

Beitrag zur Bildung der Kernkörperchen.

Von
W. Loele, Dresden.

Mit 1 Tafel und 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 1. September 1932.)

Im Jahre 1900 veröffentlichte *Reddingius* eine Methode der Kernkörperchenfärbung mit *Löfflers* Methylenblau und nachfolgender Differenzierung mit Pikrinsäure-Origanumöl, die eine Trennung der Kernkörperchen in verschiedene Bestandteile gestattete. Das Kernkörperchen färbte sich grün, in ihm liegende Körper braunrot oder schwarz. Die Färbung gelang nur mit einer bestimmten Sorte Origanumöl und nur einmal, vielleicht, weil das Öl empfindliche, mit den Kernkörperchen reagierende Stoffe enthielt.

Nach der Auflösung der Nucleolen während der Mitose fanden sich die gleichen Farbtöne an verschiedenen Stellen der Zelle. Die Schleifen färbten sich braunrot mit einem schwarzen Korn, das Polfeld grün (Zellen von *Vicia flava*).

Es hat somit den Anschein, als wenn bei der Neubildung der Kernkörperchen die hierzu nötigen Stoffe sich an verschiedenen Stellen lösten und durch eine Art Krystallisationsvorgang (Krystallform ist die Kugel) sich wieder vereinigten.

Auch die Ergebnisse der sekundären Naphtholreaktion sprechen für einen derartigen Vorgang. Bei Verwendung geeigneter Extrakte von *Limax cinereus* als Beize schwärzen sich in einer alkalischen Naphtholösung nur die Kernkörperchen und bei der Teilung der Zelle die Schleifen. Umgekehrt muß sich die Schleifenoberfläche lösen, wenn das neue Kernkörperchen gebildet wird.

Daß die Färbung von *Reddingius* und die sekundäre Naphtholreaktion verwandte Stoffe zur Darstellung bringen, geht daraus hervor, daß die Spermienköpfe sich nach *Reddingius* grün, bei der Naphtholmethode schwarz färben, sich in beiden Fällen somit wie Kernkörperchen verhalten.

Worauf die Naphtholoxidasereaktion beruht, ist bekannt, auf dem System: Aminosäure-Aldehyd-Eisen.

Wenn es also gelingt, künstlich Granula herzustellen, die sich verhalten wie die Kernkörperchen gegenüber der Naphtholreaktion, ist die Möglichkeit eines Vergleiches gegeben. Künstliche Granula jeder für

Zellen in Betracht kommenden Größe können mit dem System: Aminosäure-Chromogen (Phloroglucin, Resorcin)-Aldehyd gebildet werden. Die folgende Tabelle gibt die Größenverhältnisse der Granula für die Aminosäuren Glykokoll und Leucin bei dem Zusammentreffen mit Phloroglucin, Formaldehyd und verschiedenen Säuren und Salzen wieder. Die Mengenverhältnisse sind:

Phloroglucin 1 %	1,0 ccm
Formol 2 %	1,0 ccm
Aminosäure 2 %	
Salz oder Säure	1,0 ccm.

Es bedeutet:

- 1 eben noch mikroskopisch erkennbare oder ultravisible Granula,
- 2 Granula von Kokkengröße,
- 3 Hefengröße,
- 4 von der Größe menschlicher roter Blutkörperchen,
- 5 bis makroskopisch erkennbare Bildungen.

Salze und Säuren	10 %		5 %		2 %		1/4 %	
	Glyko-koll	Leucin	Glyko-koll	Leucin	Glyko-koll	Leucin	Glyko-koll	Leucin
Natriumchlorid	3	2	3	2	3	2	2	2 u. 5
Ferrocyanalkali	2	2	2	2	1	5	2	2
Ferricyanalkali	4	4	4	4	3	2	2	2
Silbernitrat	4	3	4	3	3	3	3	3
Bleiacetat (mit 10 % gesättigte Lösung) . .	2	2	2	2	2	2	4	2
Kupferacetat	2	3	4	2	3	3	3	3
Eisensulfat	4	4	4	4	3	3	3	3
Essigsäure	4	4	4	4	4	4	3	3
Salzsäure	2	2	2	2	2	2	4	4

Erkennbar ist der Einfluß der Ionenkonzentration und Dissoziation. Die Salze der Schwermetalle bilden schon in geringen Konzentrationen große Granula, stärkere Konzentrationen hemmen, besonders bei Blei, schwächer bei Kupfer. Merkwürdig ist das Verhalten der komplexen Cyanverbindungen. Die entstehenden Granula sind zunächst homogen, nur die Riesenscheiben der Leucinverdichtungen zeigen bereits Kernbildung.

Die Granula verändern sich durch Autolyse, durch Säure und Alkalibehandlung wesentlich in bezug auf Größe, Form und Färbbarkeit. Die wichtigsten Formen sind auf der folgenden Tafel wiedergegeben und sollen kurz besprochen werden.

Granula, wie Tafel II (Abb. 1), erhält man durch Zusatz einer über 1 % igen Silbernitratlösung. Während der Bildung der Granula entsteht Silberoxyd, das wohl als Komplexsalz in Form eines schwarzen Körnchens im Zentrum der Granula ausgefällt ist. Wird das Granulum durch Alkali gelöst, so bildet sich braunes Silberoxyd. Bisweilen liegen mehrere zackige Körnchen im Inneren oder, wenn die Granula miteinander zusammenfließen, ein schwärzlicher Silberfaden.

Diese Granula sind gewissermaßen die kleinsten Pillen der Welt. Vielleicht ist diese Form auch therapeutisch verwertbar, da sie das Silber zunächst in einer nicht ohne weiteres angreifbaren Form enthält.

Wäscht man die Granula mit destilliertem Wasser und überläßt sie einige Tage sich selbst, so verändern sie sich ähnlich, wie es früher bei den Calciumchloridgranula nach Alkali-Kohlensäurebehandlung beschrieben wurde. Der mittlere Teil trennt sich von den Randteilen, wobei die Kugeln zum Teil sich vergrößern, es kommt zu Kapselbildungen und zu strahligen Streifungen, in denen sich (Abb. 6) auch Silber niederschlagen kann. Noch stärker werden die Veränderungen, wenn man Schwefelsäure auf die Granula einwirken läßt, wodurch sie zum Teil gelöst werden. Man findet dann nicht selten mehrere Kapseln ineinander geschachtelt (Abb. 8). Durch Verschmelzung mehrerer Granula entstehen die Bilder 3, wo die äußere Kapsel geplatzt ist 4, 7 und 9. Die äußere Kapsel zeigt mitunter eine sehr regelmäßige Streifung (8). In Abb. 10 sind kleine Granula ($\frac{1}{2}\%$ Silbernitrat) zusammengefloßen zu einer Kette und haben sich dabei abgeplattet. Das letzte Glied ist größer als die übrigen. Das Bild erinnert an Kettenkokken, wo auch oft das letzte Glied größer als die anderen ist.

Daß die Kernbildung nicht eine optische Erscheinung ist, zeigt die Färbung. Man läßt Neutralrot oder Janusgrün am Objektträger eintrocknen und betrachtet dann einen Granulatropfen unter dem Deckglas. Nur die autolytisch veränderten Granula nehmen die Farbe in einigen Teilen an und geben sehr regelmäßige Bilder, die wie mit dem Zirkel gezogen erscheinen (11—16). Eine örtlich begrenzte Lagerung von Metallsalzen zeigen auch die mit Eisensulfat erzeugten Granula. Durch das Eisensalz wird das Phloroglucin zu einem violetten Farbstoff oxydiert und ist, wie Abb. 17 zeigt, nur im Inneren der Granula nachweisbar. Erst wenn durch Salzsäure das Korn zur Aufquellung gebracht wird, tritt die Berlinerblaureaktion mit Ferrocyankali ein (18). Die größten Granula erhält man mit Leucin-Aldehyd-Phloroglucin bei Gegenwart von 2%igen Ferrocyankali- oder $\frac{1}{4}\%$ igen Kochsalzlösungen. Sie sind bereits bei ihrer Entstehung differenziert und gleichen einem Kern mit einem deutlichen Kernkörperchen (26). Bei Einwirkung von Schwefelsäure entstehen Bilder wie 24 und 25. Wo mehrere Kugeln aneinander liegen, bilden sich gemeinschaftliche Kapseln, einzelne Scheiben zeigen eine regelmäßige Streifung, der Mittelstreifen kann zu einem fadenförmigen Gebilde erstarren (24). Das Verhalten der künstlichen Granula gegen Säuren ist verschieden. Arginingranula sind (Wirkung der Guanidogruppe) sehr säureempfindlich, Glykokollgranula schon in frischem Zustand säurefest gegenüber schwachen Säuren, Resorcingranula bilden sich erst bei Einwirkung konzentrierter anorganischer Säuren (10%).

Daß in den Körperzellen ähnliche Bildungen eintreten, ist da zu erwarten, wo Aminosäuren, Aldehyde und Farbstoffbildner nachweisbar

sind. Es kommen hier die primären Naphtholoxydasen in Betracht und in zweiter Linie die sekundären, weil sie Partiale der Oxydasen enthalten.

Es ist somit zu untersuchen, ob aus den primären und sekundären Naphtholorten Bildungen hervorgehen, die man in Vergleich zu den künstlichen Granula setzen kann und weiter den Nachweis zu liefern, daß die künstlichen Granula, die Partiale der Naphtholoxydase enthalten,

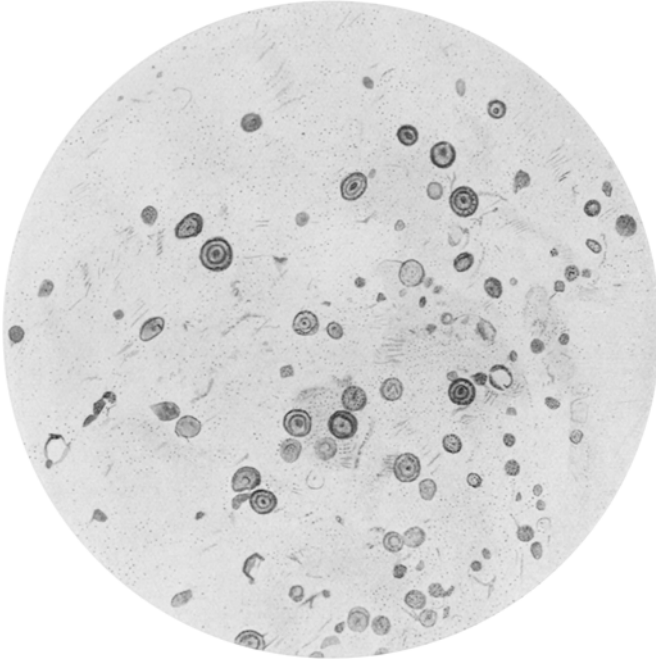


Abb. 1. Sekundäre Naphtholreaktion bei Planorbis.

ohne selbst die Naphtholreaktion zu geben, sich durch die sekundären Naphtholmethoden darstellen lassen.

Von den eosinophilen Leukocytengranula des Menschen, die Naphtholoxydasen enthalten, ist durch die Untersuchungen von *Petry* und *A. Neumann* bekannt, daß sie Leucin und Tyrosin abspalten, Quellungsformen habe ich bei diesen Granula wiederholt gefunden. Die Eiweißzellgranula von *Limax* (Abb. 22) bilden durch Autolyse Formen wie 23, die keine Oxonreaktion mehr geben. *Planorbis corneus* zeigt im Gewebe geschichtete Scheiben, die sekundäre Naphtholreaktion geben (Abbildung im Text). Bei *Doris verrucosa*, einer Nacktschnecke des Meeres, finden sich gegliederte stachelartige Gebilde mit sekundärer Reaktion, die autolytisch zerfallend zahlreiche Leucinkristalle ausscheiden (in Formol eingelegt nach 2 Jahren).

Bei den primären Naphtholoxydasen ist somit die Beteiligung von Aminosäuren an der Granulabildung sehr wahrscheinlich, ebenso bei den sekundären Oxydasen, die sich mit der sekundären Granulareaktion darstellen lassen, da, wo sie aus primären Oxydasegranula entstanden sind (durch Quellungen).

Wie verhält sich nun das Kernkörperchen?

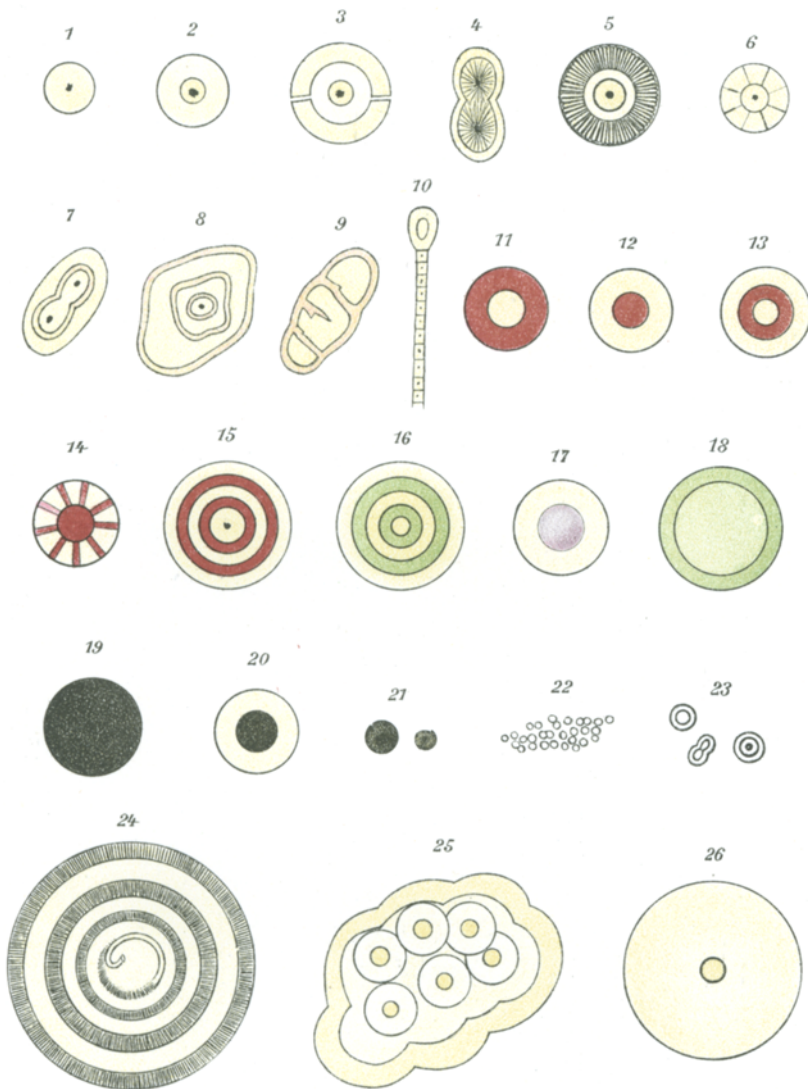
Nach Alkohol- oder Carbolsäurehärtung geben bei Arion und Limax einzelne Kernkörperchen die primäre Naphtholoxydasereaktion, enthalten somit an der Oberfläche Aminosäuren und Aldehyd. Alle Kernkörperchen bei Tier und Pflanze geben nach Formolfixation die sekundäre Naphtholreaktion, enthalten somit als Partial wahrscheinlich eine Aminosäure.

Nicht alle Kernkörperchen sind durch basische Farbstoffe färbbar. Die Kernkörperchen verhalten sich zum Teil wie die nicht aufgeschlossenen Phloroglucingranula. Auch die nicht färbbaren Nucleolen werden nach Eintreten der sekundären Naphtholreaktion in lichtbrechende, nach Abblässen der Färbung erkennbare Körnchen umgewandelt. Legt man ältere künstliche Granula in Gelatine ein, härtet sie in Formol und behandelt die Schnitte mit Schneckenextrakten, so schwärzt sich in alkalischer Naphthollösung ein Teil der Granula, wie es Abb. 19—21 zeigen. Die künstlichen Granula verhalten sich zum Teil wie die Kernkörperchen oder umgekehrt die Kernkörperchen verhalten sich wie die künstlichen Granula.

Faßt man diese Tatsachen zusammen, so kommt man zu dem Wahrscheinlichkeitsschluß, daß bei der Bildung der Nucleolen die gleichen Faktoren beteiligt sind wie bei der Bildung der künstlichen Granula.

Wie es bei den künstlichen Granula möglich ist, Eiweiß, Lipoide und Kohlehydrate an die Granula zu binden, wird auch in der Zelle das fertige Kernkörperchen ein Gemisch von allen möglichen Stoffen sein, so daß der Eiweiß-Lipoidcharakter seine Entstehung verdeckt.

Der Mechanismus der Entstehung ermöglicht es, daß fremde Faktoren, die in den Kern oder bei der Teilung der Zelle in das Plasma gelangen, in das Kernkörperchen eingebaut und von diesem aus auf die Chromosomen übertragen werden. Das ist in bezug auf die Vererbung (Mutation) wichtig. Wenn erst erkannt wird, auf welchen pathologischen Systemen die nachweisbare charakteristische Veränderung der Kernkörperchen bei bösartigen Geschwülsten beruht, ist vielleicht ein Weg zur Heilung durch Arzneimittel gegeben.



Künstliche Granula

- 1-10 Phloroglucin - Glykokoll - Silbernitrat - Aldehyd Granula
 11-15 Silbernitratgranula - Neutralrot. 16 Janusgrün
 17-18 Eisensulfat. 18 Berlinerblaureaktion
 19-21 sekundäre Naphthol-Kernkörperchen-Reaktion. 22.23 Granula von Limax
 24-26 Phloroglucin - Leucin - Aldehyd Granula. 24.25 Behandlung mit
 Schwefelsäure (5%)