

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn
[Direktor: Prof. Dr. M. Verse].)

Der Einfluß von Kohlenoxyd und Leuchtgas auf das Wachstum der Gewebekulturen.

Ein Beitrag zur Frage der unmittelbaren Zellgiftwirkung.

Von

Doz. Dr. Erich Rix und Dr. Lothar Ehrhardt.

Mit 7 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 22. März 1938.)

Die Frage nach der Wirkungsart der Kohlenoxyd- wie Leuchtgasvergiftung hat in den letzten Jahren vor allem im Hinblick auf die Untersuchungen Büchners und seiner Schüler (*Luft, Christ, Lucadou*) eine Neubelebung erfahren. Von allen Möglichkeiten, die als Ursache für die beobachteten und wohl charakterisierten, vor allem in Gehirn und Herzmuskelkultur vorkommenden Schäden in Frage kommen [Sauerstoffmangel, Beeinflussung des Gefäßnervenapparates (*Ricker*), unmittelbare Zellgiftwirkung] hat sich der reine Sauerstoffmangel immer mehr als besonders bedeutsam herausgeschält. Schwieriger wird die Deutung schon bei den ganz gelinde verlaufenden chronischen Schädigungen, deren Vorkommen auch auf Grund früherer Versuche des einen von uns (*Rix*) wie der Angaben anderer Beobachter wohl nicht mehr zu leugnen ist, nicht minder bei der Frage, wie die ganz besonderen Anordnungen innerhalb der Organe, so beispielsweise im Bereich des Gehirns in den Stammganglien, zu erklären sind. In dieser Richtung bewegten sich bereits unsere früheren gemeinsamen Untersuchungen¹, die in dem Sinne niedergelegt sind, daß bei vergleichsweiser Bestimmung der Atmungsbehinderung durch Kohlenoxyd mittels der Warburgschen Apparatur an verschiedenen Organen (Leber, Niere, Gehirn) und bei unterschiedlichen Tieren (Ratte, Kaninchen, Haushuhn) die Beeinflussung am stärksten im Gehirn, hier wieder an den Stammganglien, etwas geringer in der Gehirnrinde ist. Im übrigen war die Wirkung beim Haushuhn schwächer als bei Ratte und Kaninchen. Dieses Ergebnis weist einmal in Bestätigung der Warburgschen Feststellung auf eine unmittelbare Zellgiftwirkung — Schädigung des Atmungsferments — hin, macht aber weiterhin offenbar, daß innerhalb des Gehirns das Atmungsferment der Stammganglien im Vergleich zu dem der Gehirnrinde besonders anfällig ist. Die besondere Bevorzugung des Globus pallidus durch die Kohlenoxydschäden könnte also zwangsläufig schon auf diese Tatsache zurück-

¹ Rix, Erich u. Lothar Ehrhardt: Verh. dtsch. path. Ges. Breslau 1936.

geführt werden, ohne daß man beispielsweise auf besondere Verlaufformen der Pallidumgefäß (Kolisko), die von *Vogt* begründete Pathoklisenlehre oder auf eine besonders dürftige Capillarisierung des Pallidums (*Hiller*) zurückzugreifen braucht. Des Näheren könnte die besondere Empfindlichkeit des Atmungsferments im Globus pallidus sehr wohl ihren Grund in dem größeren Eisengehalt als in den übrigen Gehirnpartien haben, da ja die enge Verwandtschaft des ersteren zum eisenhaltigen Blutfarbstoff vor allem von *Warburg* unter Beweis gestellt wurde.

Leider konnten wir damals die Herzmuskelatur, die ja wohl nach dem Gehirn am häufigsten bei den Kohlenoxydschäden betroffen ist, aus technischen Gründen nicht zum Vergleich heranziehen, da uns die Herstellung von Schnitten, deren Sauerstoffzehrung in der *Warburgschen* Apparatur beobachtet werden konnte, nicht in brauchbarer Form gelang. Nur Leber und Niere wurden so — wie schon erwähnt — zum Vergleich herangezogen, obgleich diese im pathologischen Geschehen der Kohlenoxydvergiftung eine weniger bedeutsame Rolle spielen. Immerhin konnte die geringere Beeinflußbarkeit ihres Atmungsferments mit dieser Methode eindeutig bewiesen werden, so daß darin ebenfalls ein Grund für die weniger häufige Lokalisation von Veränderungen bei der Kohlenoxydvergiftung in diesen Organen zu suchen ist.

Es lag nun nahe, zur Klärung dieser Fragen weiterhin die Gewebekultur heranzuziehen, da bei ihrer Eigenart einmal der Gefäßnervenapparat völlig ausgeschaltet ist, zum anderen — schon rein überlegungsmäßig — der Unterschied zwischen Sauerstoffmangel- und Zellgiftwirkung leicht festzustellen sein muß. Das schien um so lohnender, als die Herzgewebekulturen ja ein besonders beliebtes Gebiet gewebeszüchterischer Tätigkeit sind. Nach dem von uns durchgesehenen Schrifttum zu urteilen, ist sie andererseits zur Ergründung der Eigenart der Kohlenoxydvergiftung noch nicht benutzt worden.

Zwei Punkte sind allerdings bei solchen Versuchen an der Herzgewebekultur von vornherein zu berücksichtigen, so daß die Ergebnisse nicht so ohne weiteres verallgemeinert werden können. Einmal muß man wohl oder übel auf embryonales oder mindestens sehr junges Gewebe zurückgreifen, da wohl Kulturen von völlig ausgewachsener Herzmuskulatur möglich sind, die Ausbeute und Wachstumskraft aber so gering ist, daß der Fehlerbereich allzu groß wäre. Dabei sehen wir schon ganz davon ab, daß die auswachsenden Zellen in gewisser Richtung als entdifferenziert, zum mindesten als ganz jugendlich anzusehen sind. Welche Bedeutung die Verwendung embryonalen Gewebes im besonderen für unsere Versuche hat, werden wir später noch sehen.

Weiter ist die Deutung erschwert, weil nicht sicher feststeht, ob es sich bei den Zellen des Wachstumshofs aus gepflanzter embryonaler Herzmuskulatur um Myo- oder Fibroblasten handelt. So ist ja der bekannte Fibroblastenstamm von *Carrel* ebenfalls auf embryonales Herzgewebe

zurückzuführen und in dieser Richtung sicher als reinstammig zu betrachten. Immerhin wird von *Carrel*, *Carrel* und *Ebeling* wie *Erdmann* behauptet, daß in den ersten Passagen auch eine Auswanderung von Myoblasten stattfindet, die nach Angabe der letzteren leicht durch fächerförmige Verlängerungen erkennbar sein sollen. Wir möchten die Richtigkeit einer solchen grob morphologischen Erkennungsmöglichkeit auf Grund der langjährigen Erfahrung, die der eine von uns (*Rix*) in dieser Richtung hat, entschieden bestreiten. Während *Congdon* ferner annimmt, daß die Myoblasten nur bei den von Embryonen stammenden Stückchen auswandern, die bis 5 Tage alt sind, ist *Levi* davon überzeugt, daß insbesondere bei den Kulturen aus Herzmuskelkultur vom 4. bis 8. Lebenstage vorwiegend Myoblasten auswachsen. Weiterhin sind in Explantaten von 10—16tägigen embryonalen Herzgewebsstückchen nach seiner Ansicht die Zellen entdifferenzierte Myoblasten. Ebenso nehmen *W.* und *M. Lewis* an, daß in den Herzgewebskulturen nur in 10% muskuläre Elemente vorkommen. Alles in allem ist also wohl an einer Auswanderung von Myoblasten nicht zu zweifeln, wenn auch die Höhe des Anteils gegenüber den Fibroblasten sehr umstritten ist. Sicher überlebten bei unseren Kulturen in den Mutterstückchen die Muskelzellen ungefähr für die Länge der Beobachtungsdauer, was in den teilweise auftretenden Zusammenziehungen einen beredten Ausdruck fand.

Diese Tatsache, daß mit annähernder Sicherheit nur bei den aus dem Mutterstück zu Beginn des Kulturlebens und vor einer Umpflanzung auswachsenden Zellen ein zwar wechselnder Anteil von Myoblasten vorkommt, veranlaßte uns, von der Verwendung von Reinkulturen abzusehen. Vielmehr schien uns gerade die jedesmalige Herstellung und Gewinnung neuer Kulturen aus Herzgewebe embryonalen oder ganz jugendlichen Alters zweckentsprechender.

An sich liegt es ja nahe, den Einfluß des Kohlenoxyds auf das Gehirn auf die gleiche Weise zu beobachten. Aber bekanntlich stößt die Züchtung von reinem Gehirngewebe auf die größten Schwierigkeiten, so daß man von vornherein unter einer zu großen Fehlerbreite zu leiden haben würde.

Durchweg wurden daher einmal embryonale Herzgewebskulturen von Huhn, Ratte und Maus, ferner solche von jungen bzw. neugeborenen Tieren hergestellt. Die Züchtung erfolgte in eigens dazu nach der Art der *Carrel*-Flaschen hergestellten, nach oben weit offenen Gefäßchen mit durchschnittlich 9 ccm Volumen und zwei kleinen, zum Ein- und Ausströmen des Gases dienenden Öffnungen. Nach dem Durchströmen wurden diese mit Watte und dicht anliegenden Gummihütchen luftdicht verschlossen. Im allgemeinen setzte sich das Medium aus je 1 Teil Kaninchenplasma (mit Heparinzusatz) und Mausmilzextrakt, in einigen wenigen Fällen auch embryonalem Hühnerextrakt zusammen. In jeder Flasche befanden sich 4 Gewebestückchen auf einer Glimmerplatte, mit

der nach dem Gerinnen des Mediums die weite Öffnung verschlossen wurde. In das Gefäß wurden ferner einige Kubikzentimeter Wasser oder physiologische Kochsalzlösung gebracht, um beim Durchströmen mit den Gasen einen Wasserverlust des Kulturmediums zu vermeiden. Diese Flüssigkeit diente nach dem Einbringen in den Brutschrank ebenfalls zur Verhütung der Eintrocknung, die bei der Größe der Gefäße sehr wohl in Rechnung zu setzen ist. Aus dem gleichen Grunde wurden die Durchströmungsgase zunächst durch Gefäße mit sterilem Wasser geleitet, denen zur Entfernung von Keimen sterile Mullfilter vorgeschaltet waren.

Jede Kultur wurde an den einzelnen Tagen mit einem Projektionszeichenapparat gezeichnet, der Flächenzuwachs mit dem Planimeter bestimmt, sein Ausmaß zu dem des Mutterstücks, das ja immer etwas unterschiedlich groß war, in Beziehung gebracht und der sich daraus ergebende Faktor in eine Wachstumskurve eingetragen. Der letztgenannte wurde nach der Formel $\frac{Ag - Am}{Am}$ berechnet, in der Ag dem Inhalt des gesamten Gebiets (Mutterstück + Wachstumsbereich), Am dem des Mutterstücks allein entspricht. Um den unter Umständen etwas großen Fehlerbereich -- da es sich ja nicht um Reinkulturen handelte -- möglichst zu verkleinern, wurde aus sämtlichen Kurven eines Gefäßes das Mittel genommen, darüber hinaus der Durchschnittswert der jeweils gleichsinnigen Gefäße einer Versuchsgruppe errechnet. Wurden mehrere Serien gleichen Charakters angesetzt, so bestimmten wir auch hier wiederum den Mittelwert, der dann den hier veröffentlichten Kurven zugrunde liegt. Wir sind uns natürlich durchaus bewußt, daß das angewandte planimetrische Meßverfahren von *Carrel* und *Ebeling* im Grunde genommen nur für Reinkulturen Verwendung finden sollte, da beispielsweise bei frisch angelegten Explantaten die sicher unterschiedliche Dicke der Mutterstücke nicht mit berücksichtigt wird. Im Rahmen unserer Untersuchungen, bei denen es sich lediglich um Vergleichswerte handelt, darf dieser Fehler aber wohl vernachlässigt werden, zumal wir das Mittel einer größeren Zahl von Kulturen als Grundlage unserer Wachstumskurven nahmen.

Bei unseren früheren Atmungsversuchen mit der *Wurburgschen* Apparatur hatte sich die Verwendung eines Kohlenoxydgemisches als sehr vorteilhaft erwiesen, das 73% CO, 7% N und 20% O₂ enthielt und in Vergleich gesetzt wurde zu einem Gemisch mit 80% N und 20% O₂. Diese Anordnung gestattete die Beobachtung einer sehr deutlichen unterschiedlichen Wirkung. Es war daher zunächst einmal naheliegend, annähernd gleiche Verhältnisse bei den Kulturen zu schaffen, so daß wir einerseits die Gefäße mit einem Gemisch von 19% O₂, 11% N und 70% CO, die Kontrollen andererseits mit Luft (also rund 20% O₂ und 80% N) durchströmten. Der um 1% niedrigere Wert an O₂ bei dem Kohlenoxydgemisch dürfte dabei kaum ins Gewicht fallen.

Das Ergebnis dieses Versuchs an Kulturen von 11 Tage alten Hühnerherzen ist aus der Abb. 1 ersichtlich, in der die Kohlenoxydkurve in den ersten 2 Tagen mit der in Luft gezüchteter Kulturen zusammenfällt, dann sogar ein etwas stärkeres Wachstum zeigt. Doch ist der Unterschied so unerheblich, daß man ihn wohl zwanglos auf individuelle Schwankungen zurückführen und somit vernachlässigen kann. Es ist somit selbst bei dieser hohen Konzentration von 70% CO eine Wachstumsbeeinflussung abzulehnen, eine Tatsache, die schon sehr gegen eine merkliche Schädigung des Zellgeschehens spricht.

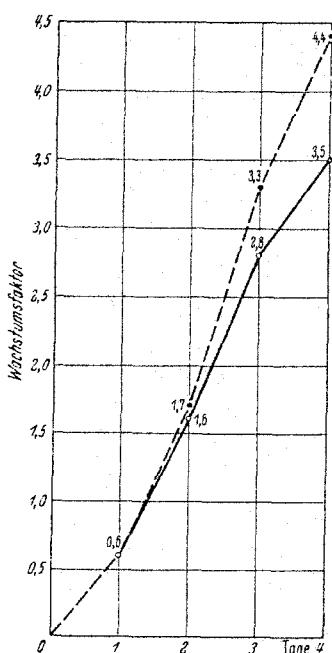


Abb. 1. 11 Tage altes embryonales Hühnerherz. Wachstum in Luft (—) oder einem Gemisch von 19% O₂, 70% CO und 11% N (---).

Dieses Ergebnis veranlaßte uns nun, in Zukunft mit reinem Kohlenoxyd zu arbeiten. Um die dabei mit Wahrscheinlichkeit auftretende Sauerstoffmangelwirkung in Rechnung setzen zu können, mußten Vergleichskulturen in reinem Stickstoff als unschädlichem Gas zum Vergleich herangezogen werden.

Daß die Kulturen embryonalen Gewebes trotz der ihnen innenwohnenden starken anfänglichen Wachstumskraft und der Möglichkeit, die zum Wachstum nötigen Grundlagen aus den ohne Sauerstoffbeteiligung verlaufenden Spaltungsvorgängen (Gärung) herzuleiten, durch teilweise oder völlige Entziehung von Sauerstoff in ihrem Wachstum beeinträchtigt werden, wissen wir vor allem auf Grund der Untersuchungen von *Burrow*, *Ikamato*, *Wind* wie *Gomirato*. Danach nimmt die Fähigkeit, in praktisch

sauerstofffreier Umgebung zu wachsen, ab, je weiter entwickelt das Embryonalgewebe ist, von dem die Kultur stammt. So weist *Burrow* darauf hin, daß Herzstücke von 4—5 Tage alten Embryonen tagelang, von 10 Tage alten überhaupt nicht in reinem Stickstoff wuchsen. Diese Wachstumsbehinderung wurde bei den Versuchen von *Wind* noch deutlicher, sobald er auch die letzten Reste von Sauerstoff durch Einbringen von Phosphor in die *Carrel*-Flaschen beseitigte, der selbst — wie der eine von uns (*Rix*) ebenfalls in früheren Versuchen bestätigen konnte — in Kontrollkulturen ohne Einfluß blieb. Hatten die verschiedenen Embryonalalter entstammenden Kulturen erst einige Umbettungen durchgemacht, so war kein Unterschied in der Behinderung des Wachstums mehr zu beobachten.

Das Ergebnis dieser Versuchsanordnung (Züchtung in Luft, Stickstoff oder Kohlenoxyd) ist in Abb. 2 ersichtlich, die sich aus den Mittelwerten von 4 gleichsinnigen Versuchsserien zusammensetzt. Die Sauerstoffmangelwirkung in reiner Stickstoffatmosphäre kommt dabei sehr wohl gegenüber dem Wachstum in Luft zum Ausdruck. Bemerkenswerterweise verläuft die Kurve der Kulturen in Kohlenoxyd vollkommen gleichsinnig derjenigen in Stickstoff, so daß also eine spezifische CO-Wirkung auf das Wachstum mit Sicherheit auszuschließen ist, die Verminderung des letzteren vielmehr auf den Sauerstoffmangel bezogen werden kann.

Um ganz sicher zu gehen und einen Vergleich zu haben, wurde in einer weiteren Gruppe dem Stickstoff nunmehr wiederum Sauerstoff in Höhe von 4% (im übrigen auch 4% CO_2) zugegeben. Die Abb. 3 (Mittelwerte aus 2 Versuchsserien) zeigt einmal, daß diese 4% Sauerstoff das ganze Sauerstoffbedürfnis befriedigen können, wie ja nicht anders zu erwarten war. Im großen und ganzen läuft die Stickstoffkurve jedenfalls der in Luft erzielten parallel, zum Teil sind die Werte bei ihr sogar höhere. Demgegenüber liegt die Kohlenoxydkurve (reines Kohlenoxyd) wesentlich tiefer, was aber nach den vorhergehenden Beobachtungen auf den Sauerstoffmangel zurückzuführen ist.

Es war nun weiterhin die Feststellung von Bedeutung, ob sich etwa Kulturen von bereits geschlüpften Hühnchen unterschiedlich verhielten, ob sie insbesondere durch die letzterwähnte Verminderung des Sauerstoffs von 20% auf 4% weniger wachsen würden, da ja die Stoffwechselverhältnisse bei ihnen schon eine wesentliche Umstellung erfahren hatten. Wir setzten daher Herzgewebskulturen von einem 5 Tage alten Hühnchen den gleichen Versuchsbedingungen — Züchtung in Luft, Stickstoff 92% / Sauerstoff 4% / Kohlensäure 4% oder reinem Kohlenoxyd -- aus. Entsprechend den vorher schon erwähnten Angaben von *Burrow*, *Okamoto* wie *Wind* machte sich in der Tat die Sauerstoffminderung auf 4% gegenüber der Luft mit 20% im Gegensatz zu den von embryonalem Gewebe

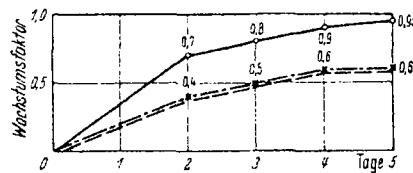


Abb. 2. Embryonale Hühnerherzen. Wachstum in Luft (—), reinem Stickstoff (---) oder reinem Kohlenoxyd (- - -).

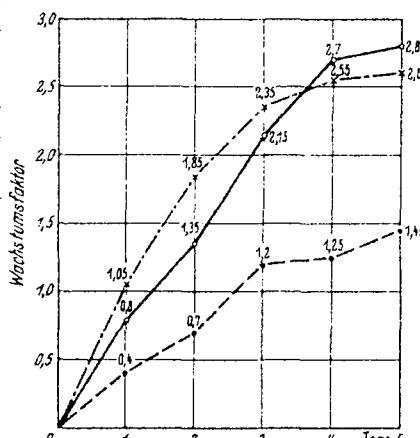


Abb. 3. Embryonale Hühnerherzen. Wachstum in Luft (—), einem Gemisch von 92 % N, 4 % O_2 und 4 % CO_2 (---) oder reinem Kohlenoxyd (- - -).

stammenden Kulturen ganz erheblich bemerkbar (Abb. 4). In Kohlenoxyd blieb sogar das Wachstum gänzlich aus. Doch läßt sich über die Ursache der letzteren Wirkung nichts Bestimmtes sagen, insbesondere eine direkte Zellgiftwirkung nicht mit Sicherheit ausschließen, wenn es auch wahrscheinlicher ist, daß hieran der völlige Sauerstoffmangel Schuld trägt.

Da die einzelnen Tierarten laut vielfacher Angaben in der Literatur unterschiedlich empfindlich gegenüber dem Kohlenoxyd sind, die stärksten Schädigungen vor allem bei den Ratten auftreten sollen, zogen wir noch Herzmuskelausplanzungen der letztgenannten heran, die von embryonalen oder neugeborenen Tieren stammten und den gleichen Gasen bzw. Gasmischungen, wie eben beschrieben (Luft, reines CO oder Gemisch aus 92% N, 4% O₂, 4% CO₂) ausgesetzt wurden. Das Ergebnis ist aus den Abb. 5 und 6 ersichtlich. Danach liegen die Verhältnisse auch bei der Ratte so, daß bei embryonalem Muttergewebe (Abb. 5) eine Sauerstoffverminderung von 20% auf 4% keinen merklichen Einfluß hat. Ebenso liegt die Wachstumskurve bei reinem Kohlenoxyd nur wenig tiefer, was zweifellos nur auf dem noch geringeren Sauerstoffgehalt

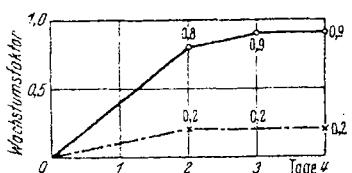


Abb. 4. Herz von 5 Tage alten Hühnchen. Wachstum in Luft (—), einem Gemisch von 92% N, 4% O₂ und 4% CO₂ (---) oder reinem Kohlenoxyd. In dem letzteren keinerlei Wachstum.

ungen, wie eben beschrieben (Luft, reines CO oder Gemisch aus 92% N, 4% O₂, 4% CO₂) ausgesetzt wurden. Das Ergebnis ist aus den Abb. 5 und 6 ersichtlich. Danach liegen die Verhältnisse auch bei der Ratte so, daß bei embryonalem Muttergewebe (Abb. 5) eine Sauerstoffverminderung von 20% auf 4% keinen merklichen Einfluß hat. Ebenso liegt die Wachstumskurve bei reinem Kohlenoxyd nur wenig tiefer, was zweifellos nur auf dem noch geringeren Sauerstoffgehalt

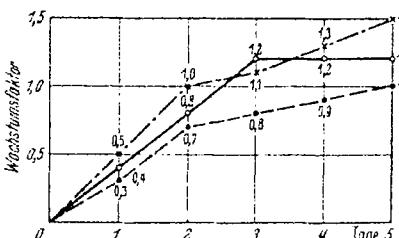


Abb. 5. Embryonales Rattenherz. Wachstum in Luft (—), einem Gemisch von 92% N, 4% O₂ und 4% CO₂ (---) oder reinem Kohlenoxyd (....).

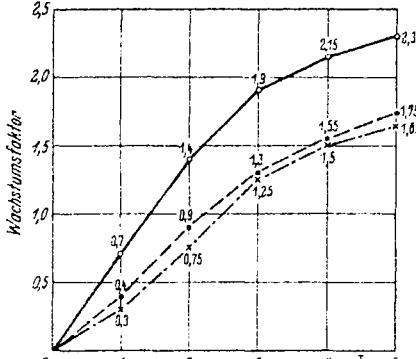


Abb. 6. Herz von einer einige Tage alten Ratte. Wachstum in Luft (—), einem Gemisch von 92% N, 4% O₂ und 4% CO₂ (---) oder reinem Kohlenoxyd (....).

beruht, denn eine spezifische CO-Wirkung hätte bei dem zur Anwendung gebrachten reinen Zustand ganz andere Ausmaße haben müssen. Entsprechend den Beobachtungen beim Huhn macht sich auch bei den von einer *jungen* Ratte stammenden Kulturen bereits eine Verminderung des Sauerstoffgehalts auf 4% deutlich bemerkbar (Abb. 6). Durchschnittlich fällt diese Kurve sogar mit der des Kohlenoxyds zusammen, was wiederum gegen die Spezifität der Wirkung des letztgenannten spricht.

Weiterhin von uns angestellte Versuche mit Mäuseherzen bestätigten ebenfalls die bisherige Beobachtung, daß eine unmittelbare Zellgiftwirkung nicht in Erscheinung tritt. Die Wachstumsheemmung ist auch hier lediglich die Folge des Sauerstoffmangels.

Da man aus vielfachen Beispielen von Menschen und Tieren weiß, daß das Leuchtgas infolge seiner übrigen Bestandteile neben dem Kohlenoxyd noch wirkungsvoller als dieses allein ist, schien es uns lohnend, auch das Leuchtgas in den Rahmen unserer Betrachtungen einzubeziehen. Dieses enthält in Marburg laut Mitteilung des Gaswerkes 2% CO_2 , 2,6% CmHn , 13% CO , 22,9% CH_4 , 56,1% H_2 , 3,4% N_2 , Sauerstoff bis 0,2%. In Vergleich setzten wir bei unseren Versuchen reinen Stickstoff mit dem aus Abb. 7 ersichtlichen Ergebnis. Wie nach den bisherigen Befunden zu erwarten war, ergibt sich ein ganz erheblicher Unterschied bei der Füllung der Gefäße mit Luft einerseits, den Gasgemischen andererseits. Dagegen liegen die beiden Kurven von Leuchtgas und reinem Stickstoff, vor allem in ihren Endpunkten, gar nicht weit auseinander. Der O_2 -Gehalt des Leuchtgases beträgt ja in der Tat auch nur bis 0,2%. Immerhin genügt diese geringe Menge, um ein etwas besseres Wachstum zu gewährleisten, jedenfalls wirkten sich im Leuchtgas weder das Kohlenoxyd (13%) noch die übrigen Bestandteile merklich aus.

Wie wir wissen, ist die zur Befriedigung des Atmungsbedürfnisses der Kulturen notwendige Sauerstoffmenge sehr gering. Sie beträgt nach den Angaben von Wind für ein Gewebestück von 0,01 mg Trockengewicht etwa $7,5 \cdot 10^{-2}$ cmm Sauerstoff in der Stunde, d. h. 3,5 bis 4 cmm pro Milligramm und Stunde. Nun ist in dem Kulturmedium ja auch Sauerstoff gebunden, der unter Umständen und rein überlegungsmäßig ein geringes Zelleben gewährleisten könnte, selbst wenn sich in dem freien Raum der Gefäße kein solcher befindet. Wir sind uns zwar bewußt, daß diese Tatsache wohl praktisch kaum ins Gewicht fallen wird, immerhin versuchten wir, das Kulturmedium ebenfalls weitgehend mit Kohlenoxyd abzusättigen, um so außerdem eine noch nähere Berührung mit ihm herbeizuführen. Wir durchströmten zu diesem Zweck den zur Verwendung gelangenden Milzextrakt, während sich das

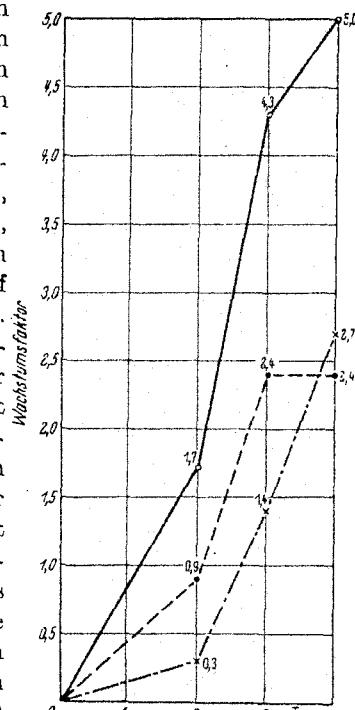


Abb. 7. Embryonales Hühnerherz (14 Tage). Wachstum in Luft (—), Leuchtgas (---) oder Stickstoff (—·—).

Blutplasma wegen der Gerinnungsgefahr dazu nicht eignet. Ein so vorbehandelter Extrakt war jedoch nicht brauchbar, da er nach der Mischung mit dem Heparinplasma dieses nicht zur Gerinnung brachte. Über den Grund dieser Erscheinung können wir Näheres noch nicht aussagen, doch sind bereits entsprechende Untersuchungen im Gange.

Schlußbetrachtung.

Aus unseren Versuchen geht mit Eindeutigkeit hervor, daß die von Embryonen und neugeborenen Tieren stammenden Herzgewebekulturen keine Beeinträchtigung spezifischer Natur selbst durch höchste Mengen (teilweise 100%) von Kohlenoxyd erfahren. Eine Wachstumshemmung tritt erst in Erscheinung, wenn der Gehalt an Kohlenoxyd so erhöht wird, daß zwangsläufig der Sauerstoffgehalt wesentlich vermindert ist. Sie ist somit lediglich auf den Sauerstoffmangel zurückzuführen und um so stärker, je ausgereifter das Material war, von dem die Mutterstückchen stammten. Der Grund dafür, daß eine spezifische Beeinflussung des Wachstums nicht in Erscheinung tritt, kann zwanglos auf die vor allem durch die Versuche von O. Warburg gewonnene Erkenntnis zurückgeführt werden, daß embryonales Gewebe in der Lage ist, seine Kräfte aus den anaeroben Spaltungsvorgängen, nämlich der anaeroben Zuckerspaltung zu beziehen. Damit ist gleichzeitig gesagt, daß sehr wohl eine Beeinflussung des Atmungsferments vorliegen kann, selbst wenn die Wachstumsvorgänge dadurch nicht beeinträchtigt werden, weil eben die nötigen Kräfte mehr als beim erwachsenen Gewebe aus der Zuckerspaltung bezogen werden, die erfahrungsgemäß durch Kohlenoxyd nicht beeinflußt wird. Es wäre somit weiterhin verfehlt, etwa auf Grund des negativen Ergebnisses an den *Gewebekulturen* bei der Kohlenoxydvergiftung des wachsenden und erwachsenen Organismus die unmittelbare Zellgiftwirkung in wesentlicher Rolle zu leugnen, um so weniger als wir das am stärksten der Schädigung anheimfallende Organ — das Gehirn — auf diese Weise nicht der Untersuchung unterziehen konnten. Unsere Versuche können vielmehr lediglich über das embryonale Gewebe etwas aussagen, dagegen spricht auch nicht das Ergebnis bei den von wachsenden bzw. neugeborenen Tieren (Huhn, Ratte und Maus) stammenden Explantaten, da hier das Gewebe ebenfalls als in gewissem Grade entdifferenziert anzusehen ist. Ein unterschiedliches Verhalten von Huhn, Ratte wie Maus war in dieser Richtung nicht festzustellen. Die neben dem Kohlenoxyd im Leuchtgas vorhandenen Stoffe, die sonst eine so wesentliche Rolle bei der entsprechenden Vergiftung spielen, bleiben bei den Gewebekulturen von uns verwandter Art ebenfalls unwirksam. Auch hier ist der beobachtete Ausschlag lediglich auf den Sauerstoffmangel zurückzuführen.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Einwirkung von Kohlenoxyd und Leuchtgas auf Herzgewebskulturen von Huhn, Ratte und Maus (Embryonen und neugeborene Tiere) beobachtet.
 2. Ein spezifischer Einfluß auf das Wachstum ist in allen drei Fällen nicht festzustellen.
 3. Die in Erscheinung tretende Wachstumsverminderung ist lediglich auf den Sauerstoffmangel zurückzuführen und um so stärker, je ausgereifter das Muttergewebe ist.
-

Schrifttum.

Bisceglie u. Juhasz-Schäffer: Die Gewebezüchtung in vitro. Berlin 1928. — *Büchner u. v. Lucadou*: Beitr. path. Anat. **93**, 169 (1934). — *Büchner u. Luft*: Verh. dtsch. path. Ges. Breslau 1936, 102. — *Burrow*: Amer. J. Physiol. **68**, 110 (1924). — *Carrel*: Gewebezüchtung. Handbuch der Biologie der Gewebezellen in vitro. München 1930. — *Christ*: Beitr. path. Anat. **94**, 111 (1934/35). — *Congdon*: Anat. Rec. **9**, 343 (1915). — *Gomirato*: Arch. exper. Zellforsch. **15**, 186 (1934). — *Hiller*: Z. Neur. **96** (1924). — *Ikamoto*: Biochem. Z. **162**, 52 (1925). — *Laser*: Z. Krebsforsch. **39**, 384 (1933). — Arch. exper. Zellforsch. **15**, 52 (1934). — *Lewin*: Die CO-Vergiftung. Berlin 1920. — *Rix*: Virchows Arch. **283**, 801 (1932); **297**, 93 (1936). — Arch. exper. Zellforsch. **13**, 517 (1932/33). — *Rix u. Ehrhardt*: Verh. dtsch. path. Ges. Breslau 1936. — *Schmidt*: Das Kohlenoxyd. Leipzig 1935. — *Warburg*: Biochem. Z. **189**, 354 (1927). — *Wind*: Biochem. Z. **179**, 384 (1926).
