

Versuche mit künstlichen Granula.

Von

Dr. W. Loele, Dresden.

(Eingegangen am 30. Mai 1932.)

Mit dem System: Aminosäure, Aldehyd, Phenol, Salz hergestellte Granula gestatten es, Versuche anzusetzen, die für die Erklärung der Bildung und Leistung mancher Zellgranula herangezogen werden können.

Man stellt sich zunächst eine größere Menge der Granula her etwa in der folgenden Weise:

Phlorogluzinlösung 1%	750,0 cem
Glykokollösung 2%	375,0 cem
Formaldehydlösung 2%	375,0 cem
Calciumchloridlösung 1%	750,0 cem
(1 cem Krystallwasser auf 100,0 cem Wasser).	

Nachdem sich die Granula abgesetzt haben, wäscht man sie mehrere Male mit physiologischer Kochsalzlösung.

Läßt man die Körner in einem langen dünnen Glasrohr sich absetzen, so sind 4 Schichten erkennbar, eine rötliche untere Schicht, dann folgt eine weißliche, eine gelbliche und zuletzt eine bräunliche Schicht. Ursache dieser verschiedenen Färbung ist die Oxydation des Phlorogluzin.

Mit den gewaschenen Granula stellt man die folgenden Versuche an.

Versuch 1. Man beobachtet unter dem Mikroskop das Verhalten der Körner in einer dünnen Bicarbonatlösung. Viele Granula lösen sich sofort, andere schwellen erst zu größeren Kugeln an. Durch Verschmelzen aneinander liegender Granula entstehen oft eigenartige Figuren.

Versuch 2. Man leitet sofort Kohlensäure in die alkalische Aufschwemmung ein. Es unterbleibt, zunächst nur, solange Kohlensäure eingeleitet wird, die Lösung der sich vergrößernden Granula. Die Mischung färbt sich gelb und die Granula werden widerstandsfähiger gegen Alkali, so daß man den Laugenzusatz steigern kann, ohne daß eine Lösung eintritt. Die nun sich vorfindenden Bilder sind sehr verschieden. Die erst wie Milchkügelchen oder wie strukturlose Hefen aussehenden Granula werden größer und nehmen eine gelbliche Farbe an. Man findet Hohlkugeln, Scheiben mit zentralem Korn oder kleineren Körnchen, konzentrisch geschichtete Bildungen, endlich nach längerem Stehen eine Art gefalteter Hüllen und radiär gestreifter Scheiben. Einzelne Scheiben gleichen den sog. Schatten ausgewaschener roter Blutkörperchen.

Versuch 3. Man vermischt einen Teil der so veränderten Granula mit einer Natriumsulfitlösung, die mit Carbofuchsin versetzt ist. Der reduzierte rote Farbstoff stellt sich schnell wieder her und gestattet eine gute Färbung der Granula.

Versuch 4. Man löst Kartoffelstärkekleister durch Zusatz von Eisenchlorid und Wasserstoffsuperoxyd zu einer klaren gelblichen Flüssigkeit und bringt die künstlichen Granula in die Lösung, die Granula färben sich nach einiger Zeit purpurrot und sind in Schwefelsäure mit roter Farbe löslich, konzentrierte Salzsäure gibt einen gelblichgrünen Farbstoff.

Versuch 5. Man bringt die Granula in eine 1%ige Carbonatlösung und leitet Kohlensäure hinein. Setzt man die Reihe an:

Alkalische Naphthollösung	0,5 ccm
Glykokollösung	0,5 ccm
Granulalösung	0,5 ccm
Eisenchlorid 1 : 100	0,1 ccm

dann wird das Kohlensäureröhrchen dunkler, als ob Aldehyd in ihm enthalten wäre. (Das Kontrollröhrchen ist durch Essigsäure auf den gleichen p_H -Gehalt zu bringen.) Für diese Möglichkeit spricht der folgende Versuch.

Man leitet Kohlensäure in folgende Mischung:

Sodalösung 1%	40,0 ccm
Glykokollösung 2%	5,0 ccm
Formollösung 2%	0,1 ccm

dann ist in der mit Kohlensäure behandelten Lösung die Aldehydreaktion stärker.

Versuch 6. Nimmt man statt des Kalksalzes Kupfersulfat, so bilden sich grüne Granula.

Anwendung auf Zellvorgänge.

Versuch 1. Bei der Untersuchung oxydasehaltiger Granula sind nicht selten ähnliche Quellungs- und Lösungsvorgänge zu beobachten die überraschend schnell vor sich gehen. Eiweißzellgranula von *Limax* sind in Säuren sofort gelöst, von *Anodonta* manchmal sofort zu großer Säcken gequollen, wenn sie in eine alkalische Lösung gebracht werden. Die Quellungsformen eosinophiler menschlicher Leukocytengranula entstehen auf ähnliche Weise.

Versuch 2. Die Kohlensäure erscheint hier als Faktor, der einer lytischen Vorgang hemmt. Da man für OH mit einem gewissen Recht C setzen kann, hängt in diesem System die Lösung einer Membran vom Koeffizienten $O : CO_2$ ab. Für die „Permeabilität“ von Zelloberflächen kann ein derartiger Vorgang von Wichtigkeit sein. Sehr lehrreich ist der folgende Versuch. Leitet man in eine Aufschwemmung menschlicher roter Blutkörperchen in Kochsalzlösung Kohlensäure, so tritt die Naphtholperoxydasereaktion bereits mit geringen H_2O_2 -Mengen

ein. Verjagt man die Kohlensäure durch Sättigung des Blutes mit Luft-sauerstoff, so verhält sich das Blut wie zuvor. Hier ist die Kohlensäure ein Faktor eines peroxydatischen Systems und auch insofern für lytische Vorgänge von Einfluß, als mit Naphthol geschwärzte Blutkörperchen unlöslich gegen destilliertes Wasser und Säuren sind.

Versuch 3 und 4 lassen sich auf die Bildung tierischer und pflanzlicher Farbstoffgranula anwenden.

Versuch 5. Die Zellen des Eiters geben nur Naphtholperoxydase-reaktion, keine Oxydasereaktion, setzt man dem Eiter etwas Aldehyd (weniger als dem Partial entspricht) zu und leitet Kohlensäure in die Eiteraufschwemmung, dann gibt er nach Eisenzusatz eine Oxydase-reaktion. Hierin liegt die Erklärung dafür, daß die Granula der neutrophilen Leukocyten in den Capillaren der Nachbarschaft eitriger Einschmelzungen stärkere Naphtholoxidasereaktion geben, als die in den entfernter liegenden Gefäßen. Es ist die Einwirkung der örtlichen Asphyxie.

Versuch 6. Grünfärbung kupferhaltiger Leukocytengranula bei der Auster (*Boyoe* und *Herdmann*).

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch bei der Stärkeassimilation der Pflanze ähnliche Vorgänge eine Rolle spielen, wenigstens läßt der Zusammenhang zwischen Naphtholoxon und Reservevorräten darauf schließen. Die Fähigkeit der künstlichen Granula, geschichtete und schattenartige Scheiben zu liefern, könnte die Grundlage für die Bildung des Stärkekornes sein.

Der Versuch 2 ist noch in einer anderen Hinsicht lehrreich. Die künstlichen Granula sind erst nach mehreren Wochen alkalifest. Die Alkalifestigkeit läßt sich durch Erwärmen, schneller durch Kochen beschleunigen, wobei auch die Bildung eines gelben bzw. ockergelben Farbstoffes beschleunigt wird. Die gleiche Wirkung hat das Einleiten von CO_2 in die Granulaaufschwemmung bei steigendem Zusatz von Alkali. Es wird hier eine Leistung, die sonst in der gleichen Zeit nur durch Kochen möglich ist, durch ein bei Zimmertemperatur wirksames System erzielt.
