrumpfen ein oder zerfallen in einige Chromatinschöllchen, welche von Kerntinktionsmitteln intensiv gefärbt werden. Übrigens ist die Zahl solcher Zellen während dieser Entwicklungsperiode der Kultur noch sehr gering.

Somit ist das allgemeine Bild eines gefärbten Präparates einer eintägigen Kultur von leukämischem Blute das folgende. Im Zentrum des Präparats befindet sich das kultivierte Stückchen des Blutkoagulums mit einer Masse roter Blutkörperchen. Zwischen ihnen liegen weiße Blutkörperchen, hauptsächlich uninukleäre; einige von ihnen befinden sich im Zustande karyokineticcher Teilung. Weiter folgt ein breiter Ring von emigrierten Zellen: unmittelbar am Stückchen des Koagulums eine schmale dichte Zone hauptsächlich aus uninukleären Elementen bestehend mit ziemlich zahlreichen Teilungsfiguren; nach außen davon im Zustande der Wanderung fixierte Leukozyten, hauptsächlich multinukleäre. Je weiter vom Stückchen, desto weniger Zellen werden angetroffen.

Das allgemeine Bild einer eintägigen Kultur stellt Textfig. I dar, die mit Hilfe eines Zeichenapparats nach einem gefärbten Präparat gezeichnet wurde. Ebenso sind die übrigen Abbildungen mit Ausnahme des Schemas, angefertigt worden.

N a c h 2 T a g e n. Im allgemeinen ist das Bild, welches man 24 Stunden nach der Kulturherstellung beobachtet hat, in den Kulturen auch nach 48 Stunden zu sehen, nur sind jetzt alle Lebensäußerungen bedeutend schärfer ausgeprägt. In allen gelungenen Kulturen sind die Stückchen des Koagulums von einem weißlichen opaken, auch makroskopisch deutlich wahrnehmbaren Ringe umgeben. Die Breite des Ringes erreicht bisweilen mehr als $\frac{1}{2}$ cm. Übrigens ist er an kleinen, Stückchen beträchtlich schmäler. Viele Stückchen, besonders die kleinen, sind leicht entfärbt, während das sie umgebende Milieu rötlich gefärbt erscheint. Die Entfärbung der kultivierten Stückchen ist in mit Hundeplasma hergestellten Kulturen stärker ausgeprägt.

Bei mikroskopischer Untersuchung der Kultur im lebenden Zustand sieht man dasselbe Emigrationsbild, dieselbe schnelle Form- und Lageveränderungen der Zellen, wie in eintägigen Kulturen. Die Anzahl der aus dem Koagulum ausgewanderten weißen Blutkörperchen ist noch bedeutender. Die Zellen liegen sehr dicht um das Stückchen und bilden eine breitere Zone, als am Tage vorher. Weiter von den Stückchen, dort wo die Zellen verhältnismäßig weniger dicht liegen, bemerkt man an gewissen Stellen haufenartige Ansammlungen von Leukozyten in der Art von mikroskopischen Eiterherden um fremde Körper und bisweilen, wenn die Kultur sich als verunreinigt erwies, auch um Kolonien von Mikroben.

Zuweilen schon um diese Zeit, größtenteils jedoch später erscheinen in einigen Kulturen besondere Zellen, welche sogar im lebenden Zustande von den übrigen Elementen durch ihre bedeutende Größe und ihr dunkelkörniges Protoplasma unterschieden werden können. Ihre Form ist größtenteils rund. Sie befinden sich gewöhnlich an den Rändern des Stückchens Koagulum oder in geringer Entfernung davon, liegen isoliert voneinander in sehr beschränkter Anzahl und besitzen zweifellos eine amöboide Beweglichkeit. Bei starker Vergrößerung kann man an lebenden Präparaten einige Einzelheiten ihres Baues erblicken. Das Protoplasma ist mit einer großen Menge glänzender, mit scharfen Konturen versehener, ziemlich großer Körner angefüllt, welche sich in beständiger Bewegung befinden. Bei der mit Hilfe von Pseudopodien vor sich gehenden Ortsveränderung der Zelle kann eine besonders schnelle Transfusion dieser Körner in die sich bildenden protoplasmatischen Vorsprünge beobachtet werden. Der Kern ist größtenteils gut unterscheidbar in Form eines hellen Gebildes ohne irgendwelche Granulation. Die Größe dieser Zellen ist eine verschiedene. Es werden sowohl große, als auch kleinere Zellen angetroffen, welche sich in ihren Dimensionen von der Hauptmasse der kultivierten Zellen nur wenig unterscheiden.

Bei der Untersuchung von fixierten und tingierten Präparaten finden wir fast dasselbe, wie am Tage vorher. Ein Unterschied besteht nur darin, daß sowohl die Lebensäußerungen der Zellen, als auch deren Zerstörung hier viel markanter ausgedrückt sind. Viele rote Blutkörperchen sind vollkommen entfärbt und sind zu Schatten ihrer selbst geworden, andere sind zusammengeschrumpft oder sind in einzelne Schöllechen zerfallen. Gleichzeitig mit diesen umgekommenen Elementen wird jedoch noch eine ziemlich bedeutende Anzahl vollkommen erhaltener Erythrozyten angetroffen. Das allgemeine Bild der Emigration der Leukozyten aus dem Koagulum, die Lagerung der uninklüären Elemente in Form eines dichten Ringes unmittelbar um das Stückchen Koagulum, die Aufhellung des Stückchens selbst infolge des Unterganges der roten und der Auswanderung der weißen Blutkörperchen, alles das ist an zweitägigen Kulturen viel stärker ausgesprochen, als an eintägigen. Die Teilungsfiguren der uninukleären Elemente treten auch bedeutend häufiger auf. Es vermehren sich hauptsächlich die neutrophilen Myelozyten. Die wandernden Zellen mit bläschenförmigem Kern und die spindelförmigen Zellen haben dasselbe Aussehen, wie am Tage vorher. Ihre Zahl ist etwas größer geworden.

Jene großen dunklen Zellen, welche von uns in den lebenden Kulturen notiert wurden, treten auch auf fixierten und tingierten Präparaten scharf hervor. Sie haben einen bläschenförmigen, chromatinarmen Kern von runder oder ovaler Form mit 1 bis 3 Kernkörperchen. Der Kern ist gewöhnlich exzentrisch gelagert. Er ist recht groß, nimmt aber infolge des großen Protoplasma-volums einen nur unbedeutenden Teil der Zelle ein, denn die größten von diesen Elementen sind sehr reich an Protoplasma, welches einen deutlich ausgesprochenen wabigen Bau besitzt und sich mit basophilen Farben recht intensiv färben läßt (vgl. Textfig. II, 4; III, 3; IV, 6; VI, 3). Diese Zellen fallen daher in Präparaten durch ihre intensivere Färbung stark auf. Bei der Färbung auf Fett hin mit Sudan erblickt man in ihrem Protoplasma eine große Anzahl von Fettröpfchen fast einer Größe. Nilblausulfat färbt diese Fettröpfchen himbeerrot, was auf die Abwesenheit von Fettsäuren deutet. Der neutrale Charakter des Fettes spricht für dessen Nährbedeutung für die Zelle.

Solche großen Zellen findet man in zweitägigen Kulturen noch sehr selten. Zwischen ihnen und den uninukleären Zellen mit bläschenförmigem Kern, welche wir früher unter der Bezeichnung Myeloblasten beschrieben, existieren alle möglichen Übergangsformen. Höchstwahrscheinlich entstehen diese hypertrophierten Zellen aus Myeloblasten. Bei dieser Metamorphose bleibt der Kern des Myeloblasten ohne starke Veränderungen, es ändert sich bloß das Protoplasma: es hypertrophiert stark, sammelt große Vorräte an Fett an und erhält eine feinwabige Struktur. Weiterhin werden wir diese Elemente als *hypertrophierte Zellen* bezeichnen.

Nach 3 Tagen. Bei der Untersuchung von dreitägigen Kulturen im lebenden Zustande treffen wir wiederum dasselbe Emigrationsbild wie auch an jüngeren Kulturen. Um diese Zeit

erreicht die Emigration den größten Umfang. In einzelnen Fällen ist das ganze Nährmilieu durchweg mit ausgewanderten weißen Körperchen angefüllt. Die Mehrzahl derselben setzt die lebhafte Bewegung fort, einige sind jedoch schon umgekommen und haben sich in eine feinkörnige Masse verwandelt. Dieser Untergang der Zellen ist besonders deutlich an jenen Stellen zu bemerken, wo sie sich gleich kleinen Eiterherden in Häufchen angesammelt hatten.

Jene hypertrophierten Zellen, von denen bei der Beschreibung zweitägiger Kulturen die Rede war, erweisen sich nun in viel größerer Anzahl, als am Tage vorher. In einigen Kulturen liegen sie recht dicht um das Koagulum, in anderen beginnen sie um diese Zeit erst zu erscheinen; in einigen Kulturen erscheinen sie noch später, am 4. oder 5. Tage. Oft erscheinen diese Zellen innerhalb kleiner kultivierten Stückchen, welche um diese Zeit infolge von Hämolyse fast vollständig

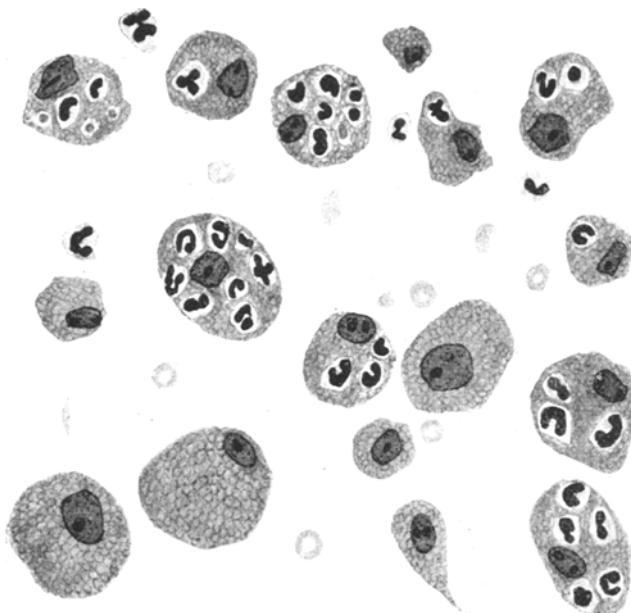


Fig. III. Achttägige Kultur von leukämischem Blute in Kaninchenplasma. Makrophagen. Übergangsformen zwischen hypertrophierten Zellen und Makrophagen. Vergr. 800. 1. Rote Blutkörperchen, teilweise verändert. 2. Neutrophile Leukozyten. 3. Hypertrophierte Zellen. 4. Makrophagen.

entfärbt sind. Hier liegen sie gewöhnlich in kleinen Gruppen. Ihre Dimensionen sind jetzt noch größer, als am Tage vorher, auch hat sich die Form einiger dieser Zellen merklich verändert, indem die Zellen kurze Vorsprünge erhalten haben oder leicht in die Länge ausgezogen sind.

In fixierten und gefärbten Präparaten einer dreitägigen Kultur finden wir fast dasselbe wie früher. Daher werden wir von den Emigrationserscheinungen, von dem Zerfalle der roten und weißen Blutkörperchen nicht reden. Erwähnt sei nur, daß um diese Zeit die Vermehrung der Zellen ihre größte Intensität erreicht. In einigen Präparaten können in jedem beliebigen Gesichtsfelde bei Immersion 4 bis 5 typische karyomitotische Figuren gefunden werden.

Was die hypertrophierten Zellen betrifft, so sind sie in dreitägigen Kulturen viel häufiger anzutreffen, als am Tage vorher, auch sind sie selbst größer geworden. Bisweilen sieht man unter

ihnen karyokinetische Figuren (vgl. Textfig. IV, 7). Einige von ihnen enthalten im Protoplasma in besonderen Vakuolen zerfallende weiße und rote Blutkörperchen, Körnchen eines braunen Pigments, Kohlenpartikelchen, die zufällig bei der Herstellung der Kulturen infolge ungenügender Durchglühung des Platindrahtes hineingeraten waren. Diese letzteren Zellen gehören ihrer Funktion nach zu den Makrophagen. Um diese Zeit werden sie noch in geringer Anzahl angetroffen.

N a c h 4 T a g e n. Ungefähr von dieser Zeit an beginnen in den Kulturen die Erscheinungen des Verfalls der Zellen besonders deutlich hervorzutreten. Bei der Untersuchung im frischen Zustande werden außer wandernden beweglichen Elementen nicht wenig umgekommene Zellen

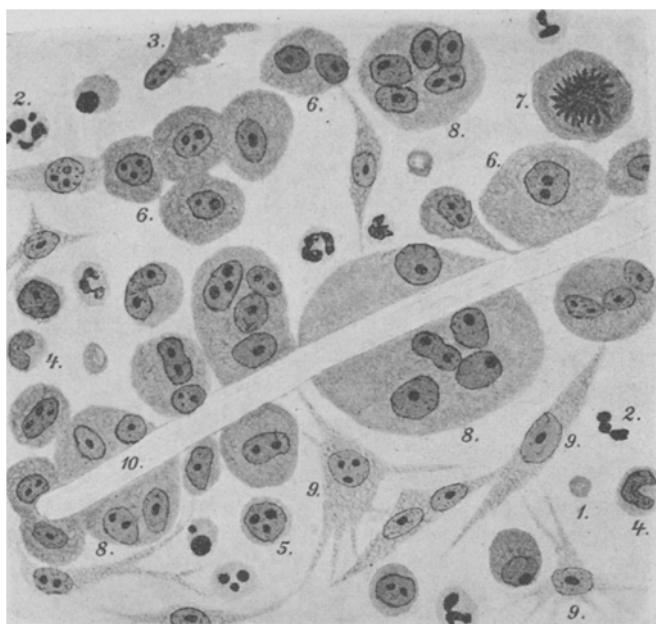


Fig. IV. Sechstägige Kultur von leukämischem Blute in Hundeplasma. Bildung von Riesenzenellen um ein Fäserchen. Übergangsformen zwischen hypertrophierten Zellen und Riesenzellen. Vergr. 800. 1. Rote Blutkörperchen. 2. Neutrophile Leukozyten, teilweise in Zerfall. 3. Wandernde uninukleäre Zellen mit bläschenförmigem Kern. 4. Myelozyten mit eingebuchtem Kern. 5. Myeloblasten (Lymphozyten). 6. Hypertrophierte Zellen. 7. Teilungsfiguren hypertrophiierter Zellen. 8. Riesenzellen. 9. Ausläuferzellen. 10. Baumwollfaserchen.

angetroffen, die sich in eine feinkörnige Masse verwandelt haben. Viele kultivierte Stückchen sind um diese Zeit schon vollkommen entfärbt. Innerhalb der entfärbten Stückchen sind jetzt die hypertrophierten Zellen besonders gut bemerkbar, welche bisweilen hier in bedeutender Anzahl angetroffen werden. In den kleinsten Stückchen sind außer ihnen andere Zellelemente oft fast nicht wahrzunehmen. Größere Stückchen sind allerseits von einem recht dichten Ringe solcher hypertrophiierter Zellen umgeben. Aber auch in weiterer Entfernung von dem kultivierten Blutkoagulum werden entweder einzelne hypertrophierte Zellen oder kleine Gruppen derselben angetroffen. Jetzt fallen diese Zellen noch mehr durch ihre von Tag zu Tag beständig zunehmende Größe auf. Die Mehrzahl derselben ist von runder Form; es werden aber auch polygonale, birn-

förmige, ausgezogene, spindelförmige und endlich flache Zellen angetroffen, welch letztere mit zahlreichen spitzen Fortsätzen versehen sind. Bei der Untersuchung der ausgezogenen und flachen Zellen im lebenden Zustande ist der wabige Bau des Protoplasmas besonders gut bemerkbar, da die Dicke der Zellen geringer und die Waben größer als in den runden Zellen sind. Deutlich sichtbar ist auch der Kern in Gestalt eines hellen ovalen Fleckens.

Der Zerfall der weißen Blutkörperchen tritt auf tingierten Präparaten besonders gut in Erscheinung. Es zerfallen hauptsächlich die polymorphkernigen Leukozyten sowie, wenn auch seltener, die Myelozyten. Die Kerne der umkommenden Zellen zerfallen in feine Schöllchen, welche allmählich aufgelöst werden. Jedoch ist die Mehrzahl der Zellen noch vollkommen lebensfähig. Teilungsfiguren der Myelozyten werden etwas seltener als in dreitägigen Kulturen angetroffen, doch kommen sie immerhin recht häufig vor. In den hypertrophierten Zellen werden karyokinetische Figuren besonders selten angetroffen. Daher erscheint es unmöglich, die bedeutende Zunahme der Zahl der hypertrophierten Zellen, welche zwischen dem 3. und 4. Tage beobachtet wird, allein durch deren karyomitotische Vermehrung zu erklären. Wahrscheinlich vermehren sich diese Zellen auch durch direkte Teilung, wenigstens besitzen einige von ihnen je zwei Kerne, andere haben einen biskuitförmigen Kern. In einigen Zellen mit zwei Kernen oder mit einem biskuitförmigen Kern kann man auch eine Teilung des Protoplasma wahrnehmen. Endlich hängt wahrscheinlich die Vergrößerung der Zahl der hypertrophierten Zellen auch von der fortduernden Verwandlung der Myeloblasten in diese Elemente ab.

In einigen Präparaten sammeln sich die hypertrophierten Zellen in großer Anzahl um Fremdkörper, besonders um Baumwollfasern an. Solche Fäserchen können in dem Nährmilieu nicht selten angetroffen werden. Sie gelangen dahin aus den Wattepropfen, mit welchen die Probierrörchen mit Ringerscher Lösung bei der Sterilisation verstopft werden. Die Fäserchen erweisen sich bisweilen allerseits von großen Zellen umgeben.

Die Grundform der hypertrophierten Zellen ist rund oder oval. Sie ist der Mehrzahl derselben in viertägigen Kulturen eigen. Aber, wie schon früher bei der Beschreibung lebender Kulturen erwähnt, erleidet in einigen Zellen diese Grundform eigenartige Veränderungen, welche besonders an tingierten Präparaten gut zu unterscheiden sind. Unter den runden Zellen werden polygonale, birnförmige, ausgezogene, spindelförmige und endlich flache Zellen angetroffen, welche mit spitzen protoplasmatischen Fortsätzen versehen sind, welche allmählich in sehr dünne, bisweilen leicht verzweigte Enden übergehen (vgl. Textfig. II, 5 und 6; IV, 6 und 9). Die Form dieser letzteren Zellen ist eine vollständig unregelmäßige und sehr mannigfaltige.

Zwischen den runden und diesen äußerst mannigfaltig gestalteten Zellen existieren alle möglichen Übergangsformen. Außer ihrer äußeren Gestalt unterscheiden sich diese letzteren Zellen von den runden durch eine hellere Färbung des Protoplasma, welches von grobwabiger Struktur ist. Die Dimensionen der Waben sind ungleich. Oft werden sehr große Waben angetroffen, welche ihrem Aussehen nach an Vakuolen erinnern. Der Kern ist von derselben Struktur, wie bei den hypertrophierten Zellen, nur etwas mehr in die Länge gestreckt. Die Konturen des Kerns sind nicht ganz regelmäßig. Bei der Fettfärbung mit Sudan und Nilblausulfat erhält man im allgemeinen dasselbe Bild wie bei den runden Zellen, nur sind die Fettröpfchen hier größer.

Weiterhin werden wir diese Elemente als Ausläuferzellen bezeichnen, über deren Natur, uns aber weiter unten äußern.

Ausläuferzellen werden in viertägigen Kulturen noch recht selten angetroffen. Es ist interessant, daß sie hauptsächlich unmittelbar der Oberfläche des Glases aufliegen. Hier finden sie offenbar eine gute Stützfläche für die Bildung ihrer langen sich verzweigenden Ausläufer. Solche Zellen mit langen lanzenförmigen Fortsätzen verlieren die den gewöhnlichen hypertrophierten Zellen eigene amöboide Beweglichkeit in einem hohen Grade und bleiben oft in einer bestimmten Lage eine unbestimmte Zeitlang fixiert (Textfig. II).

Außer dem Auftreten von Ausläuferzellen bemerkt man in viertägigen Kulturen eine Vergrößerung der Zahl der Makrophagen, welche aus denselben hypertrophierten Zellen entstehen, die eine vollkommen bestimmte Funktion übernehmen. Solche Makrophagen können zuweilen schon bei der Untersuchung lebender Kulturen bemerkt werden, da in ihrem Protoplasma Körner eines braunen Pigments oder Kohleparticlen sichtbar sind. Besonders schön jedoch treten diese Zellen auf fixierten und gefärbten Präparaten hervor. Einige derselben sind völlig mit Pigment in Form von gelblichbraunen Körnern und Schöllchen verschiedener Größe angefüllt. Andere häufiger anzutreffende Makrophagen enthalten in ihrem Protoplasma eingeschlossene Zellen, und zwar rote und weiße Blutkörperchen. Die ergriffenen Blutkörperchen liegen in besonderen Vakuolen,

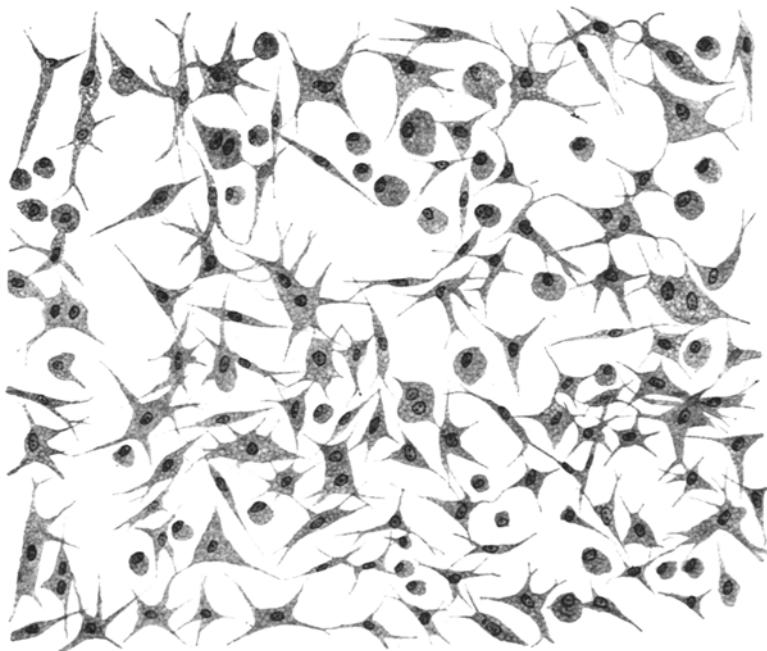


Fig. V. Achttägige Kultur von leukämischem Blute in Kaninchenplasma. Am Glase haftende Zellen. Flechtwerk von Ausläuferzellen, das den Eindruck eines weitmaschigen Gewebes macht. Vergr. 180.

wo sie einer allmählichen Auflösung durch intrazelluläre Verdauung unterliegen. Nicht selten findet man in einer Makrophage bis zu zehn und mehr solcher sich zersetzender Zellen, so daß deren ganzes Protoplasma mit diesen Einschlüssen erfüllt erscheint. Häufiger beobachtet man, daß einzelne Makrophagen mit Leukozyten, andere mit Erythrozyten, noch andere mit bei der Zerstörung der roten Blutkörperchen gebildetem Pigment erfüllt sind. Seltener werden in einer Makrophage gleichzeitig weiße und rote Blutkörperchen angetroffen (Textfig. III).

N a c h 5 T a g e n. In dem Maße, wie die Kultur wächst, wird einerseits der Verfall der roten und weißen Blutkörperchen und anderseits die Vergrößerung der Anzahl der hypertrophierten Zellen immer augenfälliger. In fünftägigen Kulturen sind diese Erscheinungen besonders deutlich ausgedrückt. Bei der Untersuchung lebender Kulturen erweist sich die Mehrzahl der Stückchen fast vollständig farblos. Von den roten Blutkörperchen haben sich bloß Schatten erhalten. Ein

bedeutender Teil der emigrierten weißen Blutkörperchen unterlag gleichfalls einem feinkörnigen Zerfall, mit Ausnahme jener Kulturen, wo relativ wenig Zellen kultiviert waren. Hier erhält sich das Leben der weißen Blutkörperchen länger und Teilungsfiguren werden ziemlich oft auch in fünftägigen Kulturen beobachtet. Unter diesen umgekommenen und umkommenden roten und weißen Blutkörperchen treten jetzt besonders scharf die hypertrophierten Zellen hervor, welche nicht nur ihre Lebensfähigkeit erhalten haben, sondern auch eine besondere Neigung zum Wachstum und zur Vergrößerung ihrer Anzahl offenbaren. Innerhalb der kultivierten Stückchen bilden sie oft ganze Massen. Um die Stückchen lagern diese Zellen bisweilen auch als sehr dichter Ring. Einige von ihnen erreichen eine kolossale Größe. Ausläuferzellen werden in fünftägigen Kulturen in bedeutend größerer Anzahl als in viertägigen angetroffen. Besonders viele derselben werden dort angetroffen, wo die Zellen unmittelbar der Glasoberfläche aufliegen.

Bei der Untersuchung fixierter und tingierter Schnitte von fünftägigen Kulturen finden wir in einigen Präparaten fast ausschließlich hypertrophierte Zellen und alle möglichen Übergangsformen dieser zu den Ausläuferzellen. Makrophagen werden gewöhnlich in großer Anzahl angetroffen, doch ist deren Verteilung keine gleichmäßige. In einigen Kulturen sind sie in großer Anzahl vorhanden, während man in anderen mit Mühe nur einige Exemplare findet.

Unter den hypertrophierten Zellen findet man in fünftägigen Kulturen oft besondere Elemente, welche nicht früher angetroffen wurden. Das sind Riesenzenellen von gigantischer Größe, größtenteils runder Form, mit zahlreichen, bis zu 10 und mehr Kernen. Die Kerne sind von demselben Aussehen, wie bei den hypertrophierten Zellen. Die Riesenzenellen besitzen sehr viel Protoplasma. Es läßt sich intensiv färben. In einigen Fällen erscheint es fast homogen, in anderen hat es einen wabigen Bau, welcher jedoch lange nicht so deutlich ist, wie bei den gewöhnlichen hypertrophierten Zellen. Die Riesenzenellen liegen fast ausschließlich um Fremdkörper, welche zufällig in die Kultur gelangten. Besonders viele werden um Baumwollefaserchen angetroffen. An gewissen Stellen sieht man, wie eine Riesenzenelle ein solches Fäserchen von allen Seiten umgibt. Gleichzeitig mit vielkernigen Zellen findet man auch solche, die zwei bis drei Kerne aufweisen. Diese letzteren Zellen unterscheiden sich von den hypertrophierten Zellen, welche gewöhnlich mit den Riesenzenellen abwechselnd liegen, fast durch nichts als die Anzahl der Kerne. Daher darf es wohl kaum bezweifelt werden, daß die Riesenzenellen aus den hypertrophierten entstehen. Gleichzeitig mit der Vergrößerung der Protoplasmamenge geht in der hypertrophierten Zelle eine Teilung des Kerns vor sich. Die Kernteilung ist wahrscheinlich eine direkte, da es uns nicht gelang, auch nur eine karyomitotische Figur in Riesenzenellen zu finden. Gleichfalls gelang es uns nicht, überzeugende Bilder der Entstehung von Riesenzenellen durch Zusammenfluß hypertrophieter Zellen aufzufinden (Textfig. IV).

Eine derartige Bildung von Riesenzenellen um Fremdkörper bei der Kultivierung von Geweben außerhalb des Organismus beobachteten auch Lambert und Hanes²³. Indem sie in das Nährmilieu Fremdkörper, wie z. B. Sporen von Lykopodium, Fäden und dergleichen, einführten, beobachteten sie bei der Kultivierung der Milz eines 14 tägigen Hühnerembryos im Hühnerplasma die Bildung von Riesenzenellen um diese Körper.

Ihrer Meinung nach entstehen die Riesenzenellen aus wandernden Elementen, die den Endothelzellen und den großen Zellen der Milzpulpa angehören. Dabei beteiligen sich an der Bildung von Riesenzenellen die Bindegewebsszellen nicht. Die Entstehung von Riesenzenellen erklären die Autoren durch einen Zusammenfluß von Wanderzellen, welche sich um einen Fremdkörper angesammelt haben. Karyokinetische Kernteilungsfiguren sind von ihnen in Riesenzenellen auch nicht beobachtet worden.

Nach 6 — 10 — 20 Tagen. Der größte Teil der weißen Blutkörperchen kommt am 6. bis 8. Tage des Lebens außerhalb des Organismus um. Jedoch können Teilungsfiguren einzelner weißer Blutkörperchen bisweilen bis zum 11. und 12. Tage angetroffen werden. Besonders lange

hält die Lebensfähigkeit der Eosinophilen an, welche in alten Kulturen zuweilen in großer Anzahl angetroffen werden.

Die hypertrophierten Zellen setzen in 6—12 tägigen Kulturen ihr Wachstum und ihre Entwicklung fort. Ihre Anzahl vergrößert sich allmählich immer mehr. Wenn sie sich in der Tiefe des Nährmilieus befinden, weit von dem Glase, so weicht ihre Form nicht bedeutend von der einer runden ab, und nur wenige von ihnen und dabei nicht in allen Kulturen verwandeln sich in flache, mit Ausläufern versehene Zellen. Wenn sich jedoch die hypertrophierten Zellen unweit von Glas befinden, so legen sie sich an dessen Oberfläche dicht an, erhalten eine verlängerte Gestalt und bilden zahlreiche lange protoplasmatische Vorsprünge, welche sich auf dem Glase verbreiten. Die hyper-

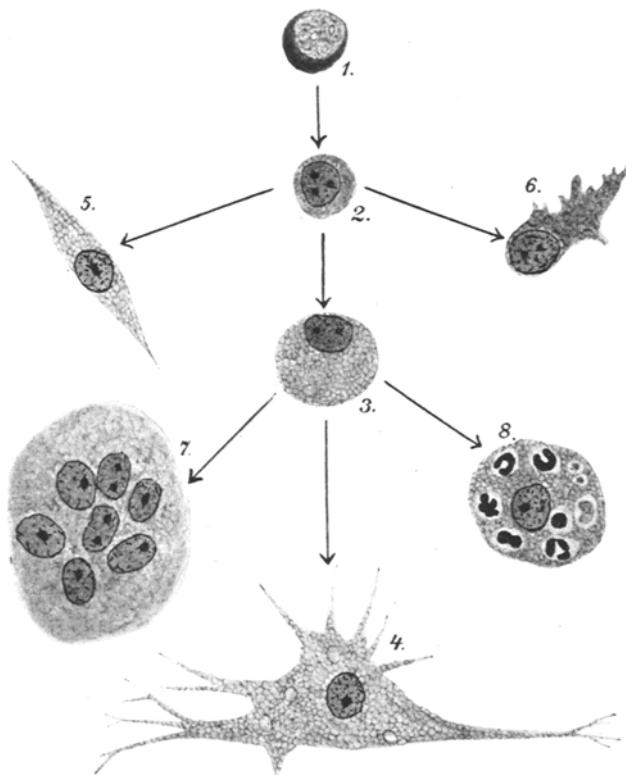


Fig. VI. Schema der progressiven Entwicklung eines Myeloblasten (Lymphozyten).

trophierten Zellen verwandeln sich dabei in wenig bewegliche Ausläuferzellen. Wenn man das koagulierte Nährplasma, in welchem sich die Kultur entwickelte, vom Glase abhebt, so bleiben diese Zellen am Glase fest haften. Dabei bildet sich auf der Oberfläche des Glases durchweg ein weitmaschiges Gewebe, da die langen sich verästelnden Ausläufer der benachbarten Zellen augenscheinlich miteinander in Verbindung stehen und einander in verschiedenen Richtungen durchflechten (Textfig. V).

Die Ausläuferzellen unserer Kulturen vermehren sich wahrscheinlich durch direkte Teilung. Wenigstens gelang es uns niemals, in ihnen eine Karyomitose zu beobachten. Außerdem kommen Bilder der direkten Teilung nicht selten vor, denn in einigen Zellen trifft man je zwei Kerne an,

wobei auch eine Teilung des Protoplasmas angedeutet ist; in anderen Zellen hat der Kern die Form eines Biskuits angenommen.

Die phagozytäre Tätigkeit der Makrophagen macht sich besonders scharf in alten 8—12 tägigen Kulturen bemerkbar. Hier werden die umkommenden roten und weißen Blutkörperchen von diesen Zellen bisweilen in sehr großer Anzahl ergriffen und der intrazellulären Verdauung unterworfen.

In alten 15—20 tägigen Kulturen erweisen sich auch die hypertrophierten Zellen zusammen mit den Ausläuferzellen als größtenteils umgekommen. Ihre Kerne sind nicht mehr tingierbar, während die Form der Zellen ziemlich gut erhalten bleibt. Aber sogar in solchen alten Kulturen erweisen sich noch einige dieser Elemente als lebend. Sie besitzen zweifellos einen hohen Grad der Lebensfähigkeit, wobei sie in dieser Hinsicht die weißen Blutkörperchen weit übertreffen.

Die Versuche, das Leben der Kulturen durch Verpfanzung in ein neues Plasma oder auf eine andere Art zu verlängern, scheiterten, wie schon früher erwähnt, ohne günstige Resultate gegeben zu haben. Daher kann über das weitere Schicksal aller oben beschriebenen Zellen nichts Bestimmtes geäußert werden.

Allgemeine Übersicht der Entwicklung der Kulturen. Das Schicksal der verschiedenen kultivierten Elemente.

Die Natur der wachsenden Zellen.

Nach der detaillierten Betrachtung der Erscheinungen, welche in den Kulturen von Tag zu Tag beobachtet werden, wird es zum Schluß nicht überflüssig sein, das Schicksal der verschiedenen kultivierten Elemente zu verfolgen.

Die roten Blutkörperchen unterliegen in den Kulturen einer fortschreitenden Zerstörung, teilweise extrazellulären Charakters durch Hämolyse, Schrumpfen, Zerfall, teilweise intrazellulären Charakters, indem sie von den Makrophagen aufgenommen werden.

Das Schicksal der kultivierten weißen Blutkörperchen ist verschieden.

Die polymorphe Leukozyten weisen als reife, einer weiteren Entwicklung unfähige Elemente keinerlei progressive Veränderungen auf. Sie bleiben im Laufe einiger Tage lebensfähig, bewegen sich lebhaft, wandern aus dem Blutkoagulum aus und verbreiten sich über das ganze Nährmilieu. Schon nach einigen Tagen kommen viele von ihnen um, indem sie sich in eine körnige Zerfallsmasse verwandeln. Andere werden von Makrophagen ergriffen und intrazellulär verdaut. Somit erweisen sich diese durch keine große Lebensfähigkeit ausgezeichneten Zellen in 8—10 tägigen Kulturen größtenteils schon umgekommen.

Die neutrophilen und eosinophilen Myelozyten erweisen sich als im Vergleich mit den polymorphe Leukozyten jüngerer Elemente einer längeren Erhaltung des Lebens außerhalb des Organismus fähig. Ebenso wie die Leukozyten wandern sie, wenn auch etwas langsamer, aus dem kultivierten Stückchen aus. Daher liegt die Hauptmasse der emigrierten Myelozyten unmittelbar um das Blutkoagulum. Sowohl die neutrophilen als auch die eosinophilen Myelozyten teilen sich lebhaft karyokinetisch und geben jungen Nachwuchs. Irgendwelche stabile Formen bilden sie nicht. Ihr endgültiges Los ist das der Leukozyten: sie

kommen um, indem sie feinkörnig zerfallen oder indem sie von Makrophagen aufgenommen werden. Das Umkommen der Myelozyten, die sich in den ersten Tagen des Lebens der Kultur so energisch vermehren, hängt höchstwahrscheinlich von ungünstigen äußeren Bedingungen ab, hauptsächlich von der Erschöpfung des Nährmilieus und der Anhäufung von verschiedenen schädlichen Stoffwechselprodukten in demselben. Daher muß vorausgesetzt werden, daß diese Zellen unter anderen günstigeren Kultivierungsbedingungen fähig wären, ihr Leben bedeutend längere Zeit zu erhalten. Ob sich unter unseren Versuchsbedingungen die Myelozyten in polymorphkernige Leukozyten verwandeln, können wir nicht mit Bestimmtheit behaupten. Wahrscheinlich findet eine solche Verwandlung statt, da in den ersten Lebenstagen der Kultur hauptsächlich Myelozyten mit rundem Kern vorkommen, während späterhin die Mehrzahl derselben einen eingebuchten oder unregelmäßig geformten Kern aufweist, die Übergangsform zum Kern des polymorphen Leukozyten.

Die Myeloblasten. Die Zellen, welche von uns zu der Gruppe der Myeloblasten gezählt werden, erfahren in unseren Kulturen offenbar kompliziertere Veränderungen, als die übrigen kultivierten Elemente. Ein Teil derselben verwandelt sich wahrscheinlich in Myelozyten, obgleich wir über keine strikten Beweise dafür verfügen. Ein anderer Teil der Myeloblasten kommt um, indem er entweder feinkörnig zerfällt oder von Makrophagen aufgenommen wird. Der Verlust an diesen Elementen wird durch deren karyomitotische Vermehrung ausgeglichen.

Am meisten Interesse beansprucht die Fähigkeit der Myeloblasten, eine ganze Reihe komplizierter Veränderungen zu erleiden und sich in verschiedene, durch Größe und Form unterschiedene Elemente zu verwandeln. Die Myeloblasten differenzieren sich unter unseren Versuchsbedingungen offenbar in drei Richtungen. Erstens verwandeln sie sich ohne bemerkbare Hypertrophie des Protoplasmas in wandernde Elemente von äußerst unregelmäßiger Form. Diese beweglichen Zellen besitzen bis zu einem gewissen Grade phagozytäre Fähigkeiten, indem sie bisweilen weiße und rote Blutkörperchen aufnehmen. Ihrem Aussehen und ihren Eigenschaften nach stehen diese Elemente den Maximow'schen Polyblasten nahe. Ob diese Zellen fähig sind, sich weiterhin zu verändern, und ob aus ihnen sich hypertrophierte Zellen entwickeln können, wagen wir nicht mit Sicherheit zu behaupten. Doch wenn man die Mannigfaltigkeit ihrer Formen und ihre nahe genetische Verwandtschaft mit den hypertrophierten Zellen in Betracht zieht, erscheint die Möglichkeit einer derartigen Veränderung vollkommen zulässig.

Zweitens ändern einige Myeloblasten schon in eintägigen Kulturen ihre ursprüngliche runde Form in eine gestreckte und verwandeln sich in spindelförmige Zellen. Diese Elemente unterscheiden sich von den Myeloblasten außer der Form durch den wabigen Aufbau des Protoplasmas und durch den etwas längsgestreckten Kern. Weitere progressive Formen bilden die spindelförmigen Zellen wahrscheinlich nicht.

Drittens verwandelt sich ein Myeloblast, indem er mehrfach seine Protoplasma-menge vergrößert, in eine hypertrophierte Zelle, die äußerst lebensfähig ist. Die hypertrophierte Zelle kann ihrerseits wiederum dreierlei Veränderungen erfahren. Erstens kann sie sich in eine vielkernige Riesenzelle, zweitens in eine Ausläuferzelle und drittens in eine Makrophage verwandeln. Diese dreierlei Verwandlungen der hypertrophierten Zelle hängen wahrscheinlich von äußeren Bedingungen ab. So entwickelt sich eine Riesenzelle dort, wo sich ein Fremdkörper, wie z. B. ein Baumwollefaserchen, befindet. Eine Ausläuferzelle entsteht aus einer hypertrophierten hauptsächlich unmittelbar an der Glasoberfläche, wo sie eine bequeme Stützfläche für die Fixierung ihrer langen, sich verästelnden Ausläufer findet. Endlich werden Makrophagen hauptsächlich dort angetroffen, wo es umkommende und umgekommene rote und weiße Blutkörperchen gibt. Bei allen diesen komplizierten Metamorphosen der Myeloblasten in die sich durch Größe und Form unterscheidenden Elemente bleibt der Charakter ihrer Kerne im allgemeinen unverändert.

Somit bestehen die unterscheidenden Eigenschaften der hypertrophierten Zellen in folgendem: Sie können während ihrer Entwicklung das Volum ihres Protoplasmaś beträchtlich vergrößern, besitzen eine Beweglichkeit, sind fähig, die verschiedensten Formen anzunehmen. Aus ihnen entwickeln sich die Makrophagen, Riesenzellen und Ausläuferzellen.

In den Untersuchungen von Prof. A. A. Maximow über den Anteil der Leukozyten an einer entzündlichen Bindegewebsneubildung werden besondere bewegliche Elemente ausführlich beschrieben und von ihm als Polyblasten bezeichnet. Die Polyblasten entstehen nach Maximow aus den Lymphozyten des Blutes, welche bei der Entzündung in die Gewebe emigrieren. Die Polyblasten besitzen im allgemeinen dieselben Eigenschaften wie die von uns beschriebenen hypertrophierten Zellen. Sie sind einer bedeutenden Vergrößerung ihrer Dimensionen fähig, sie besitzen eine amöboide Beweglichkeit, sie weisen sehr verschiedene Formen auf, sie stellen sehr tätige Phagozyten dar und verwandeln sich leicht in Riesenzellen. Endlich können die Polyblasten, indem sie ihre Beweglichkeit einbüßen, sich in fixierte stabile Zellen der verschiedenartigsten Formen mit zahlreichen langen, sich verästelnden Fortsätzen verwandeln. Auf diese Weise geht die Verwandlung der Polyblasten in die Klamatozyten des Narbengewebes vor sich.

Somit sehen wir, daß unsere hypertrophierten Zellen bezüglich ihres Entstehens aus uninukleären Elementen des Blutes, bezüglich ihres Aussehens und ihrer verschiedenartigsten Verwandlungsfähigkeit den Maximowschen Polyblasten überaus ähnlich sind. Einige Unterschiede weisen der Bau des Kerns und die Struktur des Protoplasmas auf. Der Kern der hypertrophierten Zellen ist scharf konturiert, relativ arm an Chromatin, enthält einige Kernkörperchen; der Kern der Polyblasten ist jedoch schwächer konturiert, reicher an Chromatin

und enthält keine deutlich wahrnehmbaren Kernkörperchen. Wie wir jedoch schon oben hingewiesen haben, können nach den Untersuchungen von Hadda und Rosenthal¹⁹ die Kerne der Zellen bei deren Kultivierung außerhalb des Organismus ihre Struktur in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährbodens verändern. Es ist möglich, daß auch in unseren Versuchen der erwähnte Unterschied im Bau des Kerns der hypertrophierten Zellen und der Polyblasten von denselben Bedingungen abhängt. Außerdem haben auch die Polyblasten selbst recht verschiedenartig aussehende Kerne.

Was das Protoplasma betrifft, so hat es in den hypertrophierten Zellen eine feinwabige Struktur, welche übrigens nicht immer deutlich ausgesprochen ist. In den Polyblasten jedoch prävaliert eine retikuläre Struktur des Protoplasmas. In den Figuren der Maximoischen Arbeit¹⁶ hat aber das Protoplasma einiger Polyblasten genau dasselbe Aussehen, wie das unserer hypertrophierten Zellen (Taf. IX, 13, i, o).

Somit sind die zu beobachtenden Unterschiede im Bau des Protoplasmas und des Kerns der hypertrophierten Zellen und der Polyblasten bloß von untergeordneter Bedeutung, besonders wenn man die außerordentliche Unbeständigkeit und die Variabilität des Aussehens beiderlei Zellen in Betracht zieht.

Mithin ist es am wahrscheinlichsten, daß unsere hypertrophierten Zellen Bildungen darstellen, welche den Maximoischen Polyblasten nahestehen, eventuell sogar mit ihnen identisch sind.

Aus den hypertrophierten Zellen entwickeln sich gewöhnlich Ausläuferzellen. Was ist nun die Natur dieser Zellen?

Ihrer Morphologie nach sind die Ausläuferzellen den Elementen des Bindegewebes ähnlich, welche unter den Bezeichnungen 1. Klasmatozyten von Ranvier^{20, 21, 22}, 2. fixierte Polyblasten von Maximo und 3. Fibroblasten bekannt sind. Nach Ranvier entstehen die Klasmatozyten aus jenen lymphoiden Zellen, welche aus den Blutgefäßen in die Gewebe emigrieren, wo sie darauf verschiedenen Veränderungen unterliegen. Nach seinen Beobachtungen werden diese anfänglich kleinen Zellen („Wanderzellen“) nach deren Emigration aus den Blutgefäßen auffallend größer, verlieren ihre amöboide Beweglichkeit und verwandeln sich in fixierte Elemente, die mit zahlreichen protoplasmatischen spitzen Fortsätzen versehen sind.

Die Ähnlichkeit der Ausläuferzellen mit den Klasmatozyten von Ranvier beruht auf folgendem. Beiderlei Zellen sind hämatogenen Ursprungs. Beiderlei Zellen entstehen aus weißen Blutkörperchen durch deren Hypertrophie. Beiderlei Zellen sind von äußerst mannigfaltiger Größe und Form und nehmen den Charakter spindelförmiger und mit Fortsätzen versehener Zellen an. Der Charakter der Kerne ist bei beiden im allgemeinen derselbe.

Eine charakteristische Eigentümlichkeit der Klasmatozyten ist die Anwesenheit einer besonderen Körnigkeit in deren Protoplasma, die mittels Kernfarben

tingiert wird. Jedoch gelingt es nicht, in unseren Zellen diese Körnigkeit zu finden. Die Abwesenheit der Körnigkeit hängt möglicherweise von besonderen Lebensbedingungen der außerhalb des Organismus kultivierten Zellen ab, wobei die Stoffwechselprozesse bedeutend von der Norm abweichen können. R a n v i e r beobachtete auch unter normalen Lebensbedingungen bisweilen Klasmatozyten ohne Körnigkeit im Protoplasma, welchen Umstand er in Abhängigkeit gerade von verschiedenen Schwankungen des Stoffwechsels in der Zelle bringt.

Ferner anastomosieren die Klasmatozyten nach der Ansicht von R a n v i e r niemals untereinander. Aus unseren Präparaten jedoch kann eher die gegenteilige Schlußfolgerung gezogen werden.

Obgleich die Ausläuferzellen, die aus den hypertrophierten Zellen entstehen, den Klasmatozyten recht nahestehen, können wir uns der erwähnten Verschiedenheiten wegen nicht entschließen, dieselben mit den Klasmatozyten zu identifizieren.

Die fixierten Polyblasten von M a x i m o w stehen ihrer Morphologie nach den Klasmatozyten von R a n v i e r sehr nahe und daher kann alles über die Ähnlichkeit und die Unterschiede der Ausläuferzellen und der Klasmatozyten Gesagte auch für die fixierten Polyblasten gelten. Die Ähnlichkeit beruht auf dem hämatogenen Ursprung beiderlei Zellen, auf deren Entstehung aus wandernden hypertrophierten Elementen und Verwandlung in stabile, mit zahlreichen Ausläufern versehene Gebilde.

Gegen die Identifizierung der Ausläuferzellen und der fixierten Polyblasten von M a x i m o w spricht der einförmigere Aufbau der Ausläuferzellen, die Struktur ihrer scharf konturierten, chromatinarmen und mit mehreren Kernkörperchen versehenen Kerne.

Außerdem vereinigen sich im Gegensatz zu den fixierten M a x i m o w schen Polyblasten die Ausläuferzellen gewöhnlich untereinander mittels Fortsätzen, wobei nicht selten ein großmaschiges Gewebe vorgetäuscht wird.

Beim Vergleich einer Ausläuferzelle mit einem Fibroblasten finden wir bei ihnen vielerlei Ähnlichkeiten. Die Form und die Struktur des chromatinarmen und mit Kernkörperchen versehenen Kernes ist bei beiden dieselbe. Sowohl die Fibroblasten wie auch die Ausläuferzellen sind mit langen, verzweigten Fortsätzen versehen, wodurch sie untereinander anastomosieren. Aber auch diese Voraussetzung, daß Ausläuferzellen Fibroblasten sind, kann man nicht ohne gewisse Einschränkungen für vollkommen akzeptabel halten. Die Zulassung der Ansicht, daß aus den Elementen des Blutes im Laufe einiger Tage sich Fibroblasten entwickeln könnten, widerspricht den in der Wissenschaft bestehenden Anschaulungen.

Zwar hat M a x i m o w den Verwandlungsprozeß der Polyblasten in Fibroblasten in alten Entzündungsherden verfolgt, doch geht diese Verwandlung seinen Beobachtungen nach sehr langsam vor sich, in unseren Kulturen jedoch vollzieht sie sich in einigen Tagen. Außerdem scheidet die Abwesenheit der Fibrillen in den

Ausläuferzellen diese quasi prinzipiell von den Fibroblasten, doch ist es möglich, daß in unseren Kulturen, wo das Leben der kultivierten Elemente im ganzen nur 10 bis 15 Tage währt, die neugebildeten Ausläuferzellen noch nicht die Zeit hatten, diese Gebilde hervorzu bringen.

Die Beobachtungen Carrrels und anderer Autoren, welche die Kultivierung von Geweben außerhalb des Organismus studierten, sowie unsere eigenen Versuche der Kultivierung vieler Gewebe und Organe *in vitro* zeigen, daß Ausläuferzellen, welche vollkommen denjenigen ähnlich sind, die wir in Kulturen von leukämischem Blute beobachteten, sich in allen gelungenen Kulturen der verschiedenartigsten Gewebe und Organe vorfinden. In der Mehrzahl der Kulturen bilden sie die Hauptmasse der neugebildeten Zellen. Die in der Literatur geäußerten Anschauungen der Autoren über die Natur der Ausläuferzellen, welche sich bei der Kultivierung verschiedener Organe und Gewebe entwickeln, stimmen miteinander nicht überein, so daß die Natur dieser Elemente fast völlig unaufgeklärt ist. Carrel und Burrows sowie auch Lambert und Hanes ziehen diese Elemente ihrer Kulturen zu denjenigen des Bindegewebes, doch geben sie keine genauere Definition von deren Natur. Nach der Meinung von Hadda und Rosenthal kann man zurzeit noch nicht mit Sicherheit entscheiden, ob sie bindegewebiger Natur sind oder nicht. Sie sprechen die Vermutung aus, daß bei der Kultivierung der verschiedenartigsten Elemente, sowohl epithelialer, als auch bindegewebiger u. a., sich die obenbeschriebenen Ausläuferzellen entwickeln; somit unterscheiden sich diese Elemente ihrer Meinung nach scharf von allen uns bekannten Zellengruppen des tierischen Organismus.

Schamow⁴ hält die Ausläuferzellen für zweifellose Fibroblasten, obgleich er keinerlei Beweise zugunsten einer derartigen Schlußfolgerung anführt. Die Mehrzahl der übrigen Autoren, welche sich mit der Kultivierung von Geweben *in vitro* beschäftigten, determiniert die Natur dieser Elemente überhaupt nicht oder zieht sie einfach zu dem Bindegewebe.

Unserer Meinung nach gehören die Ausläuferzellen, welche sich bei der Kultivierung verschiedenartiger Organe und Gewebe entwickeln, zu den fixierten Bindegewebslementen. Einen hohen Grad der Wahrscheinlichkeit besitzt die Möglichkeit, daß in Kulturen von solchen Organen, wie vom Herzen, der Lunge, der Niere, der Leber usw., die Ausläuferzellen zu den Fibroblasten gehören. Hier entwickeln sich diese Elemente unmittelbar aus dem Stroma des kultivierten Organs. Es liegt kein Grund vor, die Möglichkeit des Wachstums und der Vermehrung jener Fibroblasten zu leugnen, welche im Stroma eines jeden Organs vorhanden sind. Was jedoch die Kulturen von leukämischem Blute betrifft, so können hier, wie wir oben gesehen, die Ausläuferzellen nur hämatogenen Ursprungs sein, da jeder andere fehlt.

Somit erscheint es sehr wahrscheinlich, daß die Ausläuferzellen, welche sich in den Kulturen von Geweben außerhalb des Organismus entwickeln, ihrer Natur

nach teilweise zu den Fibroblasten, teilweise jedoch zu den Klasmatozyten von R a n v i e r und zu den fixierten Polyblasten von M a x i m o w gehören. Geben wir eine derartige Verschiedenheit in der Natur der Ausläuferzellen zu, so müßten wir erwarten, unter ihnen gewisse gesonderte Typen zu finden, welche sich von einander durch gewisse morphologische Merkmale unterscheiden. Solche Typen zu sondern, gelang bis jetzt weder uns noch anderen Autoren. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, daß bei weiterem Studium dieser Frage es gelingen wird, die erwähnte Lücke zu füllen.

Jedenfalls ist ersichtlich, daß die Ausläuferzellen ihrer Struktur nach keiner der bekannten Arten der Bindegewebelemente völlig entsprechen. Daher kann auch eine derartige Anschauung zulässig sein, daß die Ausläuferzellen, obgleich sie von verschiedenen Elementen des Bindegewebes und sogar von weißen Blutkörperchen abstammen, im allgemeinen einen gleichen Bau aufweisen, weil in den Kulturen eine Vereinfachung der Struktur der Zellen vor sich geht.

Zur Erläuterung der Beschreibung der verschiedenen Metamorphosen derjenigen Zellen, die wir zu der Gruppe der Myeloblasten ziehen, diene folgendes Schema (Textfig. VI).

Die ursprüngliche Zelle, die der verschiedenen progressiven Veränderungen fähig ist, ist der Myeloblast (Lymphozyt), im Schema mit 1 bezeichnet. Dieselbe Zelle hat auf Schnitten von Kulturen ein etwas anderes Aussehen (2). Wie aus dem Schema ersichtlich; entspringen von dieser Zelle zwei Seitenzweige: a) eine pfeilförmige Zelle, die weiterer Veränderungen wahrscheinlich unfähig ist (5), und b) eine Wanderzelle mit bläschenförmigem Kern (6).

Gewöhnlich verwandelt sich der Myeloblast in eine hypertrophierte Zelle (3). Diese kann ihrerseits in Abhängigkeit von äußeren Einflüssen sich in eine Riesen-zelle (7), eine Makrophage (8) und in eine Ausläuferzelle (4) verwandeln.

S c h l u ß f o l g e r u n g e n .

1. Die C a r r e l s c h e Methode der Kultivierung der Gewebe außerhalb des Organismus kann mit Erfolg auch bei den Elementen des Blutes angewandt werden, wenigstens in einigen pathologischen Zuständen, wie z. B. bei Leukämie.
2. Die Kultivierung der Elemente des Blutes außerhalb des Organismus kann eine neue wertvolle Methode zur Aufklärung vieler strittiger Fragen der Hämatologie darstellen.
3. In unseren Kulturen von leukämischem Blute konnte man mit Sicherheit die Vermehrungsprozesse der uninukleären weißen Blutkörperchen auf karyokinetischem Wege beobachten.
4. Die Fähigkeit der jungen weißen Blutkörperchen des leukämischen Blutes, sich energisch zu vermehren, kann als Bestätigung der Theorie der Bildung leukämischer Myelome in verschiedenen Organen durch Verschleppung weißer Blut-

körperchen aus dem zirkulierenden Blute, deren Niederlassen an einem bestimmten Orte und darauffolgender Vermehrung gelten.

5. Einige Elemente des Blutes (die Myeloblasten und Lymphozyten) sind bei gewissen Versuchsbedingungen fähig, sich weiter verschiedenartig zu verwandeln, wie z. B. in hypertrophierte Zellen, in Riesenzellen, in Ausläuferzellen und in Makrophagen.

6. Die Kultivierungsversuche von leukämischem Blute können als Bestätigung der Ansichten von Carrel dienen, daß die spezifischen Elemente fähig sind, außerhalb des Organismus zu wachsen und sich zu vermehren unter Beibehaltung ihrer Grundeigenschaften. Bei unseren Versuchen erfolgte zweifellos eine energische Vermehrung der jungen granulierten Elemente des Blutes, der neutrophilen und eosinophilen Myelozyten. Daher erscheint die Behauptung von Hadda und Rosenthal, daß bei der Kultivierung der verschiedensten Organe und Gewebe außerhalb des Organismus sich immer Zellen unbestimmten Charakters bilden, ungenügend begründet.

7. Endlich können unsere Versuche als Bestätigung der Anschauung dienen, daß die Elemente des Blutes an den Heilungs- und Regenerationsprozessen der Gewebe teilnehmen, wobei sich eine gewisse Menge der weißen Blutkörperchen in stabile Bildungen verwandelt¹⁾.

L i t e r a t u r.

1. Burrows, M., Culture des tissus d'embryon de poulet et spécialement culture des nerfs de poulet en dehors de l'organisme. Comptes rendus de la Société de Biologie. 1910. S. 291. —
2. Carrel, A., et Burrows, M., La culture des tissus adultes en dehors de l'organisme. Ibid. 1910. S. 293. —
3. Dieselben, Culture de substance rénale en dehors de l'organisme. Ibid. 1910. S. 298. —
4. Dieselben und noch eine ganze Reihe von Vorträgen und Schriften dieser und anderer Autoren. Ein ausführliches Verzeichnis der hierher gehörenden Arbeiten finden wir bei Carrel und Burrows, Die Technik der Gewebskultur in vitro. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Berlin-Wien 1912. Bd. 5, T. 2, S. 836; bei Schamow, Zur Frage nach der Kultivierung lebender Gewebe außerhalb des Organismus. Russ. Wr. 1912. S. 2043 (russ.); bei J. Goljanizkij, Methodik und Resultate des Studiums von Gewebskulturen. Wopr. nauch. med. 1913. S. 42 (russ.). —
5. Gräwitz, E., Klinische Pathologie des Blutes. Leipzig 1911. S. 588. —
6. Reprew, A., Die Grundlagen der allgemeinen und experimentellen Pathologie. Charkow 1908. S. 696 (russ.). —
7. Carrel, A., Culture in vitro d'un sarcome humain. C. R. de la Soc. de Biol. 1910, p. 367. —
8. Hadda, S., Die Kultur lebender Körperrzellen. Berl. klin. Wschr. 1912, S. 11. —
9. Pozzi, Presse médicale 1912, p. 53. —
10. Carrel, A., Neue Fortschritte in der Kultivierung der Gewebe außerhalb des Organismus. Berl. klin. Wschr. 1912, S. 533. —
11. Dieselbe, Neue Methoden zum Studium des Weiterlebens von Geweben in vitro. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden 1912, Bd. 6, S. 519. —
12. Schridde, H., und Naegeli, O., Die hämatologische Technik. Jena 1910. S. 60.
13. Dieselben, Ibid. S. 73 und Fig. 1, 2, 22. —
14. Naegeli, O., Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Leipzig 1908. S. 116. —
15. Pappenheim, A., Atlas der menschlichen Blutzellen. Jena 1905—1912. —
16. Maximo, A., Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Zieglers Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. 1912, V. Suppl.-Heft. —
17. Dieselbe, Weiteres über Entstehung, Struktur und Veränderungen des Narbengewebes. Ibid. 1903. Bd. 34, S. 153. —
18. Dieselbe, Über eine entzündliche Neubildung des Bindegewebes und das Schicksal der Leukozyten dabei. Isw. I. W. M. Akad.

¹⁾ Die mikroskopischen Belegpräparate sind der Mikroskopischen Zentralsammlung in Frankfurt a. M. überwiesen worden.

1903. Bd. 6, S. 26 (russ.). — 19. H a d d a u und R o s e n t h a l , Über den Einfluß der Hämolymphe auf die Kultur lebender Gewebe außerhalb des Organismus. Berl. klin. Wschr. 1912, S. 1653.
— 20. R a n v i e r , Des clasmocytes. C. R. de l'Academie des sciences. T. 110, p. 165. —
21. D e r s e l b e , Des clasmocytes, les cellules fixes du tissu conjonctif et les globules du pus. Ibid. t. 116, p. 295. — 22. D e r s e l b e , Des clasmocytes. Arch. d'anatomie microscopique. 1899—1900. T. 3, p. 123. — 23. L a m b e r t und H a n e s , Beobachtungen an Gewebskulturen in vitro. Virch. Arch. 1913, Bd. 211, S. 89.
-

XIV.

Über einen eigenartigen mesodermalen Tumor der Inguinalgegend.

(Plasmozytom mit hochgradiger Riesenzellenbildung im Anschluß an massenhafte
Ablagerung von hyaliner und amyloider Substanz.)

(Aus dem Pathologischen Institut zu Erlangen.)

Von

Dr. R o b e r t Z i m m e r m a n n ,
früherem Assistenten des Instituts, Assistenzarzt an der Univers.-Frauenklinik zu Jena.

(Hierzu 3 Textfiguren.)

Im Februar 1913 hatten wir im Pathologischen Institute Gelegenheit, einen von der chirurgischen Klinik übersandten Tumor zu untersuchen, dessen histologische Struktur soviel des Interessanten bot, daß seine Veröffentlichung gerechtfertigt erscheint.

Im klinischen Verlaufe des Falles erwies sich die Geschwulst als durchaus gutartig. Ihr Träger ist ein 46 Jahre alter Landwirt, der im übrigen völlig gesund ist. Seit 6—7 Jahren beobachtete er, daß sich in der linken Schenkelbeuge ohne erweisbare Ursache eine Geschwulst ausbildete, die langsam größer wurde und dabei die Haut vor sich ausbuchtete. Schließlich erreichte sie die Größe eines Kinderkopfes und verließ das Niveau der Körperoberfläche, wobei sie eine breite Hautduplicatur hinter sich bildete. Sie pendelte an dieser Hautbindegewebswurzel und hatte in ihrem Aussehen Ähnlichkeit mit einer großen Hernie. Schmerzen hatte sie dem Träger nie verursacht; da sie ihn infolge ihrer Größe belästigte, so kam er in die chirurgische Klinik, um sich von der Neubildung befreien zu lassen.

Bei der Operation Mitte Februar erwies sich die Geschwulst makroskopisch als völlig abgekapselt, war leicht ausschälbar und hatte keine regionären Drüsenmetastasen gemacht. Der „Stiel“ führte in die Gegend des äußeren Schenkelringes, ohne jedoch genau lokalisiert werden zu können. Die Operation war kurz und leicht, die Heilung erfolgte in kürzester Frist. Die klinische Diagnose lautete: Fibrosarkom.

Makroskopischer Befund.

Das Operationspräparat ist ein runder, derber, durch eine 1—2 mm dicke, feste Bindegewebekapsel gegen die Umgebung abgegrenzter Tumor. Er ist ungefähr so groß wie der Kopf eines Neugeborenen; die genauen Maße sind: 15 cm Längs- und 12—13 cm Querdurchmesser.