Roma, 1910, Reale Accademia dei Lincei.

Beiträge zur Biologie der Zelle (Mitochondrien, Chromidien, Golgisches Binnennetz in den Samenzellen).

Von

Dr. A. Perroncito, Pavia.

Selbstreferat seiner Abhandlung:

„Contributo allo studio della biologia cellulare.“ (Mitochondri, Cromidii e Apparato reticolare interno nelle cellule spermatiche.)

Hierzu 6 Textfiguren.

In den letzten Jahren sind von verschiedenen Autoren Gebilde innerhalb des Zellprotoplasmas beschrieben worden, deren Bedeutung und Beziehungen noch nicht völlig geklärt sind, nämlich: 1. Die Nebenkern e. Sie sind namentlich von La Valette St. George und von Prenant in den Spermatozoen niederer Tiere beschrieben worden und sind als unvollkommene Darstellungen des Golgischen Binnennetzes und des Mitochondriums zu betrachten. Einzelne Figuren von Prenant sind schon von relativ grosser Feinheit. 2. Das Golgische Binnennetz, von Golgi (1898) in den Nervenzellen entdeckt und von verschiedenen Forschern in sehr vielen normalen und pathologischen Zellen nachgewiesen. Wir sind, wie in dieser Arbeit des Näheren gezeigt wird, berechtigt, das Binnennetz als einen wesentlichen Bestandteil der Zelle zu betrachten. 3. Die Mitochondrien, von Benda im gleichen Jahre gefunden und von vielen anderen studiert, namentlich von Meves, der auf diesem Gebiet neue Tatsachen von grösstem wissenschaftlichen Interesse entdeckte. Wir werden aber sehen, dass nicht alles, was Mitochondrium heisst, mit Recht dafür gehalten werden darf; unter diesen Begriff fallen eine ganze Anzahl von Gebilden (Chondriomiten, Chondriocenten, Chondriosomen usw.). 4. Die Trophospongien (Holmgren, 1899).

Sie sind in zahlreichen Elementen gefunden und als ein Netz von intracellulären, mit der Umgebung kommunizierenden Kanälchen beschrieben worden. Man hielt sie für identisch mit dem

Golgischen Binnennetz. 5. Die Pseudochromosomen und die Zentralkapseln (Heidenhain, 1900), sowie die Zentroformien (Ballowitz) hängen nach Ansicht dieser Autoren mit den Zentrosphären zusammen. Endlich 6. die Chromidien (Hertwig, 1899), chromatische Gebilde, die vom Kern abstammen und in einigen Protozoen, später von Goldschmidt u. a. in verschiedenen Zellen gefunden worden sind.

Heute geht das Bestreben dahin, alle diese Gebilde in eine einzige Kategorie zusammenzufassen und viele angesehene Forscher haben sich in diesem Sinne ausgesprochen. Heidenhain, Meves, Goldschmidt, Arnold u. a. wollen die Mitochondrien, Chromidien, Blephasoplasten, Pseudochromosomen und das Golgische Binnennetz miteinander in Beziehung setzen und betrachten sie nur als verschiedene Erscheinungsformen einer einheitlichen Formation, Holmgren und Ramón y Cajal erklären ohne weiteres das Binnennetz und die Trophospongien als identisch und betrachten beide als ein Netzwerk von Kanälchen. Einige Forscher (Meves, Heidenhain, Arnold) identifizieren diese Gebilde mit den Protoplasmastrukturen (Flemmings Filarmasse, Altmanns Bioplasten etc.).

Gegen diese Anschauung erhob sich zunächst die gewichtige Stimme von Retzius, der in seinen meisterhaften Untersuchungen über die Samenfäden erklärt, es sei durchaus übereilt, jede Art von Granulabildung in den verschiedensten Zellen als Mitochondrien anzusprechen und diese Bezeichnung nur für einen Teil der unter diesem Namen beschriebenen Gebilde gelten lässt. Die Gleichsetzung des Golgischen Binnennetzes mit den Holmgrenschen Trophospongien hatte Kopsch in seinen interessanten Studien über die Ganglienzellen strikte abgelehnt und neuerdings konnte Golgi in einer eingehenden vergleichenden Untersuchung unter Berücksichtigung aller Charaktere der beiden Formationen ihre Wesensverschiedenheit nachweisen.

Wenn wir von der anatomischen zur physiologischen und morphologischen Betrachtung übergehen, d. h. die Biologie und Bedeutung dieser Gebilde erforschen wollen, so müssen wir zugeben, dass wir hier völlig am Ende unseres Wissens angelangt sind.

Ich stellte mir nun zunächst die Aufgabe, zu erforschen, ob das Golgische Netz sich in den Spermazellen findet und

konnte es in allen Elementen dieser Art, in den Sertolischen Zellen und in den Stützzellen des Hodens aller von mir untersuchten Säugetiere nachweisen. Auch gelang es mir, das Verhalten des Binnennetzes bei der Umwandlung der Spermatiden in Samenfäden zu verfolgen. Der Kürze halber gehe ich auf die in der Arbeit ausführlich dargelegten Tatsachen nicht ein und beschränke mich auf die Konstatierung, dass beim Arbeiten am genannten Material viele Bilder mir anfangs unklar blieben und mir erst klar wurden, als ich meine Studien auf grössere Zellen und auf niedere Tiere ausdehnte. Erst an den Spermazellen von *Paludina vivipara* fand ich die Lösung der Hauptfrage und den Weg zur Aufklärung dessen, was mir in den an anderem Material gewonnenen Bildern unverständlich geblieben war.

An der oligopyrenen Reihe von *Paludina vivipara* konnte ich die Mitochondrien und das Binnennetz ohne Unterbrechung während verschiedener Phasen des Zellebens und während zweier Teilungen beobachten. Ich bemerkte hierbei, dass bei der Zellteilung das Binnennetz eine Reihe von Veränderungen durchmacht, die mit der Karyokinese grosse Ähnlichkeit haben, weshalb ich das neue Phänomen Diktokinesis nannte. Auch die Mitochondrien zeigen bei der Zellteilung ein charakteristisches Verhalten. Hier in aller Kürze meine Beobachtungen:

1. Wachsende Spermiocten.

Das Binnennetz, ursprünglich relativ einfach, nimmt an Grösse zu und wird verwickelter; es befindet sich in Kontakt mit dem Kern und auf der Mitte desselben, wo die Protoplasma-menge am grössten ist. Die Mitochondrien umgeben das Binnennetz und nehmen auf derselben Seite des Kerns den noch übrigen Teil des Protoplasmas ein. Ein scheiben- oder mützenförmiges Körperchen (wahrscheinlich das Centrosoma) findet sich auf der anderen Seite des Kerns, unmittelbar an der Kernmembran.

2. Spermiocten erster Ordnung, voll entwickelt.

Das zierliche, überaus vielverzweigte Golgische Netz liegt dem Kern unmittelbar an. Nun entwickeln sich in ihm eine Reihe charakteristischer biologischer Erscheinungen, die bisher völlig unbekannt waren. Sie sind die Vorläufer der Zellteilung und haben mich speziell zu dem Vorschlag der zusammenfassenden

Benennung Diktokinesis veranlasst. Ihre Ähnlichkeit mit der Kernmitose ist auffallend. Vor der Kernteilung lassen sich folgende Phasen unterscheiden:

- a) Die Fäden des Binnennetzes zerfallen in gekrümmte Stäbchen.
- b) Diese Stäbchen (ich nenne sie Diktosomen) ordnen sich zu einer dem Monaster sehr ähnlichen Figur, für die ich wegen ihrer Lage oberhalb des Kerns den Namen „Corona“ vorschlage.
- c) Die Stäbchen verteilen sich über das ganze Zellprotoplasma. Sehr häufig gruppieren sie sich in zwei getrennte Massen, einige verwandeln sich schon jetzt in Ringe und weiterhin in Scheiben.

Die Mitochondrien verteilen sich über das ganze Protoplasma; hat sich die Corona gebildet, so ordnen sie sich in diesem Teil der Zelle zwischen den Diktosomen radiär an, wobei ihr Mittelpunkt mit dem der Corona zusammenfällt. Sie erscheinen in ihrer charakteristischen Gestalt als fadenförmig angeordnete Körnchen und als Stäbchen mit verdickten Enden (diese Stäbchen sind viel dünner als die aus dem Zerfall des Golgi-Netzes hervorgegangenen).

Das Centrosoma beschreibt einen Halbkreis und wandert an den entgegengesetzten Zellpol und teilt sich. Jeder der beiden Teile rückt an ein Ende der Zelle.

3. Karyokinese des Spermiocyten erster Ordnung.

Die über die ganze Zelle verteilten Diktosomen gruppieren sich um die beiden Polkörperchen. Die Mitochondrien bleiben über das ganze Protoplasma verstreut und gelangen teils in die eine, teils in die andere der beiden Tochterzellen.

4. Spermiocyt zweiter Ordnung.

Die Mitochondrien sind im Zellplasma verteilt. Kern und Binnennetz bilden sich wieder in unvollständiger Weise und lösen sich sogleich wieder in Chromosomen resp. Diktosomen auf.

5. Teilung des Spermiocyten zweiter Ordnung.

Die in der Zelle verteilten Diktosomen und Mitochondrien wandern in die beiden Tochterzellen, analog dem oben beschriebenen Vorgang.

6. Spermiden.

Die verstreuten Diktyosomen sammeln sich um den Kern und bilden allmählich wieder ein Binnennetz. Die Mitochondrien oder wenigstens die Abkömmlinge der von mir bisher so bezeichneten Elemente sammeln sich an einem Pol des Spermiden in einem kreis-, sternförmig oder polygonal begrenzten Raum; sie entsprechen den Mitochondrien von Meves. An der äussersten Peripherie der Zelle erscheint eine zusammenhängende Schicht relativ grober Körnchen, die im frischen Präparat und mit allen Methoden sichtbar, mit Eisenhamatoxylin und einigen Kernfarbstoffen (Fuchsin) färbbar sind; sie entsprechen den Mitochondrien von Benda.

7. Umwandlung der Spermiden in die Spermien.

Manchmal bleibt das Binnennetz erhalten, bis das Spermium nahezu vollständig gebildet ist und nimmt den Teil des Protoplasmas ein, der die bekannte Ausbuchtung bildet, entsprechend der Ursprungsstelle des Zilienbündels; häufiger, bald schon sehr früh, bald später, zerfällt das Binnennetz in gekrümmte Stäbchen, Ringe, Scheiben, wie dies bei den grossen Spermioeyten beschrieben worden ist. Die Mevesschen Mitochondrien verteilen sich über ein Bündel von aus Granulis bestehenden Fäden, welches sich zwischen dem Kern und der aus dem Centrosoma hervorgegangenen Geissel ausspannt und die Achse des Spermiden, später des Samenfadenskörpers bildet. Die Bendaschen Mitochondrien verteilen sich an der äussersten Peripherie des Körpers und bilden den sogenannten Mitochondrien-Mantel.

8. Spermium.

Die aus der Auflösung des Binnennetzes hervorgegangenen Teilchen befinden sich in nicht mehr nachweisbarer Form zwischen der zentralen, durch die Mevesschen Mitochondrien bezeichneten, und der peripherischen, durch die Bendaschen Mitochondrien charakterisierten Schicht. Man kann aber einen Überrest stets am kaudalen Ende des Samenfadenskörpers nachweisen, färbbar im lebenden Spermium mit Neutralrot und Kresylviolett.

Die Mevesschen Mitochondrien bilden die Achse des Samenfadens, die Bendaschen bilden im Gegensatz zu den früheren

Behauptungen ein gut nachweisbares, mit Eisenhämatoxylin färbbares gewundenes Band.

Auch in der Entwicklungsreihe der Samenzellen von *Paludina vivipara*, aus der der eupyrène Samenfadon hervorgeht, lassen sich Tatsachen auffinden, die genau dem für die oligopyrene Reihe aufgestellten Typus entsprechen. Hier sind nicht alle Bilder und Beziehungen gleichmässig klar, entsprechend der geringeren Protoplasmamenge. Augenfälliger sind die Beziehungen zwischen Diktokinesis und Karyokinese, die einander rascher folgen als bei der oligopyrenen Reihe. Die Corona erscheint gleichzeitig mit der Verteilung der Chromosomen in Ring- und Achterform, bei noch geschlossener Kernmembran. Dann folgt der Zerfall des Kerns und wir finden Chromosomen und Diktosomen durcheinander gemischt; endlich vollzieht sich die Wiederherstellung des Binnennetzes etwas langsamer als die des Kernes. In der fertigen Spermie verhält sich das Binnennetz genau so wie in der oligopyrenen Spermie.

Auch in den Sertolischen Zellen und in allen Sperma-Elementen der Säuger ist das Binnennetz nachweisbar.

Obgleich das Arbeiten an solchem Material ungleich schwieriger ist, stimmen doch alle von mir erhaltenen Bilder völlig mit dem überein, was man bei *Paludina* verfolgen und analysieren kann, so dass wir bei den Säugern identische Prozesse annehmen dürfen.

Nachdem wir so die Vorgänge in den Spermazellen verfolgt haben, ergibt sich die Notwendigkeit einer Klassifizierung der beschriebenen Gebilde. Auf Grund der angeführten Tatsachen glaube ich, dass man im wesentlichen dreierlei Formationen zu unterscheiden hat: das Golgische Binnennetz und zweierlei Mitochondrien, zur bequemen Unterscheidung Mitochondrien (Benda) und Chondriosomen (Meves) genannt. Was die anderen beschriebenen Gebilde anlangt, so glaube ich, dass das, was die Autoren als Nebenkerne abgebildet haben, grösstenteils zum Binnennetz, zum Teil auch zu verschiedenen anderen Elementen: Zentrosphären usw. gehört. Pseudochromosomen und Zentroformien gehören zweifellos zum Binnennetz.

Was die Mitochondrien anbetrifft, so halte ich nach meinen Untersuchungen die Ansicht, dass sie vom Nukleolus abstammen und paraplasmatische Bildungen sind, nicht für begründet. Besser

gestützt und erwägenswert scheint mir die Meinung, dass sie vom Kern abstammen. Jedoch scheinen mir unvergleichlich bessere Gründe für ihre protoplasmatische Natur zu sprechen; dass sie der Flemmingschen Filarmasse oder den Altmannschen Bioblasten entsprechen, halte ich indessen noch nicht für genügend gesichert. Auch bezüglich ihres biologischen Wertes und ihrer Bestimmung ist grösste Zurückhaltung geboten, so sehr auch die kürzlich von Benda geäusserte Hypothese über ihre Bedeutung für die Vererbung mit allem Vorbehalt (wie Benda selbst hervorhebt) einer ernsten Beachtung wert ist.

Ich berichtige gerne ein Versehen, das mir in meiner Arbeit unterlaufen ist: Benda hat als erster die Hypothese von der eventuellen Funktion der Mitochondrien bei der Vererbung aufgestellt, eine Hypothese, die, von einem vorsichtigen und weitblickenden Forscher ausgesprochen, auch heute noch viel annehmbarer erscheint als die ähnlichen Vermutungen späterer Untersucher.

Das Golgische Binnennetz, das zuerst in den Nervenzellen gefunden wurde, darf nunmehr als ein wesentliches Element wohl aller Zellen angesehen werden, dessen Wichtigkeit nicht nur in der normalen, sondern auch in der pathologischen Biologie hervortritt. Es würde zu weit führen, die Entwicklung unserer Kenntnisse über diese Formation zu schildern; ich erinnere nur daran, dass die Untersuchungen speziell der Golgischen Schule die Anwesenheit des Binnennetzes in fast allen normalen und verschiedenen pathologischen Zellen erwiesen haben. Bis heute jedoch ist, wie Golgi selbst bemerkt, die Bedeutung des Netzes dunkel geblieben; nur sehr anfechtbare Hypothesen sind darüber aufgestellt worden und gar nichts ist bekannt über seine Physiologie und seine eventuelle Bedeutung für das Zelleben. Dagegen haben meine Untersuchungen dazu geführt, ganz bestimmte und typische Lebensäusserungen dieses Zellbestandteils nachzuweisen. Ich bemerke sogleich, dass die Kenntnis dieser biologischen Erscheinungen alle bis jetzt aufgestellten Erklärungen über die Natur des Golgi-Netzes hinfällig macht und uns zeigt, dass es im Organismus der Zelle einen sehr hohen Rang einnimmt. Geht doch aus meinen Erörterungen hervor, dass das Binnennetz das erste Zeichen zur Zellteilung gibt und dass es zuerst die Teilung vollendet, in dem grossen Spermiocten von *Paludina* mit einem etwas grösseren, im kleinen mit einem etwas geringeren Vor-

sprung vor dem Kern und wahrscheinlich gleichzeitig mit diesem bei den Säugetieren. Im Binnennetz geht eine Reihe von Veränderungen vor sich, die lebhaft an die Chromatinfiguren in der Prophase und im Anfang der Metaphase erinnern. Wenn man will, kann man auch Ähnlichkeiten mit der Anaphase finden, aber nur annähernde, weniger auffallende. Jedenfalls steht fest, dass das Golginetz schon vor Beginn der anderen Teilungsvorgänge in lauter gleiche Stücke zerfällt, dass es sich unter Bildung charakteristischer Figuren in zwei Hälften teilt, von denen jede das Golginetz in einer der Tochterzellen bildet und dass, ebenso wie jeder Kern vom Kern der Mutterzelle stammt, auch das Binnennetz aus dem gleichen Bestandteil der Mutterzelle hervorgeht. Welche biologischen Funktionen das Binnennetz ausser diesen mit der Zellteilung zusammenhängenden noch erfüllt, kann ich nicht sagen. Sicher ist, dass es sich vergrössern kann, wie am Auxocyten von *Paludina* gut zu beobachten ist. Ausserdem frappiert die Mannigfaltigkeit seiner Form in den Spermioocyten der Säuger, woraus man auf ein leicht modifizierbares Organ und auf ausgeprägte vitale Aktivität schliessen kann. Diese Ansicht wird auch durch die experimentellen Befunde *Marcovas* an Nervenzellen gestützt.

Ich habe gesagt, das Binnennetz in den Geschlechtszellen der Säuger zeige ein proteusartiges Verhalten. Das scheint im Widerspruch mit dem zu stehen, was wir über die anderen Elemente wissen. Aber der Widerspruch ist nur scheinbar. Man braucht sich nur an die Befunde von *Verson* und *v. Bergen* an den Lymphzellen, an die von *Maccabruni* an den Megakaryocyten zu erinnern oder die Bilder von Knorpelzellen bei *Pensa* und bei *v. Bergen* zu vergleichen. Die von diesen Autoren beschriebenen Formationen entsprechen sich in der Struktur vollkommen, aber in den Bildern von *Pensa* erstrecken sie sich über den ganzen Zellkörper, bei *v. Bergen* beschränken sie sich auf einen kleinen Teil desselben.

Nach unseren jetzigen Kenntnissen glaube ich sagen zu können, dass das Golgische Binnennetz ein wesentlicher Bestandteil der Zelle mit eigenen, deutlichen, lebhaften, typischen biologischen Funktionen ist und dass in ihm früher als im Kern die Zellteilungsvorgänge beginnen. Es nimmt zweifellos in der Physiologie der Zelle einen hervorragenden Platz ein.

Ausserdem sind in meiner Arbeit noch andere Dinge beschrieben, die in diesem kurzen Resumé nicht genügend Platz finden können. Es sind dies: 1. Die Feststellung der Anwesenheit und der Zahl färbbarer Körnchen innerhalb des Idiozoma und der Nachweis, dass ihr Verhalten nicht mit dem eines echten Centrosoma gleichzusetzen ist; ferner dass in einem anderen Punkt der Spermiocten ein Gebilde, das sich genau wie ein Centrosoma verhält, deutlich nachzuweisen ist. 2. Die Existenz eines gewundenen Bandes entlang dem Körper der oligo- und eupyrenen Samenfasen von Paludina. 3. Die Existenz einer besonderen Spiralfaser in Verbindung mit dem Kopf des eupyrenen Samenfadens einiger Säuger und der eupyrenen Samenfasen von Paludina. 4. Der Nachweis eines Stoffaustausches zwischen dem Protoplasma und dem Kern der grossen Spermiocten von Paludina vivipara. 5. Bei der Entwicklung der kleinen Spermiocten von Paludina finden sich Übergangsformen, die nahezu oder vollständig den fertigen Samenfasen anderer Tiere auch völlig verschiedener Organisation entsprechen.

Hauptergebnisse:

1. Das Golgische Binnennetz und die Mitochondrien sind verschiedenartige Gebilde und können gleichzeitig in einer Zelle vorhanden sein.
2. In den Samenzellen sind zweierlei Mitochondrien zu unterscheiden, deren Entwicklung und Aufgabe verschieden ist; ich nenne sie Chondriosomen (Meves) und Mitochondrien (Benda).
3. Das Golgische Binnennetz ist ein wesentlicher Bestandteil der Zelle und besitzt sehr lebhafte und charakteristische biologische Funktionen.
4. Das Binnennetz beteiligt sich in bestimmter Weise an der Zellteilung; es durchläuft typische Stadien und zerfällt schliesslich in die beiden Binnennetze der Tochterzellen. Diesen verwickelten Vorgang nenne ich Diktokinesis.
5. Das Binnennetz gibt zuerst von allen Zellbestandteilen das Zeichen zur Teilung, die ersten Phasen der Diktokinesis vollziehen sich, während der Kern noch ruht.

6. Alle bisherigen Hypothesen über die Bedeutung des Binnennetzes sind nach meinen Untersuchungen als irrig zu betrachten.
7. Die Mitochondrien entsprechen nicht vollständig den Altmannschen Bioblasten oder der Flemmingschen Filarmasse. Die Vermutungen über ihre Funktion als Träger der Vererbung sowie über ihre Bedeutung und ihr endgültiges Schicksal sind bis jetzt wenig gestützt.
8. Die Samenzellen haben bei Tieren der verschiedensten Organisation (und auch im Pflanzenreich mindestens bei den Fucaceen) einen einheitlichen Bau; dies zeigt sich deutlich sowohl an den fertigen Zellen als an den Entwicklungsformen der Spermien.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. A = Kern, B = Nukleolus, C = Centrosoma (?), D = Golgisches Binnennetz, E = Chondriosomen (Meves).
- Fig. 2. A = Kern, B = Nukleolus, C = Centrosoma (?), D = Diktiosomen, E = Chondriosomen (Meves).
- Fig. 3. A = Kern, B = Nukleolus, C = van Benedens Polkörperchen (?), D = Diktiosomen, im Begriff die Corona zu bilden, E = Chondriosomen (Meves).
- Fig. 4. A = Chromosomen, C = Polkörper, D = Diktiosomen, E = Chondriosomen (Meves).
- Fig. 5. A = Chromosomen, D = Diktiosomen, E = Chondriosomen (Meves).
- Fig. 6. A = Kern, D = Golgisches Netz, E = Chondriosomen (Meves), F = Mitochondrien (Benda).
-

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5

Fig. 6.