

(Aus dem Laboratorium für pathologische Physiologie der Staatlichen Universität  
Tomsk. — Direktor: Prof. Dr. A. D. Timofejewsky.)

## Züchtung von Geweben und Leukocyten des Menschen mit Tuberkelbacillen Calmettes (BCG.)\*.

Von

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

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Januar 1928.)

Die Versuche mit Infizierung von Gewebskulturen mit Tuberkelbacillen, die wir seit den letzten 4 Jahren<sup>1—5</sup> angestellt haben, verfolgen ein doppeltes Ziel: einerseits die Reaktion der kultivierten Zellen gegen Tuberkelbacillen klarzustellen, und andererseits der Lösung der Frage vom Charakter der Zellimmunität bei Tuberkulose näherzutreten.

Gleichzeitig mit uns hatten entsprechende Versuche *Maximow*<sup>6, 7</sup> sowie kurz vordem *H. Smyth*<sup>8</sup>, *Smith*, *Willis* und *M. Lewis*<sup>9</sup> ausgeführt. Bei unseren ersten Versuchen<sup>1, 2</sup> züchteten wir Stückchen von Lunge und Milz des Kaninchens mit schwach virulenten Tuberkelbacillen Typus *humanus* und beobachteten *in vitro* die Phagocytose der Tuberkelbacillen und die Entwicklung typischer Tuberkele, die vornehmlich aus epithelioiden Zellen, sowie mitunter auch aus Riesenzellen bestanden. Gleichzeitig kam auch *Maximow*<sup>6</sup>, indem er Stückchen von Lymphknoten, Netz und lockeren Bindegewebe des Kaninchens mit Tuberkelbacillen, Typ. hum., züchtete, im allgemeinen zu entsprechenden Ergebnissen.

In unseren späteren Versuchen wurden die Tuberkelbacillen, Typ. hum., in Leukocytenkulturen von Kaninchenblut<sup>3</sup> und von Menschenblut<sup>4</sup> gebracht. Es erwies sich, daß aus ungekörnten Leukocyten, d. h. Lymphocyten und Monocyten unter diesen Bedingungen typische epithelioidre Zellen entstehen, welche sich eng aneinander lagernd den Ursprung für epithelioidre Tuberkele bilden, in welchen zuweilen Langhanssche Zellen enthalten sind. Versuche mit Leukocyten des Kaninchens stellte auch *Maximow*<sup>7</sup> an und erzielte vollständig gleichartige Ergebnisse, während Versuche an Leukocyten aus Menschenblut außer von uns nicht gemacht worden sind.

\* Vortrag mit Demonstration von Präparaten gehalten beim I. allrussischen Kongreß der Pathologen in Kijew, am 15. IX. 1927.

In der letzten Zeit haben wir außerdem Versuche unternommen, um die Reaktion pathologischer Formen weißer Blutkörperchen des Menschen gegen Tuberkelbacillen zu erforschen<sup>5</sup>. Zu diesem Zwecke züchteten wir Leukocyten aus dem Blut von Kranken, welche an myeloider Leukämie sowohl der akuten als chronischen Form erkrankt waren, wobei die Kulturen mit Tuberkelbacillen, Typ. hum., infiziert wurden. Es ergab sich, daß auch die pathologischen Formen der Leukocyten, und zwar die Myeloblasten, befähigt sind, Tuberkelbacillen energisch aufzunehmen und epithelioidre Riesenzellen zu erzeugen.

Alle diese Versuche haben eine Bedeutung für die Klarlegung der noch immer strittigen Frage von der Entstehung der Bestandteile des Tuberkels. Die epithelioiden Zellen des Tuberkels, dieser allercharakteristischste Teil desselben, können sich, wie die Versuche lehren, sowohl aus örtlichen Gewebsteilen als auch aus ungekörnten Leukocyten des Blutes bilden.

Unter ersteren spielen eine wesentliche Rolle die Histiocyten, während Fibroblasten und Endothelien der Gefäße bei Versuchen *in vitro* auf Tuberkelinfection in spezifischer Weise nicht reagieren.

Es ist zweifellos, daß *in vitro*, ähnlich wie im ganzen Organismus, in den mit Tuberkel infizierten Kulturen verwickelte immuno-biologische Vorgänge entstehen. Die derzeitige Anschaauung ist, daß diese Immunität bei Tuberkulose vornehmlich zelliger Art ist. Im Tuberkel und seinen Abwandlungen erblickt man eine Schutzreaktion des Organismus. Die Auspflanzungsmethode gibt nun bis zu einem Grade die Möglichkeit, diese Lehre von der Zellimmunität bei Tuberkulose zu prüfen. A priori muß eine Abhängigkeit zwischen der Empfindlichkeit bestimmter Tierarten für Tuberkulose und dem Charakter der Reaktion seiner Zellen gegen Tuberkelbacillen *in vitro* bestehen.

Die oben angeführten Versuche stehen im Einklang mit dieser Lehre. Tatsächlich besitzt das Kaninchen eine bedingte Immunität gegen Tuberkelbacillen vom Typ. hum. Kulturen, die aus Organen und Leukocyten dieses Nagers bereitet werden, sind für die genannten Bakterien wenig schädlich, selbst wenn sie von sehr virulentem Stamm sind. Besonders widerstandsfähig gegen bedeutende Mengen Tuberkelbacillen vom Typ. hum. sind die ungekörnten Leukocyten dieses Tieres. Sowohl *Maximow* als auch wir haben Mitosen von Zellen beobachtet, welche ansehnliche Mengen Tuberkelbacillen aufgenommen hatten. Degenerative Erscheinungen in Kulturen, welche in Abhängigkeit von Tuberkuloseinfektion gebracht werden könnten, sind selten zu beobachten. Die Wirkung der Bakterien ist hier eher eine mechanische; indem sie sich im Nährboden reichlich vermehren, behindern sie dadurch das Wachsen der Gewebskultur. In anderen Fällen, wenn weniger Tuberkelbacillen in die Kultur gebracht würden, fand eine

vollständige Phagocytose der Bakterien, deutliche Hemmung ihres Wachstums und selbst ihre intracelluläre Vernichtung statt.

Ein ganz anderes Bild bieten die Leukocytenkulturen von normalem Blut des Menschen, der für Tuberkulose vom Typ. hum. bedeutend empfänglicher ist als das Kaninchen. Die menschlichen Leukocyten sind sehr empfindliche Reagentien gegen virulente Tuberkelbacillen des Typ. hum. Wenn diese in größerer Menge in eine Kultur hineingelangen, so ruft das eine schnelle Nekrose der Zellen hervor. Die in diesem Falle entstehenden Tuberkel bekunden verschiedene Anzeichen der Degeneration und unterliegen in 3—4 Tagen der Nekrose. Besonders rasch tritt die Nekrose in der Nachbarschaft der Bakterienkolonien ein. *Somit wirken die Produkte der Lebenstätigkeit der genannten Bacillen, namentlich von virulenten Stämmen, in vitro vernichtend auf die ungekörnten Leukocyten des Menschen.*

In der allerletzten Zeit stellten wir spezielle Versuche an, um die Reaktion von Gewebs- und Leukocytenkulturen des Menschen gegen BCG. (Tuberkelbacillen Calmette) klarzulegen. Diese Versuche sind von 2 Standpunkten lehrreich. Erstens, weil die BCG. zu dem avirulenten oder jedenfalls sehr schwach virulenten Stamm der Tuberkulosebacillen Typus bovinus gehören und es daher a priori zu erwarten war, daß menschliche Gewebskulturen sich gegen diese Bakterien anders als gegen virulente verhalten würden. Zweitens beansprucht die Erforschung der Wechselbeziehungen zwischen den Zellen und Geweben des Menschen einerseits und der BCG. andererseits eine besondere Beachtung, da die Verwendung der letztgenannten Bacillen zu Schutzimpfungen gegen Tuberkulose immer weitere Verbreitung zu finden beginnt. Das Studium der Wechselbeziehungen zwischen den menschlichen Geweben und diesen Bakterien *in vivo* bietet unüberwindliche Schwierigkeiten und die Auspflanzungsmethode kann hier von außerordentlichem Nutzen sein\*.

Nach den Untersuchungen Calmettes<sup>10</sup> rufen BCG., wenn sie in den empfänglichen Tierorganismus sogar in großen Mengen gebracht werden, niemals die Bildung von überimpften Tuberkeln hervor. Nichtsdestoweniger behalten sie im Organismus die Eigenschaften, welche notwendig sind, um antituberkulose Immunität zu erzielen. Dabei gehen die Bakterien sozusagen eine Symbiose mit den Zellen ein, welche Syncytien mit zahlreichen Kernen bilden. Im Protoplasma dieser syncytialen Massen befinden sich eben die Tuberkelbacillen.

Viele Untersuchungen anderer Forscher haben im allgemeinen die Befunde Calmettes über die Avirulenz der BCG. für verschiedene Tiere

---

\* Diese Bakterien erhielten wir aus dem Institut für Serumprüfung des Volks-Gesundheitsamtes, unter liebenswürdiger Vermittelung des Dr. A. J. Togunowa, dem wir hiermit unseren aufrichtigen Dank aussprechen.

bestätigt, sogar für so empfängliche wie Meerschweinchen. Was jedoch die Anschauungen *Calmettes* von der atuberkulogenen Natur der BCG. anbetrifft, so gehen die Meinungen der Untersucher in dieser Frage ziemlich auseinander. So hat *Togunowa*<sup>11</sup> bei Meerschweinchen unter Einwirkung der BCG. die Entwicklung von Tuberkeln beobachtet. Die Untersuchungen von *Korschun*, *Dwischkow*, *Gorochownikowa* und *Krestownikowa*<sup>12</sup> zeigten, daß auf verschiedenem Wege in den Organismus gebrachte BCG., sowohl am Orte der Verpflanzung als auch, in selteneren Fällen, in anderen Organen des Tieres zuweilen spezifische tuberkulöse Veränderungen hervorrufen können, d. h. käsige Nekrose und Tuberkele, welche übrigens Neigung zur bindegewebigen Umwandlung bekunden. Bei Infektion mit käsigen Massen aus tuberkulosen Herden gelang es den Verfassern in 2 Fällen auch tuberkulöse Veränderungen zu erzielen. Zu etwas anderen Ergebnissen gelangte *Zechnowitzer* mit seinen Mitarbeitern<sup>13</sup>, der diese Frage an bedeutend größerem Material untersuchte. Er bestreitet nicht die Fähigkeit der BCG. in einigen Fällen bei Tieren (Meerschweinchen und Kaninchen) die Bildung spezifischer Tuberkele hervorzurufen, wenn auch gutartiger Natur, weist jedoch darauf hin, daß diese Tuberkele nicht für eine Reinfektion brauchbar sind und der BCG.-Stamm in diesem Sinne atuberkulogen genannt werden kann.

In der jüngsten Zeit sind in dieser Frage auch eingehende Forschungen deutscher Forscher veröffentlicht worden, und zwar von *Kraus*<sup>14</sup> und *F. Gerlach*<sup>15</sup>, die zu dem Ergebnis kommen, daß BCG. nicht vollständig avirulent sind, da sie in einigen Fällen bei Tieren typisch tuberkulöse Veränderungen hervorrufen, die mitunter generalisiert sind, aber mit Heilung endigen. Unter dem Eindruck aller dieser Arbeiten war *Calmette* gezwungen, spezielle Untersuchungen über Wirkung großer Mengen von in die Blutadern eingespritzten BCG. an Tieren vorzunehmen. *Coulaud*<sup>16</sup>, der diese Untersuchungen ausführte, stellte bei Kaninchen die Bildung zahlreicher tuberkulöser Knötchen in verschiedenen Organen, die hauptsächlich aus epithelioiden Zellen bestanden, käsigen Zerfall fand er gar nicht, Langhanssche Zellen waren wenige vorhanden, im weiteren Verlauf trat völlige Heilung ein.

Eine von den Aufgaben unserer Versuche, deren Methode wir nun in Kürze beschreiben wollen, war auch die Klarlegung der Frage, inwieweit die BCG. imstande wären, in Gewebs- und Leukocytenzüchtungen die Bildung von Tuberkeln herbeizuführen.

#### *Material und Methodik.*

Wir wandten die bereits früher ausgearbeitete Methode an, beobachteten jedoch eine genauere Mengenbestimmung der in die Kulturen hineingebrachten Bakterien; zu diesem Zwecke wurden die BCG. 3 wöchigen Alters, gezüchtet auf Glycerinkartoffeln, gewogen und aus ihnen in

Ringerscher Flüssigkeit Emulsionen bereitet, eine dickere bei Lösung von 1: 100 und eine dünnere bei Lösung von 1: 1000.

Bei der Auspflanzung wurde ein Gewebsstückchen oder ein Klümpchen weißer Blutkörperchen in eine von den beiden Emulsionen getaucht und sodann auf den entsprechenden Nährboden gebracht. Außerdem wurde ein Teil der Züchtungen mit Tuberkelbacillen Typ. hum. vom virulenten Stamm und ein anderer Teil mit ebensolchen Bacillen von einem schwach virulenten Stamm unter sonst vollständig gleichen Bedingungen infiziert. Stets wurden auch Vergleichszüchtungen angefertigt.

Bei diesen Versuchen pflanzten wir außer Leukocyten aus normalem Menschenblut Stückchen verschiedener Organe, wie Leber, Milz, Herz, Lunge u. a. von menschlichen Embryonen im Alter von 4 Wochen bis  $3\frac{1}{2}$  Monaten aus. Im ganzen verfügten wir über 10 Menschenembryonen, welche ein sehr reichliches Versuchsmaterial lieferten\*.

Als Nährboden für die menschlichen Embryonen diente Blutplasma von jungen Kaninchen, zur Hälfte mit Extrakt aus denselben Embryos gemischt. Menschliche Leukocyten wurden in homogenes Plasma ausgepflanzt. Die Passagen der Kulturen wurden nach der von *Maximow* vorgeschlagenen Methode ausgeführt. Die Untersuchung der Kulturen vollzogen wir sowohl in ihrem lebenden Zustande als auch nach Fixation mit Zenker-Formol, Paraffinüberguß und Färbung der Schnitte mit Carbol-Fuchsin, Hämatoxylin *Weigert*, und mitunter auch Azur-Eosin.

#### *Auspflanzung menschlichen embryonalen Gewebes mit BCG.*

Obgleich viele Forscher sich mit der Auspflanzung embryonalen Gewebes beschäftigt haben, ist das menschliche embryonale Gewebe, soviel uns bekannt ist, gar nicht erforscht. Wir haben nur eine dieser Frage gewidmete spezielle Arbeit von *Lemmel* und *Löwenstädt*<sup>17</sup>, in welcher Versuche mit Auspflanzung von Teilen aus Herz und Milz eines 5 monatigen menschlichen Embryos im Laufe von nur einigen Tagen im Plasma vom Huhn, gemischt mit embryonalem Hühnerextrakt und menschlichem Serum beschrieben. Eine giftige Einwirkung des heterogenen Plasmas auf die menschlichen Zellen haben die Verfasser nicht beachtet.

Da wir diesen unseren Versuchen eine besondere Arbeit widmen wollen, so werden wir an dieser Stelle nur so weit darauf eingehen, als zum Verständnis des berührten Themas notwendig ist.

Teile verschiedener menschlicher Organe bekunden *in vitro* bei der Züchtung im Kaninchenplasma mit Beimischung von Embryonalsaft

---

\* Wir sprechen dem Prof. *N. J. Gorizontow* unseren aufrichtigen Dank für die Genehmigung zur Benutzung des Versuchsmaterials aus der Geburtshilflichen Klinik der Universität Tomsk aus.

vom menschlichen Embryo ein kräftiges Wachstum und sogar die Ausbildung einiger in ihnen befindlichen Anlagen. Mit Hilfe der Passage kann das Leben solcher Züchtungen lange Zeit unterhalten werden. Wir hatten zu unserer Verfügung Kulturen von über 2 monatigem Alter.

Bei Auspflanzung der embryonalen Leber beobachtet man ein gutes Wachstum der Leberzellen, besonders an den Rändern des Stückchens, sowie eine stark ausgeprägte Blutbildung, besonders Erythropoese, hauptsächlich in den mit Endothel bedeckten, oft erweiterten Capillaren, welche gewöhnlich in Form eines dichten Netzes das Stückchen inmitten der Mesenchymmasse umwuchern. Die Kupferschen Zellen der Leber erscheinen mit Schöllchen eines gelblichen Pigments angefüllt, sie sind sehr lebensfähig und bekunden in vitro ihre phagocytären Eigenschaften.

Die Stückchen des Embryoherzens kennzeichnen sich durch rhythmische Zusammenziehungen, welche zuweilen mehr als 14 Tage fortduern. Hierbei vollzieht sich eine Längsabplattung der Muskelfasern in einer Ebene und ihr Wachstum. Oft findet eine reichliche Wucherung des Mesenchyms statt.

An den Kulturen der Lunge ist eine rasche Epithelbildung an den ausgepflanzten Stückchen, Entwicklung und Wachstum der Lungenbläschen zu sehen, die mit zylindrischem resp. kubischem Epithel bedeckt sind. Verwickelte Beziehungen beobachtet man an den Kulturen der Augenanlage, bei welchen wir hier jedoch nicht länger verweilen wollen.

Die Infektion der Kulturen mit Calmetteschen Bacillen wirkt in den ersten 4—5 Versuchstagen fast gar nicht auf das Wachstum der Gewebe. In diesem Zeitraum können sich die Bakterien nicht in reicherlicher Weise entwickeln und bei schwacher Vergrößerung sind ihre Kolonien nicht zu sehen. Nach der ersten Passage beginnt die rasche Entwicklung der BCG.-Kolonien in Form von größeren grauen Massen, die sich in der Zone der Kulturausbreitung befinden. Wenn in die Gewebekultur die Bakterien in der schwächeren Lösung (1 : 1000) gebracht wurden, so tritt die Erscheinung ein wenig später, meist in der 2. Woche der Auspflanzung auf.

Schon bei der Erforschung der Gewebekulturen im lebenden Zustande kann man die hemmende Wirkung beobachten, welche die sich entwickelnden BCG.-Kolonien auf das Wachsen des Gewebes ausüben, besonders in dem Falle, wenn sie das Gewebe von allen Seiten ringförmig umgeben, was in der Regel am Ende der 2. und im Anfange der 3. Versuchwoche zu beobachten ist; im Falle die BCG.-Kulturen jedoch voneinander weiter getrennt liegen, kann das Wachstum der Gewebe in den Zwischenräumen zwischen ihnen ebenso reichlich sein, wie in den Vergleichskulturen.

In späteren Kulturen von 3—4 wöchigem Alter durchwachsen in der Regel die Bakterienmassen sowohl die ausgepflanzten Stückchen als auch das neu gewachsene Gewebe, verhindern vollständig das weitere Wachstum und rufen den Untergang der Gewebskultur hervor.

Bei Untersuchung der fixierten und gefärbten Präparate kann leicht eine wichtige Tatsache festgestellt werden: *das fast völlige Fehlen einer vernichtenden Wirkung der BCG.-Kolonien auf die zunächst gelegenen Zellen*. Die in der Entwicklung befindliche BCG.-Kolonie, welche sich gewöhnlich in der Zone des Wachstums des Gewebes befindet, erscheint von allen Seiten dicht umgeben von völlig unveränderten, oft

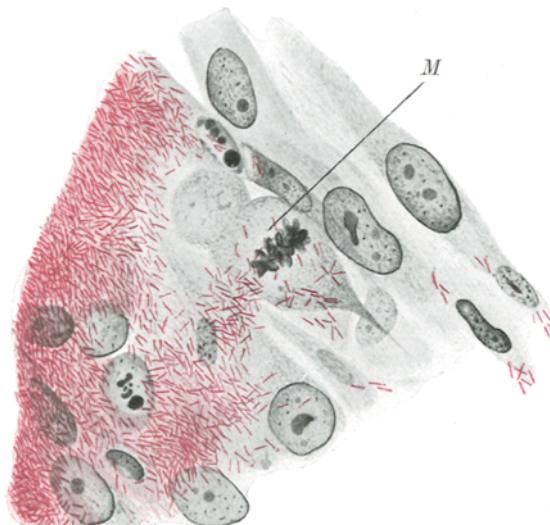


Abb. 1\*. Aus einer 8-tägigen Gewebskultur vom Herzen eines  $3\frac{1}{4}$  monatigen Embryos. Das in vitro aus Fibroblasten gewachsene Gewebe ist von einer BCG.-Kolonie durchwachsen. M = Mitose eines Fibroblasten, der in seinem Protoplasma Bakterien enthält. Vergrößerung: Objekt, Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 4 Komp.

im mitotischen Zustande befindlichen Zellen. *Ein Nekrosegürt um die Kolonie ist gewöhnlich nicht vorhanden*, aber inmitten der Bakterienmassen sind Zellen entweder gar nicht zu treffen oder es finden sich nur einzelne Gebilde. Es muß deshalb angenommen werden, daß die Bakterienkolonien bei ihrem Wachstum die im Wege liegenden Zellen auf rein mechanische Weise vernichten.

\* Alle Abbildungen, außer Abb. 15, welche eine Kombination vorstellt, sind von bestimmten Stellen der Präparate mit Hilfe des Zeichenapparates Abbé's bei Projektion in Höhe des Objekttischchens gezeichnet; Länge des Rohres 160 mm. Abb. 14 ist von einem Totalpräparat gezeichnet, die übrigen von Schnitten. Bearbeitung der Präparate: Fix. Zenker-Formol, Paraffinschnitte; Färbung: Carbol-Fuchs in nach Ziehl-Neelsen, Hämatoxylin Weigert; nur die Abb. 12 ist nach einem mit Azur-Eosin gefärbten Präparat gezeichnet.

Das Fehlen einer ausgesprochen giftigen Wirkung der Bakterien auf die Zellen ergibt sich auch daraus, daß man mitunter Mitosen von Zellen trifft, welche in ihrem Protoplasma große Mengen von BCG. enthalten, sogar in ihrer Chromosomzone (Abb. 1 *M*).

Besonders reichlich ist das Wachsen und die Vermehrung der Fibroblasten, die mitunter die Bakterienkolonie mit einer Art bindegewebigen Kapsel, entstanden infolge einer ringförmigen Anordnung der Zellen umgeben (Abb. 2).



Abb. 2. Aus einer 11tägigen Kultur von Milz eines  $3\frac{1}{2}$ -monatigen Embryos. BCG.-Kolonie, umgeben von wucherndem Mesenchym in Form einer Kapsel. *M* = Mitose der Zellen. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

Sogar in alten Gewebskulturen, die stark von BCG. durchwachsen sind, zeigten die Fibroblasten, die sich in den engen Zwischenräumen zwischen den Bakterienmassen erhalten hatten, gewöhnlich keinerlei Anzeichen einer Degeneration (Abb. 3).

Aber nicht nur Mesenchymzellen, sondern auch hochentwickelte Zellen, wie z. B. Leber- und Muskelzellen erfahren fast gar keine Schädigung von der Einwirkung der BCG. So finden sich bisweilen in der Wachstumzone der Leberzellen Anhäufungen von BCG., bald in Form

einzelner Kolonien, bald vereinzelt im Innern der nicht degenerierten Leberzellen. Wenn die Bakterienkolonie nicht groß war, so beobachteten wir oft eine verstärkte Vermehrung der benachbarten Leberzellen im Wege der Mitose (Abb. 4, *M*).

Ebenso hatten wir Gelegenheit, in diesen Kulturen eine reichliche Vermehrung von Erythroblasten in unmittelbarer Nähe von BCG. zu beobachten.

Das fast völlige Ausbleiben der giftigen Einwirkung von BCG. auf das Gewebe ergibt sich auch aus dem funktionellen Verhalten des Myokards. Stückchen des Herzmuskelns menschlicher Embryos, die mit BCG. infiziert werden, setzen ihre rhythmischen

Zusammenziehungen ebenso wie in den Vergleichskulturen fort, bis sie völlig von Bakterien durchwachsen sind. Wir beobachteten pulsierende Kulturen vom Herzen im Laufe von über 10 Tagen, trotz der Anwesen-

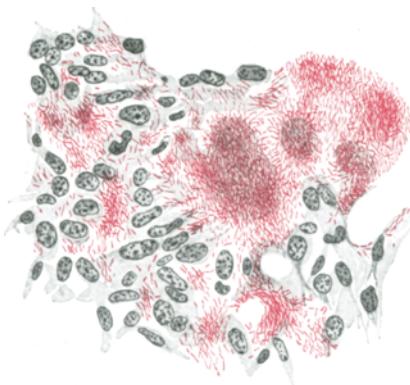


Abb. 3. Aus einer 17tägigen Gewebekultur der Augenanlage eines Embryos von 2 cm Länge. BCG., die das Mesenchym durchwachsen. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.



Abb. 4. Aus einer 11tägigen Gewebekultur von der Leber eines 3 $\frac{1}{2}$ monatigen Embryos. *A* = eine kleine BCG.-Kolonie; *B* = Leberzellen, welche sie umgeben; *M* = Mitose derselben. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

heit von großen BCG.-Kolonien. Bei der Untersuchung der fixierten und gefärbten Präparate dieser Kulturen konnte man sehen, daß die BCG.-Kolonien oft unmittelbar den völlig unveränderten Muskelfasern, die ohne jedes Anzeichen der Degeneration waren, angelagert waren (Abb. 5).

Nur in 2 Fällen beobachteten wir eine unbedeutende Degeneration der Zellen, die der giftigen Einwirkung der BCG.-Kolonien auf Rechnung gesetzt werden konnte. Es war in 11tägigen Kulturen von Stückchen aus dem embryonalen Herzen und der Leber, wo bei sehr starker

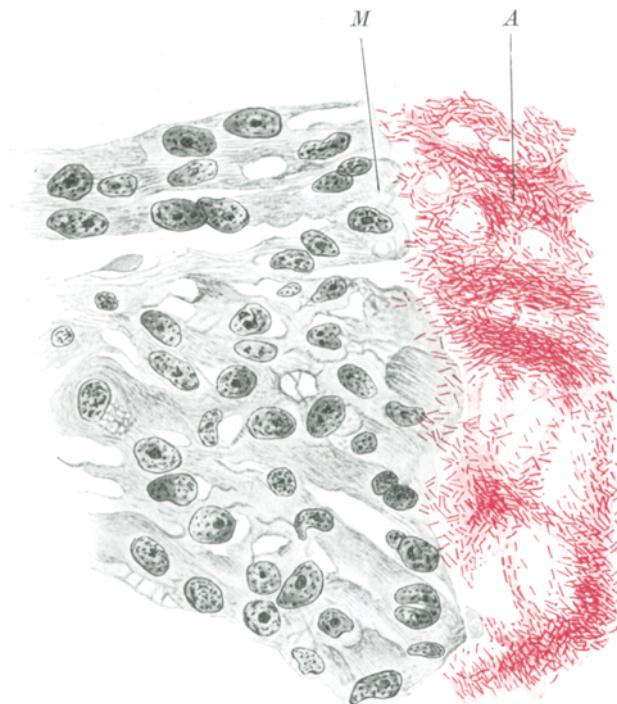


Abb. 5. Aus einer 8tägigen Kultur vom Herzen eines  $3\frac{1}{2}$ monatigen Embryos. A = BCG.-Kultur; M = Muskelfasern, dicht an die Bakterienkolonie angelagert. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 4 Komp.

Entwicklung der BCG., die das Explantat mit einer dichten Schicht umgaben, in der Nachbarschaft der Bakterien eine Degeneration stattgefunden hatte, während in einiger Entfernung die Zellen unverändert geblieben waren.

In dieser Beziehung stimmen diese Versuche vollkommen mit den *in vivo*-Beobachtungen *Calmettes* und den meisten anderen Forschern, welche das Ausbleiben oder die Seltenheit käsigen Zerfalls und nekrobiotischer Veränderungen durch BCG.-Einwirkung vermerken, überein.

Was die Frage der Reaktion des embryonalen menschlichen Gewebes auf BCG. betrifft, so muß folgendes bemerkt werden: Das embryonale Gewebe bei Züchtungsversuchen kennzeichnet sich vornehmlich durch verstärktes Wachstum und Vermehrung der Zellen und Entwicklung der vorhandenen Anlagen, während die Schutzreaktionen, wie z. B. die Phagocytose in ihm überhaupt schwach ausgedrückt ist.

Deshalb äußerte sich auch die spezifische Reaktion der Zellen auf BCG. in diesen Versuchen mit geringer Stärke. Sie kennzeichnete sich einerseits durch Phagocytose der Bakterien, andererseits durch Entwicklung Langhansscher Riesenzellen oder selbst zelliger Syncytien. Die Ausbildung von echten Tuberkeln haben wir bei diesen Versuchen niemals beobachten können.

Was die Phagocytose anbetrifft, so war sie leicht in den Kulturen von Leber und Milz, seltener von anderen Organen zu beobachten. Besonders heftig äußerte sich die phagocytaire Tätigkeit der Retikulumzellen von der Milz eines  $3\frac{1}{2}$  monatigen Embryos. Viele Retikulumzellen waren hier buchstäblich vollgepfropft mit BCG.; einige dieser Zellen hatten ihre Ausläufer eingezogen und den Ursprung für Wanderzellen vom Typus der Polyblasten gegeben, die gleichfalls kräftig die Bakterien verschlangen, sich dabei aber nicht anhäuften, sondern vereinzelt inmitten der anderen Bestandteile der Kultur lagerten.

Schöne Bilder der Phagocytose beobachteten wir an Kulturen der embryonalen Leber seitens der Kupferschen Zellen, in deren Leib, außer den verschlungenen Bakterien stets in größerer oder geringerer Menge kugelförmige Körner eines gelblichen Pigments recht verschiedener Größe zu bemerken waren (Abb. 6).

Obgleich die Fibroblasten sich an der Phagocytose aktiv nicht beteiligten, so machte sich nichtsdestoweniger auch seitens dieser Zellen eine eigenartige Reaktion gegen die BCG. bemerkbar, die sich in einer Veränderung ihrer Form äußerte: aus den langausgezogenen mit Ausläufern versehenen Zellen entstanden verkürzte vieleckige Gebilde mit gut ausgeprägtem Hof, die in ihrem Bau an epithelioiden Zellen erinnerten.

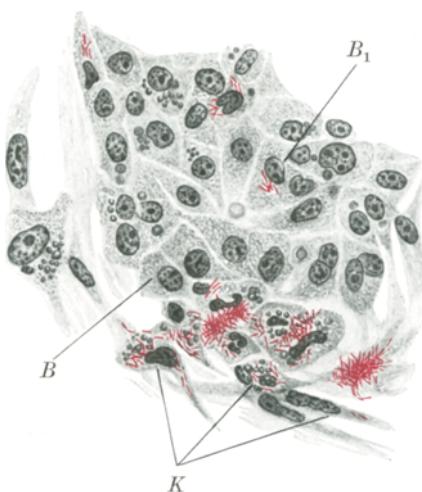


Abb. 6. Aus einer 14tägigen Kultur der Leber eines Embryos von 2 cm Länge.  $B$  = Leberzellen;  $B'$  = Leberzellen mit BCG.;  $K$  = Kupfersche Zellen mit BCG. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

Außer der Phagocytose hat die Einwirkung der BCG. zuweilen die Bildung von vielkernigen Riesenzellen vom Langhans-Typus zur Folge. Am häufigsten beobachteten wir die Entwicklung typischer Langhans-scher Zellen in Kulturen von Milz eines  $3\frac{1}{2}$ monatigen Embryos. Sie erreichten mitunter sehr bedeutende Ausmaße und enthielten bis hundert hauptsächlich eiförmige, an dem Rande der Zelle gelegene Kerne, während die Mitte von einem stark entwickelten Zellhof eingenommen war. Ihr Leib enthielt in der Regel in bedeutender Anzahl Tuberkelbacillen, die mitunter in schöner radialer Anordnung die Attraktionsphäre umlagerten (Abb. 7).

Die Langhansschen Zellen bilden sich in den Milzkulturen vornehmlich aus Retikulumzellen, in den Leberkulturen aus Kupfferschen durch Zusammenfließen. Die Vermehrung der Kerne in diesen Zellen vollzieht sich mitunter auch im Wege der direkten Teilung, doch wird dies seltener

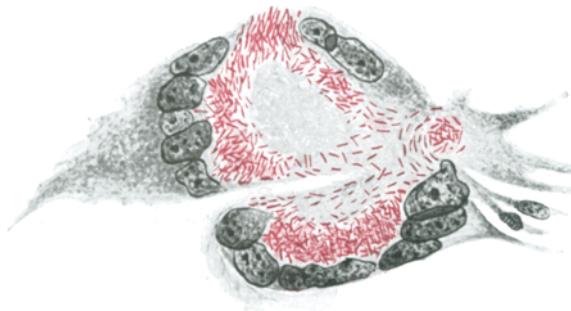


Abb. 7. Aus einer 11 tägigen Kultur von Milz eines  $3\frac{1}{2}$ monatigen Embryos. Langhanssche Zelle mit zahlreichen BCG. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 4 Komp.

beobachtet. Die Langhansschen Zellen befinden sich stets in der Lagerungszone der Tuberkelbacillen, mitunter in ihrer unmittelbaren Nähe (Abb. 8).

In dem letzteren Falle können oft bemerkenswerte Wechselbeziehungen zwischen der Langhans-Zelle und der Bakterienkolonie beobachtet werden: zahlreiche unregelmäßige Kerne der Zelle lagern sich mit ihren Oberflächen dicht an die Bakterienmasse an. Daß der funktionelle Zustand dieser Kerne erhöht ist, scheint sehr wahrscheinlich, da sie gewissermaßen einen Schutzwall gegen das Hereinwachsen der Bakterien in den zentralen Teil der Zelle vorstellen. Tatsächlich beobachtet man zuweilen ein solches Bild wie es in Abb. 8 dargestellt ist, wo eine Langhans-Zelle von 3 Seiten von Bakterienmassen umgeben ist, und nichtsdestoweniger im zentralen Teil kein einziges Stäbchen zu finden ist. Die Langhans-Zellen lagern sich gewöhnlich getrennt, sowohl voneinander als auch von anderen Phagocyten. Sie bilden deshalb nicht Bestandteile von Tuberkeln. Degenerative Erscheinungen fehlen

in ihnen; man kann sie als in einer Art von Symbiose mit den Bakterien befindliche Zellen ansehen.

Außer in der Bildung typischer Langhans-Zellen äußert sich die Reaktion der Gewebe gegen BCG. bisweilen in der Entwicklung von sehr großen syncytialen Massen von unregelmäßiger Gestalt, die durch Zusammenfließen entstanden sind, hunderte von unordentlich zerstreuten Kernen enthalten und in ihrem Protoplasma bedeutende Mengen von Bakterien aufweisen (Abb. 9).

Eine solche Symbiose von Zellen mit Spaltpilzen erscheint als dauerhaftes Gebilde, das sich längere Zeit, über eine Woche erhalten kann, was durch das Studium lebender Kulturen, in welchen die Syncytien

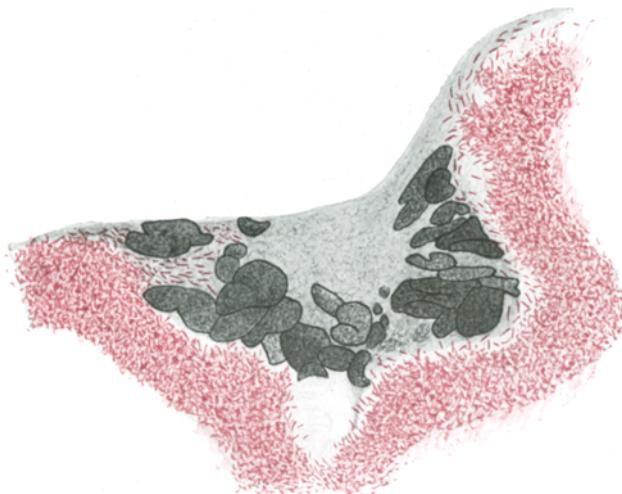


Abb. 8. Aus einer 6tägigen Kultur von Milz eines 3½-monatigen Embryos. Langhanssche Zelle inmitten einer Menge von BCG. Vergrößerung: Objekt. Reichenberg. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 6 Komp.

gut zu sehen sind, mit nachfolgender Fixierung und Färbung bewiesen wird.

Obwohl die Bildung typischer Tuberkel bei diesen Versuchen nicht stattfand, so haben wir dennoch kleinere Anhäufungen von epithelioiden Zellen, gewöhnlich an Orten der BCG.-Lagerung häufig beobachtet.

Es bleibt nunmehr noch die Frage zu beantworten, welches das Schicksal der in die Gewebskulturen gebrachten Bacillen *Calmettes* ist. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle vermehren sich die Bakterien unbehindert, überschwemmen die Kultur und richten sie zugrunde. Wenn jedoch kleinere BCG.-Kolonien sich inmitten kräftig wachsenden Gewebes befinden und von ihnen allseitig umschlossen sind, so ist nicht selten eine deutliche Hemmung im Wachstum solcher Kolonien im Vergleich zu den außerhalb des Explantats befindlichen

festzustellen. Was das weitere Schicksal der aufgenommenen Bakterien betrifft, so kann hier nicht selten eine völlige Verhinderung der Vermehrung der Bacillen im Leibe des Phagocyten beobachtet werden: oft enthält dieser sogar in älteren Kulturen nur eine begrenzte Bakterienanzahl (1—2 Stäbchen); mitunter findet jedoch auch das Umgekehrte statt, d. h. die Vermehrung der Bakterien und der Untergang des Phagocyten. Schließlich ist es zweifellos, daß in einigen Fällen die aufgenommenen Spaltpilze zerfallen, was wir bei unseren früheren Versuchen mit tuberkulöser Infektion der Gewebskulturen ausführlich beschrieben haben.

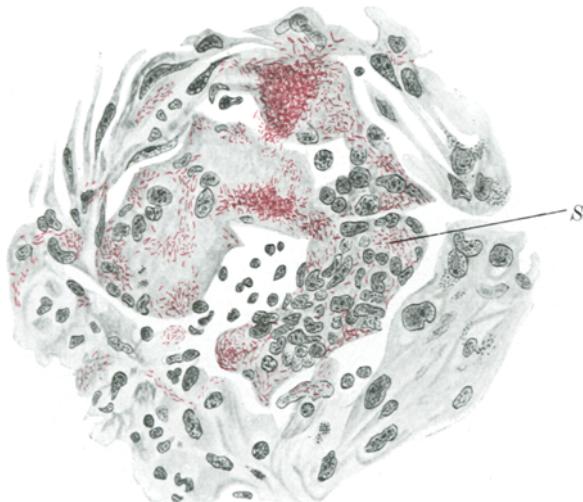


Abb. 9. Aus einer 7tägigen Kultur von Leber eines Embryos von 2 cm Länge. S = Syncytie mit zahlreichen Kernen und BCG. Vergr. Objekt. Reichert. Hom.-Imm.,  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

Zur Klarstellung der Frage von der Fähigkeit der Zellen das Wachstum der Bakterien aufzuhalten und sie zu zerstören, stellten wir einen besonderen Versuch mit Gewebskulturen vom Embryo N 6 an. Wir fügten zu den Kulturen von Leberstückchen dieses Embryos eine nur sehr geringe Menge von BCG. hinzu. In 10—15tägigen Kulturen der Leber waren säurefeste Stäbchen entweder gar nicht zu finden, oder sie befanden sich nur in vereinzelten Exemplaren in den Kupfferschen Zellen, während freie Bakterien gar nicht vorhanden waren. Die aufgenommenen Stäbchen wiesen verschiedene Anzeichen der Schädigung auf: einige von ihnen erschienen unregelmäßig verdickt, andere waren in Körner von verschiedener Größe zerfallen, wieder andere hatten beinahe völlig ihre Säurefestigkeit eingebüßt. In Vergleichskulturen, wo die BCG. in der gleichen Lösung zu vorher abgetöteten Gewebsteilchen hinzugefügt waren, hatten sich zur selben Zeit zahlreiche BCG.-Kolonien entwickelt.

In einer soeben veröffentlichten Arbeit von *Metalnikow* und *Ssekretewa*<sup>18</sup> teilen die Verfasser ihre Beobachtungen über Phagocytose der BCG. in Meerschweinchen mit; danach verloren die aufgenommenen BCG. sehr bald die Fähigkeit der Färbung, zerfielen in einzelne Körner und lösten sich vollständig auf. Die zerstörende Tätigkeit der Bakterien war von den Zellen vollständig gelähmt. Alles das stimmt mit unseren Beobachtungen *in vitro* überein.

Wenn wir die Ergebnisse dieser Versuche mit den Versuchen *in vivo* vergleichen, so sehen wir, daß die Befunde *Calmettes* betreffs der BCG. auch durch die Züchtungsversuche bestätigt werden: *diese Bakterien sind nicht fähig, in Gewebskulturen die aus Geweben von menschlichen Embryonen hergestellt sind, Tuberkelbildung hervorzurufen und auf die in vitro wachsenden Zellen vernichtend zu wirken; sie können deren Wachstum fast nur auf mechanischem Wege hemmen.*

#### *Auspflanzung embryonalen Gewebes von Menschen mit schwach-virulenten Tuberkelbacillen.*

Die Versuche mit schwach-virulenten Tuberkelbacillen hatten im allgemeinen Ergebnisse, die den vorhergegangenen recht nahe kommen. Doch äußern diese Bakterien zweifellos eine bedeutend schädlichere Wirkung auf das Explantat und rufen auch eine sehr kräftige Reaktion seitens des Gewebes hervor. Wie aus den Versuchsniederschriften ersichtlich ist, kann in den ersten 3—5 Tagen nach der Auspflanzung ein besonderer Unterschied zwischen mit BCG. infizierten Kulturen und solchen, die mit schwach-virulenten Tuberkelbacillen infiziert waren, nicht bemerkt werden. Ein wenig später beginnt unter dem Einfluß der schwach-virulenten Tuberkelbacillen eine Degenerierung der Zellen, besonders der parenchymatösen, in der Nähe der Bakterien liegenden Zellen und das Wachstum der Mesenchymzellen wird einigermaßen aufgehalten. Nichtsdestoweniger bleiben in einiger Entfernung von den Bakterienkolonien die Zellen unverändert und zerfallen nicht.

Bei dem Versuch mit Embryo N 1 bekundete die Gewebskultur aus dem Herzmuskel mit schwach virulenten Tuberkelbacillen noch am 11. Tage nach der Auspflanzung kräftige Zusammenziehungen; bei Untersuchung fixierter und gefärbter Schnitte dieser Kultur stellten wir fest, daß die Zellen im Ansiedlungsbereich der Tuberkelbakterien degeneriert waren, daß jedoch in einiger Entfernung von den Bakterienkolonien das Myokard gut erhalten war.

Im übrigen verfallen die Gewebskulturen mit schwach-virulenten Tuberkelbakterien, wenn diese das Explantat durchwachsen, einer völligen Nekrose, was gewöhnlich 10—15 Tage nach der Auspflanzung eintritt. Weniger empfindlich für die Einwirkung der tuberkulösen Toxine

erscheinen die Fibroblasten, die mitunter weiterwachsen, trotz der Infiltration des Gewebes durch Bakterien.

Die Reaktion der Gewebe auf schwach-virulente Tuberkelbacillen äußert sich in Phagocytose und Bildung von Tuberkeln. Die Phagocytose erreicht höhere Grade als bei den Versuchen mit BCG. Häufig sind Wanderzellen mit Bakterien buchstäblich überfüllt, was auch damit zusammenhängen kann, daß die Stäbchen hier, wie oft zu beobachten ist, sich im Körper des Phagocyten noch vermehren (Abb. 10).

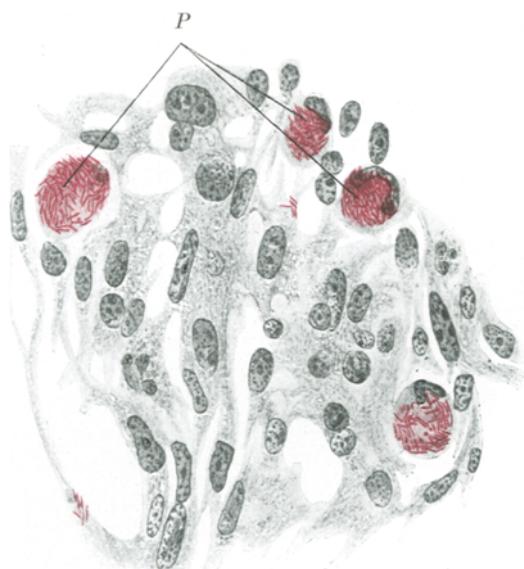


Abb. 10. Aus 9tägiger Mesenchymkultur von einem Embryo von  $1\frac{1}{2}$  cm Länge.  $P$  = Polyblasten mit schwach virulenten Tuberkelbakterien. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 4 Komp.

Dieser Versuch unterscheidet sich von demjenigen mit BCG. besonders durch die Ausbildung von Tuberkeln. Ihr Bau ist der gewöhnliche: sie bestehen aus Langhansschen und epithelioiden Zellen (Abb. 11).

Gewöhnlich erwies sich an einer solchen Stelle eine bedeutende Anzahl von Tuberkelbacillen. Diese Tuberkel stellen unbeständige Gebilde dar und unterliegen bei weiterer Vermehrung der Tuberkelbacillen der Nekrose. Sie entwickeln sich verhältnismäßig selten.

#### *Explantation von embryonalem Gewebe mit virulenten Tuberkelbacillen.*

Kulturen von embryonalem Gewebe, das mit virulenten Tuberkelbacillen infiziert ist, kennzeichnen sich durch rasch eintretende Nekrose in der Umgebung des Befundortes der Bakterien (Abb. 12). Besonders

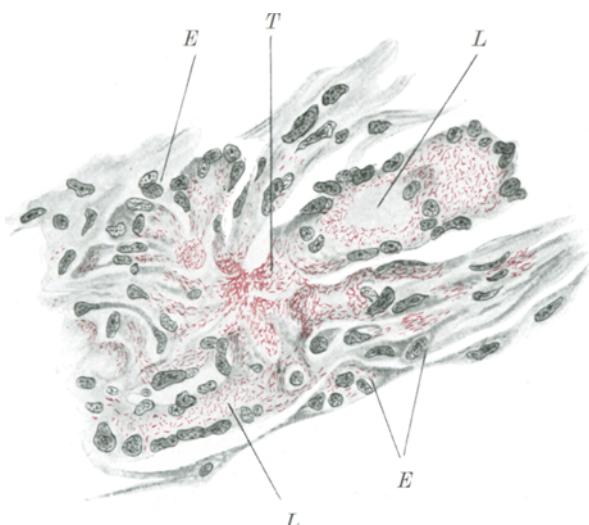


Abb. 11. Aus einer 8-tägigen Kultur von Milz eines  $3\frac{1}{2}$ -monatigen Embryos. L = Langhanssche Zellen; E = Epitheliode Zellen; T = schwach virulente Tuberkelbacillen. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

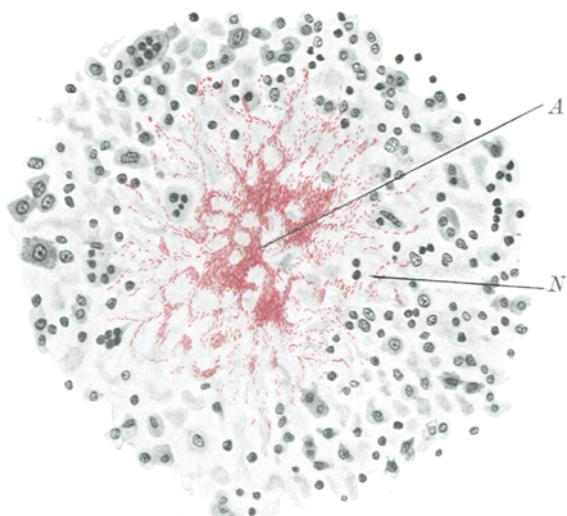


Abb. 12. Aus einer 5-tägigen Kultur von Leber eines Embryos von 2 cm Länge. A = Kolonie virulenter Tuberkelbacillen; N = nekrotisierte Zellen in der Umgebung der Kolonie. Vergrößerung: Objekt Reichert 7. Okul. Zeiss, 2 Komp.

rasch zerfallen die Parenchymzellen: Leberzellen, Muskelfasern des Myokards u. a., während die Fibroblasten die Einwirkung der tuberkulösen Gifte standhafter vertragen. In Kulturen des embryonalen Herzens, die mit virulenten Tuberkelbakterien infiziert sind,

dauern die Zusammenziehungen 4—5 Tage fort und hören dann vollständig auf, obwohl auf den fixierten und gefärbten Präparaten bedeutende Abschnitte von den Muskeln, die sich in einiger Entfernung von Tuberkelbacillen befinden, morphologisch keine degenerativen Anzeichen aufweisen können.

Eine Phagocytose virulenter Tuberkelbakterien wird nur in den ersten Tagen nach der Auspflanzung beobachtet, sodann tritt dank der Vermehrung der Bakterien im Leibe der Phagocyten eine Nekrose ein. Die Bildung von Tuberkeln und Langhansschen Zellen wird selten beobachtet infolge schnell eintretenden Zerfalls der entsprechenden Teile.

In dieser Beziehung stimmen diese Versuche vollkommen mit den Versuchen der Kultur von Leukocyten aus normalem Menschenblut mit virulenten Tuberkelbakterien überein. In diesen letzteren Kulturen beobachtet man ebenfalls eine schnell eintretende Nekrose der Zellen am Befundort der Bacillen und nur, wenn die Kultur mit unbedeutenden Mengen von Tuberkelbacillen infiziert ist, kommt es zur Bildung von Tuberkeln mit Langhansschen Zellen.

#### *Kulturen von Leukocyten aus normalem Menschenblut mit BCG.*

In den Vergleichskulturen von Lymphocyten und Monocyten des Menschenbluts entwickeln sich binnen einiger Tage große Wanderzellen, die Polyblasten *Maximows* oder Makrophagen; ein großer Teil derselben streckt sich bald in die Länge aus, bekommt lange spitzendige Ausläufer und setzt sich an einem Ort fest, auf solche Weise den Ursprung von ruhenden Wanderzellen bildend, die allmählich den Charakter von Fibroblasten annehmen (Abb. 13), während die gekörnten Leukocyten bereits in den ersten Tagen der Auspflanzung zugrunde gehen.

Bei Infektion der Kulturen mit virulenten Tuberkelbacillen vollzieht sich, wie unsere früheren Versuche gezeigt und unsere neuerlichen bestätigt haben, bei dem Eindringen größerer Bakterienmengen ein schneller Untergang der Zellen, beim Eindringen geringerer Bakterienmengen die Bildung von typischen Tuberkeln; diese sind reich an Langhansschen Zellen, die am 3.—5. Tage der Auspflanzung vollständig degenerieren, während die Bakterien sich gleichzeitig vermehren. Diese Tatsachen beweisen, daß die Leukocyten des Menschen für die Einwirkung virulenter Tuberkelbacillen sehr empfänglich sind.

Die Versuche mit BCG. ergaben, daß ungekörnte Leukocyten von normalem Menschenblut sehr gut sogar bedeutende Mengen von Calmetteschen Bacillen vertragen ohne zu degenerieren, aber auf ganz spezifische Weise gegen dieselben reagieren. Schon am ersten Tage der Auspflanzung bekundet sich unter den Zellen deutlich die Neigung, sich gerade an den Stellen, wo sich Bakterien befinden, anzuhäufen. Anfangs bestehen diese Anhäufungen aus verschiedenen Arten von

Leukocyten, darunter auch Neutrophilen und Eosinophilen. Da jedoch die gekörnten Zellen schnell zerfallen, so beginnt bereits in 2—3tägigen Kulturen die Vorherrschaft der Lymphocyten und besonders der Monozyten. Oft befindet sich in der Mitte einer solchen Anhäufung ein kleiner Haufen von Bakterien, die von allen Seiten von eng aneinander liegenden Zellen umschlossen ist, von welchen viele bald den Charakter von Polyblasten annehmen (Abb. 14). Dabei vollzieht sich eine Phagocytose der Bakterien durch Wanderzellen. Degenerative Erscheinungen unter den ungekörnten Leukocyten fehlen fast vollständig; nur in einigen Kulturen mit übermäßiger Vermehrung von BCG. ist der Untergang eines Teils der ungekörnten Leukocyten zu bemerken.



Abb. 13. Aus einer 5tägigen Kultur von Leukocyten von normalem Menschenblut. *F* = Fibroblastenähnliche Zellen. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ , Okul. Zeiss, 2 Komp.

Langhanssche Zellen beginnen schon in 2tägigen Kulturen aufzutreten, besonders viele erscheinen am 3.—5. Tage der Auspflanzung. Man kann sich leicht überzeugen, daß die hauptsächlichste Art ihrer Entstehung das Zusammenfließen von Wanderzellen ist (Abb. 15).

Diese Entstehungsart von Langhansschen Zellen wird auch in Leukocytenkulturen von Kaninchenblut bei Infektion mit Tuberkelbacillen vom Typ. hum. beobachtet, während in Leukocytenkulturen von mit virulenten Tuberkelbacillen infiziertem Menschenblut eine andere Entstehungsart vorherrscht: regellose Segmentierung der Kerne ohne Teilung des Zelleibs.

Die Langhausschen Zellen enthalten immer in ihrem Leibe BCG., und zwar gewöhnlich in den mittleren Teilen, oft in sehr bedeutender Menge; dieses ist begreiflich bei ihrer gewöhnlichen Entstehungsart durch Zusammenfließen einer Gruppe von Wanderzellen um ein Häuf-

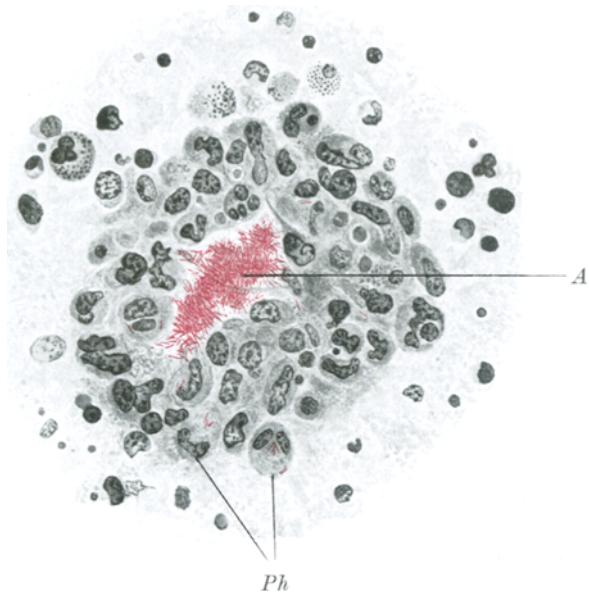


Abb. 14. Aus einer 2tägigen Kultur von Leukocyten des Menschenblutes. *A* = kleine Kolonie von BCG., umgeben von dicht aneinander gelagerten Wanderzellen. *Ph* = Phagocyten mit BCG. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 4 Komp.

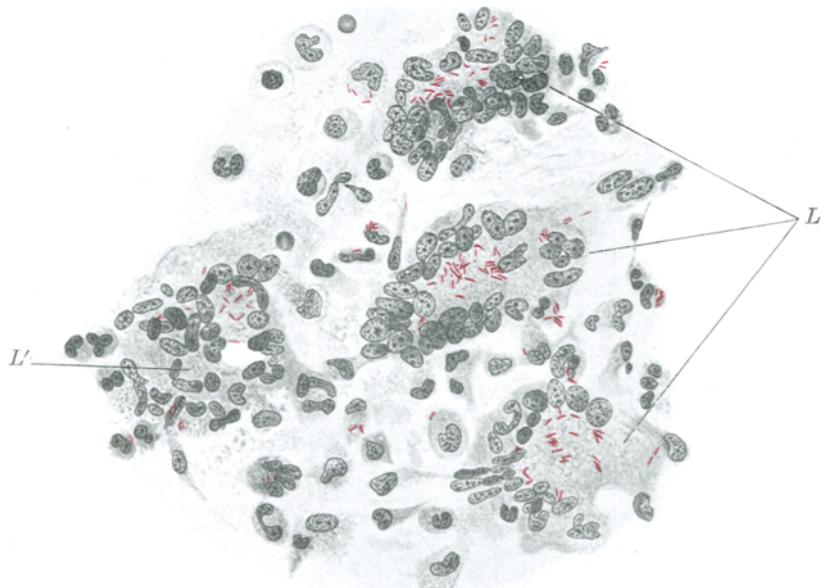


Abb. 15. Aus einer 3tägigen Kultur von Leukocyten aus menschlichem Blut. *L* = Langhanssche Zellen mit BCG.; *L'* = eine Langhanssche Zelle im Entstehen begriffen durch Zusammenfließen von Wanderzellen. Vergrößerung: Objekt Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

chen Bakterien, die somit in einer syncytialen Masse eingeschlossen erscheinen. Die Peripherie der Zelle ist von zahlreichen runden und eiförmigen Kernen eingenommen, die mitunter in einer Schicht, zuweilen in mehreren Schichten gelagert sind (Abb. 16); sie können übrigens auch in Form eines einzelnen Haufens liegen.

In den Vergleichskulturen beginnt am 4.—5. Tage der Auspflanzung eine reichliche Entwicklung der langgezogenen Zellen vom Typus ruhender Wanderzellen. Unter dem Einfluß der BCG. wird die Entwicklung dieser Zellen allerdings aufgehalten, da ihre Hauptmasse den

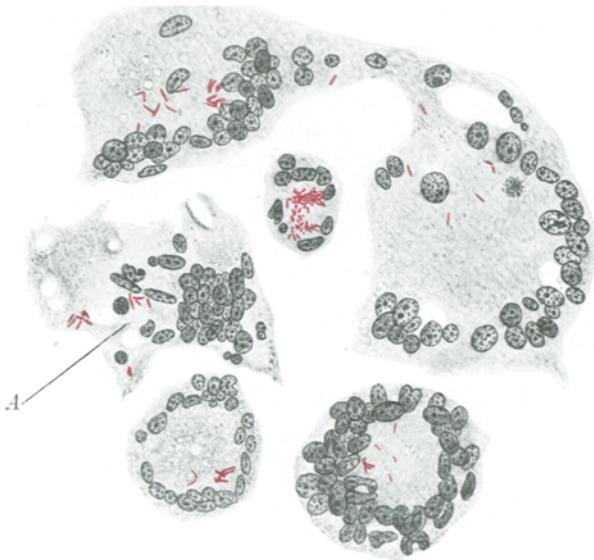


Abb. 16. Langhanssche Zellen in Leukocytenkulturen von Menschenblut mit BCG. A = Langhanssche Zelle mit atypischer Anordnung der Kerne. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 2 Komp.

Charakter der phagocytierenden Polyblasten weiterbewahrt oder zu Bildung von Langhansschen Zellen herangezogen wird, eine gewisse Anzahl von ihnen verlängert sich jedoch und versieht sich mit Ausläufern, trotzdem sie im Leib phagocytierte Bakterien (Abb. 17) enthalten. In Kulturen, die mit virulenten Tuberkelbacillen infiziert sind, wird das niemals beobachtet.

Es erübrigt noch die Beantwortung der Frage: Vollzieht sich die Ausbildung von typischen Tuberkeln in Leukocytenkulturen von Menschenblut unter der Einwirkung von BCG.? Bei aufmerksamem Studium der Präparate müssen wir uns eher zu einer verneinenden Antwort entscheiden, und zwar aus folgenden Betrachtungen. Die unter Einwirkung der BCG. entstehenden Zellanhäufungen sind ver-

hältnismäßig klein, makroskopisch sogar gewöhnlich unbemerkbar, und die Langhansschen Zellen entweder vollständig vereinzelt oder nur von einer geringen Menge von Wanderzellen umgeben (Abb. 15). Kompaktere Zellenkomplexe, wie sie in mit virulenten Tuberkelbacillen infizierten Leukocytenkulturen entstehen, bilden sich hier nicht aus. Es wäre also unrichtig, hier von der Bildung gut ausgesprochener Tuberkel zu reden.

Somit besteht der Hauptunterschied zwischen der BCG.-Einwirkung auf Leukocyten normalen Menschenbluts und der Wirkung virulenter Tuberkelbacillen auf dieselben im Fehlen degenerativer Erscheinungen in den Kulturen, in der Bildung der Langhansschen Zellen vornehmlich

durch Zusammenfließen einzelner Wanderzellen, und nicht durch direkte Kernteilung, und schließlich — in der Abwesenheit größerer Zellanhäufungen, welche Tuberkel genannt werden könnten.

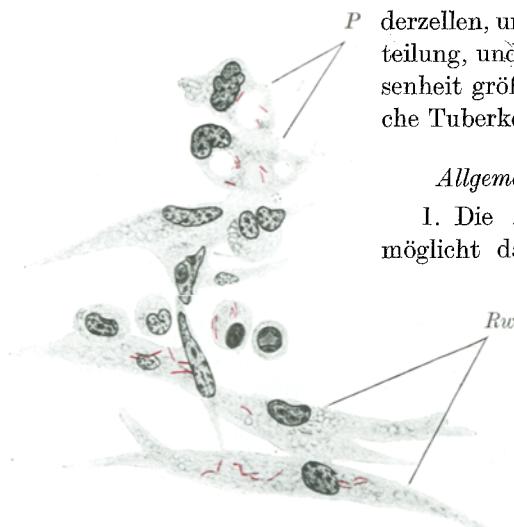


Abb. 17. Aus einer 6-tägigen Leukocytenkultur von Menschenblut. *Rw* = ruhende Wanderzellen, welche BCG. phagocytiert haben. *P* = Polyblasten mit BCG. Vergrößerung: Objekt. Reichert. Hom.-Imm.  $\frac{1}{12}$ . Okul. Zeiss, 4 Komp.

Stückchen von embryonalem Herzen lange Zeit die rhythmischen Zusammenziehungen fortsetzen.

3. Gewebskulturen von menschlichen Embryonen bekunden bei Infektion mit BCG. fast gar keine Zerfallserscheinungen, sondern nur eine gewisse Verzögerung des Wachstums; diese erklärt sich ebenso wie der später eintretende Untergang der Kulturen vornehmlich durch rein mechanische Wirkung.

4. Die Zellen in den Kulturen von Geweben und Organen menschlicher Embryonen reagieren gegen BCG. mit Phagocytose der Bakterien durch wandernde und seßhafte Histiocyten und Bildung im Wege des Zusammenfließens von Langhansschen Zellen oder Zellensyncytien.

#### *Allgemeine Schlußfolgerungen.*

I. Die Auspflanzungsmethode ermöglicht das Studium der Reaktion von Gewebe und Leukozyten menschlichen Blutes gegen Tuberkulosebakterien und darunter gegen BCG.

2. Menschliche Embryonen liefern ein wertvolles Material für die Auspflanzung, da Stückchen von Geweben und Organen der Embryonen lange Zeit in vitro kräftig weiter wachsen, und

5. Das Wachstum der BCG.-Kolonien wird in einigen Fällen zweifellos durch das um die Kolonie erwachsene Gewebe behindert.
6. Die aufgenommenen BCG. erweisen sich oft im Leib vermehrungsunfähig; in einigen Fällen tritt Zerfall und Untergang der Bakterien ein.
7. Kulturen von Geweben und Organen menschlicher Embryonen bekunden im Beisein von schwachvirulenten Tuberkelbacillen mäßige Anzeichen der Degeneration, hauptsächlich in der Nachbarschaft der Bakterienkolonien.
8. Unter dem Einflusse schwachvirulenter Tuberkelbacillen vollzieht sich, wenn auch nur in unbedeutender Anzahl, die Bildung typischer Tuberkele.
9. Virulente Tuberkelbacillen rufen die Bildung von Nekroseherden hervor und richten bei ihrer weiteren Vermehrung das ganze Explantat zugrunde. Reaktive Erscheinungen seitens der Zellen, wie Phagocytose und Tuberkelbildung, treten hier im Vergleich mit den degenerativen Erscheinungen zurück.
10. Der ungekörnte Leukocyt aus normalem Menschenblut unterliegt fast gar nicht der degenerativen Einwirkung seitens der BCG.
11. Reaktive Erscheinungen in solchen Kulturen äußern sich in Phagocytose der Bakterien und Bildung großer Langhansschen Zellen durch Zusammenfließen einzelner Zellen.
12. Typische Tuberkele werden auch hier nicht gebildet.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> Timofejewsky, A., und S. Benewolenskaja, Berichte d. Tomsker Univers. **73**, 304. 1924 (russisch). — <sup>2</sup> Timofejewsky, A., und S. Benewolenskaja, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **255**, 613. 1925. — <sup>3</sup> Timofejewsky, A., und S. Benewolenskaja, Arch. f. exp. Zellforsch. **2**, 31. 1925. — <sup>4</sup> Timofejewsky, A., und S. Benewolenskaja, Arch. f. exp. Zellforsch. **4**, 63. 1927. — <sup>5</sup> Timofejewsky, A., und S. Benewolenskaja, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **264**, 605. 1927. — <sup>6</sup> Maximow, A., Journ. of infect. dis. **34**, 549. 1924. — <sup>7</sup> Maximow, A., Journ. of infect. dis. **37**, 418. 1925. — <sup>8</sup> Smyth, H., Journ. of exp. med. **23**, 265. 1916. — <sup>9</sup> Smith, D., H. Willis und M. Lewis, Americ. review of tubercul. **6**, 21. 1922. — <sup>10</sup> Calmette, A., Ann. de l'inst. Pasteur 1926, S. 89. — <sup>11</sup> Togunowa, A., Tuberkulose-Fragen **3**. 1926 (russisch). — <sup>12</sup> Korschun, S., P. Dmischkow, A. Gorochownikowa und W. Krestownikowa, Moskaus Medizinisches Journal **11**, 16. 1926 (russisch). — <sup>13</sup> Zechnowitzer, M., Prophylakt. Medizin **78**, 26. 1926 (russisch). — <sup>14</sup> Kraus, R., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. ex. Therapie, Orig. **51**, 230. 1927. — <sup>15</sup> Gerlach, F., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, **51**, 256. 1927. — <sup>16</sup> Coulaud, E., Ann. de l'inst. Pasteur **41**, 288. 1927. — <sup>17</sup> Lemmel und Löwenstädt, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **115**, 88. 1926. — <sup>18</sup> Metalnikow, S., et M-me V. Secreteva, Ann. de l'inst. Pasteur **41**. 1927.