Cytologische Untersuchungen über das Augensekret.

Von

Prof. Ch. Oguchi und Dr. Kyozo Majima.

(Aus der Universitäts-Augenklinik zu Nagoya, Japan.)

Mit 60 Abbildungen auf Tafel I—III.

Das Sekret aus dem Bindehautsack wurde bisher meistens nur für die bakteriologischen Untersuchungen benutzt, und die übrigen Bestandteile desselben wurden immer stiefmütterlich behandelt. Nur Weissman hob hervor, daß sich bei Conjunctivitis vernalis eosinophile Zellen vermehren usw. *) Ferner richtete Miyashita¹⁾ sein Augenmerk darauf und untersuchte das Sekret von 60 Fällen, und er kam zum Schluß, daß das Sekret nach der Zellmenge schleimig oder eitrig wird, und daß durch den Reiz der Pflanzensubstanz eosinophile Zellen erscheinen, bei der bakterienpositiven Conjunctivitis sich polynucleäre Leukocyten vermehren, bei der infektiösen aber bakteriennegativen die Lymphocyten. Er fügte später noch andere wichtige Tatsachen dazu, daß bei Trachom, Conjunctivitis folliculosa und Einschlußblennorrhöe sich große mononucleäre Zellen und Übergangsformen zahlreich zeigen, bei der durch die Ultraviolettstrahlen vorkommenden Conjunctivitis eosinophile Zellen auftreten. In den Wakizakaschen Arbeiten^{7, 8)} findet man auch einige Berührungspunkte dazu. Oguchi⁴⁾ beschäftigte sich schon lange mit dieser Frage und teilte einiges davon mit.

Erst beobachtete er mit schwacher Vergrößerung die Eigenschaft des Sekretes: es verteilt sich in drei Arten:

1. Zellreiches Sekret. Mehr polynucleäre Leukocyten, aber zuweilen Erythrocyten dabei.

2. Epithelienreiches Sekret. Die violett oder im Verhältnis der Entfärbung bei dem Gramschen Verfahren zuweilen rotgefärbten Plattenepithelien lassen sich durch ihre enorme Größe und eigentümliche Form leicht erkennen. Veraltete Epithelien färben sich mehr violett. Die Menge des Sekretes ist dabei meist gering. Man trifft solches Sekret bei dem III. Stadium von Blennorrhöe, der bestimmten Form von Morax-Axenfeld-Bacillen-Conjunctivitis, besonders viel bei Xerosis an. Die Zylinderepithelien färben sich rot.

*) Nach Miyashita³⁾ scheint Majou (1906) darüber geschrieben zu haben, aber das Original und Genaues ist uns leider nicht zugänglich.

3. Das fibrinöse, geronnene Sekret von Mucin.

Natürlich gibt es zwischen den drei Formen Übergänge. Obwohl das Gramsche Verfahren ein ziemlich gutes Zellbild gestattet, muß man andere geeignete Methoden beifügen, um genau die Zellen zu studieren. Die Fixierung muß auch passend sein. Oguchi⁴⁾ versuchte dabei einige neue Methoden.

Fixierung.

Wenn als wichtige Bestandteile in der Zelle Fett oder Lipoid existieren, so wäre es nicht zweckmäßig, das fettlösende Mittel, nämlich Alkohol und Äther, zur Fixierung zu gebrauchen. Deshalb empfiehlt sich folgende Methode.

1. Auf dem Ausstrich auf Objektträger (oder Deckgläser) einige Tropfen von 5proz. wässriger Chromsäurelösung $\frac{1}{2}$ Sekunde oder noch mehr.

2. Auswaschen und Eintauchen im Wasser 10 Minuten (bis zum Erlöschen der Gelbfarbe; wenn der Ausstrich dünn ist, genügt noch kürzere Zeit).

Die Fixierung kommt sehr schnell zustande, aber sie verursacht für die Leukocyten keine künstliche Veränderung. Nur selten entsteht um die Zelle und Bakterien eine Lücke; das ist zuweilen zweckmäßig, z. B. für die Pneumokokken. Die Erythrocyten zeigen oft dabei schwarze Schatten, also paßt es für sie vielleicht nicht.

Färbung.

1. Pironin - Methylgrünfärbung.

10 Minuten (oder noch länger) Färbung mit der Unna-Pappenheimschen Lösung. Es kommt keine Überfärbung vor, also je länger, desto besser. Außer den Plasmazellen färbt sich das Protoplasma der Lymphocyten, die sog. Reizungsform von Türk schön rot, auch das Kernkörperchen. Dasjenige der großen Mononucleären und Übergangsformen färbt sich dünnrot schwammartig. Besonders erscheinen Bakterien gut rot. Man sieht oft die Plasmazellen im Sekret von Trachom.

2. Zweimalige Eosin - Methylenblaufärbung (nach Oguchi).

1. Konzentrierte wässrige Eosinlösung. Einige Sekunden.

2. Auswaschen.

3. Lugolsche Lösung. Einige Sekunden (bewegend).

4. Ausgießen des Überschusses.

5. Absoluter Alkohol. Genug auswaschen.

6. Wasser auswaschen.

7. Methylenblaufärbung. In reichliches Wasser, das auf den Objektträger gebracht ist, gießt man einige Tropfen von der Löfflerschen Lösung von der Peripherie her, unter Kontrolle, um eine Überfärbung zu vermeiden.

8. Auswaschen.

Der Färbungszustand ist ungefähr gleich dem May-Grünwaldschen, so färben sich die Granula der neutrophilen Polynucleäre rot, diejenigen der eosinophilen glänzend stark rot.

3. Eosin - Polychrome Methylenblaufärbung.

1. Konzentrierte wässrige Eosinlösung. Einige Sekunden.

2. Auswaschen.

3. Polychrome Methylenblaulösung (Original). Einige Sekunden.

4. Auswaschen.

5. Absoluter Alkohol. Genug auswaschen.

6. Wasser auswaschen.

Wenn die Eosinwirkung übertrifft, so wird die Zelle ödematös und gibt kein klares Bild; wenn Blau übertrifft, erlöscht ganz die rote Farbe des Protoplasmas. Aber wenn das Gleichgewicht zwischen beiden gut erreicht ist, so zeigt sich die Kernstruktur sehr deutlich. Die Epithelien färben sich auch gut.

4. Neutralrot-Methylenblaufärbung.

1. Konzentrierte wässrige Neutralrotfärbung. 10 Minuten oder noch länger.

2. Auswaschen.

3. Dünne Lösung von Methylenblau. Wie 1. Methode.

Wenn die Färbung zweckmäßig vorgeht, so erscheint der Kern rotbraun, das Protoplasma der frischen Polynucleären färbt sich nicht, während das der veralteten sich diffus blau färbt. Die Granula in der Zelle erscheinen braun, das Protoplasma der Lymphocyten und der großen Mononucleären dünn blau. Die Bakterien in den Zellen färben sich braun, außen frei liegend blau.

Was die Zellformen bei den verschiedenen Conjunctivitiden betrifft, so ist folgendes zu erwähnen: Bei der Blennorrhöe und der Koch-Weeks-Bacillenconjunctivitis überwiegen polynucleäre Leukocyten, aber wenn sie mit dem Trachom kombiniert sind, so mischen sich ziemlich viel große Mononucleäre dazu. Bei Trachom sieht man viel die letzteren, besonders bei akutem Trachom besteht das Sekret fast nur aus den letzteren, so daß es einen diagnostischen Wert hat, wie Miyashita³⁾ betonte. Der Eiter aus dem Tränensack enthält mehr eine Degenerationsform der polynucleären Leukocyten und oft Pyknosen, wie der gewöhnliche Eiter in der Chirurgie.

Seitdem setzten wir derartige Untersuchungen weiter fort und konnten alle möglichen Zellformen von Exsudatzellen im Augensekret finden.

Das Material wurde von verschiedenen akuten und chronischen Conjunctivitiden bzw. Trachom, Ulcus corneae, Dakryocystoblennorrhöe usw. gewonnen. Ein Kranker mit Plasmoma conjunctivae, das klinisch vielmehr der sog. Conjunctivitis plasmacellularis von Pascheff⁴⁾ entsprach und reichliche Sekretion aufwies, eignete sich gut für den Zweck. Außerdem riefen wir bei Kaninchen artifiziell akute Conjunctivitis hervor. Dazu träufelten wir 2proz. Lösung von Emetinum hydrochloricum ein.

Oguchi⁵⁾ berichtete über die Wirkung von Emetin als Entzündungsstoff. Nach der Einträufelung desselben tritt 12–24 Stunden später reichlich eitriges Sekretion auf, die ungefähr eine Woche lang andauert. Oft kommt gleichzeitig dabei Ulcus corneae vor. Das Mittel verursacht anfangs keinen Reiz, deswegen gehört es nicht zu den Ätzmitteln, sondern zu den sog. Entzündungsstoffen von Lewin.

Oleum crotonis, Oleum sinapis aethericum (nicht verdünntes), Chrysarobinum usw. rufen auch akute Conjunctivitis hervor, aber die

eitrige Sekretion dauert nur 1 oder 2 Tage, so daß sie für unsere Studien nicht geeignet sind. Leider kommt nach der Emetineinträufelung Schnupfen vor, der zuweilen Exitus der Tiere verursacht. Außerdem injizierten wir subconjunctival eine Emulsion von Bakterienkulturen; dazu paßt die Agarkultur der vom Sekret des Kaninchens gewonnenen grampositiven Pseudogonokokken. Aber die eitrige Sekretion dauert nicht lang.

Zur Fixierung des Ausstriches gebrauchten wir meist 5proz. Chromsäurelösung, nur bei besonderen Fällen die Hitze, z. B. bei der Vitalfärbung von Carmin, weil die Säure das Carmin vernichtet.

Zur Färbung wurde meist Pironin-Methylgrün, dann modifiziertes Eosin-Methylenblau (siehe oben), zuweilen eosin-polychromes Methylenblau, Thionin, Hämalan, Neutralrot, Nilblau, Sudan III, Scharlachrot usw. benutzt. Beim Mikroskopieren der fettfärbenden Präparate muß man immer ein Deckglas gebrauchen, damit der Ausstrich das Cedernöl nicht berührt.

Die Zellformen im Sekret sind folgende:

1. Epithelien (Tafel I, Abb. 1—7). Abgelöste Platten- und wenige Zylinderepithelien mengen sich oft zwischen die anderen Zellen. Das nach dem Touchieren der Bindehaut mit Lapislösung auftretende Sekret enthält Haufen von nebeneinandergereihten Zylinderepithelien, welchen auf der freiliegenden Seite zahlreiche schwarze Körnchen vom Silberpräparat ankleben. Bei der Einträufelung von Crotonöl erscheinen nach einigen Stunden, nach denen das Mucin hervortritt, aber sich Leukocyten noch nicht zeigen, zahlreiche Becherzellen im Sekret, die später verschwinden. Bei Conjunctivitis von Menschen und pigmenthaltigen Kaninchen sieht man im Sekret zuweilen melaninhaltige Pigmentzellen, welche Epithelzellen zu sein scheinen. Die Pigmente sammeln sich um den Kern und bewirken gelblichen Ton bei der Pironin-Methylgrünfärbung. Manche Epithelien enthalten als Mikrophagen Bakterien (Koch-Weekssche Bacillen, Gonokokken usw.). Sie wirken auch oft als Makrophagen, so enthalten sie Zellen, besonders polynucleäre Leukocyten, was Pascheff¹⁰⁾ beschrieb und abbildete. Im Zelleib sieht man oft pyknosierte Kerne. Um solche Einschlüsse gibt es immer einen hellen Hof. Die Epithelien phagocytieren zuweilen gleichzeitig Zellen und Bakterien. Obgleich die Epithelien immer einen blassen eigenartigen Kern haben, so ist der Unterschied zwischen ihnen und den phagocytierten Histiocyten (ich komme später darauf zurück) zuweilen schwer.

Die Prowaczekschen Körperchen kann man auch im Sekret finden, bei akutem Trachom, das bei uns oft beobachtet wird. Zur Färbung paßt ebenfalls Pironin-Methylgrün. Da die Körperchen sich ausgezeichnet schön rot färben, während der Kern sich dünn violett färbt, so kann man sie leicht von ihm unterscheiden, besonders in solchem Zustand, wo die Körperchen auf dem Kerne aufgeschichtet sind.

2. Rote Blutkörperchen. Sie kommen nicht häufig vor. Bei akutem Trachom sahen wir sie selten. Die in Zellen aufgenommenen Erythrocyten sieht man dagegen oft.

3. Neutrophile polynucleäre Leukocyten (Tafel I, Abb. 8—13). Sie sind der Hauptbestandteil bei akuter Conjunctivitis (Koch-Weeks-Bacillen-, Pneumokokken- u. a.), Blennorrhöe und dem Plasmom. Die Zahl ihrer Kerne zeigt eine Abstufung von einem bis zu mehreren Kernen, nach dem Typus von Arneth. Als Degenerationsform kommen Pyknose und Karyorrhexis vor. Es scheint, daß die erste eine Veränderung im Körperteil und die zweite diejenige im Bindehautsack wäre. So sah Oguchi einmal den Eiter, der fast ganz Pyknose war, bei Dakryocystoblennorrhöe einer Neugeborenen. Wenn man mit eosin-polychromem Methylenblau färbt, so sieht man ein eigentümliches Bild, wobei alle Kerne in einer Zelle sich nicht gleichmäßig färben, sondern ein Teil dick und ein anderer dünn, außerdem gibt es oft im dünnen Teil dickgefärbte Flecke.

In dem Protoplasma erscheinen oft in verschiedener Größe mehr oder weniger basophile oder acidophile Körner (rot mit Pironin, blau mit Methylenblau oder umgekehrt rot mit Eosin). Fett ist auch zuweilen in dem Protoplasma, besonders viel bei dem Plasmoma conjunctivae vorhanden. Es färbt sich rötlichgelb mit Sudan III, rot mit Scharlachrot. Es liegt zerstreut als Tröpfchen, aber wenn es zahlreich ist, besetzt es den Hauptplatz in der Zelle, und die Kerne werden in Lappchen verteilt nach der Peripherie gedrückt. Ob solches Fett ein Degenerationsprodukt der Zelle oder eine aufgenommene Substanz ist, ist schwer zu entscheiden. Aber wenn man einem Kaninchen Olivenöl einspritzt und gleichzeitig Conjunctivitis hervorruft, so kann man im Sekret zahlreiche Fett enthaltende Leukocyten sehen, außer freiliegenden Fetttröpfchen.

Natürlich phagocytieren polynucleäre Leukocyten Bakterien.

4. Eosinophile Zellen (Tafel I, Abb. 14). Im allgemeinen kommen sie selten vor, außer bei den spezifischen Krankheiten. Es ist oft notwendig, Eosin-Methylenblaufärbung des Sekretes auszuführen, bei unklarer Conjunctivitis, zur Diagnose von dem Frühjahrskatarrh. Einmal sahen wir im Verlauf des Plasmoma conjunctivae eine kurzdauernde Vermehrung derselben.

5. Mastzellen (Tafel I, Abb. 15—16). Die Mastzellen als Blutzellen erscheinen auch selten im Sekret. Die Granula färben sich gelbrot mit Pironin-Methylgrün. Zuweilen sind sie enorm groß, sonst sind sie klein wie Lymphocyten. Im Abschabungspräparat der Bindehaut bei Trachom sieht man sie oft; daraus kann man schließen, daß sie bei Trachom ziemlich oberflächlich in der Epithelschicht existieren.

6. Lymphocyten (Tafel I, Abb. 17—22). Im Sekret bei der chro-

nischen Conjunctivitis, bei Trachom, besonders bei Plasmom, sieht man oft zahlreiche kleine Lymphocyten. Durch die Pironin-Methylgrünfärbung kann man deutlich sehen, daß das rotgefärbte periphere schmale Protoplasma aus einem Haufen von ganz kleinen Granula besteht. Man sieht im Kern ein dunkelrot sich färbendes Kernkörperchen. Die mittelgroßen Lymphocyten und die sog. gereiften mit reichem Protoplasma verhalten sich bei den gleichen Krankheiten wie Lymphocyten; ebenso die sog. Lymphoblasten. Die letzteren scheinen einen enorm großen Kern und schmales Protoplasma zu haben, aber wenn man mit Pironin-Methylgrün lange Zeit (30 Min.) färbt, so erscheint ein echter Kern, welcher einige Kernkörperchen enthält. Der sich violett färbende Teil, der um den Kern liegt und wie ein Kernteil aussieht, ist etwas anderes. Die Lymphoblasten haben oft einen amöbenartigen, verschieden gestalteten Fortsatz. Wenn derartige Zellen ein basisch sich nicht stark färbendes Protoplasma haben, so ist der Unterschied zwischen ihnen und Histiocyten schwer. Zuweilen enthalten die Lymphoblasten zwei Kerne.

7. Plasmazellen (Tafel I, Abb. 23—27). Die im Malschalkoschen Typus einen eigentümlichen Kern enthaltenden Plasmazellen erscheinen im Sekret bei denselben Krankheiten wie Lymphocyten, besonders bei Trachom, ebenso bei Plasmom; aber bei dem letzteren sind sie nicht so wie bei ersterem, im Gewebe, sondern die Lymphocyten übertreffen sie an Zahl. Bei der Pironin-Methylgrünfärbung zeigt sich das Kernkörperchen dunkel. Bei dem Ausstrich färbt sich der Kern auch gut mit Hämalaun. Die Größe der Zellen ist verschieden, die Form ist auch nicht bestimmt, manchmal sind sie eckig. Zerstreut sieht man die Zellen mit zwei oder drei Kernen. Es gibt auch Zellen, welche im allgemeinen den Plasmazellen entsprechen, aber keine typische Kernstruktur haben, sondern der sog. Reizungsform von Türk ähnlich sind. Sie haben zuweilen zwei Kerne.

8. Große mononucleäre Zellen und Übergangsformen (Tafel I, Abb. 28—38). Bei Trachom treten sie besonders häufig auf. Wenn die Conjunctivitis z. B. durch Koch-Weeks-Bacillen verursacht wird, wenn bereits vorher Trachom bestanden hat, so treten große Mononucleäre zahlreich neben den polynucleären Leukocyten auf. Bei akutem Trachom spielen sie oft die Hauptrolle als wichtige Bestandteile der Sekretzellen. Mithin hat ihr Vorkommen einen diagnostischen Wert. Außerdem sahen wir sie bei Plasmom. Das Kernkörperchen färbt sich schön rot mit Pironin. Wie polynucleäre Leukocyten oder sogar noch öfter, enthalten sie in dem Protoplasma basophile und acidophile Granula in verschiedener Größe. Die großen acidophilen Granula (mit Fuchsin stark gefärbt) erscheinen wie Lüsselsche Körperchen. Fetttröpfchen liegen zuweilen in dem Protoplasma

(gefärbt rötlichgelb mit Sudan III, rot mit Scharlachrot). Wenn man mit Nilblau färbt, dann erscheinen zuweilen in dem Protoplasma zahlreiche kleine (aber nicht gleichmäßige) blau sich färbende Körner, die sich meist in der Nähe des Kernes sammeln. Diese Körner färben sich auch rotbraun mit Neutralrot. Man sieht selten, daß große Mononucleäre Melaninpigment enthalten. Aber der Unterschied zwischen diesen und Epithelzellen ist natürlich schwer. Küsel¹¹⁾ und Inatomi¹²⁾ behaupteten, daß subepithelial in der Bindehaut pigmenthaltige Zellen liegen. Wenn sie recht haben, dann wären es große Mononucleäre. Einige Autoren (Hattori, Kawamura und Kimura) behaupten, daß die sog. Chromatophoren im weiteren Sinne den Histiocyten angehören. Vereinzelt sieht man außerdem im Sekret große Mononucleäre mit zwei Kernen, die Kernteilungsfiguren zu sein scheinen. Ferner sieht man selten Mitose dieser Zellen.

Diese Zellen sind einmal als Mikrophagen, ein ander Mal als Makrophagen tätig, so enthalten sie Bakterien oder Zellen und ihre Detritusmasse. Als der letzteren begegnet man oft pyknosierten Leukocytenkernen oder einem vollen Leukocyt und Erythrocyt, sogar einer vollen Plasmazelle. Wenn große Mononucleäre zu viel Zellendetritusmasse aufgenommen haben, so werden sie nach und nach größer und amöbenförmig, wie Lebersche Körperchenzellen im Trachomfollikel. Aber solch großen Zellen begegnet man im Sekret selten, was die Folge der Schwierigkeit der Passage durch die Epithelschicht zu sein scheint. Nur bei Plasmom beobachten wir vereinzelt solch ziemlich große Zellen.

9. Histiocyten (Tafel II, Abb. 39—47). Die Kenntnis der von Aschoff und Kiyono beschriebenen histiocytären Zellen oder Histiocyten erfuhr neuerdings bei uns einen großen Fortschritt. Kiyono, Katsunuma und andere Autoren studierten bei vitaler Färbung und bei der Untersuchung von Oxydase die Funktion der Zellen, phylogenetisch, ontogenetisch, physiologisch und pathologisch. Daß die vielfach im Gewebe als Makrophagen in Tätigkeit gewesenen Zellen, Clasmatoocyten von Ranvier, große lymphoide Wanderzellen von Marchand, alles Histiocyten sind, erscheint sicher. Ebenso gehören große Mononucleäre im Gewebe, die aus den Gewebselementen entspringen, meist zu den Histiocyten. Nur scheinen große Mononucleäre und Übergangsformen im Blut myelogen zu sein. Auf ophthalmologischem Gebiet wissen wir seit Goldmann¹⁴⁾, Rados¹⁵⁾ und Schnaudigel¹⁶⁾, daß die Histiocyten subconjunctival, in der Iris, besonders im Ciliarkörper liegen. Suganuma¹⁷⁾ und Hoshiyama¹⁸⁾ führten durch subconjunctivale Injektion von Carminlösung Zellstudien bei der Keratitis aus. Kagoshima¹⁹⁾ studierte auch diese Frage. Nach Hiwatari²⁰⁾ gibt es eine Reihe Zellen in der inneren Körnerschicht

der Retina von Amphibien, die Carminkörner aufweisen. Er²¹⁾ untersuchte ferner das Trachom histologisch und fand in der *Propria conjunctivae* Lymphocyten, Plasmazellen und morphologisch Histiocyten ähnliche Zellen. Er bemerkte ferner eine Emigration der kleinen Lymphocyten durch die Epithelschicht. Da wir schon lange wissen, daß die Plasmazellen ins Sekret austreten, so wäre es möglich, daß die Histiocyten auch im Sekret erscheinen, wie kleine Lymphocyten und Plasmazellen. Anderseits besteht die Vermutung, daß die bei Trachom zahlreich vorhandenen großen Mononucleären vielleicht Histiocyten wären. Man konnte das sicher erweisen.

Wir spritzten zuerst wiederholt in die Vene des Kaninchens 4proz. Lithioncarminlösung ein, dann träufelten wir Emetinlösung in den Bindehautsack ein. Aber keine carminhaltigen Zellen erschienen im Sekret. Beim gleichzeitigen Einträufeln von Carminlösung war es ebenso, und alleinige Einträufelung von Carminlösung (mit der Emetineinträufelung) ohne Einspritzung brachte auch negatives Resultat. Aber als wir zuletzt die Carminlösung subconjunctival einspritzten und nach oder vor der Einspritzung, die Emetinlösung in den Conjunctivalsack einträufelten, sahen wir nach 12 Stunden schon im Sekret zahlreiche carminhaltige Zellen. Wenn man gleichzeitig die Carminlösung einträufelt, dann färben sich der Kern und das Protoplasma supravital oder postmortal dünnrot, so daß die Zelle ihre Kontur leicht erkennen läßt. Sonst erscheinen im Gesichtsfeld nur Granula von Carmin; deswegen bedarf es einer Nachfärbung. Zur Fixierung des Ausstriches benutzten wir die Flamme, dann färbten wir mit 0,1proz. Hämalaunlösung nach.

Die Veneneinspritzung und die Einträufelung von Tuschelösung brachten auch negatives Resultat, die subconjunctivale Injektion der Tusche mit gleichzeitiger Einträufelung von Emetinlösung brachte aber positives Resultat. Die tuschegranulahaltigen einkernigen Zellen treten noch früher als carminhaltige auf. Wenn man nach der Chromsäurefixierung mit Pironin-Methylgrün nachfärbt, dann gewinnt man ein schönes Präparat.

Das Neutralrot wird auch von den Zellen aufgenommen, und die Granula erscheinen wie ein Ring, weil das Zentrum etwas heller ist. Das Kollargol wird auch aufgenommen. Wenn man *Oleum olivarium* durch das Lid subconjunctival einspritzt (die Einspritzung durch die Bindehaut paßt nicht dazu, weil aus dem Einstichloch Öltropfen teilweise ausfließen), erscheinen im Sekret öltropfenhaltige einkernige Zellen, mit polynucleären Leukocyten, welche eben die Fetttropfchen enthalten. Die Einspritzung von Lanolinemulsion zeigt das gleiche Verhältnis. Über Amyloid, Glykogen, Cholestearin, Hämosiderin, Kalk usw. können wir noch nichts Sicheres sagen.

Die Auswanderung solcher farbstoffaufnehmender Zellen dauert nicht lange, sondern sie verschwinden nach 5—6 Tagen allmählich; trotz einer neuen Einträufelung erscheinen sie nicht mehr. Der Grund ist noch nicht klar. Einmal bildete sich nach der Carmininjektion eine Fistel aus einem in dem Fornix subconjunctival gebildeten Absceß. Der Eiter von der Fistel enthielt lange Zeit die carminhaltigen Zellen.

Untersucht man histologisch das Gewebe der Bindehaut, nachdem wiederholt Carminlösung eingespritzt und dabei gleichzeitig eine Entzündung hervorgerufen war, so kann man bemerken, daß die *Propria conjunctivae* und das subconjunctivale Gewebe im allgemeinen gelockert und mit carminhaltigen Zellen durchsetzt sind, welche teilweise sich in der Epithelschicht befinden. Außerdem liegen Carminzellen ziemlich weit von der Bindehaut entfernt. Bei der Tuschelösungsinjektion sieht man außer den tuschehaltigen Zellen im Gewebe isolierte Tusche-körnchen, die durch die Epithelschicht nach der Oberfläche gewandert sind.

Wir spritzten ferner einem Kranken mit Plasmom in den oberen Fornix subconjunctival die Tuschelösung ein, was keine Schmerzen verursachte. Die tuschehaltigen Zellen erschienen bald wie bei den Tieren, was nur 5—6 Tage dauerte, trotzdem schwarze Flecke noch sichtbar waren. Dagegen verursachte die Carminlösung schon beim Tier Schmerzen und Ödem, deshalb spritzten wir dem Menschen anfangs ganz dünne Flüssigkeit, nämlich in 1proz. Kochsalzlösung gelöste, dann in 2proz. Natriumcarbonatlösung gelöste, ein. Aber das Resultat war immer negativ. Zuletzt wirkte reine 4proz. Lithioncarminlösung positiv. Das Ödem war ziemlich stark.

Spezifisch ist, daß sowohl bei der Tuscheinjektion als auch bei der Carmininjektion anfangs polynucleäre Leukocyten, die Pigmentkörner aufnehmen, erscheinen, vor den Histiocyten, aber sie verschwinden bald.

Die Zellen sind nämlich Kiyonos Histiocyten.

Was die Form der Histiocyten im Augensekret betrifft, so entspricht sie im allgemeinen derjenigen großer Mononucleärer. Die kleine Form hat die Größe von gereiften Lymphocyten. Aber der Kern hat eine eigentümliche Form, ist meist nicht rund und liegt an einer Seite angelehnt. Wenn man einmal ihre Form kennengelernt hat, so kann man sie leicht in dem gewöhnlichen gramgefärbten Präparat auffinden. So sind die Zellen, welche sich z. B. bei Trachom finden und als große Mononucleäre oder Übergangsform bezeichnet wurden, zum großen Teil Histiocyten. Es gibt freilich in dem Ausstrich auch große Mononucleäre, welche keinen Pigmentstoff aufgenommen haben, aber es ist natürlich schwer, subconjunctival überall die Pigmentlösung auftreten zu lassen. Da man jedoch heutzutage annehmen muß,

daß im Blut echte myelogene große Mononucleäre existieren, so kann man noch nicht sagen, daß alle großen Mononucleäre im Sekret Histiocyten wären.

Kiyono¹³⁾ hat angegeben, daß die Histiocyten durch Phagocytose nach und nach größer werden und endlich zu Fremdkörperriesenzellen werden. Solch große Makrophagen existieren selten im Sekret, wie vorher gesagt, aber zahlreich im Chalazion, und die Leberschen Körperchenzellen scheinen solche zu sein, wie Hiwatari nach der Form vermutet. Die im Keimzentrum der Trachomkörner vorhandenen, teils als epitheloide Zellen, teils als mononucleäre Leukocyten oder Lymphoblasten bezeichneten Zellen sind ferner nicht einartig; wenn man die Körner ausquetscht und im Ausstrich nach der Chromsäurefixierung mit Pironin-Methylgrün färbt (Tafel III, Abb. d—i), dann sind zweierlei Zellen zu sehen, die einerseits dem Lymphocytensystem und andererseits den Histiocyten zugehören (außer den Fibroblasten). Aber der Unterschied zwischen beiden ist leider rein morphologisch nicht zu erweisen. Kiyono hat gefunden, daß die epitheloiden Zellen im Tuberkelknoten, die man als einen Abkömmling von Bindegewebszellen ansah, zum großen Teil Histiocyten und die Riesenzellen in demselben zusammengeklebte Histiocyten sind. Ebenso ist das Vorkommen von Histiocyten in den Trachomkörnern möglich, darüber sind wir im Laufe der Untersuchung aufgeklärt.

Es ist nicht zu bestreiten, daß große Phagocyten im Chalazion, die anscheinend wie Riesenzellen aussehen, bei der Pironin-Methylgrünfärbung den Histiocyten sehr ähnlich sind. So spritzten wir bei dem Chalazion einer Frau eine Mischung von Carmin- und Tuschelösung von der inneren Seite her ein, was ganz reizfrei verlief. Am nächsten Tag gewannen wir den Inhalt, welcher mit zahlreichen tuschekörnchenhaltigen Histiocyten versehen war (Tafel II, Abb. a—c). Carminhaltige Zellen waren gleichzeitig sehr vereinzelt vorhanden, was eine schlechtere Bedingung der Aufnahme von Carmin als Tusche zu beweisen scheint. Dagegen sahen wir sonst keine Riesenzellen, im Gegensatz zu den Behauptungen von vielen Autoren. Es kann vielleicht sein, daß solche Histiocyten bei der Hämatoxylinfärbung, wegen der multiplen aufgenommenen pyknosierten Kerne, wie Riesenzellen aussehen und mit ihnen verwechselt werden.

Die Einspritzung der Carminlösung (in 1 proz. Kochsalzlösung gelöst) und der Tuschelösung in den Glaskörper gab auch ein interessantes Ergebnis. Im enucleierten Bulbus (5 Tage nach der Carmin- und 7 Tage nach der Tuscheinjektion), sieht man im Glaskörper, besonders vor der Papille und an der Limitans interna der Retina, zahlreiche pigmentstoffhaltige Zellen (Tafel III, Abb. g, j und k). Dieses Experiment beweist nämlich, daß die in der Oguchischen⁶⁾ Arbeit über Blutinjektionen

in den Glaskörper beschriebenen amöboiden Zellen, die an den gleichen Orten erschienen waren, nichts anderes als diese Histiocyten sind. Die letzteren stammen einerseits aus der Papille, anderseits aus dem Ciliarkörper und wandern, Fremdbestandteile aufnehmend, nach der Retina und Papille.

Was die Oxydasereaktion der Sekretzellen betrifft, so untersuchten wir nach Schulze (A) mit d-Naphthol und Dimethylparaphenylendiamin die Reaktion. Wie gewöhnlich sind hier auch die polynucleären Leukocyten stabil-positiv, die kleinen Lymphocyten und die Plasmazellen negativ. Die großen mononucleären Zellen im Sekret enthalten wenig labile Oxydase oder entbehren sie. Das ist ein Beweis, daß große Mononucleäre im Sekret zum großen Teil nicht myelogen (Blutzellen), sondern Histiocyten sind. Die Leberschen Zellen im Trachomkorn zeigen ziemlich deutlich eine labile Oxydasereaktion. Das deutet darauf, daß sie nie myelogen und nie lymphocytär sind. Es scheint, daß sie durch ihre Funktionserhöhung (Phagocytose) die Oxydase vermehrt haben, was gewöhnlich bei Histiocyten vorgeht. Die anderen großen mononucleären Zellen im Trachomkorn, die Histiocyten zu sein scheinen, aber nicht so groß wie die Leberschen Zellen sind, zeigen unbestimmt eine schwache labile Reaktion.

Herkunft der verschiedenen Zellen im Augensekret.

Die Herkunft der Zellen im Augensekret soll hauptsächlich in der Bindehaut sein, außer den abgeschuppten Bindehaut- und Hornhaut-epithelien, weil die Herkunft von den Tränen ausgeschlossen ist. Sodann haben die polynucleären Leukocyten, die Lymphocyten usw. eine aktive Beweglichkeit; also können sie selbst aus der Bindehaut auswandern. Ist das Auftreten solcher Zellen im Sekret eine Folge der negativen Chemotaxis, nämlich das Entfliehen derselben von der Reizstelle? Bei der Entzündung der Bindehaut sind die Gefäße erweitert, und das Blutplasma strömt massenhaft ins Gewebe ein, welches durch die Flüssigkeit angespannt wird, so daß die Flüssigkeit ihren Ausgang suchen muß. Da die Epithelschicht nicht so dick ist, so kann sie leicht zwischen den Epithelien nach außen durchfließen. Dabei können die freiliegenden Zellen im Gewebe passiv mit der Flüssigkeit zusammen ausfließen. Wenn die Bindehaut ziemlich stark entzündet ist, so wird dieses Ereignis eine größere Rolle spielen als die aktive Bewegung der Zellen. Dafür ist ein Beweis, daß in der wiederholt mit Tuschelösung injizierten Bindehaut, wie oben gesagt, die freiliegenden Tuschekörnchen ein Bild zeigen, das für Strömung nach außen spricht. Ferner ist das Ödem, das beim Eindringen von solchen fremden Massen vorkommt, eine geeignete Gewebsreaktion. Es ist also das Augensekret bei Conjunctivitis zum großen Teil die aus dem eigenen Gewebe, nicht

von den Drüsen ausgetretene Flüssigkeit mit Zellelementen, trotzdem es zum Teil natürlich ein Produkt der Becherzellen, nämlich ein echtes Sekret ist. Es handelt sich also um eine Art von Exsudat. Die Exsudatzellen im Augensekret sind frisch.

Die Blutzellen bzw. die polynucleären Leukocyten und ein Teil der kleinen Lymphocyten können wahrscheinlich vom Blut durch das Bindehautgewebe als Exsudatzellen in dem Bindehautsack auftreten. Die sonstigen Zellen werden vermutlich aus dem Gewebe stammen, aber wir haben dazu noch keinen sicheren Anhaltspunkt, außer den großen Mononucleären, die im Augensekret immer nicht myelogen sind, wie oben gesagt.

Die Histiocyten wurden bisher nur bei den Tieren studiert; beim Menschen nur bei dem Nasenpolyp (Komuro), der Synovialhaut (Mayeda) und dem Sputum (Goldmann). Dagegen ist die Bindehaut ziemlich leicht zugänglich; deswegen eignet sie sich zu solchen Untersuchungen. Ferner wäre es ein einfacher Weg und aussichtsvoller als bei der Hornhaut, über die Entzündung Untersuchungen anzustellen, wenn man subconjunctival verschiedene Substanzen einspritzt und gleichzeitig eine Entzündung hervorruft und die Folgen derselben beobachtet.

Als wir diese Arbeit vollendet hatten, erfuhren wir erst von einer schönen Arbeit von Brückner²²); das v. Graefesche Archiv stand uns bis vor kurzer Zeit nicht zur Verfügung. Er beschäftigte sich mit den Binnenzellen am menschlichen Auge, welche besonders in der Vorderkammer und im Glaskörper vorkommen, während wir das Sekret untersuchten. Aber beide Arbeiten haben das Gemeinsame, daß die Zelle in dem Ausstrich untersucht wurde. Wir empfehlen eifrig die Untersuchung in dem Ausstrich. Wir glauben, daß eine künstliche Veränderung dabei weniger vorkommt, wenn das Präparat mit der Chromsäurelösung fixiert wird, als im Schnitt. Das gilt auch z. B. für frisch exstirpierte Tumormassen, um die Zellen frisch und genau zu untersuchen.

Brückner sagte, daß die Plasmazellen in der Vorderkammer oder im Glaskörper selten vorkommen und ihr Kern meist keine spezifische Gestalt zeigt. Aber im Sekret sahen wir ziemlich zahlreiche, bei Trachom, besonders bei Plasmom typische Plasmazellen, außer den Türkscher Reizungsform ähnlichen. Er nahm die Fähigkeit der polynucleären Leukocyten zur Aufnahme von Fuscine wahr. So nahmen sie bei unserer Untersuchung die Tuschkörnchen auf. Er sah in großen Mononucleären zuweilen Centrosomen. Als wir beim Kaninchen die Emetinlösung eingeträufelt hatten, sahen wir nach 4–5 Stunden Zellen im Sekret, welche in dem Protoplasma vereinzelt außer den

Schleimblasen neben dem Kern ein scharfes Knötchen aufwiesen, welches sich mit Eosin-Polychrom-Methylenblau blau, mit Pironin-Methylgrün tief violett färbte, was für Centrosomen spricht.

Als Binnenexsudatzellen erschienen große Mononucleäre nach Brückner meist nicht frühzeitig, aber bei uns kamen sie ziemlich früh im Sekret vor. Es ist uns fraglich, ob er die Vakuolen in dem Protoplasma für einen Degenerationsprozeß hielt. Er hat ja recht, wenn er sagt, daß der Unterschied zwischen den großen Mononucleären und großen Lymphocyten sehr schwer oder unmöglich ist, und daß anscheinend ein Übergang zwischen beiden vorkommt. Freilich sind Zellen, welche als große Lymphocyten angesehen werden, wohl meist wirklich große Mononucleäre, und genau gesagt Histiocyten. Leider wurde bei der Brücknerschen Arbeit die Untersuchung über Histiocyten mit vitaler Färbung und Untersuchung von der Oxydase nicht ausgeführt.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I—III.

- Abb. 1- 7. Epithelzellen im Sekret (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 1. Koch-Weeksche Bacillen phagocytierte.
- Abb. 2. Koch-Weeksche Bacillen und Gonokokken phagocytierte (Mischinfektion).
- Abb. 3. Zwei pyknosierte Kerne der polynucleären Leukocyten phagocytierte.
- Abb. 4. Ein Lymphoblast phagocytiert.
- Abb. 5. Becherzellen im Sekret.
- Abb. 6. Pigmentzellen im Sekret.
- Abb. 7. Prowaczeksche Körperchen.
- Abb. 8—13. Neutrophile polynucleäre Leukocyten.
- Abb. 8. Fünf Typen nach Arneth (Eosin-Methylenblaufärbung).
- Abb. 8'. Basophile Körner (").
- Abb. 8''. Acidophile Körner (").
- Abb. 9. Pyknosierte Kerne (").
- Abb. 9'. Ungleichmäßige Färbung der Kerne (").
- Abb. 10. Karyolyse der Kerne (").
- Abb. 11. Fetttröpfchen (Sudan III-Färbung).
- Abb. 11'. Fett als Hauptbestandteil der Zelle (").
- Abb. 12. Fetttröpfchen (Scharlachrotfärbung).
- Abb. 13. Stabile Oxydasereaktion der polynucleären Leukocyten.
- Abb. 14. Eosinophile Zellen (Eosin-Methylenblaufärbung).
- Abb. 15. Mastzellen (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 16. Mastzellen (Eosin-Methylenblaufärbung).
- Abb. 17—22. Lymphocyten (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 17. Kleine Lymphocyten.
- Abb. 18. Mittelgroße Lymphocyten und gereifte Form.
- Abb. 19. Lymphoblasten.
- Abb. 20 u. 21. Klar erscheinender Kern der Lymphoblasten.
- Abb. 22. Labile Oxydasereaktion der Lymphoblasten (Pironinvorfärbung).
- Abb. 23—27. Plasmazellen (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 23. Plasmazellen in verschiedener Größe.
- Abb. 24. Zweikernige Plasmazellen.

- Abb. 25. Dreikernige Plasmazellen.
- Abb. 26 u. 27. Plasmazellen, die keine typische Kernstruktur haben, der sog. Reizungsform von Türk ähnlich sind.
- Abb. 28—38. Große Mononucleäre.
- Abb. 28. Große Mononucleäre in verschiedener Größe (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 29. Die Gonokokken phagocytiert (").
- Abb. 30. Basophile und acidophile Körner in den großen Mononucleären (").
- Abb. 31. Die neutrophilen polynucleären Leukocyten, phagocytierte große Mononucleäre (").
- Abb. 32. Die Erythrocyten phagocytierte (").
- Abb. 33. Die Plasmazellen phagocytierte (").
- Abb. 34. Basophile und acidophile Körner in den großen Mononucleären (Eosin-Methylenblaufärbung).
- Abb. 35. Fettröpfchen in den großen Mononucleären (Sudan III- und Hämalaninfärbung).
- Abb. 36. Zweikernige große Mononucleäre (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 37. Mitose (").
- Abb. 38. Labile Oxydasereaktion der großen Mononucleären (Pironinvorfärbung).
- Abb. 39—47. Histiocyten im Sekret.
- Abb. 39. Carminhaltige Histiocyten in verschiedener Größe (Hämalaninfärbung).
- Abb. 40. Carminhaltige Histiocyten mit postmortaler Färbung des Kerns und des Protoplasmas.
- Abb. 41. Tuschkörnerhaltige Histiocyten (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. 42. Mehr phagocytierte Histiocyten (").
- Abb. 43. Neutralrothaltige Histiocyten (").
- Abb. 44. Histiocyten, darin sich zahlreiche mit Scharlachrot färbende Körnchen befinden (Scharlachrotfärbung).
- Abb. 45. Histiocyten, darin sich zahlreiche mit Nilblau färbende Körnchen befinden (Nilblaufärbung).
- Abb. 46. Histiocyten in Safraninfärbung.
- Abb. 47. Labile Oxydasereaktion der Histiocyten (Pironinvorfärbung).
- Abb. a. Tuschkörnchenhaltige Histiocyten in verschiedener Größe und Gestalt (Pironin-Methylgrünfärbung). Die größere sieht den Leberschen Körnchenzellen im Trachomfollikel ähnlich.
- Abb. b. Histiocyten als Makrophagen (Eosin-Polychrome Methylenblaufärbung).
- Abb. c. Histiocyten ohne Tuschkörnchen (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. d—i. Zellen im ausgequetschten Trachomfollikel (Pironin-Methylgrünfärbung).
- Abb. d. Lymphoblasten in verschiedener Größe und Gestalt.
- Abb. d'. Mitose der Lymphoblasten.
- Abb. d''. Zweikernige Lymphoblasten.
- Abb. e. Plasmazellen.
- Abb. f. Plasmazellen, die keine typische Kernstruktur haben, der sog. Reizungsform von Türk ähnlich sind.
- Abb. g. Große Mononucleäre.
- Abb. h. Übergang zu Leberschen Körnchenzellen.
- Abb. i. Lebers Körnchenzellen.
- Abb. j. Tuschehaltige Histiocyten an der Retina (7 Tage nach der Injektion von der Tuschelösung in den Glaskörper).
- Abb. k. Carminhaltige Histiocyten an der Retina (5 Tage nach der Injektion von der Carminlösung in den Glaskörper).

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Miyashita, S., Über Conjunctivitis folliculosa acuta. Vortrag bei der Gesellschaft „Nippongankagakkwai“ 1913. Ref. im Bericht derselben S. 1147. —
 - ²⁾ Miyashita, S., Moderne Bakteriologie in der Augenheilkunde. Tokio 1914. —
 - ³⁾ Miyashita, S., Conjunctivitis und Sekret. Nippongankagakkwaizassi **23**. 1919. —
 - ⁴⁾ Oguchi, Ch., Über die Zelldiagnose bei dem Augensekret, nebst Bemerkungen über einige dazu benutzte Fixierungs- und Färbungsmethoden. Ebenda **23**. 1919. —
 - ⁵⁾ Oguchi, Ch., Emetinophthalmie. Tokioer med. Wochenschr. 1918. —
 - ⁶⁾ Oguchi, Ch., Über die Wirkung von Blutinjektionen in den Glaskörper, nebst Bemerkungen über die sog. Retinitis proliferans. v. Graefes Archiv **84**. 1913. —
 - ⁷⁾ Wakizaka, K., Studien über die Zellformen des Trachomkörnerinhaltes. Nippongankagakkwaizassi **12**. 1908. —
 - ⁸⁾ Wakizaka, K., Klinische und pathologische Studien über die infektiöse Conjunctivitis. Ebenda **12**. 1908. —
 - ⁹⁾ Pascheff, Weitere Mitteilungen über die plasmacellulären Bildungen der Bindehaut-Conjunctivitis plasmacellularis. v. Graefes Archiv **71**. 1909. —
 - ¹⁰⁾ Pascheff, Über die Chlamydozoen oder Trachomkörperchen und andere eigenartige Körperchen-Epithelzelleneinschlüsse. Ebenda **73**, 182. 1910. —
 - ¹¹⁾ Küsel, Beitrag zur Kenntnis der Pigmentflecke in der Bindehaut des Menschen. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. **45**. 1907. —
 - ¹²⁾ Inatomi, Über die Pigmentflecke der Bindehaut, die im Endstadium des Trachoms hervortreten. Jikkengankazassi H. **23**. Tokio 1921. —
 - ¹³⁾ Kiyono, K., Arbeiten über vitale Färbung. Tokio 1921. —
 - ¹⁴⁾ Goldmann, Die äußere und innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der vitalen Färbung. Beitr. z. klin. Chirurg. **64**. —
 - ¹⁵⁾ Rados, Die Ausscheidung von intravenös injiziertem Carmin und Tripfanblau im Auge. v. Graefes Archiv **85**. 1913. —
 - ¹⁶⁾ Schnaudigel, Die vitale Färbung mit Trypanblau am Auge. Ebenda **86**. 1913.¹⁾ —
 - ¹⁷⁾ Suganuma, Über die vitale Färbung. Nippongankagakkwaizassi **20**. 1916. —
 - ¹⁸⁾ Suganuma u. Hoshiyama, Vitale Färbung zu Studien der Keratitis. Ebenda **20**. 1916. —
 - ¹⁹⁾ Kagoshima, S., Vitale Färbung zur pathologischen Untersuchung der Hornhaut. Diskussion zum Vortrag von Suganuma 1916. —
 - ²⁰⁾ Hiwatari, Zit. nach der Kiyonoschen Arbeit 1921. —
 - ²¹⁾ Hiwatari, Über das Wesen des Trachoms nebst einem Beitrag zur normalen Histologie der Conjunctiva. Acta scholae medic. universitatis imperialis in Kioto **3**. 1919. —
 - ²²⁾ Brückner, Cytologische Studien am menschlichen Auge. v. Graefes Archiv **100**. 1919. —
 - ²³⁾ Helly, Zur Morphologie der Exsudatzellen. Zieglers Beiträge **37**. 1905.
-

Fig. j.

Fig. k.