

Aus der Königl. Frauenklinik in Dresden.

---

## **Untersuchungen zur Aetiologie des Carcinoms und über die pathogenen Blastomyceten.**

Von

**G. Leopold.**

(Mit Taf. I—VI.)

---

Im Frühjahr 1894 hatte ich mit meinem damaligen Assistenten Dr. Rosenthal Untersuchungen begonnen über die Zusammensetzung des Carcinomgewebes, namentlich seiner Vorposten an lebensfrischem Material, um womöglich auf diesem Wege den Erregern des Carcinoms auf die Spur zu kommen.

Die Veranlassung zu diesen Untersuchungen war das jammervolle Geschick der Carcinomkranken, die wir tagtäglich zu beobachten hatten, und die geringe Befriedigung von den Erfolgen bei der operativen Behandlung derselben. War es auch gelungen, z. B. mit der vaginalen Totalexstirpation des carcinomatösen Uterus etliche Kranke bis zu 6 und 8, ja 10 Jahren recidivfrei zu halten, so trat doch bei vielen, selbst in wenig vorgeschrittenen Fällen, das Recidiv in sehr kurzer Zeit wieder auf, um blühende Leben zu vernichten und in glückliche Familien für viele Jahre, ja für immer Trauer und Bekümmerniss zu tragen.

Diese Erfahrungen regten in mir immer wieder den Gedanken an, dass in den Carcinomen Organismen wohl sein könnten von einer ganz ungewöhnlichen Lebenskraft und -Dauer, welche eine Zeit lang im menschlichen Körper ohne schädigende Wirkung sich aufhalten, unter gewissen Vorbedingungen und Anregungen aber plötzlich wuchern und zu einer ungeheuren Vermehrung und Verbreitung gelangen.

Um nun ohne jedes Vorurtheil an die Arbeit heranzutreten, hielten wir es für das Richtigste, von möglichst vielen Carcinomen der verschiedensten Körpertheile ganz lebensfrisches Gewebe und zwar von den am weitesten nach Innen vorgedrungenen Alveolen, den Vorposten, zu untersuchen, wozu wir vornehmlich einen hängenden Tropfen steriler physiologischer Kochsalzlösung, steriler Bouillon oder sterilisirten Blutserums als Hilfsmittel verwendeten. Die Betrachtung der auf das Feinste vertheilten Gewebselemente in diesen Medien erfolgte in einem erwärmten, für unsere Zwecke speciell gebauten Mikroskope, von welchem später die Rede sein wird.

Was wir Beide hierbei beobachteten, wurde im Frühjahr 1896 von Dr. Rosenthal mitgetheilt in diesem Archiv 51. Band 1. Heft in einer Arbeit: „Ueber Zellen mit Eigenbewegung des Inhalts beim Carcinom des Menschen und über die sogenannten Zelleinschlüsse auf Grund von Untersuchungen an lebensfrischem Material.“

Rosenthal fand in dem frischen Carcinomgewebe nicht blos fettig degenerirte Zellen, sondern auch sogenannte Körnchenzellen und, um eine kurze Bezeichnung zu wählen, Glaskörper. Ausserdem aber fast regelmässig runde Gebilde mit meist doppelter Contur und gefüllt mit gelben, eckigen oder länglichen Körnchen von meist glänzender Farbe. Nicht selten konnte man beobachten, wie der körnige Inhalt sich im Innern der Zelle bewegte, aus der Zelle austrat und in der umgebenden Flüssigkeit lebhaft herumschwirrte. „Diese Bewegung war eine ganz eigenthümliche: Sie bestand in einem Ineinschwirren der Körnchen, als ob der die Zelle dicht ausfüllende körnige Inhalt aufkochte. Waren die Körnchen weniger zahlreich, so tanzten sie in der Zelhöhle auf und ab. Sie waren nicht auf einmal in Bewegung, sondern allmählig schritt der Process von der Peripherie nach dem Innern zu fort. Das weitere Schicksal derselben war folgendes: An geeigneten Präparaten sah man, wie, nachdem die Körnchen eine mehr oder weniger lange Zeit in der Zelle sich bewegt hatten, plötzlich an irgend einer Stelle der Zellenperipherie ein Körnchen austrat, dem bald mehrere folgten, ohne dass man in der Zellmembran irgend eine Verletzung nachweisen konnte. In Fig. 14 A b verschwand vorher die doppelte Contur. Dieses Spiel ging stundenlang fort. Die Zelle wurde immer leerer, um so mehr traten in der

umgebenden Flüssigkeit lebhaft umherschwirrende Körnchen auf. Schliesslich blieb nur noch die leere, helle, meist einfache Zellkapsel übrig, in der zuweilen noch der Kern zurückblieb. Meist aber sah man nur eine glashelle Kugel ohne jeden Inhalt oder dunkle runde Schatten in ihr, die so aussahen, als ob daselbst entsprechend grosse Zellstücke gegessen hätten, die herausgerissen wären. In Fig. 14 A c (aus einem Cervixcarcinom) sah man bei  $\times$  den Körnchenaustritt an einer Zelle, die aufgeplatzt war.“

„Die Dauer und der Beginn der Bewegung des körnigen Inhalts war sehr verschieden. Sie wurde sofort nach Verfertigung des Präparates beobachtet, dauerte bei geeigneter Conservirung des Tropfens stunden- und tagelang, trat aber auch erst im Verlauf der Beobachtung auf und wurde noch verfolgt in Gewebstückchen, die drei Tage lang in Paraffinumhüllung gelegen hatten. In manchen Fällen war die Bewegung schwach und verschwand wieder. Die Temperatur brauchte keine constante zu sein, doch schien die Bewegung am besten in mittleren Temperaturen von 20—30° C. vor sich zu gehen.“

Waren dies nun Molekularbewegungen körnig veränderter Zellbestandtheile oder waren es in die Zellen eingedrungene Fremdkörper, d. h. Coccen oder Parasiten?

„Bei diesen Zellen, die dicht mit gelben Körnchen gefüllt waren, konnte man sich des Eindrucks nicht erwehren, als ob es sich hier um einen ungewöhnlichen Vorgang handelte. Die umgebende Flüssigkeitsmenge war viel zu gering, als dass damit erklärt werden könnte, warum die gesammten Körnchen in Bewegung sind. Hier war nur zweierlei möglich, entweder es wirkte eine Kraft von der Umgebung auf sie ein, chemische Verbindungen, oder — der Bewegungsimpuls lag in den Körnchen selbst. War letzteres der Fall, so könnte es sich nur um Coccen oder Parasiten im Zustande der Sporulation handeln.“

Rosenthal schloss seine Arbeit mit den Worten: „Es muss unsere Aufgabe sein, weitere Unterscheidungsmerkmale zwischen lebender Körperzelle und lebender eingedrungener Zelle zu finden. Wir müssen z. B. die Zellen mit beweglichem körnigen Inhalt einer eingehenden Kritik unterwerfen, nicht betreffs ihrer chemischen Abstammung und der Art ihrer Entstehung, sondern im Vergleich mit den Gebilden, welche in neuerer Zeit als Erreger von Geschwülsten angesprochen werden, mit den Parasiten aus der Classe der Coccidien und mit den Blastomyceten. Wenn man das

Ausschwärmen der Körnchen beobachtet, so liegt der Gedanke einer Aussaat zu nahe, als dass man die Untersuchung derselben aufgeben dürfte.“

Seit 1896 habe ich nun diese Untersuchungen allein fortgesetzt und über den jeweiligen Stand derselben vorgetragen in der gynäkologischen Section der Naturforscherversammlung zu Frankfurt a. M. 1896, in der Jubiläumsfestsitzung der gynäkologischen Gesellschaft zu Dresden im Mai 1898 und in den Sitzungen der Gesellschaft für Natur- und Heilkunde zu Dresden im December 1898 und im Januar 1900. In Frankfurt a. M. konnte ich zum ersten Male berichten über wiederholt im frischen Carcinomgewebe beobachtete Zellen mit Sprossung und Abschnürungsvorgängen, welche nur den Blastomyceten zugezählt werden konnten. In jener Festsitzung 1898 machte ich Mittheilung über frisches Carcinomgewebe, welches im hängenden Tropfen und in sterilen Medien bis über 200 Tage hintereinander im erwärmten Mikroskop beobachtet worden war und die deutlichsten Sprossvorgänge von glänzenden, glashellen Kugeln erkennen liess, welche ebenfalls wiederum an die von den Blastomyceten her bekannten gleichen Vorgänge erinnern mussten. Und in der jüngsten Sitzung (Januar 1900) konnte ich über Culturen von Blastomyceten, gewonnen aus menschlichen Carcinomen, sowie über experimentell in Thieren erzeugte Geschwülste, welche durch Einpflanzung von menschlichem Carcinomgewebe bezw. von Blastomycetenculturen entstanden waren, Bericht erstatten und Präparate derselben demonstrieren, welche über die Blastomycetennatur einen Zweifel nicht aufkommen lassen konnten.

Was nun hierüber bisher von mir gefunden worden ist, soll in den folgenden Zeilen dargelegt werden.

## I.

Zur Untersuchung kamen mehrere Hunderte von Carcinomen, vornehmlich vom Uterus, den Ovarien und Tuben, von der Scheide, den äusseren Geschlechtsorganen, von der Mamma, vom Peritoneum, Omentum; dann aber auch vom Oberarm, Oberkiefer, von der Lippe u. s. w. Unter ihnen wurde aber eine sehr sorgfältige Auswahl getroffen.

Die Grundsätze, welche dabei consequent befolgt wurden, waren folgende:

### 1. Wahl des Materials. Aufbewahrung. Beobachtung von nur lebensfrischem Material.

Ulcerirende Carcinome wurden ausgeschlossen und höchstens insoweit verwendet, als nach möglichst weiter Abtragung der Zerfallsfläche am exstirpirten Organ sich centralwärts frisch aussehende Vorposten noch vorfanden. Diese letzteren wurden an jedem entfernten Carcinom aufzufinden gesucht. Gelang dies nicht, wie z. B. an einem Collumcarcinom mit tiefem Krater, oder an einem flachen Brustkrebs oder an einem ganz zerfallenden Oberkiefercarcinom, so wurde das Präparat für die Zwecke der Untersuchung ganz lebensfrischen Gewebes und der Vorposten sofort bei Seite gelegt und höchstens für die mikroskopische Untersuchung aufbewahrt.

Diese Vorsicht ist unbedingt geboten. Man braucht nur von der Oberfläche, ja selbst von den nächst tieferen Schichten ulcerirender Carcinome von den verschiedensten Stellen Gewebe frisch zu untersuchen, in Glycerin oder im hängenden Tropfen, und man wird eine Unsumme aller möglichen Coccen und Bacterien vorfinden.

Je tiefer man aber vordringt, um so sauberer sind die Vorposten des Carcinoms. Vortrefflich sieht man sie in vielen Fällen von Portiocarcinom als weissliche Stränge, wie frisch gekochter Reiss aussehend, sich im intermuskulären Gewebe der Collumwand bis zum inneren Muttermunde, ja darüber hinaus erstrecken; besonders schön in frischen Fällen von Corpuscarcinom, wo sie wie verzweigte Wurzeln die Muskulatur durchsetzen und bis an die Serosa manchmal heranreichen. Am reinlichsten begegnet man dem Carcinom in den erkrankten Ovarien junger Mädchen (9—14 Jahren), ferner vom Netz und vom Peritoneum, wo man frische Knoten von allen Grössen gewinnen kann. Vorzüglich eigneten sich zur Untersuchung auch die nicht ulcerirten, harten, knotenartigen Mammacarcinome mit den Achseldrüsen, in denen man bei der Probeuntersuchung des frischen Gewebes auch nicht einen Coccus oder Fäulnisbakterien vorfand.

Besondere Aufmerksamkeit verlangt die Art der Aufbewahrung eines operativ entfernten Carcinomstückes oder -Organes, bis man selbst die mikroskopische oder bacteriologische Untersuchung mit ihm vornehmen kann. Hier ist Grundsatz: sofortige Unterbringung in sterilisirte Umhüllungen; Untersuchung in sterilisirten Flüssigkeiten; Verwendung sterilisirter In-

strumente und Utensilien; saubere Hände und Umgebung und ein genau zu temperirendes Mikroskop.

Von den Carcinomen der Ovarien, des Netzes oder Bauchfells u. s. w. werden noch während der Operation einzelne oder mehrere frische Knoten oder Vorposten sofort in sterilisirte dicke Gazetücher gewickelt und in sterilisirte Gläser gelegt, worauf dann möglichst bald nach der Operation die Untersuchung vorgenommen wird. Dass hierbei jedwede Möglichkeit der Berührung mit Eiter- oder Fäulnisserregern auszuschliessen gesucht wird, versteht sich wohl von selbst. Unsere Untersuchungen fanden stets in einem besonderen, nur diesem Zwecke dienenden Zimmer statt, in welchem weder Operationsübungen, noch Sectionen zur Ausführung kamen, noch andere Personen verkehrten, als der Verfasser und 1 oder 2 Mitarbeiter. Für häufige Reinhaltung dieses Zimmers wurde Sorge getragen. Grössere carcinomatöse Organe, wie Ovarien, Mamma, wurden mit mehreren sterilisirten Messern unter Kreuz- und Schrägschnitten so lange zerlegt, bis die jüngsten Vorposten gefunden waren. Es muss also ausdrücklich betont werden, dass das Krebsmaterial zur Untersuchung ganz frischen Gewebes niemals von der Oberfläche, sondern nur aus der Tiefe bez. aus der Mitte eines Knotens genommen wurde. — Die sterilisirten Flüssigkeiten wurden frisch bereitet, auch wiederholt geprüft; und sind irgend welche Culturen von ihnen nach Ueberimpfung nicht aufgegangen.

Grösstes Gewicht wurde bei unseren Untersuchungen schon von Anfang an darauf gelegt, die kleinsten Gewebstheilchen von Carcinomvorposten im hängenden Tropfen möglichst lange bei Körperwärme zu beobachten, einmal um zu sehen, ob sich in ihnen doch irgend welche Kokken oder Bakterien vorfänden, zweitens um zu beobachten, was nach Wochen und Monaten sich von den Gewebelementen und den darin etwa enthaltenen Parasiten irgendwie verändert: sprosst, wächst oder degenerirt. Zeigten sich im hängenden Tropfen bez. zwischen den Gewebszellen nach kurzer Zeit doch Kokken oder Bakterien, so wurde dieses Präparat als unbrauchbar bei Seite gelegt; es war demnach die Stelle des Krebstumors, von welchem es entnommen, doch schon angefault. Solche Störungen durch Bakterien kamen aber, wenn man nur alle erwähnten Vorsichtsmassregeln genau beachtete, recht selten vor, sodass wir daran gewöhnt waren, Carcinomgewebe im hängenden Tropfen steriler Bouillon im erwärmten Mikroskope bis zu 200

Tagen und darüber hintereinander zu beobachten, ohne dass auch nur eine Spur von Fäulnisorganismen darin zu erkennen waren.

Wie schon in Rosenthal's Arbeit erwähnt, wurde das von mir benutzte Mikroskop auf meine Anregung und zum Theil nach meiner Angabe gebaut im Winter 1894/95 von dem Mechaniker an der Kgl. Technischen Hochschule in Dresden, Herrn Leuner, welcher dasselbe als heizbares Mikroskop mit von Luftdruckänderungen unabhängigem Differential-Thermoregulator bezeichnet hat. Es befindet sich seit 1895 fast ununterbrochen in meinem Gebrauche, arbeitet tadellos, indem die Temperatur in ihm z. B. auf 37,5—38,0 C. ununterbrochen gehalten werden kann, und darf wohl als einzig in seiner Art bezeichnet werden.

Da dasselbe bisher noch nicht beschrieben wurde, so möge die Erläuterung durch Herrn Leuner selbst hier folgen:

„Bei diesem Mikroskop ist das sonst bei bakteriologischen Untersuchungen meist verwendete geheizte doppelwandige Wasser-Gefäss durch ein doppelwandiges Warmgehäuse ersetzt, zwischen dessen beiden Wandungen Wärmeschutzmasse sich befindet, so dass das Innere gegen Wärmeausstrahlung vollkommen geschützt ist. Ausserdem unterscheidet sich aber das Mikroskop von anderen bekannten Instrumenten wesentlich dadurch, dass bei ihm das Object fest steht und die optischen Theile des Mikroskops zum Object nach allen Richtungen hin in der Horizontalen und Verticalen eingestellt werden können.

In der beigegeführten Zeichnung Fig. 1, Tafel I, ist Leuner's heizbares Mikroskop in der Vorderansicht mit theilweisen Querschnitten dargestellt. Fig. 2 zeigt eine theilweise Oberansicht und Fig. 3 die Hinteransicht.

Durch den Deckel des Warmgehäuses (a) ist der Mikroskop-Tubus (m) in das Innere eingeführt und derart angeordnet, dass er von aussen durch Mikrometerschrauben horizontal und vertical verstellt werden kann. Zur Verticaleinstellung dient die Schraubenmutter (v); die Horizontaleinstellung wird durch die beiden Mikrometerschrauben (o<sup>1</sup>) bewirkt, welche den plattenförmigen Tubusträger (m<sup>1</sup>) gegen 2 federnde Stifte (o<sup>2</sup>) drücken. An dem Tubusträger (m<sup>1</sup>) sitzt ausserdem noch ein prismatischer Arm (m<sup>2</sup>), an welchem ein Abbe'scher Beleuchtungsapparat in der Axenrichtung des Mikroskop-Tubus verstellbar angebracht ist. Diese Verstellung

des Beleuchtungsapparats bewirkt man durch den ausserhalb des Gehäuses befindlichen Schraubenkopf (b). Die Oeffnung der Irisblende kann durch 2 Schnuren ( $b_1$  und  $b_2$ ) ebenfalls von aussen regulirt werden.

In der Seitenwand des Warmgehäuses befindet sich eine Oeffnung ( $a^1$ ) zur Einführung des Objecttträgers (t), welcher durch einen Schraubkloben ( $t^1$ ) an der Fassung der Oeffnung fest geschraubt wird.

Die Beleuchtung des Objects erfolgt durch einen der gebräuchlichen Mikroskopspiegel (s). Derselbe ist unter einer durch 2 Plangläser nach aussen sorgfältig verschlossenen Oeffnung ( $a_2$ ) am Boden des Warmgehäuses angeordnet. Alle in das Innere des Warmgehäuses ragenden Mikroskoptheile sind durch Wärmeschutzmasse sorgfältig isolirt.

Die Erwärmung des Warmgehäuses (a) erfolgt durch Warmwasserheizung, welcher ein vertical aufgestellter Rohrkessel (r) mit einem Flammenrohr ( $r^1$ ) dient. An den oberen Theil des Rohrkessels ist ein Heizrohr (h) angeschlossen, welches das Innere des Warmgehäuses in schraubenförmigen Windungen durchläuft, um dann in den unteren Theil des Rohrkessels wieder einzumünden. Die Heizung erfolgt durch einen Bunsen'schen Gasbrenner (g). Die Circulation des Heizwassers wird durch einen am unteren Theile des Heizrohres angebrachten Kühlmantel (k) befördert.

Um die Temperatur im Innern des Warmgehäuses immer auf derselben Höhe erhalten bzw. bei erfolgter Abkühlung sofort wieder auf die Normalhöhe bringen zu können, wird die Heizflamme durch die jeweilige Temperatur im Innern des Warmgehäuses und des Kesselwassers derart regulirt, dass bei zu hoher Temperatur im Warmgehäuse die Heizflamme von selbst verkleinert wird und umgekehrt. Dies geschieht durch einen für diesen Zweck speciell construirten, von Luftdruckänderungen unabhängigen Differential-Thermoregulator, welcher aus einem im unteren Theile mit Quecksilber gefüllten doppel-U-förmigen Glasrohr ( $x_1$ ,  $x_2$ ) (Fig. 1 und 3) besteht. Der linke Schenkel desselben ( $x_1$ ) ist in das Innere des Warmgehäuses eingeführt und endet dort in einer schraubenförmigen Spirale ( $x_1$ ). Der rechte Schenkel hingegen mündet in den oberen Theil des Heizkessels und endet hier ebenfalls in einer schraubenförmigen Spirale ( $x_2$ ).

Der Quecksilberminiskus im mittleren Schenkel des doppel-U-förmigen Glasrohres regulirt die Speisung der Heizflamme dadurch, dass durch seine Verbindung mit den Spiralen  $x_1$  und  $x_2$  die Aus-



flussöffnung des Gases (n) kleiner oder grösser wird, je nachdem der Quecksilberstand darin höher oder niedriger ist. Erniedrigt sich nämlich, z. B. bei Einführung eines Objects, die Temperatur im Warmgehäuse, so erfolgt gleichzeitig eine Abkühlung der Thermospirale  $x_1$ , in Folge dessen der abschliessende Quecksilberminiskus sinkt und eine reichlichere Menge Gas der Heizflamme zuströmt. In demselben Maasse, in dem die Temperatur im Innern des Warmgehäuses durch stärkere Heizung steigt, verringert sich auch die Menge des zuströmenden Heizgases und demgemäss die Heizkraft wieder. Wie ausserordentlich fein die Wärmeregulirung ist, kann man daraus entnehmen, dass der Quecksilberminiskus sich nur um 0,2 mm zu heben braucht, um das vollständig geöffnete Gaszuführungsrohr (n) vollständig zu schliessen. Falls bei dieser Regulirung oder durch einen Zufall die Heizflamme verlöscht, so entzündet sie sich von selbst wieder durch ein für diesen Zweck neben der Heizflamme angebrachtes von der Regulirung unabhängiges Zündflämmchen ( $g^1$ ).

Der Beobachtung der Temperaturen im Warmgehäuse dient ein von aussen ablesbares Thermometer c und zur Beobachtung der Temperaturen des Kesselwassers ein Thermometer  $c^1$ .“

Das frische Carcinomgewebe wurde aber nicht nur in sterilen Nährflüssigkeiten untersucht, sondern auch nach den Angaben von Busse, Sanfelice, Kayser u. A. in macerirenden Flüssigkeiten, wie Natron- und Kalilauge, schwacher Salpetersäure, Salzsäure, 40 procentiger Schwefelsäure. In ihnen werden die zelligen Elemente aufgelöst, Parasiten aber wie z. B. Blastomyceten nicht verändert. Natronlauge, Salzsäure und schwache Salpetersäure haben sich immer am brauchbarsten gezeigt.

## 2. Anlegen von Culturen.

Der Anlage von Culturen von dem Saft oder den Gewebs-elementen der Vorposten oder von vollkommen frischen Carcinomknötchen, z. B. der Ovarien, des Bauchfells, des Netzes, der Achseldrüsen, wurde stets die Untersuchung im hängenden Tropfen und im erwärmten Mikroskop aus den oben angeführten Gründen vorausgeschickt. Von Coccen oder Bakterien irgendwie durchsetztes Gewebe galt für die Anlage von Culturen unbrauchbar.

Wenn irgendwo die grössten Vorsichtsmaassregeln der Sauberkeit und Asepsis am Platze sind, so ist es hier besonders der

Fall. Um jedem Einwurf von vornherein zu begegnen, so möchte hier, selbst auf die Gefahr der zu ausführlichen Auseinandersetzung hin, nochmals betont sein, das einerseits nur ganz frische und gegen den Zutritt der Luft wohlgeschützte Carcinomstücke, andererseits nur sterilisirte bzw. wieder durch die Flamme gezogene und abgekühlte Messer, Pincetten, Platinösen zur Verwendung kamen.

Nährmedien waren vornehmlich sterile Bouillon, steriles Blutserum, Traubenzuckerlösung, neutrale und angesäuerte Gelatine; ferner Agar + Gelatine + Malzextrakt; ferner sterile Bouillon + 2procentig. Pepton + 3procentig. Traubenzucker.

Am besten bewährte sich Nährgelatine, die eine Spur angesäuert worden war. Sie wird, wie schon andere Forscher angegeben haben, von Blastomyceten niemals verflüssigt.

### 3. Uebertragung.

Sie bestand darin, dass frisches Vorpostengewebe theils in Form von grösseren oder kleineren Stückchen, theils als Brei in die Bauchhöhle gebracht wurde bei Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen; ebenso unter die Rückenhaut von Ratten.

Ferner wurde bei Ratten die Rückenhaut an der Schwanzwurzel erst wund gemacht durch wiederholtes Bestreichen mit Crotonöl oder rauchender Salpetersäure und später, nachdem sich eine Art chronischen Ekzems gebildet hatte, auf diese Stelle frischer Carcinombrei wiederholt eingerieben.

Zur Uebertragung wurden aber auch, nachdem es gelungen war, aus menschlichen Carcinomen Blastomycetenculturen zu gewinnen, diese letzteren verwendet und zwar theils intraabdominal, theils subcutan, theils durch Injection in die Ohrvene, in die Hoden, in die Mammæ bei Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen.

### 4. Nachweis der Gährung.

Bei der Untersuchung frischen Gewebes im hängenden Tropfen traten sehr bald, wie später klargelegt werden wird, zellige Gebilde in den Vordergrund, welche nicht anders als Blastomyceten gedeutet werden konnten. Um dieselben zu bestätigen, machte sich ausser der Gewinnung von Culturen, welche in vielen Fällen nicht gelangen, der Nachweis der alkoholischen Gährung nothwendig. Zu dem Zwecke wurde von dem Vorpostengewebe, in

welchem Blastomyceten gesehen bzw. angenommen wurden, kleinste Stückchen in steriler Bouillon und steriler Traubenzuckerlösung fein vertheilt und diese Mischung in das für Gährungsversuche bekannte Uförmige Glas gebracht, um zu sehen, ob sich Kohlensäure und Alkohol entwickelt.

Hatte sich in der geschlossenen Röhre nach einigen Stunden unter Verdrängung der Flüssigkeit die Kohlensäure angesammelt, so wurde die Flüssigkeit mit dem Carcinomgewebe in eine sterilisirte Probirgläschen gegossen, etwas Kalilauge zugefügt und dann mit ein paar kleinen Stücken metallischen Jodes versetzt. Entwickelte sich nach einiger Zeit aus dem Probirgläschen ein deutlicher Jodoformgeruch, so musste in der Flüssigkeit Alkohol anwesend sein, welcher durch Hefe aus der Zuckerlösung abgespalten worden war.

Mehrfache Controlversuche mit Gewebsstücken, die von nicht carcinomatösen Organen stammten, ergaben wohl Kohlensäurebildung, aber in Bezug auf Alkoholabspaltung und Jodoformgeruch ein negatives Ergebniss.

### 5. Die mikroskopische Untersuchung.

Sie verlangt in der Deutung die grösste Vorsicht und erlaubt ohne Untersuchung frischen Gewebes und ohne Anlegung und Gewinnung von Culturen gar keine bestimmten Schlüsse.

Die mannigfachen, von den verschiedensten Forschern für unser Thema angegebenen Färbemittel gaben von einer bestimmten Blastomycetencultur schon ganz verschiedene Bilder; um wieviel mehr in den Schnitten von Organen, welche durch die vorherige Einwirkung von Härtungsmitteln (Alkohol, Sublimat, Müller'sche Lösung, Formalin) ganz verändert worden sind.

Am besten bewährte sich für den Nachweis der Blastomyceten Hämatoxylin und Carbolfuchsin; sehr gut war auch Hämatoxylin und Eosin; ferner van Gieson'sche Flüssigkeit, Ehrlich'sche Mischung und Saffranin. Freilich bleibt auch damit ihre Färbung in manchen Fällen vollständig aus, selbst in solchen, von denen man bei der Untersuchung frischen Gewebes eine Anzahl von Blastomyceten gesehen hat.

Dies kann wohl nur darauf beruhen, einmal, dass durch die vorausgehende Härtung ein ungünstiger Einfluss ausgeübt wird,

und zweitens, dass sich die Blastomyceten in den verschiedensten Stufen ihrer Lebensthätigkeit befinden und darin die Farbe sehr verschieden annehmen.

## II.

Was wurde nun mit Hülfe dieser Methoden beobachtet?

### 1. Im frischen Gewebe.

Bei der Schilderung der Befunde sehe ich vollständig ab von den normalen und veränderten Gewebszellen und Kernen, da dieselben in Rosenthal's Arbeit eine eingehende Erörterung gefunden haben. Dass verfettete, gequollene, in einander geschachtelte und im Zerfall begriffene Zellen, ferner rothe und weisse Blutkörperchen und freie Kerne mit den wunderbarsten Figuren, namentlich was ihre Kernkörperchen und das Protoplasma betrifft, im Carcinomgewebe vorkommen, darf als bekannt vorausgesetzt werden. Wenn man sich Jahre lang bei seinen mikroskopischen Studien mit diesen Dingen beschäftigt, alle möglichen Stadien des Carcinoms durchmustert und namentlich die vielen freien Kerne und Kernkörperchen in zahlloser Menge und in immer wieder denselben Form- und Inhaltsveränderungen gesehen hat, so wird dem unbefangenen Beobachter um so mehr das auffallen, was unmöglich ihnen zugezählt werden kann.

Dies sind in erster Linie Sprossungs- und Abschnürungsvorgänge, ferner auch Sporenbildungen in runden 2—4  $\mu$  und darüber grossen, glänzenden, zum Theil glashellen Gebilden, wie sie schon in Rosenthal's Arbeit kurz als Glaskörper bezeichnet worden sind.

Aus einem Ovarialcarcinom (15. 6. 96) konnte man innerhalb weniger Stunden im erwärmten Mikroskop bei constanter Temperatur von 37,8 längliche, hellglänzende Gebilde (Taf. III, Figg. 1 und 6) folgende Formveränderungen durchmachen sehen: Nach wenigen Minuten hatte sich in Fig. 1 eine doppelte leichte Einkerbung gebildet (Fig 2), welche nach und nach (Fig. 3 bis 5) durch immer tiefere Einkerbung zu einer runden Mittelkugel mit zwei kleineren, noch eng ihr verbundenen glashellen Kugeln führte. In Fig. 6 sah man einen ca. 8  $\mu$  langen und 1—2  $\mu$  breiten biscuitähnlichen glashellen Körper, von welchem sich nach ungefähr einer halben Stunde bei ununterbrochener Beobachtung (Fig. 7) am unteren

Ende durch Einkerbung eine runde, glashelle Kugel von gleicher Structur abtrennte, aber noch durch einen kurzen Faden mit dem Biscuit in Verbindung stand. Durch molekuläre Bewegung in der Untersuchungsflüssigkeit drehte sich diese kleinere Kugel lebhaft an dem Biscuit hin und her, ein Spiel, welches von Verschiedenen von uns längere Zeit sehr gut beobachtet werden konnte, namentlich als der Verbindungsfaden (Fig. 8 und 9) etwas länger geworden war. Inzwischen hatte sich das eine Ende des Biscuits (Fig. 9) noch mehr verdickt und hob sich durch eine tiefe Einkerbung von dem anderen Ende ab, das sich zu einer Kugel gestaltete (Fig. 10). Mit dem weiteren Wachsthum der ersten Kugel lagen schliesslich (Fig. 11 und 12) 3 verschieden grosse glashelle Kugeln dicht aneinander, deren Ursprung aus dem Biscuit (Fig. 6) bei erster Betrachtung wohl Niemand angenommen haben würde.

An einer anderen Stelle lag ein flaschenähnlicher glasheller Körper (Fig. 13), welcher nach mehreren Stunden einen dickeren Seitenspross darbot (Fig. 14). Gebildet wie in Fig. 15, die denen in Fig. 4 und 5 glichen, begegnete man nicht selten; ebenso konnte man recht häufig verfolgen, wie aus einer glashellen Kugel (Fig. 16) durch Aussprossung sich Formen entwickelten, wie sie in Fig. 17 und 18 als typische gezeichnet worden sind.

Von den Vorposten eines Uteruscarcinoms lag frisches Gewebe im hängenden Bouillontropfen vom 23. 6. 1896 bis 9. 12. 1896 und von einem anderen Carcinom von Mitte Juni 1897 ununterbrochen bis zum Juli 1898 im erwärmten Mikroskope.

Während der ersten vier Wochen sah man, ohne dass jetzt und späterhin auch nur eine Spur von Fäulnisbacterien aufgetreten wäre, zwischen den verschiedensten Gewebszellen glashelle runde Kugeln von  $1-4-6\ \mu$  in fortwährender Molekularbewegung, während dieselbe bei allen anderen Gebilden, ausser bei den eintrocknenden rothen Blutkörperchen (Stechapfelformen), vollkommen fehlten. An den glashellen Kugeln sieht man nach und nach eine kleine Aussprossung am Rande entstehen (Fig. 19—22), bisweilen als ob sie wie in einer Randvertiefung zurückgehalten würde (Fig. 19 und 22). So wie diese kleinste Kugel frei geworden ist, wird sie durch lebhaftes Molekularbewegung von der Mutterkugel fortgetrieben oder sie umschwirrt dieselbe und beginnt ein eigenes selbstständiges Leben. Hat es eine gewisse Grösse erreicht ( $2\ \mu$ ), so bildet sich öfters im Innern eine rundliche rothschimmernde Vacuole, welche mit dem Wachsthum der Kugel auch grösser wird

(Fig. 23 und 24). Der Ring um die Vacuole enthält mitunter feine Körner (Fig. 25).

Hält man nun einen bestimmten Punkt des Präparates längere Zeit im Mikroskop eingestellt, so sieht man an den beträchtlich grösser gewordenen Kugeln und der sehr grossen Zahl hinzugekommener kleinster und kleiner heller Kugeln, wie sehr sie sich vermehrt haben (Fig. 35). Eine Betrachtung von grösseren Kugeln, von denen sich kleinere abschnüren wollen, lässt annehmen, dass dieser Vorgang langsam erfolgt, denn innerhalb zweier Tage waren bei 2 grösseren Kugeln die hervortretenden oder daran haftenden Kügelchen noch nicht getrennt.

Bis zum 13. 8. 1896 waren im ersten Präparat diese Glaskörper in der gleichen ununterbrochenen Molekularbewegung und Sprossung, also 51 Tage nach einander beobachtet worden. Am 20. August waren fernerhin eine Menge neuer kleinerer Kugeln zu bemerken. Setzte man die grössten Kugeln (Fig. 34a) gleich 1, so finden sich solche daneben von  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ . Letztere beiden überwiegen (Fig. 34a, a<sup>1</sup>). Während die kleineren mehr rund sind, so zeigen andre, besonders grössere (Fig. 29—31) Vorbuchtungen und anhängende Kügelchen von anderer Lichtbrechung als die Hauptmasse, so dass sie entweder dunkler (29a) oder heller (30b) als diese erscheinen, je nach der Einstellung des Mikroskopes. An manchen Stellen finden sich mehrere (31c). Dasselbe verschiedene Lichtbrechungsverhalten zeigen die feinen Körnchen, welche in einzelnen eingeschlossen sind (Fig. 32 und 33).

An anderen Stellen findet man helle, doppelt conturirte Ringe (Fig. 26 und 23) mit etwas dunklerem Inhalt; sie sind kreisrund oder unregelmässig (28) geformt, im letzteren Falle meistens in Degeneration begriffen. Weiter finden sich einfache Ringe, welche einen zweiten meist excentrisch einschliessen (Fig. 27, vgl. 25).

Am 18. August 1898 kam frisches Ovarialcarcinomgewebe von Frau Dietr. zur Untersuchung. Während der ersten 3 Wochen bemerkte man im hängenden Bouillontropfen eine Menge 1—2 grosser, rundlicher, wie Stahl oder frische Nickelmünzen glänzender Körper mit lichtbrechendem Hofe. Einzelne hatten innen in der Mitte oder am Rande ein Körnchen, das auch theilweise am Rande hervorragte, als ob es austreten wollte (Fig. 36 u. 37). Ferner sah man ganze Gruppen jüngster stahlgrauer, glänzender Körper, wie kleinste Glaskügelchen. Letztere waren noch am 24. Oktober 1898 sehr gut erkennbar, bis zu welcher Zeit auch

die zwar langsame, aber stetige Vermehrung von den verschiedensten Beobachtern mit Sicherheit festgestellt werden konnte (Fig. 38).

Gleiche Befunde traf man an bei Frau Eck. (12. 12. 1899, Carcinoma corporis uteri). Während 70 Tage lag frisches Gewebe im hängenden Tropfen in tadelloser Beschaffenheit. Anfangs sah man sehr viele mattglänzende Kugeln, mehr allein liegend, mit kleinen Sprossen (Fig. 39 u. 40). Später als sich die Kugeln vermehrten, lagen sie in dichten Haufen beisammen (Fig. 41, vgl. Fig. 35).

Ganz ähnliche Glaskugeln fanden sich bei F.P. (11jähr. Mädchen), in einem Ovarialcarcinom, das sofort nach der Operation zur Untersuchung kam (5. 6. 1894), sowie in einem Ovarialcarcinom vom 11. 11. 1895.

Ferner Glaskugeln mit doppeltem Contour in einem Portiocarcinom bei Frau K. (12. 6. 1894); dann in einem Mammacarcinom (19. 7. 1894), wo die glashellen, scharf conturirten Zellen einen verschieden gestaltigen, stark lichtbrechenden Kern zeigten. Ebenso in dem Netzcarcinom (Metastase eines Ovarialcarcinoms) von Frau Kuhn (21. 7. 1896). Hier boten die glashellen Kugeln röthlich schimmernde Innenringe von 1,2—4  $\mu$  Durchmesser dar.

Am 10. März 1900 fand die Operation von Frau S. wegen Carcinoma ovariorum statt. Metastasen fanden sich als grosse Knoten im Netz und in zahllosen Knötchen auf dem ganzen Peritoneum. Während und sofort nach der Operation erfolgte die Conservirung bzw. die Untersuchung der erkrankten Organe. In der Ascitesflüssigkeit beobachtete man eine Menge von glashellen, zu Haufen geordneten Elementen, welche fast alle 1 oder 2 glänzende Kügelchen in sich trugen (Fig. 41b) und ganz denen glichen, welche in den Fig. 32, 33 und 36 zur Beobachtung kamen. Fast ganz aber stimmten sie mit denen überein, die sich im Saft der Metastasen befanden (Fig. 41c). Hier wie dort 2—4—6  $\mu$  grosse, mehr längliche, glänzende Zellen, theilweise mit stark lichtbrechendem Ringe, welche einen runden, ebenfalls lichtbrechenden Kern einschlossen; ausserdem noch bisquitähnliche Formationen (41c), welche in Sprossung bzw. Abschnürung begriffen waren. (Vgl. Figg. 1—5 und 6—12, 13—14, 16—17.)

Ausserordentlich fesselnd waren die glashellen Kugeln, welche, wie schon in Rosenthal's Arbeit erwähnt, Körnchen enthielten, welche bei völlig geschlossener Zelle in lebhaftester Bewegung waren, genau so, wie das feinste Körnchen, welches man in den

Blastomycetenreinculturen stundenlang in ununterbrochener Bewegung in der Einzelzelle beobachten kann.

Wir sahen diesen Vorgang bei Erl. von B. (Ovarialcarcinom, 14. 7. 1894) folgendermassen: Eine glashelle Kugel mit gleichmässiger runder Wandung (Fig. 42) zeigte 9 Uhr 30 Min. Vorm. dichtstehende Kügelchen in lebhaftester Bewegung. Nach einer halben Stunde war die Wand etwas uneben, wie höckrig geworden (43) und zahlreiche Kügelchen waren ausgeschwärmt und umgaben die Mutterzelle in lebhafter Molekularbewegung. Nach 2 Stunden war die Wand wieder glatt geworden (44). Die innen befindlichen Kügelchen befanden sich noch immer in ausserordentlicher Lebendigkeit, während die ausgeschwärmt zur Ruhe gekommen waren (Fig. 44). Noch eine halbe Stunde lang konnte das Spiel der innen befindlichen Kügelchen verfolgt werden (45), bis man zuletzt nur noch eine glashelle Kugel mit Kapsel und 2 feinen lichtbrechenden Körnchen darin sah (46), welche später auch nur noch als Schatten erkennbar waren (Fig. 47).

Ganz besonders schön war dieser Vorgang im frischen Gewebe vom Portiocarcinom der Frau W. (20. 3. 1896) zu verfolgen. Bald nach der Operation, früh 9 Uhr, sah man in dem im hängenden Tropfen steriler Nährbouillon fein vertheilten Vorpostengewebe 10—12  $\mu$  grosse Kugeln mit einer eben angedeuteten Membran (Fig. 48 a), innerhalb welcher eine grosse Zahl glänzender, stellenweise wie facettirter Kügelchen in lebhafter Bewegung war, ohne aber die Zellmembran zu überschreiten. Da wo die Kügelchen sehr eng aneinander gedrängt lagen, sahen sie, wie eben erwähnt, etwas plattgeschliffen aus. Konnte man aber einzelne Kügelchen eine Zeit lang ruhiger beobachten, so unterlag es gar keinem Zweifel, dass die meisten seitlich am Rande ein kleines Knöpfchen, einen Spross trugen (wie in Fig. 39 und 40), der bei schneller Bewegung der Kügelchen fast wie ein Fädchen, eine Geissel (48 a a) aussah und sofort an das Fädchen erinnerte, welchem wir in den Fig. 8 und 9 bei der Ablösung der Sprossen begegnet waren.

Eine Stunde später war in dem Knäuel eine wesentliche Veränderung eingetreten (Fig. 48 b). Der Inhalt des Knäuels befand sich in schwirrender Bewegung und einzelne von den Kügelchen, mit deutlichen Knöpfchen oder Fädchen versehen, traten aus der Kugel aus. Am Nachmittag 4 Uhr war der Knäuel lockerer geworden (48 c), die Bewegung noch lebhaft; zahlreiche Kügelchen schwammen frei um die Mutterzelle herum. Am nächsten Vor-



mittag war der Knäuel kleiner (48 d), die Bewegung geringer; freischwimmende Kügelchen waren in der Umgebung nur noch spärlich vorhanden. Am Nachmittage fand man denselben Knäuel geschrumpft, seine Elemente ohne deutliche Bewegung, während einzelne freie Kügelchen in der Nachbarschaft voll lebhafter Bewegung zusehen waren.

Ausdrücklich sei hervorgehoben, dass während dieser eben geschilderten Vorgänge, welche von mir und mehreren meiner Assistenten ununterbrochen beobachtet wurden, Fäulnisbakterien in dem Präparate nirgends zum Vorschein kamen.

Am klarsten und ebenfalls stundenlang konnten wir dieses Spiel verfolgen im frischen Gewebe eines Ovarialcarcinoms (6. 12. 1898, Frau P.), wo die Aufbruchsstelle der Mutterzelle, welche zahlreiche glänzende und schwirrende Kügelchen enthielt, deutlich zu sehen war (Fig. 49). Aus ihr wurden, wie wir sämtlich feststellen konnten, die kleinen Kügelchen förmlich herausgeschleudert, und zwar solange, bis fast nur noch die leere, glashelle Kapsel da lag. Damit war die Beobachtung zu wiederholten Malen bestätigt, welche Rosenthal über diesen Vorgang gemacht und in seinen Figuren 14 A c und 14 C zur Darstellung gebracht hatte.

Nachdem ich dieses Aufbrechen der grossen Zellen und Herausschwirren ihres körnigen Inhaltes bei vielen Carcinomen beobachtet, aber bisher nirgends beschrieben gefunden hatte, fand ich beim Studium der Protozoen mehrere Arbeiten von Gilchrist<sup>1)</sup> citirt, deren Lektüre mir durch die Güte des Verfassers ermöglicht wurde. Ich spreche ihm für die freundliche Zusendung seiner Arbeiten hiermit den besten Dank aus.

Die Beobachtungen, welche er am Eiterinhalt bei schweren, zum Tode führenden chronischen Hauterkrankungen gemacht hat, ähneln in den Figuren ganz ausserordentlich den meinen. Gilchrist fand nicht blos kugliche Körper mit doppelt conturirter Membran, welche vielfach noch von einem hellen Hof umgeben war, sondern auch Bisquittformen und andere an Sprossverbände erinnernde Figuren, welche er anfangs für Protozoen ansah, später aber nach

---

1) Rixford and Gilchrist, Two cases of Protozoen (coccidioidal) Infection of the skin and other organs. — Gilchrist, A case of blastomycetic dermatitis in man. — Comparisons of two varieties of Protozoa and the Blastomyces with the so-called Parasites in certain lesions of the skin. The John Hopkins Hospital Reports. Stud. in dermat. I. Baltimore 1896.

Erscheinen der Arbeit Busse's den Blastomyceten zurechnete. Ausserdem fand er noch zellige Gebilde bis zu 16 und 20  $\mu$  Grösse, gefüllt mit 2  $\mu$  grossen Körnchen, welche nach Zerreissung der Kapsel heraus traten und sich in der Umgebung der Mutterzelle anhäuften. Die Letztere bildete nach völligem Austritt der Körnchen einen glashellen, leeren, structurlosen Ring. Hierzu giebt er auf seinen Tafeln XXIX, Fig. 14—19, XXXIV, Fig. 53—55 und 61, und namentlich Taf. XI, Fig. 7 sehr klare und anschauliche, meinen Figuren 42—49 sehr ähnliche Abbildungen, nur erwähnt er nicht, dass der Körncheninhalt, wie wir beobachten konnten, erst eine Zeit lang gewissermassen aufkocht, wodurch die Körnchen in selbstständige Bewegung gerathen, und dass erst dann die Membran der Mutterzelle aufplatzt und nunmehr erst die Körnchen herauschwirren.

Gilchrist hält diese letzteren Gebilde für sporulirende Zellen, welche nach Aufbruch der Kapsel die Sporoziten austreten liessen. In der vergleichenden Uebersicht (Comparisons etc.), in welcher er sich betreffs der glänzenden Kugeln von der Annahme von Protozoen ab- und den Blastomyceten zuwendet, geht er auf diese grossen, aufbrechenden Gebilde nicht wieder ein und es bleibt unentschieden, ob er auch diese als Blastomyceten angesehen wissen will. Bei der Citirung dieser Arbeit Gilchrist's erwähnt Busse alle diese Befunde, und nennt diese grossen, aufbrechenden Gebilde Mastzellen. Er selbst scheint sie in der eigenthümlichen Form des Aufbruches und der Körnchenausstreung in bösartigen Neubildungen nicht gesehen zu haben, wenigstens erwähnt er in seinem Buche: „Die Hefen als Krankheitserreger“ nichts davon.

Ich verkenne keinen Augenblick die Aehnlichkeit mit Mastzellen, halte es aber für richtiger, auch den körnigen, ausschwirrenden Inhalt jener grossen Gebilde den Blastomyceten zuzuzählen, worauf ich weiter unten zurückkommen werde.

Ueberblickte man nur alle diese, sich immer wiederholenden Befunde, so konnte keine Rede davon sein, sie etwa als Kokken oder Fäulnisprodukte, oder als Verfettungsvorgänge oder als Zelldegenerationen zu deuten. Für Kokken waren die beobachteten Elemente viel zu gross. Fäulniserscheinungen liessen sich bei sorgfältiger Arbeit mittels Sterilisirung bestimmt vermeiden. Gegen Verfettungsvorgänge sprach die Unveränderlichkeit der Elemente in Aether, Alkohol und Osmiumsäure, und gegen Zellendegeneration

die ganze Art der Sprossungsvorgänge, welche sich von wirklich zerfallenden oder quellenden Zellen unverkennbar abhob.

So blieb nur übrig, namentlich nachdem die grundlegende Arbeit von Busse und dann die Arbeiten von Sanfelice und seinen Schülern, von Tokishige und Anderen erschienen waren, die fraglichen Gebilde den Blastomyceten zuzuweisen und im einzelnen Falle zu prüfen, ob sie sich in ihrem Verhalten chemischen Reagentien gegenüber und in der Entwicklung von Culturen auch wirklich als Blastomyceten bewahrheiteten.

Unerlässlich für diese Arbeiten ist das vorherige Vertiefen in die Litteratur über dieses Thema und es kann nicht dringend genug angerathen werden, sich in erster Linie mit den Arbeiten von Busse und Sanfelice auf das Eingehendste zu beschäftigen, sie immer und immer wieder vorzunehmen, daneben aber auch die früher und später erschienen Veröffentlichungen, namentlich über die Hefe, nicht zu vernachlässigen.

Den Herren Sanfelice, Roncali und Binaghi bin ich für Zusendung ihrer Arbeiten, den Herren Busse und Roncali für Zusendung mikroskopischer Präparate zu besonderem Danke verbunden.

Busse hat als das beste Hilfsmittel, um die Blastomyceten im frischen Gewebe zu erkennen, die Natronlauge angegeben, Binaghi und Andere noch die Kalilauge, Salzsäure, Salpetersäure und die 40 pCt. Schwefelsäure. Alle diese Mittel greifen wohl das Gewebe, aber nicht die in ihm liegenden Parasiten an, sodass die Blastomyceten sehr deutlich zum Vorschein kommen sollen.

Um zur Bestätigung dieser Angaben ein Beispiel für viele auszuwählen, mögen die Vergleichsbefunde vom Falle See. (Ovarialcarcinom mit Metastasen im Netz etc., 10. 3. 1900) angeführt sein. In den Figuren 41 b und 41 c wurden Blastomyceten dargestellt aus der Ascitesflüssigkeit und aus frischem Carcinomgewebe dieser Kranken, das im hängenden Tropfen steriler Bouillon 1 Stunde nach der Operation zur Untersuchung kam. Gleichzeitig wurde frisches Gewebe in je einem hängenden Tropfen von Salzsäure (Fig. 50), schwacher Salpetersäure (Fig. 51), 40 pCt. Schwefelsäure (Fig. 52) und Natronlauge (Fig. 53) untersucht. Die Abbildungen der fraglichen Gebilde zeigen nicht nur unter sich, sondern auch mit denen in steriler Bouillon volle Uebereinstimmung und ist auf Folgendes noch besonders aufmerksam zu machen: Bei

einzelnen der in der Salzsäure sichtbaren Glaskugeln mit deutlichem hellen Hofe befand sich sogar das für Hefe so charakteristische feinste innenliegende Körnchen und zwar in stundenlanger lebhafter Bewegung. Ueberall, auch in der Salpetersäure und 40 pCt. Schwefelsäure hatten die Glaskugeln, welche 1  $\mu$  bis zu 10  $\mu$  gross waren, einen klaren hellen Hof, und lichtbrechende Innenringe, zeigten auch sehr deutliche Sprossverbände. Am schönsten waren aber die Befunde in der Natronlauge (Fig. 53). Nicht nur dass eine Unzahl der eben beschriebenen Gebilde in allen nur denkbaren Grössen, von den feinsten Pünktchen bis zu 10  $\mu$  Grösse und darüber, in Haufen beisammen lagen; es waren auch Sprossverbände in grosser Menge, weit mehr noch wie in der sterilen Bouillon, zu sehen; vor Allem aber war mit Sicherheit festzustellen, dass jene grossen glashellen Gebilde, welche ausschwirrende Kügelchen enthielten, nichts anderes als Blastomyceten, jedenfalls nicht Mastzellen waren. Denn man sah, namentlich bei sehr starken Vergrösserungen (Comp. Oc. 12, Obj. 4,0 mm, Ap. 0,95. Zeiss), dass die zu Ballen aneinander gehäuften Kügelchen von genau derselben Form, Beschaffenheit und Sprossungsart waren, wie die einzeln liegenden, lichtbrechenden, mit hellem Hofe umgebenen grösseren Kugeln.

## 2. Anlegen von Culturen.

Sprachen alle diese Befunde dafür, dass die in den Carcinomen immer wiederkehrenden, fremdartigen Gebilde zu den Hefen zu zählen waren, so konnte nur die Gewinnung von Reinculturen derselben aus dem Carcinomgewebe diese Annahme sichern. Bei der Anlage derselben musste aber jeder Einwurf von vornherein abgeschnitten sein, dass die etwa gewonnenen Culturen von der Oberfläche der Geschwülste oder ihrer Schnittflächen oder aus der Luft stammten. Es sei darum noch einmal mit allem Nachdruck darauf hingewiesen, dass das Gewebe, welches für die Culturanlage zur Verwendung kam, immer aus der Mitte von Knoten oder Drüsen genommen wurde und dass alle die Vorsichtsmassregeln in Bezug auf Asepsis und Sterilisirung zur Richtschnur dienten, welche für solche Zwecke wissenschaftlich festgelegt sind.

Bis zum Jahre 1897 hatten sich meine Untersuchungen, unter mannigfachen, manchmal monatelangen Unterbrechungen, vorwiegend mit der Durchmusterung frischen Gewebes und mit der Uebertragung desselben auf Thiere beschäftigt. Von da an versuchte ich, vom frischen Carcinomgewebe des Menschen Culturen anzu-

legen, in der ersten Zeit ohne jeden Erfolg. Die positiven Ergebnisse aber, welche nach dieser Richtung hin bekannt waren, von Kahane<sup>1)</sup>, Busse<sup>2)</sup>, Roncali<sup>3)</sup>, Corselli und Frisco<sup>4)</sup>, Curtis<sup>5)</sup>, Gilchrist und Stokes<sup>6)</sup> durften mit der Gewinnung von Reinculturen nicht ruhen lassen.

Kahane fand 1895 in lebensfrisch untersuchten Sarkomen und Carcinomen wiederholt Blastomyceten und es gelang ihm, eine besonders gelungene Cultur zu gewinnen.

Busse hat auf die verschiedenste Weise in bösartigen Neubildungen gefundene und als Blastomyceten angesehene Parasiten zu züchten versucht; seine Culturversuche sind aber, wie er selbst sagt, doch nicht so weit gediehen, dass sie als absolut beweisend für die Hefenatur dieser Gebilde gelten müssten.

Von einem Scheidensarkom eines 4jährigen Mädchens säte er auf verschiedenartige Nährböden aus und es wuchsen auf Pflaumendekoktgelatine mehrere weisse Hefekolonien. Bakterien gingen nicht auf. Die einzelnen Hefen waren kreisrund.

Bei Abimpfungen von Plattenpithelkrebsen der äusseren Haut hatte er auf seinen Nährböden öfters Hefekolonien erhalten. So von einem Carcinom der Wange eine kleine, weisse, kreisrunde Hefe. Von einem Lippenkrebs impfte er auf 6 Röhren mit Pflaumendekoktgelatine, auf welchen sämmtlich eine rosafarbene Hefe aufging.

Corselli und Frisco gelang es, bei einem an Sarkom des Netzes leidenden Manne Hefen sowohl aus der bei Lebzeiten entleerten Flüssigkeit des Hydrops ascites chylosus, wie auch aus den bei der Sektion gewonnenen, sarkomatös entarteten Mesenterialdrüsen zu züchten.

Roncali erhielt durch Aussaaten sowohl von einem Zungenkrebs, wie auch von einem Mammasarkom, in welchen beiden man durch die Untersuchung des frischen Präparates zahlreiche doppelt conturirte Zelleinschlüsse gesehen hatte, in verschiedenen Nährmedien Colonien einer weissen, runden Hefe.

In einem Myxosarkom fand Curtis bei einem jungen Manne

---

1) Centralbl. f. Bakteriöl. 18. 616.

2) Die Hefen als Krankheitserreger. Hirschwald. 1897. S. 77, 79, 80, 81.

3) Centralbl. f. Bakteriöl. Bd. 20.

4) eod. loco. 18. 368.

5) Siehe Busse S. 86.

6) l. c.

eine ganze Zahl der bekannten „Zelleinschlüsse“ mit einem stark lichtbrechenden Centrum und einer breiten, homogenen, helldurchscheinenden Kapsel. „Diese Zelleinschlüsse liessen sich durch die Cultur zur Vermehrung bringen und es stellte sich heraus, dass sie zu den Hefen gehörten.“ Diese Blastomycetenart trat in zwei verschiedenen Formen auf, einmal nur als nackte, einfach von einer doppelt conturirten Membran umgebene Hefe und zweitens als eingekapselte Form, wobei sich um die eigentliche Zelle noch eine breite, homogene Zelle fand. Im Innern der Zellen lagen oft eine oder mehrere hellglänzende, kleine Kügelchen. Die eingekapselten Hefen waren gewöhnlich viel grösser, wie die nackten. Die Hefe bildete weisse Kolonien, die auf schwach sauren und neutralen Nährböden sehr schnell, auf alkalischen ausserordentlich langsam wuchsen; in zuckerhaltigen Flüssigkeiten erregte sie Gährung, deren Product Alkohol und Kohlensäure war. Gelatine wurde nicht verflüssigt; niemals wurde auf flüssigen Substraten an der Oberfläche eine Art von Kahmhaut gebildet. Dagegen hatten die Hefen die Eigenthümlichkeit, wodurch sie sich von den meisten, bisher beschriebenen, pathogenen Hefen unterschieden, dass sie nämlich zum Theil auch auf sauren, zuckerhaltigen Nährböden Kapseln bildeten und dadurch Formen lieferten, die sich durch nichts von den parasitären Formen unterschieden.

Auch die Versuche von Gilchrist und Royal Stokes ergaben insofern ein positives Ergebniss, als sie bei einer schweren chronischen Hauterkrankung in dem Eiter der Knötchen glänzende, doppelt konturirte Gebilde fanden; in Culturen gingen neben Kokken auch Colonien dieser „Zelleinschlüsse“ auf; in Reincultur fanden sich Mycelbildungen, welche der Beschreibung nach an Soor erinnerten.

Plimmer<sup>1)</sup> untersuchte 1278 Carcinome und fand in 1130 Fällen Zelleinschlüsse, die er für parasitär hält; allerdings traten diese nur 9 mal in sehr erheblicher Anzahl auf und nur ein einziges Mal konnte er die Parasiten züchten, nämlich aus einem rapid gewachsenen Carcinoma mammae, von dem leider nicht gesagt ist, ob es ulcerirt war. Ueber die Natur der Parasiten möchte er noch nicht endgültig urtheilen, doch hält er sie am wahrscheinlichsten für Hefepilze. Er züchtete dieselben anaërobiotisch in einer Carcinom-

---

1) Cit. nach Petersen und Exner, Ueber Hefepilze und Geschwulstbildung. Beitr. z. klin. Chir. XXV. 3. — Plimmer, On the Aetiology and histology of cancer with special reference to recent work on the subject. The Practitioner. April 1899.

saft-Bouillon, der 2 pCt. Glukose und 1 pCt. Ac. tartar. zugesetzt waren.

Petersen und Exner ist es in 22 Fällen von nicht ulcerirten Carcinomen und Sarkomen, trotz verschiedenster Methoden und Nährböden nie gelungen, eine Hefecultur zu erzielen.

Wenn ich mich nun zu meinen eigenen Versuchen wende, so ist es mir innerhalb der letzten 2 Jahre bei der Untersuchung von einigen 20 Carcinomen gelungen, aus dem Vorpostengewebe von 4 bösartigen Neubildungen des Menschen Reinculturen von Blastomyceten zu gewinnen.

**1. Fall.** Frau Pr., 6. 12. 1898. Ovarialcarcinom (s. S. 93 dieser Arbeit). Frisches Gewebe wurde zunächst im hängenden Tropfen steriler Bouillon untersucht und zwar vom 6. 12. 1898 bis zum 9. 10. 1899, also 307 Tage nach einander, im Leuner'schen erwärmten Mikroskope bei constanter Körperwärme. Der Verschluss des Deckgläschens erfolgte mittels Vaseline. Das Präparat wurde nie herausgenommen. Es war weder Eintrocknung desselben, noch Bakterien- oder Kokkenbildung jemals in ihm zu beobachten.

Schon in den ersten Tagen bemerkte man darin die oben beschriebenen glashellen Kugeln in vielfacher Sprossenbildung und Vermehrung, ein Vorgang, welcher nicht nur von mir, sondern auch von meinen Assistenten während mehrerer Wochen verfolgt werden konnte. Jedenfalls steht die Thatsache fest, dass man bis zum September und Oktober 1899 die anfangs gesehenen Sprossverbände und vielen kleinen glänzenden, zum Theil conturirten, zum Theil mit feinen Innenkörnchen versehenen Gebilde immer noch deutlich unterscheiden konnte, was ganz besonders durch den auffallenden Glanz erleichtert wurde, während alle anderen Gewebszellen nichts von diesen Erscheinungen darboten.

Bei dieser ununterbrochenen Beobachtung stand man unter dem Eindruck, einmal dass sich diese Gebilde anfangs nach und nach vermehrt hatten, zweitens dass, da eine weitere Vermehrung nicht eintrat, der in der Bouillon befindliche Nährstoff wahrscheinlich nunmehr verbraucht war, dass drittens aber die Gebilde eine ganz ausserordentliche Lebensfähigkeit und -Dauer haben mussten, da irgend welche Veränderungen, wie Zerfall oder Verfettung oder Quellung oder dgl. an ihnen sich nicht bemerklich machten.

Infolge dessen sollte ein Versuch mit ihnen angestellt werden, ob sie thatsächlich noch Lebenskraft besäßen und weiter züchtbar

wären. Dieser Versuch schien um so lohnender, als die ungefähr zur gleichen Zeit in dem zweiten, nachher zu besprechenden Falle begonnenen Culturversuche einen positiven Erfolg in Aussicht stellten.

Es wurde daher dieser wohlerhaltene hängende Tropfen am 9. 10. 1899 aus dem Mikroskop herausgenommen und mit ihm unter den grössten Vorsichtsmaassregeln, die wohl fernerhin nicht mehr angeführt zu werden brauchen, 3 Stichculturen in neutraler Nährgelatine angelegt.

Bis zum 17. 10. 1899 war in einem von diesen Probirgläschen der Stich angegangen. Auf der Oberfläche der Gelatine zeigte sich ein rundlicher, ca. 4 mm im Durchmesser haltender, weisser Ansatz, welcher in einem mit Carbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparat eine Menge Mycelfäden, aber auch viele runde, doppelt conturirte, zum Theil mit einem feinen Körnchen versehene, gleichmässig rothgefärbte,  $1\ \mu$  bis  $5\ \mu$  grosse Gebilde zeigte. Sie glichen vollständig den Blastomyceten in den von Busse mir zugesandten Präparaten.

Am 17. 10. 1899 erfolgte hiervon die 2. Abimpfung durch Stichcultur auf neutrale Gelatine in 2 Röhrchen. Bis zum 24. 11. 1899 hatte sich wiederum auf der Oberfläche von beiden ein grau-weisslicher Belag gebildet, der in Ausstrichpräparaten ebenfalls wieder Mycelfäden mit einzelnen Blastomyceten zeigte.

Bei der 3. Abimpfung (24. 11. 1899) wurde etwas angesäuerte Gelatine zu Stichculturen verwendet. Es wuchs ein dicker weisser Rasen auf der Oberfläche und ein federartiger feiner Strich nach der Tiefe; das am 7. 12. 1899 angefertigte Ausstrichpräparat bot eine sehr grosse Zahl von Blastomyceten und nur wenig Mycelfädchen dar.

4. Abimpfung am 12. 1. 1900. Bis zum 2. 2. 1900 ist wiederum ein weisser dicklicher Pilzrasen mit kurzem Nagel entstanden, ohne Verflüssigung der Gelatine. Der Rasen enthält sowohl im hängenden Tropfen, wie in dem mit Carbolfuchsin gefärbten Ausstrichpräparat (Fig. 54) nur Blastomyceten.

**2. Fall.** Frau Die., 8. 12. 1898. Doppelseitiges Ovarialcarcinom übergehend auf das Beckenperitoneum.

Im frischen Gewebe, sowie bei der Behandlung mit Natronlauge fanden sich eine Menge der oben beschriebenen stark glänzenden, doppelt conturirten Gebilde, unter denen auch verschiedene ausschwärmende waren.



1. Impfung am 8. 12. 1898 auf Nährgelatine durch Stich-cultur. Bis zum 19. 12. 1898 ist ein weisslicher kurzer, wie aus feinsten Perlchen bestehender Nagel mit weissem Kopfe gewachsen. Ausstrich: Mycelfäden mit Blastomyceten.

2. Abimpfung 19. 12. 1898 auf 3 Röhrchen von Nährgelatine, die alle 3 angehen. Die eine (Fig. 55a) bildet nach mehreren Monaten einen dicken weissen, mit weissen Knöpfen auf der Oberfläche besetzten Rasen, von dessen Mitte ausgehend der Stich als eine etwas gefaltete Feder erscheint, welche aus zahllosen feinsten Pünktchen zusammengesetzt ist. Sie bilden im Ausstrichpräparat, sowie im hängenden Tropfen steriler Bouillon eine Reincultur von Blastomyceten, welche nur von einzelnen Mycelfäden durchsetzt ist.

Diese Cultur ist nach und nach in Gestalt einer prachtvollen, federartigen Form gewachsen und wird durch Aufguss von Formalin zu Demonstrationszwecken abgetödtet (Fig. 55a).

In den beiden anderen Röhrchen sind ebenfalls, in ähnlicher Form, Culturen gewachsen. Sie werden zur Untersuchung und Abimpfung als Stamm lange Zeit aufbewahrt.

3. Abimpfung (2. 10. 1899) auf neutrale Gelatine: 3 Röhrchen. In zwei von ihnen geht der Stich an und giebt im Ausstrich Mycelfäden mit zahlreichen Blastomyceten.

4. Abimpfung (8. 11. 1899) auf angesäuerte Gelatine. Nach 13 Tagen ein weisser Nagel mit Kopf. Ausstrich: Reincultur von Blastomyceten. Hiervon

5. Abimpfung (1. 12. 1899) auf angesäuerte Gelatine: 3 Röhrchen. Alle drei wachsen vorzüglich wie in Fig. 55a. Zwei von ihnen werden zu Demonstrationszwecken durch Formalin abgetödtet (Fig. 55b und c). Von der dritten erfolgt die

6. Abimpfung am 12. 1., 31. 1. und 8. 2. 1900 auf angesäuerte Gelatine in 7 Röhrchen, in denen die Culturen vorzüglich zum Wachsthum gelangen. Sie zeigen im hängenden Tropfen doppelt conturirte glashelle Zellen von  $1\mu$  bis  $3\mu$  Grösse, von denen die grösseren fast alle seitlich oder in der Mitte ein feinstes Körnchen tragen, das sehr oft in lebhaftester Bewegung angetroffen wird. Abschnürungs- und Sprossvorgänge sind zahlreich vorhanden (Fig. 56).

**3. Fall.** Frau Wagn. (29. 9. 1899). Derber Carcinomknoten in der rechten Mamma und carcinomatöse Infiltration der Achseldrüsen.

Im hängenden Bouillontropfen, namentlich vom frischen Gewebe der Achseldrüsenknoten, eine Menge runder, glänzender, zum Theil doppeltconturirter Gebilde, welche durch Natronlauge nicht verändert werden.

1. Impfung (29. 9. 1899) vom Saft der Drüsenknoten in 3 Röhrchen neutraler Gelatine, vom Saft der Vorpostenknoten in der Mamma 2 Röhrchen. Bis zum 5. 10. hat sich auf der Oberfläche in einem Röhrchen (Achseldrüsen) ein weissgelblicher Hof gebildet, der im Ausstrichpräparat Mycelfäden mit vielfachen Blastomycetenzellen zeigt. Davon

2. Abimpfung (4. 10. 1899) auf neutrale Gelatine. Nach 8 Tagen der gleiche Befund im Ausstrich. Davon

3. Abimpfung (17. 10. 1899) durch Stich in neutrale Gelatine. Es wächst sehr langsam ein Nagel mit grauweisslichem Kopfe, in welchem man wiederum Mycelfädchen mit vielfachen glashellen, doppelt conturirten Zellen findet. Davon

4. Abimpfung (21. 11. 1899) durch Stich in angesäuerte Gelatine. Bis zum 7. 12. ist ein kleiner weisser Nagel mit weissem Köpfchen gewachsen. Im Ausstrich bez. im hängenden Tropfen bietet er massenhafte Blastomyceten dar, aber nur vereinzelte Mycelfäden. Daher

5. Abimpfung (7. 12. 1899) auf angesäuerte Gelatine. Blastomyceten in Reincultur.

Die 6. Abimpfung am 13. 1. 1900 und die 7. am 31. 1. 1900 gaben prachtvolle, federartige Culturen in der Nährgelatine, welche niemals verflüssigt wird, genau denen von den vorigen beiden Fällen gleich. Im hängenden Tropfen finden sich nur ganz gleiche Gebilde, allerdings in den verschiedensten Grössenabstufungen, nämlich 1—2—3  $\mu$  grosse glashelle, theils runde, theils längliche, oft doppelt conturirte Zellen, vielfach mit 1—2 glänzenden Kernen im Innern, in Abschnürungsvorgängen und in Sprossverbänden gelagert (Fig. 57).

**4. Fall.** Frau Schrö. (16. 1. 1900). Carcinoma port. vagin. uteri. Vorpostengewebe im hängenden Tropfen steriler Bouillon, späterhin auch in Natronlauge, bietet vielfache runde, glänzende Kugeln mit Sprossverbänden dar.

1. Impfung in saure Gelatine, 4 Röhrchen. In einem von ihnen ist bis zum 2. 2., und noch besser bis zum 14. 2. ein weiss-

grauer Nagelkopf gewachsen. Er enthält fast nur Blastomyceten. Es wird von ihm am 21. 2. die

2. Abimpfung vorgenommen, ebenfalls in saure Gelatine, welche bis zum 24. 3. als weisser Nagel mit weissem, etwas buckligen Kopfe weitergewachsen ist.

Die 3. Abimpfung erfolgte vorher schon am 7. 3. 1900. Sie wuchs in gleicher Weise, wie in den drei vorhergehenden Fällen, fort und zeigte im hängenden Tropfen eine völlige Reincultur von Blastomyceten (Fig. 58).

### 3. Nachweis der Gährung.

Wenn schon die Betrachtung dieser 4 Reinculturen keinen Zweifel über die Natur der Blastomyceten aufkommen liess, so sollte dieselbe doch noch durch den Nachweis der Gährung sichergestellt werden.

Setzte man einer in steriler Bouillon erfolgten Aufschwemmung von jeder dieser vier Culturen eine Traubenzuckerlösung zu, die sich in einem Uförmigen Glas befand, so entwickelte sich jedesmal Kohlensäure und Alkohol. Der letztere war durch den deutlichen Jodoformgeruch nach Zusatz zur Lösung von etwas Kalilauge und metallischem Jod nachzuweisen.

Der gleiche Nachweis gelang im Falle Sec. (10. 3. 1900, Ovarialcarcinom), in welchem im frischen Gewebe, auch nach Zusatz von Natronlauge etc. die Blastomyceten erkennbar waren. Löste man einen kleinen Klumpen frischen Gewebes in Traubenzuckerlösung auf, so entwickelte sich bei gleicher Versuchsanordnung Kohlensäure und Alkohol; also musste Hefe im frischen Carcinomgewebe vorhanden sein.

### 4. Mikroskopische Untersuchungen.

Nachdem es sichergestellt ist, dass die aus dem frischen Carcinomgewebe gewonnenen Culturen Hefezellen sind, muss es unsere weitere Aufgabe sein, klarzustellen, wie dieselben nach Anwendung der verschiedenen Färbemittel aussehen.

Dabei wird sich ergeben, dass die Hefezellen ein- und derselben Cultur nach Anwendung verschiedener Färbemittel zum Theil einen ganz verschiedenen Anblick gewähren. Die Kenntniss dieser verschiedenen Wirkung ist deshalb nothwendig, weil man sonst bei Behandlung eines mikroskopischen Gewebsschnittes mit

einem der bekannten Färbemittel oder bei Doppelfärbungen gar nicht in der Lage wäre, zu sagen, diese eigenthümlichen Zellenhaufen hier, die man im Carcinomgewebe trifft, sind Blastomyceten oder nicht. Das eine Mal tritt nämlich mehr die doppelte Contour allein, bezw. mit Kern hervor; das andere Mal erscheint der innere Ring viel schärfer und enthält eine Menge dunkler Körnchen; endlich sieht man die Hefezelle manchmal nur gleichmässig hell oder tiefdunkel, ohne Contour und Kern. Mit kurzen Worten: die Färbemittel werden sehr verschieden angenommen.

In den Figuren 59—63 ist die Cultur von Fall 4 (Frau Sch.) in fünffach verschiedener Färbung dargestellt. Durch Hämatoxylin (59) erscheinen die hellblau bezw. blassblau gefärbten Hefen mit doppelten Ringen, in denen Kerne nicht hervortreten. Die Färbung nach Gram (Fig. 60) macht dagegen die Hefe tiefdunkelroth bis schwarz; die doppelte Contour ist eben angedeutet. Ganz anders bei Eosin (61), Methylviolett (62) und Bismarckbraun (63), in denen nicht nur die doppelten Contouren, sondern auch die Kerne sehr schön sichtbar sind.

Von der Cultur im 2. Falle (Frau D.) wurden drei verschiedene Färbungen wiedergegeben. Die Figur 65 (Eosin) ähnelt 61—63; bei der Färbung mit Carbofuchsin (66) sieht man nicht nur doppelte Contouren und Kerne, sondern auch lichte Höfe um jede Zelle. Am eigenthümlichsten und schönsten wirkt aber die Färbung nach van Gieson (Fig. 64) auf die Zellen. Sie erscheinen blauviolett, haben doppelte Contouren und zeigen im Innern theils einzelne Kerne (1—10 und 12), theils ist der innere Ring schwarzblau körnig gefärbt. Sprossverbände und Abschnürungsvorgänge treten sehr deutlich hervor.

Durchmustert man nun die mikroskopischen Präparate von den untersuchten Carcinomen, so kann es nicht schwer halten, in ihnen die Blastomyceten einzeln oder in Gruppen stehend herauszufinden. Mehrere Doppelfärbungen erleichtern das Auffinden.

1. Hämatoxylin und Carbofuchsin (Busse): Gewebe und Zellen violett; Zellkerne schwach röthlich; Blastomyceten rothbraun, vielfach mit doppelter Contour und Höfen (vgl. Fig. 75). Beste Färbungsmethode. Ebenso die beiden folgenden.

2. Malachitgrün, Säurefuchsin, Nigrosin: Gewebe violett, Gewebszellen hellblau; Blutkörperchen rothbraun; Blastomyceten tiefdunkelblau mit hellem Hofe.

3. Malachitgrün, Säurefuchsin, Gelb von Martin: Ge-

webe und Gewebszellen grün, Zellkerne violett; Blutkörperchen violett bis gelb; Blastomyceten mit Sprossen violett; in den grösseren erscheint der Kern blau (s. Maffucci und Sirleo).

4. Methylviolett, Eosin: Gewebe blau, Zellkerne blauviolett; Blutkörperchen violett; Blastomyceten hellroth mit blauem Kern (Fig. 67, Blastomyceten = b, Fall 1, Fr. Preu. Fig. 68, Fall 2, Frau D. b = einzeln liegende Blastomyceten mit Hof; b' = 2 zusammen liegende mit Höfen; b'' = mehrere zusammen liegende mit Höfen).

5. Methylviolett, Pikrinsäure, Säurefuchsin: Gewebe hellviolett; Zellkerne dunkelviolett mit röthlichem Schimmer; Blutkörperchen grün; Blastomyceten tiefdunkelblau mit röthlichem Glanz. Höfe vielfach sehr deutlich.

6. van Gieson: Gewebe violett; Zellen und Kerne grün; Blutkörperchen gelb; Blastomyceten tiefdunkelgrün; Sprossverbände und einzelne Höfe deutlich.

7. Ehrlich-Saffranin (Sanfelice): Gewebe und Kerne violett; Blutkörperchen ziegelroth; Blastomyceten hellroth; Höfe blass (Fig. 69, Fall 3, Frau Wag. Lymphdrüsencarcinom, b = 4 zusammen liegende Blastomyceten).

Um von den vielen untersuchten Carcinomen nur einige noch anzuführen, in welchen nach diesen angegebenen Färbungen Blastomyceten gefunden worden sind, so mögen folgende erwähnt sein:

1. Pal. (11j. Mädchen, Ovarialcarcinom.) Hämat.-Carbolf.: Blast. roth mit Höfen. Malach.-Säurefuchs.-Nigrosin: Blast. tief dunkelblau.

2. Schweik. (14j. Mädchen, Ovarialcarcinom.) Häm.-Carbolf.: Prachtvolle rothe Kugeln.

3. Schröff. (Uteruscarc., s. oben Fall 4 der Culturen.) Häm.-Carbolf.: Blast. roth.

4. Krautw. (Uteruscarcinom.) Häm.-Carbolf.: Bast. roth. Methylv.-Pikrins.-Säurefuchs.: Blast. tiefdunkelblau, zum Theil mit Höfen. Malach.-Säurefuchs., Gelb von Martin: Blast. violett.

5. Uhlem. (Ovarialcarcinom.) Häm.-Carbolf.: Blast. theils roth, theils purpurroth mit doppelten Contouren.

6. Hoy. (Ovarial- und Periton. carc.) Häm.-Carbolf.: Blast. roth, in Sprossverbänden und förmlichen Brutstätten beisammen liegend.

7. Sieg. (Uteruscarc.) Malach.-Säuref., Gelb von Martin: Blast. violett. Malach.-Säuref.-Nigr.: Blast. tiefdunkelblau. Meth.-Pikr.-Säuref.: Blast. tiefdunkelblau. Meth.-Eosin: Blast. blassroth mit viol.-blauen Kernen (s. Fig. 70), b = Blastomyceten.

8. Helb. (Ovarialcarc.) Meth.-Eosin: Blast. blassroth mit viol.-blauen Kernen (Fig. 71), b = Blastomyceten. Hämat.-Carbolf.: Blast. roth. Mal.-Säurefuchs., Gelb von Martin: Blast. roth mit blauen Kernen. Sprossverbände.

9. Schröd. (Ovarialcarc.) Hämat.-Carbolf.: Bast. roth. Ehrlich-Saffranin: Blast. blassroth.

Wie sind nun diese mikroskopischen Befunde zu bewerthen?

Von den vier Fällen, in denen es gelang, Blastomyceten-Reinculturen zu gewinnen, kann es nicht fraglich erscheinen, die Gruppen von rundlichen Zellen, welche wir in den Schnitten fanden, auch den Hefezellen zuzuzählen. Die Aehnlichkeit zwischen den Culturen und diesen Zellgruppen ist eine ausserordentlich grosse. Nicht nur, dass die Zellen von der verschiedensten Grösse sind, von feinsten Pünktchen bis zur Grösse eines Zellkernes; man sieht andererseits auch vielfach doppelte Contouren; hier und da auch Sprossverbände und Abschnürungsvorgänge.

Die Vertheilung in den mikroskopischen Schnitten ist freilich sehr verschieden. In einzelnen muss man lange suchen; in anderen liegen sie dicht gedrängt beisammen, und zwar dann einzeln stehend oder in Gruppen bis zu 10, 12 und noch mehr. In Zellen oder in deren Kernen eingeschlossen fanden sie sich selten. Kommen solche sogenannte Zelleinschlüsse an sich auch häufig vor, so erschien es vorsichtiger, diese zunächst als Hefezellen nicht zu deuten, und sich vielmehr an diejenigen zu halten, welche frei im Gewebe lagen. Von einzelnen Zelleinschlüssen will es mir freilich ganz unbedenklich erscheinen, sie als Hefezellen anzusprechen. Es sind dies die bei Eosin- bzw. Saffraninfärbung blassrothen doppelt contourirten Kugeln, welche man mitten in den stark gewucherten Epithelzellen der Carcinomalveolen findet.

Hiernach erscheint es nicht zu weitgehend, wenn man die fraglichen, runden, doppelt contourirten Gebilde, welche man in denjenigen Carcinomen fand (No. 1, 2, 4—9), von welchen Culturen nicht angestellt bez. nicht gewonnen wurden, ebenfalls als Hefezellen betrachtet.

Sonach kommen im frischen Carcinomgewebe Blastomyceten vor; es gelingt auch sie zu züchten und man erkennt sie in den mikroskopischen Schnitten wieder.

Die weitere Frage wäre nun die, ob sie auf Thiere übertragen, auch wiederum bösartige Neubildungen bei diesen hervorrufen und aus diesen wiederum in Reincultur nachgewiesen werden können.

### 5. Uebertragung.

Für dieses Capitel sind die jüngsten Arbeiten von Sanfelice (Zeitschr. f. Hygiene, 29. B. 463) von hervorragender Bedeutung, namentlich sein Experiment an einer Hündin, in deren Brustdrüse er den *Saccharomyces neoformans* injicirte. Er fand später in dieser Mamma nicht nur ein Adenocarcinom, sondern auch in den erkrankten Lymphdrüsen „dieselben Epithelelemente wieder, welche die Hauptgeschwulst zusammensetzen, sodass man von richtigen Drüsenmetastasen reden kann“.

Ferner gelang es ihm, mit der Injection einer Reincultur des *Saccharomyces neoformans* in die beiden Hoden eines Hundes in diesen eine Geschwulst zu erzeugen mit zahlreichen erbsen- bis haselnussgrossen metastatischen Knötchen in der Umgebung. „Die Struktur der Hauptgeschwulst und die Wiederholung dieser Struktur in allen metastatischen Knötchen berechtigte dazu, die Hauptgeschwulst als ein Adenocarcinom anzusehen“.

Nach Einimpfung von *Saccharomyces neoformans* in die Venen von Hunden erhielt er bindegewebige Neubildungen.

Nachdem er dann noch über eine grosse Zahl hochinteressanter gleicher Versuche an Katzen und Schafen berichtet hat, zieht er aus allen von ihm auseinandergesetzten Ergebnissen folgenden Schluss:

1. Der *Saccharomyces neoformans* zeigt sich in den Geweben der Thiere vornehmlich in zweifacher Gestalt. In der einen besitzt er eine Kapsel, ist vollkommen den von Russell beschriebenen Fuchsinkörperchen ähnlich und lässt sich in den künstlichen Nährböden nicht cultiviren. Diese zweite Form beobachtet man im Organismus nur dann, wenn der Parasit sich lange in ihm aufgehalten hat.

2. Wird der *Saccharomyces neoformans* in reiner Cultur in die Organe von Hunden eingepflegt, so kann er Veranlassung geben zur Entstehung epithelialer Geschwülste, welche in Bezug auf ihren Verlauf und ihre Struktur den bösartigen Geschwülsten des Menschen ähnlich sind. Wird er dagegen Hunden, Katzen und Schafen in die Venen eingepflegt, so kann derselbe Parasit die Entstehung von Neubildungen bindegewebiger Natur veranlassen.

Corselli und Frisco (l. c.) gelang es, von einem an Sarkom des Netzes leidenden Manne Hefen sowohl aus der bei Lebzeiten entleerten Flüssigkeit des Hydrops ascites chylosus, wie auch aus

den bei der Section gewonnenen, sarkomatös entarteten Mesenterialdrüsen zu züchten. Sowohl die Flüssigkeit, wie auch die Culturen erwiesen sich für Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde pathogen und riefen bei allen diesen Thieren Neoplasmen hervor. „Es ist somit, sagen die Verfasser, wenigstens in diesem besonderen Falle der ätiologische Zusammenhang zwischen dem bösartigen Geschwüre und dem von uns untersuchten Blastomyceten erwiesen.“

Leider aber fehlen hierüber, wie man mit Busse sagen muss, überzeugende Beschreibungen und Abbildungen.

Curtis hatte aus einem Myxosarkom von einem jungen Manne eine runde weisse Hefe erzeugt, welche er *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens* nannte. Dieselbe führte nach Einführung bei verschiedenen Thieren zu Tumoren, welche durch eine enorme Anhäufung von Parasiten im Gewebe entstanden waren, aber nicht zu bösartigen Neubildungen im histologischen Sinne.

Ueber ähnliche Beobachtungen berichten Buschke, sowie Petersen und Exner.

Hieraus ergibt sich, dass es seinen Angaben und Abbildungen zufolge bisher nur Sanfelice gelungen ist, nach Einführung von Blastomycetenculturen in den thierischen Organismus Geschwülste zu erzeugen, sowohl bindegewebiger wie epithelialer Natur, welche bösartig waren, Blastomyceten enthielten und zum Tode des Trägers führten.

Von grossem Interesse ist es, was Sanfelice über die Wege sagt, welche man bei solchen Experimenten einschlagen könne (l. c. S. 474). „Zur Erforschung der Aetiologie der bösartigen Geschwülste kann man zwei Wege einschlagen: einen direkten, indem man Thiere, welche für derartige Geschwülste empfänglich sind, mit der Substanz von bösartigen Geschwülsten des Menschen impft, oder aus den letzteren die Parasiten in einer Cultur isolirt und sie den nämlichen Thieren einimpft, oder einen indirecten Weg, indem man aus dem umgebenden Medium die Blastomyceten zu isoliren sucht und den Thieren einimpft.“

Von Anfang an habe er den einen wie den anderen Weg verfolgt, sei aber sehr bald zur Ueberzeugung gekommen, dass vermittelst des ersten Weges keine positiven Resultate zu erhalten seien. Er hat nach dieser Richtung hin eine grosse Zahl von Versuchen angestellt, aber ohne befriedigende Ergebnisse, deshalb diesen Weg verlassen und sich auf den indirecten begeben, auf welchem er, wie wir oben sahen, Tumoren erzeugt hat mit



Metastasen in den Drüsen, welche die höchste Beachtung beanspruchen.

Ich selbst habe nun von Anfang an nur den directen Weg beschritten und eine grosse Zahl von Thierversuchen angestellt, von dem Gedanken ausgehend, dass, wenn man bei wochenlanger Beobachtung von menschlichem Carcinomgewebe im hängenden Bouillontropfen und im gleichmässig erwärmten Mikroskop immer und immer wieder die glashellen, doppelt contourirten, in stetiger Vermehrung befindlichen Gebilde beobachtet, welche mit Sicherheit Blastomyceten sind, diese doch schliesslich auch in einem andern lebenden Organismus unter geeigneten Bedingungen zum Weiterleben gebracht werden könnten.

Wie sich zeigen wird, ist dieser Weg doch mit Erfolg beschreitbar, und ich habe die feste Ueberzeugung, dass es Sanfelice und Anderen auch gelingen wird, ähnliche oder vielleicht noch bessere Beweisstücke zu gewinnen, als wie es mir gelungen ist.

Aus der Zahl der vielen Versuche mögen nur diejenigen erwähnt sein, von welchen etwas bemerkenswerth erscheint.

#### A. Uebertragung von frischem menschlichen Carcinomgewebe auf Thiere.

1. Schönh., 28. 4. 99. Carcinoma portionis vaginalis uteri. Freund'sche Operation.

In die Bauchhöhle einer weissen Ratte wird ein ca.  $\frac{1}{2}$  ccm grosser Würfel von frischem Vorpostengewebe gebracht. Nach 156 Tagen (am 1. 10. 99), nachdem sich rechts unterhalb der Leber ein weicher, ungefähr pflaumengrosser Tumor entwickelt hatte, stirbt das stark abgemagerte Thier. Section bald nach dem Tode: Rechts unterhalb der Leber, zwischen ihr und dem Beckeneingange, liegt ein pflaumengrosser, vielknolliger, mit dem Colon ascendens etwas verwachsener, derber Tumor. Auf dem Durchschnitte stellt er eine vielkammerige Masse dar, welche in derben Schalen etwas Eiterbrei enthält. Von dem damals implantirten Stück ist nichts mehr zu sehen.

Die Untersuchung des Eiterbreies im hängenden Tropfen mittels verschiedener Medien zeigt ausser degenerirten und zerfallenen Zellen eine Menge von Blastomyceten; einzelne von ihnen haben einen stark lichtbrechenden Hof und das für Hefezellen so charakteristische Kügelchen im Innern, welches sich stundenlang in lebhafter ununterbrochener

Bewegung befindet. Ausserdem sieht man längsovale Blastomyceten mit seitlich stehendem, ziemlich grossen, gekörnten Kerne.

2. Preu., 6. 12. 98. Ovarialcarcinom. Im hängenden Tropfen steriler Bouillon reichliche Blastomyceten, deren Züchtung zur Reincultur gelingt (s. oben Capitel: Anlegen von Culturen, Fall 1).

Zwei ca.  $\frac{1}{2}$  ccm grosse Stückchen frischen Carcinomgewebes werden am 6. 12. 98 einem Kaninchen in die Bauchhöhle gebracht. Das Thier wird nach 303 Tagen (5. 10. 99) getödtet.

Bei der Section zeigte sich dasselbe sehr gut genährt. Im Abdomen war von den implantirten Stücken nichts mehr zu sehen. Das einzig Auffallende war, dass der Harn zahllose gelbbraunliche Körnchen enthielt, in und an welchen man unter dem Mikroskope einzelne, aber zweifellose Blastomyceten fand.

3. Dietr., 18. 8. 98. Ovarialcarcinom. Im hängenden Tropfen verschiedener Medien zweifellose Blastomyceten im frischen Carcinomgewebe. Von derselben Stelle des grossen Tumors wurden bei 2 Kaninchen je ein  $\frac{1}{2}$  ccm grosser Würfel in die Bauchhöhle implantirt.

a) Das erste Kaninchen stirbt nach 3 Tagen. Im Harn schwimmen Gebilde herum, genau wie im vorigen Falle, welche nach ihrer Grösse und Reaction zu den Blastomyceten zu rechnen sind.

b) Das zweite Kaninchen bleibt leben und wird getödtet am 5. 10. 99, also nach 413 Tagen. Section: Gut genährtes Thier. Im Abdomen die implantirten Stücke verschwunden. In beiden Lungen mehrfache hirsekorn-grosse gelbliche Knoten, sowohl unter der Pleura wie innen im Gewebe. Sie bestehen mikroskopisch aus infiltrirtem Lungengewebe, in welchem mit der Ehrlich-Saffraninfärbung an verschiedenen Stellen Blastomyceten, namentlich auch in Abschnürungsvorgängen, zu finden sind. Besonders machen sie sich in den Epithelzellen der kleineren und grösseren Bronchien bemerkbar. Sie liegen hier als gelbe, doppelt contourirte, hier und da mit feinem glänzenden Körnchen versehene, rundliche bis ovale Gebilde, theils am Fusse einer Epithelzelle, theils mitten darin, den Kern verdrängend. An manchen Stellen macht das Epithel den Eindruck der unregelmässigen Wucherung.

c) Von dem gleichen frischen Carcinomgewebe wurde am

18. 8. ein ca.  $\frac{1}{2}$  ccm grosses Stück bei einer weissen Ratte in die Bauchhöhle gebracht.

Am 6. 9. im Abdomen ein deutlicher, etwas beweglicher Tumor zu fühlen. 14 Tage später in der rechten Schenkelbeuge ein haselnussgrosser, etwas beweglicher Tumor. Das Thier stirbt am 18. 10., also nach 61 Tagen.

Section bald nach dem Tode unter allen antiseptischen und aseptischen Massregeln. Im Abdomen liegt zwischen den Därmen eine wallnussgrosse, derbe Geschwulst, welche mit einer 1—2 mm starken Bindegewebsschale einen dicken gelben Brei einschliesst; derselbe enthält vereinzelte Blastomyceten.

Die Geschwulst in der rechten Schenkelbeuge ist ebenfalls wallnussgross, sie macht auf dem Durchschnitte den Eindruck eines weichen Sarkoms, wie ein Medullarsarkom; makroskopisch ist nirgends in ihr Eiter zu sehen. Ueberimpfungen von ihrem Gewebe sowohl wie von dem dicken Brei auf Nährböden verliefen negativ. Ausstrichpräparate des Gewebssaftes aber, welche mit Carbofuchsin gefärbt wurden, ergaben einzelne wenige, ganz klare Blastomyceten mit doppeltem Hofe und hier und da auch mit dem glänzenden Körnchen.

Bemerkenswerth ist der mikroskopische Befund: In einem lockeren, stellenweise ödematösen bez. myxomatösen Bindegewebe liegen zahlreiche rundliche und längsovale Gebilde, welche bei einem Vergleiche mit den von menschlichen Carcinomen gewonnenen Culturen von Blastomyceten nichts anderes sein können als diese. Alle anderen Gewebstheile, wie Zellen, Zellkerne, Blutkörperchen heben sich nach Form, Grösse, Gruppierung so vollständig von ihnen ab, dass eine Verwechslung schlechterdings unmöglich ist. Mitten in diesem lockeren myxomatösen Gewebe befinden sich nun einzelne alveolenartig in Form von Strängen angeordnete Haufen von Gewebszellen, zwischen welche Blastomyceten eingelagert sind. Diese Anordnung erinnert am meisten an die Adenomgruppierung, und wenn man der ganzen Geschwulst nach ihrem histologischen Bau einen Namen geben soll, so wäre der richtigste der eines Adenosarkoms, welches von zahlreichen Blastomyceten durchsetzt ist.

Grosse Beachtung verdienen aber noch recht häufig im Gewebe vorkommende Zellen, welche mit feinsten Körnchen theils vollgepfropft, theils aufgeplatzt sind. In ihrer nächsten Umgebung liegen eine Menge solcher Körnchen, als ob die Körnchen gerade im

Ausschwirren begriffen wären. Sie erinnern sofort an die oben in Thätigkeit beobachteten grossen Zellen im hängenden Tropfen, deren glasige Hülle aufplatzte, und aus welcher dann die Körnchen herausschwirten. — Wir begegnen ihnen später wieder bei den in die Hoden injicirten Ratten.

4. Sieg. Juni 1894. Carc. colli uteri. Vom Vorpostengewebe wird einem Kaninchen ein ca.  $\frac{1}{2}$  ccm grosser Würfel frischen Gewebes in die Bauchhöhle implantirt.

Nach und nach hatte sich im oberen Theile der Bauchhöhle ein wallnussgrosser Tumor entwickelt, welcher monatelang stationär blieb. Um weiter zu verfolgen, was aus der Geschwulst würde, liess ich das Thier am Leben. Erst im vierten Jahre nach der Operation fing es an abzumagern, während der Tumor an Grösse immer mehr zunahm, und am 4. 11. 1898 (also nach 4 Jahren und 5 Monaten) ging es zu Grunde.

Section: Im oberen Theil der Bauchhöhle lag ein durch vielfache Pseudomembranen mit seiner Umgebung verlötheter praller Tumor, welcher ungefähr apfelsinengross war und mit einer 1 bis 2 mm starken Kapsel einen dicken Brei einschloss. Von dem implantirten Carcinomstück war nichts mehr sichtbar.

Die Leber war durchsetzt von einzelnen bis haselnussgrossen, grauweissen Knoten; ebenso beide Lungen (Fig. 72), deren Gewebe durch die verschieden grossen Knoten stellenweise vollständig comprimirt erschien.

Mikroskopisch stellen die Knoten in der Lunge eine vollendete epitheliale Neubildung dar (s. Fig. 73), deren Charakter an einzelnen Stellen durch die schrankenlose Wucherung mit Verdrängung des Lungengewebes als eine atypische bezeichnet werden kann.

In Mitten dieser Knoten begegnet man an vielen Stellen Gebilden, welche namentlich in den mit Hämatoxylin-Carbolfuchsin gefärbten Präparaten als Blastomyceten deutlich erkennbar sind (Fig. 74, b = Blastomyceten). Dieselben finden sich ebenfalls in der Bindegewebskapsel sowie im Inhalt des apfelsinengrossen Tumors.

B. Uebertragung von Blastomyceten, welche aus Carcinomen des Menschen gezüchtet wurden, auf Thiere.

Von der Reincultur, welche von Frau Die. (Fall 2, Ovarialcarcinom, 8. 12. 1898) erhalten worden war, wurde am 2. Oc-

tober 1899 eine Aufschwemmung dieser Cultur in steriler Bouillon (und zwar je  $\frac{3}{4}$  g davon) bei 5 weissen Ratten in je einen Hoden injicirt. Dass die Lösung steril, die Spritze vorher ausgekocht, die Haut der Ratte geseift, rasirt, entfettet und desinficirt war, versteht sich ganz von selbst.

Am 15. 4. 1900, also nach 195 Tagen, starb die Ratte, nachdem sie die letzten Tage sich krank gezeigt hatte. Section bald nach dem Tode: Nach Eröffnung und Abtragung der äusseren Haut sieht man den Bauch stark aufgetrieben und allenthalben durch die Bauchdecken weisse, gelbe, röthliche bis blaue, hirsekorn- bis bohnergrosse Knötchen durchschimmern. Die Bauchdecken sind in grosser Ausdehnung mit dem durch diese Knötchen veränderten Netz verwachsen, in der Bauchhöhle eine kleine Menge blutig gefärbter Flüssigkeit. Der linke Hoden, der im Ganzen kleiner als der rechte, zeigt an einer Stelle eine gelbliche Marmorirung von Linsengrösse (Stelle der Injection). Von beiden Hoden aufwärts zieht sich ein breites Band, das über und über besät ist mit bunten Knötchen, die klein anfangend bis zur Magen- und Lebergegend die Grösse einer Haselnuss erreichen (s. Taf. VI, t = Tumoren). Sämmtliche Unterleibsorgane, mit Ausnahme eines kleinen Theiles des Dünndarmes, welcher durch Luft und grünliche Flüssigkeit aufgetrieben ist, sind dicht mit den beschriebenen Knötchen besetzt. Auch das Zwerchfell ist durch solche Gebilde bis zur Stärke von 1 cm verdickt. Die Brustorgane erscheinen makroskopisch gesund.

Fertigte man nun Ausstrichpräparate vom Saft dieser Tumoren an und färbte mit Carbofuchsin, so fand man eine Menge von Blastomyceten, noch mehr aber in den von diesen Tumoren angefertigten mikroskopischen Präparaten, welche stellenweise von Blastomyceten übersät sind. Und zwar liegen sie in allen möglichen Grössen, vom Pünktchen an bis zu  $3 \mu$ , sowohl zwischen den Gewebszellen, wie in diesen und in deren Kernen (Tafel V, Fig. 75, bb). In den letzteren kann über ihre Existenz namentlich dann kein Zweifel sein, wenn man neben dem gut gefärbten Kernkörperchen noch rothgefärbte doppelt contourirte Gebilde von verschiedener Grösse, theilweise mit einem Hof bez. mit einem Innenkörnchen, feststellen kann.

Die Tumoren selbst aber bieten die Struktur von Riesenzellensarkomen dar (Fig. 75). Denn zwischen sich kreuzenden Bündeln von lockerem und welligem Bindegewebe liegen Binde-

gewebszellen in allen möglichen Grössen und Richtungen durcheinander. Das Protoplasma dieser bis zu 15 und 20  $\mu$  grossen Zellen ist stark gequollen, aber von gleichmässiger Beschaffenheit, die Kerne bedeutend vergrössert, in manchen Zellen bis zu 6 und 10 dichtaneinander gedrängt, namentlich am Rande des Protoplasmas (R. z.). Auffallend ist der Gefässreichthum dieser Tumoren. Im Querschnitt der Gefässe sind ebenfalls Blastomyceten der verschiedensten Grösse anzutreffen.

Was aber den Schnitten noch ein erhöhtes Interesse verleiht, ist der Reichthum an grossen Zellen, welche theils mit kleinen Körnchen vollgestopft sind, theils in ihrer unmittelbaren Umgebung solche gleichsam umhergestreute Körnchen zeigen, als ob der Zellleib vorher geborsten wäre (Fig. 76). Diese Zellen erinnern sofort an jene oben beschriebenen glashellen grossen Kugeln im frischen Carcinomgewebe, aus welchen im hängenden Tropfen das Ausschwirren der innen befindlichen Körnchen nach Bersten des Zelleibes stundenlang beobachtet werden konnte. Da diese Körnchen bei der Beobachtung mit Natronlauge sich als Blastomyceten herausstellten, so will es nicht gewagt erscheinen, auch hier im mikroskopischen Schnitte diese geborstenen Zellen und ausgestreuten Körnchen als Blastomycetenkeime anzusehen. Ob durch dieses Ausstreuen die, wie man sieht, ausserordentliche Verbreitung der Blastomyceten im Organismus nicht ganz wesentlich unterstützt wird, dies zu erforschen, muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Nach Alledem kann es sich hier nicht um eine blosse Granulationsgeschwulst handeln, oder um sogenannte Hefetumoren, entstanden durch eine Verhefung des ganzen Organismus, sondern es handelt sich um ächte Bindegewebsgeschwülste, und zwar um multiple Sarkomknoten der Bauchhöhle, welche nach Injection einer aus einem Carcinom des Menschen gewonnenen Blastomycetencultur entstanden waren, welche zwischen ihren Gewebszellen zahllose Blastomyceten aufweisen, und welche schliesslich den Tod des Thieres herbeigeführt haben.

Vergleicht man nun diesen Befund mit den Ergebnissen von Sanfelice, so liegen die Aehnlichkeiten und Unterschiede in beiden Fällen auf der Hand.

Sanfelice benutzte eine Reincultur von *Saccharomyces neo-*

formans, die nicht vom Menschen stammte, injicirte sie in die Hoden eines Hundes und erhielt, wie seine Abbildungen vortrefflich demonstrieren, an Stelle der Hoden eine gelblich-weiße Masse neugebildeten compacten homogenen Gewebes mit zahlreichen metastatischen Knötchen um die Hauptgeschwulst herum. Die Inguinal- und Unterleibslymphdrüsen waren wenig vergrößert, auf dem Schnitte normal. Mikroskopisch war die Hauptgeschwulst ein Adenocarcinom mit epithelialen Elementen in den metastatischen Knötchen, eine Annahme, die ohne Weiteres dann noch begründeter sein würde, wenn sie durch ganz getreue, nicht schematisirende Abbildungen gestützt worden wäre. Aber ganz besonders muss hervorgehoben werden, dass Hauptgeschwulst wie Metastasen reichlich durchsetzt waren von Blastomyceten.

Aehnlich und doch etwas anders in unserem Falle. Zur Verwendung kam eine von einer bösartigen Neubildung des Menschen stammende Reincultur von Blastomyceten. Sie wurde injicirt in den Hoden einer Ratte. Bei dieser bildeten sich massenhafte Knoten auf allen Organen der Bauchhöhle, auf dem Peritoneum parietale, sowie in den retroperitonealen Lymphdrüsen und es entstand blutiger Ascites. Schliesslich führte diese Erkrankung den Tod des Thieres herbei; eine Erscheinung demnach und ein Verlauf, wie wir sie von der Bildung miliärer maligner Knoten und von blutigem Ascites in der Bauchhöhle beim Menschen kennen.

Und wie in den Tumoren von Sanfelice's Falle fanden sich auch hier in allen untersuchten Geschwulstabschnitten Blastomyceten in grosser Zahl. Die Geschwülste selbst aber konnten nach ihrem ganzen Bau nur als Riesenzellensarkome bezeichnet werden.

Ueerblicken wir nun diese unsere Uebertragungen auf Thiere, so sind 3 positive Erfolge zu verzeichnen:

1. Eine atypische epitheliale Neubildung in der Lunge eines Kaninchens, welchem frisches Carcinomgewebe vom Menschen in die Bauchhöhle eingepflanzt worden war. Zeitdauer 4 Jahre 5 Monate. Tod durch die Erkrankung (Fig. 72, 73, 74).

2. Ein Adenosarkom in der rechten Schenkelbeuge einer Ratte, welcher frisches Carcinomgewebe vom Menschen in die Bauchhöhle gebracht worden war. Zeitdauer 61 Tage. Tod durch die Erkrankung.

3. Multiple Rundzellensarkome in der Bauchhöhle einer Ratte; entstanden nach Injection von Blastomycetencultur, gewonnen

aus dem Carcinom des Menschen, in den Hoden der Ratte. Tod durch die Erkrankung 195 Tage nach erfolgter Injection.

ad 1. Das eingepflanzte Stück stammte von einem Uteruscarcinom, in welchem (s. Taf. V., Fig. 70) sowohl im frischen Gewebe, wie im mikroskopischen Schnitte Blastomyceten in Menge zu finden waren. Diese Blastomyceten fanden sich auch von ganz der gleichen Beschaffenheit in den neugebildeten Lungenknoten wieder, welche als atypische epitheliale Neubildung zu bezeichnen ist (Taf. V, Fig. 72 bis 74).

ad 2. Das eingepflanzte Stück stammte aus einem Ovarialcarcinom, in welchem ebenfalls, im frischen wie im gehärteten Gewebe, Blastomyceten mit Sicherheit nachzuweisen waren. Diese Blastomyceten fanden sich auch in dem in der Schenkelbeuge der Ratte entstandenen Tumor wieder, welcher als Adenosarkom zu bezeichnen war.

ad 3. Die injicirte Blastomycetencultur war gewonnen aus einem Ovarialcarcinom, in welchem im frischen Gewebe Blastomyceten zu beobachten waren. Sie fanden sich auch in den mikroskopischen Schnitten (Taf. IV, Fig. 68). Es gelang, diese aus dem frischen Gewebe in Reincultur zu züchten (Fig. 55 und 56).

Sie fanden sich in Menge wieder in den massenhaften Peritonealknoten (s. Fig. 75 und 76), welche als Riesenzellensarkome zu bezeichnen waren.

Kann nach diesen Darlegungen noch ein Zweifel darüber bestehen, dass zwischen den in den bösartigen Neubildungen spez. Carcinomen des Menschen gefundenen Blastomyceten und den Blastomyceten, welche sich in den experimentell erzeugten Tumoren wiederfanden, ein ätiologischer Zusammenhang besteht?

Mit anderen Worten: Kann es noch zweifelhaft sein, dass Blastomyceten die Ursache maligner Neubildungen beim Menschen sein können, und dass sie von Menschen auf das Thier überführt, bei Thieren ebenfalls Neubildungen hervorrufen, welche zum Tode des Trägers führen?

Ich glaube, dass mit den drei letzten angeführten, von mir angestellten Versuchen und erzielten Erfolgen dieser Beweis erbracht ist.

Von jeher habe ich fest an der Annahme gehalten und dem zu wiederholten Malen Ausdruck gegeben, dass die letzte, vielleicht



auch die erste Ursache der malignen Neubildungen des Menschen eingedrungene Parasiten, in unseren Fällen Blastomyceten sind, und dass diese maligne Neubildungen in gewisser Beziehung infectiös wirken. Nach diesen Untersuchungen bin ich mehr denn je von dieser Annahme durchdrungen, und eine Fülle von klinischen Thatsachen drängen zu derselben hin. Doch würde es zu weit führen, heute hierauf einzugehen.

Noch bleibt experimentell genug zu thun übrig. Vor Allem nachzuweisen, dass auch die in den erzeugten Tumoren gefundenen Blastomyceten sich weiter züchten lassen, und dass diese wiederum, in andere Thiere übertragen, die gleichen, zum Tode führenden Neubildungen hervorrufen.

In den letztverflossenen Wochen gelang es mir, die erste dieser beiden Forderungen vollkommen zu erfüllen.

Von den Knoten der am 15. 4. 1900 gestorbenen Ratte (s. S. 113) wurde frisches Gewebe sofort zur Weiterimpfung verwendet, und zwar wurde von den Bauchfellknoten auf vier Röhrchen und von den Knoten in der Leber auf zwei Röhrchen angesäuerter Gelatine weiter geimpft (15. 4. 1900).

Im Röhrchen No. III (Bauchfellknoten) war bis zum 19. 4. eine kleine Erhöhung, bis zum 20. 5. aber eine weissliche Cultur auf der Oberfläche der völlig klar gebliebenen Gelatine aufgegangen, welche sowohl im hängenden Tropfen steriler Bouillon, wie in einem mit Carbofuchsin gefärbten Ausstrichpräparat sich als eine völlige Reincultur von Blastomyceten darstellte.

Von dieser wurden am 22. 5. 1900 wiederum mehrere Röhrchen angesäuerter Gelatine beschickt, auf welchen die Blastomycetenreincultur sich bis zum 6. 6. 1900 rein und klar weiter entwickelt hat.

Ausserdem wurde mit einer Aufschwemmung dieser Blastomycetenreincultur bei fünf Ratten eine Injection von  $\frac{3}{4}$  g Flüssigkeit in je 1 Hoden vorgenommen, deren Ergebnisse abzuwarten sein werden.

Sonach ist bis jetzt folgende Versuchskette gebildet worden:

1. Im frischen Ovarialcarcinom der Frau Die. (3. 12. 1898) fanden sich Blastomyceten.
2. Aus diesem frischen Carcinomgewebe liessen sich die Blastomyceten in Reincultur gewinnen (Taf. IV, Fig. 55, 56).
3. Diese Reincultur, in den Hoden einer Ratte injicirt, be-

wirkte bei der letzteren eine grosse Zahl von Peritonealknoten, welche zum Tode der Ratte führten, und im frischen wie im gehärteten Gewebe eine Unmenge von Blastomyceten aufwiesen.

4. Aus diesen frischen Knoten liessen sich die Blastomyceten wiederum in Reincultur züchten.

Sollte es gelingen, mit der Uebertragung dieser letzteren Reincultur auf Ratten bei diesen auch wiederum Neubildungen zu erzielen, welche so geartet sind, dass sie den Tod der Trägerinnen herbeiführen, dann ist der Ring geschlossen und ein Zweifel darüber wohl nicht mehr zulässig, dass Blastomyceten im Stande sind, maligne Neubildungen hervorzurufen. Hierauf näher einzugehen, bleibt einer späteren Mittheilung vorbehalten.

---

Bei dieser Arbeit haben mich mein erster Assistent Herr Oberarzt Dr. Albert und Herr Maler Dittrich in dankenswerther Weise unterstützt. Ersterer durch Anfertigung mikrophotographischer Bilder, letzterer durch die vollkommen naturgetreuen Wiedergaben der mikro- und makroskopischen Befunde.

---

### Erklärung der Abbildungen auf Tafel I—VI.

---

#### Tafel I und II.

Fig. 1—3. Leuner's heizbares Mikroskop mit von Luftdruckänderungen unabhängigen Differential-Thermoregulator. (Erläuterung im Text.)

#### Tafel III.

Fig. 1—5. Blastomyceten in einer Reihenfolge von Veränderungen aus einem Ovarialcarcinom (15. 6. 96). Hängender Tropfen. Frisches Gewebe.

Fig. 6—12. Desgleichen.

Fig. 13—14. Aus einem Ovarialcarcinom.

Fig. 15—18. Blastomyceten mit Sprossen.

Fig. 19—22. Uteruscarcinom. Frisches Vorpostengewebe. Hängender Tropfen. Blastomyceten mit Sprossen.

Fig. 23—25. Vacuolenbildung.

Fig. 26—27. Blastomyceten mit Innenring.

Fig. 28. Geschrumpfte Formen.

Fig. 29—31. Sprossvorgänge.

- Fig. 32—33. Körnchenbildung im Innern.  
 Fig. 34 a u. ä. Grössenverhältniss der grösseren zu kleineren Blastomyceten.  
 Fig. 35. Frisches Vorpostengewebe von einem Uteruscarcinom; beobachtet im hängenden Tropfen steriler Bouillon vom 23. 6. bis 12. 12. 96, in Leuner's Mikroskop. z = Gewebszellen. b = Blastomyceten.  
 Fig. 36—38. Ovarialcarcinom. Frau Dietr. 18. 8. 98. Frisches Gewebe. Sprossvorgänge von Blastomyceten.  
 Fig. 39—40. Carc. corporis uteri. Frau Eck. 12. 12. 99. Blastomyceten mit Sprossen.  
 Fig. 41. Dasselbe. In dichten Haufen nach Vermehrung beisammenliegend.  
 Fig. 41 b u. c. Ovarialcarcinom. Frau See. 10. 3. 1900. In der Ascites-Flüssigkeit Blastomyceten mit doppelten Contouren und Abschnü-  
 rungsvorgängen.  
 Fig. 42. Ovarialcarcinom. Frl. von B. 14. 7. 94. Glaskugel mit massen-  
 haften Körnchen, die in lebhafter Bewegung sind; stundenlang be-  
 obachtet.  
 Fig. 43. Wand höckrig, uneben. Ausschwärmen der Kügelchen.  
 Fig. 44—47. Wand wieder glatt. Die ausgeschwärmten Kügelchen in Ruhe;  
 die innen noch befindlichen bewegen sich stundenlang fort.  
 Fig. 48 a—d. Portiocarcinom von Frau W. 20. 3. 96. Frisches Vorposten-  
 gewebe. Hängender Bouillontropfen. Ausschwirren der Kügelchen;  
 stundenlang beobachtet.  
 Fig. 49. Ovarialcarcinom. Frau Preu. 6. 12. 98. Aufgeplatzter Glaskörper;  
 aus ihm werden die Kügelchen herausgeschleudert; stundenlang be-  
 obachtet.  
 Fig. 50. Ovarialcarcinom. Frau See. 10. 3. 1900. Vergl. Fig. 41 b u. 41 c.  
 Blastomyceten im hängenden Tropfen von Salzsäure.  
 Fig. 51. Dasselbe im hängenden Tropfen von schwacher Salpetersäure.  
 Fig. 52. " " " " " 40proc. Schwefelsäure.  
 Fig. 53. " " " " " Natronlauge.

## Tafel IV.

- Fig. 54. Reincultur von Blastomyceten aus dem Ovarialcarcinom von Frau  
 Preu. 6. 12. 98. Schwache Vergrösserung.  
 Fig. 55 a, b, c. Reincultur von Blastomyceten in Nährgelatine vom Ovarial-  
 carcinom von Frau Die. 3. 12. 98.  
 Fig. 56. Dieselbe Reincultur im hängenden Tropfen. Spross- und Abschnü-  
 rungsvorgänge. Zeiss. Comp. Oc. No. 8 bez. No. 12.  
 Fig. 57. Reincultur von Blastomyceten aus einer carcinomatösen Achseldrüse  
 und Mammacarcinom. Frau Wa. 29. 9. 99.  
 Fig. 58. Reincultur von Blastomyceten aus einem Uteruscarcinom (Vorposten).  
 Frau Schrü. 16. 1. 1900. Schwache Vergrösserung.  
 Fig. 59—63. Dieselbe Reincultur verschieden gefärbt: 59: Hämatoxylin, 60:  
 Gram, 61: Eosin, 62: Methylviolett, 63: Bismarckbraun.  
 Fig. 64—66. Reincultur von Frau Die. (Fig. 55 u. 56). Gefärbt in 64 mit  
 van Gieson, in 65 mit Eosin, in 66 mit Carbofuchsin. Fig. 59—66  
 gezeichnet mit Zeiss, Comp. Oc. No. 12.

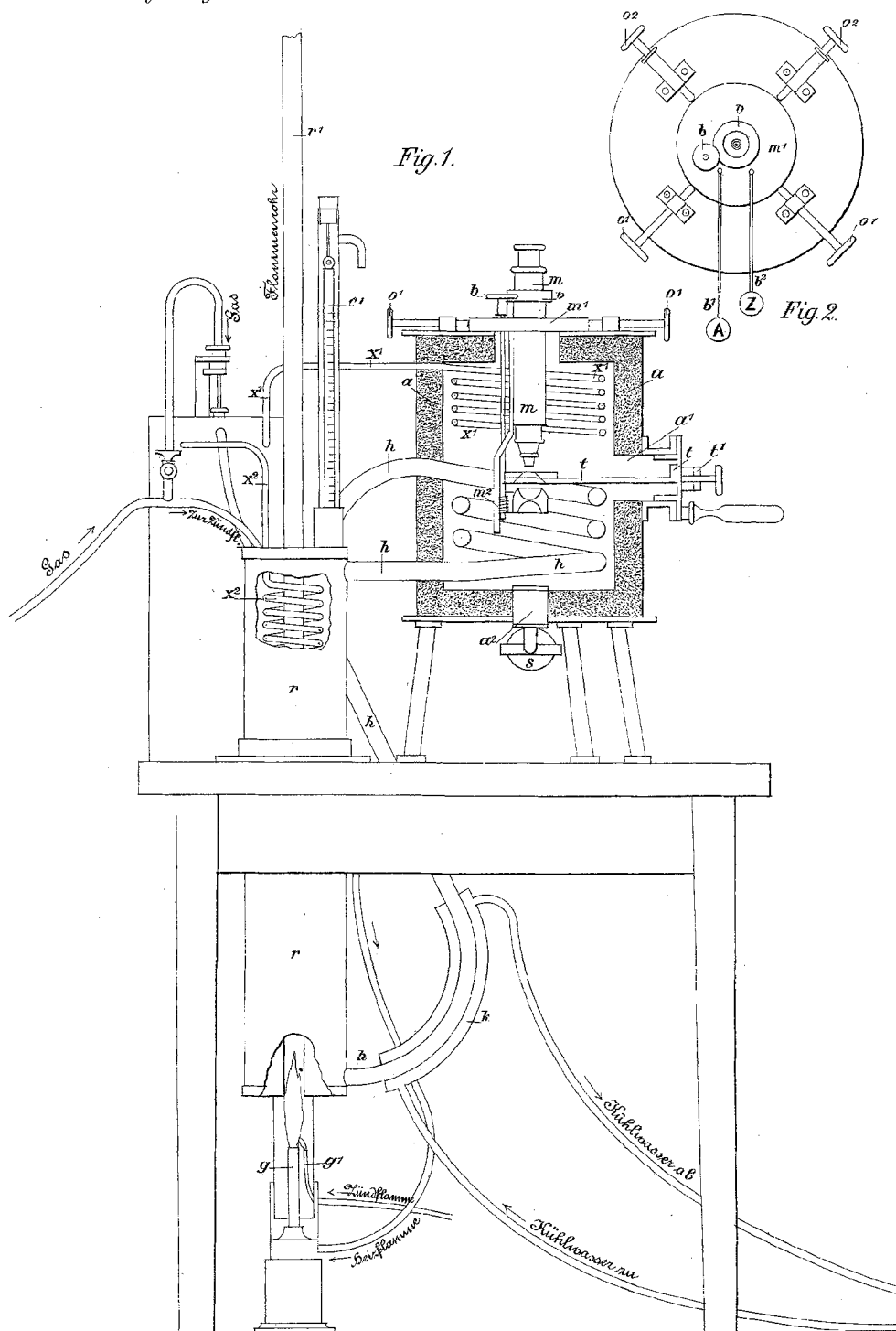
- Fig. 67. Ovarialcarcinom von Frau Preu. (Vergl. Fig. 54.) b = Blastomyceten hellroth mit blauem Kern. Methylviolett-Eosin.  
 Fig. 68. Ovarialcarcinom von Frau Die. (Vergl. 55 u. 56.) b b, b,, = Blastomyceten einzeln und in Gruppen. Hellroth. Methylviolett-Eosin.  
 Fig. 69. Lymphdrüsencarcinom von Frau Wa. (Vergl. Fig. 57.) b = 4 zusammenliegende Blastomyceten. Ehrlich-Safranin. Hellroth. Höfe blass.

Tafel V.

- Fig. 70. Uteruscarcinom. Frau Sieg. b = Blastomyceten, blassroth mit violettem bis blauem Kerne. Methylviolett-Eosin. Schwache Vergrößerung.  
 Fig. 71. Ovarialcarcinom. Frau Helb. b = Blastomyceten in Gruppen. Methylviolett-Eosin.  
 Fig. 72. Kaninchenlunge durchsetzt von vielfachen Knoten nach Implantation von frischem Vorpostengewebe vom Uteruscarcinom der Frau Sieg. (Vergl. Fig. 70.)  
 Fig. 73. Dasselbe. Lungenknoten: atypische epitheliale Neubildung mit Verdrängung des Gewebes.  
 Fig. 74. Dasselbe. Lungenknoten. b = Blastomyceten, theils mit feinsten Innenkörnchen, theils mit Sprossung.  
 Fig. 75. Ratte, injicirt in den Hoden mittels Reincultur von Blastomyceten vom Ovarialcarcinom der Frau Die. (Vergl. Fig. 55, 56, 68.) Riesenzellensarkomknoten (Rz) in der Bauchhöhle, mit zahlreichen Blastomyceten (b). Färbung Hämatoxylin-Carbolfuchsin.  
 Fig. 76. Dasselbe Präparat. Blastomyceten bez. Glaskugeln mit ausschwärmenden Körnchen. Hämatox.-Carbolfuchsin.  
 Fig. 71, 73—76 gezeichnet mit Zeiss, Comp. Oc. No. 6, bez. No. 8 oder No. 12.

Tafel VI.

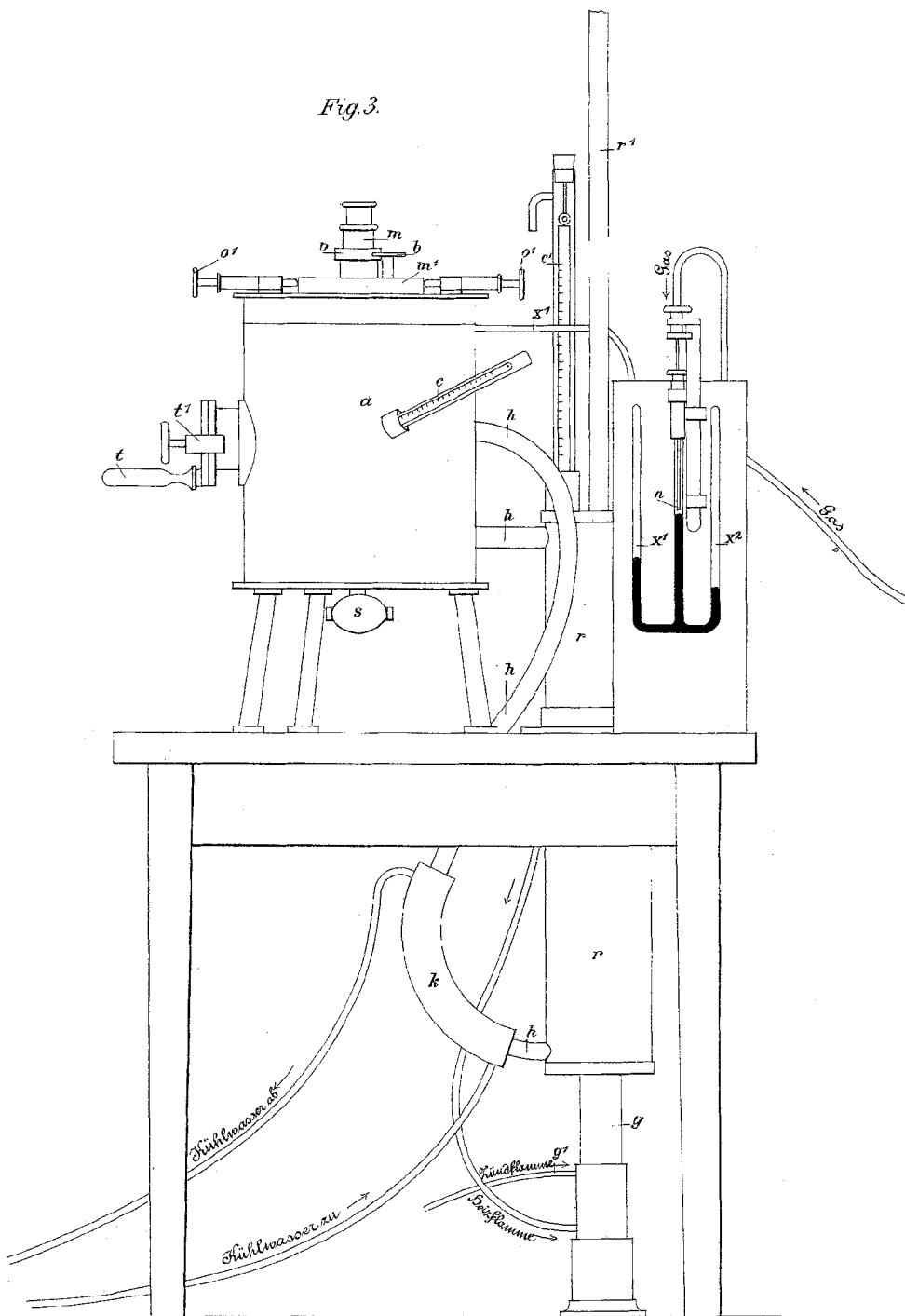
- Ratte, injicirt in den Hoden mittels Reincultur von Blastomyceten vom Ovarialcarcinom der Frau Die. (Vergl. Fig. 55, 56, 68, 75, 76.) Die Knoten besetzen das gesammte Peritoneum und fast alle Organe incl. Zwerchfell. t = Tumoren.
-



L. J. Thomas, Lith. Fest, Berlin, S. 53.

Senner's heizbares Mikroskop mit von Luftdruckänderungen unabhängigen Differential-Thermoregulator.

Fig. 3.



L. I. Thomas Lith. Inst., Berlin 533.

Leuner's heizbares Mikroskop mit von Luftdruckänderungen  
unabhängigem Differential-Thermoregulator.

