

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Stefan Batory-Universität in Wilno [Direktor: Prof. Dr. K. Pelczar].)

Ein neues Züchtungsverfahren für Gewebe erwachsener Tiere und menschliche Placenta in tierischem und menschlichem Serum.

Von
Rudolf Taszkan.

Mit 13 Abbildungen und 1 Kurve.
(Eingegangen am 28. September 1936.)

1. Einleitung.

Unter allen wissenschaftlichen Forschern lebt auch heute die Anschauung, daß das Wachstum des außerhalb des Organismus kultivierten Gewebes durch die Anwesenheit von „wachstumsfördernden Substanzen“ im Nährmedium bedingt ist. Das erste Produkt, in dem „wachstumsfördernde Substanzen“ gefunden wurden, war Hühnerembryonaleextrakt (*Carrel, Ebeling*); seit der Zeit wurden verschiedene Organe und Körperflüssigkeiten, ja sogar bakterielle und chemische Produkte (*Baker* u. a.) auf den Gehalt an diesen „fördernden Substanzen“ geprüft. *Carrel* und *Ebeling* fanden, daß Extrakte einiger Organe, z. B. der Milz und des Knochenmarkes, das Wachstum von Gewebe fördern, daß Blut und Serum dagegen einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum *in vitro* ausüben. Daher spricht man auch von „wachstumshemmenden Substanzen“. *A. Fischer* ist der Ansicht, daß „die Faktoren, die das Wachstum einer Kultur bestimmen, in einen fördernden und einen hemmenden Faktor zusammengefaßt werden können“, und vom Serum sagt er (ganz richtig): „Bekanntlich hört das Wachstum normaler Zellen in Serum als einziger Nahrung schnell auf.“ Warum hemmt Serum, welches wir als Nährmaterial für die Zellen im Organismus betrachten, das Wachstum *in vitro* kultivierter Zellen? Ist das der Fall, weil es der „fördernden Faktoren“ entbehrt, oder enthält es wirklich toxische Substanzen, so daß das explantierte Gewebe nie zur Blüte kommt? Welche Substanzen sind daran beteiligt? Diese Fragen bilden den Gegenstand unserer Untersuchungen. Unsere Versuche haben noch eine Besonderheit: sie wurden nämlich an Geweben erwachsener Organismen ausgeführt.

2. Technik der Gewebezüchtung.

Die Technik der Gewebezüchtung darf im allgemeinen als bekannt vorausgesetzt werden. Es soll nur kurz über einige Punkte berichtet werden, bei denen sich unsere Versuche von der gebräuchlichen Methodik unterscheiden.

Wir verwendeten Plasma, das aus der Flügelvene vom Huhn ohne Heparinzusatz entnommen wurde. Bei kunstgerechter Entnahme und Aufbewahrung im Eisschrank bleibt es lange flüssig. Nach mehreren Tagen zeigt sich in ihm ein Teil des Fibrinogens in Form eines Niederschlages (im Menschen- und Rattenplasma in Form eines zarten Netzchens), die überstehende Flüssigkeit aber enthält noch Fibrinogen genug, um unter Mitwirkung von Serum einen guten Stützapparat zu bilden. Wenn die Menge des gewonnenen Plasmas nicht ausreichte, wurde es mit Ringer 1 : 1 diluiert; dazu gebrauchten wir Plasma, das mindestens 12 Stunden im Eisschrank aufbewahrt worden war, sonst gerinnt es schnell; sehr altes Plasma dagegen gerinnt spät, selbst unter dem Einfluß von frischem Serum.

Serum büßt nach ± 10 Tage langem Aufbewahren im Eisschrank seine gerinnungsfördernde und wachstumsanregende Eigenschaft ein; auch diejenigen Sera, bei denen eine große Menge von Englobulin niedergeschlagen ist, gebrauchen wir nicht, da sich der Niederschlag unter unseren Bedingungen nur schwer wieder auflöst; die Wirkung solcher Sera ist den der Englobulinfraktion beraubten gleich.

Wir züchteten in Carrelflaschen, und zwar in dem neuesten Modell „g“, in kleiner Ausführung. Zuerst wird 0,5 ccm Plasma, dann ebenso viel Serum eingefüllt und das Gewebsfragment implantiert. Ist die Gerinnung eingetreten, wird 1 ccm Ringerlösung zugefügt. Nach 2tägiger Aufbewahrung im Brutschrank bei 38—39° wird das alte flüssige Medium ganz abgesaugt und Serum 1 : 4 mit Ringer verdünnt, in gleicher Menge eingegossen. Fortlaufend wird das flüssige Medium alle 5 Tage gewechselt. Die Anwendung des für den festen Boden gebrauchten Plasmas und Serums in der obigen Proportion und Menge (0,5 ccm \times 0,5 ccm) hat sich als vorteilhaft erwiesen, weil hierdurch die Untersuchung und das Photographieren von Kulturen infolge Wachstums in einer Ebene erleichtert wird und weil es bequem und sparsam ist, mit diesen Mengen zu arbeiten. Das flüssige Medium entfaltet an der Oberfläche des festen Mediums eine besondere Wirkung, indem es das aus dem Hühnerplasma entstehende Serum und alle Abbauprodukte des wachsenden Gewebes auswäscht und die Zellen mit neuer Nahrung versieht. Um den Luftgasen einen leichten Zutritt zum Gewebe zu gestatten, muß das flüssige Medium in entsprechend kleiner Menge (wie oben angegeben) hinzugesetzt werden. So haben wir in dieser Technik verschiedene Bedingungen berücksichtigt, unter denen die Zellen im Organismus stehen. Aus unseren Untersuchungen ergibt sich weiter, daß unverdünntes Serum als flüssiges Medium dieselbe wachstumsfördernde Wirkung auf das in vitro wachsende Gewebe hat wie 1 : 4 mit Ringer verdünntes; man kann daher, mit Ringer diluiertes Serum anwenden, ohne von der mehrwertigen Tyrodelösung, die schwer zu bereiten ist, Gebrauch zu machen.

Umpflanzungen werden an den Kulturen, die ihr größtes Areal erreicht haben, vorgenommen; man muß dabei darauf achten, daß das Transplantat auf allen Seiten durch Schnitte geschädigt wird, damit gutes Wachstum eintritt.

Ausgezeichnete Ergebnisse für mikroskopische Untersuchung und photographische Zwecke gibt die Hämalaunfärbungsmethode.

3. Untersuchungsmethode.

Um zu sehen, wie sich das Gewebe in einem extraktlosen Nährmedium verhält, wurden kleine Mäusemilzfragmente in Carrelflaschen gepflanzt. Die feste Phase bestand aus Hühnerplasma, das durch Hammelserum zur Gerinnung gebracht worden war. Das flüssige Medium war in unseren anfänglichen Untersuchungen 1 : 5 mit Ringer diluiertes Hammelserum. Es wurde alle 5 Tage gewechselt. Nach etwa 20 Tagen zeigte sich, daß die Fibroblasten erst zum Vorschein kommen, nachdem die massenhaft ausgewanderten Zellen zu verschwinden anfangen, zu einer Zeit also, wenn sie proteolytische Fermente abgeben. Aus den so gewonnenen Kulturen ließen sich aber keine weiterwachsenden Tochterkulturen erzielen. Es wurde danach klar, daß Hammelserum ohne Mitwirkung proteolytischer Fermente, wie sie sich in Wanderzellen und Extrakten verschiedener Organe befinden, seine Wirkung als Nährmedium einbüßt. Aber durch diese Untersuchungen waren wir nicht berechtigt, den gleichen Schluß auf andere Sera zu ziehen. Es wurden deshalb Gewebstückchen in drei verschiedene Medien gebracht (Hammel-, Ratten- und Menschenmedium), bei denen Plasma und Serum von demselben Individuum entnommen wurden; das dem Gewebe homologe Rattenmedium diente den anderen zum Vergleich.

Dabei ergab sich, daß man nur in einem aus Menschenplasma und -serum bestehenden Nährmedium eine tüchtige Kultur erhält (Abb. 1); die Fibroblasten besaßen dabei eine so große Tendenz, nach der Verflüssigung des Plasmas direkt am Glase zu wachsen, daß fast der ganze Flaschenboden mit neuem Gewebe bedeckt wurde. Das Implantat hatte dabei mehrmals den Platz verändert und das Plasma wieder verflüssigt. Ein ähnliches Bild war in anderen Medien nicht zu sehen, obwohl man in Ratten- und Hammelmedium eine ebenso lebhaftes Zellemigration (vgl. Abb. 2), und im leicht verflüssigenden Rattenplasma einzelne Fibroblasten beobachten konnte. Hieraus ging schon hervor, daß dem menschlichen Nährmedium eine elektive Wirkung auf das Wachstum von Gewebe zuzuschreiben ist. Da aber das leichte Verflüssigen des menschlichen Plasmas einen großen Nachteil für die Untersuchung mit sich bringt, wurde für die folgenden Untersuchungen das schwer verflüssigende Hühnerplasma als Stützapparat verwendet.

Der Befund war derselbe: Die Kulturen gediehen nur in dem menschen-serumenthaltenden Medium (Abb. 3); im rattenserumhaltigen waren

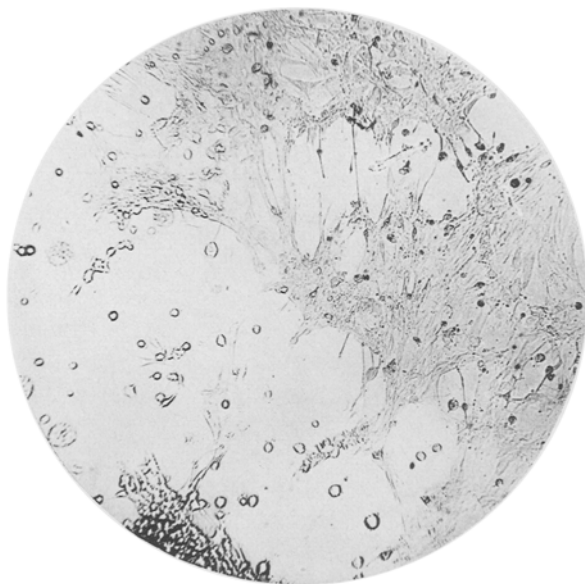


Abb. 1. Rattenmilzfibroblastenkultur. Wachstum am Glase. Auf menschlichem Normalserum gezüchtet. Photo Nr. 2 (in vivo).

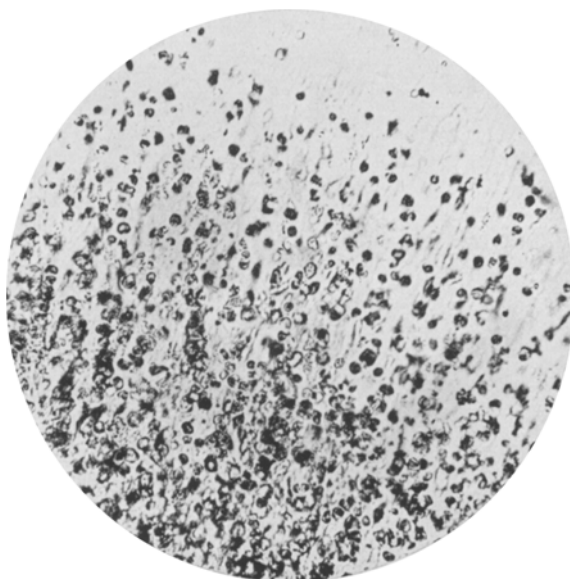


Abb. 2. Wanderzellen der Rattenmilz. Photo Nr. 4 (in vivo).

einzelne Fibroblasten, im Hammelmedium gar kein Lebenszeichen zu sehen. Es lag also die Annahme nahe, daß die Zellen aus menschlichem

Material ihr Protoplasma aufbauen, während sie unverdauliche Substanzen unangegriffen liegen lassen; ja wir konnten uns nach mehreren derartigen Versuchen überzeugen, daß keine Wachstumsverminderung bei den im menschlichen Serum lebenden Zellen durch Zufügung von Hühnerplasma und dem daraus entstandenen Serum eintritt. Von Interesse ist, daß Hühnerembryonalextrakt, der sich durch hohen Gehalt an „wachstumsfördernden Substanzen“ auszeichnet, kein besseres Wachstum unserer Gewebsfragmente im Vergleich zum Menschenserum bewirkte; anderswo ist es ein unentbehrliches Produkt, in unseren Untersuchungen

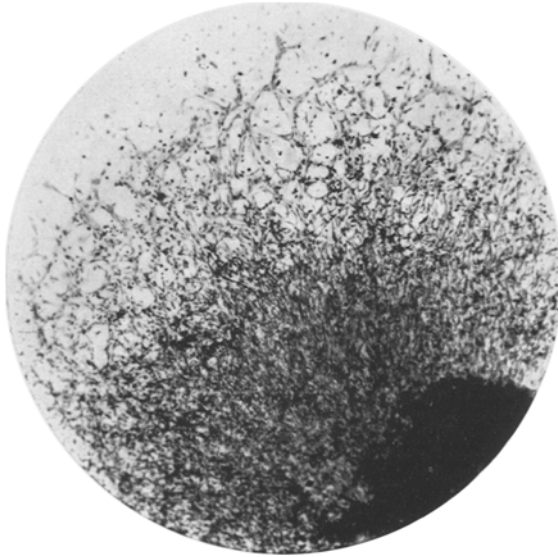


Abb. 3. Gefärbte Rattenherzfibroblastenkultur auf menschlichem Normalserum gezüchtet.
Photo Nr. 6.

an Geweben erwachsener Organismen aber hat er sich nicht als vorteilhaft erwiesen.

Neben diesen vergleichenden Experimenten bemühten wir uns, die besten Bedingungen für das wachsende Gewebe zu schaffen. Deshalb schien es wichtig, Sera von tumorkranken Menschen und von Schwangeren zu prüfen. Denn hier gelangen „wachstumsfördernde Substanzen“ unmittelbar ins Blut. Dadurch glaubten wir ein besseres Wachstum *in vitro* erzielen zu können.

Diese Annahme wurde experimentell bestätigt; denn Gewebe, von denen Kulturen sonst schwer zu erhalten sind (z. B. Leber und Herzfibroblasten der Ratte), gedeihen in einem schwangeren- oder tumorkranken-serumhaltigen Nährboden besser als im Serum eines jungen ganz gesunden Menschen.

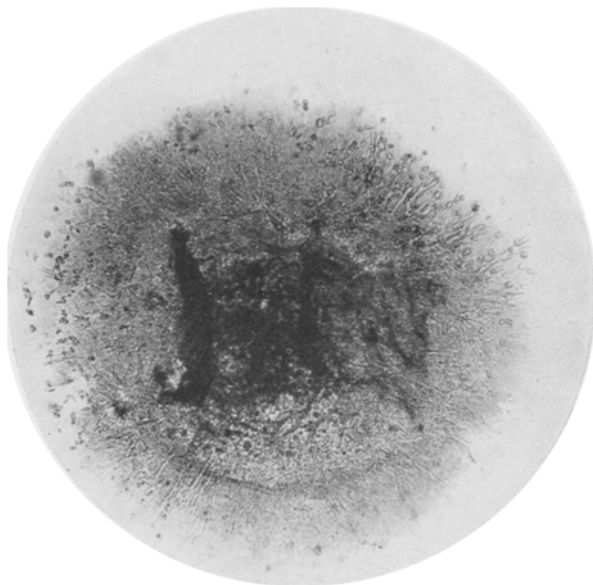


Abb. 4. Mäusemilzfibroblastenkultur auf menschlichem Schwangerenserum gezüchtet.
Photo Nr. 22 (in vivo).

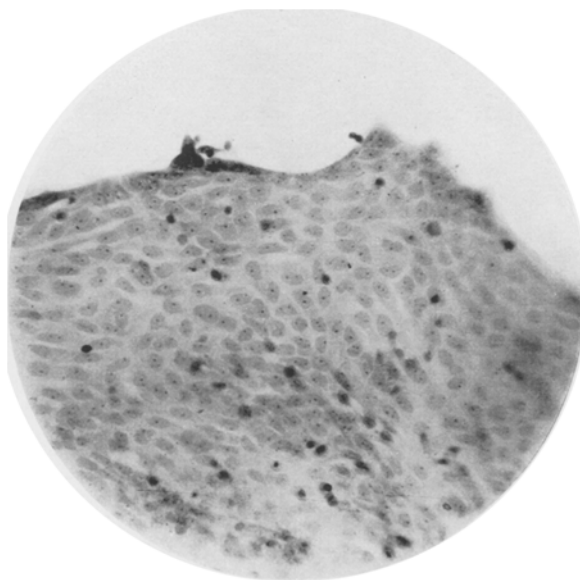


Abb. 5. Gefärbte Rattennierenepithelkultur auf menschlichem Tumorkrankenserum
gezüchtet. Photo Nr. 32.



Abb. 6. Gefärbte Mäuseleberepithelkultur auf menschlichem Schwangerenserum gezüchtet.
Photo Nr. 27.

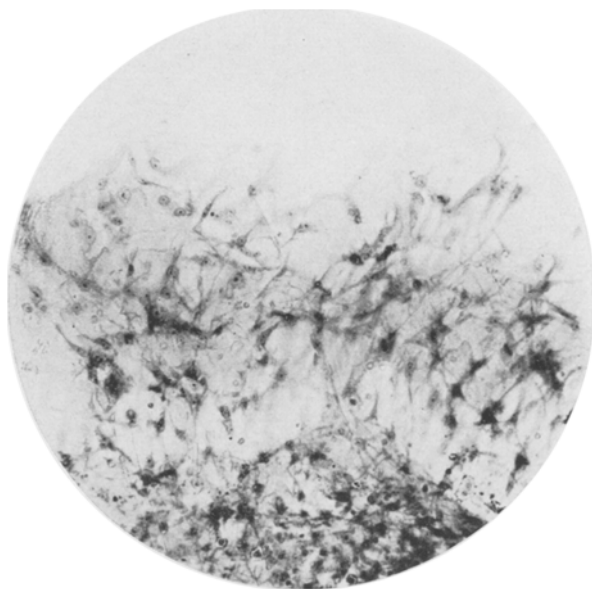


Abb. 7. Das dritte Transplantat einer Mäuseherzfibroblastenkultur auf menschlichem Normal- und Schwangerenserum gezüchtet. Gefärbte Kultur. Photo Nr. 33.

Es kann nicht nur Bindegewebe aus Milz und Herz (Abb. 4, 3, 10), sondern auch Epithel aus Niere und Leber (Abb. 5, 12, 13, 6) erfolgreich gezüchtet werden. Wir waren mit dieser Methode auch imstande, das Wachstum von 4 Transplantaten derselben Herzfibroblastenkultur innerhalb von 4 Monaten aufrecht zu erhalten (Abb. 7). Die erste Überpflanzung wurde in frisches Normalmedium (Serum gesunder Menschen), die letzten in Schwangerenmedien vorgenommen, wobei sie ihren gesunden Zustand und ihre Wachstumsfähigkeit behielten; für uns war die Tatsache



Abb. 8. Gefärbte Menschenplacentafibroblastenkultur auf menschlichem Schwangerenserum gezüchtet. Photo Nr. 36.

ausschlaggebend, daß hierbei eine bedeutende Volumvergrößerung der kleinen Explantate festgestellt werden konnte.

Ein wichtiger Vorzug dieser Methode ist, daß damit auch Kulturen von menschlichem Gewebe zu erhalten sind: Nach der Geburt eines ausgetragenen Kindes wurde ein Stück Placenta unter denselben Bedingungen wie tierisches Gewebe in Schwangerenmedien implantiert; nach einer ziemlich langen Latenzzeit zeigte sich prächtiges Wachstum von Fibroblasten (Abb. 8).

Das Menschenserum hat sich dabei als vorzügliches Nährmedium erwiesen.

4. Bemerkungen über das Wachstum in vitro.

In allen Versuchen zeigte sich, daß dem Wachstum von Gewebe eine Latenzzeit vorausgeht.

Für das Mäuseherz	beträgt diese Latenzzeit etwa 2—3 Tage
„ „ Rattenherz	„ „ „ „ 3—4 „
„ die Mäuseniere	„ „ „ „ 3—5 „
„ „ Mäuseleber	„ „ „ „ 3—5 „
„ „ Mäusemilz	„ „ „ „ 3 „
„ „ Menschenplacenta	„ „ „ „ 5—10 „
„ „ Transplantate des Herzens	„ „ „ „ 1—1,5 „

Was geschieht indessen im Explantat? Es unterliegt keinem Zweifel, daß wachstumsfähige Zellen von einer Zone zerschnittener und zertrümmerter Zellen umgeben sind, die in unmittelbarem Kontakt mit dem Nährmedium stehen; Zellanastomosen bilden einen Weg für das unassimilierte Nährmedium ins Innere der Kultur; während äußere Zellen absterben, geraten die den zentralen Partien näher gelegenen, entsprechend

der Menge des eingewanderten Serums, in einen krankhaften Zustand, demzufolge Wachstum beginnt.

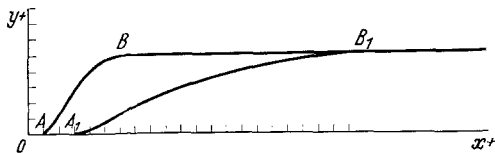


Abb. 9. Relatives Wachstum von menschlichen Placentafibroblasten (OB' -Kurve) und Mäusefibroblasten (OB -Kurve) unter identischen Bedingungen. Ordinate: Differenz der Radiuslänge der Kreise, mit denen man Wachstumszone und Implantat mißt. Abszisse: Zeit der Züchtung.

Die neugebildeten Zellen müssen zuerst die Zone von zerquetschtem Gewebe durchwachsen; die Zeit, die sie dazu verbrauchen, ist im Koordinatensystem (Abb. 9)

durch Abschnitt OA bezeichnet; erst nach Ablauf dieser Zeit geht das Wachstum schnell vor sich und erreicht innerhalb von 10—12 Tagen, vom Anfang der Züchtung angerechnet, die obere Grenze des Areal (Kurve AB); es gelingt uns aber nicht, trotz sorgfältiger Zufuhr von Nährmaterial, das Gewebe zu zwingen, den ganzen Flaschenboden zu bedecken; das Wachstum klingt ab.

Diese Tatsache bedeutet aber nicht, daß die allerfeinsten Lebensvorgänge aufhören. Denn die Kultur verlangt, obwohl ihre Volumvergrößerung sistiert, eine ständige Zufuhr von neuem Nährmaterial, sonst fängt sie an zu degenerieren. Es besteht also weiter ein Stoffwechsel. Da er das wesentliche Kennzeichen alles Lebendigen ist, folgt daraus, daß die Kultur lebt, freilich ohne ihr Areal zu vergrößern (parallele Linie zu der Abszissenaxe).

An dieser Stelle müssen wir noch eine Eigentümlichkeit des *in vitro* gezüchteten Gewebes erwähnen: Die auswachsenden Zellen verbreiten sich nicht ordnungslos im festen Medium, sie sind vielmehr bestrebt, miteinander Protoplasmaverbindungen einzugehen. Infolgedessen bekommt die Kultur eine Form, die ein Maximum von Zellanastomosen gewährleistet. Besonders gegen Ende, wo die Wachstumskurve von der Parabelform abbiegt, werden alle Unebenheiten des Kulturrandes abgerundet, wodurch sie Scheibenform annimmt; in Flaschen, wo der Stützapparat hoch genug wäre, würde sie Kugelform annehmen. Der Durch-

schnittswert des Radius, den unsere ∓ 1 mm großen Implantate erreicht haben, ist 0,33 cm.

Diese Sachlage ist nicht ohne Interesse. Sie zeigt erstens, daß das Wachstum streng einer Ordnung unterworfen ist, und zweitens, daß man einem ganz ungehemmten Wachstum gegenüber steht. Die Zellen müssen sich von den eingedrungenen Substanzen befreien, die in ihrem Protoplasma Raum einnehmen, Wasser anziehen und dazu noch einen biologischen Einfluß ausüben. Weil sie aber über Abwehrkräfte, wie Leukozyten, nicht verfügen, sind sie bestrebt, diese Substanzen im Protoplasma durch Teilungen zu verdünnen, bis endlich die Schädlichkeit kupiert worden ist. Damit gelangen sie aus einem pathologischen Leben zu einem physiologischen (im Koordinatensystem durch parallele Linie bezeichnet), wo neue Elemente nur noch an Stelle der zugrunde gegangenen entstehen.

So erhalten wir den selbständigen, scheibenförmigen Organismus, der zu Stoffwechsel, Eigenbewegungen und Regeneration fähig ist, und dessen einzelne Zellen durch Protoplasmabrücken an dem Gesamtorganismus mitwirken. Neues Wachstum derselben Kultur entsteht nur unter dem pathologischen Einfluß (hierzu werden physikalische und chemische, die Zellmembranen schädigende Maßnahmen gerechnet), den sie beim Umsetzen erleiden; hierauf wiederholt sich derselbe Wachstumszyklus wie zuvor.

Sind die Erscheinungen *in vitro* denen im Körper gleich? Für viele können wir die Frage bejahen. In beiden Fällen entsteht, sobald wir schädigende Faktoren einwirken lassen, ein Zuwachs von neuem Gewebe. Er wird desto größer, je länger der Faktor eingewirkt hat. Das ist wenigstens gültig für die Tumoren im Körper und die Transplantate *in vitro*. In beiden Fällen streben die Zellen auch danach, die Form des Gesamtorganismus zu erhalten, und wirken mit ihm zusammen. Diese zwei biologischen Realitäten halten wachsende Zellen in Schranken, so daß sie sich nicht einfach in andere Zellarten umprägen lassen. Eine weitere Übereinstimmung liegt darin, daß sogar bei dem *in vitro* gezüchteten Gewebe von einer Reifung gesprochen werden kann. Im zentralen Teil der Kultur finden sich nämlich faserähnliche Fibroblasten, von denen langgestreckte Kerne kaum zu unterscheiden sind (Abb. 10). An der Peripherie der Kultur treten jüngere verästelte Fibroblasten hervor, welche oft in mehreren Schichten gelagert sind. Diese Verhältnisse ähneln denen bei einer Narbe im Organismus. Nach der Überimpfung von Kulturen auf gesunde Tiere verhält sich das Gewebe schließlich ebenso, wie es sich *in vitro* zu verhalten pflegt.

Wir haben erörtert, daß der wachstumsauslösende Faktor auf das Eindringen von Nährmedium in das Zellinnere durch die geschädigte Membran zurückzuführen ist. Aber unsere vergleichenden Experimente beweisen, daß noch andere Bedingungen hinzu kommen müssen, damit eine bereits erworbene Wachstumsanlage sich entfalten kann; nur das menschliche Serum unter allen von uns untersuchten erfüllt diese



Abb. 10. Mäuseherzfibroblastenkultur auf menschlichem Tumorkrankenserum gezüchtet.
Photo Nr. 10 (in vivo).

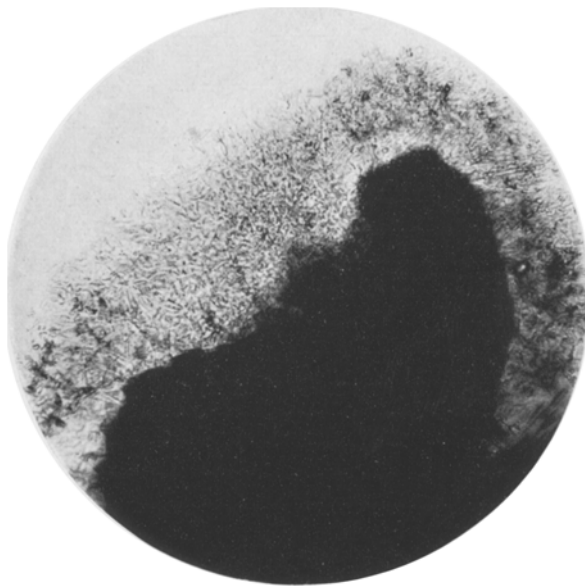


Abb. 11. Mäuseherzfibroblastenkultur auf inaktiviertem Menschenserum gezüchtet.
Photo Nr. 19 (in vivo).

Bedingungen. Wie ist der Wirkungsmechanismus des Menschenserums zu verstehen? Gewiß muß der Grund hierfür im Eiweiß und seinen Abbau-

produkten gesucht werden. Einen Unterschied zwischen dem menschlichen und tierischen Serum haben wir leicht bemerkt: Nach mehrtägiger Aufbewahrung im Eisschrank zeigt sich bei Menschenserum oft ein reichlicher Niederschlag von Euglobulin, während in den untersuchten tierischen Seren keine Veränderung zu beobachten ist. Hieraus ist zu ersehen, daß menschliches Eiweiß leichter den Denaturationsvorgängen unterliegt (erste Stufe der Verdauung). Das Eiweiß muß aber völlig zerlegt werden, damit wachsende Zellen ihr Protoplasma daraus aufbauen können, da sie nicht über starke proteolytische Fermente verfügen; zuerst muß das Nährmedium für das wachsende Gewebe arbeiten. Daß proteolytische Fermente nur denaturiertes Eiweiß zu spalten vermögen, wird durch folgende Beobachtungen bewiesen: Fibroblasten aus der menschlichen Placenta blühen auf im schwangerenserumhaltigen Medium, das vermehrt proteolytische Fermente enthält; mechanisch oder thermisch geschädigtes Placentagewebe wird in dem gleichen Medium kleiner. Das Serum eines jungen ganz gesunden Menschen wirkt schwächer als Sera von Tumorkranken und Schwangeren; zwischen den beiden letzten besteht kein Unterschied. Auch bei Kranken, bei denen große Gewebsmassen resorbiert werden, ist die proteolytische Kraft des

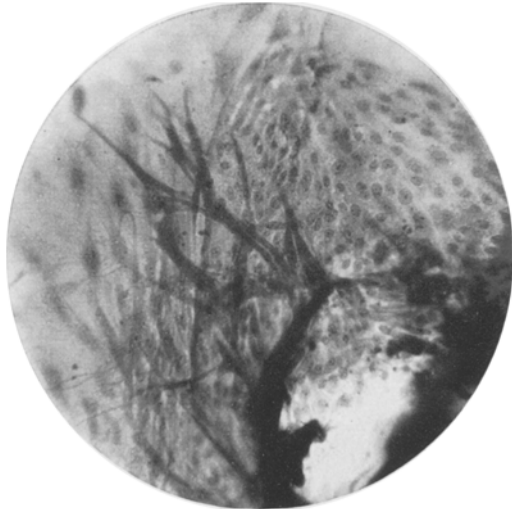


Abb. 12. Gefärbte Mäusenierenkultur auf menschlichem Tumorkrankenserum gezüchtet. Photo Nr. 13.

Blutes gesteigert; von ihnen haben wir hochwirksame Sera bekommen. Das proteolytische Serumferment ist beständig, es verliert nicht an Wirksamkeit durch Erhitzung auf 56° C (Abb. 11) und durch \mp 10 tageslanges Aufbewahren im Eisschrank. Mit zunehmendem Lebensalter nimmt das proteolytische Vermögen des Serums zu, unter den oben erwähnten Bedingungen wird es enorm gesteigert.

Verschiedene Organe sind in ihrer Wachstumsbereitschaft einander nicht gleich; sie lassen sich auf Grund unserer Untersuchungen in folgender Reihe anordnen: Milzfibroblasten, Nierenepithel, Herzfibroblasten, Nierenfibroblasten, Leberfibroblasten, Leberepithel. Aus den Organen, die Bindegewebe und Epithel enthalten, wachsen beide Gewebsarten aus (Abb. 12); aber entsprechend dem Verletzungsgrade des Epithels oder des Bindegewebes, überwiegt im Wachstum eine Zellart von beiden, wie sich aus unseren Studien darüber ergibt; einige Gewebsfragmente

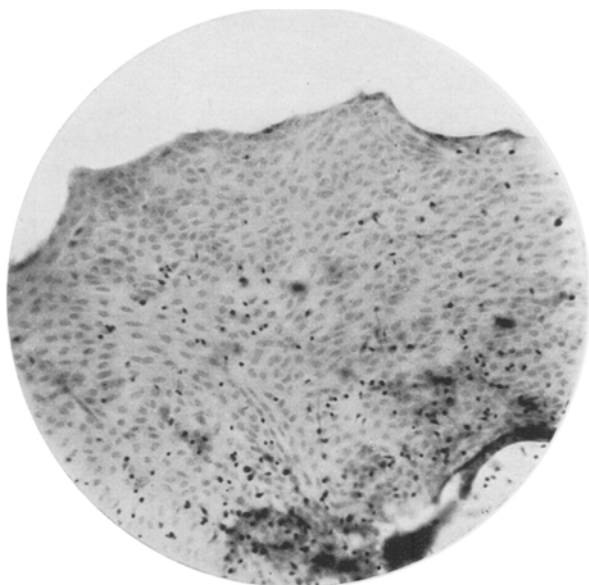


Abb. 13. Gefärbte Rattennierenepithelkultur auf menschlichem Tumorkrankenserum gezüchtet. Photo Nr. 32.



Abb. 14. Gefärbte Mäusenierenfibroblastenkultur auf menschlichem Tumorkrankenserum gezüchtet. Photo Nr. 26.

proliferieren mit reinem Epithel (Abb. 13) oder mit Fibroblasten (Abb. 14). Hier muß noch auf das Wachstum menschlicher Fibroblasten eingegangen

werden. Aus Abb. 9 geht hervor, daß dem Wachstum von Menschenfibroblasten eine dreimal größere Latenzzeit vorausgeht (OA'), als dem von Tierfibroblasten (OA).

Das Wachstum von tierischem Gewebe erfolgt explosiv (AB), während menschliches Gewebe langsam, aber fortdauernd proliferiert (AB') und nach langer Zeit in einen physiologischen Zustand übergeht.

Obige Untersuchungen und Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

Schlußfolgerung.

1. Von den untersuchten Sera (Hammel-Ratten- und Menschenserum) bedingt nur das Menschenserum typisches Wachstum von Gewebe in vitro, ohne daß Extrakt hinzugesetzt wird.

2. Die Wirkung von Schwangerensera und Tumorkrankensera auf das Wachstum in vitro ist stärker als die von Serum eines jungen ganz gesunden Menschen.

3. Menschliches Gewebe wächst unter dem Einfluß vom Menschenserum als einziger Nahrung ebenso gut wie tierisches; Bindegewebe kann aus Milz, Herz, Niere, Leber und Placenta, Epithel aus Niere und Leber erhalten werden.

4. Der Zusatz von Hühnerembryonalextrakt hat sich in der Züchtung von Gewebe erwachsener Organismen als überflüssig erwiesen; das in Menschenserum unter diesen Umständen wachsende Gewebe läßt sich unbegrenzt transplantieren.

5. Der wachstumsauslösende Faktor läßt sich auf die Schädigung der Zellmembran und das Eindringen von unassimilierten Substanzen in das Zellinnere zurückführen; das Gewebe geht, nachdem die Schädlichkeit durch Wachstum überwunden worden ist, in das Stadium des physiologischen Lebens über, wo es seine Masse nicht mehr vergrößert.

6. Das in vitro wachsende Gewebe pflegt Scheibenform anzunehmen, und die neu entstandenen Zellen sind bestrebt, im ganzen Gewebe als Gesamtorganismus zusammenzuwirken.

7. Das Wachstum in vitro ist dem im Organismus gleich.

8. Unter dem Zerfall von Gewebsmassen im Organismus wird die proteolytische Kraft des Blutes gesteigert; die Proteolysine sind nur gegen denaturiertes Eiweiß desselben Organismus, von dem sie stammen, gerichtet.

Ich spreche hier den Herren *M. Kolosowski* und *J. Kruszyński* für ihre freundlichen Ratschläge bei der Züchtung und Photographieren von Gewebe und Herren *M. Bieklemiszew* und *Morszeniuk*, die ihr eigenes Serum für meine Untersuchungen geopfert haben, meinen aufrichtigen Dank aus.

Schrifttum.

Fischer, A.: Gewebszüchtung. 1930. — *Kruszyński, J.*: Badania nad chrząstka in vitro. 1936. — *Pelczar, K.* u. *M. Kolosowski*: Hodowla tkanek in vitro. 1935. — (unveröffentlicht). — *Taszkán, R.*: Mechanizm reakcji Kumagai-Yanabashi. 1936.