[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

Zum Mechanismus der Phagozytose.

Von

Prof. Dr. Josef Koch,
Abteilungsleiter am Institut.

Es ist bekannt, daß fein verteilte Substanzen, wie z. B. Tierkohle, ferner Farbstoffkörnchen, Tusche, Zinnober, ebenso wie Fett und Öltröpfchen (Neufeld und Händel)¹ außerordentlich leicht von Leukozyten aufgenommen werden.

Rosenthal², der über die Bedingungen der Phagozytose und über die opsonische Wirkung des Normalserums berichtet hat, fand, „daß die Kohleteilchen und zwar sowohl Tierkohle als auch Ruß, sich ganz ebenso verhalten wie Bakterien, das heißt wie solche Bakterien, die zwar in gewissem Maße der Spontanphagozytose unterliegen, deren Aufnahme aber durch das normale Serum sehr gefördert wird und die die dabei wirksame Substanz an sich binden.“

Rosenthal nimmt an, daß durch Adsorption ein Serumbestandteil an die Kohle konzentriert wird. Dadurch werde eine positiv chemotaktische Wirkung auf die Leukozyten ausgeübt und befördert, daß sie die Kohleteilchen umfließen. Nehme man aber diesen Mechanismus für Kohleteilchen an, so sei kein Grund vorhanden, sich die Opsonierung von Bakterien anders vorzustellen.

¹ Neufeld und Händel, Über die Phagozytose von emulgierten Fetttröpfchen und ihre Beeinflussung durch spezifische Antisera. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XXVIII.

² Rosenthal, Originalbericht über die zweite Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1908. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XLII. S. 177. — Originalbericht über die dritte Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Wien 1909. Bd. XLIV.

Zu dieser Frage möchte ich kurz über Beobachtungen berichten, die ich über die feineren Vorgänge der Phagozytose von Tusche- und Zinnoberemulsionen machen konnte.

Im Gegensatz zu anderen Untersuchern habe ich meine Versuche nicht im Reagensglase, sondern am lebenden Tier angestellt.

Spritzt man z. B. einem der kleineren Versuchstiere, einem Meerschweinchen, einer Ratte oder Maus eine gewisse Menge einer fein verteilten Tusche- oder Zinnoberemulsion in die Bauchhöhle ein, so werden im Verlaufe der folgenden Stunden die Farbstoffteilchen von den in die Bauchhöhle einwandernden Leukozyten aufgenommen; nach 24 Stunden befinden sich sämtliche Farbstoffpartikelchen fast in allen derart angestellten Versuchen innerhalb des Protoplasmas der Phagozyten.

Die Technik ist eine sehr einfache. Am besten nimmt man zu diesen Versuchen eine feine Tuscheemulsion. Durch die intensiv schwarze Farbe heben sich die Tuscheteilchen von dem hellen Protoplasma der Zellen außerordentlich scharf ab. Nach den Angaben von Hrn. Geheimrat Dönitz stellt man die Emulsion am besten durch Verreiben feinsten chinesischer Tusche auf einem japanischen Reibstein in physiolog. Kochsalzlösung her. Die Injektion in das Peritoneum erfolgte mit stumpfer Kanüle. Bei Meerschweinchen von 250 g^{mm} Gewicht, dem besten Versuchstier für diese Zwecke, spritzte ich gewöhnlich 1.0, bei Ratten 0.5, bei Mäusen 0.1 ccm der Emulsion ein. Die Entnahme des Peritonealexsudates geschah in üblicher Weise mit feinen Glaskapillaren. Von dem Exsudat wurde ein flach ausgebreitetes Tröpfchen (hängender Tropfen) unter dem Mikroskop mit starken Okularen (Kompensationsokular Nr. 4 und 8) bei künstlicher Beleuchtung betrachtet.

Das Bild, das ein auf diese Weise gewonnenes Präparat dem Auge des Beobachters darbietet, ist ein sehr eigenartiges. Zunächst fällt auf, daß die verschiedenen Leukozyten Tuscheteilchen in ganz verschiedener Menge aufgenommen haben. Hier sieht man Zellen, die mit schwarzer Tusche ganz vollgestopft erscheinen, dort solche, die nur wenige Körnchen des Farbstoffs ihrem Protoplasma einverleibt haben. Dadurch wird das Bild ein durchaus ungleichmäßiges.

Auch was die Größe der innerhalb der Phagozyten liegenden Partikelchen betrifft, ist das Bild ein ungleichartiges. Es sieht so aus, als wenn eine Reihe von Leukozyten nur die großen Tuscheteilchen, eine andere nur die kleinen gefressen hätte.

Am auffälligsten ist endlich die Anordnung der Farbstoffkörnchen im Innern der Phagozyten selbst. Wenn man ein Tröpfchen frisch bereiteter Tuscheemulsion auf einem Deckgläschen flach ausbreitet und als hängenden Tropfen untersucht, so findet man die feinen Farbstoffteilchen als durchaus unregelmäßige Gebilde von verschiedenster Größe in der Flüssigkeit verteilt. In dieser Form sieht man sie auch nach

der Injektion in dem vermehrten Peritonealexsudat zwischen den zahlreichen Leukozyten, die nun mit der Aufnahme des Farbstoffes beginnen.

Ist dann nach 24 Stunden die Phagozytose beendet, befinden sich die Zellen im Ruhezustande, so findet man die Tusche als ausgesprochen runde, meist kreisrunde schwarze Körner von verschiedener Größe im Innern des Zellenleibes. Man hat dann ein Bild, als wenn die Leukozyten größere oder kleinere schwarze Kokken aufgenommen hätten. Es besteht also ein scharfer Unterschied in der Gestalt der Farbstoffteilchen vor und nach der Aufnahme durch die Leukozyten.

Wie kommt dieses Phänomen zustande?

Untersucht man ein derartiges Präparat mit starken Okularen, so läßt sich erkennen, daß der Zelleib der verschiedenen Leukozyten keineswegs aus einer homogenen Masse besteht, sondern aus größeren und kleineren Granula zusammengesetzt ist, deren Größe nicht nur in den verschiedenen Zellen, sondern auch innerhalb ein und derselben oft stark wechselt. Unschwer kann man weiter wahrnehmen, daß die schwarzen Tuscheteilchen stets von einzelnen oder zahlreichen Granula adsorbiert sind. Auf diese Weise erklärt sich leicht die runde Gestalt der Teilchen im Leibe des Leukozyten, auf diese Weise kommen auch die auffallenden Unterschiede in der Größe der Tuschepartikelchen innerhalb des Phagozyten zustande. Besteht dieser nämlich aus großen Granula, die sämtlich Farbstoffteilchen adsorbiert haben, so sieht er nach der Phagozytose so aus, als wenn er aus größeren schwarzen Kugeln zusammengesetzt wäre. Daß es wirklich die Granula, keineswegs Vakuolen sind, die adsorbieren, geht daraus hervor, daß bei der Zerstörung eines Tuscheleukozyten die mit den Farbstoffteilchen beladenen Granula, wie schwarze Kugeln und Kügelchen, frei werden.

Nach Metschnikoff¹ werden Mikroorganismen innerhalb der Phagozyten von einer klaren Flüssigkeit umhüllt, deren Ansammlung zur Bildung von Vakuolen führt; in ihnen soll wie bei den Amöben durch die verschiedenen Fermente die intrazelluläre Verdauung der Bakterien vor sich gehen. Trotzdem ich auf derartige „digestive Vakuolen“ scharf geachtet, habe ich sie bisher bei der Phagozytose korpuskulärer Elemente und der verschiedensten Mikroorganismen nicht auffinden können. Ob die intrazelluläre Verdauung der Amöben und die Vernichtung der Bakterien durch Leukozyten ohne weiteres sich vergleichen läßt, wie Metschnikoff es tut, lasse ich dahingestellt. Allerdings täuschen große Granula zuweilen Vakuolen vor; besonders ist dies bei gefärbten Präparaten der Fall, wenn der

¹ Metschnikoff, *Immunität bei Infektionskrankheiten*. Deutsche Übersetzung von Jul. Meyer. Jena 1902.

Farbstoff das Protoplasma der Zellen, das ja aus Granula besteht, ungleichmäßig färbt. Überhaupt gibt das gefärbte Präparat über die Struktur des Leukozyten ein durchaus ungenaues Bild. Fixierung und Färbung wirken vielfach sehr ungünstig auf die feinere Struktur ein. Erst im ungefärbten Präparat erkennt man besonders gut die Zusammensetzung des scheinbar homogenen Protoplasmas des gefärbten Leukozyten aus einer Unzahl von Granula, die, von einer gemeinsamen feinen Zellmembran umgeben, zuweilen in äußerst lebhafter Bewegung sind und bei vitaler Färbung mit 1 prozentigem Neutralrot oder einer sehr dünnen Boraxmethylenblaulösung noch besser sichtbar gemacht werden können.

Aus meinen Versuchen geht also hervor, daß es

1. die verschiedenen Granula sind, die bei der Phagozytose korpuskuläre Elemente an sich reißen, daß

2. die Granula ein und derselben Zelle sich bei der Aufnahme verschieden betätigen können, indem von einer großen Anzahl nur wenige Granula die Farbstoffpartikelchen adsorbieren, während die anderen sich vollständig passiv verhalten, daß

3. hinsichtlich der Freßtätigkeit der großen mononukleären Phagozyten oder der Makrophagen im Sinne Metschnikoffs und der polynukleären Phagozyten oder Mikrophagen ein scharfer Unterschied besteht und zwar insofern, als die großen Granula der ersteren außerordentlich stark die Farbstoffteilchen aufnehmen, während bei den polynukleären im allgemeinen verhältnismäßig wenige die Tusche-partikelchen auf sich fixieren.

Ich konnte weiter feststellen, daß durch die Aufnahme der Farbstoffkörnerchen die Leukozyten keineswegs geschädigt werden. Spritzt man z. B. einem Tuschetier Milzbrandbazillen in die Peritonealhöhle ein, so kann man unter dem Mikroskop beobachten, daß die Tuscheleukozyten sich ebenso wie freie weiße Blutkörperchen lebhaft an der Phagozytose beteiligen. Eine weitere Veränderung scheinen die Farbstoffteilchen im Zellleib nicht zu erleiden. Sie sind noch nach Wochen unverändert im Leukozyten nachweisbar.

Die Frage, ob Bakterien sich genau wie die genannten korpuskulären Substanzen verhalten, ob derselbe Mechanismus der Fixierung durch und auf die Granula statthat, ist nicht leicht zu beantworten. Nimmt man anstatt einer fein verteilten Tusche eine Zinnoberemulsion, deren Partikelchen gröber sind, so hat man eine Mischung, die sich mit einer Staphylokokkenaufschwemmung am ehesten vergleichen läßt. In der Tat stimmen die Bilder, welche die Meerschweinchenleukozyten nach der Aufnahme der

Kokken nach 24 Stunden darbieten, mit ihr überein. Verwendet man Stäbchen, so ist die Beurteilung, wie die Granula sich ihnen gegenüber verhalten, schwieriger, da sie meist in runde, den Granula ähnliche Fragmente zerfallen.

Die mitgeteilten Beobachtungen sind, um mit Orth¹ zu reden, ein neuer Beweis dafür, „daß die Zelle nicht, wie Virchow meinte, das letzte Formelement aller lebendigen Erscheinung ist, sondern daß es auch kleinere Elemente, die Granula, gibt, welche ein eigenes Leben führen, Stoffe aufnehmen, assimilieren, verarbeiten, ausscheiden, denn diese Elemente führen kein freies Leben, sondern sind nur innerhalb des Zellverbandes lebensfähig, so daß doch die Zelle auch für ihre Tätigkeit notwendig und erforderlich ist.“ Unwillkürlich erinnert das verschiedene Verhalten der Granula an die verschiedenen Rezeptoren im Sinne Ehrlichs, die in den granulären Zellbestandteilen gewissermaßen ihren morphologischen Ausdruck finden. Unsere Kenntnisse über sie sind noch sehr dürftig. Aufgabe der Forschung wird es sein, in ihr Wesen weiter einzudringen.

¹ Orth, Rückblicke. Virchows *Archiv*. Bd. CC. S. 2.