

XIX.

Ueber Granulafärbung lebender und überlebender Leukocyten

von

Prof. Dr. Julius Arnold
in Heidelberg.

So verschieden die Ansichten über den Aufbau und die Zusammensetzung des Cytoplasmas der Zellen sind, das Vorkommen kleiner körniger Gebilde wird von den Meisten anerkannt. Sehr bemerkenswerth ist in dieser Hinsicht die That-
sache, dass sich diese mittelst verschiedener Methoden (Jodkali, Jodjodkali, Osmiumsäure, Chromsäurelösungen) isolirt darstellen lassen¹⁾. Andererseits muss als fraglich zugegeben werden, welche Bedeutung ihnen in morphologischer und functioneller Beziehung zukommt; da die Plasmosomen bei der Isolirung als scharf begrenzte Körner erscheinen, so kann man sie weder als optische, noch als wirkliche Querschnitte von Fäden ansehen. Ebenso wenig dürfen sie für Erzeugnisse einer Quellung ausgegeben werden; viele derselben sind an lebenden und überlebenden Zellen, sowie unter Verhältnissen nachweisbar, durch welche eine derartige Entstehungsweise ausgeschlossen ist. Ihr regelmässiges, ja in gewissem Sinne gesetzmässiges Vorkommen in den Zellen, sowie ihre Beziehung zu wichtigen Structur-Elementen dieser — den Fäden — beweisen, dass es sich um einen bedeutungsvollen Structur-Bestandtheil handelt. In Anbetracht der Lagerung vieler dieser Körner in Fäden ist die Annahme, dass sie von aussen aufgenommen worden seien, unwahrscheinlich.

¹⁾ J. Arnold, über die feinere Structur der hämoglobinlosen und hämoglobinhaltigen Knochenmarkszellen. Dieses Archiv Bd. 144, 1896; zur Structur und Architectur der Zellen, Archiv f. mikroskop. Anatom. Bd. 52, I—III. 1898 und kritische Bemerkungen über Flemming's „Fadengerüst-Lehre“, anatom. Anzeiger, Bd. VIII. 1897/98.

Besonders schwierig ist die Beantwortung der Frage, ob diese Gebilde und welche derselben als präformirte Structur-Bestandtheile der Zellen oder lediglich als körnige Ausscheidungs-Producte dieser aufgefasst werden müssen, und ob eine Beziehung zwischen den ersteren — den Plasmosomen — und den letzteren — den Granula — der Art besteht, dass Plasmosomen in Granula umgewandelt werden können. In diesem Sinne soll in den nachfolgenden Zeilen zwischen beiden unterschieden werden.

Bei meinen Untersuchungen über acidophile Granula der Knochenmarks-Zellen (a. a. O.) war mir schon aufgefallen, dass sie bei der Isolirung mittelst der Jodkali-Methode durch Zwischenglieder verbunden sind, und den Eindruck machen, als ob sie in Fäden eingebettet wären. Ein solches Verhalten wird nur durch die Annahme verständlich, dass die eosinophilen Granula umgewandelte Plasmosomen sind. Von Secretkörnern, welche als Erzeugnisse einer einfachen Ausscheidung des Cytoplasma zu deuten wären, liess sich eine derartige Beziehung zu den Fäden der Zellensubstanz, und eine solche Regelmässigkeit in Bezug auf ihre ganze Anordnung nicht erwarten.

Es lag nahe, ausser diesen morphologischen Thatsachen functionelle Anhaltspunkte nicht nur bei eosinophilen, sondern auch bei anderen Zellformen zu gewinnen, und zu diesem Zwecke Fütterungs-Versuche mit Farbstoffen und anderen Substanzen — Eisen, Fett etc. — vorzunehmen. Aus dem Verhalten der Granula diesen gegenüber durfte man über die Beziehung der Granula zu dem Plasmosomen in morphologischer und functioneller Hinsicht Aufschlüsse erhoffen. Zunächst soll über Versuchsreihen, welche ich mit Farbstoffen an lebenden und überlebenden leukocyitären Wanderzellen anstellte, berichtet werden.

Die Technik war eine sehr einfache. Möglichst dünne Hollunder-Plättchen¹⁾ wurden in den Rücken-Lymphsack von Fröschen eingeschoben und nach 6, 12 bis 48 Stunden entfernt. Will man den Vorgang der Färbung unmittelbar beobachten, so hängt man die Plättchen an einem Deckglas auf, bedeckt sie dann mit einem kleinen Korn des Farbstoffes in Substanz oder mit einem Tröpfchen der Farbstofflösung, und schliesst die Kammer

¹⁾ Zu beziehen durch Jung, mechanische Werkstätte in Heidelberg.

mit Vaseline ab. Bei anderen Versuchen habe ich die Plättchen vor der Einfuhr in den Lymphsack mit Farbstoffkörnern bestäubt. Von den verschiedenen Farbstoffen, welche in Anwendung kamen, seien hier Säurefuchsin, Rubin, Bordeaux, Phloxinroth, Eosin, Nigrosin, sowie Jodgrün, Metylgrün, Safranin, Bismarckbraun, Cyanin, Neutralroth, Methylenblau, ein Gemisch beider und Biondi's Dreifarben-Gemisch genannt. Sehr interessante und constante Ergebnisse erhielt ich bei der Fütterung mit Neutralroth und Methylenblau, bezw. mit einem Gemenge beider. Bezüglich der anderen Farbstoffe sei hier nur kurz bemerkt, dass Eosin eine manchmal ziemlich rasch eintretende, aber wieder verschwindende Tinction der eosinophilen Granula bedingt. Bei längerem Verweilen solcher Plättchen im Lymphsack kommen in vielen Leukocyten ganz feine rothe Granula zum Vorschein, ebenso bei Fuchsin. Durch Biondi's Dreifarben-Gemisch werden feine Granula violett gefärbt.

Versuche¹⁾, welche ich früher mit Hollunder-Plättchen angestellt habe, belehrten mich, dass nach 6—24stündigem Verweilen der Plättchen in den Lymphsäcken die Maschen mit zahlreichen Zellen gefüllt sind, welche in Anbetracht der kurzen Frist als haematogene Wanderzellen angesehen werden müssen. Die Mehrzahl der Zellen gehört zu den Formen mit polymorphen Kernen; neben diesen kommen aber auch mononucleäre Zellen von wechselnder Grösse vor. Füttert man solche Plättchen in der oben angegebenen Weise mit Neutralroth in Substanz oder in Lösung, so treten sehr bald in den Zellen gefärbte Granula auf. Bei flüchtiger Beobachtung erhält man leicht den Eindruck, als ob die Granula erst mit beginnender Einwirkung des Farbstoffes auftreten; eine genauere Untersuchung der Plättchen lehrt aber, dass dieselben schon vor dem Farbstoff-Zusatz nachweisbar sind, und als kleinere und grössere Körner, sowie hyaline Tröpfchen sich darstellen. Die Zahl, Form, Grösse und Farben-Intensität der Granula ist eine sehr wechselnde. Manche Zellen enthalten nur einzelne oder zahlreiche feine Granula, die bald schwächer, bald intensiver gefärbt sind. In anderen finden sich grössere Granula, meistens neben kleineren in wechselnder Zahl, sowie

¹⁾ J. Arnold, über Theilungsvorgänge an Wanderzellen u. s. w. Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. 30. 1887.

Uebergangs-Formen zwischen beiden. Nicht selten kommen mehr oder weniger stark gefärbte, tropfenartige Gebilde vor, welche zuweilen noch Körner in sich einschliessen, als ob sie aus einer Vereinigung und Verflüssigung solcher hervorgegangen wären. Neben runden Formen trifft man mehr eckige oder stäbchenförmige; bezüglich der letzteren muss man sich vor der Verwechslung mit kleinen gefärbten Kryställchen, welche zuweilen im Innern der Zellen sich bilden, hüten. Auch die Vertheilung der Granula ist eine sehr verschiedene. Oft sind es die perinucleären Zonen, in welchen die gefärbten Granula zuerst auftreten, andere Male erscheinen diese gleichmässig oder unregelmässig, scheinbar ohne jede Gesetzmässigkeit, über den Zellkörper ausgestreut. Im Anfang nimmt man eine diffuse Färbung der Granula wahr, bei längerer Versuchsdauer beginnen aber auch die Zwischenglieder sich zu färben, es entstehen so gefärbte Fäden, vereinzelt oder verzweigt oder in netzförmiger Anordnung; eine Verwechslung mit den oben erwähnten Krystallformen ist, namentlich bei der Anwendung stärkerer Vergrösserungen, zu vermeiden. Zwischen intensiv gefärbten Granula finden sich meistens schwächer und gar nicht gefärbte Körner; die letzteren sind meistens viel kleiner, als die ersteren.

Die Zellen, welche gefärbte Granula führen, vermögen sich lebhaft zu bewegen; man kann an ihnen die verschiedenartigsten Form- und Ortsveränderungen wahrnehmen: Activitäts-Erscheinungen, welche erst nach längerer Zeit und bei beginnendem Zerfall der Zellen verschwinden. Die Ausläufer werden eingezogen oder abgeschnürt, und es treten tropfenförmige hyaline seltener körnige Gebilde an der Oberfläche der Zellen auf; zuweilen konnte ich gefärbte Granula an den abgeschnürten Partikelchen oder den Austritt gefärbter Körner nachweisen. Ausser diesen amöboiden trifft man an den Zellen tanzende oder manchmal mehr strömende Bewegungen der gefärbten oder nicht gefärbten Körner; allerdings, wie mir schien, immer erst dann, wenn es zu Veränderungen in den Zellen, insbesondere zu einem Verschwinden, vielleicht einer Lösung der Zwischenglieder gekommen war. Das Studium dieser Zerfalls-Erscheinungen, als solche sind sie doch wohl aufzufassen, ist überhaupt sehr interessant. Nicht selten kann man gerade an solchen Zellen sich am ehesten von der Lagerung der Granula

in Fäden, und dem Uebergang gefärbter in nicht gefärbte, grösserer in kleinere und kleinste Körner überzeugen. Zu diesem Behuf empfiehlt es sich auch, die Plättchen kurze Zeit in 10procentige Jodkalilösung zu legen, die gefärbten und ungefärbten Körner treten dann deutlicher hervor. Auch an Abklatsch-Präparaten lassen sich die Granula und deren Beziehung zu den Fäden nachweisen. Man streicht zu diesem Behuf die Hollunder-Plättchen, sobald eine deutliche Färbung der Granula eingetreten ist, auf Deckgläsern ab, trocknet und deckt sie in Canada-Balsam ein.

Ich darf nicht versäumen, bei dieser Gelegenheit hervorzuheben, dass, wenn man getrocknete Abklatsch-Präparate von Plättchen herstellt, bei welchen eine vitale Fütterung der Zellen mit Neutralroth nicht stattgefunden hatte, eine nachträgliche Färbung der Granula mit diesem Farbstoff nicht zu erreichen war. Ebenso wenig konnte ich solche an Präparaten nachweisen, welche in Müller-Osmium oder Formol gehärtet und nach der Altmann'schen Methode oder mit Methylenblau, Triacid u. s. w. gefärbt wurden.

Die eosinophilen Granula färben sich bei der vitalen Fütterung mit Neutralroth sehr frühzeitig, aber verschieden intensiv, manchmal verschwindet die rothe Färbung wieder: eine solche Entfärbung kommt übrigens auch bei anderen Granula vor.

Im Anfang ist die Unterscheidung der eosinophilen Granula von den anderen leicht, später kann auch bei diesen die Grösse, Zahl und ganze Anordnung derjenigen bei den ersteren ähnlich werden.

Die Kerne der Leukocyten färben sich gewöhnlich erst nach längerer Zeit, wenn die amöboiden Bewegungen aufgehört haben oder schwächer werden. Einige Male habe ich eine frühzeitige Färbung der Kerne beobachtet, welche aber gleichzeitig mit dem Auftreten perinucleärer Granula wieder verschwand. Ob zwischen diesen Vorgängen irgend ein causaler Zusammenhang besteht oder nicht, wage ich nicht zu entscheiden.

Erwähnen will ich noch, dass man Zellen mit gefärbten Granula auch in Milz und Leber antrifft, wenn die Hollunder-Plättchen vor der Einführung in den Lymphsack mit etwas grösseren Farbstoffmengen bestäubt worden waren. Die Granula

zeigen auch hier verschiedene Grösse; manchmal erscheinen sie mehr als kleinere und grössere Kugeln. Nicht selten trifft man in den Zellen neben gefärbten, ungefärbte Granula. Auch einzelne der im Blut circulirenden Leukocyten enthalten kleinere und grössere Granula, doch ist ihre Zahl eine geringe. Ob die Zellen mit gefärbten Granula aus den blutbildenden Organen stammen, oder ob die Granula-Färbung im kreisenden Blut zu Stande gekommen ist, lässt sich nicht entscheiden. Setzt man frisch gelassenem Blut ein Tröpfchen Kochsalz-Neutralrothlösung hinzu, so treten zahlreiche Granula in den Leukocyten auf.

Das Vorkommen von Granula in rothen Blutkörpern ist auch von Anderen mehrfach beobachtet, ich verzichte deshalb auf eine Beschreibung derselben.

Um über die Lage von aussen aufgenommener, körniger Substanzen zu den Granula mich zu unterrichten, versenkte ich mit Tusche imprägnirte Hollunder-Plättchen in den Lymphsack und setzte, nach der Entfernung derselben aus dem letzteren, Neutralroth hinzu. Zahlreiche Zellen enthielten dann Tusche-körner und rothe Granula zugleich. Sehr häufig liess sich nachweisen, dass die Tuschekörner den Granula seitlich anlagen. Zuweilen schienen die ersteren in die letzteren eingeschlossen zu sein; in vielen Fällen mag es sich dabei um eine Täuschung durch seitlich gelagerte Körner, welche von oben oder unten gesehen wurden, gehandelt haben. Andererseits möchte ich die Möglichkeit des Einschlusses von Tuschekörnern, namentlich in grösseren, durch Confluenz mehrerer Granula entstandenen, tropfenförmigen Gebilden nicht in Abrede stellen.

Aus diesen Versuchen durfte der Schluss gezogen werden, dass Zellen, welche nach dem Typus der Phagocytose Tuschekörner aufgenommen haben, sich auch noch mit Neutralroth färben. So interessant dieses Ergebniss betreffs der Lagerung der Tuschekörner zu den Granula war, einen Schluss bezüglich des Einflusses der Fütterung der Zellen mit Neutralroth auf ihre phagocytären Eigenschaften liessen dieselben nicht zu. Ich änderte die Versuche desshalb in der Weise ab, dass ich die Granula erst färbte, und die Plättchen dann mit Tusche-Aufreibung beschickte. Auch unter diesen Bedingungen erfolgte noch eine Aufnahme von Tuschekörnern seitens der Zellen; es bewahrten

somit diese auch unter solchen Verhältnissen ihre Fähigkeit, nicht nur ihre amöboide Bewegungen auszuführen, sondern auch eine phagocytäre Rolle zu spielen.

Entsprechende Versuche mit Methylenblau in Substanz und Lösung ergaben ähnliche Resultate. Auch bei ihnen fanden sich zahlreiche Zellen, welche kleinere und grössere, verschieden intensiv blau gefärbte Granula in wechselnder Menge und Vertheilung enthielten; wenn ich mich nicht irre, trat die Färbung etwas später, als bei Neutralroth auf. Amoeboide Bewegungen konnten auch an solchen, blaue Granula führenden Zellen beobachtet werden. Im Anfang fehlt eine Kernfärbung namentlich an den sich amoeboid bewegenden Zellen; später kommt eine solche mehr oder weniger deutlich zum Vorschein; an den sessilen Zellen tritt die Färbung früher auf. Bei längerer Einwirkung des Methylenblau macht sich eine diffuse Färbung des Zelleibes bemerkbar. Es haben solche Zellen eine gewisse Aehnlichkeit mit Mastzellen, doch war ich nicht im Stande, eine gesetzmässige und metachromatische Granula-Färbung an ihnen nachzuweisen.

Beschickt man Hollunder-Plättchen, deren Maschen Wanderzellen enthalten, mit einem Gemenge von Neutralroth und Methylenblau in Substanz, so kommen in den einen Zellen rothe, in den anderen blaue, in wiederum anderen rothe und blaue Granula zum Vorschein.

Hat man in den Lymphsack Methylenblau in Substanz eingeführt, so ergeben sich bezüglich Leber und Milz dieselben Befunde, wie bei Neutralroth-Versuchen. Im circulirenden Blut lassen sich blaue Granula in rothen und weissen Blutkörpern nachweisen. Die eosinophilen Zellen führen neben ungefärbten Granula intensiv blau gefärbte Körner von derselben Grösse und Form, wie die ersteren.

Ueber die Versuche bei Kaninchen will ich an dieser Stelle nur kurz berichten, weil die Ergebnisse ähnliche waren, und ich auf das Verhalten der ausgewanderten Zellen beim Warmblüter bei anderen Gelegenheiten ausführlicher zurückkommen muss. — Unter die Rückenhaut werden Hollunder-Plättchen eingeschoben und nach 6—24 Stunden wieder entfernt. Die Fütterung mit Neutralroth oder Methylenblau geschah theils nach der Heraus-

nahme theils während ihres Verweilens im Unterhaut-Zellgewebe in der oben beschriebenen Weise. Vorausschicken muss ich, dass in solchen Plättchen zahlreiche Zellen mit acidophiler Granulirung enthalten sind, wie die Untersuchung des Wundsecretes nach den Ehrlich'schen Methoden lehrt.

Mit Neutralroth färben sich diese acidophilen Granula bald schwach, bald intensiv roth. Ausserdem finden sich aber noch gefärbte Granula, welche kleiner, andere welche grösser sind, als die acidophilen, neben ungefärbten. In Folge der grossen Neigung dieser Zellen zum Zerfall, isoliren sich die Granula sehr leicht, und man kann die Beziehung der gefärbten zu den nicht gefärbten Körnern, sowie ihre Aneinanderreihung zu fadenähnlichen Gebilden nachweisen. Ganz ähnliche Bilder ergaben sich bei der Anwendung von Methylenblau. Auffallend ist bei dieser der Befund von ungefärbten und gefärbten freien Körnern, welche offenbar aus einem Zerfall der Zellen hervorgegangen sind; später tritt eine Färbung der Kerne und eine diffus blaue Tinction des Zellenleibes auf, während die Granula bei eintretendem Absterben sich zu entfärben scheinen; überhaupt hört die Färbung der Granula viel früher auf, als beim Frosch.

Manche rothe Blutkörperchen sind intensiv oder schwächer blau gefärbt, die Mehrzahl derselben lässt jegliche Färbung vermissen.

Bei Methylenblau ist das Verhalten der Granula im Wesentlichen dasselbe. Hervorheben will ich, dass, entsprechend dem raschen Absterben, die Färbung viel frühzeitiger sistirt, als beim Frosch. Bemerkenswerth ist ferner der Befund von zahlreichen freien, blauen Granula, welche offenbar aus den Zellen stammen, zum Theil wohl durch den Zerfall frei geworden sind.

Ueber sogenannte vitale Färbungen der Gewebe sind zahlreiche Untersuchungen namentlich bei Pflanzen und niederen Thieren angestellt worden. Die Mehrzahl der Forscher gelangte zu dem Ergebniss, dass eine Färbung der Zellen erst eintritt, wenn dieselben abzusterben beginnen. Demgegenüber berichtet Przsesmycki, dass bei niederen Thieren die Kerne während des normalen und eine längere Zeit fortdauernden Lebens sich färben, und dass die gefärbten Kerne sich theilen können. Auch bei höheren Thieren

sind derartige Versuche in grösserer Zahl ausgeführt worden¹⁾. Ich muss mich darauf beschränken, an dieser Stelle derjenigen Befunde zu gedenken, welche auf die Granulirung der Leukocyten sich beziehen.

Seit Ehrlich auf die Methylenblau-Reaction der lebenden Nervensubstanz aufmerksam gemacht hat, wurde von Vielen das Verhalten auch anderer Gewebe geprüft. Schon Arnstein²⁾ beobachtete an den Drüsenzellen das Auftreten blauer Granula. Bald darauf hat O. Schulze³⁾ solche an verschiedenen Zellen, so z. B. an den rothen Blutkörpern, wahrgenommen. Seiner Ansicht nach handelt es sich nicht um eine Farbstoff-Aufspeicherung, sondern um eine Färbung vorgebildeter Elemente. An geeigneten Stellen lassen sich Uebergänge von gefärbten zu ungefärbten Granula und nach eingetretener Entfärbung zurückbleibende Stromata nachweisen. Er betrachtet diese Granula als mit den

¹⁾ Bezüglich der Litteratur verweise ich auf folgende Arbeiten:

- 1) Ehrlich, zur biologischen Verwerthung des Methylenblau, Biolog. Centralbl. Bd. VII. 1886.
- 2) Ehrlich, über Neutralroth, Allgem. medicin. Centralzeitung, 1894, Nr. 2.
- 3) Ehrlich u. Lazarus, normale und patholog. Histologie des Blutes, Nothnagel, specielle Pathologie und Therapie, Bd. VIII, 1898.
- 4) O. Schulze, die vitale Methylenblau-Reaction der Zellgranula Anatom. Anzeiger. Bd. II. 1887.
- 5) Teichmann, mikrosk. Beitr. zur Lehre von der Fettresorption. Dissert. Breslau. 1891.
- 6) Mitrophanow, über Zellen-Granulationen, Biolog. Centralblatt, Bd. IV. 1889.
- 7) Kowalewsky, ein Beitrag zur Kenntniss der Excretionsorgane, daselbst;
- 8) S. Mayer, über die Wirkung der Farbstoffe violett B und Neutralroth, Sitzungsber. des deutschen naturwissenschaftlich medicinischen Vereins f. Böhmen „Lotos“ 1896, Nr. 2.
- 9) Galeotti, Ricerche sulla colorabilita delle cellule vivente. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. XI. 1894.
- 10) Przesmycki, über die intravitale Färbung des Kerns u. s. w. Biol. Centralblatt XVII. 1896.

²⁾ Arnstein, die Methylenblau-Färbung als histologische Methode, Anatom. Anzeiger, Bd. II. 1887.

³⁾ O. Schulze, l. c.

Altmann'schen Bioblasten identisch. Certes¹⁾ sah an den Leukocyten nach Einwirkung von Cyanin bei erhaltener Bewegungsfähigkeit eine schwache Färbung auftreten. Mitrophanow²⁾ fand Granulationen in den rothen und weissen Blutkörpern, in den letzteren allerdings nur bei der Einfuhr grösserer Mengen. Teichmann³⁾ nahm blaue Granula nur in den rothen, nicht in den weissen Blutkörpern wahr. Er betrachtet die Granula nicht als Erzeugnisse bioplastischer Assimilation, sondern als gefärbte Ausscheidungen in einem durch Methylenblau geschädigten Protoplasma. Sehr eingehend hat sich Galeotti⁴⁾ mit intravitaler Färbung der Gewebs-Elemente beschäftigt. Er fand bei Anwendung von Methylenblau viele Leukocyten mit grün gefärbten Kernen und blauen Granula von verschiedener Grösse, bei lange während der Injection dunkelblaue Granula von wechselnder Form und Grösse, welche er aber nicht als Theile des Cytoplasma, sondern als Farbstoff-Niederschläge, oder nach dem Typus der Phagocytose aufgenommene Zellresiduen betrachtet. Er zieht aus seinen Beobachtungen den Schluss: Die lebenden Zellen sollen sich niemals vollständig färben, weil durch die ihnen zukommende Lebenskraft die Diffusion der Farbstoff-Lösungen verhindert werde. Es können sich einige Elemente im Innern der lebenden Zelle unter gewissen Bedingungen färben, insbesondere solche, welche keinen activen Theil an der Zellfunction haben. Sie sind eingeschlossen in das Cytoplasma als Ernährungs-Substanz oder als Producte einer secretorischen Flüssigkeit, bestimmt ausgestossen zu werden. Galeotti stellt deshalb eine vitale Farbenreaction im Sinne Ehrlich's⁵⁾, Schulze's und Mitrophanow's in Abrede. Vielmehr sei die vollständige Färbung eines anatomischen Elementes ein Zeichen des eingetretenen Todes. Die theilweise Färbung einer lebenden Zelle zeigt an, dass der gefärbte Theil keinerlei Thätigkeit besitze.

Die ersten Mittheilungen über den Befund von Granula in

¹⁾ Certes, sur un procédé de coloration des infusoires et des éléments anatomiques pendant la vie. Zoolog. Anzeig. Bd. IV. 1881. er. Compt. rend. de la société de biologie Bd. V. 1881.

²⁾ Mitrophanow, b. c.

³⁾ Teichmann, b. c.

⁴⁾ Galeotti, b. c.

⁵⁾ Ehrlich, l. c.

den Leukocyten bei der vitalen Injection von Neutralroth machten Ehrlich und Franz Müller¹⁾. Der Erstere weist, in Betracht des Befundes sehr feiner Granula im Cytoplasma unter solchen Bedingungen, darauf hin, dass es nicht gestattet sei, die Abwesenheit von Granula anzunehmen, wenn die gewöhnliche Färbungs-Methode nicht sofort zum Ziele führe. Welche Meinung Ehrlich über die biologische Bedeutung der Granula hat, und welche Stellung er den Bioblasten Altmann's gegenüber einnimmt, wurde oben bereits erörtert. Ich will desshalb nur noch hervorheben, dass er die Leistungsfähigkeit des Neutralroths gegenüber dem Methylenblau betont. Das letztere sei nicht einwandfrei, weil es bei längerer Versuchsdauer zum Auftreten von Niederschlägen komme; das Neutralroth habe eine maximale Verwandtschaft zu der Mehrzahl der Granula. Zu verwerthen seien nur solche Bilder, bei denen ausschliesslich die Granula, nicht aber Kern- und Zellensubstanz gefärbt sind.

Die Frage, ob lebende Zellen sich färben können, ist, wie oben angeführt wurde, von den meisten Beobachtern dahin beantwortet worden, dass dieselben während des Lebens sich nicht färben, vielmehr das Auftreten einer Färbung den Beginn des Absterbens anzeige. Bei meinen Versuchen mit Neutralroth, Methylenblau und Methylgrün zeigten die lebhaft sich bewegenden Zellen gewöhnlich keinerlei diffuse Färbung des Kerns oder Cytoplasmas. Ich habe zwar an manchen Zellen, deren Kerne gefärbt waren, noch Formveränderungen wahrgenommen, dieselben waren aber sehr träge, und es ist sehr wahrscheinlich, dass es absterbende Zellen waren. Dasselbe gilt vielleicht von jenen Zellen, welche bei diffus gefärbtem Cytoplasma noch sehr langsame Formveränderungen vollzogen. Ob alle Zellen, deren Kern oder Cytoplasma diffus gefärbt erscheinen, wie dies namentlich bei den sessilen Zellen sehr häufig der Fall ist, als abgestorben angesehen werden müssen, für die Beantwortung dieser Frage vermochte ich entscheidende Thatsachen nicht aufzufinden. Die Erfahrungen an niederen Thieren sind auf unsere Objecte nicht ohne weiteres übertragbar, doch mahnen die von Przsesmycki an gefärbten Kernen beobachteten Theilungs-

¹⁾ Franz Müller, Ehrlich u. Lazarus b. c.

Vorgänge, wenn sie auch nicht eindeutig sind, immerhin zur Vorsicht.

Wesentlich anders liegt die Sache bezüglich der Granula; dass es sich bei der Färbung derselben um vitale Vorgänge handelt, kann in Anbetracht der Befunde im Blut und an den Leukocyten in den Hollunder-Plättchen, der amoeboiden und phagocytären Eigenschaften derselben insbesondere, nicht bezweifelt werden. Eine andere Frage ist die, in welcher Weise sie zu Stande kommen, und welche Bedeutung ihnen beigelegt werden darf.

Der schwerwiegendste Einwurf, welcher gegen die Ergebnisse der vitalen Färbungsversuche gemacht werden kann und, wie aus den obigen Mittheilungen hervorgeht, gemacht wurde, ist der, dass die vermeintlichen Granula lediglich in Folge der Einwirkung des Farbstoffes intracellulär entstandene Fällungsproducte, oder von aussen aufgenommene Farbstoff-Theilchen oder Partikelchen gefärbter, zerfallener Zellenbestandtheile seien, welche nach dem Typus der Phagocytose von aussen aufgenommen wurden. In diesen Fällen hätten allerdings die erwähnten Befunde wenigstens für die oben angedeuteten Fragen kein oder nur ein untergeordnetes Interesse. — Man muss einräumen, dass die Einwürfe insofern eine gewisse Berechtigung haben, als die verschiedenen Phasen der Färbung durch unmittelbare Beobachtung bis jetzt nicht festgestellt wurden. — Die oben geschilderten Versuche sind insofern besonders bedeutungsvoll, als bei denselben die Zustände der Zellen vor der Färbung und in allen Stadien derselben beobachtet werden konnten. Es liess sich nachweisen, dass die Granula schon vor der Einwirkung des Farbstoffes vorhanden sind, und in welcher Weise die allmählich intensiver werdende Färbung derselben sich vollzieht. — Die Annahme, dass diese Bilder durch Fällung oder Aufnahme von Farbstoff-Partikelchen nach dem Typus der Phagocytose zu Stande kommen, ist somit nicht haltbar. Ueberdies scheint es mir fraglich, ob Zellen, in denen Fällungs-Vorgänge stattfinden, zu so lebhaften Bewegungen befähigt sind, wie sie an den gefärbten Granula führenden beobachtet werden. Dass die gefärbten Gebilde von aussen eingetretene Partikelchen zerfallener Zellen

seien, ist schon mit Rücksicht auf ihre Form, namentlich aber in Anbetracht ihrer gegenseitigen Beziehung und reihenförmigen Aneinanderlagerung unwahrscheinlich. Dazu kommt, dass die gefärbten Granula schon 6 Stunden nach der Einwanderung der Zellen in die Hollunder-Maschen, ehe Zerfalls-Erscheinungen überhaupt nachweisbar sind, vorkommen.

Wie oben angeführt wurde, besteht ein tiefgreifender Gegensatz betreffs der Deutung der sogenannten Granula zwischen Ehrlich und Altmann. Der Erstere betrachtet diese nicht, wie der Letztere, als Structur-Elemente der Zelle, sondern als Stoffwechsel-Producte, ja er ist geneigt, die Altmann'schen Granula als Erzeugnisse einer Fällung anzusehen. Berücksichtigt man, dass die Bedingungen, unter welchen die Granula von den genannten Autoren zur Darstellung gebracht wurden, sehr verschieden sind, so erscheint die grösste Vorsicht in der Verwerthung der gewonnenen Thatsachen geboten. Dasselbe gilt von den oben geschilderten, in lebenden Zellen beobachteten Granula. Dass an den gleichen Objecten mittelst der Ehrlich'schen und Altmann'schen Methoden nur die eosinophilen Granula, nicht aber die anderen Formen darstellbar sind, scheint mir eine sehr beachtenswerthe Erfahrung. Dessen ungeachtet wird man an ihrer Existenz und ihrer Bedeutung, dem Berichteten zu Folge, nicht zweifeln dürfen.

Auf die Frage, ob die an den leukocytären Wanderzellen durch vitale Färbung dargestellten Gebilde als Structur-Elemente im Sinne Altmann's, oder Stoffwechselproducte (Ehrlich) anzusehen sind, möchte ich erst dann näher eingehen, wenn ich über die in der Einleitung angedeuteten Versuche und anderweitigen Beobachtungen berichtet habe. Ich will deshalb hier nur hervorheben, dass die Anordnung der Körner, ihre gegenseitige Beziehung und Aneinanderreihung, ihr Verhalten zu den Zwischengliedern und ihre Lagerung in Fäden, sowie der Befund von Uebergangsformen gefärbter in nicht gefärbte, von grösseren zu kleineren Körnern dafür spricht, dass es sich wenigstens bei vielen derselben um Structur-Bestandtheile der Zellen handelt. Auf der anderen Seite muss berücksichtigt werden, dass nur ein Theil der Körner sich färbt,

dass sie bezüglich ihrer Grösse sehr differiren, dass sie zu grösseren Tropfen zusammenfliessen und manche derselben aus der Zelle austreten. Aus diesen Gründen ist es mir nicht wahrscheinlich, dass wir berechtigt sind, die nach unseren jetzigen Tinctio-Methoden darstellbaren Körner als die einzigen „bioblastischen“ Elemente der Zelle zu bezeichnen. Die Existenz zahlreicher nicht gefärbter Körner zwischen den gefärbten würde bei einer solchen Auffassung unberücksichtigt bleiben. Dieselbe beweist, dass die gefärbten Granula nur einen Theil der körnigen Structur-Elemente der Zellen — der Plasmosomen — darstellen, und zwar wahrscheinlich solche, welche bereits eine Umwandlung erfahren haben. Uebrigens bemerkt schon Altmann S. 120 „Es ist fraglich, ob es mir gelungen ist, irgendwo schon das primäre Granulum in einer Zellengattung durch Fuchsin darzustellen und ob nicht sämtliche sichtbar gemachten fuchsinophilen Granula bereits einem weiteren Wachstums- und Umwandlungsstadium angehören“. Dass viele Granula die gleiche Anordnung in dem Cytoplasma darbieten, wie zweifellose Structur-Bestandtheile der Zelle, so insbesondere verschiedene Formen der acidophilen, wurde oben vielfach hervorgehoben. Es dürfte sich empfehlen, wie ich in der Einleitung vorgeschlagen habe, die körnigen Structur-Elemente als Plasmosomen, die körnigen Stoffwechselproducte als „Granula“ zu bezeichnen. Eine solche Unterscheidung dünkt mir um so mehr geboten, als es Plasmosomen giebt, welche der Nutrition oder anderen Functionen dienen. Dass die Granula durch Umwandlung aus Plasmosomen hervorgehen können, dafür sind oben bedeutungsvolle That-sachen beigebracht worden, und sollen deren noch mehrere beigebracht werden. Selbstverständlich soll damit nicht gelehnet werden, dass es ausser körnigen tropfenförmige und flüssige, zur Ausscheidung, Aufspeicherung und weiterer Umwandlung bestimmte Stoffwechsel-Producte gibt. Ob und inwieweit diese durch Zusammenfliessen und Auflösung körniger Granula entstehen, darüber müssen wir von weiteren Untersuchungen Aufschluss erwarten.
