

(Staatliche Landesstelle für öffentliche Gesundheitspflege, Dresden.)

## Naphtholoxone und Myelooxydasen in der Luftröhre des Schafes.

Von  
Dr. W. Loele.

Mit 2 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 26. Februar 1931.)

Während die labilen Indophenoloxidasen in den Zellen fast überall vorkommen, sind die stabilen Oxydasen selten zu finden. *W. H. Schultze* nennt 1927 nur drei Zellgruppen, die myeloischen Zellen, die Epithelien der Speichel- und Tränendrüsen und die syncytialen Gebilde der Placenta. Von diesen Zellarten geben nur die ersten beiden Naphtholreaktionen. Nach meinen Untersuchungen kommen noch bei Wirbeltieren hinzu die Oberflächenepithelien der Haut des Amphioxus, die zum Teil Naphtholperoxydasen und stabile Oxydasen enthalten, die Magenepithelien und die Epithelien der Ausführungsgänge der Leber mancher Fische (z. B. Karpfen), in denen auch Naphtholoxidasen nachweisbar sind.

Das Material ist noch so gering, daß ein neuer Befund der Mitteilung wert ist. Denn, wie schon *Spanjer Herford* erkannte: „Die Oxydasefärbung erlaubt uns, wenigstens ein Stück weit den Weg eines Stoffes zu verfolgen, der eine Funktion im Organismus hat, den Weg des Fermentes.“

Bei der Untersuchung krankhaft veränderter Tierorgane fand ich in der Lunge eines Schafes, das wegen einer Bronchopneumonie infolge Parasiten geschlachtet war, eine außerordentlich deutliche Naphtholperoxydasereaktion der Bronchialepithelien, die dazu Anlaß gab, die normale Hammellunge<sup>1</sup> zu untersuchen.

Zur Darstellung der Oxone wurden folgende Methoden angewendet:

1. Naphtholoxidasen: 0,5 g  $\alpha$ -Naphthol in 100,0 ccm 1%iger Kalilauge durch Kochen gelöst, Einlegen von Gefrierschnitten in die erkaltete Lösung.

Die Lösung ist etwa eine Woche brauchbar. Ältere Lösungen färben nicht mehr alle Oxydasen.

<sup>1</sup> Die Luftröhre der Ziege verhielt sich wie die des Schafes, nur fehlte die  $\alpha$ -Naphtholoxidasereaktion.

2. Naphtolperoxydasen: 1 gehäufter Teelöffel  $\alpha$ -Naphthol in 1 Liter Kochsalzlösung (8,5 zu 1000,0), einen Tag lang unter gelegentlichen Schütteln stehen lassen;  $H_2O_2$ -Zusatz nur in Spuren, um nicht die roten Blutkörperchen mitzufärben.

3. Indophenolreaktion: Methode von *W. H. Schultze*. Auch wenn die Mischung der Naphthol- und Dimethylparaphenyldiaminlösungen beim Stehen an der Luft ausflockt, ist sie nach Filtration einige Tage brauchbar. Jodbehandlung. Entfärbung mit Natriumsulfitlösung.

Gefrierschnitte von verschiedenen Teilen der Luftröhre zeigten folgende Bilder:

Die Drüsen unter der Schleimhaut geben alle Reaktionen, die Naphtholoxidasereaktionen nur schwach, wobei die Epithelien eine zarte graue Farbe annehmen.

Die hohen zylinder- (flimmer-) und becherzellähnlichen Epithelien der Luftröhre geben zum Teil gute Indophenolreaktion, die Naphtholperoxydasereaktion ist verschieden stark, niemals so stark wie die der Schleimdrüsen, die schon makroskopisch als schwarze Flecke erkennbar sind. Bei Nachbehandlung der Schnitte mit Gentiana- oder Methyl-violett-Naphthollösung waren alle Zellen mit schwacher Peroxydasereaktion und auch ein Teil der anscheinend negativen Zellen kräftig gefärbt.

Auffällig ist, daß die Epithelien da, wo Lymphknötchen durch die Schleimhaut durchbrechen, schwache Reaktion geben oder negativ sind (Abb. 1).

Die Naphtholoxidasereaktion ist so gut wie negativ, nur einige Zellen erscheinen mattgrau.

In den Hauptästen der Luftröhre war der Gehalt an Naphtholperoxydase und Indophenoloxdase geringer.

Auf Querschnitten durch die Lunge geben außer den myeloischen Zellen auch die Deckzellen der Bronchialschleimhaut alle Reaktionen.

Die Naphtholoxidasereaktion entspricht in ihrer Stärke etwa der der Schleimdrüsen der Luftröhre. Die Naphtholperoxydasereaktion ist stärker als die der Trachealepithelien. Die Indophenolreaktion ist sehr deutlich, ihr Vorkommen entspricht dem der Naphtholoxone. Manche oxonhaltige Zellen haben die Form von Becherzellen. Alle Reaktionen sind an Granula gebunden, die Naphtholperoxydaseschnitte zeigen jedoch bei Nachbehandlung mit dem basischen Farbstoff auch diffuse Blaufärbung einiger Zellen.

Der Stärke der Reaktion nach geordnet, bilden die Zellen folgende Reihe:

1. Eosinophile Leukocyten.
2. Schleimdrüsenepithelien.
3. Bronchialepithelien.
4. Luftröhrenepithelien.

Wird die Luftröhre an der Luft getrocknet, so bleibt die Oxonreaktion einige Wochen lang positiv, was gerichtsärztlich wichtig sein kann. Auch enthielt die getrocknete Luftröhre des Schafes im Gegensatz zu der des Rindes Amylase.

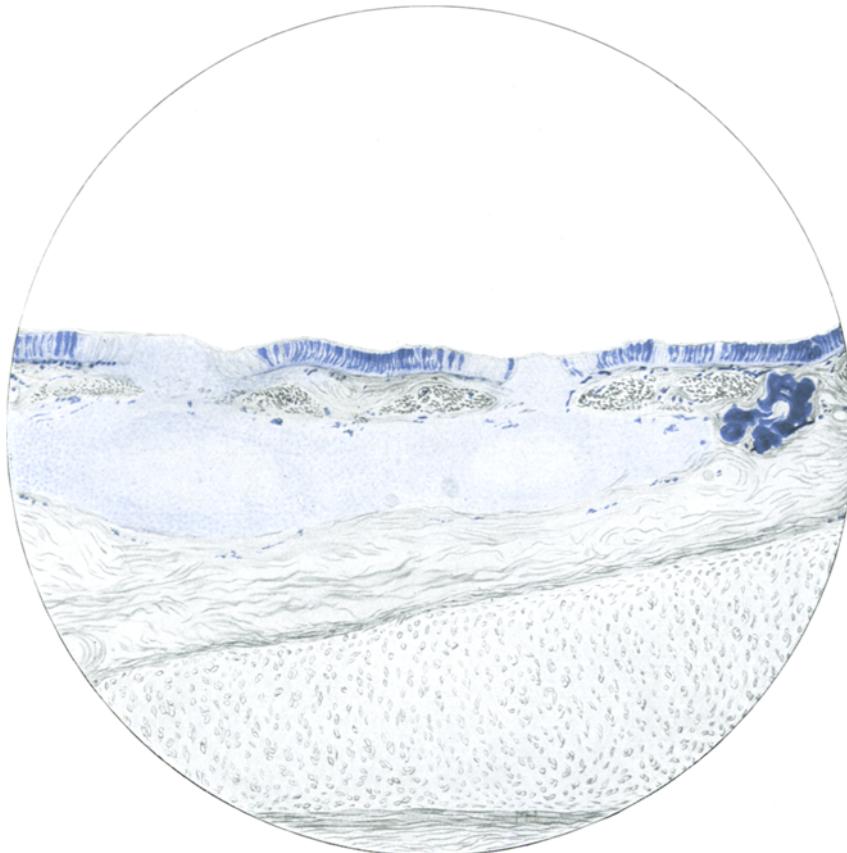


Abb. 1. Trachea des Schafes.

Kratzt man von der überlebenden Schleimhaut die Oberflächenepithelien ab und stellt an Aufschwemmungen die Naphtholperoxydase- und Paraphenylendiaminreaktion an, so kann man ähnlich wie an Bakterienaufschwemmungen feststellen, daß der gebildete violette und braune Farbstoff wieder entfärbt wird. Die Befunde stimmen ausgezeichnet zu den Beobachtungen an Organen und Zellen auch solcher Tiere, die nicht zu den Wirbeltieren gehören, und geben manche Hinweise, die auch für die Beurteilung der Bildung und der Bedeutung der Blutzellen von Wichtigkeit sind.

Alle Zellen, die Oxone enthalten, sei es Naphthol- oder Para phenylendiamin oder Indophenoloxoxydasen oder -peroxydasen, lassen sich in 4 Gruppen einteilen.

1. Zellen, die immer die Oxonreaktion geben, unter veränderten Bedingungen aber Oxonschwund zeigen.

2. Zellen, die nur vorübergehend in einem bestimmten Funktionszustand der Zelle Oxone enthalten.

3. Zellen, die nur unter veränderten Bedingungen Oxone bilden.

4. Zellen, die immer negativ sind.

Für alle Oxone läßt sich weiter nachweisen, daß bei nahe verwandten Tieren gleiche Organzellen mit gleicher Leistung einer der 4 Gruppen angehören können.

So geben die Granula der myeloischen Zellen des menschlichen Blutes immer Oxonreaktionen, aber gelegentlich findet man bei Krankheiten Oxonschwund. Bei anderen Wirbeltieren sind aber die myeloischen granulierten Zellen ganz negativ, so z. B. bei Papageien und Wellensittichen, obwohl die Typen der weißen Blutzellen ähnliche sind.

Die Untersuchungen von *Spanjer Herford* haben gezeigt, daß die Speichel- und Tränendrüsen in bezug auf Gehalt von stabilen Indophenoloxoxydasen sich ganz verschieden verhalten.

Die Parotis enthielt stabile Nadioxydasen bei: Mensch, Pferd, Maus, Katze, Hund, Igel, Meerschweinchen, Schwein. Keine Oxydase bei: Kaninchen, Rind und Hammel. Die Submaxillardrüse verhielt sich gleich, nur war die des Rindes noch positiv. Beim Hammel war nur Sublingualdrüse und Tränendrüse positiv. Die Tränendrüse verschiedener Tiere verhielt sich meist wie die Submaxillar- und Sublingualdrüse. Beim Kaninchen waren alle Drüsen negativ.

Ein auffälliger Unterschied bestand in der Reaktion der Eiweiß- und Schleimzellen. Während allgemein die Schleimzellen negativ waren, gaben positive Reaktionen die Schleimzellen der Unterkieferspeicheldrüse des Schweines und die der Unterzungendrüse des Hammels.

Daß die Oxonreaktionen erst bei veränderten Bedingungen positiv ausfallen, zeigen Bakterien und Pflanzen. Manche Kokken geben Oxonreaktionen erst nach einer Anzahl von Tagen oder wenn sie auf 50° erwärmt werden (*Sarcina lutea*). Dagegen geben die Kokken der Katharrhalisgruppe auch in jungen Kolonien positive Paraphylenediamin- und Indophenolreaktion. Keimblätter der Mandel gaben in den ersten Tagen nur eine Indophenolblaureaktion der Rand- und Gefäßzellen, wurden sie geschädigt, waren auch die Naphtholreaktionen positiv. Als Beispiel für Zellen, die immer negativ sind, können die Lymphzellen des Blutes und die Staphylokokken gelten, die niemals labile Indophenoloxoxydase enthalten.

Nun sind die Naphtholoxoxydasen gleichzeitig Peroxydasen, die Naphtholperoxydasen gleichzeitig Indophenoloxoxydasen, aber niemals umge-

kehrt; man kann hieraus den Schluß ziehen, daß, wenn Zellen mit positiver Indophenolreaktion  $\alpha$ -Naphtholreaktion geben, sie zunächst die Peroxydasereaktion geben müssen. Diese Annahme wird durch den Befund in der Luftröhre des Schafes gut gestützt. Da, wo die Peroxydasereaktion stark positiv ist, fällt auch die Naphtholoxydasereaktion schwach aus, wo die Peroxydasereaktion schwach ist, fehlt die Oxydase. In der Luftröhre, wo viele Schleimdrüsen sind, ist die Naphtholreaktion schwach, in den Bronchien verhalten sich die Epithelien fast wie die Schleimdrüsenzellen der Luftröhre.

Man kann demnach die Naphtholoxydase als ein fermentatives System auffassen, das aus einer Reihe von Faktoren zusammengesetzt ist. Wahrscheinlich entsteht die stabile Indophenoloxydase aus der labilen durch Adsorption an eine stabilisierende Struktur, die Naphtholperoxydase aus der stabilen Indophenoloxydase durch Hinzutritt gewisser Stoffe, die beim Abbau des Eiweißes in der Zelle auftreten, vielleicht gewisser Amidosäuren und Aldehyde, die Naphtholoxydase dadurch aus der Peroxydase, daß die Konzentrationen der Abbauprodukte gesteigert oder sonstwie verändert werden.

Bis zu einem gewissen Grade läßt sich die Naphtholoxydase künstlich nachbilden.

In dem System: alkalische Naphthollösung, Eisen, Amidosäure und Aldehyd sind alle Faktoren kochbeständig, und in bestimmten Mengenverhältnissen der Faktoren wird  $\alpha$ -Naphthol sofort zu einem blau-violetten Farbstoff oxydiert, aber das System ist nicht kochbeständig. Durch gegenseitige Einwirkung der Faktoren, der Aldehydgruppe auf die Amidogruppe, des Eisens auf die COOH Gruppe und die OH Ionen, entstehen offenbar labile komplexe Verbindungen, die kochempfindlich sind und durch Fermentgifte zerstört wurden. Ähnliche Mischungen sind auch in der Zelle möglich.

Die Oxone entstehen aus einer nichtgranulierten Vorstufe oder werden von einer granulierten oxonnegativen Vorstufe abgespalten. Die oxonhaltigen Granula können wieder oxonhaltige oder oxonnegative Sekrete liefern. Erfolgen diese Vorgänge nacheinander und in verschiedenen Zellen zu verschiedenen Zeiten, dann ergibt der histologische Befund morphologisch ganz verschiedene Zellen. Es würde falsch sein, aus der Verschiedenheit der Befunde auf Spezifität der einzelnen Zellarten zu schließen. Diese gesetzmäßige Aufeinanderfolge von verschiedenen Oxonen und oxonhaltigen Strukturen fordert zu einem Vergleich mit den von *G. Ch. Hirsch* als Schaltung bezeichneten gesetzmäßigen Strukturreihen auf<sup>1</sup>. Als Beispiel seien genannt die Arbeitsbahnen der Vorderdarmdrüsenzellen von *Helix pomatia* (Weinbergsschnecke). Während im Hungerzustand zwischen Ausgangszelle und Rückkehr zur Ausgangszelle 10 Strukturformen liegen, werden diese nach Einsetzen des Fütterungsreizes auf 7

<sup>1</sup> Dynamik organischer Strukturen. Arch. Entw.mechan. 117, Nr 511.

vermindert, weil die Lösung gewisser Granula bereits einsetzt, ehe diese ausgebildet sind (Krijgsman 1928).

Ganz ähnlich können auch in oxonhaltigen Zellen einzelne Zwischenstufen des Stoffwechsels durch Einflüsse, die teils in der Zelle, teils außerhalb liegen, übersprungen werden.

Außerhalb der Zellen liegende Einflüsse gibt es zweifellos. So ist es eine bekannte Erscheinung, daß innerhalb von Lymphknötchen die granulierten, oxydasehaltigen Zellen, auch wenn sie in der Umgebung reichlich vorhanden sind, nur spärlich oder wie die eosinophilen Leukozyten in den Keimzentren überhaupt nicht gefunden werden. Dieser Einfluß von Lymphzellen auf Oxongehalt ist in der Luftröhre des Schafes besonders deutlich. Die über den Lymphknötchen liegenden Zellen geben wesentlich schwächere oder keine Oxonreaktion, auch wenn die übrigen Zellen mit Peroxydasegranula vollgepropft sind (Abb. 1). Hier ist es der Einfluß oxonnegativer Zellen auf oxonhaltige Zellen. Aber auch umgekehrt ist ein Einfluß oxonhaltiger Zellen auf oxonnegative nicht von der Hand zu weisen. Bei *Limax* und *Arion* wirken die Oxone, d. h. genauer die Stoffe, die Oxonreaktion geben, auf die Kernkörperchen im Sinne eines Abbaues, in den neutrophilen und eosinophilen Leukozyten fehlen die Nucleolen, sind also abgebaut; bei starker Schleimzellbildung werden ebenfalls die Nucleolen angegriffen und zeigen unregelmäßige Formen, die mit der sekundären Naphtholreaktion nachweisbar sind.

Man kann also sagen, daß oxonnegative Zellen die Bildung von oxonhaltigen verhindern, oxonpositive die Bildung oxonnegativer aufhalten. Hier liegt das Lymphocyten-Leukozytenproblem versteckt.

Erwähnenswert erscheint hier ein klinisches Beispiel. Nicht selten machen Psychiater die Beobachtung, daß ein eitriger Prozeß, z. B. ein Zahngeschwür, den Verwirrungszustand Schizophrener günstig beeinflußt. Nun besteht aber bei Schizophrenen (wie man mit der sekundären Kernkörperchenreaktion nachweisen kann) eine Hypersekretion der Nucleolen der Ganglienzellen gewisser Lagen der Gehirnrinde. Ist es nicht denkbar, daß die Kernhypersekretion, die oft durch das Auftreten der sogenannten Gliakernhosen noch gesteigert ist, durch die leukozytäre Hypersekretion gelähmt wird? Diese Behauptung kann durch histologische Analogien gestützt werden. Die Beobachtungen mit der primären und sekundären Naphtholreaktion zeigen, daß beide Oxone sich gegenseitig beeinflussen, daß da, wo sekundäre Oxone auftreten, die primären verschwinden. Primäre Oxone sind aber die Oxone der Leukozytengranula, sekundäre die der Kernkörperchen.

Verständlicher noch werden diese Betrachtungen, wenn man sie auf die Lympho-Leukozytenfrage anwendet. Gesetzt, es gelänge durch Mikromanipulation in den Kern neutrophiler Leukozyten ein Kernkörperchen zu überpflanzen, das in seiner Wirkung stärker wäre als das ursprüngliche aufgelöste Kernkörperchen, dann muß nach dieser

Anschaugung die Oxonbildung im Protoplasma aufhören, weil die Oxone zersetzt werden. Die Auflösung der vorhandenen oxonhaltigen Granula macht die tryptischen Fermente frei, die aber den Kern selbst nicht angreifen, weil das stärkere Kernkörperchen die Fermente neutralisiert. Bleibt ein Teil des Protoplasmas erhalten, so würde eine lymphocytenähnliche Zelle entstehen. Umgekehrt, wenn man in das Protoplasma eines Lymphocyt einen Überschuß von Leukocytengranula hineinbrächte, so würde dieser das Kernkörperchen angreifen und den Kern selbst in seiner Struktur beeinflussen, demnach den Lymphocyt in einer Zelle verwandeln, die man als myeloische Zelle bezeichnen müßte.

Da diese Transplantationen im Körper unmöglich sind, scheint diese Betrachtung ein müßiges Spiel der Einbildungskraft zu sein, aber tatsächlich stellt sie nur die *äußerste* Grenze vor von Vorgängen, die im Körper möglich sind.

Denn Asphyxie wirkt günstig auf Oxonbildung, erhöhte Oxydation dagegen zersetzend. Verminderte Sauerstoffzufuhr macht die Zellen leukocyten-, erhöhte Zufuhr lymphocytenähnlicher. Ausgeschiedene Leukocytensekrete verändern nachweisbar die Nucleolen, wahrscheinlich durch Adsorption von Partialen, Lymphocyten beeinflussen die Bildung von Oxonen.

Somit sind die Oxonbefunde auch für die Beantwortung der Lympho-Leukocytenfrage wichtig und der Nachweis, daß in Luftröhre und Bronchien des Schafes alle Oxone der Indophenolreihe vorhanden sind, kann Veranlassung zu Versuchen geben, die auch für die Blutlehre Bedeutung haben.

Es sei hier nur auf *eine* vergleichbare Veränderung der Bronchial-epithelien aufmerksam gemacht. In der bronchopneumonisch veränderten Schaftröhre fehlten die Naphtholoxidasen in den Epithelien. Bei Hyperleukocytose fehlen im menschlichen Blute meist die starke Naphtholoxidasereaktion gebenden Leukocyten. In beiden Fällen ist somit durch einen entzündlichen Vorgang die Bildung einer Naphtholoxidase beeinflußt.

Betrachtet man die erste Zellgruppe, die Gruppe, deren Zellen immer positive  $\alpha$ -Naphthol- oder die stabile Indophenolreaktion geben, so fällt auf, daß streng genommen die normalen myeloischen Zellen allein diese Bedingung erfüllen. Alle anderen Zellen geben die Reaktion ungleich stark und ungleichmäßig.

Der Grund dieser Erscheinung ist klar. Die myeloischen Zellen sind reife abgestoßene Zellen, ihre Bildung ist eine andere wie die zusammenhängender Organzellen. Zellen mit schwächerer oder negativer Reaktion bleiben an der Bildungsstätte liegen. In Wirklichkeit ist auch hier die Bildung der Oxone in verschiedenen Zellen und zu verschiedenen Zeiten eine verschiedene. Eine Ausnahme scheinen allerdings manche Mollusken zu machen, deren Oberflächenepithelien immer positiv sind. Aber auch hier findet man Schwankungen in der Stärke der Reaktion und Oxydase-schwund, sobald in den Zellen ein Pigment auftritt.

Besonders gute Beobachtungsobjekte sind Organe, in denen die Zellen rhythmisch die Oxone bilden oder in denen die Oxone auf regelmäßig angeordnete Zellabschnitte verteilt sind.

Ein Beispiel für die ersten ist der Karpfenmagen: man findet zu gewissen Zeiten die Magenepithelien negativ, dann positiv, dann die Oxone als Schleim ausgestoßen in den Magen. Ein Beispiel für die

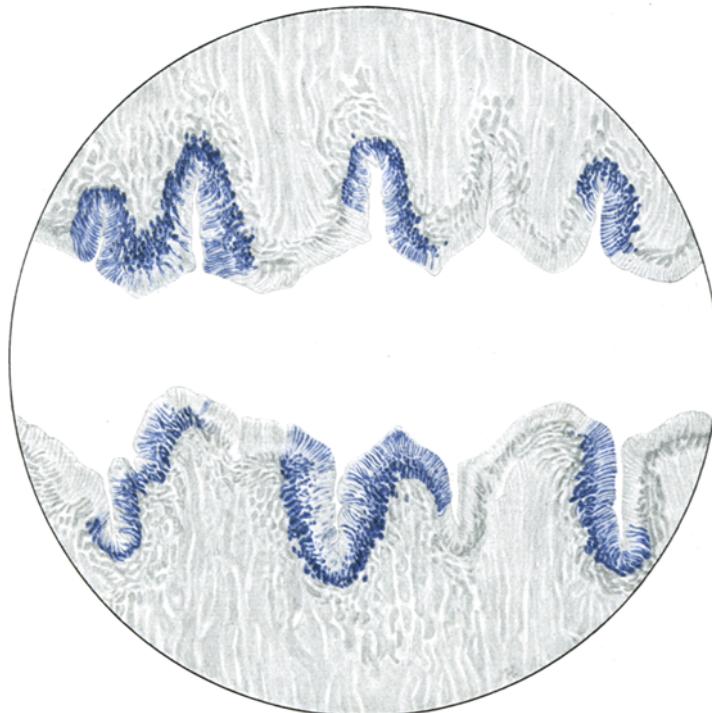


Abb. 2. *Mytilus edulis*.

zweite Gruppe sind die Naphtholperoxydasen die man bei der Miesmuschel in Epithelien findet, die wohl in Beziehung zu Byssusausscheidung stehen und die Oberflächenepithelien von *Cardium oblongum*.

Wie die Abb. 2 zeigt, sind bei *Mytilus* die Zellen sehr regelmäßig verteilt und entsprechen sich auf beiden Seiten des Kanals. Bei *Cardium*<sup>1</sup> wechseln regelmäßig pigmenthaltige und pigmentfreie Epithelien ab. Diese sind mit Naphthol- $H_2O_2$ -Gentianaviolett darstellbar.

Die Befunde zeigen, daß die Oxonbildung eine Stoffwechselphase darstellt, die nur unter bestimmten Umständen zum Dauerzustand wird. In den myeloischen Zellen ist dieser Dauerzustand mit einem Kernabbau verbunden, der wahrscheinlich die Zersetzung der Oxydasegranula verhindert.

<sup>1</sup> Abbildung in Erg. Path. 24, 38.