

Aus dem Pathologischen Institut des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing  
(Chefarzt: Prof. Dr. E. LANGER)

## Die Granula der Gewebsmastzellen der Ratte bei Autolyse

Von

H. SCHMID

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 17. August 1964)

Das seit EHRLICH wesentliche Kennzeichen der Mastzellen (MZ), die Chromotropie ihrer Granula, beruht auf der Anwesenheit des hochpolymeren Schwefelsäureesters Heparin, das die Metachromasie verschiedener Farbstoffe bedingt, die zu ihrer Darstellung verwendet werden. Mit Hilfe der Trypaflavin-p-Dimethylaminobenzaldehyd-Technik nach HOLLÄNDER ist es möglich, Schwefelsäureester histochemisch nachzuweisen.

Die eigenen Untersuchungen hatten das Ziel, an Gewebs-MZ das Verhalten der Granula, besonders ihren Schwefelsäureester-Gehalt, unter dem Einfluß der Autolyse zu prüfen.

### Material und Methodik

70 weiße männliche Ratten mit einem Gewicht von 180—200 g wurden durch Entbluten getötet, die Zungen sofort entnommen und mit einem Rasiermesser in 0,2—0,3 cm dicke Scheiben zerlegt. Ein Teil dieser Gewebstückchen wurde als Kontrolle sofort fixiert, der andere in einer feuchten Kammer bei 37° C belassen und in zweistündigem Abstand von der 4.—48. Std nach Beginn des Versuches zur Härtung in eine 4%ige basische Bleiacetatlösung (HOLMGREN) und 5%iges neutrales Formalin gebracht. Nach Einbetten der Gewebsteilchen in Paraffin wurden 5—7  $\mu$  dicke Schnitte angefertigt. Die Darstellung der Schwefelsäureester erfolgte mit der Trypaflavin-p-Dimethylaminobenzaldehyd-Technik<sup>1</sup>. Sie beruht auf der Anlagerung von Trypaflavin an die Sulfatgruppen und die anschließende Umsetzung des Trypaflavins zu einem roten Farbstoff mit p-Dimethylaminobenzaldehyd. Kontrollschnitte wurden mit Hämalun-Eosin und Toluidinblau gefärbt.

### Ergebnisse

Sofort nach dem Tode fixiertes Gewebe der Rattenzunge gibt eine intensive gelbrote Färbung der MZ-Körnchen, die nur bei wenigen MZ fehlt. Die Granula liegen dicht im Cytoplasma der verschieden großen, runden bis lanzettförmigen, manchmal sternartig verzweigten MZ. Der kleine und rundliche Zellkern ist oft an etwas dickeren Schnitten durch Granula vollkommen verdeckt (Abb. 1a). Die MZ liegen einzeln oder in kleinen Gruppen und Strängen im interstitiellen Bindegewebe des quergestreiften Muskelgewebes und in der Adventitia kleiner Blutgefäße, zahlreich auch in unmittelbarer Nachbarschaft der Zungengrunddrüsen.

Nach 2—8 Std langer Autolyse ist die Färbung der Granula noch deutlich. Formale Veränderungen der MZ und ihrer Granula fehlen. Die Zellkerne färben sich mit Hämalun intensiv blau. Das umgebende Gewebe einschließlich der Querstreifung des Muskelgewebes ist deutlich.

Nach 10 Std langer Autolyse geben die MZ-Granula keine Reaktion auf Schwefelsäureester (Abb. 1b). Im scharf konturierten Zelleib liegen die ungefärbten Granula dicht gepackt und sind teilweise verschieden groß. Nur vereinzelt kommen unregelmäßig angeordnete Granula außerhalb der MZ vor. Die Zellen des übrigen Gewebes sind auch jetzt gut dargestellt.

<sup>1</sup> Herrn Dr. med. HOLLÄNDER vom Max-Planck-Institut für Hirnforschung in München (Direktor: Prof. Dr. PETERS) danke ich für seine wertvollen Hinweise.

Eine 16 Std lange Autolyse führt zu Veränderungen der MZ. Die Begrenzung vieler Zellen ist verwaschen. Einrisse in der Zellmembran und Spalten, die den Zelleib durchziehen, treten auf. Die Kerne besitzen ein dichtes, manchmal auch feinvacuolisiertes Chromatin. Die Granula liegen oft in dichten Gruppen außerhalb der Zelle, einige von ihnen sind auffallend plump und groß. Das übrige Gewebe ist nur noch schattenhaft.

Nach einer 32—48 Std langen Autolyse ist die Lage der ehemaligen MZ nur bei starkem Abblenden an ihren auch jetzt noch erhaltenen aber verminderten Granula festzustellen, die wie ausgeschüttet in dem sonst vollkommen strukturlosen Gewebe liegen; sie haben ihre rundliche Form und starke Lichtbrechung beibehalten (Abb. 1c).

### Besprechung

Nach den Ergebnissen der Untersuchungen löst eine bis 10 Std dauernde Autolyse keine wesentlichen lichtmikroskopisch feststellbaren Veränderungen an den MZ und ihren Granula sowie an dem umgebenden Gewebe aus. Trotzdem gibt es auch in dem sofort nach dem Tode der Versuchstiere fixierten Zungengewebe MZ, deren Granula teilweise nur eine geringe Reaktion auf Schwefelsäureester zeigen. Dies deckt sich mit den Untersuchungen von NIEBAUER an fixierten und vitalgefärbten MZ, in denen neben metachromatischen auch orthochromatische Granula nachgewiesen wurden. Erst nach einer 10 Std langen Autolyse setzt die positive Reaktion auf Schwefelsäureester schlagartig aus, ein Vorgang, den man auch als Auslöschphänomen bezeichnen kann. Von diesem Zeitpunkt an werden die ersten Zeichen der Autolyse in Form einer Auflösung der Zellmembran und Austritt der Granula und Verdichtung oder Vacuolisierung des Zellkernes lichtmikroskopisch deutlich. Sie nehmen an Intensität entsprechend der Dauer des Versuches zu und haben nach 32—48 Std ihren höchsten Grad erreicht. Obwohl zu diesem Zeitpunkt die Zell- und Gewebsstrukturen fast vollkommen aufgelöst sind, lassen sich die Granula der MZ infolge ihrer hohen Lichtbrechung durch Abblenden immer noch nachweisen. Gestaltliche Veränderungen der Granula äußern sich nur in geringen Größenunterschieden, die offenbar auf einer Quellung infolge Flüssigkeitsaufnahme beruhen. Die Verminderung der Körnchenzahl läßt sich wohl auf den gleichen Vorgang zurückführen, bei dem Granula durch fortschreitende Aufnahme von Flüssigkeit schließlich platzen und schwinden. Der Nachweis der MZ-Granula noch nach einer 48 Std langen Autolyse belegt somit die hohe Stabilität dieser Zellorganellen gegenüber den bei der Autolyse wirkenden Faktoren.

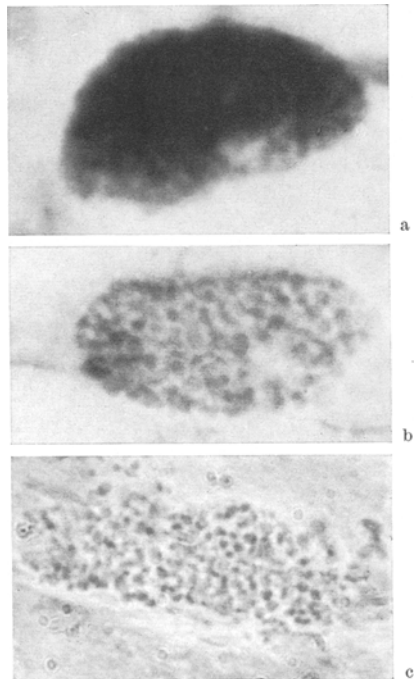


Abb. 1a—c. Gewebsmastzelle der Ratte mit zahlreichen, dichten, rot gefärbten, im Bild schwarz bis dunkelgrauen Granula (a); nach 10 Std langer Autolyse ungefärbte, im Bild hellgraue Granula (b); regellos angeordnete ungefärbte Granula der nach 32 Std langer Autolyse zerstörten Mastzelle (c). Formol, Trypaflavin-p-Dimethylaminobenzaldehyd. 1000fach

Die Intensität des Farbtone bei der Trypaflavin-p-Dimethylaminobenzaldehyd-Technik ist gleichzeitig der Indikator für die Dichte der Sulfatgruppen an der Oberfläche der Granula und für den Grad der Sulfurierung, was HOLLÄNDER an sulfatierten Cellulosehydratfolien nachgewiesen hat. Für das Vorkommen von MZ mit orthochromatischen Granula im frisch fixierten Gewebe und für den abrupten Schwund der Färbung der Granula aller MZ nach einer Autolyse von 10 Std ergeben sich zur Erklärung drei Möglichkeiten: 1. die sulfattragende Substanz diffundiert aus den Granula der MZ, 2. die sulfattragenden Gruppen werden durch Anlagerung basischer Autolyseprodukte maskiert, ähnlich wie die Neutralisierung der sauren Valenzen des Heparins durch Gewebshistamin (WERLE u. AMANN), und 3. die sulfattragenden Substanzen werden durch die Autolyse enzymatisch gespalten. Welche dieser drei Möglichkeiten bei dem Auslöschphänomen führend ist, läßt sich bei dem sehr komplexen Wirkungsmechanismus der Autolyse bis jetzt nicht sicher entscheiden.

### Zusammenfassung

Der Nachweis der Schwefelsäureester in den Mastzellgranula der Ratte wird nach einer 10 Std langen Autolyse schlagartig negativ, während die Granula selbst noch 48 Std später ohne wesentliche Formänderung lichtmikroskopisch nachweisbar sind.

### The Granules of the Tissue Mast Cells of the Rat During Autolysis

#### Summary

The demonstration of the sulfuric acid esters in the mast cell granules of the rat suddenly fails after 10 hours of autolysis. On the other hand, 48 hours later the granules are still demonstrable light microscopically and reveal no important changes in their shape.

#### Literatur

- EHRlich, P.: Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. mikr. Anat. **13**, 263—277 (1877).  
 HOLLÄNDER, H.: Der histochemische Nachweis von Schwefelsäureester mit Trypaflavin. Histochemie **3**, 387—395 (1964).  
 HOLMGREN, H.: Eine neue Methode zur Fixierung der Ehrlichschen Mastzellen. Z. wiss. Mikr. **55**, 416—419 (1938).  
 NIEBAUER, G.: Der gegenwärtige Stand der Mastzellforschung. Klin. Wschr. **14**, 673—679 (1960).  
 WERLE, E., u. R. AMANN: Zur Physiologie der Mastzellen als Träger des Heparins und Histamins. Klin. Wschr. **34**, 624—630 (1957).

Dr. med. HUBERT SCHMID

Pathologisches Institut Städt. Krankenhaus Schwabing  
 8 München 23, Kölner Platz 1