

Archiv
für
pathologische Anatomie und Physiologie
und für
klinische Medicin.

Bd. 169. (Sechzehnte Folge Bd. IX.) Hft. 1.

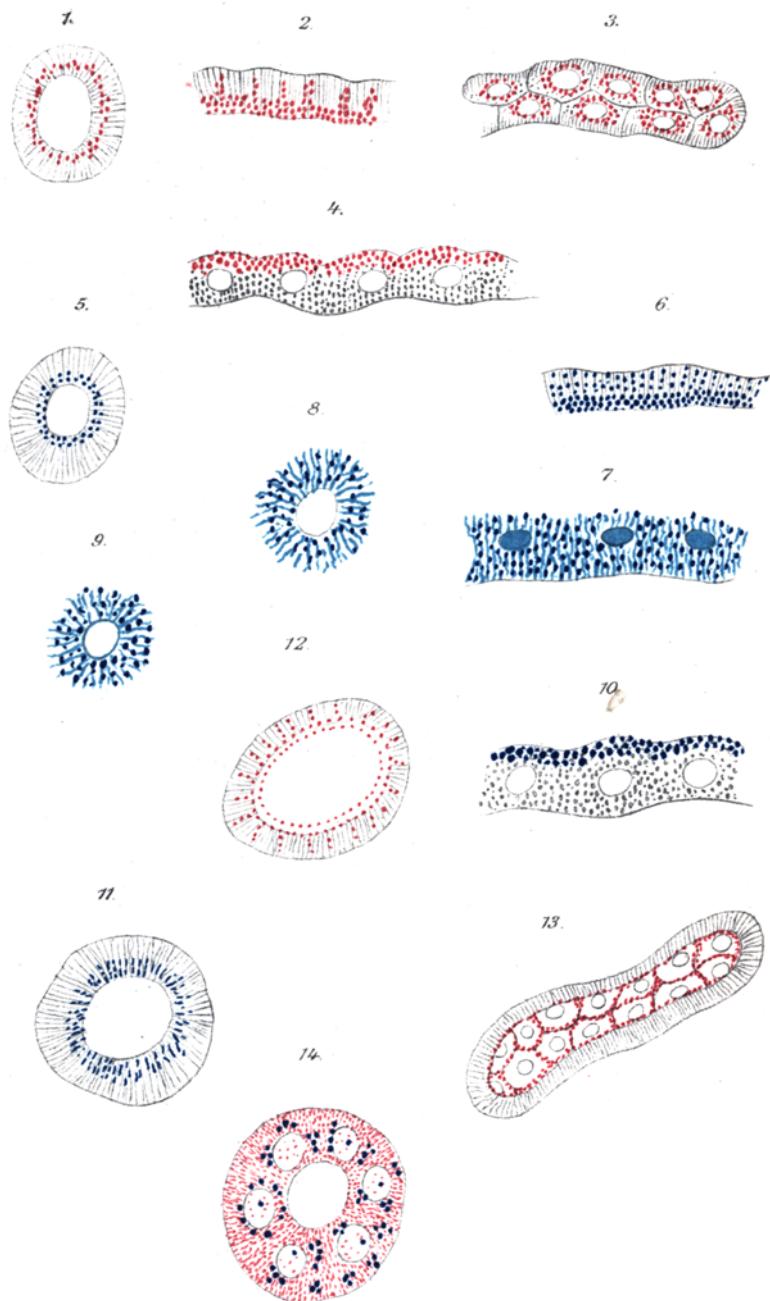
I.

Ueber Plasmosomen und Granula der Nieren-
Epithelien.

Von
Prof. Dr. Julius Arnold in Heidelberg.

(Hierzu Taf. I.)

Mit der Entdeckung der Stäbchen durch R. Heidenhain beginnt für die Lehre von der Structur der Epithelien der Niere, der gewundenen Canälchen insbesondere, eine neue Epoche. Während man früher als Constituentien des Epithels eine formlose Grundmasse mit eingebetteten Kernen ansah, hat er zuerst diesen Zellen eine complicirte Organisation zuerkannt und die sogenannte Stäbchen-Structur derselben nachgewiesen. Er beschreibt die Stäbchen als cylindrische, scharf begrenzte Gebilde, deren Substanz bald heller, bald mehr körnig erscheinen und in ihrem äusseren Ende eine stark granulirte und bestimmt configurirte kernähnliche Masse enthalten soll. Allerdings vertreten Boehm, Davidoff und Landauer neuestens die Ansicht, dass die Stäbchen Längsfalten der Zelloberfläche entsprechen, und Disse betrachtet sie als passagere, von den Secretions-Vorgängen abhängige, Gebilde. Während bezüglich der Existenz dieser Stäbchen die meisten Nachuntersuchungen eine Bestätigung der Heidenhain'schen Mittheilungen ergeben haben, ist betreffs ihrer Zusammensetzung seit Altmann ein bemerkenswerther



Wandel der Anschauungen in der Richtung erfolgt, dass ihnen ein granulöser Bau zugeschrieben wird. Ein eingehendes Studium der Literatur lehrt, dass zahlreiche Beobachter über das Vorkommen von Granula berichten: Israel, Zoja, Cesaris-Demel, Schilling, Dannehl, Galeotti, Schmidt, Ribbert, Rothstein, Sauer, Henrik und Nils Sjoebring, Ebner, Trambusti, Théohari, Tribondeau, Rigaud et Policard u. s. w. Die meisten der genannten Autoren verlegen die Granula in die Stäbchen, nur wenige, z. B. Galeotti, zwischen dieselben.

Es kann nicht meine Absicht sein, die Geschichte dieser Frage erschöpfend zu behandeln. Ich muss mich vielmehr damit begnügen, um die obigen Ausführungen zu belegen, auf einige der genannten Arbeiten hinzuweisen. Wie bemerkt, sind namentlich die Mittheilungen Altmann's¹⁾ über die reihenförmige Aufstellung der Granula der Anlass zu einer Revision der Heidenhain'schen Anschauungen über die Zusammensetzung der Stäbchen geworden. So erklärt Rothstein²⁾ diese nur für scheinbare Stäbchen; sie sollen aus Reihen von Körnchen, welche durch Protoplasma-Fäden verbunden seien, bestehen. Dieser Auffassung tritt Sauer³⁾, — ein Schüler R. Heidenhain's —, in vollem Umfange bei. Insbesondere hat er sich auch mittelst Isolirung der Zellbestandtheile von der Richtigkeit der Rothstein'schen Darstellung überzeugt. Bei der Tinction solcher Präparate mit Dahlia färben sich die Granula intensiv blau, während die Fäden heller bleiben. von Ebner⁴⁾ bezeichnet die Structur der Epithelien als eine granuläre. In den Stäbchen liegen Reihen von Körnchen, eingebettet in eine cylindrische Masse, welche die eigentliche Substanz der Stäbchen darstellt. Nach Trambusti⁵⁾ besteht das Protoplasma der Nieren-Epithelien aus einem Netz von Filamenten, welche zum grossen Theil vertical gestellt sind, daher das gestreifte Aussehen namentlich am ba-

¹⁾ Altmann, Elementar-Organismen. 2. Aufl. Leipzig 1896.

²⁾ Rothstein, Zur Kenntniss des Nierenepithels. Biologiska Foerningens Foerhandlingar. Stockholm 1891.

³⁾ Sauer, Neue Untersuchungen über das Nierenepithel. Arch. f. mikroskopische Anatomi. Bd. 46. 1895.

⁴⁾ Ebner, Koelliker's Handb. d. Gewebelehre. 1899.

⁵⁾ Trambusti, Untersuchungen über den Mechanismus der Secretion u. s. w. Centralblatt für allgem. Patholog. Bd. X, 1900.

salen Theil; im übrigen Theil der Zelle sei die Streifung eine weniger deutliche, weil sie durch Körnchen verdeckt werde. Henrik Sjoebring¹⁾ bezeichnet die Stäbchen als Kornfasern und schreibt ihnen eine ovale Anschwellung sowie eine Zusammensetzung aus Reihen feiner, runder Körner und Grundsubstanz zu, eine Anschauung, der Nils Sjoebring²⁾ im Allgemeinen beipflichtet. Théohari³⁾ spricht von einem länglichen Maschen-Netz mit granulärer Structur; in den Knoten des Netzes liegen Granula eingebettet. Rigaud und Policard⁴⁾ heben hervor, dass die Granula in Form von Linien parallel zueinander angeordnet seien. Endlich will ich noch der Darstellung Albrechts⁵⁾ gedenken, welcher bei der Untersuchung des frischen Objectes an der Basis Stäbchen-Structur beobachtete. Er betrachtet den Zell-Inhalt als ein lebendes Flüssigkeits-Gemenge und führt als Beweis eines solchen Aufbaues die Erscheinungen der „tropfigen Entmischung“ an.

Darf somit das Vorkommen von Granula in den Nieren-Epithelen, denjenigen der gewundenen Harnkanälchen insbesondere als gesichert angesehen werden, so erübrigt doch die Lösung einer ganzen Anzahl von Fragen. Welchen Anteil haben die Granula an dem Aufbau dieser Zellen, in welcher Beziehung stehen sie zu den Plasmosomen und insbesondere zu den Stäbchen? Welche funktionelle Bedeutung kommt ihnen zu? In den nachfolgenden Zeilen sollen zunächst die structurellen Verhältnisse eine Erörterung erfahren.

Getreu den früher vertretenen Grundsätzen wurden auch bei diesen Untersuchungen die verschiedensten Methoden in Anwendung gebracht. Ausser der Beobachtung des überlebenden Objects wurden vitale und supravitale Granula-Färbungen, Isolirungen der einzelnen Zellbestandtheile und die Untersuchung

¹⁾ Henrik Ijoebring, Schwalbe's Jahresbericht f. 1900.

²⁾ Nils Sjoebring, Ueber das Formol als Fixirungsflüssigkeit. Anatom. Mittheilungen. 1900.

³⁾ Théohari, Note sur la structure fine etc.; compt. rend. soc. biol. Paris 1900.

⁴⁾ Rigaud et Policard, Not. histolog. sur la sécrétion rénal. Dasselbst 1901.

⁵⁾ Albrecht Eugen, Zur physiologischen und pathologischen Morphologie der Nieren. Verhandl. d. deutsch. patholog. Gesellschaft. 1899.

nach verschiedenen Methoden fixirter und gefärbter Präparate vorgenommen. Je länger ich mit solchen Studien über Zell-Structuren mich befasse, um so mehr befestigt sich in mir die Ueberzeugung, dass nur auf diesem mühevollen Wege des Vergleichs von Ergebnissen, welche nach verschiedenen Methoden gewonnen sind, eine Förderung der oben berührten Fragen zu erhoffen ist.

Vitale und supravitale Granula-Färbung.
Neutralroth,

Supravitale Färbung. Von den Nieren frisch getöteter Thiere (Maus, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Katze, Hund und Ziege) wurden mit dem Doppelmesser feine Schnitte angefertigt und möglichst rasch in eine dünne Neutralroth-Lösung¹⁾ übertragen; auch an feinen Schabseln von Nieren eben getöteter Thiere tritt die Granula-Färbung ein.

Nach 10—15 Minuten kommen in dem gegen das Lumen gelegenen Abschnitt der Zellen roth gefärbte Granula zum Vorschein. Die zuerst schwache Färbung nimmt rasch an Intensität zu. Auf diese Weise entsteht eine sehr zierliche Zeichnung, indem in mehr oder weniger grosser Ausdehnung der gewundenen Harnkanälchen rothe Innensäume auftreten (Taf. I, Figg. 1 u. 2). Später dehnt sich die Granula-Färbung nach aussen hin aus. Von der Fläche gesehen erscheinen dann die Kerne nach allen Richtungen hin von rothen Granula eingesäumt, während in den peripherischen Abschnitten eine Färbung gewöhnlich nicht oder erst später eintritt; die Zellen werden durch helle Linien von einander getrennt (Taf. I, Fig. 3). Waren die Lösungen genügend verdünnt, so bleibt eine Färbung der Kerne längere Zeit (24 Stunden und mehr) aus. Die Granula-Färbung zeigt betreffs ihres Auftretens bemerkenswerthe Verschiedenheiten; so erfolgt sie z. B. keineswegs in allen Canälchen der gleichen Bezirke in gleicher Weise; sehr häufig findet man spärliche gewundene Harnkanälchen mit gefärbten Granula; andere Male ist die Zahl dieser grösser; bei den einen tritt eine Färbung früher, bei den anderen später ein. Was die anderen Abschnitte der

¹⁾ 1 bis 2 Tropfen einer bei 36° C. gesättigten Lösung zu 10 ccm 1 prozentigem Chlornatrium.

Harnkanälchen anbelangt, so habe ich Granula-Färbung auch an den geraden Harnkanälchen beobachtet. Auch hier scheint sie in den inneren Abschnitten der Zellen zu beginnen, aber ziemlich rasch nach aussen sich auszudehnen. An feinen Schabseln gelingt bei einiger Ausdauer eine Isolirung der Bestandtheile gefärbter Zellen, namentlich auch von Stäbchen mit gefärbten Granula.

Die Neutralroth-Färbung nimmt innerhalb der ersten 24 Stunden an Intensität und Ausdehnung zu. Sie gelingt auch noch an Objecten, welche den Thieren 2 bis 3 mal 24 Stunden nach dem Tode entnommen wurden. Doch ergeben sich in dieser Hinsicht unter anscheinend gleichen Verhältnissen merkwürdige Verschiedenheiten, für die ich eine Erklärung nicht zu liefern vermag.

Die gleiche Granula-Färbung ist mir auch beim Menschen gelungen, allerdings nur bei Entnahme der Nieren wenige Stunden nach dem Tode (Taf. I, Fig. 4). Das Verhalten war auch hier insofern ein verschiedenes, als in manchen Fällen die Reaction noch 6 Stunden nach dem Tode erfolgte, in anderen schon nach 2 Stunden ausblieb. Auch in den menschlichen Nieren tritt zuerst eine Färbung der zwischen Kern und Innensaum gelegenen Granula ein. Bei längerer Einwirkung der Farbflüssigkeit kommt es zu einer Quellung der Granula, wie mir scheint, bei menschlichen Nieren früher, als bei Thieren.

Vitale Injection. Warm gesättigte (bei 36° Cels.) Lösungen wurden Mäusen in das Unterhautzellgewebe injicirt; alle 20 Minuten 1 ccm bis zum eintretenden Exitus; durchschnittlich wurden 4—5 Injectionen gemacht. Es fanden sich bald spärlichere, bald zahlreichere Granula, namentlich in den Zellen der gewundenen Kanälchen; doch waren die gefärbten Granula viel spärlicher, als bei der supravitalen Methode; ich kann deshalb über ihre Anordnung keine so bestimmten Angaben machen; sie schien mir im Wesentlichen in beiden Fällen die gleiche zu sein.

Methylenblau.

Supravitale Färbung. Feine Doppelmesserschnitte oder Schabsel werden in ganz schwache Lösungen von Methylenblau

(1 : 20 000—40 000) in 1 pCt. Chlornatrium eingelegt. Bei Methylenblau tritt eine Färbung der Granula viel später ein. Zunächst färben sich nur einzelne Granula; doch kommt auch Granula-Färbung nächst dem Innensaum vor, aber nicht in der regelmässigen Anordnung, wie bei Neutralroth. Dagegen erstreckt sich die Färbung weiter nach aussen gegen den basalen Abschnitt der Zelle, so dass sich Reihen gefärbter Granula finden, die beinahe bis zur Tunica propria sich erstrecken; in den äussersten Abschnitten werden gefärbte Granula gewöhnlich vermisst. Nach einiger Zeit kommt es zu einer mehr diffusen, aber lichteren Färbung des Zellleibes, insbesondere der Stäbchen, mit und ohne gleichzeitige intensive Tinction der Kerne. An solchen Objecten lässt sich sehr leicht der Nachweis führen, dass die Granula wirklich in den Stäbchen gelegen sind. Nicht selten gelingt es, diese nebst den in ihnen eingebetteten, gefärbten Körnern zu isoliren. Von der Fläche gesehen, bieten solche ein höchst eigenthümliches Bild; parallel oder mehr radial verlaufende, stellenweise verzweigte oder mehr netzförmig angeordnete lichtblaue Fäden, in welchen dunkelblaue Granula eingebettet liegen, durchsetzen die Zelle, einen wesentlichen Bestandtheil derselben ausmachend. (Taf. I, Fig. 8 und 9.) Die Oberfläche und Abgrenzung solcher Zellen erscheint als eine sehr unregelmässige. Auch an Harnkanälchen, an deren Epithelien eine Stäbchen-Structur nicht nachzuweisen ist, zeigen diese oft eine sehr unregelmässige Beschaffenheit der Oberfläche, Erhebungen und Einsenkungen, bezw. Fortsätze.

Bei der supravitalen Färbung menschlicher Nieren mit Methylenblau habe ich nur vereinzelte Granula beobachtet. (Taf. I, Fig. 10.)

Vitale Injection. Ich spritzte Mäusen 2—3 mal alle 15 Minuten gesättigte Lösungen von Methylenblau in das Unterhautzellgewebe. 10 Minuten nach der letzten Injection wurden die Thiere getötet, wenn sie nicht vorher schon eingegangen waren. Wie Schultze und Kühn fand auch ich ziemlich zahlreiche Granula in grosser Zahl in den gewundenen Harnkanälchen, namentlich nächst dem Innensaum, später aber mehr nach aussen hin. Nach einiger Zeit kommen dieselben diffusen Färbungen des Zellleibes, wie bei der supravitalen Färbung zu Stande.

(Taf. I, Fig. 5—7.) Auch in den geraden Harnkanälchen kommen vereinzelte oder zahlreiche blaue Granula vor.

Vitale Injection von Indigecarmine.

R. Heidenhain hat den Nachweis geführt, dass die Ausscheidung dieses Farbstoffs durch das Epithel der gewundenen Kanälchen erfolgt. Die Art und Weise, wie die Färbung in diesen auftritt, ist nach R. Heidenhain¹⁾ verschieden. In allen Fällen sei die Epithelschicht ihrer ganzen Dicke nach gefärbt. Bei geringerem Grade könne man eine ungleichmässige Vertheilung auf die einzelnen Zelltheile nicht wahrnehmen; die Färbung sei eine diffuse. Bei höheren Graden werden die Kerne tiefer gefärbt; nächst den Kernen seien namentlich die Stäbchen die Träger des Farbstoffs; die Substanz zwischen ihnen bleibe farblos; später werde Farbstoff auch in das Lumen abgeschieden.

Da Heidenhain gebläute Kanälchen neben farblosen fand, so schloss er auf eine von einander unabhängige Function der Kanälchen. Die Kapseln seien an der Ausscheidung nicht betheiligt. Heidenhain hebt hervor, dass die Färbung des Epithels von der Menge des injicirten Farbstoffs und der Dauer der Secretion abhängt. Bei kleinen Mengen und kurzer Dauer trete nur Färbung des Epithels ohne Tinction der Kerne und ohne Lumen-Abscheidung, bei längerer Secretion nur die letztere ein. Zunächst nehmen die Epithel-Elemente den Farbstoff auf, geben ihn später aber wieder ab. Die Kernfärbung wird auf eine Ueberladung der Elemente mit Farbstoff bezogen. Bei Injection wasserreicher Lösungen war das Epithel nur stellenweise gefärbt, Kernfärbung und Ausscheidung im Lumen fehlten. Ribbert²⁾ beobachtete bei seinen Versuchen (Injection von 15 ccm Indigecarmine, Tödtung nach 10 Minuten) Abscheidung im Lumen und im Bürstensaum, aber nicht im Protoplasma. Von einer Färbung der Stäbchen und Kerne wird nichts berichtet.

¹⁾ R. Heidenhain, Mikrosk. Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Nieren. Archiv f. mikrosp. Anatomie, Bd. X, 1879 und derselbe, Versuche über den Vorgang der Harn - Absonderung. Pflüger's Archiv, Bd. IX, 1879.

²⁾ Ribbert, Die normale u. pathol. Physiol. u. Anatom. d. Nieren. Biblioth. medica Breslau. 1896,

Ich verfuhr bei meinen Versuchen so, dass ich Mäusen alle 10 Minuten 1 ccm gesättigter Lösung von indigschwefelsaurem Natron (Maschke in Breslau) in das Unterhautzellgewebe spritzte und nach der 5. Injection die Thiere tödtete, wenn sie nicht zuvor schon eingegangen waren. Die Nieren wurden theils frisch, theils nach Härtung in absolutem Alcohol untersucht.

Im Lumen der gewundenen Harnkanälchen fanden sich massenhafte Abscheidungen, ferner gebläute Körner nicht nur im Bürstensaum, sondern auch in den angrenzenden Abschnitten des Protoplasmas und zwar auch in solchen Canälen, deren Lumen Farbstoff-Abscheidungen nicht enthielten (Taf. I, Fig. 11). Die übrigen Theile der Zelle und die Kerne waren niemals und in keinem Abschnitt der Harnkanälchen gefärbt. Selbstverständlich bin ich weit davon entfernt, aus diesen Befunden, welche mit denjenigen Ribberts, nicht aber mit den Ergebnissen Heidenhains übereinstimmen, irgend welche Schlüsse auf die Secretions-Vorgänge zu ziehen. Ich halte mich dazu um so weniger berechtigt, als die Anordnung bei meinen Versuchen eine wesentlich andere war. Dasselbe gilt betreffs des Befundes von Farbstoff innerhalb einzelner Kapseln, deren Epithel stellenweise mit Farbstoff-Abscheidungen belegt waren. Rückstauungen von den gewundenen Harnkanälchen aus oder Veränderungen der Glomerulus-Schlingen mögen dabei eine Rolle spielen.

Vitale Injection von Lithioncarmin.

Versuche mit Carmiinlösungen wurden von Chrzonsczewsky, Wittich, Nussbaum, Schmidt und Ribbert ausgeführt. Sehr eingehend berichten insbesondere die beiden zuletzt genannten Autoren. Schmidt¹⁾ betont, dass bei der Injection klarer Lösungen in das Blut der Farbstoff im Harn gelöst ausgeschieden und nach den gewöhnlichen Fixationsmitteln nirgends ausgefallener Farbstoff gefunden werde. Da man aber körniges Carmin in den Nieren immer antreffe, so setze das eine besondere Lebenstätigkeit der Nieren-Epithelien voraus. Die Abscheidung des Farbstoffs ist niemals eine gleichmässige, vielmehr auf einzelne Canälchen beschränkt. In den gewundenen Canälen

¹⁾ Schmidt, Zur Physiologie der Niere. Pflüger's Archiv. Bd. 48. 1891.

liegen die Carminkörper am inneren Rand des Bürstensaumes. Bei stärkerer Ausscheidung findet sich eine zweite Körnchenleiste, aus viel feineren Körnern bestehend und parallel der ersten verlaufend. Sie entspräche der Grenze zwischen Bürstensaum und Zellleib. Zuweilen kommen auch im inneren Dritttheil der Zelle zwischen Grenzsaum und Kern feinste Farbstoff-Körperchen vor. Der Bürstenbesatz sei gewöhnlich schwach geröthet und enthalte zuweilen gleichfalls Körnchen. — In den Henle'schen Schleifen, geraden Harn- canälchen und Ausführungsgängen liege der Farbstoff im Lumen, die innere Grenze der Zellen markirend. Die Körner werden nicht als Niederschläge, sondern als Granula gedeutet. Schmidt gelangt zu der Anschauung, dass in den secretorischen Zellen einzelne Granula sich mit Farbstoff imbibiren, diese durch die Säume durchtreten und in die tieferen Abschnitte des Harn- canälchens hinunter gelangen. Um den Unterschied im Ver- halten des Carmins und Indigcarmins zu erklären, wird auf die Verschiedenheiten, Reduction des Farbstoffs und Secretion be- treffend, Bezug genommen.

Nach Ribbert¹⁾ (Injection klarer Lösungen von Lithion- carmin) wird das Carmin mehr in den Schaltstücken, Schleifen und geraden Canälchen, als in den gewundenen abgeschieden. Sonst stimmen die Befunde Ribbert's im Wesentlichen mit denjenigen Schmidt's überein. Auch er beobachtete Röthung des Bürstensaumes und das Auftreten von 1 bezw. 2 Reihen von Körnern in diesen, sowie von solchen im Protoplasma. Die Körner waren im Epithel der gewundenen Abschnitte theils gleichmässig zerstreut, teils in Reihen angeordnet. Bei längerer Dauer der Versuche werde die Anordnung der Körner eine mehr unregelmässige. Auch Ribbert deutet die Bilder im Sinne gefärbter Zellgranula. — Bei gleichzeitiger Injection von Indigcarmin und Lithioncarmin fand er in den einen Canälchen Indigcarmin, in den anderen Lithioncarmin abgeschieden, und schliesst daraus, dass diese Substanzen an verschiedenen Stellen zur Secretion gelangen, Indigcarmin in den oberen, Lithioncarmin in den unteren Abschnitten. Die ausschliessliche Secretion verlegt er in die Tubuli contorti erster Ordnung, während in den

¹⁾ Vergl. Ribbert a. a. O.

Schaltstücken, Schleifen u. s. w. ausschliesslich oder vorwiegend Resorption vorkommen soll.

Ich verwendete bei meinen Versuchen eine klare, aber gesättigte Lösung von Lithioncarmin, von der ich Mäusen alle 20 Minuten 1 ccm in das Unterhautzellgewebe injicirte; nach der 3. Injection wurden die Thiere getödtet. Meine Befunde stimmen in der Hauptsache mit denjenigen Schmidt's und Ribbert's überein: mehr oder weniger deutliche Färbung des Bürstensaumes, Körnchen im äusseren oder inneren Abschnitt desselben, bald an beiden Stellen, sowie Farbstoffkörnchen im Protoplasma, namentlich zwischen Innensaum und Kern (Taf. I, Fig. 12). In vielen Canälchen war eine eigenthümliche Felderung vorhanden. Helle Felder mit central gelegenen Kernen wurden von theils schmäleren, theils breiteren rothen Säumen eingefasst, welche aus rothen Körnchen bestanden (Taf. I, Fig. 13). Wie schon Schmidt erwähnt, ist es an solchen Stellen oft sehr schwer zu entscheiden, ob die Körnchen zwischen den Zellen oder in den peripherischen Abschnitten gelegen sind. Manchmal bleibt nur die Kernstelle frei; ob die Körnchen nur an der Oberfläche haften oder auch dem Protoplasma angehören, ist bei Flächen-Ansicht nicht zu enträthseln. Dagegen habe ich mich an Durchschnitten davon überzeugt, dass die Körnchen sehr oft den inneren Abschnitt der Zellen einnehmen, seltener werden sie nach aussen vom Kern getroffen. Täuschungen durch Schiefschnitte und artificiell verschleppte Körner müssen vermieden werden.

Sehr auffallend war mir der Befund an der Glomerulus-Kapsel. Bekanntlich hat Wittich¹⁾ angegeben, dass Farbstoffkörnchen zwischen den Schlingen des Glomerulus sich fänden. Schmidt verlegt dieselben in die Gefässlumina und bezieht dieses Vorkommen auf die Injection körnigen Farbstoffs. Bei Verwendung klarer Lösungen haben weder Schmidt noch Ribbert körnige Abscheidungen an dieser Stelle wahrgenommen. Ich habe gleichfalls klare Lösungen von Lithioncarmin in das Unterhautzellgewebe injicirt, da sie aber gesättigt waren, so ist eine nachträgliche Abscheidung nicht auszuschliessen. That-sächlich waren an vielen Kapseln Abscheidungen von körnigem

¹⁾ Wittich, Arch. f. mikroskop. Anat., Bd. XI.

Carmin auf dem Kapsel-Epithel nachzuweisen. — In der Verwerthung dieser Thatsache wird man gleichfalls sehr vorsichtig sein und an die Möglichkeit einer Rückstauung von den Harn- canälchen aus, Alteration der Glomerulusschlingen u. s. w. denken müssen. Sehr lehrreich sind in dieser Hinsicht die Experimente Nussbaum's¹⁾ einerseits, Schmidt's andererseits. Der erstere hat nach Ausschaltung der Glomeruli (beim Frosch) niemals das injicirte Carmin, dagegen das Indigcarmin regelmässig in den Harn- canälchen abgeschieden gefunden, — ein Ergebniss, das dafür zu sprechen schien, dass das Carmin durch die Glomeruli zur Ausscheidung gelangt. Bei Zusatz von Harnstoff traf aber Schmidt bei sonst gleicher Versuchs-Anordnung Carmin in den Harn- canälchen. Die Erklärung Schmidt's lautet dahin, dass die Epithelien, durch die Absperrung des arteriellen Zuflusses geschädigt, der stimulirenden Wirkung des Harnstoffes bedurften.

Isolirung der einzelnen Zellbestandtheile.

Derartige Versuche sind schon von Heidenhain, Sauer u. A. vorgenommen worden, allerdings mittelst Reagentien, welche zugleich eine Fällung bedingen.

Bei der supravitalen Färbung (Farbstoff-Lösungen in 1 pCt. Chlornatrium) konnte ich mich schon davon überzeugen, dass bei dem Zerfall der Zellen zahlreiche ungefärbte und gefärbte Körner frei werden, welche mit der Zeit zwar quellen, aber bei dieser Concentration der Chlornatrium-Lösung doch längere Zeit sich erhalten.

Sehr gute Dienste leistete die früher zu diesem Zwecke angegebene Jod-Jodkali-Eosin-Mischung²⁾. Dieselbe löst die Zwischensubstanzen und ermöglicht so eine isolirte Darstellung der einzelnen Zellbestandtheile. Durch Zusatz von Jod kann die quellende Einwirkung beschränkt werden. Sehr vortheilhaft ist es, dass die mit den gewöhnlichen Fixationsmitteln verbundenen Fällungen bei der Anwendung dieser Mischung vermieden werden. Die Anwendung dieser Methode ist unentbehrlich,

¹⁾ Pflüger's Archiv, Bd. 16 u. 17; Arch. f. mikroskop. Anatom., Bd. 24.

²⁾ Man setzt 10 ccm einer 10 pCt. Jodkalilösung 1—2 Tropfen Lugolsche Flüssigkeit und Eosin in Substanz zu.

wenn man sich über die Existenz von Granula, deren gegenseitige Lagerung und ihre Beziehung zu anderen Zellbestandtheilen unterrichten will. Dass die auf diesem Wege isolirten Plasmosomen und Granula nicht Producte einer Macerations-Quellung von Fäden sind, das lehrt ein Vergleich mit den oben geschilderten, mit Chlornatrium-Lösungen behandelten Objecten, sowie mit Osmium-Präparaten, in denen man denselben Bildern begegnet.

In den ersten Phasen der Isolierung trifft man in ihrer Form und Structur gut erhaltene Zellen. Stammen dieselben aus den gewundenen Harnkanälchen, so ist ihre Oberfläche mit Stäbchen besetzt, die über den Rand bald mehr bald weniger vortreten und dadurch der Zelle ein zackiges Aussehen verleihen. Später lösen sich die Stäbchen ab und lassen dann ganz deutlich eine Zusammensetzung aus Körnern, welche durch Bindeglieder vereinigt sind, erkennen. Diese Bilder stimmen vollständig mit denjenigen bei der supravitalen Färbung durch Neutralroth und Methylenblau überein. Auch an Osmium-Präparaten ergeben sich die gleichen Verhältnisse. Im Allgemeinen sind die Stäbchen mehr vertical zur Basis der Zellen gestellt, manchmal bieten sie aber auch eine verzweigte oder netzförmige Anordnung mit längs gerichteten Maschen dar. Das Verhältniss der Granula zu den Stäbchen ist insofern ein wechselndes, als man, wie oben erwähnt, manchmal den Eindruck hat, als ob die Stäbchen der Hauptsache nach aus aneinander gereihten Körnern oder aus Körnerreihen mit Zwischengliedern beständen, während andermal das Stäbchen als ein mehr gleichartiges Gebilde, in welches Granula eingebettet sind, sich darstellt. An manchen Stäbchen schien das basal gelegene Korn grösser, als die übrigen Granula.

Diese Ergebnisse sind zunächst bezüglich der Frage der Stäbchenstructur bemerkenswerth. Dass diese nicht als Falten der Zelloberfläche (Davidoff, Böhm, Landauer) gedeutet werden können, geht aus den obigen Mittheilungen zweifellos hervor. Ich kann in dieser Hinsicht Heidenhain, Sauer, Ebner u. A. nur beipflichten. Ob aber die Begrenzung der Zellen wirklich immer eine geradlinige ist, und ob ein Ineinandergreifen durch Fortsätze nicht vorkommt, bedarf noch der weiteren Feststellung.

Eine zweite bedeutungsvolle Thatsache ist die, dass die Granula in den Stäbchen liegen und an dem Aufbau dieser betheiligt sind. Ich habe für verschiedene Zellformen den Nachweis geführt, dass manche Plasmosomen und Granula in Fäden eingebettet liegen, und dass sie als wichtige Structur-Bestandtheile der Zelle aufzufassen sind. Am leichtesten gelingt dieser bei eosinophilen Granula, an denen mittelst des Jod-Jodkali-Eosingemisches deutliche, von Granula durchsetzte Fäden isolirt werden können. Da bei diesen Zellformen die Granula auch vor Einwirkung des Gemisches kenntlich sind, konnten sie als Producte einer Macerations-Quellung der Fäden nicht gedeutet werden. Aber auch an anderen Leukocyten und zahlreichen anderen Zellformen hat sich eine solche Beziehung der Plasmosomen und Granula zu Fäden feststellen lassen. Von manchen Autoren ist dagegen geltend gemacht worden, dass die Granula bei der vitalen Färbung immer als scharf begrenzte Gebilde sich darstellen und eine Beziehung zu Fäden nicht zu erkennen sei. Sehr instructiv sind in dieser Hinsicht die Befunde bei der supravitalen Neutralroth- und Mythelenblau-Färbung. In beiden Fällen kommen zunächst distinct gefärbte und scharf begrenzte Granula zum Vorschein; bei der letzteren Färbung tingirt sich aber später die Substanz der Stäbchen, und man sieht dann die intensiv gefärbten Granula eingebettet in die hellblaue Substanz der ersteren (Taf. I, Fig. 7—9). Aehnliche Wahrnehmungen hatte ich übrigens bei der vitalen und supravitalen Färbung der Leukocyten, Epithelien und anderer Zellen gemacht, ebenso bei der Aufnahme von Fett, Eisen und Gallenfarbstoff durch die Zellgranula. Solchen Thatsachen gegenüber sollte man sich doch nicht mit dem Standpunkt des Negirens begnügen, sondern zu demjenigen der Nachuntersuchung sich aufschwingen. Besonders empfehlenswerth ist in dieser Hinsicht die Wiederholung der Versuche an der Froschzunge, bei welchen man über die Lage der Granula und deren Beziehung zu einander, namentlich an isolirten Zellen, sich mühelos unterrichten kann. Auch Angesichts der Befunde an den sog. Mitochondrien und Chondromiten wird man nicht mehr leugnen wollen, dass Fäden Granula enthalten oder aus Reihen solcher sich aufbauen können. Das oben geschilderte Verhalten der

Stäbchen lehrt, dass je nach Untersuchungsmethode, Functionszustand u. s. w. die granuläre Zusammensetzung verschwindet und sie als gleichartige Gebilde sich darstellen.

Beobachtungen am fixirten Object.

Von den zahlreichen Fixirungsmethoden, die ich versuchte, kann ich noch am meisten empfehlen die Härtung in Formol-Chromsäure, Beizung der Schnitte durch 24 Stunden in etwa $\frac{1}{2}$ bis 1 pCt. Chromsäure oder gesättigter Chrom-Alaunlösung, Tinction mit Pianese's Dreifarben-Gemisch und Differenzirung mit schwach saurem Alcohol.

Ferner verwandte ich die Flemming'sche und Altmann'sche Flüssigkeit mit und ohne vorausgegangene Formol-Einwirkung, sowie Sublimatlösungen, gesättigt in 0,75 Chlor-natrium. Wie alle anderen Beobachter, machte auch ich die wenig erfreuliche Erfahrung, dass keine dieser Methoden unbedingt empfohlen werden kann, und dass bei jeder derselben unter anscheinend gleichen Verhältnissen sehr verschiedene Resultate sich ergeben, und zwar nicht nur bei menschlichem, sondern auch bei ganz frischem thierischem Material.

Ausser der oben erwähnten Tinction, ich meine das Pianese'sche Dreifarbgemisch¹⁾), kamen Haematoxylin-Eosin und die Heidenhain'sche Haematoxylin-Eisenmethode, sowie die Altmann'sche Granula-Färbung zur Verwendung.

Bei der letzterwähnten Methode erhält man die bekannten Bilder in dem Epithel der gewundenen Harnkanälchen: scharf begrenzte, reihenförmig aufgestellte, seltener mehr gleichmässig vertheilte, scharf umschriebene, rothe Granula eingebettet in eine gelblich gefärbte, scheinbar homogene Grundsubstanz. Ich darf wohl auf eine eingehende Beschreibung verzichten und will nur noch hervorheben, dass an Formol-Chromsäure-Präparaten bei Färbung mit dem Pianese'schen Dreifarbgemisch die gleichen Befunde sich ergeben. Allerdings sind diese weniger constant, dagegen kommt an gelungenen Präparaten die sonstige Structur der Zellen und die der Kerne besser zum Ausdruck. Bei stärkerer Differenzirung mit Säure-Alkohol nehmen die Plas-

¹⁾ Malachitgrün 0,5, Säurefuchsin 0,1, Martinsgelb 0,01; Aqua destil. 150; Spiritus (96 pCt.) 50.

mosomen eine mehr hellrothe Farbe an; neben ihnen kommen dann intensivroth gefärbte Granula zum Vorschein, manchmal vereinzelt, manchmal in grösserer Zahl und gruppenweiser Anordnung oder aber in mehr gleichmässiger Vertheilung über die Zelle. Ueber die Deutung und Bedeutung dieser Granula wage ich um so weniger ein Urtheil, als ich aus den oben angegebenen Gründen nicht zu sagen vermag, in wie weit der Wechsel der Bilder auf einen wirklichen, vielleicht durch Function bedingten Wechsel der Structur oder auf mangelhafte Fixation zu beziehen ist.

Bei Menschen erhält man an Formol-Chromsäure-Pianese-Präparaten in den Epithelien der gewundenen Harnanälchen reihenförmig, seltener netzförmig angeordnete, blassrothe Plasmosomen, sowie intensiver gefärbte rothe Granulagruppen und -Haufen (Taf. I, Fig. 14). Gerade an menschlichen Nieren konnte ich mich wiederholt davon überzeugen, dass das Structurbild nicht nur je nach angewandter Conservirungs- und Tinctions-Methode, sondern auch nach Function und pathologischem Zu-stande ein sehr wechselvolles ist.

Ergebnisse.

1. Bei der supravitalen Färbung mit Neutralroth treten sehr bald an den Epithelien der gewundenen Harnanälchen rothe Granula im inneren Drittel, d. h. zwischen Kern und Innensaum, auf; nach einiger Zeit färben sich auch nach aussen vom Kern gelegene Granula.

2. Bei vitaler und supravitaler Färbung mit Methylenblau zeigen diese Epithelformen blaue Granula theils am Innensaum, theils in unregelmässiger Vertheilung über die Zelle. Später dehnt sich aber die Granula-Färbung bis zur Basis der Zellen aus, und es tritt eine lichtblaue Färbung der ganzen Stäbchen ein, welche die intensiv gefärbten Granula enthalten.

3. Injicirt man gesättigte Lösungen von Indigecarmine oder Lithionecarmine in das Unterhautzellgewebe, so finden sich gefärbte Köner am inneren Abschnitt der Epithelien der Harnanälchen, während die übrige Substanz und die Kerne ungefärbt bleiben.

4. Mittelst Chlornatrium-, Osmiumsäure oder Jod-Jodkali-

lösungen isolirte Stäbchen zeigen einen granulösen Bau; sei es, dass sie nur aus Reihen von Granula mit und ohne Bindeglieder zusammengesetzt erscheinen, oder als mehr gleichartige Gebilde, in welche Granula eingebettet liegen, sich darstellen.

5. An fixirten Präparaten kommt die granuläre Structur der Stäbchen durch reihenförmige Anordnung der Plasmosomen und Granula zum Ausdruck.

Es wäre noch die Frage zu berühren, ob die Plasmosomen und Granula der Nieren-Epithelien morphologisch und functionell gleichwerthig sind oder nicht. Thatsache ist, dass die im inneren Dritttheil der Zellen gelegenen Granula eine grössere Affinität zu Neutralroth haben, als die nach innen vom Kern befindlichen. In gewissem Sinne scheint das auch für Methylenblau zu gelten; denn auch bei diesem Farbstoff trat die Färbung der Granula am Innensaum früher auf, als die der basalen. Dagegen färbten sich mit Methylenblau basale Körner, während bei Neutralroth die peripherischen Abschnitte der Zellen wenigstens in früheren Phasen der Tinction ungefärbt blieben. Ob aus diesen Befunden auf eine morphologische oder functionelle Differenz der Granula geschlossen werden darf, darüber auch nur eine Vermuthung zu äussern, dünkt mir nicht sachgemäss. Die geschilderten vitalen und supravitalen Färbungen der Granula, namentlich diejenigen mit Neutralroth und Methylenblau, kommen zweifellos in der Weise zu Stande, dass die Granula die Farbstoffe in gelöster Form in sich aufnehmen und an sich binden; als innerhalb der Zelle in fester Form abgeschiedene Farbstoffkörner können sie nicht angesehen werden, weil man an überlebenden Objecten alle Phasen der Farbstoff-Aufnahme Seitens der präexistenten ungefärbten Granula verfolgen kann.

Auf eine körnige, nicht an Granula gebundene Abscheidung der Farbstoffe innerhalb der Zelle oder eine körnige Ausscheidung aus dieser darf aus solchen Bildern nicht geschlossen werden. Auch der Befund von Farbstoffkörnern in Lumen der Harnkanälchen, wie er namentlich bei den Carminversuchen berichtet wurde, darf nicht ohne Weiteres in diesem Sinne verwertet werden, weil es bei Einführung insbesondere gesättigter Lösungen zu einer Abscheidung im Lumen der Harnkanälchen kommen könnte. Darüber, ob eine granuläre Secretion an den

Nieren-Epithelien vorkommt, müssen wir, so nahe die Versuchung einer solchen Annahme liegt, von weiteren Untersuchungen entscheidende Aufschlüsse erwarten.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. I.

- Fig. 1. Mausniere. Supravitale Färbung der nächst dem Innensaum gelegenen Granula durch Neutralroth.
- Fig. 2. Mausniere. Dasselbe; stellenweise Ausdehnung der Granula-Färbung nach aussen.
- Fig. 3. Mausniere. Supravitale Färbung der Granula durch Neutralroth. Kerne nach allen Seiten von gefärbten Granula umgeben.
- Fig. 4. Menschliche Niere. Supravitale Färbung der Granula am Innensaum.
- Fig. 5. Mausniere. Vitale Injection einer gesättigten Lösung von Methylenblau in das Unterhautzellgewebe. Färbung der Granula am Innensaum.
- Fig. 6. Dasselbe. Ausdehnung der Granula-Färbung nach Aussen.
- Fig. 7. Dasselbe. Lichtblaue Färbung der Stäbchen, in welche intensiv gefärbte Granula eingebettet liegen.
- Fig. 8. u. 9. Dasselbe. Isolirte Zellen.
- Fig. 10. Menschliche Niere. Supravitale Färbung der Granula am Innensaum.
- Fig. 11. Mausniere. Injection von indigschwefelsaurem Natron in das Unterhautzellgewebe. Granula-Färbung am Innensaum.
- Fig. 12. Mausniere. Injection von gesättigter Lithioncarmin-Lösung. Gefärbte Granula an Bürsten- und Innensaum.
- Fig. 13. Dasselbe. Durch rothe Granula eingesäumte helle Felder.
- Fig. 14. Menschliche Niere. Formol-Chromsäure-Färbung mit Dreifarben-Gemisch von Pianese. Differenzirung mit schwachsaurem Alkohol. Plasmosomen hellroth gefärbt; zwischen ihnen dunkelgefärbte Granula.

II.

Ueber die Emigrations-Fähigkeit der Lymphocyten.

(Aus dem Laboratorium des städtischen Gesundheitsamts in Stockholm.)

Von

Dr. Johann Almkvist in Stockholm.

(Hierzu Taf. II.)

Seitdem Cohnheim 1867 die Emigrations-Fähigkeit weisser Blutkörperchen experimentell zeigte, ist das Verhältniss emi-