

Histologische Beobachtungen am intravital gefärbten Axolotl¹⁾.

Von

Prof. Th. Ssyssojew,

Prosektor an dem zum Andenken von Prof. Netschaeu geweihten Obuchoffkrankenhaus
in Petersburg.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1923.)

In der vorliegenden Arbeit beschränke ich mich nur auf diejenigen von mir am intravital gefärbten Axolotl ermittelten histologischen Tatsachen, die vom allgemeinen histo-pathologischen Standpunkt von Belang sein dürften. Meine Untersuchungen habe ich an 9 Axolotlen²⁾ angestellt, denen jeden 2. bzw. 3. Tag Carmin in einer gesättigten Lösung von kohlensaurem Lithium in Dosen von $\frac{1}{4}$ —1 ccm eingeführt wurde. Die geringste Gesamtmenge betrug 4 ccm, die größte bis 10 ccm. Die einzelnen Versuche dauerten von 9 bis zu 22 Tagen. Die Farblösung wurde entweder in die zu beiden Seiten der Wirbelsäule liegenden lymphatischen Säcke oder in die Bauchhöhle eingespritzt. Die letztere Art wurde nur in 3 Fällen angewandt und dabei nur 1—2 Tage vor dem Abschluß des Versuches.

Der erste Umstand, den ich durch meine Untersuchungen zu klären versucht habe, war die Frage: Gehören beim Axolotl gewisse Zellformen, die bis jetzt dem retikulo-endothelialen Apparat nicht zugerechnet wurden, diesem Apparat an oder nicht?

Die Muskelwand des Herzens bei Amphibien³⁾ besteht, wie bekannt, aus einem schwammigen Gerüst, dessen einzelne Maschen in unmittelbarer Verbindung mit den Herzkammern stehen. Die allerfeinsten Balken des Gerüstes bestehen entweder aus einzelnen oder mehreren Muskelfasern, welche durch Bindegewebe vereinigt werden; jeder von diesen Balken ist vom Endothel bekleidet. Und gerade dieses Endothel hat vermöge seiner biologischen Eigenschaften, seinem Verhalten nach zu dem im Blute kreisenden kolloidalen Farblösungen, allen Anspruch, dem retikulo-endothelialen Apparat des Axolotls zugerechnet zu werden.

¹⁾ Vortrag, gehalten am I. Allrussischen Pathologenkongreß in Petersburg (16.—21. IX. 1923). Die Arbeit wurde begonnen im histologischen Laboratorium der Militär-Medizinischen Akademie (Vorstand: Prof. A. Maximow, z. Z. University of Chicago, U. S. A.).

²⁾ Die Axolotlen stellten ausgewachsene Exemplare dar.

³⁾ A. Maximow, Grundlagen der Histologie 2, 344, 348. Petersburg 1915.

Bei geringer Sättigung des Axolots mit der Carminlösung, d. h. bei Einführung von etwa 4 ccm Farbe, treten diese Zellen noch nicht besonders deutlich hervor, sondern erscheinen nur als schmaler hellrosa, bald fein, bald grobgekörnter Saum, der den Stützbalken umfaßt. Dieser Saum ist aber nichts anderes als das Protoplasma der endothelialen Zellen im Anfangsstadium der Carminablagerung. Bei zunehmender Sättigung des Axolots mit der Farblösung und bei Erreichung der Maximaldosis von 8—10 ccm wird dieser gekörnte Saum an einzelnen Balken ein wenig breiter, die Körner erscheinen stärker gefärbt und nehmen an Umfang zu. An anderen Balken sind deutlich vergrößerte Zellen von abgerundeter Form zu sehen, deren Protoplasma von dunkelrosa gefärbten Carminkörnchen überfüllt ist (Abb. 1). Das Annehmen der runden Form bedingt ihre Isolierung, d. h. die Loslösung von ihrer Unterlage; sie hören auf zum Bestande der Muskellwandung zu gehören, werden selbständig, schließen sich als morphologische Einheiten dem kreisenden Blut des Axolots an und sind leicht als freiliegende Zellen zwischen den Erythrocyten und anderen Zellformen des Blutes in den Herzkammern zu finden.

Bei genauer Untersuchung des Herzens, besonders seiner serösen Haut im Bereich der Vorhöfe, konnte ich in jedem der beobachteten Fälle bald spaltförmige, bald länglich-ovale Hohlräume nachweisen, die mit Endothel ausgelegt waren. Diese Endothelzellen ließen sich nur durch den kleinen länglichen Kern und die um denselben gruppierten runden kleinen hellrosa gefärbten Carminkörnchen erkennen. In Fällen, in welchen mehr Farblösung eingeführt worden war, hatten die Zellen eine mehr abgerundete Form, die Kerne waren größer, und das Protoplasma enthielt große Mengen dunkler gefärbter Carminkörper.

Obwohl in dem Schrifttum, soweit mir bekannt ist, keine Hinweise darauf zu finden sind, daß die Herzwand der Amphibien Lymphgefäß enthält, sehe ich mich doch veranlaßt, die Hohlräume, die ich im Bindegewebe der Vorhöfe entdeckt habe, als Lymphgefäß zu bezeichnen, und zwar aus folgenden Gründen: Alle diese Hohlräume haben Wände, die nur aus Endothelzellen gebildet werden, deren

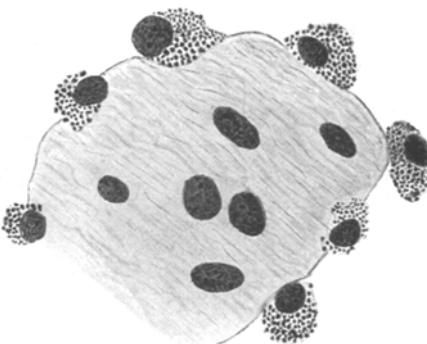


Abb. 1. Körnchenförmige Carminablagerungen im Protoplasma hypertrophiierter Endothelzellen in den muskulären Gerüststützen der Herzwand. (Ein Schrägschnitt.)

Protoplasma die Fähigkeit besitzt, Farbstoffe aus dem kreisenden Blut aufzuspeichern, während die Endothelzellen der Blutcapillaren und der Venen beim Axolotl unter den gleichen Verhältnissen diese Eigenschaften nicht aufweisen. Ferner konnte ich in keinem dieser Hohlräume Erythrocyten entdecken, obwohl das Herz beim Herausnehmen stets von Blut überfüllt war, da es immer erst nach Unterbindung aller seiner Gefäße entfernt wurde; dieses geschah, um das Blut, welches im Herzen vorhanden war, nicht zu verlieren.

In diesen Lymphgefäßen fand ich entweder nur geronnene Lymphe in Form einer feingekörnten Masse oder eine unbedeutende Anzahl lymphoider Zellen. Und endlich gelang es mir, Hohlräume von genau demselben Bau in der Bauchwand unmittelbar unter dem Bauchfell nachzuweisen; diese Hohlräume lagen zwischen Fettzellen und

quergestreiften Muskeln, also gerade dort, wo schon von vornherein das Vorhandensein von Lymphgefäßen äußerst wahrscheinlich ist. Hier, unter dem Bauchfell erreichen diese Vasa lymphatica eine bedeutende Entwicklung, und die Fähigkeit ihrer endothelialen Zellen in bezug auf die Farbspeicherung tritt noch deutlicher hervor, besonders in den Fällen, wo zum Schluß des Versuches



Abb. 2. Erweiterte Lymphgefäß der Bauchwand. Runde, vergrößerte, zum Teil losgelöste Endothelzellen, in deren Protoplasma Carminablagerungen in Körnchenform zu sehen sind.

die Farblösung intraperitoneal eingeführt wurde, und wo an das Bauchfell mit seinen Lymphbahnen erhöhte Ansprüche im Sinne einer energischen Aufsaugung gestellt wurden.

Die endothelialen Zellen erschienen in allen Fällen vergrößert, ihr Protoplasma von dunkelrosa größeren oder kleineren Körnern angefüllt. Die Zellen befanden sich im Zustand deutlich ausgeprägter Hyperfunktion, was ihre Abrundung und Isolierung zur Folge hatte (Abb. 2).

Die Methode der intravitalen Färbung hat nicht nur die Entdeckung dieser Lymphgefäße ermöglicht, sondern hat auch dazu geführt, die endothelialen Zellen dieser Gefäße wie auch das Endothel in den Räumen im Herzen dem retikulo-endothelialen System zuzuzählen. Die von mir festgestellten Bilder der Lösung dieser Zellen von ihrer Unterlage und die von vornherein durchaus annehmbare Hypothese, daß diese freien losgelösten Zellen in den allgemeinen Blutkreislauf gelangen,

geben uns das Recht, auch diesen Zellen einen Platz im morphologischen Blutbestand einzuräumen. Wir dürfen daher, wenn wir von den Monocyten oder, nach der Nomenklatur von *Aschoff*, von den Histiocyten im Blute des Axolotls sprechen, weder die Endothelzellen des Herzens noch das Endothel der Lymphbahnen vergessen.

Noch mehr, wenn die Endothelzellen der Lymphbahnen ihren biologischen Eigenschaften nach dem retikulo-endothelialen System angehören, so kann auch *a priori* selbstverständlich alles das auf sie übertragen werden, was die moderne Auffassung diesen Zellen bei Vorgängen reparativer und defensiver Entzündungen zuschreibt — bei der Entstehung von Makrophagen und vielkerniger Riesenzellen und bei der Entwicklung von myeloidem Gewebe.

Wenn diese Tatsachen, besonders auch bei Tieren höherer Ordnung, ihre Bestätigung finden werden, so glaube ich, daß auch die Aufsaugung im Bauchfell, die bis jetzt noch nicht vollkommen geklärt erscheint, im gewissen Sinne geklärt wird: wir werden dann in den Lymphgefäßnicht nur Wege zum Transport der Lymphe sehen, sondern ihnen auch eine aktive Rolle zuschreiben, indem natürlich das Endothel dieser Gefäße diese oder jene in der Lymphe in kolloidaler Form enthaltenen Stoffe aufnehmen könnte.

Literaturangaben zufolge enthalten die Wandungen der Vorhöfe, wie ich schon erwähnte, keine Lymphgefäß, jedoch findet man wertvolle Angaben über die Funktionen der Endothelzellen dieser Gefäße im Schwanze der Larven einiger Amphibien bei *Bruntz*¹⁾.

Bei der Einführung einer Ammoniak-Carminlösung in die Bauchhöhle der Larven von Anura stellte *Bruntz* die Ablagerung von Farbe in Körnchenform in den Endothelzellen der Lymphcapillaren im Schwanze dieser Amphibien fest und betrachtet diese Zellen daher als „Nephrocyten“.

Ich will die Aufmerksamkeit noch auf eine Frage lenken, die vom grundsätzlichen Standpunkt für den Pathologen von Bedeutung ist.

Es handelt sich dabei um die Ablagerung von Farbe in den Herzklappen, die ich an allen von mir untersuchten 9 Axolotlen beobachten konnte.

Am 9. Tage, d. h. nach Einführung von nicht mehr als etwa 4 ccm Farblösung, konnten am Rande der Herzklappe unter dem Endothel Speicherungen von Carmin sowohl in Form von Körnchen als auch in Form von Schollen von beträchtlicher Größe, unregelmäßiger Form und von hellrosa Farbe nachgewiesen werden. Diese Erscheinung läßt sich anfänglich nicht in großer Ausdehnung beobachten; wir finden den Farbstoff nur stellweise, bald in Form mehr oder minder gefärbter

¹⁾ *Bruntz*, Z., Le rôle des endotheliums lymphatiques chez les larves des amphibiens anures. Arch. de zool. exp. et générale. 4 Ser. T. 7. 1907—1908.

Ansammlungen von Körnchen oder Schollen, bald in Form eines schmalen subendothelialen körnigen Streifens; in den zentralen Partien der Herzklappen, wo die Zwischensubstanz am ausgebildetsten ist, läßt sich kein Farbstoff nachweisen. In den Endothelzellen der Klappen sind ebenfalls vereinzelte Körnchen zu finden, doch nicht in allen Zellen, sie sind dabei blaß und klein und lassen sich nur bei starker Vergrößerung feststellen.

Bei längerer Versuchsdauer sehen wir ganz andere Bilder. Bei Einführung von 8—10 ccm Carmin ist fast der gesamte Rand der Klappe von einem breiten Carminstreifen eingenommen, wobei der Farbstoff meist nicht in Form von Körnchen, sondern in Form von dunkelrosa Schollen verschiedener Größe und Gestalt abgelagert wird (Abb. 3). Ich muß bemerken, daß die ganze Randzone, die vom Carmin

eingenommen wird, fast gar keine oder jedenfalls nur unbedeutende Mengen von Zwischensubstanz enthält, soweit das Vorhandensein dieser Substanz durch Hämatoxylinfärbung ohne vorhergehende spezielle Bearbeitung nachgewiesen werden kann.

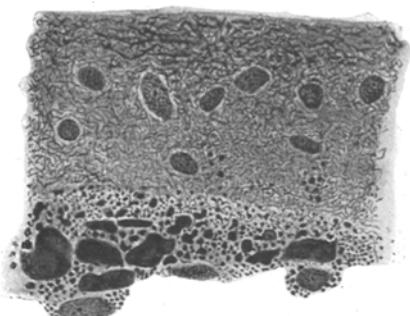
Das Carmin liegt zwischen ganz farblosen, blassen Fasern des lockeren Bindegewebes. Hin und wieder finden wir die Farbstoffkörnchen im Protoplasma vereinzelt hier liegender Histiocyten.

Abb. 3. Teil einer Herzklappe. Am Rande der Klappe Carminablagerungen in Form von Schollen und Körnchen verschiedener Größe.

In den zentralen Teilen der Herzklappe, also dort, wo das Gewebe reich an Zwischensubstanz ist, welches durch Hämatoxylin grell gefärbt wird, sind Carminablagerungen bei längerer Versuchsdauer häufiger; die Farbe liegt hier in Form von geringen Ansammlungen kleiner Körnchen ohne scharfe Grenze.

In den endothelialen Zellen der Klappen finden wir den Farbstoff bei diesen Versuchen im Gegensatz zu den Versuchen von kürzerer Dauer fast immer in Form von dunkelrosa Körnchen.

Diese von mir festgestellte Tatsache, daß das Carmin sich in den Herzklappen ablagern kann, gleichzeitig mit einer Ablagerung in den tiefen Schichten des Epikards (besonders am Vorhof), verdient natürlich Beachtung vom allgemeinen pathologischen Standpunkt aus. Es kann um so mehr Gegenstand einer besonderen und ausführlicheren Untersuchung werden, da es mir auch gelang, ein vollkommen gleichartiges Bild in den Klappen zu bekommen in den Versuchen mit isolierten Meerschweinchen- und Kaninchenherzen bei ihrer Durch-



spülung mit der Ringer-Lockeschen Flüssigkeit, der Carmin zugesetzt war¹).

Diese experimentellen Ergebnisse sind insofern bemerkenswert, da sie gestatten, eine Parallelle zu ziehen in bezug auf die Ablagerung von Lipoiden in den Herzklappen des Kaninchens [Anitschkow²)] und des Menschen bei der Atherosklerose. Auch müssen dieselben natürlich in Erwägung gezogen werden, wenn man die Frage lösen will: Wo liegt die Wahrheit — auf Seiten der „Infiltration“ oder der „Degeneration“?

¹⁾ Die Arbeit ist der Redaktion von „Virchows Archiv“ zur Veröffentlichung übergeben.

²⁾ Anitschkow, N., Über die experimentelle Atheroklerose der Herzklappen. Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. 220. 1915.