

(Aus dem Laboratorium der allgemeinen und experimentellen Pathologie der Universität Tomsk. Unter Leitung des Prof. A. D. Timofejewsky.)

Zur Frage über die Reaktion von Gewebskulturen auf Tuberkuloseinfektion.

Von

Prof. A. D. Timofejewsky und Dr. S. W. Benewolenskaja.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. August 1924.)

Die hauptsächlich von A. Carrel ausgearbeitete Methode der Gewebskulturen wird in der letzten Zeit mehr und mehr zur Lösung verschiedener Fragen in der Pathologie angewandt.

Durch Kultivieren verschiedener Gewebe in vitro, manchmal sogar einer bestimmten Gruppe von Zellen kann der Forscher die Reaktion irgendeines Gewebes oder einer Gruppe von Zellen auf die verschiedensten Stoffe ohne Einfluß anderer Teile des Organismus, wie z. B. der Blutbestandteile, in vereinfachten Verhältnissen untersuchen. Und in der Tat, im Laufe der 14 Jahre, welche seit den ersten Mitteilungen A. Carrels und M. Burrows^{2, 5)} verflossen sind, ist eine größere Anzahl von Arbeiten auf den verschiedensten Gebieten der Pathologie mit Anwendung dieser Methode erschienen.

So wurde in vitro das Wachstum der Zellen bösartiger Gewächse studiert [Carrel und Burrows⁴⁶⁾, Lambert und Hanes^{23, 24)} u. a.]; wurden Kulturen von leukämischem Blut angefertigt [Auroroff und Timofejewsky¹⁾, Timofejewsky und Benewolenskaja³⁵⁾]; man studierte in vitro das Heilen der Wunden [Ruth³⁵⁾]; die Entstehung des Infiltrates bei Entzündung [Grawitz¹⁴⁾, O. Busse³⁾, P. Busse⁴⁾, Mitsuda³⁰⁾]; die Einwirkung der chemischen Bestandteile des Nährbodens auf das Wachstum der Zellen [Carrel⁷⁾, Hadda¹⁵⁾, Lambert und Hanes²⁵⁾, Lambert²²⁾, Krontowsky¹⁹⁾, Krontowsky und Rumjanzeff²¹⁾]; die Wirkung einiger Arzneimittel [Goljanitzky¹³⁾, Krontowsky und Poleff²⁰⁾]; die Wirkung des hämolytischen Plasmas und spezifischer cytotoxischer Stoffe auf die in ersteren kultivierten Zellen [Hadda und Rosenthal¹⁶⁾, Foot¹²⁾ ¹¹⁾, Lambert und Hanes²⁵⁾, Ingebrigtsen¹⁷⁾]; man untersuchte die Wirkung verschiedener Temperaturen [Lambert und Hanes²⁵⁾]; der violetten Strahlen [Levaditi und Mutermilch²⁸⁾]; des elektrischen Lichtes [Doyen, Lytschkowsky, Browne und Fr. Smyrnowa¹⁰⁾]; man erzielte in vitro die

Bildung verschiedener Gegenkörper, als: Hämolysine [*Carrel*⁸], Agglutinine [*Lüdke*²⁹], *Przygode*³²); man unterwarf die in der Kultur befindlichen Zellen der Einwirkung einiger bakterieller Toxine, z. B. des Diphtherietoxins [*Levaditi* und *Mutermilch*²⁷]). In der letzten Zeit haben *Carrel* und *Ebeling* Methoden ausgearbeitet, die die Messung der Wachstumsstärke ermöglichen. Daneben wurde in großen Untersuchungsreihen die Nährbodenzusammensetzung auf ihren Gehalt an Wachstoffsstoffen (Hormonen, Hormozonen) einerseits und Nährstoffen (Trephone) andererseits geprüft; *Carrel* kam hier zu dem Ergebnis, daß echtes Wachstum allein bei Anwesenheit von Embryonal- bzw. Leukocytenextrakt zustande kommen könne, daß sich hingegen aus Serum bzw. Plasma die Zellen nicht ernähren könnten.

Wir sehen also, daß die Methode der Gewebeskulturen auf verschiedenen Gebieten der Pathologie ihre Anwendung gefunden hat.

Es ist aber ein Gebiet der Pathologie, nämlich die Infektionslehre, bei welcher man diese Methode beinahe gar nicht in Anspruch nahm.

Es liegen nur einzelne Beobachtungen über die Wirkung dieser oder jener Infektion auf Gewebeskulturen vor, wie z. B. die Arbeit *Levaditis*²⁶) an der Kultur des Rückenmarks eines Affen, welcher mit dem Virus der Polyomyelitis infiziert war, und der Arbeit *Mitsudas*³⁰), der bei der Bearbeitung einiger strittiger Fragen der Entzündungslehre im Plasma gezüchtete Herzklappen mit Kulturen des *Streptococc. virid.* infizierte.

Ein besonderes Interesse in der Pathologie beansprucht die Reaktion der Gewebeskulturen auf einige spezifische Infektionen, wie z. B. Tuberkulose.

Es gelang uns nur eine diese Frage behandelnde Arbeit in der uns zugänglichen Literatur zu finden: *Smith, Willis* und *Lewis*³⁴) kultivierten in vitro Gewebe vom Hühnerembryo unter Zusatz einer Aufschwemmung von Tuberkelbacillen (Typus *avium*). Das Wachstum der Gewebe ging gut vor sich, war aber von kürzerer Dauer als bei gleichen Objekten ohne Bakterien. Es wurde ein passives Eindringen der Bakterien in die verschiedensten Zellen beobachtet, ohne daß diese irgendwelche Beweglichkeit, den Bakterien entgegen, zeigten. Im Protoplasma der Zellen wurden die Bakterien durchsichtiger und lösten sich alsdann vollständig auf.

Also haben die Autoren durchaus keine spezifische Reaktion der Gewebeskulturen auf die Tuberkuloseinfektion beobachtet.

Wie wir weiter sehen werden, haben unsere Untersuchungen uns zu ganz anderen Ergebnissen geführt.

Methodik.

Wir benutzten die gewöhnliche Technik, welche schon von *Carrel* ausgearbeitet war, nur mit dem Unterschied, daß beim Anfertigen von Kulturen in dieselben Tuberkelbacillen eingetragen wurden.

Wir haben 7 Versuche angestellt, dabei wurden für jeden Versuch eine große Anzahl von Kulturen, von 50—100 angefertigt.

Die Technik unserer Versuche war folgende: Als Versuchstiere wurden ausschließlich Kaninchen verwendet.

Auf die übliche Weise wurde das Blut in paraffinierten und gekühlten Reagenzröhren gesammelt und auf der elektrischen Zentrifuge ausgeschleudert. Als Pflanzmaterial wurden Stückchen verschiedener Organe desselben Tieres genommen, z. B. Lunge, Milz, Leber, Eierstock, Hoden, Herz usw. Übrigens überzeugten wir uns sehr bald, daß beim Pflanzen von Stückchen der Milz und der Lunge die besten Ergebnisse erzielt wurden. Deshalb fertigten wir die überwiegende Mehrzahl der Kulturen aus diesen Organen an und die weiter folgende Beschreibung betrifft nur die mit diesen erhaltenen Ergebnisse. In den letzten Versuchen wurde ein Teil der Kulturen mit Leukocyten des normalen Blutes angefertigt; da aber dieser Teil der Arbeit noch nicht beendet ist, so wird er auch von uns nicht beschrieben. Die Organe wurden in Ringerscher Flüssigkeit mit der Schere in kleine Stückchen geteilt. Die meisten Kulturen wurden auf Petri-Schalen im Durchmesser von 5—8 cm, teilweise auf Uhrgläsern, teilweise auf Gläsern mit Vertiefungen gepflanzt. Das Hinzutun der Tuberkelbacillen geschah vor dem Begießen des gepflanzten Stückes mit dem Blutplasma und wechselte etwas bei verschiedenen Versuchen. Wir benutzten auf Glycerinkartoffeln gezogene Kulturen von Tuberkelbacillen (Typus humanus), welche im Tomscher Bakteriologischen Institut zum Anfertigen von Tuberkulinen dienten. Es wurden mehrere Platinösen der Tuberkelbacillen in einem kleinen Mörser mit 2—4 cm physiologischer Kochsalzlösung bis zur möglichst vollständigen Emulgierung verrieben. Zu den ersten Versuchen töteten wir die Bacillen durch Erwärmen auf 60 bis 80° im Laufe 1 Stunde. Bei den weiteren Versuchen wurden die Bacillen durch kürzeres Erwärmen nur abgeschwächt, in den 5 letzten Versuchen aber wurden Emulsionen aus unabgeschwächten Bakterien verwendet, und gerade hier erhielten wir die besten Ergebnisse, welche auf eine Reaktion der Zellen auf die Infektion hindeuteten.

Das Hinzutun der Tuberkelbacillenemulsion kann auf verschiedene Art und Weise vorgenommen werden, nämlich: In die Petrischen Schalen wird tropfenweise Ringersche Flüssigkeit gegeben, alsdann werden Stückchen der Organe eingetragen, mit einer Pipette werden kleine Tröpfchen der Emulsion hinzugegeben, und zuletzt wird alles mit Plasma übergossen. Andererseits können die Organstückchen, ehe sie in die Ringersche Flüssigkeit gebracht werden, erst in eine konzentrierte Emulsion von Tuberkelbacillen getaucht, dann in die Ringersche Flüssigkeit übertragen und zuletzt im Plasma eingeschlossen werden. Die dritte Weise ist eine Verbindung der beiden ersten.

Die besten Ergebnisse erhält man deutlich bei Ausführung der zweiten Methode, da hier der Nährboden nicht allzu stark mit Tuberkelbacillen verunreinigt wird und die Zellen gut gedeihen. Bei übermäßigem Einführen von Tuberkelbacillen, was manchmal bei der ersten und dritten Methode der Fall ist, beobachtet man ein schnelles Ende des Wachstums und ein Zugrundegehen der Zellelemente. Hierbei fingen in einigen Fällen die Kolonien der Tuberkelbacillen an zu wuchern, andererseits, wenn in die Kulturen zu wenig von Tuberkelbacillen gelangt, so kann auch die Reaktion der Gewebeskultur vollständig ausbleiben.

Die so angefertigten Kulturen wurden mit einem Paraffinüberzuge versehen und im Thermostaten bei einer Temperatur von 37—38° untergebracht. Täglich wurden die Kulturen bei schwacher Vergrößerung besichtigt, und ein Teil derselben wurde fixiert und der weiteren histologischen Bearbeitung unterworfen. Wir fixierten fast ausschließlich mit Zenker-Formol, teilweise aber mit der *Maximoff-*

schen Fixierflüssigkeit. Die fixierende Flüssigkeit wurde auf die Schalen mit den Kulturen gegossen, und erst nach Fixation und Waschen der Kulturen wurde das Präparat vorsichtig von der Glasoberfläche entfernt und der darauffolgenden Bearbeitung unterworfen, nämlich: Entwässern, Einschließen in Paraffin, in Schnitte von 3–5 μ Dicke, Zerteilen und Färben. Die Schnitte wurden gewöhnlich mit Carbofuchsin gefärbt, die Farbe leicht mit Schwefelsäure und Alkohol abgeschwächt und dann noch mit Hämatoxylin nach *Weigert*, seltener mit Thionin nachgefärbt.

Die Fixation der Präparate wurde pünktlich Tag für Tag vollzogen, wofür nur die besten Kulturen verwendet wurden. Ein Teil der Kulturen wurde nach 4 bis 6 Tagen in frisches Blutplasma, manchmal unter Beigabe von Tuberkelbacillen, manchmal ohne dieselben, umpflanzte. Solche Umpflanzungen wurden vielfach 3–4 mal wiederholt, wobei die Zellkulturen zusammen mit den Tuberkelbacillen im Laufe eines Monates lebend blieben. Ein längeres Aufbewahren der Zellen *in vitro* haben wir bei diesen Versuchen nicht vorgenommen. Die Technik der Umpflanzung war folgende: Das Plasmacoagulum, zusammen mit den darin eingeschlossenen Kulturen, wurde von der Glasoberfläche mit Hilfe von Pinzette und Spatel gelöst und in Ringersche Lösung enthaltende geräumige Petrische Schalen zum Waschen gebracht, dort wurde von den Kulturen das überflüssige Plasma mit einer Schere abgetrennt, die Kultur selbst wurde in 2–3 Teile zerschnitten und auf neuen Nährboden gesetzt. Bei einigen Kulturen wurde das frische Plasma unmittelbar zur alten Kultur hinzugefügt. Wir haben ferner mehrere Vergleichskulturen ohne Infektion mit Tuberkelbacillen angefertigt.

Erscheinungen, die in den Kulturen beobachtet werden.

Die Eigenartigkeit der Reaktion von Gewebeskulturen auf Tuberkuloseinfektion zeigt sich schon 2–3 Tage nach der Anpflanzung. In den Vergleichskulturen fängt während dieser Zeit das Bindegewebe an sich üppig zu entwickeln; letzteres besteht aus sprossenden Zellen vom Typus der Fibroblasten, während in den mit Tuberkelbacillen infizierten Kulturen eine augenscheinliche Hemmung in der Entwicklung der Fibroblasten beobachtet wird. Dafür entstehen sehr viele große Wanderzellen, welche die Tuberkelbacillen energisch phagocytieren, indem sie sich um die Häufchen von Bakterien, manchmal in erheblicher Menge, sammeln und sich hier vermehren.

Im Zentrum solcher Ansammlungen, dort, wo die Tuberkelbacillen ihren Sitz haben, geht der Zerfall der Zellen in eine feinkörnige Masse vor sich. Der Zerfall kann sich alsdann auf die ganze Ansammlung der Zellen verbreiten. Dabei wird die Bildung vielkerniger Riesenzellen beobachtet, die in ihrem Protoplasma eine Unmenge Kochscher Bacillen enthalten. Solche Zellenansammlungen um die Kochschen Bacillen erinnern in ihrem Bau und mit ihrem weiteren Schicksal an

einen Tuberkel, welcher sich im Organismus als Antwort auf die Tuberkuloseinfektion bildet. Umgekehrt zeigen die Veränderungen, welche im ausgepflanzten Stückchen selbst vor sich gehen, nichts Spezifisches. Nur im Falle der Einführung beträchtlicher Mengen von Tuberkelbacillen in die Kultur verfällt das ganze Stückchen im ganzen im Laufe von 2—3 Tagen der Nekrose.

Das Studium der Veränderungen, welche in dem ausgepflanzten Stückchen vor sich gehen, wurde von uns in der Absicht ausgeführt, um das Entstehen derjenigen Zellen zu erforschen, welche am Bau der tuberkelähnlichen Bildungen beteiligt sind.

Von diesem Standpunkte aus muß man sich mit denjenigen Erscheinungen, welche in den Kulturen der Lunge und der Milz beobachtet werden, im einzelnen vertraut machen.

Die Kultur der Lunge.

Die Veränderungen, welche in ausgepflanzten Stückchen verschiedener Organe vor sich gehen, sind schon von verschiedenen Untersuchern beschrieben worden. So gehen nach *Mitsuda*³¹⁾ in den Kulturen der Lunge folgende Veränderungen vor sich: Der zentrale Teil des gepflanzten Stückchens wird nekrotisch; am Rande geht die Bildung hohler Zellenzyinder vor sich; auf der Oberfläche des Explantates wachsen die Zellen, von Bindegewebe begleitet, in das Plasma; stellenweise trifft man isoliert, dann gruppenweise Deckepithel an. Unsere Beobachtungen weichen von den Angaben *Mitsuda*³¹⁾, welche sehr kurz gefaßt sind, etwas ab. Deshalb hielten wir es für nötig, dieselben anzuführen.

Die Veränderungen des gepflanzten Stückchens der Lunge drücken sich in folgendem aus: Die allgemeine Struktur der Lunge ändert sich allmählich: die Alveolarsepten werden dicker, da die Zellen sich vermehren, die Alveolen fallen zusammen, und am 4. bis 5. Tage der Kultur bleibt von ihnen fast keine Spur übrig.

Als besonders aktiver Bestandteil in den Kulturen der Lunge kann das Lungenepithel bezeichnet werden. Schon im Laufe von einigen Stunden nach der Auspflanzung fangen die Alveolarzellen an zu schwellen und stoßen sich in den Hohlraum der Alveole ab, wo sie phagocytaire Leistungen entwickeln. Sie fressen einzelne Erythrocyten und Leucocyten. Hierbei bringen sie kurze, dicke Pseudopodien hervor, mit Hilfe welcher sie sich von Platz zu Platz begeben.

Allmählich vergrößert sich die Menge dieser Gebilde dank dem unaufhörlichen Abstoßen und der Vermehrung. Ihre amöboide Beweglichkeit und phagocytaire Funktion besteht bei 2—3 Tage alten Kulturen noch deutlicher. Ein Teil von ihnen liegt in den Alveolen, ein anderer lagert in den Wänden der Alveolen, und einige liegen schon bei

eintägigen Kulturen abgesondert oder in kleinen Häufchen außerhalb des Stückchens im umgebenden Plasma.

Der Bau dieser Zellen ist einigen Veränderungen unterworfen. In den ersten Stunden entspricht er dem Bau des abgestoßenen Lungenepithels; große, runde oder ovale Zellen mit hellem Protoplasma, kleinem, rund oder ovalem Kern, ein oder mehrere Nucleolen enthaltend. Schon nach 24 Stunden wird im Protoplasma einiger Zellen eine beträchtliche Menge von Fetttröpfchen bemerkbar, die von verschiedener Größe sind und dem Protoplasma eine pseudoalveolare Struktur verleihen, wenn man sie mit Ätherspiritus auszieht. Neben den fettreichen sind auch Zellen sichtbar, die fast gar kein Fett enthalten. Bei diesen erscheint das Protoplasma dunkler, und in demselben tritt besonders deutlich das System der Saftspalten und Kanäle in Gestalt heller, entweder gerader oder gebogener, miteinander anastomosierender, an der Oberfläche der Zellen sich öffnender Röhren, hervor.

Bei sehr wenigen Zellen nimmt der Kern unregelmäßige Form an, weil sich auf demselben tiefe Falten bilden. Dank solch einem Vorgange kann sich der Kern in mehrere einzelne Teile zerteilen, welche voneinander vollständig getrennt oder mit Brückchen verbunden sein können.

Da nun diese Wanderzellen, Nachkommen des Alveolarepithels, sich energisch durch Karyokinese vermehren, so sind sie am 3. bis 5. Lebenstage der Kultur um das ausgepflanzte Stückchen herum in beträchtlicher Menge vertreten.

Das Flimmerepithel der Bronchien verliert seine Flimmerhaare und fährt in den Kulturen fort zu leben und sich zu vermehren, indem es die Höhlen innerhalb des Stückchens, manchmal sogar einen Teil der Oberfläche des letzteren mit einer Schicht zylindrischer Zellen deckt.

Wo das Epithel der Pleura auf der Oberfläche des ausgepflanzten Stückchens erhalten ist, kann es sich auch vermehren. Hierbei lagern sich die Zellen in mehreren Schichten aneinander, behalten dabei im allgemeinen ihre flache Form.

Die Bronchial- und Pleuraepithelien nehmen nach unseren Beobachtungen nicht an der Phagocytose der Kochschen Bacillen teil.

Das Endothel der Gefäße im ausgepflanzten Stückchen Lunge erhält sich gut, obgleich es augenscheinlich keinen Wucherungsvorgängen unterworfen ist. Beim Besehen der 4—5 Tage alten Präparate konnten wir die innere Gefäßwand, welche mit einer Schicht flacher Zellen mit verlängerten Kernen bedeckt ist, gut unterscheiden. Nur bei sehr wenigen Präparaten beobachteten wir eine Schwellung dieser Zellen und Abstoßen in die Lichtung des Gefäßes. Solche abgesonderten Zellen können wahrscheinlich dieselbe Funktion wie die Phagocyten des Alveolarepithels ausüben.

Wie in jeder Kultur, beobachtet man auch hier eine Vermehrung der Fibroblasten innerhalb des Stückchens selbst, infolgedessen werden die Alveolarsepten beträchtlich dicker, und die Höhlung verschwindet gänzlich.

Die Zahl der kernlosen Leukocyten ist in dem Pflanzmaterial sehr klein. Diese Zellen sind der Hypertrophie unterworfen, und indem sie an der Phagocytose der Kochschen Bacillen teilnehmen, nehmen sie das Aussehen von Polyblasten an. In ihrem Aussehen erinnern sie an die Nachkommen des Lungenepithels, haben einen dunkleren, mit Chromatin reichlich versehenen Kern, sind etwas kleiner und von überaus verschiedener Form.

Was die gekörnten Leukocyten anbetrifft, so wandern sie in das einschließende Plasma aus, wo sie bei 3—5 Tage alten Kulturen der Degeneration unterworfen sind.

Die Muskelzellen aus den Wänden der Bronchien zeigen keine Wucherungserscheinungen.

Außer den Wachstumserscheinungen werden schon in den ersten Tagen gleichfalls Zerfallserscheinungen an dem ausgepflanzten Stückchen beobachtet, am 4. bis 5. Tage gelangen sie zu erheblicher Entwicklung, indem sie besonders scharf im Zentrum ausgeprägt sind. Am 8. Tage verfällt gewöhnlich das ganze Stückchen der Nekrose, mit Ausnahme der äußersten Randteile.

Die Erscheinungen, welche in der Umgebung des überpflanzten Stückchens Lunge beobachtet werden.

Bei Kulturen von Lungenstückchen, die nicht mit Kochschen Bacillen infiziert worden sind, besteht das sich entwickelnde Gewebe fast ausschließlich aus Fibroblasten, zwischen welchen in größeren Häufchen große Wanderzellen mit phagocytärer Funktion und gekörnte Leukocyten verteilt sind.

Ein anderes Bild bekommt man bei Infektion der Kulturen durch Kochsche Bacillen. Die Infektion übt einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Fibroblasten im Plasma aus, deshalb bleibt die Bildung eines dichten Gewebes in der Art eines aus auswachsenden Zellen bestehenden Filzes um das Stückchen herum aus. Oft sogar fehlen die auswachsenden Zellen vollständig. An der Phagocytose der Tuberkelbacillen nehmen die Fibroblasten ganz geringen Anteil. Beim Betrachten sehr vieler Präparate stießen wir nur auf einige Fibroblasten, in deren Protoplasma sich Kochsche Bacillen vorfanden. Anstatt der Fibroblasten sind hier schon von den ersten Tagen an als vorwiegender Bestandteil große, gewöhnlich kugelförmige Wanderzellen vorhanden, welche das ausgepflanzte Stückchen oft in dichter Schicht umgeben.

An den Stellen, wo sich diese Zellen in beträchtlicher Menge ansammeln, beobachtet man eine Verflüssigung des Plasmas. Es bildet sich nämlich eine Höhlung, in welcher große, kugelförmige Zellen in der Flüssigkeit schwimmen. Dieses alles kann man schon am lebenden Präparate beobachten. Viele Zellen bewegen sich auf der Fläche des Glases, vermehren sich und bilden Ansammlungen. Schon nach 3 bis 4 Tagen kann man beim Betrachten in vivo die Bildung von Riesenzellen, welche sich auf der Glasfläche zwischen den Wanderzellen lagern, beobachten.

Das Studium der fixierten und gefärbten Präparate zeigt für uns überaus bemerkenswerte Eigentümlichkeiten im Bau der ausgewachsenen Kultur bei Infektion mit Tuberkelbacillen.

Die großen Wanderzellen, aus welchen die Hauptmasse der Kultur besteht, entstehen nach unseren Beobachtungen hauptsächlich aus Lungenepithel, teilweise aus mononucleären Leukocyten und möglicherweise aus dem Endothel der Gefäße.

Eindeutige Bilder über das Entstehen der Wanderzellen aus Fibroblasten durch die Abrundung, wie es von einigen Autoren beschrieben worden ist [*P. Busse*⁴), *O. Busse*⁴), *Grawitz*¹⁴), *Mitsuda*³⁰),] haben wir nicht beobachtet, obgleich wir solch eine Umwandlung nicht vollständig bestreiten können, da wir manchmal scheinbar Übergangsformen antrafen.

In vielen Wanderzellen kann man bei entsprechender Färbung in verschiedenen Mengen, von 1 Exemplar bis zu mehreren Dutzend Kochsche Bacillen nachweisen. Es finden sich Zellen, deren Leib buchstäblich mit Tuberkelbacillen vollgestopft ist.

Die Phagocytose kann schon am ersten Tage beobachtet werden, aber erst später, nach 3—4 Tagen, gelangt sie zu größerem Umfang. Ein besonders schönes Bild der Phagocytose kann man an den Präparaten beobachten, welche aus denjenigen Zellen angefertigt wurden, die an der Glasoberfläche lagen. Dieses ist dadurch zu erklären, daß die in der Flüssigkeit suspendierten Tuberkelbacillen bis zur Gerinnung des Plasmas sich teilweise zu Boden setzen und eben hier in größeren Mengen vorhanden sind.

Wenn die Emulsion gleichmäßig, ohne beträchtliche Häufchen von Bakterien war, so kann die Phagocytose vollkommen sein: fast eine jede Zelle enthält Häufchen von Bakterien, außerhalb der Zellen aber lassen sich keine auffinden.

Das Verschlingen der Bakterien besteht zweifelsohne hier in einem aktiven Vorgang: die Stoffe, welche von den Bakterien gebildet und ausgeschieden werden, wirken den Zellen gegenüber positiv chemotaktisch, und diese letzteren stürzen in beträchtlichen Mengen zu den Sammelplätzen der Bakterien.

Also geben unsere Beobachtungen ein anderes Bild als die von *Smith, Willis, Lewis*³⁴⁾, welche das Eindringen der Vogeltuberkelbacillen in die Zellen der Kulturen des Hühnerembryos als einen rein passiven Vorgang beschrieben.

Ein besonders bemerkenswertes Bild wird dann beobachtet, wenn in die Kulturen beträchtlichere Häufchen von Bakterien gelangen. Zu dieser Stelle stürzen die Wanderzellen, und hier sammeln sie sich in beträchtlicher Menge, indem sie sich fest aneinander legen und die Tuberkelbacillen von allen Seiten umgeben. Hier findet manchmal auch eine starke Vermehrung der Zellen statt. In manchen Fällen ist man gezwungen, die Bildung der Zellansammlungen durch den erwähnten Vorgang, nämlich die Vermehrung der wenigen in Nachbarschaft mit den Bakterien gelangten Zellen, zu erklären. Durch gegenseitigen Druck nehmen die Zellen manchmal vieleckige Form an und erinnern in ihrem Bau vollständig an die Epithelzellen (Abb. 1, *b*). Ein Teil dieser Zellen enthält mehr oder weniger Kochscher Bacillen in ihrem Leib (Abb. 1, *c*). Bei Lungenkulturen muß die Hauptmasse der Zellen in den tuberkelartigen Bildungen den epithelioiden Zellen des Tuberkels im Organismus gleichgestellt werden. Neben solchen epithelioiden Zellen bilden sich hier auch manchmal vielkernige Riesenzellen mit 3 bis 5 und mehr runden oder ovalen Kernen, die im Leib ohne sichtbare Ordnung zerstreut sind (Abb. 2, *d*.) Die Riesenzellen enthalten in ihrem Protoplasma in der Regel große Mengen verschlungener Kochscher Bacillen. In den Lungenkulturen bilden sich überhaupt verhältnismäßig wenig Riesenzellen, beträchtlich weniger als in Milzkulturen. Deshalb wird die Frage über ihr Entstehen aus mononucleären Zellen an geeigneter Stelle, bei Beschreiben der Milzkulturen, besprochen werden. Das weitere Schicksal der Zellansammlungen um die Tuberkelbacillen herum entspricht vollends dem Schicksal des Tuberkels im Organismus. Die zentralen Zellen, welche unmittelbar den Tuberkelbacillen anliegen, verfallen sehr bald der Nekrose (Abb. 2, *a*). Manchmal senden sie unmittelbar zum Haufen der Tuberkelbacillen miteinander verbundene Auswüchse, welche zu allererst feinkörnig zerfallen (Abb. 2, *b*). Später zerfallen alle zentralen Zellen in eine feinkörnige, kernlose Masse.

Gewöhnlich bei 6—8 Tage alten Kulturen wird eine völlige Nekrose der tuberkelartigen Bildungen beobachtet; hierbei können sich die Umrisse der toten Zellen ziemlich lange erhalten. Eine Vermeidung der Nekrose bei tuberkelartigen Bildungen durch Umpflanzen der Kulturen in frisches Blutplasma ist uns nicht gelungen. Die kurze Lebensdauer der Zellen ist hier von der Wirkung der Tuberkelbacillen, nicht aber von Erschöpfung des Nährbodens abhängig. Übrigens können einzelne Wanderzellen und kleine Gruppen derselben, ungeachtet dessen, daß

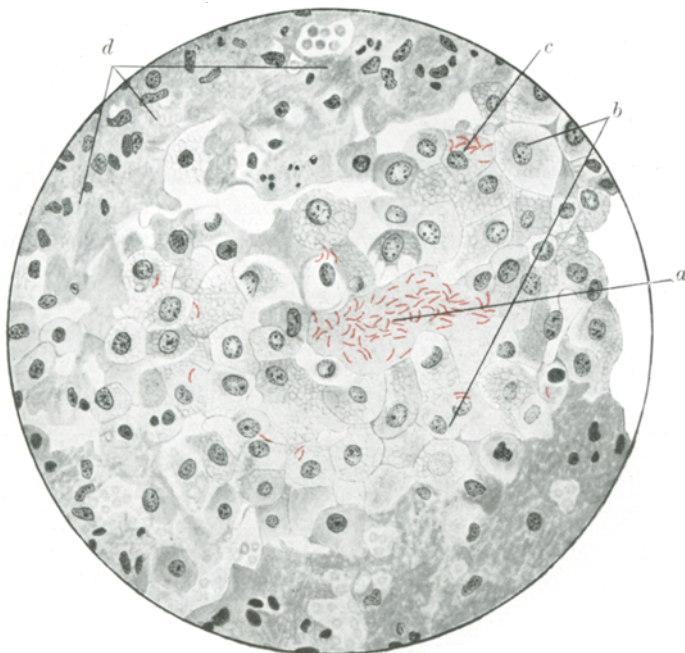


Abb. 1. Dreitägige Lungenkultur mit unabgeschwächten Tuberkelbacillen. (Diese Abbildung ist, wie auch die übrigen, mit Ausnahme der vierten, von bestimmten Stellen des Präparates mit Hilfe des Zeiss'schen Zeichenapparates bei Vergrößerung: Ocular I, Immersionssystem Reichert $\frac{1}{12}$, nach Färben mit Weigert'schem Hämatoxylin, Entfärben durch verdünnte Schwefelsäure und Alkohol und Nachfärben mit Carbofuchsin, angefertigt worden.) Die tuberkelartige Bildung aus epithelioiden Zellen um ein Häufchen von Tuberkelbacillen. *a* = Ansammlung von Tuberkelbacillen im Zentrum der tuberkelartigen Bildung. *b* = Epitheloide Zellen, in mehrere Reihen gelagert. *c* = Epitheloide Zellen mit phagocytierten Tuberkelbacillen. *d* = Der Rand des gepflanzten Lungenstückchens.

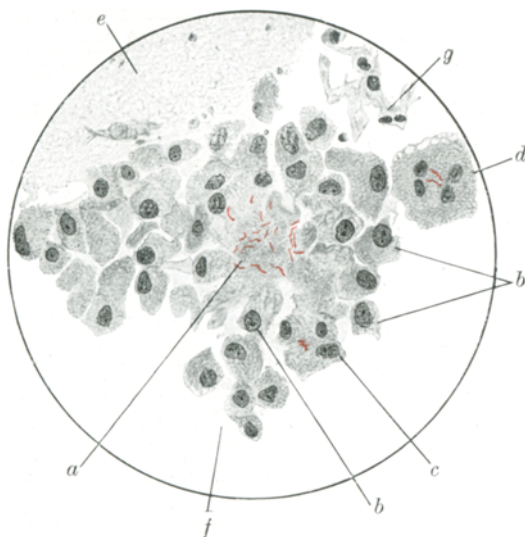


Abb. 2. Zweitägige Lungenkultur mit unabgeschwächten Tuberkelbacillen. *a* = Das Zentrum der tuberkelartigen Bildung mit körnigem Zerfall und Ansammlung von Tuberkelbacillen. *b* = Zellen mit epithelioidem Charakter, deren Auswüchse zum Zentrum gerichtet sind und mit der körnigen Masse verfließen. *c* = Epitheloide Zellen mit Tuberkelbacillen. *d* = Vielkernige Riesenzelle. *e* = Fibrinnetz im Nährboden. *f* = Eine Stelle mit verdünntem Nährboden. *g* = Der Rand des „gepflanzten“ Lungenstückchens.

sie Tuberkelbacillen enthalten, mehrere Umpflanzungen vertragen. In solchen 3—4 mal umgepflanzten Kulturen konnte man Phagocyten, welche in ihrem Leib Häufchen von Kochschen Bacillen enthielten, auffinden. Neben letzteren wurde in Vakuolen des Protoplasmas von Phagocyten eine feinkörnige Masse entdeckt, die sich mit Carbol-fuchsin schwach rosa färbte. Diese feinkörnige, säurebeständige Masse entstand durch Zerfall der Tuberkelbacillen im Protoplasma der Zellen. Wir haben es demnach hier mit der Verdauung der Kochschen Bacillen durch Phagocyten zu tun. Gewöhnlich aber entwickelt sich beim Umpflanzen fast ausschließlich Bindegewebe in der Art spindel-förmiger oder mit Ausläufern ausgestatteter Zellen.

Die Kultur der Milz.

Im ausgepflanzten Stückchen Milz werden folgende Erscheinungen beobachtet.

Der größte Teil der Lymphocyten geht schon in den ersten Tagen zugrunde und zerfällt, teilweise aber bleiben sie unversehrt und vermehren sich. Die Reticulumzellen zeigen eine große Neigung zum Wachsen und Sichvermehren, und bei 3—4 tägigen Kulturen bildet sich aus ihnen ein netzförmiges Gewebe aus sternartigen miteinander verbundenen Zellen. Die Fibroblasten der Trabekel nehmen an der Bildung dieses Netzes teil, aber es ist nicht möglich, sie in Kulturen von den sternartigen Zellen reticulären Ursprunges zu unterscheiden. Ein anderer Teil der Reticulumzellen zieht schon, von dem ersten Tage des Lebens in vitro angefangen, seine Auswüchse ein, rundet sich ab und verwandelt sich in große Wanderelemente mit scharf ausgeprägter, phagocytärer Tätigkeit. Diese Phagocyten ergreifen die roten Blutkörperchen, Leukocyten, Pigment usw. Eine gleiche Tätigkeit als Makrophagen üben auch die mononucleären Leukocyten der Milz aus. Ihrer Struktur nach unterscheiden sich alle diese Phagocyten in nichts Bemerkenswertem von solchen in den Lungenkulturen: dieses sind große Zellen mit an Fetteinschlüssen reichem Zelleib und Kernen verschiedenartiger Form: rund, oval oder unregelmäßiger Form; letztere sind manchmal in mehrere Stücke geteilt.

Wir konnten in den Kulturen der Milz, ebenso wie in den Kulturen der Lunge das Abstoßen der Zellen des Gefäßendothels und die Umwandlung in Wanderphagocyten nur selten beobachten, deshalb kann diese Art des Entstehens der Phagocyten nicht völlig ausgeschlossen werden.

Im allgemeinen kann man bei 4—5 tägigen Milzkulturen, bei Untersuchung des Schnittes des Stückchens selbst, folgendes Bild beobachten: die Zahl der Zellenelemente ist im Vergleich zu den ersten Tagen beträchtlich kleiner, dank dem massenhaften Umkommen der Lympho-

cyten. Das Stückchen ist von Hohlräumen durchzogen, deren Wände aus Zellauswüchsen bestehen. In diesen Hohlräumen liegen Phagocyten, rote und weiße Blutzellen, die teilweise zerfallen. Hier und da sieht man erhaltene Blutgefäße, deren Innenwände mit einschichtigen, flachen Zellen bedeckt sind.

In der Milz gelingt es, die bemerkenswerte Erscheinung, Neubildung der Capillaren, welche in das umgebende geronnene Plasma hineinwachsen, zu beobachten. An der Seite der Capillare bildet sich ein Auswuchs, welcher allmählich spitz wird und aus Protoplasmaansammlung mit Kern besteht. Späterhin bildet sich in ihm eine Höhlung, welche in die Capillare führt und am anderen Ende blind ist. Infolge der Vermehrung der Zellen in der Wandung eines solchen Auswuchses wächst er in die Länge, und am Ende kann er sich in 2 bis 3 Zweige teilen. Daß hier eine wirkliche Neubildung der Capillaren vor sich geht, dafür spricht der Umstand, daß solche zugespitzte Neubildungen aus dem ausgepflanzten Stückchen in das umgebende Plasma eindringen, und daß man in deren Wandungen Kernteilungsfiguren wahrnehmen kann.

Wie in den Lungenkulturen, so verfällt das ausgepflanzte Stückchen auch hier am 7. bis 8. Tage der völligen Nekrose, welche vom Zentrum aus anfängt und sich allmählich zum Rande ausbreitet. Bei Eindringen beträchtlicher Mengen von Tuberkelbacillen kann die Nekrose des Stückchens schon im Laufe der ersten 2 bis 3 Tage vor sich gehen.

Die Erscheinungen, welche um das ausgepflanzte Stückchen Milz zu beobachten sind, erinnern im allgemeinen an die schon besprochenen Erscheinungen in Lungenkulturen.

In den ersten Tagen beobachtet man eine manchmal sehr beträchtliche Auswanderung der Lymphocyten und Monocyten und in kleinerem Maßstabe der Granulocyten in das umgebende Plasma. Zu diesen gesellen sich noch große Wanderzellen mit rundem oder ovalem Kern oder solche unregelmäßiger Form und mit viel Protoplasma, welches reich an Fetteilchen ist. Diese Zellen sind Träger der scharf ausgeprägten phagocytären Funktion.

Bei 2—3 Tage alten Kulturen fängt das Stückchen an, von aussprossenden und sternartigen Zellen umgeben zu werden, deren Wachstum wie auch bei der Lunge von Tuberkelbacillen gehemmt wird. Die Phagocytose der Tuberkelbacillen kann man schon am ersten Lebenstage der Kultur beobachten, und zwar hauptsächlich durch große Wanderzellen, teilweise durch kleinere Zellen, Monocyten und Lymphocyten und hin und wieder durch Granulocyten. Ebenso wie in den Lungenkulturen geht auch hier eine Ansammlung der Wanderzellen, manchmal in beträchtlicher Menge, um die Häufchen von Bakterien vor sich. Besonders oft werden solche Ansammlungen an der

Glasoberfläche, manchmal ziemlich weit vom ausgepflanzten Stückchen beobachtet. Die Zellen, welche solche Ansammlungen bilden, haben ein sehr verschiedenartiges Aussehen (Abb. 3, *a—c*).

Solche regelmäßigen, vieleckigen Zellen vom Epithelialtypus, wie wir sie in den Lungenkulturen beobachteten, konnten wir hier nicht antreffen. Gewöhnlich haben die Zellen die verschiedenartigste Form, welche von amöboider Bewegung abhängig ist. Das Protoplasma ist bei ihnen von eben solchem Bau wie in den Lungenkulturen. Die Kerne

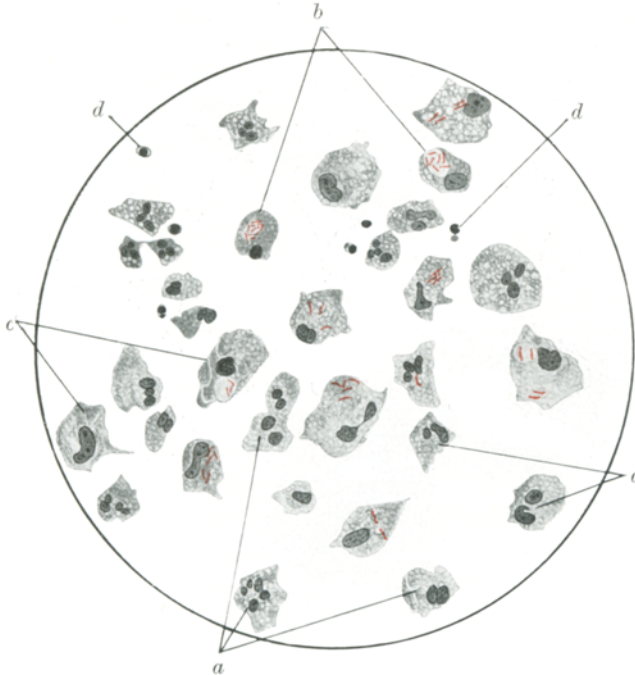


Abb. 3. Viertägige Milzkultur mit unabgeschwächten Tuberkelbacillen. Die an der Glasoberfläche haftenden Zellen sind etwas vom ausgepflanzten Stückchen entfernt. *a* = Wanderzellen mit Kernen verschiedener Form. *b* = Wanderzellen, die Tuberkelbacillen phagocytiert haben. *c* = Wanderzellen, mit schön ausgedrückten Saftkanälchen. *d* = Lymphocyten.

kennzeichnen sich durch beträchtliche Vielgestaltigkeit: es gibt hier runde oder ovale, mit gut sichtbaren Kernkörperchen, dann wieder hufeisenförmige oder in einzelne Teilchen zerfallene, welche mit dünnen Brückchen verbunden oder ganz unabhängig voneinander sind.

Viele Zellen enthalten in ihrem Leib, manchmal in beträchtlicher Menge, Tuberkelbacillen. Es finden sich Kernteilungsfiguren dieser Gebilde. Uns ist es aber nicht ein einziges Mal gelungen, Teilungsfiguren bei denjenigen Zellen aufzufinden, die Tuberkelbacillen aufgenommen hatten. Bei solchen Phagocyten beobachtet man nur amitotische Teilung der Kerne.

An den Stellen, wo beträchtliche Mengen solcher Wanderzellen sich sammeln, entsteht Verflüssigung des geronnenen Plasmas, und dann bildet sich eine Höhlung, gefüllt mit großen runden Zellen, deren Innenwand mit flachen Zellen ausgelegt ist. Die gegenseitige Anlagerung solcher Wanderzellen kann sehr verschieden sein, was augenscheinlich von der Verteilung der Tuberkelbacillen abhängig ist. Manchmal lagern sich die Zellen gleichmäßig in einigen kleinen Abständen voneinander,

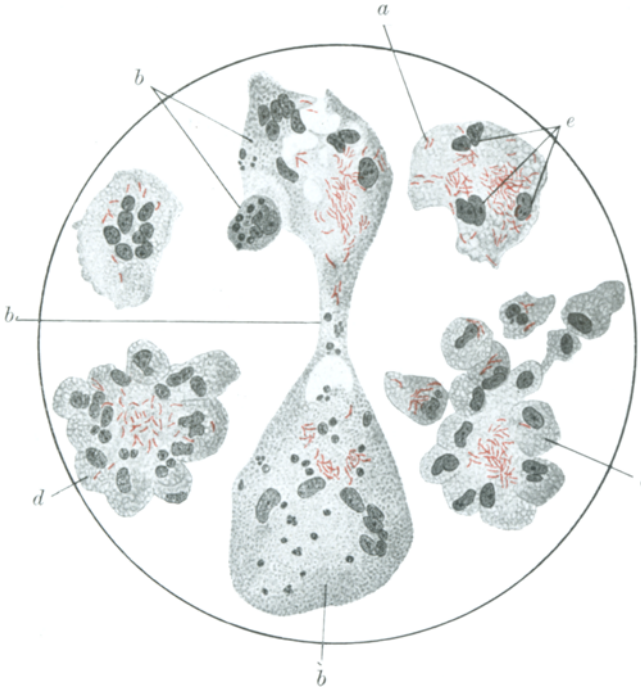


Abb. 4. Viertägige Milzkultur mit unabgeschwächten Tuberkelbacillen. Die an der Glasoberfläche haftenden Zellen sind etwas vom ausgepflanzten Stückchen entfernt. Die Zeichnung ist aus verschiedenen Stellen des Präparates kombiniert. Vergrößerung dieselbe. *a* = Riesenzellen mit einer Menge phagocytierte Tuberkelbacillen. *b* = Eine Riesenzelle, die durch Vereinigen mehrerer Riesenzellen entstanden ist; sie enthält eine Menge Tuberkelbacillen und phagocytierte Leukocyten. *c* = Anfangsstadium der Bildung einer Riesenzelle durch Vereinigen vieler Wanderzellen um ein Häufchen von Tuberkelbacillen. *d* = Das weitere Stadium desselben Prozesses. *e* = Amitose der Kerne in Riesenzellen.

indem sie beträchtliche Flächen einnehmen (Abb. 3). In anderen Fällen sind dichte Ansammlungen um das Häufchen der Tuberkelbacillen vorhanden (Abb. 4, *d*). Diese Ansammlungen bestehen vorwiegend aus großen Wanderzellen, hauptsächlich retikulären Ursprungs, und in kleinerem Maßstabe aus Monocyten, Lymphocyten und Granulocyten.

In Milzkulturen, die mit Tuberkelbacillen infiziert worden sind, beobachtet man eine besonders reichliche Bildung von vielkernigen

Riesenzellen. Meistens lagern sich diese Zellen an der Glasoberfläche zwischen anderen Phagocyten. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, haben die Riesenzellen eine überaus verschiedenartige Form und Größe und enthalten bis 10 oder mehr Kerne, welche im Zelleib ohne sichtbare Ordnung verteilt sind. Die Bildung der Riesenzellen geschieht unter Einwirkung der Tuberkelbacillen, welche sich im Protoplasma dieser Zellen in beträchtlicher, manchmal sogar sehr erheblicher Menge vorfinden. Am meisten bilden sie sich durch Vereinigung einzelner Wanderzellen um die Häufchen von Tuberkelbacillen. An ein und demselben Präparate kann man verschiedene Stadien solcher Vereinigung beobachten (Abb. 4, *b* und *c*). Hierbei legen sich einzelne Zellen, bis 10, mit ihren Seitenflächen fest aneinander, und das Protoplasma der Nachbarzellen zerfließt zu einer Masse, die Zellengrenzen sind aber noch nicht vollständig verschwunden, stellenweise sind schmale Lücken vorhanden (Abb. 4). Bei noch vollendeterer Vereinigung ist es manchmal möglich, nach den äußeren Umrissen festzustellen, aus wieviel Zellen die Riesenzone entstanden ist. An der Oberfläche sind halbrunde, konvexe, voneinander durch Furchen geteilte Erhöhungen zu bemerken; einer jeden solchen Erhöhung entspricht ein Kern. Da nun die Vereinigung der Zellen um die Häufchen der Tuberkelbacillen herum vor sich geht, so sind letztere im Innern der Riesenzone eingeschlossen. Manchmal beobachtet man das Zusammenfließen der Nachbarzellen zu einer Masse (Abb. 4, *d*).

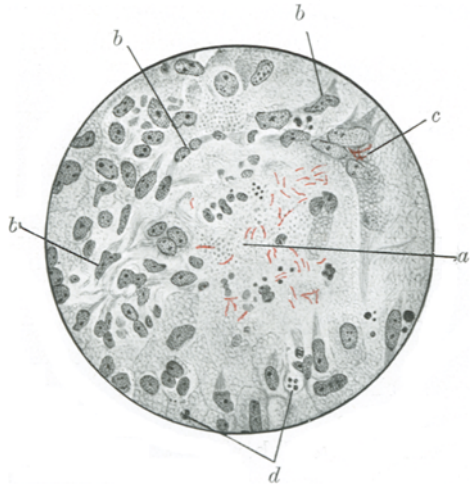


Abb. 5. Viertägige Milzkultur mit unabgeschwächten Tuberkelbacillen. Eine Stelle neben dem ausgepflanzten Stückchen Milz. *a* = Das Zentrum der tuberkelartigen Bildung mit körnigem Zerfall, mit Überresten der Zellkerne und Tuberkelbacillen. *b* = Zellen von ausgezogener Form, mit ovalen Kernen und undeutlichen Grenzen, welche ein dichtes Gewebe um Tuberkelbacillen bilden. *c* = Zellen, welche Tuberkelbacillen enthalten. *d* = Leukocyten.

Als ein seltenerer Fall ist die Bildung der Riesenzellen durch Amitose der Kerne ohne darauffolgende Teilung des Leibes zu bemerken (Abb. 5). Solche Bilder der direkten Kernteilung sind häufig in mit Tuberkelbacillen infizierten Kulturen zu beobachten. Als Ergebnis dieses Prozesses sehen wir eine Zelle, in deren Protoplasma mehrere aneinander liegende, gewöhnlich unansehnliche und oft verschieden große Kerne sich befinden. An der Bildung einer Riesenzone können beide Vorgänge mit einem Male teilnehmen: es geschieht eine Vereinigung

einzelner Zellen und zugleich eine amitotische Teilung der Kerne (Abb. 4). In einigen Riesenzellen sieht man außer Tuberkelbacillen auch andere Einschlüsse, z. B. Körnchen eines braunen Farbstoffes, Leukocytenkerne, Bruchstücke von Erythrocyten und dergleichen mehr (Abb. 4, b). Die Riesenzellen sind ohne Zweifel zu amöboider Bewegung fähig, dieselbe kann man an lebenden Präparaten beobachten, indem man von Zeit zu Zeit ihre Form und Lage abzeichnet. Sowohl die Riesenzellen als auch die mononucleären Phagocyten sind gleich jenen der Lungenkulturen leicht dem körnigen Zerfall unterworfen. Hierbei wird das Protoplasma der Zellen trübe und zerfällt in feine Körnchen; die Kerne aber verlieren die Färbbarkeit und gehen in Lösung über. Dieses Zugrundegehen der Zellen fängt in der Nachbarschaft der Tuberkelbacillenhaufen an und hängt folglich von den Ausscheidungen der Bakterien ab.

An einigen Milzkulturen, in unmittelbarer Nähe des ausgepflanzten Stückchens, oder sogar in einer Vertiefung auf der Fläche des Stückchens selbst, rund um die Tuberkelbacillen entwickelte sich eine tuberkelartige Bildung von etwas anderer Struktur als die beschriebenen. Sie bestand aus verhältnismäßig dichtem Gewebe, welches aus langgezogenen Zellen mit ovalen Kernen und Protoplasma von pseudoalveolärer Struktur, durch Einschlüsse von Fetttröpfchen, gebildet war. Die Grenzen zwischen den Zellen sind äußerst undeutlich zu sehen, da die letzteren mit ihren Auswüchsen zusammenhängen (Abb. 5, b). In einigen dieser Zellen sind Tuberkelbacillen eingeschlossen. Im Zentrum solch eines Gewebes ist eine Tuberkelbacillenansammlung, und zwar manchmal eine ganz beträchtliche, vorhanden (Abb. 5, a). In der Nähe solch einer Ansammlung wird schon gewöhnlich die Nekrose der Zellen beobachtet, in der körnigen Masse aber, welche reich an Bakterien ist, kommen selten Chromatinklumpchen, welche von pyknotisch zerfallenen Kernen herrühren, vor. Tuberkelartige Bildungen solcher Art können beträchtliche Größe erreichen und makroskopisch sichtbar werden. Ihre Form ist gewöhnlich der kugelförmigen ähnlich.

Die Zellen einer solchen Bildung entwickeln sich durch Vermehrung der Reticulumzellen der Milz und möglicherweise auch der Fibroblasten, aber dennoch ist es völlig unmöglich, in den Kulturen diese zwei Gebilde voneinander zu unterscheiden.

Bei den Versuchen des Umpflanzens der Milzkulturen in neues Plasma, um das weitere Schicksal der tuberkelartigen Bildungen zu erklären, bekamen wir dieselben Ergebnisse wie bei den Lungenkulturen. Auch hier zerfielen die Zellansammlungen um die Tuberkelbacillen bald in eine feinkörnige Masse, aber einige Phagocyten, manchmal mit mehreren Kernen, Kochsche Bacillen enthaltend, konnten bei 18 bis 25 Tage alten Kulturen nach 2—3 maligem Umpflanzen be-

obachtet werden. In diesen Phagocyten konnte man neben erhaltenen Kochschen Bacillen eine feinkörnige, sich durch Carbofuchsin schwach rosa färbende, wahrscheinlich aus zerfallenen Tuberkelbacillen bestehende Masse beobachten.

Schluß.

Die Methode der Gewebskulturen hat sich zum Studium der Reaktion von Zellenelementen auf Tuberkuloseinfektion vollständig bewährt.

In den Kulturen der Lunge und Milz beobachtet man unter Einwirkung von Toxinen, die von Tuberkelbacillen ausgeschieden werden, eine Hemmung des Wachstums und etwas schnelleres Absterben, als es bei den Vergleichskulturen der Fall war.

Andererseits geht eine ansehnliche Entwicklung großer Wanderzellen vor sich, die von den Tuberkelbacillen dank der positiven Chemotaxis energisch angezogen werden.

In der Lunge entwickeln sie sich hauptsächlich aus Zellen des Lungenepithels, in der Milz aber aus Reticulumzellen.

Diese Phagocyten führen einen energischen Kampf mit den Tuberkelbacillen, indem sie dieselben verschlingen und manchmal einer intracellulären Verdauung unterwerfen. Die Phagocytose der Tuberkelbacillen durch Fibroblasten findet sich sehr selten.

Das Vorhandensein der Tuberkelbacillen in den Kulturen übt somit eine Reizwirkung auf die Zellen des Lungenepithels und auf die Reticulumzellen der Milz aus, indem sie dieselben in Bewegung setzten und zu starker Wucherung nötigen.

Als Ergebnisse dieser Vorgänge bilden sich tuberkelartige Zellansammlungen, welche die Tuberkelbacillen von allen Seiten einschließen.

Eine ziemlich gut ausgeprägte Bildung dieser Art kann man schon bei 2 Tage alten Kulturen antreffen; bei 4 Tage alten Kulturen erreicht sie eine beträchtliche Entwicklung.

Die Struktur solcher Bildungen in der Lunge unterscheidet sich etwas von solchen in der Milz.

Die Phagocyten der Lungenkulturen, welche aus dem Lungenepithel entstehen, sich um die Häufchen der Tuberkelbacillen sammeln und sich dort vermehren, haben oft eine regelmäßige vieleckige Form, indem sie sich fest aneinander legen und völlig den Charakter der Epithelzellen beibehalten. In den Milzkulturen sammeln sich um die Häufchen der Tuberkelbacillen große Wanderzellen, oder es bildet sich, besonders in unmittelbarer Nähe des ausgepflanzten Stückchens, ein dichtes Gewebe aus ausgezogenen, miteinander in Verbindung stehenden Zellen. Dieses Gewebe entsteht aus Reticulumzellen, möglicherweise unter irgendwelcher Teilnahme gewöhnlicher Fibroblasten.

Manchmal beobachtet man bei Lungenkulturen, häufiger bei Milzkulturen, die Bildung vielkerniger Riesenzellen überaus verschiedener Form und Größe, welche 3—10 und mehr Kerne enthalten. Dieselben entstehen entweder durch Vereinigung einzelner Phagocyten zu einem Syncytium, gewöhnlich um Häufchen von Tuberkelbacillen, welche somit in die Riesenzelle eingeschlossen sind, oder durch Teilung der Kerne ohne folgende Protoplasmateilung, manchmal aber auf diesem und jenem Wege zusammen. Die Riesenzellen enthalten immer in ihrem Protoplasma Tuberkelbacillen, dabei manchmal in beträchtlicher Menge. Die Zellansammlungen um die Tuberkelbacillen verfallen sehr bald der Nekrose, indem sie in eine feinkörnige Masse zerfallen. Der Zerfall der Zellen, welcher im Zentrum seinen Anfang nimmt, breitet sich zum Rande der Zellansammlung, welche schon bei 6—7tägigen Kulturen der vollen Nekrose verfallen, aus.

Es ist bekannt, daß bei Infektion des Gewebes im Organismus durch Tuberkelbacillen sich ein sogenannter Tuberkel entwickelt. Als besonders kennzeichnende Zellen für den Tuberkel sind die epithelioiden zu bezeichnen, welche sich nach Angaben einiger Untersucher [*Joest*¹⁸] als erste bilden; die Riesenzellen aber und die Lymphoiden sind sekundär und können gänzlich fehlen. In unseren Versuchen sammelten sich um die Tuberkelbacillen Zellen, die nach ihrer Morphologie, ihrem Vermögen, Tuberkelbacillen zu phagocytieren, und ihrem weiteren Schicksal den epithelioiden Zellen des Tuberkels entsprechen. In der Tat, die epithelioiden Zellen des Tuberkels zeichnen sich durch ihre beträchtliche Größe, verschiedenartige Form, kleinen chromatinarmen, 1—2 Nucleolen enthaltenden Kern und durch nur schwach färbbaren Zelleib aus. Alle diese charakteristischen Eigenschaften sind gleichfalls den Zellen, die in vitro um die Tuberkelbacillen Ansammlungen bilden, zu eigen.

Ein größerer Reichtum an Fett in den Kulturzellen im Vergleiche zu den epithelioiden Zellen des Tuberkels ist durch besondere Lebensverhältnisse der Zellen in vitro zu erklären.

Wie die epithelioiden Zellen des Tuberkels, so phagocytieren auch die ihm entsprechenden Kulturzellen Tuberkelbacillen; diese und jene sind von kurzer Lebensdauer und verfallen leicht der Nekrose.

Nach Anschauungen der meisten Forscher entstehen die epithelioiden Zellen des Tuberkels durch Vermehrung der örtlichen Gewebelemente: erstens der Bindegewebszellen, zweitens der des Epithels und drittens jener des Endothels der Blut- und Lymphgefäße. Nach einer anderen, weniger verbreiteten Anschauung sind die Epithelioidzellen hämatogenen Ursprunges. Bei unseren Versuchen ist irgendeine beträchtliche Teilnahme hämatogener Elemente beim Entstehen der tuberkelartigen Zellenansammlungen ausgeschlossen, es bleibt deshalb nur das Ent-

stehen aus örtlichen Elementen übrig. Es ist wichtig, zu bemerken, daß, während im Organismus in der Lunge sich die epithelioiden Zellen meistens aus Bindegewebszellen und selten aus den Zellen des Lungenepithels entwickeln, in den Kulturen, wenigstens bei unseren Versuchen, als besonders aktive Gebilde, gerade die letzteren bezeichnet werden können.

Von anderen Zellen, die einen Bestandteil des Tuberkels bilden, erheischen eine besondere Beachtung die vielkernigen Riesenzellen, deren Ursprung zur Zeit noch nicht mit Sicherheit festgestellt werden kann. Die Riesenzellen, die sich in vitro bei Tuberkuloseinfektion bilden, unterscheiden sich erheblich von den Langhansschen Riesenzellen durch die Lagerung der Kerne. In den Langhansschen Zellen lagern sich die Kerne oft an der Peripherie der Zellen in einer Reihe, in den Kulturriesenzellen aber sind die Kerne ohne sichtliche Ordnung verteilt, deshalb wagen wir es nicht, dieselben mit den Langhansschen Zellen völlig gleichzustellen. Als dritter Bestandteil des Tuberkels sind die Lymphocyten und Granulocyten hämatogenen Ursprunges zu bezeichnen; es ist natürlich, daß bei Versuchen in vitro solche Zellen nur in kleiner Zahl vorkommen können.

Das Erläuterte zusammenfassend, kommen wir zur Schlußfolgerung, daß die Reaktion der Zellen auf Tuberkuloseinfektion in vitro im wesentlichen ebenso wie im Organismus verläuft, indem sie zur Bildung von den Tuberkeln entsprechenden Zellansammlungen um die Tuberkelbacillen den Anstoß gibt.

Somit muß die Aufgabe, den Tuberkel in vitro zu erhalten, als gelöst erscheinen.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ *Auroroff und Timofejewsky*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **216**, 184. 1914. — ²⁾ *Burrows*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **69**, 291. 1910. — ³⁾ *Busse, O.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **229** und **239**. — ⁴⁾ *Busse, P.*, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **36**, 479. 1923. — ⁵⁾ *Carrel et Burrows*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **69**, 298, 299, 328, 332, 365, 367; **70**, 3. — ⁶⁾ *Carrel et Burrows*, Journ. of exp. med. **13**, 571. 1911. — ⁷⁾ *Carrel*, Berl. klin. Wochenschr. 1911, S. 1364. — ⁸⁾ *Carrel*, Ebenda 1912, S. 533. — ⁹⁾ *Carrel und Ebeling*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **89**, 1142, 1144, 1261 1266 1923, und **90**, 29, 66, 170, 172, 410. 1924. — ¹⁰⁾ *Doyen, Lytschkowsky, Browne und Frl. Smyrnova*, Ebenda **74**, 1331. 1913. — ¹¹⁾ *Foot*, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **53**, 446. — ¹²⁾ *Foot*, Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1912, S. 577. — ¹³⁾ *Goljanizky*, Medizinskoje Obosrenije 1912, S. 1084. — ¹⁴⁾ *Gravitz*, Dtsch. med. Wochenschr. 1915. — ¹⁵⁾ *Hadda*, Berl. klin. Wochenschr. 1912, S. 11. — ¹⁶⁾ *Hadda und Rosenthal*, Ebenda 1912, S. 1653. — ¹⁷⁾ *Ingebrigtsen*, Journ. of exp. med. **15**. 1912. — ¹⁸⁾ *Jöst*, Verhandl. d. Pathol. Ges. **15**, 101. — ¹⁹⁾ *Krontowsky*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **241**, 988. 1923. — ²⁰⁾ *Krontowsky und Poleff*, Wratschebnaja Gaseta 1913, S. 963. — ²¹⁾ *Kron-*

towsky und Rumjanzeff, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **195**, 291. 1922. — ²²⁾ Lambert, Journ. of exp. med. **24**, 367. 1916. — ²³⁾ Lambert und Hanes, Ebenda **13**. 1911. — ²⁴⁾ Lambert und Hanes, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **209**, 12. 1912. — ²⁵⁾ Lambert und Hanes, Ebenda **211**, 89. 1913. — ²⁶⁾ Levaditi, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **74**, 1179. 1913. — ²⁷⁾ Levaditi und Mutermilch, Ebenda **74**, 379 und 614. 1913. — ²⁸⁾ Levaditi und Mutermilch, Ebenda **74**, 1180. 1913. — ²⁹⁾ Lüdke, Berl. klin. Wochenschr. 1912, S. 1034. — ³⁰⁾ Mitsuda, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **245**, 342. 1923. — ³¹⁾ Mitsuda, Ebenda **242**, 310. 1923. — ³²⁾ Przygode, Wien. klin. Wochenschr. 1913, S. 841. — ³³⁾ Ruth, Journ. of exp. Med. **13**, 421. 1911. — ³⁴⁾ Smith, Willis und Lewis, Americ. review of tubercul. **6**, 1. 1922. — ³⁵⁾ Timofejewsky und Benewolenskaja, Sibirskoje medizinskoje obosrenije 1918, Nr. 1—2, S. 18.
