Dunkelfeld-Untersuchungen an überlebenden Triton-Erythrozyten.

I. Vorläufige Mitteilung. Über den Einfluss der H-Ionenkonzentration auf die Triton-Erythrozyten.

Von

K. Miyamoto, K. Yamada und S. Shishido.

Aus dem Anatomischen Institut der Medizinischen Fakultät der Kaiserlichen
Universität zu Osaka (Leitung: Prof. Dr. T. Tomita).

Mit 5 Abbildungen auf Tafeln XI.

Einleitung.

Im letzten Jahre haben Yasuzumi, Kasamatsu und Tajima die feinere Struktur der Triton-Erythrozyten mit Hilfe der Supravitalfärbungstechnik mit verschiedenen basischen Farbstoffen und unter besonderer Berücksichtigung der Wasserstoffionenkonzentration der Medien untersucht und bestätigt, dass mit der Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration der Medien zahlreiche Granula sowie auch Stäbchen im Plasma zum Vorschein kommen, während auf der alkalischen Seite in der Gegend über pH 7,2 hinaus eine Netzstruktur hervortritt.

Das Problem, ob diese Stäbchen- und Netzstruktur im Plasma in Beziehung zur Ladung der Erythrozyten steht oder es sich um durch die Dispersitätsveränderung der Plasmasolen durch die Wasserstoffionenkonzentration veranlasste Bilder handelt, blieb noch unerörtert. Diese Frage wollen wir durch Dunkelfeld-Untersuchungen klarstellen.

Untersuchungsmethode.

Die einem Triton aus dem Herz entnommenen und mit Ringer'scher Lösung mehrmals ausgewaschenen und so vom Serum befreiten Erythro-

zyten wurden in Ringer'scher Lösung mit variierter Wasserstoffionen-konzentration (Ringer'sche Lösung 9: Pufferlösung 1) aufbewahrt. Als Pufferlösung diente die Phosphat-Citronensäuremischung nach McIlvaine. Für die mikroskopische Dunkelfelduntersuchung verwendeten wir eine elektrische Bogenlampe und einen Kardiodkondensor unter starken Vergrößerungen.

Untersuchungsergebnisse.

Bei Ringer'scher Lösung vom pH 7,0 treten zuerst teils ein oder zwei schwach lichtbrechende relativ grosse Granula, die immer isoliert sind, teils drei oder vier gruppierte Granula im Zustande der Brownschen Bewegung hervor. Diese Granula entsprechen wahrscheinlich den von Yasuzumi, Kasamatsu und Tajima als „B-Granula“ bezeichneten. Mit der Zeit verstärkt sich das Leuchten der Granula und der Grenzfläche des Plasmas (Zellmembran?) und zwar verändert sich der etwas graue Ton der Granula in ein Silberweiss (Fig. 1.). Nach ca. 10 Minuten treten sehr feine, zahlreiche Granulationen im Zytoplasma auf (Fig. 3.). Man kann ohne Mühe feststellen, dass sie sich in der Brownschen Bewegung befinden. Diese Granula wurden von Yasuzumi und anderen F-Granula genannt. Diese Autoren konnten keine Brownsche Bewegung dieser Granula im Hellfeld wahrnehmen. Jedoch sind, wie auch schon Yasuzumi, Kasamatsu und Tajima berichteten, weder Stäbchen- noch Netzstruktur wahrzunehmen. Die Brownsche Bewegung dauert mit gleicher Geschwindigkeit bis zum Eintritt der Hämolyse an. Nach 20–30 Minuten sind die Kerne teils glänzend, teils körnig und man bemerkt im Karyoplasma einiger Zellen ebenfalls Fällungen von Granulationen (Fig. 4.).

Es ist bemerkenswert, dass die feine Struktur durch die Wasserstoffionenkonzentration (pH 2,0 bis 8,0) unbeeinflusst bleibt. Die Beobachtung der Erythrozyten in den Medien von pH 4,7 und 6,46 ist besonders wichtig, weil der isoelektrische Punkt des Tritonerythrozyten als Ganzes sowie der Stromasubstanz schon durch Yasuzumi und andere als pH 6,46 und 4,7 bestimmt wurde. Die Stromasubstanz ist in ihrem isoelektrischen Punkt fällbar. Deshalb ist es denkbar, dass die Geschwindigkeit der Brownschen Bewegung mehr oder weniger verlangsamt wird. Dagegen konnten wir in unserer Untersuchung kaum derartige Erscheinungen wahrnehmen.

Wenn man die Erythrozyten in Neutralrot-Ringer'scher Lösung ultramikroskopisch untersucht, so tritt die erste wahrnehmbare Koagula-

tion im Kern und dann die Granulation mit der Brownschen Bewegung im Zytoplasma auf (Fig. 2.). Mit der Zeit wird die Brownsche Bewegung allmählich verlangsamt und man sieht schliesslich zerstreut gruppierte, nicht bewegliche Granulationen, die nicht nur den supravital gefärbten Bildern im Hellfeld ähneln, sondern zuweilen vollkommen identisch mit diesen sind (Fig. 5.). Diese sogenannte „supravitale“ Färbungsmethode scheint uns zuerst den Tod des Kerns und dann den der Zelle herbeizuführen.

Die basischen Farbstoffe sind positiv geladen und da die lebenden Kolloide elektronegativ sind und ihre Ladung nun durch basische Farbstoffe neutralisiert wird, so entsteht wahrscheinlich eine Fällung. Wir möchten zu der Ansicht neigen, dass die Stäbchen- und die Netzstruktur wahrscheinlich durch die gegenseitige Verbindung der Granulationen gebildet werden, die durch die elektrostatische Adsorption der Farbstoffe entladen wurden. So kann man schliessen, dass die feinere Struktur der Tritonerythrozyten sich nicht von der Wasserstoffionenkonzentration der Medien beeinflussen lässt, sondern vielmehr von der sog. Gelatinierungswirkung der supravitalen Farbstoffe beherrscht wird.

Zusammenfassung.

1. An den überlebenden Erythrozyten des Tritons konnte man durch die Dunkelfeld-Untersuchungen zwei Arten von Granula im Plasma unterscheiden, von denen die eine aus teils ein oder zwei relativ grossen Granula, die immer isoliert sind, teils aus drei oder vier gruppierten Granula, während die andere aus zahlreichen feinen Granula besteht. Beide befinden sich im Zustande der Brownschen Bewegung.

2. Die von Yasuzumi, Kasamatsu und Tajima beschriebenen Stäbchen- und Netzstrukturen im Plasma der Tritonerythrozyten im neutralen oder noch weiter im alkalischen Bereiche stellen keine durch die Dispersitätsveränderung der Plasma-Solen infolge der Wasserstoffionenkonzentration veranlasste Bilder dar, sondern stehen in Beziehung zur Ladung der Erythrozyten sowie auch zur Gelatinierungswirkung der supravitalen Farbstoffe.

Zum Schlusse möchten wir Herrn Prof. Dr. T. Tomita und Dr. G. Yasuzumi für ihre freundliche Anleitung unseren herzlichsten Dank aussprechen. (24. Januar, 1935)

Literaturverzeichnis.

Yasuzumi, G., *Folia Anatomica Japonica*, Bd. 12, 1934.

Yasuzumi, Kasamatsu und Tajima, *Folia Anatomica Japonica*, Bd. 12, 1934.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XI.

Alle Abbildungen wurden mit Hilfe einer Leica-Camera in Höhe des Mikroskops bei einer Vergrößerung von Ok. $8 \times$ Obj. $\frac{1}{12}$ Ölimmersion von Zeiss aufgenommen und dann ca. 11 fach vergrößert.

Fig. 1. Mit Ringer'scher Lösung 3 Minuten lang behandelte Triton-Erythrozyten. Im homogenen, etwas grauen Zytoplasma sieht man zerstreut einige leuchtende Granulationen mit Brown'scher Bewegung.

Fig. 2. Mit Neutralrot-Ringer'scher Lösung 3 Minuten behandelte Triton-Erythrozyten. Fällung des Karyoplasmas.

Fig. 3. Mit Ringer'scher Lösung ca. 10 Minuten behandelte Erythrozyten. Granulationen an der Kernperipherie und zahlreiche feine Granulationen mit Brown'scher Bewegung im homogenen Zytoplasma.

Fig. 4. Mit Ringer'scher Lösung 20–30 Minuten behandelte Erythrozyten. Noch lebhaft bewegliche B- und F-Granula. Ziemlich stark lichtbrechendes Karyoplasma.

Fig. 5. Mit Neutralrot-Ringer'scher Lösung 20 Minuten behandelte Erythrozyten. Gruppierte Granula und Stäbchen- und Netzstruktur des Zytoplasmas.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.