I. Ueber die Lymphzellen.¹⁾

Von Prof. Dr. A. Kossel in Berlin.

M. H.! Wenn ich die Lymphzellen zum Gegenstand eines Vortrages gewählt habe, so geschah dies nicht allein wegen des grossen Interesses, welches die heutige Pathologie diesen Gebilden und den ihnen nahe verwandten Leukocyten des Blutes entgegenbringt, sondern auch deshalb, weil die Chemie der Lymphzellen am besten geeignet ist, uns einen Einblick in die Chemie der Zelle überhaupt zu gewähren.

Ehe man es versucht, in das Wesen der chemischen Prozesse einzudringen, welche sich in der Zelle abspielen, muss man die Substanzen kennen lernen, welche bei diesen Reactionen in Betracht kommen. Der chemischen Physiologie der Zelle muss eine chemische Beschreibung vorausgehen, demgemäss stehen unsere Kenntnisse über die Lymphzellen, welche ja erst in den ersten Stadien ihrer Entwicklung begriffen sind, fast ausschliesslich auf einem descriptiven Standpunkt.

Die chemische Beschreibung der Zelle hat sich nicht darauf zu beschränken, dass sie die Bestandtheile derselben aufzählt, ihre Eigenschaften und ihre chemische Constitution klarlegt. Nicht minder wichtig ist es, die Vertheilung der Stoffe in der Zelle, die Beziehung der chemischen Bestandtheile zu den anatomischen Elementen zu kennen. Entsprechend diesen beiden Gesichtspunkten sind die Forschungen über die chemische Zusammensetzung der Lymphzellen zwei verschiedene Wege gegangen. Einerseits hat man es versucht, grössere Mengen von Lymphzellen zu isoliren, um diese nach unseren chemischen Methoden zu verarbeiten, die Bestandtheile zu charakterisiren und aus den Eigenschaften dieser Stoffe Reactionen für mikroskopische Erkennung abzuleiten. Andererseits ist man von der anatomischen Betrachtung ausgegangen, man hat im mikroskopischen Bilde der Zelle mit Hilfe chemischer Reagentien gewisse Bestandtheile auffindig zu machen versucht und es der makrochemischen Forschung überlassen, die Natur dieser Stoffe festzustellen.

Eine nothwendige Bedingung für die Untersuchung in der erstgenannten Richtung ist die Beschaffung einer grösseren Menge von Lymphzellen. Man hat diese zum Theil aus den Lymphdrüsen, hauptsächlich aus der Thymusdrüse durch Auspressen und Centrifugiren gewonnen. Die grosskernigen Zellen der Thymusdrüse erwiesen sich nach dieser Verarbeitung unter dem Mikroskop als wohl erhalten.

Welches sind nun die Bestandtheile dieser Lymphzellen? Unter der grossen Zahl der Stoffe, welche man in den Zellen überhaupt vorfindet, giebt es einzelne, die jeder entwickelungsfähigen Zelle angehören, die wir nie vermissen, wenn wir jugendliche Gewebe einer chemischen Untersuchung unterwerfen. Ich habe für diese den Namen primäre Zellstoffe vorgeschlagen. Hoppe-Seyler hat schon seit geraumer Zeit als solche Bestandtheile die Eiweisskörper, das Lecithin, das Cholesterin und einige anorganische Stoffe, unter diesen das saure phosphorsaure Kali, bezeichnet. Ich habe auch die Nucleinstoffe als Angehörige dieser Reihe betrachtet. Alle diese Stoffe fanden sich auch bei den Untersuchungen, welche Herr L. Lilienfeld in meinem Laboratorium angestellt hat, in den Lymphzellen vor. Ausser diesen primären Stoffen waren aber auch noch secundäre vorhanden, d. h. solche, die wir nicht in jeder entwickelungsfähigen Zelle vorfinden, die nur in gewissen Zellen und in gewissen Entwicklungsstadien auftreten. Solche sind das

Glykogen, die Fette und das Protogon, Stoffe von der weitesten Verbreitung, sodann ein Körper, der wegen seiner Mittelstellung zwischen den Kohlehydraten und den aromatischen Substanzen von Interesse ist: der Inosit, und endlich eine Amidosaure, die man bisher nur vereinzelt in den Geweben vorgefunden hat: die Amidovaleriansäure, ein Zersetzungsproduct der Eiweisskörper.

Unter den genannten Substanzen nehmen nun die Nucleinstoffe der Menge nach die erste Stelle ein. Es ist dies leicht verständlich, da der Kern fast den ganzen Raum der Zelle erfüllt. Die Nucleinstoffe gehören bekanntlich zu einer Gruppe von Eiweisskörpern, welche man unter dem Namen der Proteide zusammenfasst. Diese Proteide sind Verbindungen der Eiweisskörper mit organischen oder anorganischen Stoffen, und zwar ist es in den Nucleinen eine organische phosphorhaltige Gruppe, die „Nucleinsäure“, welche an das Eiweiss angefügt ist.

Die chemische Untersuchung dieser Säure enthüllt uns organische Atomcomplexe, welche von denen des Eiweisses durchaus verschieden sind. Ich habe mich seit mehreren Jahren mit der Frage nach dem chemischen Bau der Nucleinsäure beschäftigt und habe bei diesen Untersuchungen gefunden, dass in dem Molecül dieser Säure Atomgruppen vorhanden sind, welche Stickstoff- und Kohlenstoffatome in sehr enger Verbindung enthalten und die wir nach unseren heutigen chemischen Theorien als ringförmige bezeichnen. Diese stickstoffhaltigen cyclischen Gruppen, das Adenin, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin zeigen in ihrem chemischen Bau und in ihren Eigenschaften eine nahe Verwandtschaft zur Harnsäure. Meine Befunde brachten mich daher sofort auf den Gedanken, dass die Harnsäure aus den Nucleinstoffen hervorgeht, und durch diese Untersuchung ist in der That das wichtigste Argument gegeben, welches für die Bildung der Harnsäure aus den Bestandtheilen des Zellkerns angeführt werden kann. Stadthagen und später Horbaczewski haben diese Idee weiter verfolgt.

Neben den genannten, in ihrer Constitution der Harnsäure nahestehenden Stoffen gehen aber noch andere aus den Nucleinsäuren hervor. In Gemeinschaft mit Herrn Dr. Albert Neumann konnte ich unter den Zersetzungsproducten noch eine schön krystallisirende Substanz von complicirter Zusammensetzung ($C_{23}H_{26}N_8O_6$) nachweisen; wir haben ihr den Namen Thymin beigelegt, da wir sie zuerst in der Nucleinsäure der Thymuszellen aufgefunden haben. Mit diesen Stoffen ist aber die Zahl der organischen Verbindungen, die ihren Ursprung aus der Nucleinsäure ableiten, noch lange nicht erschöpft. Das Molecül der Nucleinsäure ist ein sehr complicirtes, es ist vielleicht ebenso mannigfaltig wie das der Eiweisskörper. Jedenfalls erhellt aus den von mir angeführten Thatfachen, dass neben dem Eiweiss noch eigenartige, vom Eiweiss durchaus verschiedene Atomgruppen in der lebenden Zelle thätig sind. Die Nucleinsäure ist im Kern entwickelungsfähiger Zellen stets vorhanden, sie muss also für die Functionen dieses Organs unentbehrlich sein.

Sie ersehen aus diesen Ausführungen, dass man zu völlig unrichtigen Vorstellungen gelangt, wenn man das Eiweiss als den wichtigsten Bestandtheil der lebenden Substanz, als den Träger des Lebens betrachtet. Ich nehme für die Nucleinsäure eine ebenso wichtige Rolle in Anspruch. Nichts berechtigt uns dazu, aus den chemischen Bestandtheilen der Zelle einen einzelnen herauszugreifen und in diesem das ganze Räthsel des Lebens zu suchen.

¹⁾ Vortrag, gehalten im Verein für innere Medicin am 5. Februar 1894.

Eine sehr merkwürdige Eigenthümlichkeit der Nucleinsäure ist ihre Fähigkeit, mit Eiweiss in Verbindung zu treten. Wie Altmann gezeigt hat, kann man eine solche Verbindung künstlich darstellen, wenn man Nucleinsäure in wässriger Lösung zu einer Eiweisslösung hinzufügt. Es entsteht ein Niederschlag und dieser ist das Nuclein. Mit der Bildung des Nucleins aus der Nucleinsäure und dem Eiweiss ist aber der Aufbau der Nucleinstoffe noch nicht vollendet, denn wir finden in der Lymphzelle das Nuclein noch wieder in Verbindung mit einem neuen Körper eiweissartiger Natur.

Ich möchte Ihre Aufmerksamkeit auf diese eigenthümliche Substanz lenken. Ich habe sie zuerst in den kernhaltigen rothen Blutkörperchen in Verbindung mit dem Nuclein dieser Zellkerne vorgefunden und sie mit dem Namen Histon bezeichnet. Herr Lilienfeld hat sie später auch in den Lymphzellen der Thymusdrüse, sowie in allen zelligen Gebilden des thierischen Körpers nachgewiesen und eine Verbindung des Nucleins mit Histon, das Nucleohiston, in reinem Zustand dargestellt.

Als ich die Eigenschaften des Histons zuerst kennen lernte, glaubte ich in ihm einen der einfachsten Eiweisskörper, eine Albumose, vor mir zu haben, aber meine neuen Untersuchungen haben mich zu einer anderen Ansicht geführt. Es ist mir gelungen, aus zwei Bestandtheilen thierischer Gewebe künstlich eine Substanz darzustellen, welche sich vom Histon nicht unterscheiden lässt. Der eine Component dieser Substanz ist in freiem Zustand bisher nur in den Spermatozoen des Lachses vorgefunden worden, es ist das von Miescher entdeckte Protamin. Fügt man eine Lösung des Protamins zu einer Lösung von Albumose (oder Eiweiss), so bleibt die Flüssigkeit zunächst klar, setzt man nun ein wenig Ammoniak hinzu, so entsteht ein Niederschlag, und dieser besitzt alle Eigenthümlichkeiten des Histons. Wir haben in dieser Entstehungsweise des Histons ein Gegenstück zu der Entstehung des Nucleins. Das Protamin ist eine Base, es ist nur in alkalischer Lösung imstande, das Eiweiss zu binden, und es entsteht ein Proteid von basischen Eigenschaften, das Histon; die Nucleinsäure hingegen besitzt stark sauren Charakter und fällt das Eiweiss nur in saurer Lösung, auch das hierbei entstehende Proteid, das Nuclein, ist eine Säure.

Wenn das Histon wirklich aus Protamin und Albumose zusammengesetzt ist, so müsste man es auch unter Bildung von Protamin zerlegen können. Ich habe mich bisher noch vergeblich bemüht, diesen Nachweis zu führen, ich finde aber diesen Misserfolg auch leicht verständlich. Das Protamin ist eine noch wenig bekannte Substanz, es ist durch keine besonders charakteristischen Merkmale gekennzeichnet, und seiner Auffindung unter den Zersetzungsproducten der Eiweisskörper stehen grosse Schwierigkeiten entgegen.

Dazu kommt noch eine Eigenthümlichkeit der Eiweisskörper, welche die Aufschung angefügt, sog. „prothetischer“ Gruppen unter Umständen ganz ausserordentlich erschweren kann. Das Eiweiss ist imstande, die anfangs nur locker angefügte Gruppe allmählich immer fester und fester zu binden und sie — sit venia verbo — in das Innere des Molecüls aufzunehmen. So ist es zu erklären, dass wir Verbindungen von Eiweiss und Nucleinsäure vorfinden, die ganz locker sind, und andere, aus denen man die angefügte Nucleinsäure nicht wieder frei machen kann, und so werden die Schwierigkeiten der Loslösung angefügter Stoffe vom Eiweissmolecül verständlich.

Am besten wird diese merkwürdige Eigenschaft der Eiweisskörper durch die von Schmiedeberg untersuchten Verbindungen von Eiweiss mit den Oxyden des Eisens illustriert; hier zeigt sich deutlich, wie das Eiweissmolecül auch künstlich zu einer mehr oder weniger innigen Aufnahme des Eisens veranlasst werden kann.

Diese Loslösung der angefügten Gruppen, welche den Manipulationen des Chemikers so schwer gelingt, wird von den in der Zelle vorhandenen Kräften anscheinend mit grosser Leichtigkeit vollzogen. In den unreifen Spermatozoen des Lachses findet sich Histon, beim Reifungsprocess wird aus diesem das Protamin in Freiheit gesetzt, es ist in den reifen Organen in beträchtlicher Menge vorhanden und leicht nachzuweisen. Im ruhenden Zellkern ist die Nucleinsäure an Eiweiss gebunden, bei der Mitose wird sie losgelöst und erscheint als ungepaarte Säure.

Man könnte die Frage aufwerfen, wie es denn möglich ist, diesen Process unter dem Mikroskop zu verfolgen. Um dies verständlich zu machen, muss ich an die Untersuchungen von Ehrlich erinnern, welcher die organischen Farbstoffe zuerst in rationeller Weise anwandte, um die chemischen Eigenthümlichkeiten gewisser Zellstoffe zu charakterisiren. Wenn man eine Zelle mit dem Gemisch einer Farbbase und eines sauren Farbstoffs behandelt, so nehmen gewisse Theile die Farbbase, z. B. das Methylgrün, andere die Farbsäure, z. B. das Säurefuchsin auf. Herr Lilienfeld und gleichzeitig Herr Posner haben das Verhalten der Ehrlich'schen Mischung von Methylgrün und Säurefuchsin zu den Eiweiss-

körpern und zu einem von mir dargestellten Präparat von Nucleinsäure untersucht, und beide sind zu dem Resultat gekommen, dass die Eiweisskörper den sauren, die Nucleinsäure den basischen Farbstoff aufnehmen. Aus den Versuchen des Herrn Lilienfeld über das Verhalten der Nucleinstoffe ergibt sich, dass die Nucleinsäure eine rein grüne, das Histon eine rein rothe Färbung annimmt. In den aus Eiweiss und Nucleinsäure zusammengesetzten Verbindungen ist der Farbenton ein gemischter, und zwar ist er in dem ziemlich stark sauren Nuclein ein blaugrüner, in dem neutralen Nucleohiston ein violetter.

Man ist also durch die Farbenanalyse in den Stand gesetzt, die reine Nucleinsäure mikroskopisch nachzuweisen, und es zeigt sich bekanntlich, dass in den ruhenden Kernen der Lymphzellen der violette Ton vorherrscht, während bei der Mitose und in anderen physiologischen Zuständen die der ungepaarten Nucleinsäure entsprechende grüne Färbung durch das Ehrlich'sche Gemisch zum Vorschein gebracht wird.

Die Bedingungen, unter welchen das Freiwerden der Nucleinsäure in den Zellen stattfindet, und die Verhältnisse der mehr oder minder festen Bindung an das Eiweiss¹⁾ sind bisher noch wenig erforscht. Durch die gemeinsam mit Herrn Dr. Albert Neumann angestellten Versuche konnte ich feststellen, dass die Lymphzellen der Thymusdrüse von allen bisher untersuchten Organen zur Darstellung der freien Nucleinsäure am besten geeignet sind. Aus 1 Kilo gereinigten Thymusgewebes erhielten wir nach einem wenig eingreifenden Verfahren 25 g Nucleinsäure, aus 1 Kilo Milz 5,4 g, aus Pankreasgewebe gelang die Darstellung der freien Säure nach der gleichen Methode nicht, obgleich in diesem Organ die Verbindung der Nucleinsäure mit Eiweiss in sehr erheblichen Quantitäten vorhanden ist. Die Nucleinsäure ist also in den verschiedenen Organen mit verschiedener Festigkeit gebunden.

Eine Vorstellung von der Function der Nucleinsäure in der lebenden Zelle können wir erst dann erhalten, wenn wir eine tiefere Einsicht in die chemische Constitution derselben gewonnen haben, aber wir haben in der eiweissbindenden Fähigkeit der Nucleinsäure doch schon eine Eigenschaft derselben kennen gelernt, welche bei der Beurtheilung ihrer physiologischen Rolle in Erwägung gezogen werden muss. Schon vor längerer Zeit machte ich die Beobachtung, dass organisirte Theile, welche man in eine Lösung der Nucleinsäure bringt, schnell opak werden und absterben, indem das Eiweiss sofort mit der Nucleinsäure in Verbindung tritt. Ich machte schon damals darauf aufmerksam, dass auf diese Weise ein Verständniss für die bactericide Wirkung gewisser Zellen gegeben werden kann.

Mein Bruder, Herr Dr. H. Kossel, hat die Einwirkung der Nucleinsäure auf die Mikroorganismen zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung gemacht und ist dabei zu dem Resultat gekommen, dass die Nucleinsäure selbst in einer Verdünnung von 0,5% noch eine abtödtende Wirkung auf Cholera bacillen, Typhusbacillen, Streptococcen, Staphylococcen ausübt. Die Zeit, in welcher sich diese Wirkung offenbart, ist je nach der untersuchten Species eine verschiedene. Die Cholera bacillen erfordern nur eine Einwirkung von wenigen Minuten, während Streptococcen und Staphylococcen bei dieser Concentration erst nach mehreren Stunden abgestorben sind. Zum Vergleich wurde die Wirkung einer Essigsäure von gleicher Acidität studirt. Hier erfolgte die abtödtende Wirkung — wenn sie überhaupt eintrat — erst nach längerer Zeit. Die Gegenwart von Eiweiss verlangsamt die bactericide Wirkung der Nucleinsäure, hebt sie aber nicht auf.

Bekanntlich hat man sich schon seit längerer Zeit bemüht, die bacterientödtende Wirkung der Zellen auf gewisse von der Zelle producirte Stoffe zurückzuführen. In der Nucleinsäure ist ein chemisch gut charakterisirter Stoff bekannt geworden, welcher diese Wirkung selbst bei Gegenwart von Eiweiss ausüben kann. Die Zelle besitzt in ihr eine Waffe gegen die Mikroorganismen. Es ist bisher zwar noch keine Beobachtung vorhanden, welche uns beweist, dass diese Waffe wirklich angewandt wird, aber wir dürfen wohl kaum annehmen, dass sie nur zum Schmuck diene. Es ist sehr bemerkenswerth, dass die Lymphzellen von allen untersuchten Organen diejenigen sind, aus denen die Nucleinsäure am leichtesten ohne tiefer greifende chemische Einwirkungen dargestellt werden kann.

Diese Betrachtungen sind der Lehre Metschnikoff's von der Phagocytose leicht anzupassen. Ich zweifle nicht daran, dass die Nucleinsäure bei diesen bactericiden Processen eine Rolle spielt; aber ebensowenig, wie man die Phagocytose als den einzigen Apparat zum Schutz des Organismus gegen die organisirten Krankheitserreger betrachten darf, ebensowenig ist auch die Nucleinsäure der einzige Stoff, dem diese Wirkung in den Zellen zukommt. Die von

¹⁾ Wahrscheinlich ist auch das quantitative Verhältniss zwischen Nucleinsäure und Eiweiss von Einfluss auf die Festigkeit der Bindung.

Hankin, Bitter, Christmas, Vaughan u. a. untersuchten bactericiden Stoffe sind nicht ohne weiteres auf die Nucleinsäure zu beziehen.

M. H.! Ich glaube, durch diese Darlegungen erwiesen zu haben, dass die chemischen Bestrebungen auf dem Gebiete der Zellenlehre mit den wichtigsten Problemen der heutigen Medicin Berührung finden. Bisher freilich haben sich unsere Kenntniss über die Pathologie der Zelle fast ausschliesslich auf anatomischer Grundlage aufgebaut. Man hat mit Hilfe des Mikroskops die gesetzmässige Aufeinanderfolge der Erscheinungen studirt und durch rein morphologische Betrachtung gezeigt, wie im Gebiete der krankhaften Vorgänge eine Gestaltung mit Nothwendigkeit auf die andere folgt, wie die Zelle ihre Form verändert und ihren Ort wechselt.

Durch solche Untersuchungen können wir zwar ein zusammenhängendes Bild von dem Ablauf der Gestaltungsvorgänge erhalten, aber wir gewinnen kein Verständniss für den ursächlichen Zusammenhang der Erscheinungen. Dies Verständniss, das eigentliche Ziel aller physiologischen und pathologischen Studien, ist nur mit Hilfe chemischer Methoden und chemischer Betrachtungsweisen zu erreichen. Niemand zweifelt daran, dass die Vorgänge der Ernährung und des Wachstums, welche alle Thätigkeiten der Zelle beherrschen, auf chemischen Processen beruhen und dass die lebendige Kraft, welche bei der Reizung frei wird, aus chemischen Umsetzungen hervorgeht.

Die chemische Untersuchung der thierischen Gewebe, von deren Ergebnissen naturgemäss der weitere Ausbau der Zellenlehre abhängt, hat in neuerer Zeit noch einen besonderen Antrieb erhalten. Die ätiologischen Forschungen über die Infectiouskrankheiten haben uns ausser der Kenntniss der Bacteriengifte auch eine Vorstellung von denjenigen Mitteln verschafft, durch welche der thierische Organismus sich gegen die eindringenden Krankheitserreger schützt. Diese Mittel beruhen auf der Bildung chemischer Producte, welche theils von den eingedrungenen Mikroorganismen, theils von dem erkrankten Körper selbst geliefert werden. Selbstverständlich muss unser Streben dahin gerichtet sein, eine Einsicht in die Natur dieser schützenden Stoffe zu gewinnen, um sie in rationeller Weise therapeutisch zu verwenden.

Diesen Bestrebungen gesellen sich andere hinzu, welche ebenfalls zu den natürlichen Hilfsmitteln des Thierkörpers greifen. Man hat die Erfahrung gemacht, dass in einzelnen Organen, zum Beispiel in der Thyreoidea, Stoffe enthalten sind, welche dem Körper einen Schutz gegen gewisse Krankheiten gewähren können, also auch hier heisst es: chemische Untersuchungen, chemische Methoden!

Durch die heutige Entwicklung der Medicin sind der Thierchemie neue Aufgaben von unabsehbarer Tragweite erwachsen. Freilich entsprechen die Hilfsmittel, welche der physiologischen Chemie heute zu Gebote stehen, diesen grossen und schwierigen Problemen durchaus nicht. Der Entwicklung ihrer eigenartigen Methoden und der Ausbildung genügender Arbeitskräfte sind grosse Schwierigkeiten bereitet worden. Man hat ihre Erhebung zu einer selbstständigen Wissenschaft zu hindern gesucht, und vielfach hat man sie auf die Hinterstufen fremder Institute verwiesen. Die Folgen dieses Systems machen sich jetzt zum Nachtheil der gesamten Medicin geltend. Heute erwartet nicht nur die theoretische Wissenschaft, sondern auch die praktische Heilkunde von der Thierchemie die Lösung der wichtigsten Probleme. Aber die Schwierigkeiten, welche der erfolgreichen Bearbeitung dieser Aufgaben entgegenstehen, sind lediglich äussere, lassen Sie uns hoffen, dass dieselben bald überwunden sein werden!