

V.

Ueber Granula-Färbung lebender und über- lebender Gewebe

von
 Prof. Dr. Julius Arnold
 in Heidelberg.
 Hierzu Tafel II.

Durch die Untersuchungen der letzten Jahrzehnte sind unsere Erfahrungen über das Vorkommen der sogenannten Granula und ihr wechselndes Verhalten verschiedenen Farbstoffen gegenüber in erfreulicher Weise bereichert worden. Nicht in gleichem Masse wurden die Kenntnisse über deren morphologisches Wesen und biologische Bedeutung gefördert. Vielmehr gehen die Anschauungen über die Entstehungsweise der Granula, deren Beziehung zu den Structur-Elementen der Zellen und die Rolle, welche ihnen in functioneller Hinsicht zukommt, weit auseinander. Die seiner Zeit sehr verbreitete Annahme, dass alle Granula von aussen aufgenommene Gebilde seien, hat allerdings sehr an Wahrscheinlichkeit eingebüßt, seitdem für viele der Nachweis geführt werden konnte, dass sie zu Structur-Elementen der Zellen in Beziehung stehen, durch Zwischenglieder verbunden und zu fädigen Gebilden aneinander gereiht sein können, somit wohl als Structur-Bestandtheile der Zellen angesehen werden dürfen¹⁾). Der extracelluläre Ursprung der Granula dünkt mir aber noch weniger annehmbar, seitdem Dank der Beobachtung am lebenden und überlebenden Object der Nachweis geführt ist, dass die Granula in den Leukocyten intracellulär, und zwar wahrscheinlich durch Umwandlung von Plasmosomen ent-

¹⁾ J. Arnold, über die feinere Structur der hämoglobinhalftigen und hämoglobinlosen Knochenmarkzellen. Dieses Archiv, Bd. 144, 1896; zur Structur und Architectur der Zellen, Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 52, I—III, 1898; kritische Bemerkungen über Flemming's Fadengerüstlehre. Anatom. Anzeiger, Bd. VIII. 1897/98.

Fig. 1.

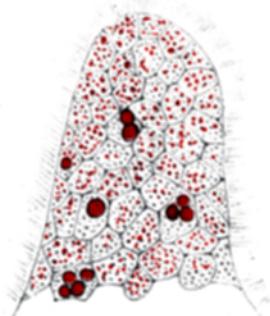


Fig. 2.

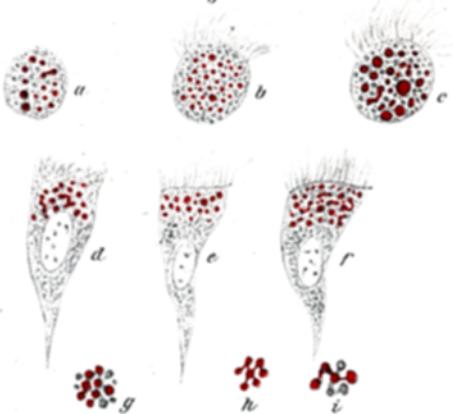


Fig. 3.

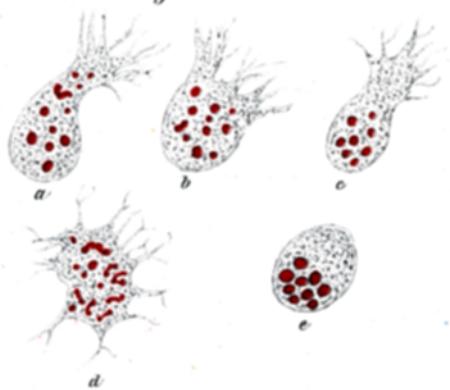


Fig. 4.



Fig. 5.

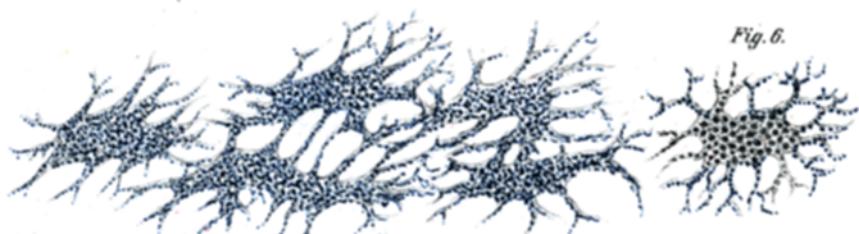
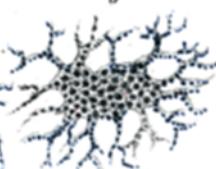


Fig. 6.



stehen¹⁾). Mit Rücksicht auf derartige Wahrnehmungen hielt ich auch die Vermuthung für berechtigt, dass viele Granula umgewandelte Plasmosomen seien, und als morphologische Bilder gewisser Functions-Zustände der letzteren gedeutet werden dürfen.

Um über das Vorkommen und die Beziehung der Granula zu den Structur-Elementen der Zelle, ihr Verhalten Farbstoffen gegenüber, deren Entstehungsweise und weitere Geschicke am lebenden und überlebenden Object ausgedehntere Erfahrungen zu sammeln und auf diesem Wege zur Lösung der oben angedeuteten bedeutungsvollen Fragen beizutragen, stellte ich Versuche an der Zunge, der Schwimmhaut und dem Mesenterium des Frosches, namentlich unter Anwendung von Neutralroth und Methylenblau an.

Den Schwerpunkt der Beobachtungen, über welche in den folgenden Zeilen berichtet werden soll, erblicke ich darin, dass am lebenden Object das Verhalten der Granula vor der Einwirkung der Farbstoffe, sowie das Auftreten der ersten Färbe-Erscheinungen und deren weiterer Verlauf in verschiedenen Phasen unmittelbar verfolgt werden kann.

Ausserdem wurden aber Beobachtungen an überlebenden Geweben angestellt, indem ich kleine Stückchen dieser sofort in Farbstoff-Lösungen einlegte und nach Minuten bzw. stundenlanger Einwirkung einer Untersuchung unterzog; ein Verfahren, das auch schon von Anderen befolgt worden ist.

Bei der ersten Versuchsreihe verwandte ich Neutralroth in Substanz oder gesättigte Lösungen in 0,75—1 pCt. Kochsalz, ferner Methylenblau in Substanz und als Mischung von $\frac{1}{2}$ —1 pCt. des Farbstoffes gleichfalls in Kochsalz-Lösungen von der angegebenen Concentration.

Ausser dem zur vitalen Injection bestimmten Methylenblau (Ehrlich) bediente ich mich eines von Merck in Darmstadt bezogenen, um Vergleiche zwischen den Wirkungen beider unter sich und mit dem Neutralroth anstellen zu können, das schon wegen seiner geringeren Löslichkeit indifferenter sich zu verhalten schien. Die beiden Methylenblau-Sorten sind in ihrem

¹⁾ J. Arnold, über Granulafärbung lebender und überlebender Leukozyten, dies. Arch. Bd. 157, 1899. Weitere Beobachtungen über „vital“ Granulafärbung; Anatom. Anzeiger. 1899.

Verhalten bei localer Anwendung nicht so different, wie ich erwartet hatte. Zur Injection in den Lymphsack scheint mir allerdings das Ehrlich'sche geeigneter. Bei den Untersuchungen an überlebenden Geweben kamen nur Lösungen dieser Farbstoffe in der angegebenen Zusammensetzung zur Anwendung.

I. Versuche an der lebenden Froschzunge.

A) Neutralroth.

1. Impfung mit Farbstoff in Substanz.

An der papillentragenden Fläche wurde in die Zungen-Schleimhaut, indem diese in Form einer Falte aufgehoben ward, eine feine, mit Farbstoffkörnchen bestäubte Nadel eingestochen. Es genügt aber auch eine einfache Bestäubung der Zungen-Oberfläche mit einem möglichst kleinen Farbstoff-Partikelchen.

Sofort nach der Berührung des Farbstoffs mit der Zungen-Oberfläche färben sich die Epithelien diffus rothbraun. Wimperbewegung und Circulation bleiben vollständig erhalten; ja, die erstere ist so lebhaft, dass man nur an kleinen, abgetragenen Stückchen von deren Vorhandensein sich überzeugen kann. Zehn bis fünfzehn Minuten nach Beginn des Versuches kommen in den Epithelien, welche schon vor der Einwirkung des Farbstoffes Körner enthielten, rothe Granula zum Vorschein; sie sind deutlicher in den schwach rothgefärbten oder nicht gefärbten Epithelien, als in den diffus tingirten. Gefärbte Kerne werden nur vereinzelt, vielleicht in geschädigten Zellen beobachtet.

Im weiteren Verlauf des Versuches nehmen die rothen Granula in den Epithelien zu; die diffuse Färbung der Zellen verschwindet allmählich, und es treten an ihrer Stelle zahlreiche rothe Granula auf (Tafel II, Fig. 1). In grösserer Entfernung von der Impfstelle bleibt eine diffuse Färbung überhaupt aus, wohl aber kommen mehr oder weniger zahlreiche Granula in den Zellen zum Vorschein.

Innerhalb der ersten 24 Stunden nimmt die Zahl der Granula zu; auch in grösserer Entfernung von der Impfstelle werden granulahaltige Zellen getroffen. Besonders zahlreich sind die Granula an der Stelle mancher Papillen, vorausgesetzt, dass die Circulation gut erhalten ist.

Die Granula zeigen wechselnde Grösse und Farben-Intensität;

es fehlt nicht an Uebergängen von intensiv und schwach gefärbten Granula zu ungefärbten Körnern. Auch grössere Tropfen kommen vor, welche durch Confluenz gefärbter Granula entstanden zu sein scheinen und zum Theil dem Gehalt der Zellen an Schleim entsprechen mögen (Fig. 1).

2. Betupfen der Zunge mit Farbstoff-Lösungen ergiebt ganz ähnliche Resultate. Auch bei dieser Versuchsanordnung färben sich viele Zellen diffus, namentlich an der Stelle der Papillen, bei erhaltener, sehr lebhafter Bewegung der Cilien. Sehr bald treten rothe Granula in ungefärbten und gefärbten Zellen auf. Nach einiger Zeit verschwindet die diffuse Färbung, um bei neuer Farbstoff-Zufuhr wiederzukehren.

In den Leukocyten werden schon nach wenigen Minuten rothe Granula sichtbar; die Bilder stimmen ganz mit denjenigen überein, welche ich an solchen Zellformen erhielt, wenn sie in Hollunder-Plättchen eingewandert waren¹⁾. Nimmt mit der Dauer des Versuchs die Zahl der Leukocyten in der Froschzunge zu, so enthalten sehr viele derselben grössere und kleinere Granula. (Fig. 3). Auch die in der Tiefe gelegenen Mastzellen und einige Bindegewebszellen führen rothe Granula.

3. Bei der Einfuhr körnigen Neutralroths in den Lymphsack finden sich nach 24 Stunden zahlreiche gefärbte Granula in den Epithelien, namentlich mancher Papillen, ferner in Mastzellen und Bindegewebszellen, aber spärlicher, als bei der ersten Versuchs-Anordnung. Diffuse Färbungen der Epithelzellen habe ich unter solchen Verhältnissen nicht beobachtet.

B) Methylenblau.

1. Bei Impfung der Froschzunge oder Bestäubung derselben mit Methylenblau in Substanz tingiren sich sofort einzelne Zellen intensiv, aber diffus blau, während die meisten Zellen, ebenso deren Kerne, ungefärbt bleiben. Nach 20 Minuten treten in ungefärbten, zuweilen aber auch in hellblau gefärbten Zellen blaue Granula auf, allerdings spärlicher, als bei den Versuchen mit Neutralroth. Nach und nach nimmt die Zahl der blauen Granula namentlich an der Stelle derjenigen Papillen, in denen die Circulation gut erhalten ist, zu.

¹⁾ J. Arnold, Ueber Granulafärbung lebender und überlebender Leukozyten. Dieses Archiv, Bd. 157, 1899.

Nach 24 Stunden hat die Zahl der intensiv gefärbten Zellen abgenommen, dagegen finden sich mehr lichtblau tingirte Tropfen. Wimperbewegungen waren auch an solchen Zellen, welche Granula führten, noch vorhanden.

Bläue Granula führende Leukocyten werden schon sehr frühzeitig getroffen; auch sie nehmen mit der Dauer des Versuches an Zahl zu. Sind die Zellen sehr stark mit blauen Granula erfüllt, so lassen sie sich zuweilen von den gleichfalls gefärbten Mastzellen schwer unterscheiden.

Sehr häufig sind auch die Nervenfasern, insbesondere die zu den Papillen verlaufenden, bis zu ihrem Eintritt in diese blau tingirt.

2. Beim Betupfen der Zungen-Schleimhaut mit Farbstoff-Lösungen ist die oben erwähnte, diffuse Färbung gewisser Zellen eine weniger intensive, das Verhalten der Granula im Wesentlichen dasselbe.

3. Führt man Methylenblau in Substanz in den Lymphsack ein, so fehlt die diffuse Färbung der Zellen; dagegen sind zahlreiche Granula, namentlich an der Stelle der Zungenpapillen, vorhanden; auch einzelne Mastzellen erscheinen gefärbt.

Die mitgetheilten Beobachtungen beziehen sich ausschliesslich auf Versuche, welche mit dem Methylenblau-Merck ange stellt wurden. Bei der Bestäubung der Froschzunge mit Methylenblau-Ehrlich ergeben sich bezüglich der Granula-Färbung in den Leukocyten und Epithelien im Wesentlichen die gleichen Resultate, der Schleim färbt sich zuerst lichtblau, später intensiver. Einige Male erhielt ich an der lebenden Froschzunge eine sehr schöne Färbung der feineren Nervennetze in den Papillen, welche aber zeitweise wieder verschwand.

Erwähnen muss ich noch, dass man an der lebenden Froschzunge von der Granula-Färbung der Mastzellen sich leicht überzeugen kann, wenn man die Schleimhaut abträgt und den Substanz-Verlust mit Methylenblau-Lösung betupft.

II. Beobachtungen an der überlebenden Froschzunge.

A. Neutralroth.

Legt man kleinste Stückchen der abgetragenen Froschzunge für einige Minuten in Lösungen von Neutralroth, so erscheint

der Wimpersaum an vielen Stellen diffus roth gefärbt, bei gut erhaltener Bewegung der Cilien. Sehr bald treten in gefärbten und ungefärbten Zellen feine, rothe Granula auf. Der Inhalt der Schleimzellen färbt sich gleichfalls intensiv. Die Zahl der rothen Granula nimmt in der nächsten Zeit zu. Dazwischen finden sich Vacuolen, welche theils mit gefärbtem, theils mit ungefärbtem Inhalt gefüllt sind. Abgestossene oder sonst wie geschädigte Zellen zeigen häufig eine Tinction der Kerne. Die Zahl der Granula nimmt in den nächsten Stunden noch zu. Nach 24 Stunden sind viele Kerne diffus gefärbt. An manchen Stellen, zum Theil an isolirten Zellen, bewegen sich die Cilien noch lebhaft, und zwar auch an den rothen Granula führenden. An isolirten Zellen kann man nachweisen, dass die Granula theils in dem basalen, theils in dem oberen Abschnitt gelegen sind, wenn diese nicht mit solchen vollständig sich erfüllt zeigen.

Sehr interessant ist auch das Studium der zerfallenden Zellen am lebenden und überlebenden Object, an denen man neben stark und schwach gefärbten Granula ungefärbte nachweisen, und von deren kettenartiger Aneinanderreihung und Verbindung durch Zwischenglieder sich überzeugen kann (Fig. 2).

B. Methylenblau.

Nach 20 Minuten trifft man neben ungefärbten Zellen solche, welche diffus und intensiv tingirt sind, daneben lichtblaue oder nicht gefärbte Zellen mit dunkelen Kernen. Eine distincte Granula-Färbung ist nur an vereinzelten Stellen des Epithel-Ueberzuges vorhanden, während die Leukocyten zahlreiche Granula enthalten. Schon nach einer Stande beginnt die Bewegung der Cilien langsamer zu werden; die blauen Granula in den Epithelien werden etwas zahlreicher. Später, d. h. nach 24 Stunden, erscheint die Zahl dieser eher wieder vermindert zu sein, die diffuse Färbung der Zellen und Kerne dagegen zuzunehmen.

Es wurde oben erwähnt, dass man an der lebenden Froschzunge Granula-Färbung der Mastzellen demonstrieren kann. Besonders instructive Bilder erhält man, wenn, der Vorschrift Lavdowsky's¹⁾ gemäss, von der ausgespannten Froschzunge

¹⁾ Lavdowsky, Zur Methodik der Methylenblau-Färbung und über einige neue Erscheinungen des Chemotropismus. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskop. Bd. XII, 1895.

kleine Partikelchen abgetragen und mit Methylenblau-Lösung befeuchtet werden. Die Mastzellen erscheinen dann mit blauen Granula in wechselnder Zahl und von verschiedener Farben-Intensität erfüllt (Fig. 4). Die Körner sind nur zum Theil rund, zum Theil länglich oder eckig, sehr oft durch gefärbte oder ungefärbte Zwischenglieder verbunden, so dass eine mehr netzförmige Anordnung zu Stande kommt (Fig. 4). Viele der Zellen haben einen blauen, andere einen mehr rothen Farbenton angenommen; wovon das Auftreten dieser Metachromasie abhängt, kann ich nicht entscheiden, ebenso wenig, ob die rothen Höfe in der Umgebung als Producte der Secretion, wie Lavdowsky¹⁾ und Colleya²⁾ meinen, gedeutet werden dürfen. Jedenfalls sind diese Erscheinungen sehr bemerkenswerth.

Mit Neutralroth wurden bisher an der Froschzunge nur von wenigen Forschern Versuche angestellt. J. Mayer³⁾ setzte die Thiere in eine solche Farbstoff-Lösung und konnte dann rothe Granula in dem Epithel der sog. Geschmacks-Papillen wahrnehmen. Galeotti⁴⁾ beobachtete an den Wimper-Epithelien des Frosches nach Einwirkung einer 1 procent. Neutral-Lösung auf abgetragene Schleimhaut-Stückchen, dass die Cilien-Bewegung noch längere Zeit andauerte und nach kurzer Zeit eine Färbung der Granula auftrat. Das Cytoplasma der Schleimzellen nimmt nach Galeotti einen rothvioletten Ton an.

III. Versuche an der lebenden Schwimmhaut des Frosches.

A) Neutralroth.

1. Bestäuben der Schwimmhaut mit Neutralroth in Substanz. Sobald die Körnchen sich zu lösen beginnen, entsteht eine diffuse Färbung in ihrer Umgebung. Nach zehn Minuten nehmen die Kerne mancher Zellen, auch an Stellen, an welchen eine diffuse Färbung nicht vorhanden ist, eine mehr

¹⁾ Laodowsky, a. a. O.

²⁾ Colleya, Schwalbe's Jahresbericht f. Anatomie 1896.

³⁾ J. Mayer, Ueber die Wirkung der Farbstoffe Violett-B. u. Neutralroth, Sitzungsber. d. deutschen naturwissenschaftl. med. Vereins f. Böhmen, Lotos 1896, No. 2.

⁴⁾ Galeotti, Richerche sulla colorabilità delle cellule vivente. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskop. Bd. XI, 1894.

oder weniger intensive Tinction an; diese ist aber keine gleichmässige, weil die Kernsubstanz von intensiver gefärbten Körnern und Fäden durchsetzt erscheint; später kommen rothe Granula in den Epithelien, sowie in den Leukocyten und einzelnen Bindegewebzellen zur Wahrnehmung.

2. Taucht man die Pfoten eines Frosches in eine Neutralroth-Lösung, so tritt nach einiger Zeit — 24—48 Stunden — eine vollständige Entfärbung der Lösung ein. Die Circulation bleibt wenigstens vierundzwanzig Stunden lang noch ziemlich gut erhalten. Innerhalb dieser Frist trifft man in den tieferen und mittleren Schichten der Epithelhaut Zellen mit gefärbten Kernen in wechselnder Zahl, ausserdem reichliche Granula in gefärbten und ungefärbten Zellen. Die Granula liegen bald in der Umgebung der ungefärbten Kerne, bald sind sie mehr gleichmässig über die Zellen vertheilt. Die oberflächlichst gelegenen Zellen zeigen gewöhnlich keinerlei Färbung. Auch die Leukocyten enthalten Granula, ebenso einzelne Bindegewebzellen, namentlich die an der Basis der Drüsen gelegenen, deren Epithelien und Lumina mit gefärbten Granula gefüllt sind.

B) Methylenblau.

Legt man ein kleines Körnchen Methylenblau auf die Schwimmhaut, so färben sich einzelne Kerne und Zellen diffus blau; bei anderen Zellen erfolgt eine blaue Färbung nur der Kerne, in denen blaue Körner und Fäden enthalten sind. Auch vereinzelte blaue Granula in gefärbten und ungefärbten Zellen kommen zum Vorschein.

2) Beim Eintauchen der Schwimmhäute in Methylenblau-lösung sind die blauen Granula zahlreicher. Die Zahl der diffus gefärbten Zellen nimmt mit der Dauer des Versuches zu, die der blauen Granula dagegen, wie mir schien, ab. Die Flüssigkeit wird auch hier mit der Zeit entfärbt.

3) Aehnliche Befunde erhält man, wenn das Methylenblau in Substanz in den Lymphsack eingeführt wurde; ausser blau gefärbten Kernen trifft man blaue Granula in den Epithelien der mittleren und untersten Schichten, eben solche in den Leukocyten, Bindegewebzellen, und in den Drüsenepithelien, sowie stellenweise blau gefärbte Nervenfasern.

IV. Beobachtung an der überlebenden Froschhaut.

A) Neutralroth.

Hat man kleine Hautstückchen in Farbstofflösungen von der angegebenen Zusammensetzung eingetaucht, so zeigen manche Kerne nach sieben bis zehn Minuten, während die meisten Kerne und Zellen angefärbt bleiben, eine theils verwaschene, theils mehr distinete Färbung. Die Zahl dieser Kerne hat nach einer Stunde zugenommen; es sind aber auch einzelne, allerdings schwach tingirte Granula vorhanden. Innerhalb der nächsten Stunden ist eine Zunahme der Granula und der Intensität ihrer Färbung festzustellen. Nach vierundzwanzig Stunden finden sich zahlreiche rothe Granula führende Zellen. Die obersten Zellenschichten zeigen gewöhnlich keine Färbung; am meisten Granula enthalten die Zellen der tieferen Schichten. Wenn man die ganze Epithelschicht ablöst, kann man sich ohne Schwierigkeit von der Richtigkeit dieser Angabe überzeugen. An solchen Objecten ist es ferner sehr leicht, den Nachweis zu führen, dass nicht nur die Zahl der Granula und ihre Farben-Intensität, sondern auch ihre Form eine sehr wechselnde ist, indem sie bald rund, bald mehr eckig und netzförmig angeordnet erscheinen. So stimmen diese Befunde vollständig mit den an Jodkali-Präparaten erhobenen überein.¹⁾ Hinzufügen muss ich noch, dass an solchen Objecten zuweilen auch die zackigen Ausläufer der Zellen und die zwischen den letzteren gelegenen Granula eine rothe Farbe annehmen.

B) Methylenblau.

Zehn Minuten, nachdem man Hautstückchen in solche Farbstofflösungen eingelegt hat, zeigen die Kerne theils diffuse, theils mehr distinete Färbung; im letzteren Falle liegen die Körner und Fäden mehr in der Peripherie der Kerne. Nach 1—2 Stunden hat die Zahl solcher Kerne und diffus gefärbter Zellen zugenommen; es sind aber auch Granula ziemlich reichlich in ungefärbten Zellen aufgetreten. Innerhalb der ersten achtzehn bis vierundzwanzig Stunden scheint noch eine Zunahme, später aber wieder eine Abnahme der blauen Granula zu erfolgen.

¹⁾ J. Arnold, zur Structur und Architectur der Zellen, Arch. f. mikroskop. Anatomie. Bd. 52, I—III, 1898.

J. Mayer (a. a. O.) erwähnt den Befund rother Granula in den Leydig'schen Zellen des Hautepithels. Auf die Granula-Färbungen, wie sie bei der Anwendung von Methylenblau von Arnstein, Schultze, Teichmann, Mitrophanow, Kühne, Apathy, Galeotti u. A. beschrieben sind, will ich an dieser Stelle nicht zurückkommen. Es sei deshalb nur erwähnt, dass Arnstein¹⁾ in der Nickhaut, Schultze²⁾ und Mitrophanow³⁾ im Hautepithel und den Hautdrüsen blaue Granula beobachtet haben.

V. Versuche am lebenden Mesenterium.

A. Neutralroth.

Das Mesenterium wird in der bekannten Weise am besten auf einem Thoma'schen Objectenträger ausgespannt, und der Darm mit Nadeln befestigt. Man bestäubt dann das Mesenterium mit einem kleinen Farbstoffkorn oder begiesst es wiederholt mit Farbstoff-Lösung. Nachdem das Präparat mit einem Deckglas versehen, wird das Mesenterium an der unteren Fläche des letzteren aufgehängt, indem man an der unteren Fläche des Präparates Luft einblässt. Zunächst färben sich die Granula der im Gewebe und in den Lymphgefäßen gelegenen Leukocyten; aber auch manche der in den Blutgefäßen circulirenden weissen Blutkörper enthalten rothe Granula. Die Circulation kann bei richtiger Ausführung des Versuches sehr lange Zeit vollständig erhalten bleiben. Sehr bald nehmen die Zellen in der Wand der Lymph- und Blutgefäße, sowie in deren Umgebung einen röthlichen Ton an, und es treten rothe Granula auf. Aber auch an anderen Stellen trifft man Zellen, welche zahlreiche rothe Granula aufweisen, vielleicht Mastzellen.

D. Methylenblau.

Das Verfahren und die Befunde sind bei der Anwendung dieses Farbstoffes im Wesentlichen dieselben, abgesehen von der Färbung der Nerven, welche bald in grösserer, bald in geringerer

¹⁾ Arnstein, Die Methylenblau-Färbung als histologische Methode. Anatom. Anzeiger Bd. 2, 1887.

²⁾ Schultze, Die vitale Reaction der Zellgranula, daselbst.

³⁾ Mitrophanow, Ueber Zellen-Granulationen. Biolog. Centralbl. Bd. IX 1889/99.

Ausdehnung erfolgt. Sehr oft trat bei diesen Versuchen in der ersten Zeit eine diffuse Färbung des Gewebes ein, welche aber später verschwand, und von einem Auftreten blauer Granula abgelöst wurde. In der Umgebung der Blut- und Lymphgefässe wurden nicht selten die granulirten Zellen so zahlreich, dass es den Eindruck machte, als wären ganze Saftcanal-Systeme mit Granulis erfüllt, insbesondere dann, wenn auch die Ausläufer solche Granula enthielten (Fig. 5). Die Fortsätze der Pigmentzellen enthielten gleichfalls blaue Granula (Fig. 6). Manche derselben schienen in den Gefäßwänden zu liegen; auch in den innerhalb der Gefässe kreisenden rothen Blutkörpern konnten blaue Granula nachgewiesen werden. Alle diese Zeichnungen sind insofern einem Wechsel unterworfen, als sie nach einiger Zeit wieder verschwinden und erst bei neuer Farbstoff-Zufuhr wiederkehren, vorausgesetzt, dass die Circulation noch gut erhalten ist. Dasselbe gilt von den Neutralroth-Versuchen.

VI. Beobachtungen am überlebenden Mesenterium.

A. Neutralroth.

Eine halbe Stunde nach Einlegen des Mesenteriums in die Farbstoff-Lösung zeigen viele Bindegewebs-Zellen, bei ungefärbter Intercellular-Substanz, eine schwach rothe Tinction. Nach einigen Stunden sind die Zellen etwas intensiver gefärbt, lassen aber keine deutliche Granulirung erkennen, ausgenommen einzelne Zellen, welche vermutlich als Mastzellen angesprochen werden müssen.

B. Methylenblau.

Ausser der Färbung der Nerven zeigen die Bindegewebs-Zellen eine diffuse Färbung der Kerne und Substanz, welche nach fünf bis sechs Stunden intensiver, aber nicht distinct wird, von der Färbung der Granula einzelner Mastzellen abgesehen.

Von den Beobachtungen Anderer ist zu erwähnen, dass Galeotti (a. a. O.) bei Injection von Neutralroth in die Bauchhöhle im Mesenterium rothe Granula wahrgenommen hat. Bei der Injection von Methylenblau fand er azurgefärbte Kerne und ovale Gruppen von Granula von grüner Farbe, einzelne derselben ähnlich den Pigmentzellen angeordnet.

Welche der geschilderten Erscheinungen sind als vitale, welche als postmortale anzusprechen? Die Beantwortung dieser Frage ist deshalb so schwierig, weil wir für das Leben der meisten Zellen morphologische Kennzeichen nicht besitzen. Es ist schon lange bekannt, dass die Gewebe selbst nach ihrer Ablösung vom Gesamtorganismus noch lange und verschieden lange fortleben, in einem so zu sagen überlebenden Zustande verharren können, während andererseits unter normalen und pathologischen Verhältnissen lebende Gewebe abgestorbene Structur-Bestandtheile einschliessen.

Ein in diesen Beziehungen sehr interessantes Beispiel sind die Wimperzellen. Man wird in gewissem Sinne berechtigt sein, aus der Fortdauer der Cilien-Bewegung zu schliessen, dass sie leben.

Durch die oben berichteten Thatsachen wird die vielfach gemachte Erfahrung bestätigt, dass nach schädigenden Einflüssen und nach der völligen Trennung vom Mutterboden die Wimperbewegung noch mehr oder weniger lange Zeit wahrnehmbar ist. Was das sonstige Verhalten der Wimperzellen gegen die angewandten Farbstoffe anbelangt, so ist zunächst die Beobachtung hervorzuheben, dass bei der Einwirkung des verhältnissmässig indifferenten Neutralroths eine diffuse Färbung vieler Zellen eintritt. Während ein derartiges Verhalten im Allgemeinen, wie ich glaube, mit Recht, im Sinne des Absterbens der Zelle gedeutet wird, ist bei der Beantwortung der oben, betreffs der Vitalität der Zellen, angeregten Frage zu berücksichtigen, dass Wimperbewegungen an solchen Zellen, und zwar in unverminderter Geschwindigkeit andauern, dass die Färbung nach einiger Zeit verschwindet und bei neuer Farbstoffzufuhr wieder zum Vorschein kommt. An überlebenden Objecten habe ich einen solchen Farbenwechsel nicht beobachtet.

Kurze Zeit nach Beginn des Versuches treten an den Epithelien der lebenden Froschzunge an ungefärbten und gefärbten Zellen rothe Granula in wechselnder Zahl und von verschiedener Farben-Intensität auf (Fig. 1). Die Zahl der Granula nimmt in der ersten Zeit zu, sie können aber auch wieder verschwinden und bei erneuter Farbstoffzufuhr wiederkehren, eine Beobachtung, die ich allerdings nur bei lebenden Geweben gemacht habe. Die

grösseren und kleineren Tropfen sind wohl als secernirter Schleim anzusehen (Fig. 1).

Bezüglich der Färbung der Kerne ist bemerkenswerth, dass sich in den ersten Phasen des Versuchs nur einige Kerne färben, während die übrigen ungefärbt bleiben. Ob die ersteren als besondere Formen oder als absterbende oder sonstwie geschädigte Gebilde anzusehen sind, wage ich nicht zu entscheiden.

Dasselbe gilt von den Zellen, welche sich bei der Anwendung von Methylenblau an der lebenden Froschzunge sofort intensiv blau färben; zu bemerken wäre nur, dass manche derselben sich später wieder entfärben, somit vielleicht gleichfalls nicht als abgestorben angesehen werden dürfen. Sonst sind die Befunde bei diesen Präparaten, namentlich wenn Ehrlich's Methylenblau verwendet wurde, im Wesentlichen dieselben, wie bei Neutralroth.

Betreffs der Granulafärbung an der lebenden Haut ist ausser ihrem constanten Vorkommen bei jeder Versuchsanordnung ihre Vertheilung auf die Zellformen der verschiedenen Schichten bemerkenswerth. Wie die Färbung der Kerne und Zellen zu deuten ist, muss ich unentschieden lassen und mich damit begnügen, hervorzuheben, dass die Kerne und Zellen der obersten Schichte immer ungefärbt erscheinen, allerdings auch am überlebenden Object.

Bei den Versuchen am lebenden Mesenterium ist besonders interessant, dass namentlich am Methylenblau-Präparat neben den Lymph- und Blutgefassen Bilder zusammenhängender, mit Granula erfüllter Bindegewebs-Zellen zu Stande kommen (Fig. 5).

Welches sind nun die Schlüsse, welche aus den mitgetheilten Beobachtungen bezüglich der Vorgänge der Granulafärbung gezogen werden dürfen?

Wie ich¹⁾ in einer früheren Arbeit ausgeführt habe, wurden eine Zeit lang die Granula als von aussen aufgenommene Farbstoff-Körner oder gefärbte Gewebs-Partikelchen angesehen. Die geschilderten Versuche am lebenden Object sind insfern sehr belehrend, weil man alle Phasen der Färbung an den intracellulär gelegenen Granula wahrnehmen kann, und weil aus ihnen hervorgeht, dass der Vorgang der Färbung der gleiche ist, ob man den Farb-

¹⁾ Ueber Granula-Färbung u. s. w. Dieses Archiv, Bd. 157.

Archiv f. pathol. Anat. Bd. 159. Hft. 1.

stoff in Substanz oder in Lösung anwendet. Zuerst erscheint das Korn ungefärbt, dann beginnt es sich zu färben, bis es endlich eine intensive Färbung angenommen hat. Solchen Beobachtungen gegenüber darf die oben angeführte Ansicht über die extracelluläre Entstehung der Granula als unhaltbar bezeichnet werden. Die Granula müssen diesen Wahrnehmungen zufolge Bestandtheile der Zelle — Secretions-Producte oder umgewandelte Structur-Elemente derselben — sein.

Sehr interessant ist das Studium der zerfallenden Zellen, sei es am lebenden, sei es am überlebenden Object, weil man an ihnen über die Beziehung der Granula zu den übrigen Zellbestandtheilen sich unterrichten kann. Es zeigt sich dann, wie die gefärbten Granula in der Zelle gelagert, dass sie reihenförmig angeordnet und durch Zwischenglieder zu Fäden oder Netzen verbunden sind (Fig. 2, a—f).

Zwischen stärker und schwächer tingirten Granula finden sich ungefärbte Körner, welche mit den ersteren durch ungefärbte, seltener gefärbte Zwischenglieder zusammenhängen (Fig. 2, 9—c). Wimperzellen und Mastzellen sind besonders geeignet, um derartige feinere Structur-Verhältnisse festzustellen. Ich darf nicht unterlassen, hervorzuheben, dass diese Befunde mit den an den Leukocyten geschilderten (a, a. O.) vollkommen übereinstimmen; auch für sie konnte ja nachgewiesen werden, dass die gefärbten Granula unter sich und mit ungefärbten zusammenhängen. Sie sind ferner als eine sehr erfreuliche Bestätigung meiner früheren Mittheilungen (a. a. O.) über Structur und Architectur der Wimperzellen, Hautepithelien, Bindegewebs-Zellen u. s. w. anzusehen.

Wer sich der leichten Mühe unterziehen will, die oben geschilderten Versuche am lebenden Object und die Beobachtungen am überlebenden Gewebe zu wiederholen, wird gleich mir zu der Ueberzeugung gelangen, dass die Plasmosomen und Granula weder Fällungs-Producte (A. Fischer) noch Quellungs-Producte (W. Flemming), sondern wichtige Structur-Bestandtheile der Zelle sind. — Ich glaube eine Wiederholung der Versuche, insbesondere am lebenden Object, Anderen um so mehr empfehlen zu sollen, als ihre Anordnung eine sehr einfache, ihr Ergebniss ein sicheres ist. In Anbetracht

dessen darf ich vielleicht hoffen, dass Manche, ehe sie Kritik an diesen Mittheilungen üben, zu einer objectiven Control-Untersuchung sich entschliessen.

Bei der Beantwortung der Frage, ob die Granula Structur-Bestandtheile der Zelle oder nur körnige Secretions-Producte sind, muss vor Allem berücksichtigt werden, dass die Granula nicht nur unter sich zusammenhängen, sondern mit zweifellosen Structur-Elementen, z. B. Fäden, derart in Beziehung stehen, dass sie in letztere eingebettet erscheinen, ferner, dass sich Uebergänge von gefärbten zu ungefärbten, von grösseren zu den kleinsten Gebilden, den Plasmosomen, finden. Die geschilderten Thatsachen bestärken mich in der früher schon ausgesprochenen Meinung, dass viele Granula umgewandelte Plasmosomen sind. Dass derartige Metamorphosen zu verschiedenen funktionellen Vorgängen, z. B. Stoffwechsel-Processen, in Beziehung stehen, ist sehr wahrscheinlich. Das Vorkommen von Granula, welche zu Structur-Elementen der Zelle nicht in Beziehung stehen, soll damit nicht geleugnet werden; allerdings dürfte nicht ohne Weiteres aus einem solchem Befunde geschlossen werden, dass eine derartige Beziehung niemals bestanden habe, weil die Möglichkeit einer früher oder später erfolgenden Abschnürung der Granula von den Structur-Bestandtheilen der Zelle, bezw. einer Ausscheidung aus diesen nicht ausser Acht zu lassen ist, sowie ja eine Ausstossung der Granula aus dem Cytoplasma der Zellen als sehr wahrscheinlich angenommen werden darf.

Ob die am lebenden Object geschilderte Granula-Färbung eine vitale Erscheinung ist, lässt sich aus den oben angedeuteten Gründen schwer entscheiden. Dass sie unter solchen Verhältnissen zu Stande kommt, ist kein zwingender Beweis. Man könnte immerhin einwenden, dass es abgestorbene Theile einer lebenden Zelle sind, die sich färben. Selbst der Befund von Ciliens-Bewegung an Zellen, welche mit Granula dicht gefüllt sind, sowie der oben erwähnte Farbenwechsel der letzteren dürfen nicht als zwingende Beweise für den vitalen Charakter der geschilderten Vorgänge angesehen werden. Ob eine solche skeptische Betrachtung nicht zu weit geht, darüber müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Welches aber auch die Ergebnisse dieser

sein mögen, daran kann nicht gezweifelt werden, dass die oben bezüglich der sog. Granula mitgetheilten Thatsachen für unsere Erkenntniss der Structur und Architectur der Zellen, sowie der biologischen Processe in ihnen als bedeutungsvoll anerkannt werden müssen.

Figuren-Erklärung zu Tafel II.

- Fig. 1. Lebende Froschzunge, mit Neutralroth betupft. Gefärbte Granula in den Epithelien; die grösseren Kugeln entsprechen Schleimtropfen.
 - Fig. 2. Isolirte Wimperzellen von der lebenden, mit Neutralroth geimpften Froschzunge, von oben und der Seite gesehen a—f; g—h zerfallendes Cytoplasma; gefärbte Granula und ungefärbte Körper hängen durch tingirte und nicht tingirte Zwischenglieder zusammen.
 - Fig. 3. Leukocyten aus einer mit Neutralroth geimpften Froschzunge und aus dem Mesenterium, durch Neutralroth gefärbt.
 - Fig. 4. Mastzellen aus der überlebenden Froschzunge, durch Methylenblau gefärbt.
 - Fig. 5. Systeme von Bindegewebs-Zellen aus der Scheide eines Blutgefäßes; lebendes, mit Methylenblau betupftes, Mesenterium des Frosches.
 - Fig. 6. Dasselbe Object. Pigmentzelle, deren Ausläufer blaue Granula führen, während andere, sowie der Körper der Zelle Pigmentkörper enthalten.
-