

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. ERICH MÜLLER).

Über Leukocytenabbau und Auftreten von Eiweißkrystallen in der Kaninchenmilz.

Von

KARL LENNERT und HEINZ STIRNWEIS.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Dezember 1949.)

Während die Bildung der Blutzellen durch die Methoden der Histologie und Cytologie weitgehend geklärt ist, kann man über den Untergang bzw. Abbau der Blutelemente nur wenig aussagen. Am besten weiß man noch über den Erythrocytenabbau Bescheid, die Leukocytenmauserung liegt dahingegen weitgehend im Dunkel. Zudem ist das Studium des Leukocytenunterganges nach den Angaben der Literatur deshalb besonders schwierig, weil die Schwankung von Tier zu Tier eine ganz beträchtliche zu sein scheint, worauf schon MAXIMOW hinweist. Wir wollen daher einige wesentliche Arbeiten der Literatur nur zitieren, ohne näher darauf einzugehen (ASCHOFF, BLASIUS, CHRISTELLER und EISNER, EPPINGER, GOLDSCHIEDER und JAKOB, HEILMEYER und v. MUTIUS, HELLY, HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN, HETT, HIRSCHFELD, LIFSCHITZ, LÜBBERS, LÜBBERS und KOCH, STAEMMLER, TRAMONTANO, WEIDENREICH). Vielmehr soll im folgenden lediglich die Leukocytenmauserung bei einer Tierspecies, nämlich beim Kaninchen, nach Literatur und eigenen Untersuchungen im einzelnen besprochen werden.

UNDRITZ berichtet über das ziemlich häufige Auftreten von leukocyitären Abbauförmern im peripheren Blut des Kaninchens und nimmt an, daß sie zufällig aus den blutzerstörenden Organen des Kaninchens ausgeschwemmt werden und nicht etwa primär im strömenden Blut zugrunde gehen. BORGHl injizierte Kaninchenleukocyten aus Bauchhöhlenexsudat, die mit Kongorot gefärbt waren und beobachtete ein rasches Verschwinden der eingespritzten Zellen aus dem Blut, wobei der Milz und Lunge eine besondere Rolle beigemessen wurde. SEYDERHELM und OESTREICH jedoch kamen mit ähnlicher Versuchsanordnung zu einem anderen Ergebnis; sie glauben nämlich, daß die Eiterleukocyten besonders in der Leber abgebaut würden. In diesem Zusammenhang sind auch die Versuche von WALLBACH zu erwähnen, welcher normale, gewaschene Kaninchenleukocyten injizierte und dabei keine gesteigerte Hämophagie im R.E.S. beobachtete, weshalb er einen vorwiegend humoralen Abbau der Leukocyten annimmt. Dem widersprechen die Befunde von BENDER, BIANCHI, DOMINICI, SEELIGER und GORKE, SJÖVALL, STEUDEMAN und WERZBERG, welche der Leukocytenphagocytose in der Milz eine besondere Bedeutung beimessen. Schließlich haben auch noch LANG und PFUHL phagocytierte Leukocyten, allerdings in den KUPFFERSchen Sternzellen der Leber, beschrieben.

Wir sehen also, daß weder hinsichtlich des Ortes des Leukocytenabbaues (Lunge, Leber, Milz, Blutbahn?) noch der Art und Weise ihres Unterganges (humoral, Phagocytose? — auch die Auswanderung aus den Schleimhäuten wäre noch zu berücksichtigen!) Klarheit besteht. Auf den Ort des Leukocytenabbaues wollen wir hier im einzelnen nicht eingehen, doch sei soviel gesagt, daß wir in Leber und Lungen niemals einen stärkeren Leukocytenuntergang fanden, auch dann nicht, wenn in der Milz die Zeichen einer hochgradigen Leukocytenmauserung zu erkennen waren. Wir glauben daher, daß die *Milz das entscheidende Organ beim Leukocytenabbau des Kaninchens* darstellt und wenden deshalb der *Morphologie* dieses Vorganges im folgenden unser besonderes Augenmerk zu.

Material und Methoden.

Dieser Arbeit liegen Beobachtungen zugrunde, die bei verschiedenen Versuchsreihen an etwa 150 Kaninchenmilzen erhoben werden konnten. Im einzelnen wurden an den Tieren Experimente mit Urethan (LENNERT und ILGNER) sowie Antikörperversuche unter Urethan- und Thorotrasteinwirkung (LENNERT und BORNEFF) vorgenommen. Weiterhin standen uns zahlreiche Kontrolltiere zur Verfügung. Die Kaninchen wurden jeweils durch Nackenschlag getötet und sofort nach Entblutung seziiert, so daß die entnommene Milz spätestens nach 10 min in die Fixierlösung eingelegt werden konnte. Als solche wurde fast ausschließlich Zenker-Formol nach MAXIMOW verwandt. Sämtliche Präparate wurden sodann in Paraffin eingebettet und zunächst mit Hämatoxylin-Eosin sowie vor allem mit Azur II-Eosin nach MAXIMOW gefärbt. Die weiteren angewandten Färbemethoden werden im Verlaufe der Arbeit besprochen.

I. Der Leukocytenuntergang in der Kaninchenmilz.

Morphologie. In der roten Milzpulpa des Kaninchens findet sich vielfach eine große Zahl phagocytierender Zellen, welche Erythrocyten, Leukocyten und nach BIANCHI angeblich auch Thrombocyten bzw. deren Trümmer enthalten. Nach SEELIGER und GORKE sollen verschiedentlich auch Lymphocyten in den Makrophagen enthalten sein, STEUDEMANN verneint jedoch diesen Befund, und auch wir glauben, daß Lymphocyten nur ganz vereinzelt, wenn überhaupt, in den Makrophagen anzutreffen sind. Diese Hämophagen besitzen oft ein gewaltiges Ausmaß und können sogar die Größe von 100μ überschreiten, weshalb sie von DOMINICI als „Gigantophagen“ bezeichnet werden. Ihr Kern (es können nach SJÖVALL auch mehrere sein) entspricht in seiner Größe denjenigen der Retothelzellen, ist chromatinarm und daher oft nur in seinen Konturen erkennbar. Er enthält meist einen einzigen Nucleolus und ist von rundlich-ovaler, gelegentlich unregelmäßiger Form. Das kaum angefärbte Plasma der Gigantophagen enthält alle Abbaustufen vom unversehrten Granulocyten bis zu den letzten Überresten derselben. Außer dieser innerhalb der Makrophagen stattfindenden Leukocytolyse finden sich aber auch innerhalb der Pulpastränge, meist in größeren

Gruppen angeordnet, ebenfalls untergehende Leukocyten in Form sog. Trümmerfelder, die SJÖVALL als Leukocyten-„Friedhöfe“ bezeichnet. Hier sahen wir in Übereinstimmung mit SJÖVALL Granulocyten in den verschiedensten Auflösungsstadien und dazwischen Reticulumzellkerne. Dabei ist die Entscheidung, ob die untergehenden Leukocyten sich in dem schwach färbbaren Plasma der im Verband liegenden Retothelien befinden oder ob sie frei und damit extracellulär in den Pulpamaschen gelegen sind, oft nicht leicht zu treffen. SEELIGER und GORKE glauben die Leukocytentrümmer stets nur innerhalb der Makrophagen gefunden zu haben, doch geben schon DOMINICI und STEUDEMANN einen extracellulären Zerfall zu, während SJÖVALL und BIANCHI beide Möglichkeiten offen lassen. Wir glauben, daß neben der Phagocytose durch die vorwiegend in den Sinus liegenden und damit abgestoßenen Retothelien dem extracellulären Leukocytenabbau in den Pulpasträngen eine nicht unwesentliche Rolle zukommt. Dies konnten wir besonders eindrucksvoll in mehreren Milzpräparaten beobachten, die maximale Mengen von Thorotrast gespeichert hatten und in welchen dann praktisch nur noch ein extracellulärer Leukocytenzerfall zu sehen war.

Im einzelnen verläuft der Untergang der Leukocyten¹ auf folgende Weise: Der *Kern* verdichtet sich, sein Chromatin tingiert sich dementsprechend intensiver mit Kernfarbstoffen. Gleichzeitig reißen die Verbindungsfäden zwischen den einzelnen Kernsegmenten und der Kern wird wirklich „polynucleär“. Die einzelnen Kerntrümmer nehmen dann rundliche Formen an und zersplittern sich weiter in mehr oder weniger zahlreiche kleinste Kugeln. Dieser Vorgang kann schließlich bis zum Zerfall in staubförmige feinste Kerntrümmer führen. Während die größeren Kernkugeln dabei häufig nur eine starke Kernwandhyperchromatose mit hellerem, beinahe vacuolenartigem Inneren aufweisen, sind die mittelgroßen und kleineren Kerntrümmer stets in ganzer Fläche stark basophil gefärbt. Daß es sich bei diesen basophilen Trümmern wirklich um Kernreste der Leukocyten handelt, geht daraus hervor, daß sie sich nicht nur mit allen Kernfarbstoffen gut darstellen lassen, sondern auch mit Hilfe der FEULGENschen Nuclealreaktion gefärbt werden.

DOMINICI hat im Toluidinblau-Eosin-Orange-G-Präparat die anfänglich dunkelblaue Farbe der Kerntrümmer schließlich in dunkelblaugrünen bis hellgrünen Farbton umschlagen sehen, desgleichen soll bei

¹ Die folgenden Angaben beziehen sich auf den Abbau der pseudoeosinophilen Granulocyten. Die eosinophilen Leukocyten sind sicherlich nur in geringem Maße an dem zu schildernden Leukocytenzerfall beteiligt, aber nur schwer von den Spezialleukocyten zu trennen. Basophile Granulocyten sind in unseren Präparaten nicht zu beurteilen, da sämtliche Organe in wäßriger Lösung fixiert wurden und nicht etwa in alkoholischer Lösung, wie das zur Erhaltung der Mastzellengranula nötig gewesen wäre.

Färbung mit Pikrocarmin und saurem konzentriertem Hämatein eine Farbänderung der Kerntrümmer von rot nach violett stattfinden. DOMINICI nennt diesen Vorgang „Karyolyse métachromatique“. Wir konnten dahingegen in unseren Azur II-Eosin-Präparaten keinen sicheren Farbumschlag feststellen, höchstens eine geringe Änderung des Farbtons von dunkelblau nach dunkelblau-violett.

Die *pseudoeosinophilen Granula* der Leukocyten, die anfangs deutlich auch innerhalb der phagocytierten Zellen sichtbar sind und dabei oft noch nahe beieinander liegen, werden anscheinend einzeln abgebaut, so daß schließlich häufig nur vereinzelte Granula in Makrophagen oder auch Trümmerfeldern den untergegangenen Leukocyten anzeigen. Vorher treten die Granula vielfach auseinander und liegen gruppiert in größerem Abstand voneinander, wobei man den Eindruck hat, daß die Plasmamembran geplatzt ist und sich die Granula in die Umgebung zerstreuen. Keinesfalls ist aber die Beobachtung von DOMINICI als Regelfall anzusehen, wonach die Granula beim Abbau zu einer homogenen Masse zusammenfließen sollen. Vielmehr glauben wir, daß diese Behauptung DOMINICIS eine Folge seiner andersartigen Färbetechnik ist; denn auch wir konnten bei Anwendung der Toluidinblau-Eosin-Orange-G-Färbung die Konfluenz der Granula beobachten, während die einzelnen Granula im Azur II-Eosin-Präparat in der Regel distinkt dargestellt sind. Sie erscheinen also sehr resistent, worauf auch die Tatsache hinweist, daß oft gar keine Kernteile mehr vorhanden sind oder nur noch staubförmige Kerntrümmer, während die Granula noch wohl erhalten und leuchtend rot darstellbar sind. Andererseits gibt es auch Kerntrümmer (von basophilen Leukocyten?), die in ihrer Umgebung keine Granula erkennen lassen. Über das Protoplasma der Granulocyten können keine näheren Angaben gemacht werden, da es sich ja auch bei subtilster Technik auf Grund der Überlagerung durch die Granula nur sehr schwer darstellen läßt.

Der Leukocytenabbau verläuft außerhalb wie innerhalb der Makrophagen *morphologisch* in der gleichen Weise, und es ist möglich, daß die in der Pulpa nicht völlig abgebauten Leukocyten phagocytiert und vollends aufgearbeitet werden. Die Makrophagen selbst gehen wohl zum Teil in der Pulpa zugrunde, worauf eine gelegentliche pyknotische Umwandlung ihrer Kerne schließen läßt. Sie können aber auch über die Pulpa- und Trabekelvenen in die Milzvene und damit in die Pfortader gelangen, in welcher sie ebenfalls schnell dem humoralen Untergang anheimfallen dürften. Jedenfalls gelang uns niemals der Nachweis speichernder Makrophagen in den Pfortaderästen der Periportalfelder der Leber.

Vorkommen. Dieser Abbau der *pseudoeosinophilen Granulocyten* stellt einen völlig normalen Befund in der Kaninchenmilz dar. Er kommt

mehr oder minder stark bei allen Tieren vor und ist oft recht ausgeprägt. Dies betonen neben DOMINICI, SEELIGER und GORKE besonders SJÖVALL und BIANCHI. Auch an Hand unserer zahlreichen untersuchten Kaninchen ließ sich in der Mehrzahl der Tiere und zwar unabhängig von den verschiedensten Versuchsbedingungen ein deutlicher Leukocytenuntergang in der Milz nachweisen. Vor allem boten gerade die gesunden Kontrolltiere, übrigens verschiedenster Herkunft, vielfach ausgesprochen eindrucksvolle Trümmerfelder in den Milzschnitten.

Eine *Vermehrung des Leukocytenunterganges* in der Kaninchenmilz wurde von DOMINICI bei Septicämie gesehen, SEELIGER und GORKE beschrieben einen verstärkten Leukocytenabbau nach intravenöser Injektion von Pepton, und in besonderem Ausmaß STEUDEMANN nach Milzvenenunterbindung. BIANCHI allerdings hat bei der Nachprüfung der STEUDEMANNschen Versuche eine Einflußnahme der Stauung auf den Leukocytenuntergang offen gelassen. SJÖVALL glaubte bei seinen Entblutungsversuchen eine geringe Vermehrung untergehender Leukocyten feststellen zu können. Bei urethanbehandelten Kaninchen ist kein gesteigerter Leukocytenzerfall nachweisbar (LENNERT und ILGNER), nach unseren neuerlichen Untersuchungen scheint der Leukocytenuntergang nach länger dauernder Urethanbehandlung eher vermindert zu sein. Außerdem konnte von LENNERT und ILGNER nachgewiesen werden, daß die Zahl der Kernsegmente im peripheren Blut keine Beziehung zum Grad des Leukocytenunterganges in der Milz hat, insbesondere, daß eine Rechtsverschiebung des Blutbildes im Sinne ARNETHS über das Ausmaß des Leukocytenabbaues in der Milz nichts aussagt.

II. Über das Auftreten von Krystallen beim Leukocytenabbau des Kaninchens.

Bei dem Studium des Leukocytenabbaus in der Kaninchenmilz ist uns immer wieder das Vorkommen von eigenartigen Krystallen aufgefallen, die nunmehr näher besprochen werden sollen. Diese hat bereits im Jahre 1900 DOMINICI beschrieben, wir fanden jedoch nirgends in der Literatur diesen Befund zitiert und entdeckten die Arbeit selbst erst unmittelbar vor Abschluß der vorliegenden Studie. DOMINICI betrachtet sie als Umwandlungsprodukt zerfallender Leukocyten und beschreibt sie wie folgt: „Es handelt sich um spitze, lange Krystalle, die zu Bündeln vereinigt oder einzeln im Leib von Makrophagen liegen, nach Art von Nadeln, die sich bei Toluidinblau-Eosin-Orange-G-Färbung intensiv rotviolett tingieren.“ Außer dieser kurzen Beschreibung, einer instruktiven Abbildung und der Deutung als Leukocytenderivate wurde über die Krystalle nichts weiter ausgesagt.

Form der Krystalle. Sie stellen lange dünne Nadeln (s. Abb. 1) mit einer Durchschnittsgröße von etwa 18μ dar, es gibt aber auch größere

und noch häufiger wesentlich kleinere Krystalle. Sie besitzen eine gewisse Ähnlichkeit mit einer Magnetnadel und damit mit den CHARCOT-LEYDENSchen Krystallen, sind aber wesentlich schlanker als diese und erscheinen gelegentlich auch leicht gebogen oder sogar gewellt (s. Abb. 4). Auch kommen etwas plumpere und nicht zugespitzte Formen vor, die dann vielfach die angegebene Durchschnittsgröße deutlich überschreiten können. Schließlich erkennt man vereinzelt auch große, bandartige

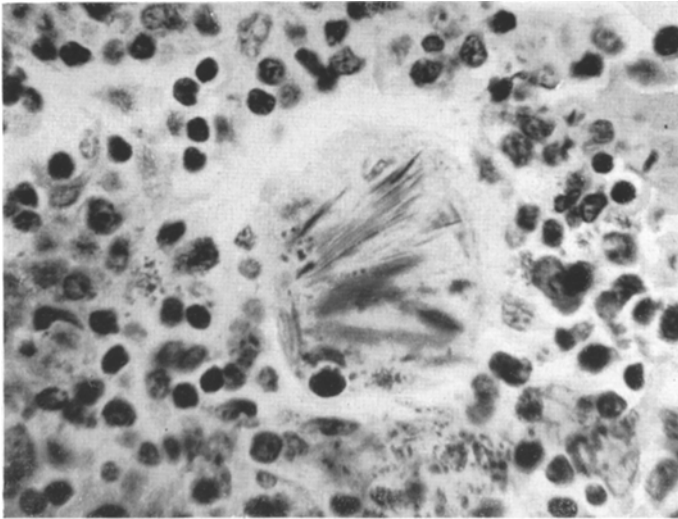


Abb. 1. „Gigantophag“ mit sehr reichlichen, teils parallel gelagerten, teils unregelmäßig angeordneten Krystallen, ferner mit Granulis von pseudoeosinophilen Leukocyten und Kerntümmern sowie einem noch erhaltenen Spezialgranulocyten. Auch in der Umgebung des Gigantophagen starker Leukocytenzerfall. Azur II-Eosinfärbung nach MAXIMOW. Vergr. 1000fach.

und ungefärbte, sowie stark lichtbrechende Gebilde, die nicht sicher zu den hier zu besprechenden Krystallformen gehören und deshalb bei der weiteren Besprechung außer acht gelassen werden sollen.

Nicht immer ist die Form der typischen Krystalle genau auszumachen, da sie sich manchmal nicht distinkt von ihrer Umgebung abheben. Dies wirkt sich noch mehr bei der Beurteilung von quergetroffenen Krystallen aus, deren genaue Konfiguration auf Grund der geringen Größe der Gebilde ohnehin nicht zu ermitteln ist.

Färberisches Verhalten. Zuerst erkannten wir die Krystalle in dem nach MAXIMOW gefärbten Azur II-Eosin-Präparat (s. Abb. 1 und 4), in welchem sie sich zart stahlblau bis fliederfarben darstellen. Dabei kann man vielfach feststellen, daß der Rand des Krystalls scharf konturiert und gefärbt ist, während das Innere des Krystalls ungefärbt und stark lichtbrechend erscheint. Auch kommt durch Nebeneinanderlagerung

der Gebilde häufig ein schraffiertes Aussehen des Krystallbündels zustande, indem sich gefärbte und ungefärbte Krystallanteile parallel nebeneinander formieren (s. Abb. 2). Daneben sieht man völlig ungefärbte Krystalle, was gleichfalls bei anderen Färbemethoden festzustellen ist, die sich zum Nachweis der Krystalle eignen.

Bei Hämatoxylin-Eosin-Färbung erscheinen sie eosinrot, mit der WEIGERTSchen Fibrinfärbung blau, mit der Azanfärbung lachsrot bis

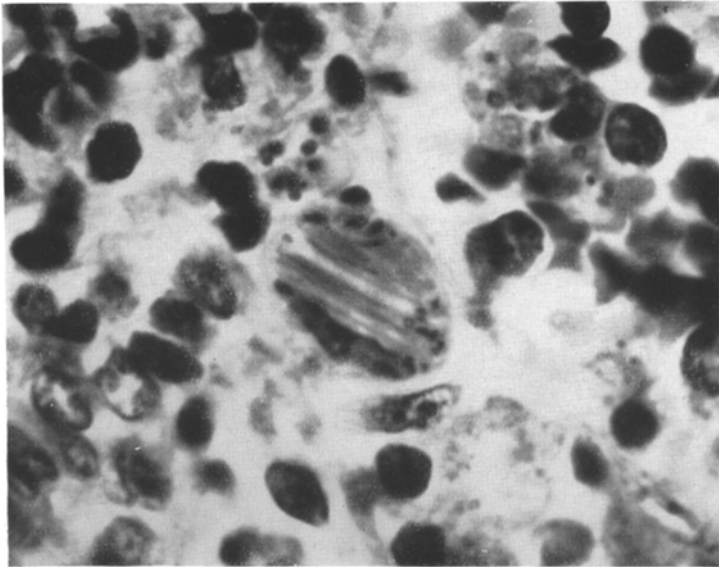


Abb. 2. Makrophag mit reichlichen parallel gelagerten, teils gefärbten, teils ungefärbten Krystallanteilen. Daneben sind noch Kerntrümmer und der erhaltene Phagenkern in der stark vergrößerten Zelle sichtbar. LADEWIG-Färbung. Vergr. 1800fach.

rot, und mit der Mastzellenfärbung nach DOMINICI metachromatisch rot-violett. Mit Kongorot und Mucicarmin lassen sie sich nicht darstellen, desgleichen nicht mit der Berlinerblau- und FEULGENSchen Nuclealreaktion. Bei der BESTSchen Carminfärbung werden sie gelegentlich schwach rosarot tingiert, bei der v. Gieson-Färbung zum Teil kräftig rot. Die beste Darstellung der Krystalle erfolgt durch die Färbung nach LADEWIG (Abb. 2), bei der sie sich intensiv kornblumenblau anfärben und damit besonders deutlich aus ihrer Umgebung hervortreten. Diese Färbung ist von besonderer Bedeutung noch deswegen, weil sie außer der distinkten Darstellung auch über die Entstehung der Krystalle Aufschluß zu geben vermag. Manchmal liegen nämlich die Krystalle inmitten ebenfalls blau gefärbter, amorpher Eiweißmassen, in welchen die Krystallbildung zunächst ganz verschwommen und nur schemenhaft erkennbar, später deutlicher abgesetzt gleichsam in statu

nascendi zu verfolgen ist (s. Abb. 3). Gelegentlich sieht man auch innerhalb von Makrophagen den blauen amorphen Eiweißkörper neben untergehenden Leukocyten, ohne daß es bereits zu einer Auskrystallisierung des Eiweißes gekommen wäre.

Die nach den Färbungen wahrscheinlich gemachte Eiweißnatur der Krystalle versuchten wir noch chemisch zu erhärten (Xanthoprotein-, Biuret- und Ninhydrinreaktion), was bisher aus technischen Gründen aber nicht möglich war. Auch die Frage, ob etwa Lipotide in den

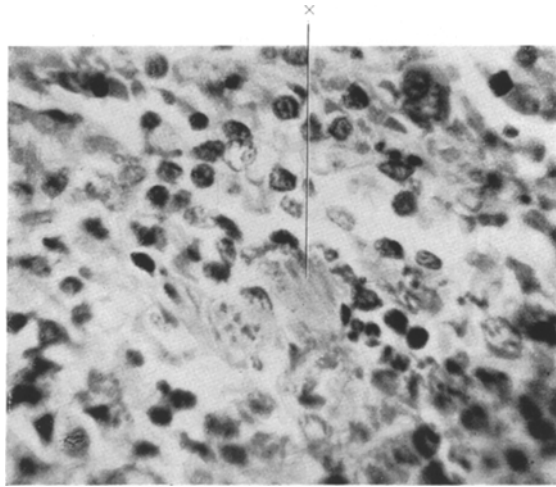


Abb. 3. Noch ziemlich amorphe Eiweißmassen mit beginnender Krystallbildung (x) in einem Trümmerfeld der Pulpa. LADEWIG-Färbung. Vergr. 900fach.

Krystallen mitvorhanden sind, konnten wir noch nicht klären, da uns außer den in Paraffin eingebetteten Organen keine Milzpräparate mit starkem Leukocytenuntergang, die nicht durch die Alkoholreihe gegangen sind, zur Verfügung stehen¹.

Vorkommen. Sowohl Krystalle als auch die amorphen Eiweißmassen befinden sich meist innerhalb der Trümmerfelder (Abb. 3 und 4) und der Leukophagen (Abb. 1 und 2), also in unmittelbarer Beziehung zu zerfallenden Leukocyten, wobei die intracelluläre Lagerung in den Makrophagen etwas häufiger zu sein scheint. Hier liegen die Krystalle parallel (Abb. 2) oder in unregelmäßiger Anordnung (zum Teil Abb. 1) nebeneinander. Manchmal sind sie auch in der Einzahl vorhanden und ragen dann gelegentlich mit beiden Spitzen aus dem phagocytierenden Zelleib heraus. Innerhalb von unversehrten Leukocyten waren Krystalle niemals nachweisbar, desgleichen nicht in der weißen Pulpa der Milz.

¹ Nach Drucklegung der Arbeit konnten wir noch an Gefrierschnitten einiger normaler Kaninchenmilzen Krystalle mit dem Polarisationsmikroskop untersuchen, wobei keine Doppelbrechung festzustellen war.

Um dem Wesen der Krystalle näher zu kommen, untersuchten wir, in welchem Zahlenverhältnis die aufgefundenen Krystalle zu dem Grad des Leukocytenunterganges stehen. Dabei konnten wir vielfach eine annähernde Übereinstimmung in dem Auftreten von Krystallen und Leukocytenuntergang beobachten. Allerdings sahen wir auch Fälle mit starkem Leukocytenuntergang, die keine oder nur eine geringe Krystallbildung erkennen ließen. Dagegen war beim Auftreten von Krystallen

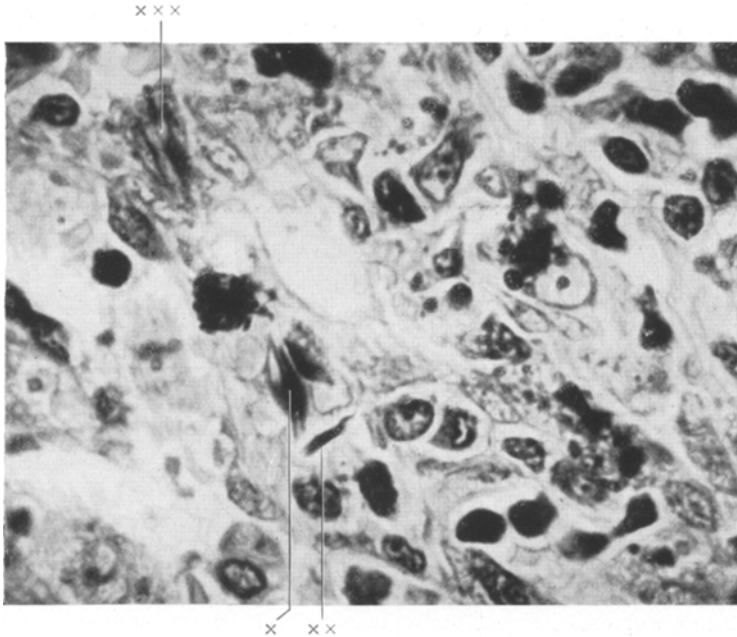


Abb. 4. Krystalle in den Marksträngen der Pulpa. Bei \times gebogen, bei $\times \times$ leicht geschlängelt, bei $\times \times \times$ innerhalb eines Trümmerfeldes. Azur II-Eosinfärbung nach MAXIMOW. Vergr. 1800fach.

stets ein deutlicher Leukocytenuntergang vorhanden. Es kann also nicht von einem starken Leukocytenuntergang auf eine große Zahl von Krystallen geschlossen werden, sondern es darf nur umgekehrt bei der Anwesenheit von Krystallen ein stärkerer Leukocytenuntergang erwartet werden.

Deutung. Aus den angewandten Farbreaktionen (Fibrin-, Azan-, v. GIESON-, BEST-, MAXIMOW-Färbung) und besonders aus dem Ergebnis der LADEWIGSchen Färbung geht hervor, daß es sich bei den Leukocytenkrystallen wohl um einen *Eiweißkörper* handelt, der aus zunächst amorphen Eiweißmassen auskrystallisiert und färberisch einer Substanz nahesteht, die im kollagenen Bindegewebe vorkommt, sicher aber nicht Fibrin darstellt, wie nach dem Ausfall der Fibrin-, Azan- und

auch BESTschen Carminfärbung angenommen werden könnte. Welche Momente für die Auskrystallisierung des Eiweißkörpers verantwortlich zu machen sind, etwa gewisse Milieuverhältnisse, läßt sich morphologisch nicht sagen. Ob etwa auch Lipide oder Kohlenhydrate an der Krystallbildung beteiligt sind, kann zwar nach unseren Befunden noch nicht endgültig ausgeschlossen werden, wir halten es aber für unwahrscheinlich. Denn einmal konnten wir keine Doppelbrechung der Krystalle beobachten und zum anderen darf man den teilweise positiven Ausfall der BESTschen Carminfärbung keineswegs als Beweis für einen etwaigen Glykogengehalt der Krystalle ansehen (s. ROMEIS); denn mit dieser Reaktion sind außer Glykogen noch bestimmte Eiweißkörper anzufärben, darunter auch Fibrin (s. aber den positiven Ausfall der WEIGERTschen Fibrinfärbung). Auch spricht gegen einen Glykogengehalt der Krystalle die Wahrscheinlichkeit, daß schon durch die wäßrige Fixierlösung das Glykogen herausgelöst wurde.

Nachdem färberisch erwiesen ist, daß die Krystalle mindestens zum Teil oder sogar vorwiegend aus Eiweiß bestehen, erhebt sich die Frage nach ihrer Entstehung. Darauf kann die Tatsache, daß die Krystalle nur bei stärkerem Leukocytenuntergang vorkommen, eine Antwort geben und somit kann kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß die Krystalle aus den Zerfallsprodukten der Leukocyten hervorgehen, was schon DOMINICI annahm. Es ist nun aber zu klären, ob der Kern oder das Plasma der Granulocyten für die Entstehung der Krystalle verantwortlich zu machen ist. Diese Frage ist schwer zu entscheiden, doch spricht die Unmöglichkeit der Darstellung der Krystalle mit Kernfarbstoffen, insbesondere mit Hämatoxylin, etwas gegen eine Entstehung aus dem Leukocytenkern. Die negative FEULGENsche Reaktion zeigt uns an, daß keine Thymonucleinsäuren in den Krystallen vorhanden sind. Andererseits weiß man von den CHARCOT-LEYDENSchen Krystallen, daß sie sich aus den Granulis der Eosinophilen entwickeln. Eine Krystallbildung aus den plasmatischen Bestandteilen von Leukocyten ist also bereits bekannt, eine solche aus Kernsubstanzen wurde unseres Wissens noch nicht beobachtet. Wir glauben daher insgesamt mehr an eine Entstehung der Krystalle aus den Granulis der Leukocyten. Versuchen wir nun aber zu entscheiden, welche Granula, die pseudoeosinophilen, die eosinophilen oder die basophilen, im einzelnen dafür verantwortlich zu machen sind, können wir keine sicheren Angaben machen. Wohl war dann, wenn Krystalle nachgewiesen werden konnten, auch ein deutlicher Untergang pseudoeosinophiler Granulocyten zu beobachten, so daß man an einen genetischen Zusammenhang denken muß. Andererseits gab es auch Fälle mit starkem Abbau pseudoeosinophiler Granulocyten, aber ohne Krystallbildung. Als Erklärung für dieses diskrepante Verhalten kommen folgende Möglich-

keiten in Betracht: 1. Könnte man sich vorstellen, daß je nach der Schnelligkeit (nicht nach dem Ausmaß!) des Leukocytenzerfalls das eine Mal eine größere, das andere Mal eine kleinere Zahl von Krystallen entsteht; 2. könnten noch ungeklärte kolloidchemische Faktoren eine Rolle spielen; 3. wäre daran zu denken, ob nicht etwa die basophilen Leukocyten, die sich mit den angewandten Färbemethoden auf Grund der Wasserlöslichkeit ihrer Granula nicht darstellen lassen, als Muttersubstanz der Krystalle in Frage kommen. Das wäre aber nur dann möglich, wenn die wasserlöslichen Granula bei ihrem Abbau in eine wasserunlösliche und mit unseren Färbungen daher darstellbare Form übergängen, wofür aber keine Anhaltspunkte bestehen. Somit ist eine Entstehung der Krystalle aus den Granula der basophilen Leukocyten nicht erwiesen und dürfte auch unwahrscheinlich sein. Das gleiche gilt für die Annahme eines genetischen Zusammenhangs zwischen dem Abbau eosinophiler Leukocyten und dem Auftreten von Krystallen; denn bei dieser Granulocytenart konnten wir keine Parallele von Zahl der untergehenden Zellen und Menge der nachweisbaren Krystalle beobachten. Bei der Bewertung dieses Befundes muß man aber bedenken, daß die eosinophilen Leukocyten nicht immer scharf von den pseudoeosinophilen zu unterscheiden sind, doch gelang uns dies meist mit annähernder Sicherheit durch Berücksichtigung der Granulagröße und Kernform.

Insgesamt kann man nur soviel sagen, daß die beobachteten Krystalle *dem Leukocytenuntergang ihren Ursprung verdanken* und sie sollen daher als „*Leukocytenkrystalle*“ bezeichnet werden. Die Frage nach der Art der Granulocyten (pseudoeosinophile, basophile, eosinophile) muß offen gelassen werden, nur soviel ist wahrscheinlich, daß sich die Krystalle aus den Granulis, nicht den Zellkernen ableiten und daß die eosinophilen und wohl auch die basophilen Granula für die Krystallentstehung kaum in Frage kommen.

III. Abgrenzung der „*Leukocytenkrystalle*“ gegenüber anderen, schon beschriebenen Krystallen.

Das Vorkommen der „*Leukocytenkrystalle*“ (L.-K.) im Rahmen des Granulocytenabbaues und die starke Ähnlichkeit mit den CHARCOT-LEYDENSchen Krystallen (Ch.-L.-K.) machen zunächst eine Abgrenzung gegenüber diesen erforderlich. Der im folgenden durchgeführte Vergleich beider Krystallarten hinsichtlich Form, färberischem Verhalten, Vorkommen und Entstehung soll beweisen, daß *beide Krystallformen nicht identisch sind*:

1. Die Ch.-L.-K. sind spitze Dodekaeder mit einem Winkel von 17–20°, während die L.-K. eine wesentlich schlankere, nadelartige Form aufweisen.

Tabelle 1. *Färberisches Verhalten der CHARCOT-LEYDENSchen Krystalle im Vergleich mit den „Leukocytenkrystallen“.*

	Eosin	Azan	WEIGERTS Fibrin	Azur II-Eosin	Kongo- rot	FEUL- GENsche Nucleal- reaktion	BESTS Carmin	v. GIE- SON	LADIEWIG
CHARCOT- LEYDENSche Krystalle . .	rot	rot	blau	blau- flieder- farben	unge- färbt	unge- färbt	unge- färbt	gelb	rot
Leukocyten- krystalle . .	rot	rot	blau	blau- flieder- farben	unge- färbt	unge- färbt	rot bis schwach rötlich, zum Teil unge- färbt	rot, zum Teil unge- färbt	korn- blumen- blau

2. Das färberische Verhalten beider Krystallarten hat zwar weitgehende Ähnlichkeit (gleichartige Darstellung mit Hämatoxylin-Eosin-, Azan-, WEIGERTscher Fibrin- und MAXIMOW-Färbung sowie FEULGENscher Nuclealreaktion), doch besteht vor allem bei der LADIEWIGschen Färbung ein grundsätzlicher Unterschied; die Ch.-L.-K. tingieren sich leuchtend rot, während die L.-K. kornblumenblau dargestellt sind. Auch bei v. Gieson- und BESTscher Carminfärbung ist ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Krystallarten festzustellen, in beiden Fällen tritt eine Rotfärbung der L.-K. ein, während die Ch.-L.-K. gelb bzw. ungefärbt sind (s. Tabelle 1).

3. Die Ch.-L.-K. wurden bisher mit Sicherheit nur bei Mensch und Affe nachgewiesen (ASKANAZY). WREDE hat zwar angeblich aus Wirbelkörpern von Rind und Schwein Ch.-L.-K., allerdings „nur gelegentlich“ gewonnen, dieser Befund wurde jedoch bisher von anderen Autoren nicht bestätigt. BRONDGEEST will im Herzblut gefrorener Frösche Ch.-L.-K. gesehen haben, desgleichen ZAHN in einem einzigen Fall innerhalb von Herzthromben bei der gleichen Tierart, doch blieb LEWYS Nachprüfung der BRONDGEESTschen Ergebnisse erfolglos. Beim Kaninchen wurden unseres Wissens bisher noch keine Ch.-L.-K. gefunden.

4. Der Nachweis, daß die L.-K. aus den eosinophilen Granulocyten hervorgehen, konnte von uns nicht erbracht werden, im Gegenteil, es ist sogar unwahrscheinlich, daß ein genetischer Zusammenhang zwischen den eosinophilen Leukocyten und der L.-K.-Bildung besteht. Für die Ch.-L.-K. dagegen ist mit Sicherheit anzunehmen, daß sie aus den eosinophilen Granulis hervorgehen (JACOBSTHAL, HEILMEYER u. v. a.).

5. Wir versuchten schließlich noch experimentell nach den gleichen Methoden (Autolyse), die für die Erzeugung von Ch.-L.-K. des Menschen angewandt wurden, auch beim Kaninchen Ch.-L.-K. zu gewinnen. Wir

behandelten gleichzeitig auf die nämliche Art und Weise menschliches Material, um etwa ein paralleles Entstehen der Krystalle bei Mensch und Kaninchen verfolgen zu können. Zu diesem Zwecke setzten wir von 4 beliebigen Sektionsfällen und einer myeloischen Leukämie Wirbelmark 4—5 Tage lang bei Zimmertemperatur der Fäulnis aus, desgleichen 13mal Femurmark, 1mal Wirbelmark, und 10mal die Milz von verschiedenen Kaninchen. Das menschliche Material bot daraufhin im Gegensatz zu demjenigen des Kaninchens im Nativpräparat und Paraffinschnitt stets zahlreiche Ch.-L.-K., während in keinem Falle beim Kaninchen Ch.-L.-K. erzeugt werden konnten, und auch die typischen Leukocytenkrystalle der Milz keine Zunahme erfuhren. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß den oben beschriebenen Befunden stets Untersuchungen an lebensfrisch fixierten Organen zugrunde liegen. Somit ist erwiesen, daß *Ch.-L.sche oder ihnen entsprechende Krystalle bei Kaninchen nicht entstehen*, und daß auch die Entstehungsweise beider Krystallarten grundsätzlich verschieden ist. *Die Ch.-L.-K. werden bei der Autolyse von Eosinophilen beim Menschen und Affen gebildet, die L.-K. bei der Heterolyse der Leukocyten in der Kaninchenmilz.*

An weiteren Krystallarten, die differentialdiagnostisch in Frage kommen, seien die Krystalle von HETT (1931) genannt. Dieser fand in Markstrangzellen von *Lymphknoten der Maus* Krystalle, die morphologisch eine gewisse Ähnlichkeit mit den L.-K. besitzen. Sie färben sich gleichfalls mit Eosin sowie mit der Azanmethode rot, werden jedoch im Gegensatz zu den L.-K. mit Eisenhämatoxylin (HEIDENHAIN) tiefschwarz tingiert. Mit unseren L.-K. dürften sie nichts zu tun haben, da kein Zusammenhang mit untergehenden Leukocyten festgestellt wurde und sich unsere Krystalle auch färberisch von den HETT-schen Krystalloiden unterscheiden.

Schließlich sind noch bei *Myelomkranken* Eiweißkrystalle in der Milz beschrieben worden. So berichtet BRASS über geringfügige feinkrystallinische Eiweißniederschläge in den Reticulumzellen der Milz sowie im gesamten R.E.S. in einem seiner Fälle. Diese Eiweißkrystalle haben in ihrem färberischen Verhalten eine gewisse Ähnlichkeit mit den Leukocytenkrystallen (Azan- und Fibrinfärbung!), besitzen aber nicht nur eine weit größere Vielfalt ihrer Erscheinungsformen, sondern haben auch nichts mit dem Leukocytenabbau zu tun, sie sind vielmehr Zeichen der bestehenden Paraproteinämie.

Auf die von RANDEATH und FRESEN in *Amyloidnieren* beobachteten Krystalle soll hier nicht näher eingegangen werden, desgleichen nicht auf die vielerlei in anderen Oranen nachgewiesenen Krystallformen. Es sei nur betont, daß die von RANDEATH und FRESEN beschriebenen Krystalle wie die L.-K. eine Eiweißkomponente besaßen, daneben aber auch Lipide und wohl auch Kohlenhydrate (FRESEN) enthielten. Als

Ursache wird von RANDEATH eine bestehende Paraproteinämie angenommen. Diese kommt für die L.-K. wohl deshalb nicht in Frage, weil sie nur lokal im Bereich des Leukocytenuntergangs der Milz auftreten und nicht dagegen in Leber, Lymphknoten und Knochenmark, die ebenfalls stets untersucht wurden, nachweisbar sind.

Zusammenfassung.

Der Leukocytenabbau des Kaninchens erfolgt vor allem in der Milz und läßt sich hier morphologisch gut verfolgen. Er spielt sich teils in den sog. Trümmerfeldern der Pulpastränge, teils innerhalb von Makrophagen ab. Die Einzelheiten dieses Leukocytenabbaus werden auf Grund eigener Untersuchungen zusammen mit den Befunden der Literatur eingehend besprochen. Der Grad des Leukocytenuntergangs in der Kaninchenmilz wechselt, doch ist oft schon physiologischerweise ein starker Leukocytenzerfall zu beobachten, der bei Septicämie, nach intravenöser Peptoninjektion, eventuell auch bei Milzvenenunterbindung und chronischen Entblutungsversuchen gesteigert sein soll.

Beim Leukocytenabbau des Kaninchens treten nadelförmige Eiweißkrystalle auf, die sich färberisch, morphologisch und genetisch von den CHARCOT-LEYDENSchen Krystallen trotz gewisser Ähnlichkeiten unterscheiden. Während sicher steht, daß sich die CHARCOT-LEYDENSchen Krystalle beim autolytischen Zerfall eosinophiler Leukocyten bilden, nehmen wir an, daß sich die von uns beschriebenen Eiweißkrystalle aus den Granulis der heterolytisch, nicht autolytisch abgebauten Leukocyten entwickeln, und bezeichnen sie daher als „Leukocytenkrystalle“. Ihr morphologisches und färberisches Verhalten wird im einzelnen beschrieben und vor allem den CHARCOT-LEYDENSchen Krystallen gegenübergestellt.

Literatur.

- ASCHOFF, L.: Z. exper. Med. **50**, 52 (1926). — Erg. inn. Med. **26**, 1 (1924). — ASKANAZY, M.: In HENKE-LUBARSCH, Bd. I/2, S. 787. 1927. — BENDER: Zit. nach SEELIGER u. GORKE. — BIANCHI, G. C.: Fol. haemat. (Lpz.) **49**, 275 (1933). — BLASIUS, W.: Z. ärztl. Fortbildg **1940**, 608. — BORGH: Zit. nach HETT. 1940. — BRASS, K.: Frankf. Z. Path. **57**, 366 (1943/44). — BRONDGEEST: Zit. nach LEWY. — CHRISTELLER u. EISNER: Zit. nach HETT. 1940. — DOMINICI, M.: Arch. de Med. exper. et d'anat. pathol. **12**, 563, 733 (1900). — EPPINGER, H.: Verh. dtsch. path. Ges. **18**, 33 (1921). — FRESEN, O.: Beitr. path. Anat. **108**, 452 (1943). — GOLDSCHIEDER u. JAKOB: Zit. nach HETT. 1935. — HEILMEYER, L.: Lehrbuch der inneren Medizin. Springer 1949. — HEILMEYER, L., u. I. v. MUTIUS: Klin. Wschr. **1947**, 339. — HELLY, K.: Verh. dtsch. path. Ges. **18**, 6 (1921). — HENNING, N., L. DEMLING u. U. HÄRTLEIN: Klin. Wschr. **1949**, 222. — HETT, J.: Z. mikrosk.-anat. Forschg **25**, 618 (1931); **37**, 325 (1935). — Z. Zellforschg **30**, 339 (1940). — HIRSCHFELD, H.: Handbuch der allgemeinen Hämatologie, Bd. I/2, S. 1047. 1933. — JACOBSTHAL, E.: Virchows Arch. **234**, 12 (1921). — LADEWIG, P.: Z. Mikrosk. **55**, 211 (1938). — LANG: Zit. nach HETT. 1940. — LENNERT, K., u. J. BORNEFF: (Erscheint demnächst im Arch. f. Hyg.) — LENNERT, K., u. G. ILGNER: Frankf. Z. Path. **59**, 498 (1948). —

LEWY, B.: Z. klin. Med. **40**, 59 (1900). — LIFSCHITZ, S.: Diss. Zürich 1906. — LÜBBERS, P.: Ärztl. Forschg **1**, 147, 194 (1947). — Dtsch. med. Wschr. **1947**, 518. — LÜBBERS, P., u. E. KOCH: Klin. Wschr. **1949**, 442. — MAXIMOW, A.: Handbuch mikroskopische Anatomie, Bd. II/1, S. 465. 1927. — PFUHL, W.: Handbuch mikroskopische Anatomie, Bd. V/2, S. 377. 1932. — RANDEKATH, E.: Virchows Arch. **314**, 388 (1947). — ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. München 1948. — SASYBIN, N.: Virchows Arch. **292**, 114 (1934). — SEELIGER, S., u. H. GORKE: Z. exper. Med. **24**, 322 (1921). — SEYDERHELM, R., u. K. OESTREICH: Z. exper. Med. **56**, 503 (1927). — SJÖVALL, H.: Acta path. scand. (Kobenh.) Suppl. **27** (1936). — STAEMMLER, M.: Beitr. path. Anat. **80**, 666 (1928). — STEUDEMANN, K.: Fol. haemat. (Lpz.) **18**, 140 (1914). — TRAMONTANO, V.: Ref. Kongreßzbl. inn. Med. **69**, 131 (1933). — UNDRITZ, E.: Fol. haemat. (Lpz.) **65**, 195 (1941). — WALLBACH, G.: Z. exper. Med. **68**, 568, 621 (1929). — WEIDENREICH, F.: Arch. mikrosk. Anat. **72**, 209 (1908). — WERZBERG, A.: Virchows Arch. **204**, 272 (1911). — WREDE, F., F. BOLDT u. E. BUCH: Hoppe-Seylers Z. **165**, 155 (1927). — ZAHN, F. W.: Virchows Arch. **62**, 107 (1875).

Dr. KARL LENNERT, Erlangen, Pathologisches Institut der Universität.