

Aus dem Histologisch-Embryologischen Institut der Medizinischen Universität
in Budapest (Vorstand: Prof. Dr. med. I. Törö)

Die Rolle der Assimilations-Adaptationsfaktoren in der Entwicklung von Heterotransplantaten

Von

G. CSABA

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. Juli 1958)

In früheren Experimenten untersuchten wir in der Gewebekultur, wie weit phylogenetisch und ontogenetisch verschiedene Gewebe auf Nährböden mit artfremdem Eiweiß überleben können.

In diesen Experimenten betrachteten wir die Gewebekultur sozusagen als ein Transplantationsmodell, in welchem keine Immunreaktionen auftreten, die Gewebe also ausschließlich den Einwirkungen des fremden Milieus ausgesetzt sind. Wir konnten feststellen, daß sich die erwachsenen, reifen Gewebe auf einem autologen Nährboden in der Mehrzahl gut entwickelten. Auf Nährböden, die ausschließlich Hühnerserum enthielten, gediehen die Gewebe ebenfalls gut. Dagegen gingen die Mehrzahl der reifen Säugetiergewebe auf Nährböden, welche nur Pferdeserum, Menschenserum oder Sera anderer Säugetiere enthielten, zugrunde. Offenbar können sich die Gewebe nicht alle artfremden Eiweißstoffe nutzbar machen. Wenn wir auch keine systematischen Untersuchungen im zoologischen Sinne durchgeführt haben, so glauben wir doch auf Grund unserer sehr zahlreichen und zeitlich ausgedehnten Experimente mit Geweben von Fisch, Molch, Huhn, Maus, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen und Mensch feststellen zu dürfen, daß im allgemeinen Gewebe von phylo- bzw. ontogenetisch niedrigen Tieren fremdes Eiweiß viel besser assimilieren können als entsprechende Gewebe höherstehender Tiere bzw. reife Gewebe erwachsener Tiere. In diesen Experimenten wuchs von allen Geweben erwachsener Säugetiere das Milzgewebe auf artfremden Nährböden am besten, während Lebergewebe solche Nährböden vielleicht am wenigsten vertrug.

Deshalb benutzten wir damals für die weiteren *in vivo-Versuche* Milzgewebe. In einer Versuchsgruppe wurde Milzgewebe von phylogenetisch tieferstehenden Tieren (Molch, Huhn) in splenektomierte Mäuse und Ratten heterotransplantiert, wobei die Implantate in etwa 20% der Fälle am Leben blieben⁸. In einer anderen Versuchsserie wurde heterologes Säugermilzgewebe — nach vorangehender Adaptation in der Gewebekultur an das Serum des Empfängers — in Mäuse implantiert. Bei diesen Experimenten mit vorangehender Adaptation blieb das implantierte Milzgewebe in 50% der Fälle am Leben⁹. Diese Experimente zeigen u.E., daß den Assimilations-Adaptations-Faktoren für das weitere Schicksal der Transplantate eine viel wichtigere Rolle zukommt, als bisher angenommen wurde.

In den in der Folge beschriebenen Experimenten wurde das Verhalten von Lebergewebe phylogenetisch verschieden entwickelter Tiere vor allem in Heterotransplantationen und vergleichsweise in der Gewebekultur untersucht.

Material und Methoden

Versuchsanordnung. Wir haben 3 Versuchsserien durchgeführt. In allen Versuchsserien wurde Lebergewebe in die vordere Augenkammer von Ratten transplantiert. In der Versuchsgruppe 1 transplantierten wir Lebergewebe von Ratten in die Augenkammer desselben Tieres (Autotransplantate). In der Versuchsgruppe 2 transplantierten wir Lebergewebe von Ratten in die Augenkammer von nicht verwandten anderen Ratten (Homotransplantate). In der Versuchsgruppe 3 transplantierten wir Lebergewebe vom Fisch (*Aequidens latifrons* Steindachner), Molch (*Triturus cristatus*), Huhn und Meerschweinchen in die Augenkammer von Ratten (Heterotransplantate). Zur Kontrolle wurden Proben von allen implantierten Lebern auch in Gewebekulturen gezüchtet. Außerdem haben wir einige *Triturus* Leber-Transplantate zu verschiedenen Zeitpunkten aus der Augenkammer wieder explantiert und in Gewebekulturen weitergezüchtet. Sowohl die Spender als auch die Empfänger waren erwachsene Tiere. Die Beobachtungszeiten betrugen bei allen Versuchsgruppen bis zu 7 Wochen. Insgesamt wurden 130 Rattenaugen bearbeitet.

Methodik der Transplantation. Wir wählten für unsere Experimente die Transplantation in die vordere Augenkammer, weil diese Methode besonders günstige Möglichkeiten sowohl für die Beobachtung des Transplantates selbst wie auch seiner Umgebung bietet²⁷. Hier sind die Transplantate selbst mit unbewaffnetem Auge gut zu erkennen. Natürlich können sogar bei Untersuchungen mit der Lupe nur die Konturen des Transplantates wahrgenommen werden. Mit einem besonderen Mikroilluminator können aber auch Zellgruppen und sogar auch vereinzelt charakteristische Zellen gut beobachtet werden. Für solche Untersuchungen verwendeten wir den von VADÁSZ und HORVÁTH verbesserten Mikroilluminator nach BARTHA. Die Glasnadel des Mikroilluminators wird ohne Verletzung der Gewebe hinter dem Bulbus in die Orbita eingeführt. Wir verwendeten als Versuchstiere Albino-Ratten, bei denen der Illuminator das ganze Auge so stark beleuchten kann, daß es für Untersuchungen mit mittleren Vergrößerungen durchaus genügt. Auf diese Weise können die Grenzen des Transplantates, Zellwanderungen, Grad und Typus der Vascularisation sowie einzelne Pigmentzellen beobachtet werden. In den Versuchen wurde die Cornea in unmittelbarer Nähe des Limbus corneae eröffnet und etwa 1 mm³ große Gewebestücke implantiert. Bei der Transplantation wurde streng auf Asepsis geachtet. Das Verhalten der Gewebe wurde mit dem Mikroilluminator kontrolliert und die die Implantate enthaltenden Augen zu verschiedenen Zeitpunkten histologisch untersucht.

Methodik der Gewebekultur. Wir arbeiteten mit Maximow-Kulturen und verwendeten mit Hühner-Embryonalextrakt koaguliertes Hühnerplasma. Waschflüssigkeit für Homoiotherme: Rattenserum, Ratten-Embryonalextrakt, Warmblüter-Tyrode im Verhältnis 1:3:6; für Poikilotherme dasselbe, aber auf diese isotonisch eingestellt. Das aus der Augenkammer wieder explantierte *Triturus*-Gewebe wurde jedoch mit derselben Flüssigkeit gewaschen wie die Gewebe der Homoiothermen. Wie wir in einer anderen Arbeit ausführen⁷, ernähren sich die Gewebe bei einer solchen Methodik praktisch von Ratteneiweiß, d.h. wie die Implantate in der Augenkammer.

Histologische Aufarbeitung. Zur histologischen Aufarbeitung werden die Augen herausgenommen, in toto in Carnoy fixiert und Serienschnitte angefertigt.

Befunde

Autotransplantate. Mit Hilfe des Mikroilluminators sah man nach einer Woche eine schmale Wachstumszone. Nach 2 Wochen war der Rand des Transplantates verschwommen. Histologisch waren stark

pyroninophile, lebhaft wuchernde Gallengangsepithelien sichtbar, daneben überall zugrunde gegangenes Leberparenchym, an manchen Stellen bereits Inseln von stark pyroninophilen Leberzellen, viele Makrophagen, aber keine Plasmazellen. Nach 3 Wochen war die Wachstumszone noch stärker ausgebildet. Nach Ablauf von 4 Wochen können histologisch charakteristische Leberzellbalken beobachtet werden, deren Zahl bis

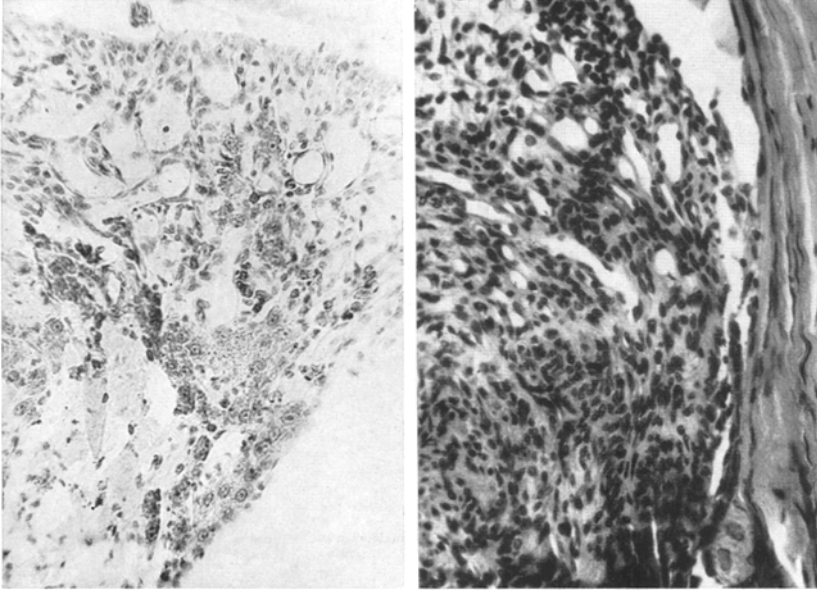


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 1. 6 Wochen altes Autotransplantat. Ausgebildete Leberzellbalken. 200 \times . Färbung: Methylgrün-Pyronin (MGP.)

Abb. 2. 4 Wochen altes homologes Transplantat. Destruktion der Gewebe. 200 \times . Färbung: H.E.

zur 6. Woche zunimmt (Abb. 1). Bis zum Ende der 6. Woche erschienen keine Plasmazellen.

Homotransplantate. Mit dem Mikroilluminator sieht man schon am Ende der 1. Woche Blutgefäße zum implantierten Gewebe verlaufen. Das Implantat ist zu diesem Zeitpunkt noch so groß wie zur Zeit des Eingriffes. Nach 2 Wochen ist es viel kleiner geworden, sein Rand ist scharf. Histologisch findet man reichlich Bindegewebe, Capillaren und Plasmazellen. Leberzellen können nicht festgestellt werden. Nach 4 Wochen ist die Vascularisation stärker, das Gewebestückchen klein und abgerundet; das histologische Bild ändert sich nur insofern, als die nach 2 Wochen seltenen Makrophagen und auch die Plasmazellen vermehrt sind. In manchen Fällen bilden die Plasmazellen eine Barriere rund um das Transplantat (Abb. 2). Nach 6 Wochen ist das Transplantat weiter geschrumpft ohne Änderung im histologischen Aufbau.

Heterotransplantate. Bei der Transplantation von Lebergewebe erwachsener *Meerschweinchen* kann man bereits nach der 1. Woche eine Verkleinerung des Implantates feststellen. Man sieht ein radiär verlaufendes Gefäßnetz und auch im Inneren des Gewebestückchens Capillaren^{16, 23, 24}. Das Implantat wird in den ersten 2 Wochen von Bindegewebe durchsetzt, und die Makrophagen und Plasmazellen erscheinen in viel größerer Zahl als bei Homotransplantaten. Das Gewebestückchen rundet sich vollkommen ab. In der 4. Woche nimmt die Zahl der Makrophagen und Plasmazellen noch mehr zu, was aber

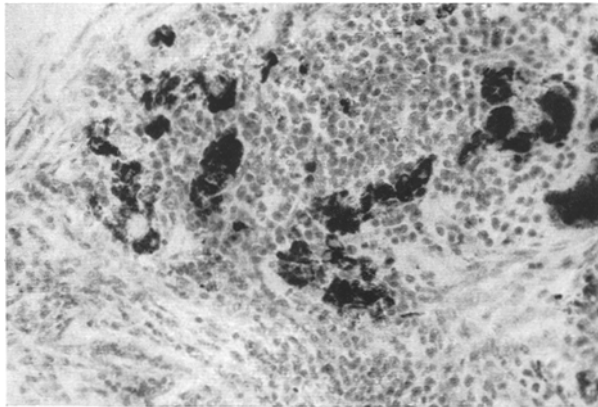


Abb. 3. 4 Wochen altes Triturusleber-Heterotransplantat. Pigmentzellen und pyroninophile Leberzellen gut sichtbar. 100 \times . MGP.

am Bild der vollkommenen Destruktion, das bereits in den ersten 2 Wochen ausgeprägt ist, nicht viel ändert. Nach 6 Wochen ist das Bild dasselbe.

Bei der Transplantation von Lebergewebe erwachsener *Hühner* kann mit dem Mikroilluminator kein Wachstum festgestellt werden. Auch im histologischen Bild zeigen sich keine Anzeichen irgendeines Wachstums. Das Bild entspricht etwa dem von Homotransplantaten. Auch hier wird das Transplantat von vielen Plasmazellen umgeben.

Bei der Implantation von *Triturus*-Leber in die Augenkammer der Ratte ist nach einer Woche eine ausgesprochene Migration der Pigmentzellen sichtbar, und der Rand des Transplantates wird verschwommen. Bei der histologischen Aufarbeitung der Augen nach 2 Wochen konnten Leberzellen mit starker Pyroninophilie in großer Zahl gefunden werden. Diese liegen im Zentrum des Transplantates. Ihr Kern ist normal, die Zellen sehen überhaupt wie normale *Triturus*-Leberzellen aus. Nur wenige Pigmentzellen bleiben im Zentrum, die meisten wandern gegen den Rand des Implantates und liegen hier in großen Massen. Nach

4 Wochen ist die Migrationszone noch breiter, im histologischen Bild ist aber keine Veränderung wahrnehmbar (Abb. 3). Nach 5—6 Wochen ist die Auswanderungszone noch ausgesprochener, das histologische Bild dem normalen Aussehen der Triturus-Leber weitgehend ähnlich.

Nach 5 Wochen wurde die Triturus-Leber aus der Augenkammer der Ratte in die Gewebekultur explantiert und dort weiter beobachtet. (Methodik wie beschrieben, Warmblütler-Tyrodolösung!) Nach 48 Std begann das Explantat zu wachsen, es begann eine starke Migration der Pigmentzellen²⁶. Zwischen den Pigmentzellen lagen aber auch Leberzellen, Lymphocyten und Makrophagen (Abb. 4). Beachtenswert ist, daß sich die Triturusleber-Kultur in einem hyper-tonischen Nährboden gut entwickelte, was auf eine bedeutende Adaptationsfähigkeit hinweist.



Abb. 4. Aus der vorderen Augenkammer der Ratte nach 5 Wochen in die Gewebekultur explantierte Triturus-Lebergewebe. 72 Std alte Kultur. Lebend photographiert

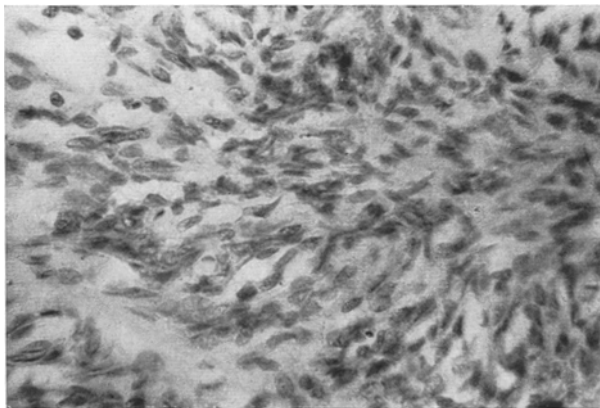


Abb. 5. Wachstum eines Fischlebertransplantates im Rattenauge. 200 \times . MGP.

Die Leber des *Fisches* (*Aequidens latifrons* Steindachner) wuchs in der vorderen Augenkammer der Ratten sehr intensiv. Das Wachstum

begann bereits in den ersten Tagen. Nach einer Woche bedeckte das Gewebe die ganze innere Oberfläche der Cornea, was auch durch das histologische Bild bestätigt wurde. Die pigmentierten Zellen, die aber viel weniger dunkel sind als die entsprechenden Zellen der Triturus-leber, können noch nach 6 Wochen in der Wachstumszone der Fisch-leber gefunden werden (Abb. 5).

Besprechung

Die Experimente zeigten, daß ausschließlich die Epithelzellen der Gallengänge von *Autotransplantaten* und die Parenchym- und Pigmentzellen der Triturus- und Fischleber bei *Heterotransplantationen* in die vordere Augenkammer der Ratte lebensfähig blieben und sich vermehrten. Im Gegensatz zu KNAKE¹⁸ gelang es uns selbst in Autotransplantaten nicht und ebensowenig in Homotransplantaten, die Parenchymzellen der erwachsenen Säugerleber gesund und in voller Differenzierungshöhe zu erhalten. Wir können die Tatsache, daß in etwa 2 Wochen alten Autotransplantaten wieder Leberzellen erscheinen, nur so deuten, daß sich diese aus den Epithelzellen der Gallengänge entwickeln. Eine direkte Beobachtung dieses Vorganges gelang uns aber nie. Die Leberzellen der transplantierten erwachsenen Säugerleber verloren ihre Pyroninophilie und starben ab. Diese Erscheinung zeigt das Lebergewebe von Säugetieren sehr oft auch in der Gewebekultur. Die Gallengangsepithelien der Autotransplantate verhielten sich dagegen so wie in der sich regenerierenden Leber. Auch in Explantationsexperimenten konnten wir feststellen, daß das Leberparenchym abstirbt und die Regeneration von den Gallenwegen aus beginnt. Ganz ähnlich dürfte es sich mit der in die Augenkammer implantierten autologen Leber verhalten. Die Zellen der Gallengangsepithelien verloren nämlich ihre Pyroninophilie überhaupt nicht. Nach 2 Wochen konnte mit Ausnahme der bereits an vereinzelt Stellen neu erschienenen Leberzellen nur in den Zellen der Gallengänge eine Pyroninophilie festgestellt werden. Die Leberzellen nehmen nach der 4. bzw. 6. Woche stark an Zahl zu und bilden Inseln und Balken. Es scheint uns offensichtlich, daß die ursprünglichen Leberzellen infolge von lokalen Ernährungsstörungen bzw. der Traumatisation, also bereits in der 1. Phase, zugrunde gingen. Dagegen zeigte das Gallengangsepithel eine besondere Wachstums- und Umwandlungsfähigkeit. Wir fanden auch, daß sogar in Autotransplantaten sehr viele Makrophagen erschienen, was u.E. darauf hinweist, daß die Makrophagen nicht mit Immunreaktionen bzw. mit der Einführung körperfremden Eiweißes in Beziehung stehen, sondern, daß sie bei dem Fortschaffen der abgestorbenen Gewebe — in diesem Falle der Leberparenchymzellen — eine Rolle spielen.

Bei der Homo- und Heterotransplantation von Säugerlebern war die *Plasmazellen-Reaktion* sehr intensiv. Die Invasion der Plasmazellen wird allgemein als eine Erscheinung angesehen, die auf den Ablauf eines immunbiologischen Prozesses hinweisen kann, und wir glauben, daß auch unsere Befunde diese Annahme bestätigen. In dieser Frage möchten wir uns den Anschauungen von EHRICH u. a. anschließen^{10,15}. In unseren heterologen Säugertransplantaten erschienen immer bedeutend mehr Plasmazellen als in den homologen, während wir in den Autotransplantaten nie Plasmazellen fanden. Dies entspricht sehr gut den theoretischen Erwartungen. Dagegen war die Zahl der Makrophagen auch in Homo- und Heterotransplantaten nicht größer als bei den Autotransplantaten.

Besonders interessant sind die Erscheinungen bei der Transplantation von Triturusleber. In 2 und 4 Wochen alten Implantaten wurden in den Randpartien Pigmentzellen und auch stark pyroninophile und — wie Gewebekulturen zeigten — auch lebensfähige Leberzellen gefunden. Dieser Befund ist um so bedeutsamer, als sich während 5 Wochen bereits die Immunreaktion hätte abspielen und demzufolge das implantierte Gewebe hätte zugrunde gehen müssen. Dabei waren die Bedingungen für die Triturusleber außerordentlich ungünstig, da die Temperatur für sie zu hoch und das flüssige Milieu hypertonisch war, wobei Hypertonie gerade Epithelien besonders schädigt¹⁷. Der Unterschied zwischen dem Verhalten der heterologen Fisch-, Triturus- und Meerschweinchenleber ist also offensichtlich.

Was aber kann diesen Unterschied verursachen? Auf Grund früherer Versuche⁸ nehmen wir an, daß die Heterotransplantate 3 Phasen durchmachen und die ungünstigen Umstände aller 3 Phasen überwinden müssen, um am Leben zu bleiben. Diese Phasen sind: 1. Die Phase der Traumatisation und der lokalen Ernährungsstörungen, 2. die Adaptations-Assimilationsphase und 3. die Phase der Immunreaktion.

Da diese *erste Phase*, d.h. die lokalen Ernährungsstörungen, in allen unseren Versuchen gleich waren, kann sie für die Unterschiede in der Entwicklung der verschiedenen Gewebe nicht verantwortlich sein.

Dann folgt die *zweite Phase*, die Assimilations-Adaptationsphase. Das Gewebe muß individual- oder artfremde Eiweißstoffe als Nahrung benutzen. Diesbezüglich möchten wir auf eigene Experimente über die Gewebeernährung verweisen⁷. Das Nutzbarmachen von körperfremden „sehr komplexen“ Eiweißen, d.h. Eiweißen von phylogenetisch hochstehenden, erwachsenen Tieren, ist eine außerordentlich schwierige Aufgabe für die meisten adulten Gewebe höherer Säuger, und in einem bedeutenden Prozentsatz können sie diese Aufgabe gar nicht lösen. Damit hängt es zusammen, daß im allgemeinen in den Gewebekulturen ein Nährmedium verwendet wird, welches Hühnerserum oder einen

Embryonalextrakt, meistens Hühnerembryonalextrakt, enthält. Nach unseren Erfahrungen enthalten Hühnerserum und die Sera von phylogenetisch tieferstehenden Tieren solche Eiweißkörper, die in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle zur Ernährung adulter Säugergewebe geeigneter sind als selbst homologe Sera. Zu den hinsichtlich ihrer Ernährung äußerst anspruchsvollen Geweben gehört auch die in unseren Versuchen verwendete Leber erwachsener Säugetiere.

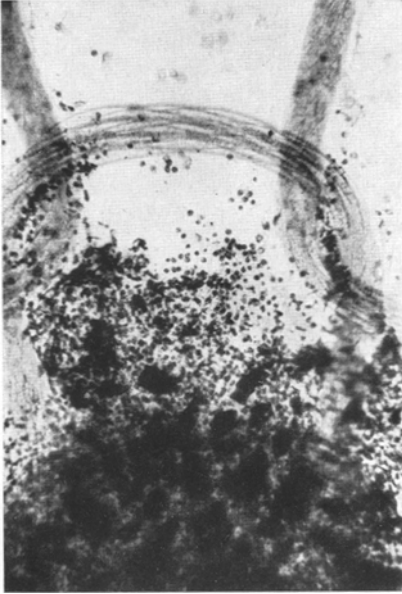


Abb. 6. Triturusleber auf Rattenserum in der Gewebekultur. 48 Std alte Nyloncelloidinkultur. Färbung: Bartha-Hämatoxylin

Diese Tatsachen erklären die meisten Erscheinungen, die wir im Verlaufe dieser Versuche beobachteten, und zwar sowohl, daß die Transplantate aus primitiveren Tieren am Leben bleiben, als auch, daß die Homo- und Hetero-Transplantate höher entwickelter Tiere zugrunde gehen. Wir haben zur Kontrolle Proben von allen in das Auge implantierten Lebern auch mit Rattenserum gezüchtet.

Dabei stellten wir fest, daß weder die Leber der erwachsenen Ratte noch die des Meerschweinchens und des Huhnes wuchs, sondern bald zugrunde ging. Dagegen blieb die Triturus- und Fischleber am Leben (Abb. 6). Ebenso blieben auch die zur Kontrolle der Autotransplantate angesetzten Gewebekulturen am Leben. Bei diesen

Kontrollen modifizierten wir aber insofern die Versuchsanordnung, als wir nicht Gewebestückchen mit autologem Serum züchteten, sondern Stücke von Regenerationslebern in homologem Serum auspflanzten. Wir sind nämlich der Ansicht, daß bei den autologen Transplantaten sehr wichtig ist, daß es sich hierbei um Regenerationslebern handelt. Also gingen wir bei den Kontrollen folgendermaßen vor: Unter Einhaltung strenger Asepsis und der üblichen Kautelen verletzten wir die Leber der Ratte mit einem einfachen Schnitt, nähten die Bauchdecke danach wieder zu, eröffneten 48 Std später wieder das Tier und explantierten jetzt Gewebe aus der unmittelbaren Nähe der Verletzungsstelle in die Gewebekultur mit homologem Rattenserum. Auch in diesen Gewebekulturen gingen nach unserer Beobachtung die Leberparenchymzellen zugrunde, aber es erfolgte eine Regeneration aus dem Epithel der Gallengänge.

Vergleichen wir nun die Transplantationsergebnisse mit den Kontrollen in der Gewebekultur, so zeigt sich, daß von den untersuchten Geweben alle, welche in vitro am Leben blieben, auch in vivo lebensfähig waren. Auch umgekehrt trifft es zu: Diejenigen Gewebe, die in vitro zugrunde gingen, gingen auch in vivo zugrunde. Dieser Umstand

scheint uns ein wichtiger Hinweis darauf zu sein, daß in unseren Transplantationsexperimenten nicht Immunprozesse, sondern Ernährungsfaktoren zum Absterben der Gewebe führten.

Untersuchen wir nun die *dritte Phase*. In dieser tritt mit ganzer Kraft die humorale und celluläre Immunreaktion des Organismus auf. Zunächst müssen wir erwägen, ob die Verhältnisse in der vorderen Augenkammer der Ratte überhaupt das Zustandekommen einer Immunreaktion ermöglichen. Sicher ist, daß die unverletzte Augenkammer nicht die gleichen Milieufaktoren bietet wie andere Stellen des Organismus.

Die Zusammensetzung des Kammerwassers im unverletzten Auge kann am ehesten mit der Zusammensetzung des Liquors verglichen werden^{12, 29}. Verglichen mit dem Blutserum enthält das primäre Kammerwasser nur sehr wenig γ -Globuline, dagegen sind Albumine mit kleinerem Molekulargewicht in größerem Prozentsatz vorhanden³⁰. Dennoch darf nicht gefolgert werden, daß im Kammerwasser die zu den γ -Globulinen gehörenden Immunstoffe immer und absolut fehlen und die günstigen Ergebnisse bei Transplantationen auf diesen Umstand zurückzuführen wären. Nach SURE und SUDEMACK²⁸ ändert sich die Zusammensetzung des Kammerwassers nach Verletzung des Auges, bei gewissen pathologischen Vorgängen und auch nach parenteraler Verabreichung von fremden Eiweißstoffen. So beträgt der Globulingehalt des Kammerwassers im gesunden Auge des Menschen 4,1%, während wir im Kammerwasser 3 Wochen nach einer Perforatio corneae 17,6%, bei Ulcus serpens corneae 20,5%, bei einer exsudativen Iridocyclitis 25,8% γ -Globuline finden (Prozente des Gesamteiweißes). Also kann trotz der Blut-Kammerwasserschranke eine freie Zirkulation der Immunstoffe eintreten²⁸ und der γ -Globulingehalt des Kammerwassers sogar denjenigen des Blutserums in gewissen pathologischen Fällen übertreffen. Ganz ähnlich sind die Verhältnisse im Rattenauge.

Das durch die Implantation verursachte Trauma genügt zur Durchbrechung der Blut-Kammerwasserschranke, und der γ -Globulingehalt des Kammerwassers nach einem solchen Implantationstrauma genügt nach den theoretischen Erwartungen durchaus zum Zustandekommen von Immunprozessen. Auch das histologische Bild, besonders die Anwesenheit von Plasmazellen (s. oben), spricht u.E. für eine Immunreaktion. Dabei wäre zu erwarten gewesen, daß bei Implantaten aus phylogenetisch tieferstehenden Tieren (Fisch, Triturus) die celluläre Immunreaktion viel ausgesprochener auftreten würde, da ja Eiweißkörper von ganz verschiedenen Arten in das Auge der Ratte gebracht wurden²². Tatsächlich fanden wir aber, daß in der Umgebung von Triturus- und Fischtransplantaten Plasmazellen nur etwa in gleicher Zahl wie bei den homologen Säugetiertransplantaten vorhanden waren. Wir erklären uns diese Tatsache damit, daß die Gewebe phylogenetisch tieferstehender Formen nicht nur eine größere Assimilationsfähigkeit besitzen, sondern auch einen weniger starken Antigencharakter haben. Diese Erklärung unterstützen die Befunde von BRAUS (zit. ²¹), daß nach parenteraler Verabreichung von Amphibienlarven-Homogenisaten in der Ratte keine Immunstoffe nachgewiesen werden konnten. Für diese

Annahme sprechen auch eigene, bisher unveröffentlichte Untersuchungen, wonach in der Leber des Fisches und des Molches das Verhältnis von Eiweiß-Stickstoff und Nichteiweiß-Stickstoff zugunsten des letzteren bedeutend verschoben ist.

Aus diesen Versuchen ist also ersichtlich, daß für das Schicksal der Transplantate nicht nur die Immunreaktionen unserer 3. Phase von Bedeutung sind, sondern daß bereits die 2. Phase eine entscheidende Rolle spielen kann. Aus den bisherigen Versuchen scheint hervorzugehen, daß das Wesentliche bei der 2. Phase darin besteht, ob ein Transplantat die fremden Eiweiße des Wirtes assimilieren, also sie sich als Nährstoff zunutze machen kann oder nicht. Nach unseren Beobachtungen spielen sich diese nicht näher bekannten, als 2. Phase bezeichneten biochemischen Vorgänge zeitlich noch vor der Vascularisation der Transplantate von dem Limbus corneae aus ab. Schon der Ernährungsfaktor kann also das Schicksal der Transplantate entscheiden. In unseren früheren Versuchen war es die aus primitiveren Tierformen stammende Milz, in den jetzigen Versuchen ist es Lebergewebe, welches artfremde Eiweiße in genügender Weise assimilieren konnte und auf diese Weise am Leben blieb, wobei seinem Fortleben selbst das Auftreten einer starken Immunreaktion keinen Abbruch tat^{1,3}. Alle jene Gewebe dagegen, welche die artfremden Eiweiße nicht oder nur unzureichend assimilieren konnten, gingen zugrunde.

Es erscheint uns also fraglich, ob ausschließlich die Immunreaktion (3. Phase) für die Zukunft eines Transplantates verantwortlich ist. Besonders entschieden wird diese Annahme von MEDAWAR und seiner Schule, DEMPSTER* und der Mehrzahl namhafter Transplantationsforscher besonders in den anglosächsischen Ländern vertreten^{11-14, 24, 25}. Nur wenige Autoren sprechen sich gegen die Immunchypothese aus. In dem uns zugängigen Schrifttum ist KNAKE diejenige, die auf Grund ausgedehnter eigener Versuche den immunbiologischen Vorgängen keine entscheidende Rolle zumessen zu dürfen glaubt und mit Bestimmtheit ausspricht, daß das Veröden homo- wie heterologer Transplantate in ihren eigenen Versuchen nicht auf immunbiologische Vorgänge zurückzuführen sei, sondern auf die mangelhafte Gefäßversorgung körperfremder Transplantate^{19, 20}. Auch wir glauben uns in der Beurteilung der Rolle der Immunreaktionen dieser Meinung anschließen zu müssen und lehnen die Anschauung ab, wonach vor allem Immunreaktionen das Schicksal der Transplantate bestimmen würden. Die Immunreaktion kann nicht allein verantwortlich sein, erstens weil sich diese in einer bedeutenden Zahl der Fälle gegen bereits in der 2. Phase abgestorbenes Gewebe richtet. Das Zugrundegehen der Gewebe in der

* Aus einer bereits nach Abschluß des Manuskriptes erhaltenen brieflichen Mitteilung von DEMPSTER entnehme ich, daß auch er den Immunreaktionen nur bei der Zerstörung des zweiten Transplantates eine entscheidende Rolle zumißt.

2. Phase kann ja nicht der Immunreaktion zur Last gelegt werden. Die Immunreaktion kann zweitens deswegen nicht allein verantwortlich sein, weil jene Gewebe, welche in der 2. Phase imstande sind, Regenerationserscheinungen aufzuweisen und artfremde Eiweiße auszunützen, in der 3. Phase auch fähig sein können, der Immunreaktion zu widerstehen. Daraus folgt, daß neben einer guten Methodik der Auswahl der zu transplantierenden und transplantierbaren Gewebe auch bei der Transplantation in die vordere Augenkammer eine ausschlaggebende Rolle zufällt. Wir stimmen hier ganz mit GREENE überein¹⁶.

Natürlich dürfen die 3 Phasen nicht so betrachtet werden, als ob man sie, wenn auch nur rein zeitlich, sauber voneinander trennen könnte, da sie fließende Übergänge zeigen. Die immunbiologische Reaktion beginnt kurz nach der Implantation zu einem Zeitpunkt, in dem das Transplantat noch mit Ernährungsschwierigkeiten zu kämpfen hat. Je früher und je schneller es diese Schwierigkeiten überwinden kann, um so besseren Widerstand kann das Transplantat der am Anfang noch schwachen Immunreaktion leisten, und um so stärker kann es ihr dann widerstehen, wenn diese danach mit ganzer Intensität auftritt.

Gleichzeitig möchten wir aber auch nicht behaupten, daß die 2. Phase die 3. immer an Bedeutung übertrifft. Eine extreme Immunreaktion kann nach unserer Meinung jedes Transplantat zugrunde richten. Wir glauben aber, daß das Auftreten von extrem starken Reaktionen nicht die Regel ist und meistens durch eine nicht geeignete Transplantations-technik verursacht wird. Hierbei kommen vor allem eine starke Verletzung des Transplantationsbettes sowie zu große Transplantate und das dadurch verursachte massenhafte Absterben von Transplantatzellen schon in der 1. Phase in Frage sowie verschiedene Adjuvantien, hinsichtlich deren Rolle wir uns ebenfalls den Anschauungen von KNAKE^{19, 20} anschließen möchten. Werden aber die Gewebe nach diesen Gesichtspunkten ausgewählt und mit einer richtigen Methode transplantiert und wird ihnen über die Schwierigkeiten der 2. Phase hinweggeholfen (z. B. durch vorangehende Adaptation in der Gewebekultur mit dem Serum des Empfängers), so bleiben die Gewebe trotz des Auftretens einer Immunreaktion auch in der 3. Phase am Leben und behalten ihre Wachstumsfähigkeit. Das gleiche zeigen auch die mit Hilfe unserer Anti-Anti-Serummethode durchgeführten Experimente⁴⁻⁶.

Auf Grund unserer Gewebeernährungsversuche und bestärkt durch die Tierexperimente scheint es uns berechtigt, die erwähnten 3 Phasen im Verlaufe der Transplantation zu unterscheiden. Transplantieren ist ein ganz besonders komplexes Problem. Wir haben in den hier beschriebenen Experimenten unsere Aufmerksamkeit vor allem auf die Rolle der 2. Phase gerichtet. Wir sind überzeugt, daß ihr — nämlich den Assimilations-Adaptationsfaktoren — eine große Bedeutung zukommt. Diese sind schon allein fähig, das Weiterleben der Transplantate

unmöglich zu machen oder aber ihr Weiterleben und Gedeihen trotz der auftretenden Immunreaktion zu fördern und vielleicht sogar zu sichern.

Zusammenfassung

Lebergewebe von verschiedenen Tieren wurde in die vordere Augenkammer von Albinoratten transplantiert. Bei Autotransplantationen blieben allein die Zellen der Gallenwege am Leben, und von hier aus begann die Regeneration. Sowohl homologe als auch heterologe Säugtiertransplantate (Meerschweinchen) sowie Heterotransplantate von einem phylogenetisch tiefer stehenden Tier (Huhn) gingen zugrunde. Dagegen blieb Lebergewebe von einem Fisch und von Triturus am Leben. Proben von allen transplantierten Lebern wurden zur Kontrolle in der Gewebekultur mit Rattenserum gezüchtet. Dabei erwies sich, daß dieselben Gewebe in vivo und in vitro am Leben blieben oder aber zugrunde gingen. Aus diesen Versuchen wird — im Zusammenhang mit eigenen früheren Experimenten betrachtet — der Schluß gezogen, daß jene Gewebe am Leben bleiben, welche die dargebotenen körperfremden Eiweiße in vivo und in vitro assimilieren können. Es wird hervorgehoben, daß das Schicksal der Heterotransplantate in 3 Phasen entschieden wird. Diese sind:

1. Die Phase der Traumatisation und der lokalen Ernährungsstörungen, 2. die Assimilations-Adaptationsphase, 3. die Phase der Immunreaktionen. Die 2. Phase besitzt für das weitere Schicksal der Transplantate eine besonders große Bedeutung.

Summary

Liver tissue of phylogenetically different animals was transplanted into the anterior chamber of albino rats' eyes. In autotransplantation only the biliary ducts remained alive and regeneration started from these; transplants from homologous and heterologous mammals and fowls were destroyed, transplants from fish and triturus remained alive. Transplanted liver tissue cultivated on rat serum showed that all the tissues which remained alive in vitro, survived also in vivo. In accordance with previous experiments, it is concluded that mainly those tissues remain alive as transplantats, which are able to assimilate foreign proteins in vivo and in vitro. In the behaviour of heterotransplants three phases can be distinguished: 1. The phase of traumatisation and local disturbances in nutrition. 2. The phase of assimilation and adaptation. 3. The phase of immune reaction. It is the second phase which is of the greatest importance for the fate of the transplant.

Literatur

¹ ALBRINK, S. W., and H. S. N. GREENE: The transplantation of tissues between zoological classes. *Cancer Res.* **13**, 64 (1953). — ² ALBRINK, S. W., and C. WALLACE: Aqueous humor as a tissue culture nutrients. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **72**,

2 (1951). — ³ BILLINGHAM, R. E., and E. M. SPARROW: Studies on the nature of immunity to homologous grafted skin, with special reference to the use of pure epidermal grafts. *J. exp. Biol.* **31**, 16 (1954). — ⁴ CSABA, GY.: Employment of anti-antisera for the reduction of incompatibility provoked by heterotransplantation. *Acta biol. hung.* **6**, 369 (1956). — ⁵ CSABA, GY.: Heterotransplantation experiments with the use of anti-anti-organ sera. I. Transplantation of spleen. *Acta biol. hung.* **8**, 61 (1957). — ⁶ CSABA, GY., and M. ISKUM: Heterotransplantation experiments with the use of anti-anti-organ sera. II. Transplantation of embryonic endocrine tissues. *Acta biol. hung.* **8**, 67 (1957). — ⁷ CSABA, GY., and KLARA Cs. HEGYI: Behaviour of phylogenetically and ontogenetically different tissues in tissue cultures, explanted on autologous, homologous and heterologous media. *Acta biol. hung.* **8**, 149 (1958). — ⁸ CSABA, GY., and M. ISKUM: Heterotransplantation of spleen taken from phylogenetically different animals. *Acta biol. hung.* **8**, 253 (1958). — ⁹ CSABA, GY., u. M. ISKUM: Heterotransplantation von Milzgewebe nach vorangehender Adaptation in der Gewebekultur. *Acta morph. hung.* **8**, 71 (1958). — ¹⁰ DARCY, D. A.: Plasma cells in the reaction against rabbit tissue homografts. *Nature (Lond.)* **163**, 98 (1949). — ¹¹ DEMPSTER, W. J.: Problems involved in the homotransplantation of tissues with particular reference to skin. *Brit. med. J.* **1951**, 1041. — ¹² DEMPSTER, W. J.: The effects of cortisone on the homotransplanted kidney. *Arch. int. Pharmacodyn.* **45**, 253 (1953). — ¹³ DEMPSTER, W. J.: The anurias following kidney transplantation. *Acta med. scand.* **148**, 91 (1954). — ¹⁴ DEMPSTER, W. J.: A consideration of the cause of functional arrest of homotransplanted kidneys. *J. Urol. (Baltimore)* **27**, 66 (1955). — ¹⁵ EHRICH, W. E., D. L. DRABKIN and C. FORMAN: Nucleic acid and the production of antibody by plasma cells. *J. exp. Med.* **90**, 157 (1949). — ¹⁶ GREENE, H. S. N.: Compatibility and noncompatibility in tissue transplantation. In biological specificity and growth. Princeton (New Jersey): Princeton Univ. Press 1955. — ¹⁷ KNAKE, ELSE: Beitrag zur Frage der Gewebekorrelation. *Virchows Arch. path. Anat.* **306**, 88 (1940). — ¹⁸ KNAKE, ELSE: Über Transplantation von Lebergewebe. *Virchows Arch. path. Anat.* **319**, 321 (1950). — ¹⁹ KNAKE, ELSE: Über die Immunitätshypothese von der Transplantabilität körperfremder normaler Gewebe. *Virchows Arch. path. Anat.* **327**, 509 (1955). — ²⁰ KNAKE, ELSE: Über Heterotransplantationsexperimente und einige Folgerungen für die Auffassung der Gewebsverträglichkeit. *Virchows Arch. path. Anat.* **327**, 533 (1955). — ²¹ LOEB, L.: Transplantation and individuality. *Phys. Rev.* **10**, 4 (1930). — ²² LOEB, L.: Organismal differentials and organ differentials. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **39**, 127 (1953). — ²³ LONGMIRE, W. P., and S. W. SMITH: Homologous transplantation of tissues. *A.M.A. Arch. Surg.* **62**, 443 (1951). — ²⁴ MEDAWAR, P. B.: Tests by tissue culture methods on the nature of immunity to transplanted skin. *Quart. J. micr. Sci.* **89**, 239 (1948). — ²⁵ MEDAWAR, P. B.: General problems of immunity. In: Preservation and transplantation of normal tissues. Ciba Foundation Symp., London 1954. — ²⁶ PRESTON, M.: The cultivation in vitro of various amphibian tissues. *J. roy. micr. Soc.* **69**, 65 (1949). — ²⁷ SHRIGLEY, E. W., H. S. N. GREENE and F. DURAN-REYNALS: Growth of avian tumors other than the Rous sarcoma in the anterior chamber of the guinea pig eye. *Cancer Res.* **7**, 188 (1947). — ²⁸ SURE, T., and J. SUDIMACK: Capillary tube method for antibody determination. *Arch. Ophthal. (Chicago)* **51**, 6 (1954). — ²⁹ WEEKERS, R.: Cristallin a survie selon la methode de Haan-Baker. *Ophthalmologica (Basel)* **97**, 159 (1939). — ³⁰ WITMER, R.: Elektrophorese des Kammerwassers. *Ophthalmologica (Basel)* **123**, 280 (1952).

Dr. med. habil. G. CSABA, Histologisches und Embryologisches Institut
der Universität, Budapest IX, Tüzoltó u. 58