

(Aus der Universitäts-Nervenklinik München [Geheimrat Prof. Dr. Bumke].)

## Zur Frage des „Zerfalls“ und „Alterns“ der Liquorzellen<sup>1</sup>.

Von  
Helmuth Stolze.

Mit 41 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Januar 1943.)

### I. Einleitung und Fragestellung.

Wenn man versucht, die Untersuchungen über die Zellen der Cerebrospinalflüssigkeit einmal unbefangen zu überblicken, so wird man sehen, daß kaum ein Gebiet so reich an stärksten Widersprüchen ist wie dies. Es scheint fast unmöglich, sich ein einigermaßen klares Bild — und sei es nur über irgendeine Teilfrage — zu verschaffen. Die hauptsächlichsten Fragenkomplexe, die immer wieder erörtert werden<sup>2</sup>, sind die der Herkunft, der Färbbarkeit, der Differenzierung, der Degeneration und des Zerfalls der Liquorzellen. Zu jeder dieser Fragen liegen die verschiedensten Befunde experimenteller Untersuchungen und hauptsächlich die verschiedensten Deutungen dieser Befunde vor. Zwei Arbeiten neuerer Zeit, die schon angeführten von *Bannwarth*: Die Zellen der Cerebrospinalflüssigkeit und von *W. Scheid*: Untersuchungen über den Zerfall der Liquorzellen in vitro, bringen diese Widersprüche, speziell auf den Gebieten der Färbbarkeit, der Degeneration und des Zerfalls der Liquorzellen ganz besonders kraß zur Darstellung.

Sie im Hinblick auf die Fragen nach Zerfall und Alter der Liquorzellen zu vergleichen, hat sich die vorliegende Arbeit zur Aufgabe gemacht.

Über die Bedeutung von experimentellen Untersuchungen auf dem Gebiet des Zellzerfalls hat sich schon *Scheid* in seiner Arbeit ausgesprochen (S. 174). Zunächst ist die Frage, ob ein Liquor sofort an Ort und Stelle untersucht werden muß oder in ein entfernteres Laboratorium eingesandt werden kann, von erheblicher praktischer Bedeutung. Dann werden fast von jedem Autor an die zum Teil sehr gegensätzlichen Befunde Folgerungen pathologisch-anatomischer und pathologisch-physiologischer Art angeschlossen, was nicht gerade dazu beiträgt, Klarheit auf diesem bisher noch verhältnismäßig wenig erforschten Gebiet zu schaffen. Diese Tatsache hauptsächlich läßt die Berechtigung von immer neuen, schließlich einmal zur Klärung führenden Untersuchungen deutlich werden.

<sup>1</sup> D 19.

<sup>2</sup> Siehe auch die einleitenden Darstellungen bei *Bannwarth* (S. 533f.) und *W. Scheid* (S. 170—174).

Denn das Ziel heißt ja, uns ein so genaues Bild von den morphologischen und physiologischen Erscheinungen der Liquorzellen zu entwerfen, daß wir aus ihm jeweils am Krankenbett diagnostische Rückschlüsse — wenn auch vielleicht nur bescheidener Art — ziehen können.

Die genaue Kenntnis der Arbeiten von *Bannwarth* und *Scheid* muß hier vorausgesetzt werden. Um die Fragestellung jedoch klar herauszuarbeiten, sollen noch einmal kurz die von den beiden Autoren aufgeworfenen Fragen und ihre Beantwortung herausgestellt werden.

Aus den bei *Bannwarth* gegebenen sieben Fragen seien zunächst drei herausgegriffen. *Bannwarth* versucht „unter besonderer Berücksichtigung pathologisch-physiologischer Überlegungen und vergleichender Untersuchungen über folgende grundlegende Fragen Klarheit zu gewinnen:

1. Mit welchen Methoden kann man die Zellen der Cerebrospinalflüssigkeit gut darstellen?

2. Verändern sich die Zellen während ihres Aufenthaltes im Liquor?

3. Können wir die einzelnen Zellen so sicher voneinander unterscheiden, daß eine exakte Differenzierung ihrer Art und Herkunft jederzeit möglich ist?“ (S. 534)<sup>1</sup>.

Zusammenfassend kommt *Bannwarth* dabei zu folgenden Schlüssen:

1. Unter der „Original-französischen Methode“ (im Anschluß an die Arbeiten von *Szésci* vom Jahre 1911), der „Vitalfärbung“ von *Ravaut* und *Boulin* und der histologischen Methode von *Alzheimer* ist die letzte allen übrigen Verfahren zur Untersuchung von Zellen der Cerebrospinalflüssigkeit weit überlegen. Jedoch bekommt man auch mit dieser Technik nicht in allen Fällen gute Präparate.

2. „Der Grund dieses wechselnden Verhaltens liegt unseres Erachtens nicht an der Güte der Methode, sondern lediglich an der Vitalität, die die Liquorzellen im Moment der Punktion besitzen. Die Zellen sind zweifellos dauernden regressiven Veränderungen unterworfen, degenerieren und gehen schließlich schon physiologischerweise in der Cerebrospinalflüssigkeit zugrunde. Als ursächlicher Faktor spielt dabei die Zeit, die sich die Zellen im Liquor aufhalten, zweifellos eine erhebliche Rolle“ (S. 571).

3. „Viele Zellen sind im Augenblick der Liquorentnahme bereits mehr oder weniger stark regressiv verändert, so daß es unmöglich ist, Art und Herkunft sämtlicher Zellen jederzeit genau festzustellen“ (S. 571).

Soweit *Bannwarth*. Seiner Ansicht, daß die Liquorzellen sehr labile und dauernden regressiven Veränderungen unterworfenen Gebilde seien, tritt *W. Scheid* energisch entgegen. Er beschäftigt sich hauptsächlich mit dem Gebiet der zweiten Frage *Bannwarths*, der nach den Veränderungen und dem Zerfall der Zellen im Liquor. Durch Untersuchung verschiedener, nach der Punktion in vitro aufbewahrter Liquoren auf den

<sup>1</sup> Die ohne weitere Erklärung in Klammer dazugesetzte Zahl nennt die Seite in den Arbeiten von *Bannwarth* oder *Scheid*, auf der die angeführte Stelle zu finden ist.

zeitlichen Ablauf des Zellzerfalls mit der *Fuchs-Rosenthalschen* Zählkammer sucht er zunächst festzustellen, ob der Zellzerfall von den Eigenschaften des Liquors oder von der Beschaffenheit der Zellen abhängig ist. Dann prüft er, ob im letzteren Fall das Verhalten der Zellen von ihren jeweiligen morphologischen oder aber von anderen, indirekt zu erschließenden Eigenschaften (er denkt dabei an die von *Bannwarth* vertretene verschiedene Vitalität) bestimmt wird.

*Scheid* kommt dabei zu folgenden Ergebnissen:

1. Der Zellzerfall *in vitro* (und also wahrscheinlich auch *in vivo*) erfolgt langsam. Die Liquorzellen sind sehr widerstandsfähig.

2. Da die Zerfallskurven der verschiedenen Liquoren ganz einheitliche Befunde zeigen, kann geschlossen werden, daß der Zerfall der Zellen nicht durch die besonderen Eigenschaften des umgebenden Liquors bestimmt wird.

3. „Unterschiede zwischen den morphologisch-gleichen Elementen akuter und chronischer Prozesse sind nicht nachweisbar. Jedoch sind die segmentkernigen Elemente empfindlicher als die rundkernigen Liquorzellen“ (S. 184).

Da jedoch die Kammermethode eine exakte Differenzierung der Zellen nicht zuläßt, untersucht *Scheid* noch mit der Vitalfärbung von *Ravaut-Boulin* und der histologischen Methode nach *Alzheimer*. Bei der Vitalfärbung kommt er wie *Bannwarth* zu keinen befriedigenden Ergebnissen, da diese Methode „für die Differenzierung der einzelnen Zelltypen, wie wir sie anstreben müssen, nicht hinreichend geeignet“ ist (S. 186) und keinen Aufschluß über die Vitalität der Zellen gibt.

Über seine Untersuchungen mit der Methylgrün-Pyroninfärbung der nach *Alzheimer* eingebetteten Zellen sagt er folgendes: „In Übereinstimmung mit *Szésci* kommen wir zu dem Schluß, daß die Zellen des frisch verarbeiteten Liquors stets einwandfrei dargestellt werden können“ (S. 193). „Eine schlechte Färbung ist — entgegen der Ansicht anderer Untersucher — auf ein Versagen der sehr empfindlichen Methode zurückzuführen, nicht aber auf Eigenschaften, die den Zellen selbst anhaften. Alle jene Zellveränderungen, die als Ausdruck einer „Degeneration“ aufgefaßt werden, sind offenbar erst während des Aufenthaltes der Zellen *in vitro* oder unter der Bearbeitung entstanden. Wird der Liquor erst nach mehreren Tagen eingebettet, so sind an den Zellen Veränderungen in färberischer und struktureller Hinsicht nachweisbar, die niemals an frisch eingebetteten Zellen gesehen werden und die sich auch nicht mit jenen Veränderungen vergleichen lassen, die man bei Untersuchungen mit der Zählkammer beobachtet“ (S. 200). „Im frischen Liquor sind ausnahmslos alle Zellen gut erhalten“ (S. 193).

In Übereinstimmung mit *Bannwarth* stellt auch *Scheid* schließlich fest, „daß keineswegs immer eine exakte Differenzierung aller Zellindividuen möglich ist“ (S. 190).

Gegensätzlicher als hier können kaum zwei Meinungen über das gleiche Problem formuliert werden. Es soll daher an Hand derselben von den Autoren angewandten Untersuchungsmethoden versucht werden, einen Entscheid über die Richtigkeit der einen oder anderen Meinung herbeizuführen. Daß eine Nachprüfung, besonders auch der jüngsten, von *Scheid* geäußerten, Ansicht berechtigt ist, geht daraus hervor, daß er mit seiner Meinung bis auf wenige Vorgänger, wie *Szésci*, *O. Fischer* und *Rehm*, die Äußerungen in der von ihm vertretenen Richtung taten, ziemlich allein steht. Trotzdem zieht er recht weitgehende Schlüsse pathologisch-physiologischer Art aus den Ergebnissen seiner Experimente.

Aus den von *Bannwarth* und *Scheid* gestellten Fragen und ihrer Beantwortung ergeben sich nun für die Einteilung der vorliegenden Arbeit folgende Gesichtspunkte:

1. Untersuchungen mit der Kammermethode. Durch laufende Zählungen ist der zeitliche Ablauf des Zellzerfalls zu untersuchen. Es ist nachzuprüfen, ob der Zerfall tatsächlich und in allen Fällen so vor sich geht, wie es von *Scheid* dargestellt wird. Ist dies nicht der Fall, so bleibt zu untersuchen, ob vielleicht die Beschaffenheit des Liquors oder die der Zellen für einen schnelleren oder langsameren Zerfall verantwortlich gemacht werden kann.

2. Die „Original-französische Methode“ und die Vitalfärbung nach *Ravaut-Boulin* können in dieser Arbeit unberücksichtigt bleiben, da sie nach Ansicht beider Autoren nicht geeignet sind, zur Klärung der vorliegenden Fragen beizutragen.

3. Untersuchungen mit dem Verfahren nach *Alzheimer*.

a) Es ist festzustellen, ob sich die Zellen des frisch verarbeiteten Liquors stets einwandfrei darstellen lassen; wenn nicht, ob schlechte Färbungen eine Folge der empfindlichen Methode sind oder ob ihr gewisse Eigenschaften der Zellen oder des Liquors zugrunde liegen.

b) Es ist zu klären, ob in frischen Liquoren alle Zellen ausnahmslos gut erhalten sind oder ob Zellen mit solchen Veränderungen vorkommen, wie sie in länger in vitro stehenden gefunden werden.

4. In einem letzten Teil wird es dann notwendig sein, darauf einzugehen, wie *Bannwarth* und *Scheid* bezüglich der Degeneration und des Zerfalls der Liquorzellen ihre Befunde gedeutet und welche Schlüsse die beiden Autoren daraus gezogen haben. Wir werden sehen, welche Stellung wir ihnen gegenüber auf Grund der gewonnenen Ergebnisse dieser Arbeit und allgemein biologischer Überlegungen einzunehmen haben.

## II. Untersuchungen mit der Kammermethode.

Bei den Zählungen in der *Fuchs-Rosenthalschen* Zählkammer ging ich ebenso wie *Scheid*<sup>1</sup> vor: der bei lumbaler oder suboccipitaler Punktion

<sup>1</sup> Eingehende Beschreibung siehe dort S. 176f.

gewonnene Liquor wurde auf drei sterile Röhrchen verteilt und bei Zimmertemperatur (etwa 18° C), bei Körpertemperatur und bei 0° C aufbewahrt. Sofort nach der Punktion wurde die Zellzahl ermittelt. In anfänglichen Abständen von 24 Stunden, später von mehreren Tagen, wurden nun Zählungen jeder Probe durchgeführt.

Trotzdem die Genauigkeit des Durchschnittswertes nur mit dem Quadrat ihrer Einzelwerte steigt, konnte ich feststellen, daß bei einer wirklichen Beherrschung der Methode, d. h. Wegfall jedes methodischen Fehlers, eine dreimalige Zählung jeder Liquorportion genügt. Eine für die vorliegende Arbeit (und für die Praxis) nötige Genauigkeit ist damit gewährleistet. Mit Eindringlichkeit muß jedoch noch einmal auf den „zufälligen Fehler“ hingewiesen werden. Auch bei mehreren Zählungen ist mit zufallsbedingten Schwankungen des Durchschnittswertes zu rechnen. Unsere Befunde würden also völlig unbrauchbar sein, hätten wir nicht im doppelten mittleren Fehler einen Anhalt für die zulässige Streuungsbreite. Ein Ansteigen der Zellwerte von einem Tag zum andern ist der Ausdruck einer solchen extremen Streuung, also nur scheinbar.

Wie auch *Scheid* feststellte, ist eine bakterielle Verunreinigung des in vitro — besonders bei 37° C — aufbewahrten Liquors sehr schwer zu vermeiden. Einen erheblichen Einfluß auf den Zellzerfall kann ich jedoch dieser Verunreinigung mit Luftkokken, um die es sich dabei handelt, nicht einräumen. Als Beispiel hierfür sei die Abb. 4 „Migräne. Meningealer Reizzustand unklarer Ursache“ und Abb. 6 „Herpes zoster ophthalmicus“ angeführt. Im ersten Fall war eine sichtbare Verunreinigung durch Bakterien bei der bei Zimmertemperatur aufbewahrten Portion am 4. Tag, beim zweiten Fall am 7. Tag eingetreten. Beide Kurven zeigen jedoch in den folgenden 7 Tagen keinen erheblichen Zellverlust (15, bzw. 13 %).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Zellzerfall an 10 Liquoren untersucht. Auf eine größere Anzahl konnte verzichtet werden, da sich die Befunde im ganzen mit denen von *Scheid* decken.

Die Zerfallskurven von 8 Liquoren seien hier mitgeteilt <sup>1</sup> (S. 268/269).

Diese Kurven lassen 2 Typen erkennen. Die einen (Abb. 1—3, von jetzt ab kurz mit Typ I bezeichnet) zeigen den größten Zellschwund im Laufe der ersten 24 Stunden (40—80 %), und zwar bei allen Portionen. Die Abb. 4—8 (Typ II) zeigen einen gleichmäßig langsamen Zellschwund.

Läßt sich für die verschiedene Zerfallsgeschwindigkeit ein Grund angeben? Auch bei *Scheid* lassen sich diese zwei Kurventypen finden (Abb. 9 und 10) <sup>2</sup>. *Scheid*, der ja den Standpunkt vertritt, daß der Zerfall der Zellen *immer* langsam vor sich gehe, schreibt zur Erklärung

<sup>1</sup> Um eine bessere Vergleichsmöglichkeit zu schaffen, sind alle Zerfallswerte in Prozent ausgedrückt.

<sup>2</sup> Fall H. N. Epidemische Meningitis und Zerfallskurve 1. Mit freundlicher Genehmigung des Verfassers.

Bezeichnung für alle Zerfallskurven: ..... Aufbewahrung bei 0° C;  
 — Aufbewahrung bei Zimmertemperatur; — — — Aufbewahrung bei 37° C.

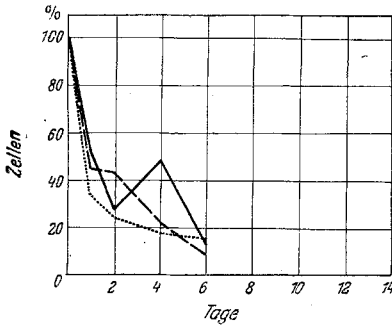


Abb. 1. Schädelbruch. Commotio spinalis.  
 98/3 Zellen.

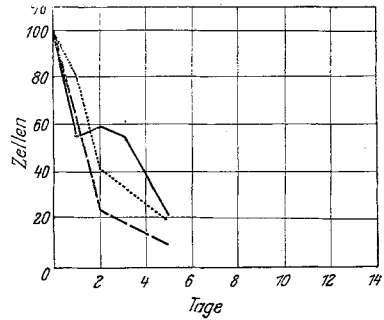


Abb. 2. Reizpleocytose 45 Std. nach lumbaler  
 Encephalographie, 398/3 Zellen  
 (bei Encephalographie 14/3 Zellen).

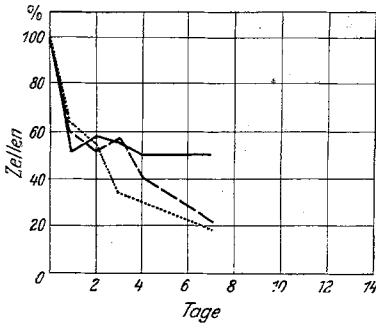


Abb. 3.

Abb. 3. Chronische aseptische Meningitis, 760/3 Zellen.  
 Abb. 4. Klinisch: Migräne. Meningealer Reizzustand unklarer Ursache, 238/3 Zellen.

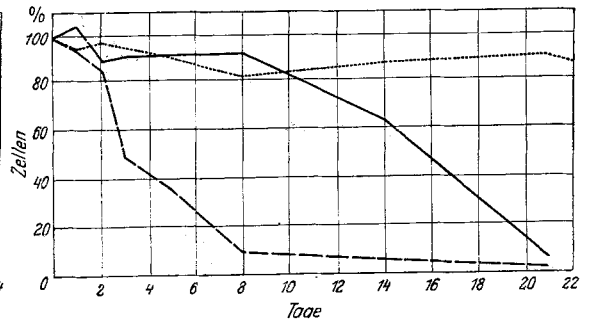


Abb. 4.

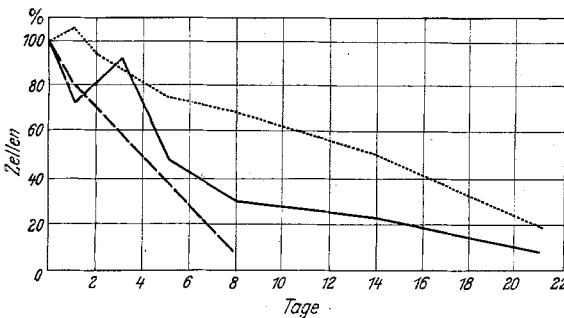


Abb. 5.

Abb. 5. Zustand nach Hirnoperation (vor 10 Wochen) eines Hydrocephalus occlusus,  
 129/3 Zellen.

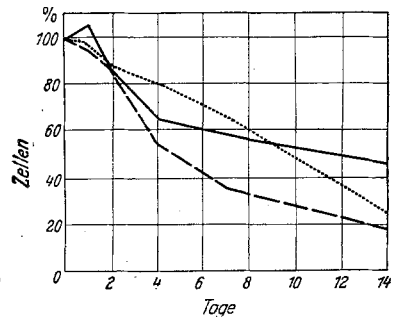


Abb. 6.

Abb. 6. Herpes zoster ophthalmicus, 380/3 Zellen.

des raschen anfänglichen Zellsturzes im Fall „epidemische Meningitis“ (Abb. 9.): „In allen 3 Liquorportionen dieses Falles stürzen die Zellwerte

innerhalb der ersten 24 Stunden ziemlich gleichmäßig ab, ja bei manchen Fällen mit eitrigem Liquor finden wir diesen frühen Zellverlust am ausgeprägtesten in jenem Liquoranteil, der im Eisschrank aufbewahrt wurde. Dieses besondere Verhalten weist schon darauf hin, daß wir es hier

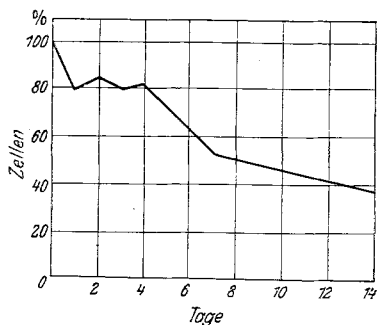


Abb. 7. Sympathische Meningitis bei Schläfenlappenabsceß, 1389/3 Zellen.

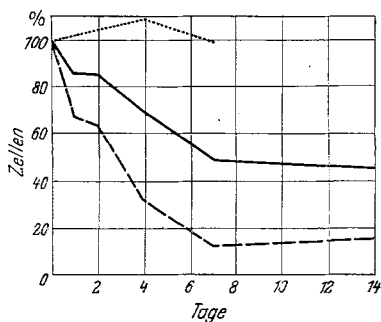


Abb. 8. Cerebral-apoplektischer Insult, 122/3 Zellen.

nicht mit einem echten Zerfall der Liquorzellen zu tun haben, bei dem stets eine Abhängigkeit von den Temperaturbedingungen zu erwarten wäre. Wie das mikroskopische Präparat lehrt, kommt es im eitrigem Liquor

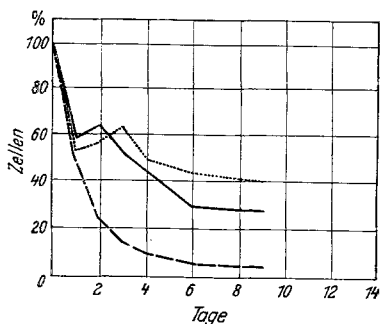


Abb. 9. Epidemische Meningitis, 1680/3 Zellen.

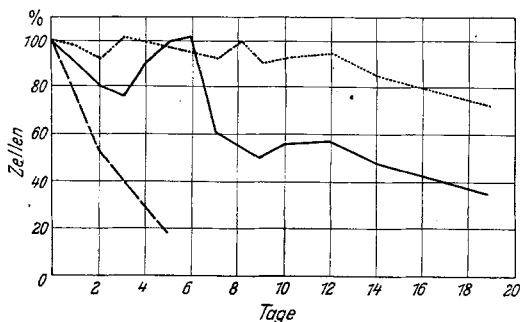


Abb. 10. Unbehandelte Paralyse, 264/3 Zellen.

nicht selten zur Bildung gewaltiger Zellklumpen, die sich offenbar vor allem um Eiweißgerinnsel bilden. Durch dieses Zusammenballen von Zellen wird der jähe Sturz der Zellwerte verursacht“ (S. 180). Einen weiteren Grund für diesen anfänglich raschen Zellverlust findet *Scheid* in der Beobachtung, daß die segmentkernigen Leukocyten rascher zerfallen als die rundkernigen Elemente — eine Tatsache, die ich auf Grund meiner Untersuchungen nur bestätigen kann<sup>1</sup>. Deshalb, so schließt *Scheid*,

<sup>1</sup> Um eine unnötige Breite dieser Arbeit zu vermeiden, möchte ich mich hier, wie auch später, bei allen Befunden ganz kurz fassen, die sich mit denen *Bannwarths* oder *Scheids* decken. Sie sind dann dort jeweils eingehend beschrieben.

müssen naturgemäß die leukocytenreichen Liquoren einen rascheren Zellschwund zeigen als solche mit vorwiegend rundkernigen Zellen.

Wie ich tatsächlich bei den sehr zellreichen Liquoren eitriger Meningitiden beobachtete, ballen sich die Zellen gelegentlich zusammen, und zwar besonders in der bei 0° C aufbewahrten Portion. Die Möglichkeit, daß hierdurch ein Zellsturz vorgetäuscht werden kann, mußte also in Erwägung gezogen werden<sup>1</sup>.

Aber weder der etwas schnellere Zellsturz der leukocytenreichen Liquoren noch die Möglichkeit der Zusammenballung der Zellen kann als Erklärung bei den hier mitgeteilten Zerfallskurven vom Typ I dienen. Handelt es sich doch um Liquoren mit ganz verschiedener Zusammensetzung der Zellarten und auch verschiedenen Ausgangswerten (98/3 — Rundzellen, 398/3 — je zur Hälfte Rundzellen und segmentkernige Leukocyten, 760/3 — 1/4 segmentkernige Leukocyten, 3/4 Rundzellen<sup>2</sup>). Auch wurde bei keinem dieser Fälle in der Zählkammer je eine Zusammenklumpung der Zellen beobachtet.

Eine gewisse Abhängigkeit von den Temperaturbedingungen, unter denen die Liquoren aufbewahrt wurden, ist zweifellos festzustellen — am ausgeprägtesten etwa in der Kurve: cerebral-apoplektischer Insult (Abb. 8). Jedoch ist sie, besonders in den ersten 24 Stunden und auch oft später noch (Abb. 1, 3, 4, 6) nicht so absolut, daß ein rascher Abfall der Zellzahlen bei allen 3 Portionen von vornherein als unechter Zerfall hingestellt werden kann<sup>3</sup>.

Ich fand also: Die Tatsache, daß in einer Reihe von Fällen die Zellwerte rasch sinken, konnte nicht durch Zusammenballung der Zellen in leukocytenreichen Liquoren erklärt werden. Ich untersuchte nun, ob sich durch Gegenüberstellung der Liquoren in Bezug auf ihre serologischen Eigenschaften ein den zwei Zerfallstypen entsprechender Befund auffinden ließe. Dies möge die Tabelle 1 veranschaulichen. In ihr sind alle Daten einer heute üblichen Liquoruntersuchung zusammengestellt. Es muß natürlich darauf hingewiesen werden, daß die hier genannten Methoden einer serologischen Untersuchung des Liquors noch keineswegs geeignet sind, uns ein so umfassendes Bild seiner Zusammensetzung zu geben, wie es hier notwendig wäre. Ich kann also nur sagen: im Liquor, soweit seine Zusammensetzung uns bekannt ist, läßt sich ebenfalls nichts finden, was zur Klärung eines einmal schnellen, einmal langsamen Zerfalls der Zellen beiträgt. Können nun gewisse Eigenschaften der Zellen, also etwa das Alter, dafür verantwortlich gemacht werden? Die Spalte

<sup>1</sup> Meist war jedoch diese Zusammenballung erst am 2. oder 3. Tag zu bemerken, so daß ich nicht mit *Scheid* darüber übereinstimmen kann, „daß die Zusammenballung der Zellen offenbar sehr früh abgeschlossen ist“ (S. 181).

<sup>2</sup> Nur die vorwiegenden Zellarten sind genannt.

<sup>3</sup> Davon zu trennen ist die erhebliche Einwirkung der Temperatur auf die gestaltlichen Veränderungen der Zellen (s. unten S. 277).



Tabelle 1.

Diagnose	Cauda-syndrom bei malignem Tumor	Schädelbruch, Commotio spinalis	Meningealer Reizzustand	Zustand nach Hirnoperation eines Hydrocephalus occlusus	Chronische Meningitis	Sympathische Meningitis.
Zerfallstyp	I	I	II	II	I	II
Zellzahl	524/3	98/3	238/3	129/3	822/3	1389/3
Vorwiegende Zellart	Rundzellen	Rundzellen	Rundzellen	Rundzellen	Rundzellen, Segment-kernige Leukocyten	Segment-kernige Leukocyten
Nonne	+	opal	opal	—	+	+
Eiweiß:						
1. Gesamteiweiß n. <i>Kafka</i>	80,0	1,5	1,8	1,5	5,8	5,9
2. Globuline	8,0	0,4	0,7	0,3	1,8	1,0
3. Albumine	72,0	1,1	1,1	1,2	4,0	4,9
4. Quot.	0,11	0,37	0,63	0,25	0,45	0,2
Normomastixreaktion	Ausflockung XI bei 1/64 bis 1/250	Trübung IV bei 1/4 u. 1/8	Trübung III bei 1/8	Trübung II bei 1/4 (normal)	Ausflockung XII bei 1/8 bis 1/32	Ausflockung XII bei 1/4 bis 1/32

(Wa.R., Ser.-Wa.R., M.K.R. II negativ.)

„Diagnose“ der Tabelle 1 zeigt, daß wir auch hier keine Lösung unserer Frage erwarten dürfen, jedenfalls nicht, wenn wir nach *Bannwarth* und *Scheid* „akuter Prozeß“ → „junge Zellen“, „chronischer Prozeß“ → „alte Zellen“ gleichsetzen.

Ich fasse nochmals zusammen: der frisch entnommene Liquor wird sofort gezählt, die drei Gläschen bei 0° C, etwa 18° C und 37° C aufbewahrt und in Abständen von einem oder mehreren Tagen gezählt. Wir lassen zunächst jede feinere Struktur der Zellen außer acht und beschränken uns darauf, die Zahl der noch als solche zu erkennenden Zellen zu bestimmen. Auch wenn wir daran festhalten müssen, daß diese Versuche unphysiologisch sind, zeigen sie doch, daß wir nicht genötigt sind, den Liquorzellen in Bezug auf die Geschwindigkeit des Zellschwundes eine besondere Stellung unter den morphologisch verwandten Blutzellen einzuräumen. Diese Ansicht, wie sie die meisten Untersucher vertraten<sup>1</sup>, widerlegt zu haben, bleibt das unbestrittene Verdienst *Scheids*. Jedoch kann ich nicht bestätigen, daß der Zerfall in jedem Fall langsam vor sich geht. Der große Zellschwund, der bei manchen Liquoren hauptsächlich in den ersten 1—2 Tagen zu beobachten ist, ist nach meinen

<sup>1</sup> *Kafka* fand beispielsweise, daß unter 9 Liquoren mit einem Ausgangswert von 15/3—563/3 Zellen ein einziger nach 8 Stunden überhaupt noch Zellen zählen ließ. Es scheint, daß die Methoden, denen *Kafka* die Zellen unterwarf, die rasche Auflösung vortäuschte.

Befunden nicht mit einer Zusammenballung der Zellen oder mit dem Vorwiegen segmentkerniger Leukocyten, die erfahrungsgemäß rascher zerfallen, zu erklären. Auch die Betrachtung der Zusammensetzung des Liquors oder der möglichen verschiedenen Eigenschaften der Zellen akuter und chronischer Prozesse liefern keine Gesichtspunkte zu dieser Tatsache. Es muß also offen bleiben, daß Eigenschaften der Zelle oder des Liquors hier hereinspielen, die wir mit unseren groben Untersuchungsmethoden noch nicht zu erfassen vermögen<sup>1</sup>.

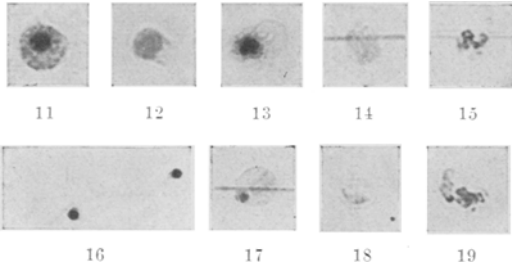


Abb. 11—19<sup>2</sup>. Kammerpräparat.

Abb. 11—15. Status epilepticus. Vergr. 450fach.

Abb. 11 und 12. Zimmertemperatur nach 17 Stunden.

Abb. 13 und 14. Zimmertemperatur nach 2 Tagen.

Abb. 15. Zimmertemperatur nach 5 Tagen.

Abb. 16 und 17. Herpes zoster ophthalmicus. Zimmertemperatur nach 4 Tagen. Vergr. 300fach.

Abb. 18 und 19. Commotio cerebri. Frisch untersucht. Vergr. 450fach.

methoden noch nicht zu erfassen vermögen<sup>1</sup>.

Für die Praxis gesehen, besteht jedoch die Tatsache, daß — gleich aus welchem Grunde — in einem Teil der Liquoren die Zellen gerade anfänglich rasch schwinden. Von besonderer Wichtigkeit ist das, weil es nicht allein bei den hohen Zellwerten einer eitrigen Meningitis vorkommt (denn es ist für die Praxis ja nicht von ausschlaggebender Bedeu-

tung, ob in einem derartigen Liquor 1600/3 oder 800/3 Zellen gezählt werden), sondern auch bei geringen Ausgangswerten. *Um hier folgenschwere Irrtümer auszuschalten, muß also mit Unbedingtheit an der Forderung einer sofortigen Zählung der Zellen festgehalten werden.*

Es bleibt noch ein kurzer Blick auf die strukturellen Veränderungen zu werfen, die die Zellen während ihres Aufenthaltes im Liquor durchmachen — hier nur, soweit es aus dem Kammerpräparat ersichtlich ist. Es muß vorausgeschickt werden, daß die Färbung mit Methylviolett-essigsäure in der Zählkammer es nicht ermöglicht, die Feinstruktur der Kerne und des Plasmas zu erkennen<sup>3</sup>. Darüber kann erst das *Alzheimer-Bild* Aufschluß geben (Abb. 11—19).

<sup>1</sup> Selbst erfaßbare Eigenschaften sind hier noch nicht berücksichtigt. Man denke nur z. B. an das Verhalten des  $p_H$  des Liquors.

<sup>2</sup> Zur Darstellung wurden in dieser Arbeit photographische Aufnahmen vorgezogen. Obwohl Probeaufnahmen sehr schöne Ergebnisse gezeigt haben, mußte infolge der kriegsbedingten Schwierigkeiten auf farbige Photographien verzichtet werden. Der Wert der Abbildungen hat bedauerlicherweise darunter gelitten. Das für diese Arbeit Wesentliche ist jedoch auch mit der Schwarzweiß-Photographie zur Darstellung zu bringen. Wo farbige Abbildungen das Verständnis erleichtern, werde ich auf die Zeichnungen in der Arbeit *Bannwarths* verweisen.

<sup>3</sup> Nicht einmal eine Unterscheidung der Lymphocyten, Plasmazellen und Histiocyten ist oft durchführbar, weshalb in diesem Abschnitt immer nur von „rundkernigen Zellen“ die Rede ist.

Immerhin sehen wir die Zellen nach kurzer Zeit erhebliche Veränderungen durchmachen. Dies beobachten wir zu Zeiten, in denen ein Zellschwund oft kaum in Erscheinung tritt. Sehr bald — meist nach 2—3 Tagen, gelegentlich aber auch bei *frisch untersuchten* Liquoren — sind Gebilde zu sehen, die wir zwar von Zellen ableiten, bei denen jedoch die Entscheidung „Zelle oder nicht“ nur noch subjektiv getroffen werden kann. Abb. 14 und 19 mögen dies veranschaulichen<sup>1</sup>.

Von der Sonderstellung bezüglich der Zerfallsgeschwindigkeit der segmentkernigen Leukocyten war schon die Rede (s. S. 269). Am besten erhalten bleiben die rundkernigen Elemente (wohl meist kleine Lymphocyten), die schließlich unter dem Bild der Pyknose zugrunde gehen. Bei ihnen sind Veränderungen im Kammerpräparat oft lange Zeit nicht erkennbar (Abb. 16). Bei dem Großteil der Zellen sind nach kurzer Zeit Veränderungen zu sehen, wie sie die Abb. 11, 12, 13, 17 zeigen. Um welche Art der Veränderung es sich dabei handelt, ist nicht zu sagen. Ein näheres Eingehen auf diese Bilder bleibt deshalb auch dem nächsten Abschnitt vorbehalten. Es kann dann aber natürlich nicht erwartet werden, daß die in der Zählkammer beobachteten Veränderungen mit denen des *Alzheimer*-Bildes verglichen werden. Von entscheidender Bedeutung ist es jedoch, daß ich in frisch untersuchten Liquoren Zellen mit ähnlichen Veränderungen fand, wie sie bei anderen *in vitro* aufbewahrten Zellen erst allmählich auftraten (Abb. 14 zum Vergleich mit Abb. 18, Abb. 15 mit Abb. 19). Die genauere Differenzierung ist, wie ich schon sagte, in der Zählkammer nicht möglich; die obige Beobachtung wird also noch durch Befunde des *Alzheimer*-Präparates zu stützen sein, bevor sie überhaupt gewertet werden kann.

Einem späteren Abschnitt, der die Folgerungen aus diesen Befunden zu behandeln hat, soll hier folgendes vorausgenommen werden: die Betrachtung der morphologischen Beschaffenheit der Zellen im Vergleich zu den aufgestellten Zerfallskurven führt uns die große Schwierigkeit der Beurteilung eines Zellzerfalls vor Augen. Der reine Zellschwund ist oft nicht erheblich, während die gezählten Zellen stark verändert sind. Wie im letzten Abschnitt dieser Arbeit näher ausgeführt wird, wird sich ein großer Teil der so gegensätzlichen Meinungen von *Bannwarth* und *Scheid* hieraus erklären lassen. Denn je nach Art der Betrachtung wird man also bei gleichen Befunden zu sehr verschiedener Beurteilung der Frage kommen können, ob die Liquorzellen sehr widerstandsfähig oder labil sind. Anders ausgedrückt: Wo ist die Grenze, wo wir von einer Zelle als einer „zerfallenden“ sprechen können? Die Aufstellung von Kurven, wie sie hier geschehen ist, hat gewisse Ergebnisse gezeigt, in dieser wichtigsten Frage versagt sie jedoch. Einen Maßstab für den echten Zerfall als Ausdruck des Zelltodes haben wir dadurch nicht gewonnen.

<sup>1</sup> *Scheid* hat, einer mündlichen Mitteilung zufolge, diese Gebilde als Zellen gewertet. Sie sind also auch in der vorliegenden Arbeit jeweils mitgezählt worden.

### III. Untersuchungen mit der histologischen Methode nach Alzheimer.

Allen anderen Methoden zur Darstellung der morphologischen Feinstrukturen der Zellen der Cerebrospinalflüssigkeit ist die histologische nach *Alzheimer* überlegen. Nur mit ihrer Hilfe können wir Bilder gewinnen, die denen der übrigen Histologie noch am entsprechendsten sind.

Über die Technik der Einbettung kann ich auf frühere eingehende Beschreibungen verweisen<sup>1</sup>. Zur Färbung der 10  $\mu$  dicken Schnitte verwendete ich Toluidinblau und Methylgrün-Pyronin. Zweifellos ist letztere Färbung überlegen durch die klarere Darstellung des Kerns und Protoplasmas. Aber auch die Toluidinblaufärbung ergibt recht gute Bilder. Die Kerne müssen sich dabei kräftig blau vom violettgefärbten Protoplasma abheben<sup>2</sup>. Voraussetzung dafür ist allerdings eine saubere Handhabung der Methode. Ich hielt mich im großen und ganzen an die Vorschriften älterer Arbeiten. Jedoch konnte ich durch Abänderung einiger Einzelheiten der Technik durchweg bessere Bilder erzielen als nach den früheren Angaben. Bei beiden Färbungen verfuhr ich dabei wie im folgenden kurz geschildert:

aus dem 70%igen Alkohol, in dem er aufbewahrt ist, wird der Schnitt zum Abspülen in ein Uhrglasschälchen mit Aqua dest. gebracht. Das Wasser wird nun abgossen und der Schnitt mit einem Tropfen Methylgrün-Pyronin oder Toluidinblau bedeckt. Nach der notwendigen Färbungszeit wird er wieder mit Aqua dest. abgespült, dann durch 70%igen, 96%igen und 2 Schälchen mit absolutem Alkohol geführt. Er wird in Xylol aufgeheilt und in Canadabalsam eingedeckt.

Als Färbungszeit mit der 1%igen, auf 55° C erwärmten Toluidinblau-lösung hat sich als beste 15 Min. im Brutschrank bei 55° C gezeigt. Diese Zeit ist aber nur ein ungefährer Anhalt. Sie ergibt bei den meisten Präparaten gute Färbung. Manche Schnitte jedoch mußten bis 55 Min., andere nur 10 Min. mit einer 0,01%igen Lösung gefärbt werden, um etwa gleichartige Bilder zu ergeben.

An Stelle des früher üblichen Celloidins wurde in dieser Arbeit Cedukol zur Einbettung verwendet. Ein Herauslösen vor der Färbung mit Methylgrün-Pyronin, wie es für das Celloidin wegen der starken Mitfärbung des Untergrundes als unerlässlich hingestellt wurde, hat sich als nicht nötig erwiesen. Es ist so möglich, den Schnitt ohne Schwierigkeit durch die verschiedenen Alkohole zu führen. Die Zellen sind dadurch besser zu differenzieren als die nach den früheren Angaben gefärbten. Eine störende Mitfärbung des Untergrundes ist nicht zu beobachten (Abb. 20 und 21).

Die Angaben über die Zeit der Färbung mit Methylgrün-Pyronin sind bei *Bannwarth* und *Scheid* sehr verschieden. Der erste nennt 2 Sek., der letztere 8—10 Min. mit einer auf 50—60° C erwärmten Farblösung. Ich verwendete die gleichen Farben wie die genannten Autoren und stellte fest, daß unter bestimmten Voraussetzungen, die unten weiter ausgeführt

<sup>1</sup> Siehe z. B. bei *Bannwarth* S. 542.

<sup>2</sup> Siehe Abb. 14 und 59, Tafel I bei *Bannwarth*.

werden, beide Angaben richtig sind. Die größte Anzahl der Schnitte zeigte die beste Färbung zwischen 1 und 4 Min. mit einer nicht erwärmten Lösung. Die Kerne waren dann kräftig violett, das Protoplasma rosa bis rot gefärbt. Die Kernkörperchen hoben sich deutlich, metachromatisch gefärbt, ab<sup>1</sup>. Wie *Scheid* glaube ich auch, daß in jedem Laboratorium die besten Bedingungen für die Färbungen jeweils selbst ausgearbeitet werden müssen. Besonders gilt das für die an die Färbung angeschlossene Differenzierung im Alkohol, deren Dauer nur durch Erfahrung ermittelt werden kann.

Ich beobachtete, daß etwa bei der Hälfte der von mir eingebetteten Liquoren die Färbungen immer gleich gut waren, wie sehr ich auch die Färbungszeiten veränderte (20 Sek. bis 10 Min.). Auf der anderen Seite gab es Liquoren, bei denen alle Schnitte immer auch

beim bloßen Übergießen mit der Farblösung überfärbt waren, während andere trotz langer Färbung (20 und 30 Min.) immer zu blaß blieben. Wohlgemerkt ist hier nur von dem Schnitt als Ganzem, Zellen und umgebendem Eiweiß, die Rede<sup>2</sup>! Dies wechselnde Verhalten war, wie nochmals hervorgehoben werden muß, an *allen* Schnitten eines Blockchens zu beobachten. Auch sah ich niemals bei meinen Untersuchungen, daß einzelne Schnitte nur die schmutzigrün gefärbten Zellen aufwiesen, sowie es *Scheid* geschildert hat.

Aus all dem möchte ich die immer betonte, besondere Empfindlichkeit der Methylgrün-Pyroninfärbung nicht bestätigen; dies um so weniger, als auch bei der Toluidinblaufärbung ein entsprechendes allerdings nicht so ausgeprägtes färberisches Verhalten zu bemerken war.

Es war nun daran zu denken, daß die Liquorzusammensetzung oder die Art des bei der Einbettung zugegebenen Eiweißes für die färberischen Eigenschaften eines Blockchens verantwortlich zu machen sei. Über alle in dieser Richtung angestellten Untersuchungen kann ich kurz zusammenfassend berichten: weder die Beschaffenheit des Liquors noch die des zugegebenen Eiweißes, auch nicht die Art und Dauer der Krankheits-

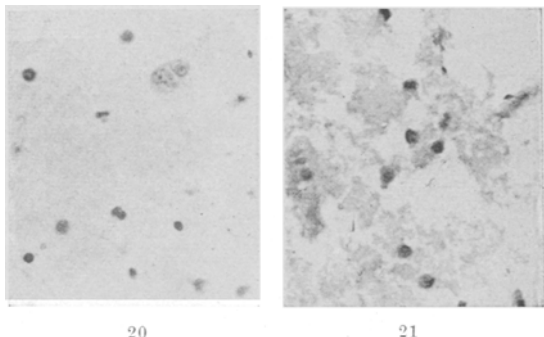


Abb. 20 und 21. Chronische Meningitis. Sofort eingebettet, gefärbt mit Methylgrün-Pyronin. Vergr. 450fach.

Abb. 20. Ohne Herauslösen,

Abb. 21. Nach Herauslösen des Cedukols.

<sup>1</sup> Wie Abb. 34, 35 und 36, Tafel I, bei *Bannwarth*.

<sup>2</sup> Also von dem, was *Bannwarth* nicht ganz eindeutig als „Präparat“ bezeichnet.

prozesse, die den Liquoren zugrunde lagen, ließ eine Gesetzmäßigkeit erkennen, mit der dies wechselnde färberische Verhalten erklärt werden konnte.

In einem Fall beobachtete ich nun, daß die Schnitte, die gleich nach dem Schneiden alle gut gefärbt waren, nach einer mehrwöchigen Aufbewahrung im Alkohol ausschließlich ganz blasse Bilder ergaben. Ich untersuchte weiter und fand, daß nach der gleichen Zeit bei anderen Liquoren starke Überfärbungen zu sehen waren. Vom gleichen Blöckchen neu gefertigte Schnitte waren wieder gut gefärbt. Umgekehrt ergaben aber auch zuerst blaß oder zu stark gefärbte Schnitte nach einiger Zeit gute Bilder.

Zusammenfassend kann also über die Gesamtfärbung eines Schnittes gesagt werden: die Schnitte eines sofort bearbeiteten, oder auch eines erst

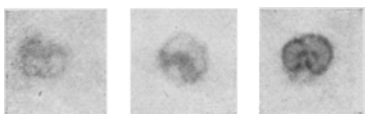


Abb. 22—24. Rheumatische, lymphocytäre Meningitis. Nach 1 Stunde eingebettet, Methylgrün-Pyroninfärbung. Vergr. 1100fach.

nach Stunden und Tagen eingebetteten Liquors lassen sich meist mit Toluidinblau und Methylgrün-Pyronin gut färben. Gelegentlich ist ein hiervon abweichendes Verhalten zu bemerken.

Wenn auch nicht gleich ausgeprägt, tritt es doch bei beiden Färbungsarten in Erscheinung. Eine besondere Empfindlichkeit der Methylgrün-Pyronin-

färbung scheidet als Grund demnach aus. Die Art des eingebetteten Liquors kann diese Frage ebenfalls nicht beantworten. Es müssen deshalb — in Verbindung mit anderen Beobachtungen — Faktoren angenommen werden, die während des Einbettungsvorganges, bzw. während einer Aufbewahrung der Schnitte unter Alkohol, dieses wechselnde färberische Verhalten bewirken. Welcher Art sie sind, konnte hier nicht ermittelt werden. Noch einmal muß betont werden, daß bisher nur von dem Gesamtpräparat die Rede war. Die einzelne, dann mehr oder weniger gut gefärbte Zelle war immer Ausdruck eines entsprechend mehr oder weniger gut gefärbten Gesamtpräparates. Die Abb. 22—24 sollen dies zeigen.

Es handelt sich um Histiocyten aus den Schnitten des gleichen Blöckchens. Die blasse oder gute Färbung ist Folge einer verschiedenen langen Dauer der Differenzierung im Alkohol und bei allen gleichen Zellen im selben Schnitt zu sehen. Hier ist also nur von einer Frage der Technik die Rede, die wir für die folgenden Betrachtungen ganz außer acht lassen wollen: alle Vergleiche werden nun nur noch zwischen gleich gut gefärbten Schnitten angestellt.

Beim Vergleich der einzelnen Zellen eines jeden Schnittes gewinnt unsere Frage ein wesentlich anderes Ansehen. Schon im frisch eingebetteten Liquor sind unter vielen gut erhaltenen einige Zellen zu finden, deren mangelhafte Färbung in Verbindung mit den sichtbaren Struktur-

veränderungen erkennen lassen, daß hier ein tief in den Stoffwechsel oder gar ins Leben der Zelle greifender Prozeß stattgefunden hat (Abb. 29, 32, 33). Die Kerne sind blasser, das Chromatin wird randständig, das Protoplasma umgibt nicht mehr scharf begrenzt wolkig den Kern; schließlich bleibt ein kernloses, kaum angefärbtes Flöckchen zurück.

Solche veränderten Zellen sind in frisch verarbeiteten Liquoren nicht häufig, aber *regelmäßig in jedem Fall* zu sehen<sup>1</sup>. Ein Versagen der angeblich empfindlichen Färbemethode kann nach allem Vorhergesagten nicht als Grundlage hierfür in Betracht kommen.

Wir finden also: nicht alle Zellen des frisch verarbeiteten Liquors lassen sich einwandfrei darstellen. Einzelne schlecht gefärbte und verwaschene Zellen sind nicht die Folge einer fehlerhaften Färbemethode. Da uns auch hier die Liquorzusammensetzung keine Anhaltspunkte liefert, liegen ihr also wohl gewisse geänderte Eigenschaften der Zellen zugrunde, die möglicherweise aus der Dauer des Aufenthaltes im Liquorraum resultieren können.

Um dieser letzten Frage näherzukommen, müssen wir jetzt die Bilder betrachten, die uns die Zellen

der in vitro aufbewahrten und erst nach Stunden oder Tagen eingebetteten Liquoren bieten. Da die Befunde der von mir untersuchten Fälle recht einheitlich sind, soll an Hand eines Falles (Symptomatische Epilepsie, Ausgangswert 235/3 Zellen) die Veränderungen der Zellen gezeigt werden (Abb. 34—40):

Die Zellen setzen sich vorwiegend aus Lymphocyten, einigen Histiocyten und einigen segmentkernigen Leukocyten zusammen. Bei Zimmertemperatur ist nach 18 Stunden ein Schwund der Zellen von etwa 30 % festzustellen<sup>3</sup>. Strukturell veränderte Zellen sind noch nicht häufig; zu gleichen Teilen entfallen diese auf Typen wie in Abb. 34 und 35 gezeigt. Nach 42 Stunden (Zellschwund etwa 35 %) haben die veränderten Zellen zugenommen. Bilder, wie Abb. 36, 37 und 38 sind mehrfach zu sehen. Über die Hälfte der Zellen ist noch gut erhalten. Demgegenüber zeigen

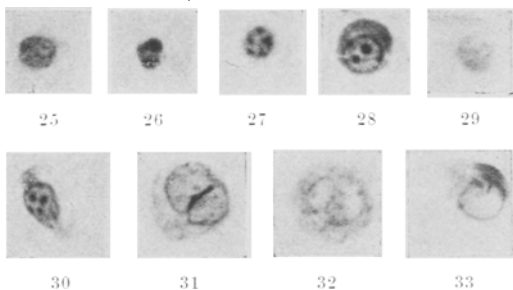


Abb. 25—33. Caudasyndrom. Sofort eingebettet, Toluidinblaufärbung<sup>2</sup>. Vergr. 1100fach.

Abb. 25. Lymphocyt. — Abb. 26. Segmentkerniger Leukocyt. Abb. 27. Lymphocyt, Radspeichenstruktur des Kerns. Abb. 28. Plasmazelle. — Abb. 29. Zellschatten. Abb. 30. Geschwänzter Histiocyt. — Abb. 31. Histiocyt. — Abb. 32 und 33. „Veränderte“ Histiocyten.

<sup>1</sup> Niemals jedoch bei vergleichsweise angestellter Einbettung von Blut, das im zellfreien Liquor aufgeschwemmt wurde, unter den weißen Blutzellen.

<sup>2</sup> Zur photographischen Darstellung wurde immer das Toluidinblaupräparat herangezogen, da es das hier Wesentliche klar zur Darstellung brachte.

<sup>3</sup> Bei stets gleicher Liquor-, Alkohol- und zusätzlicher Eiweißmenge läßt auch das histologische Bild einen ungefähren Rückschluß auf den Zellschwund zu.

die des bei 37° C aufbewahrten Liquors ein ganz anderes Verhalten. Schon nach 18 Stunden (Zellschwund etwa 60%) ist *keine* Zelle mehr zu sehen, die nicht verändert wäre. Vorherrschend sind Zellen wie Abb. 39, daneben auch eine ganze Reihe wie Abb. 40. Bei 0° C sind Zellschwund und Veränderungen ganz ähnlich denen bei Zimmertemperatur. Lediglich sind schon nach 18 Stunden mehr Zellen vom Typ Abb. 34 zu beobachten. Die Bilder nach 42 Stunden gleichen sich völlig. Nach 7 Tagen (Zellschwund 65%) ist bei 0° C das Bild gleich dem bei 37° C nach 18 Stunden.

Schon hier gewinnt man also die Ansicht, daß — morphologisch gesehen — die Liquorzellen, besonders bei Körpertemperatur, nicht derart widerstandsfähig sein können, wie es nach der Beschreibung *Scheids* anzunehmen ist. Aus den folgenden Bildern einer frisch eingebetteten

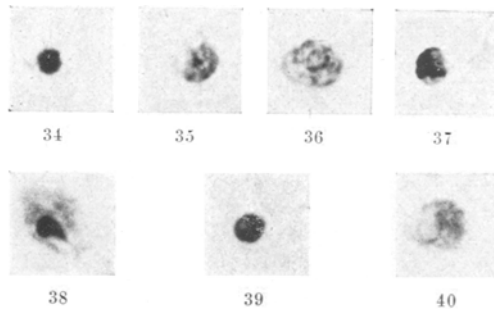


Abb. 34—40. Symptomatische Epilepsie. Toluidinblaufärbung. Vergr. 1100fach.

Abb. 34 und 35. Zimmertemperatur, nach 18 Stunden eingebettet. — Abb. 36—38. Zimmertemperatur, nach 42 Stunden eingebettet. — Abb. 39 und 40. 37° C, nach 18 Stunden eingebettet.

Pneumokokkenmeningitis (als Beispiel mehrerer gleicher Befunde) wird nun vollends der Eindruck bestärkt, daß die Zellen im Liquor inner- und außerhalb des Körpers dauernden — und zwar recht erheblichen — Veränderungen unterworfen sind. Daß es sich um die gleichen, an allen Entzündungszellen sich abspielenden Prozesse handelt, zeigen die Ausführungen von *Marchand*, die — den Zerfall von Eiterkörperchen beschreibend — ebenso auf die Zellen der Abb. 41 Anwendung finden können: „Was das Verhalten der Kerne anlangt, so ist bekannt, daß schon in den aseptischen Entzündungen die emigrierten Leukocyten meist nach wenigen Tagen dem Untergang verfallen, obgleich dabei große Verschiedenheiten vorkommen. Die Kerne verschwinden dabei teils durch Karyolyse, teils durch Karyorhexis, Zerklüftung in zahlreiche kleine intensiv färbbare Fragmente, die in dem Protoplasma verteilt sind und oft der Membran anliegen; bei den eitrigen Exsudaten ist das in noch höherem Maße der Fall, so daß schließlich nur noch eine dichte Anhäufung von zerfallenen Kernen in verschiedenen Stadien der Umwandlung vorhanden ist . . . Es ist dann nicht mehr möglich, die ursprüngliche Kernform nachzuweisen . . . Es kommt dazu, daß die Form der absterbenden gelappten Kerne sich durch Konfluenz der Kernteile verändern kann,



solange noch keine vollständige Trennung eingetreten ist. Es können dadurch ursprünglich einkernige Formen, auch Lymphocyten, Gewebszellen, vorgetäuscht werden, die pyknotisch geworden sind“ (S. 476f.).

Die Abb. 41 verdeutlicht, wie schon die vorher angeführten Fälle, die Tatsache, daß in frisch eingebetteten Liquoren Zellen mit den gleichen Veränderungen vorkommen, wie sie in länger in vitro stehenden gesehen werden. Die Beobachtungen des Kammerpräparates werden hier also bestätigt<sup>1</sup>.

Man kann jedoch nicht sagen, daß es allein der Einfluß der Zeit ist, während welcher sich die Zellen im Liquor aufhalten, der diese Veränderungen veranlaßt. Man müßte danach bei einer Nachpunktion einer Reizpleocytose — etwa nach lumbaler Encephalographie, bei der zuerst keine Zellvermehrung vorhanden war — nur gute erhaltene „junge“ Zellen finden. Dagegen aber sprechen meine Befunde. Gerade in einem derartigen Fall beobachtete ich, daß überraschend viele Zellen Veränderungen der oben beschriebenen Art zeigten. Allerdings waren darunter etwa die Hälfte segmentkernige Leukocyten, die ja im Vergleich zu anderen Zellarten schneller zugrunde gehen.

Wenn wir also in Anlehnung an *Bannwarth* die Veränderungen der Zellen als Ausdruck des Alters bezeichnen wollen, können wir nicht schlechthin, wie es *Scheid* getan hat, „Alter“ mit der Dauer des Aufenthaltes der Zellen im Liquor gleichsetzen<sup>2</sup>. Zum Alter gehören wahrscheinlich noch andere Faktoren, z. B. die Lebensbedingungen, denen die Zellen vor ihrer Ausschwemmung in den Liquor unterworfen waren<sup>3</sup>.

Können aber die morphologisch erfaßbaren Veränderungen an den Zellen ein Bild entwerfen von den ihnen zugrunde liegenden Ursachen? Bei *Bannwarth* finden wir schon die Antwort: „Aus der speziellen Pathologie wissen wir nun, daß es ein Fehler wäre, aus gleichen morphologischen Veränderungen auf dieselbe Ursache zu schließen. Es ist eine oft bewiesene und insbesondere von *Spielmeyer* wiederholt betonte Tatsache, daß ganz verschiedene Noxen die gleichen anatomischen Bilder erzeugen können (z. B. Lues und Tuberkulose), während andererseits ein und dieselbe Schädlichkeit verschiedenartige strukturelle Gewebsveränderungen hervorzurufen vermag“ (S. 546).

<sup>1</sup> Warum es nicht möglich ist, Veränderungen des Kammer- und *Alzheimer*-Präparates ohne weiteres zum Vergleich heranzuziehen, ist schon oben ausgeführt (s. S. 273).

<sup>2</sup> Daß *Bannwarth* im übrigen diese Gleichsetzung nicht vorgenommen hat, geht aus seinen Ausführungen S. 546f. hervor.

<sup>3</sup> Ich werde im nächsten Abschnitt noch näher darauf eingehen.

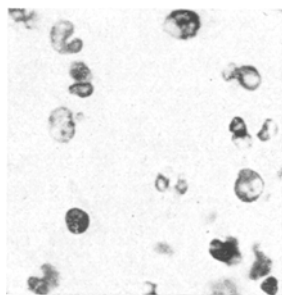


Abb. 41: Pneumokokkenmeningitis. Sofort eingebettet, Toluidinblaufärbung. Vergr. 1100fach.

Das histologische Präparat ist also nur ein Äquivalent für das, was am Gewebe, an der Zelle wirklich geschieht. Wir haben durch Erfahrung und vergleichende Untersuchungen gelernt, mit diesem Ersatzbild zu arbeiten. In Bezug auf Lebensvorgänge der Zelle vermag es uns doch noch wenig zu sagen. Für die histologische Betrachtung fehlen noch eindeutige Definitionen für die Begriffe „Degeneration“, „Zelltod“ usw. *Ries* hat den Versuch einer vorläufigen Definition unternommen. Es dürfte aber schwer zu sagen sein, welche Ursachen den sichtbaren Veränderungen der Zellen Abb. 32 und 33 zugrunde liegen. Handelt es sich um eine reversible Entmischung oder aber schon um eine irreversible kolloidale Zustandsänderung („Nekrobiose“ oder „Nekrose“ nach *Ries*)? Ich habe es deshalb bewußt vermieden, die beobachteten Veränderungen mit dem einen oder anderen Namen zu belegen. Wesentlich ist nur, daß die Bilder der veränderten Zellen im frischen und länger in vitro aufbewahrten Liquor gleich sind. Ob dem jedoch die gleichen Ursachen zugrunde liegen, muß offen bleiben.

Also auch hier müssen wir abschließend feststellen: die morphologische Erfassung der Liquorzellen im *Alzheimer*-Bild läßt uns nicht in den Ursachenkreis eindringen, als deren Wirkung allein ein echter Zerfall zu erklären wäre.

#### IV. Deutungen und Folgerungen. Kritik der Methoden.

Wir haben uns jetzt mit der Deutung und den Folgerungen zu befassen, die *Bannwarth* und *Scheid* an ihre Befunde angeschlossen haben. *Bannwarth* nimmt aus der Betrachtung der gestaltlichen Veränderungen der Zellen die Berechtigung zu sagen: Die morphologischen Bestandteile der Cerebrospinalflüssigkeit sind „äußerst labile Gebilde“, „zweifelloos dauernden regressiven Veränderungen unterworfen“, die, so folgert er daraus, „schließlich schon physiologischerweise in der Cerebrospinalflüssigkeit zugrunde“ gehen (S. 571). *Scheid* hingegen deutet die Veränderungen der Zellen als Kunstprodukte (Fehler der Methoden). Den langsamen Zellschwund in vitro überträgt er auch auf den Lebenden und folgert so, „daß die Liquorzellen sich nur vorübergehend im Subarachnoidealraum aufhalten können und daß sie diesen offenbar wieder verlassen. Der Zerfall vollzieht sich . . . außerhalb der Liquorräume des Zentralnervensystems“ (S. 201).

Welche Stellung zu diesen Folgerungen erlauben uns die Befunde der vorliegenden Arbeit? Es erscheint, als ob die Gegensätze der Arbeiten von *Bannwarth* und *Scheid* gar nicht so unüberbrückbar seien, wie man zuerst annehmen könnte. Meiner Ansicht nach resultieren sie erstens aus der Verschiedenheit der angestellten Versuche, indem *Scheid* das Hauptgewicht zunächst einmal auf den reinen Zellschwund, *Bannwarth* auf die Formveränderungen der Zellen legt. Zum zweiten sind es

weniger die Befunde der Zellveränderungen als vielmehr deren Deutung, die die Widersprüche ausmachen. So decken sich z. B. die von beiden Autoren veröffentlichten Abbildungen weitgehend und werden durch die Bilder dieser Arbeit bestätigt. Daß trotzdem eine so verschiedenartige Deutung möglich ist, läßt schon den Zweifel daran aufkommen, ob die hier angestellten Reagenzglasversuche die angeschnittenen Fragen wirklich zu beantworten vermögen. Soviel können wir immerhin sagen: die Ansicht, daß die Liquorzelle derart rasch zugrunde geht, wie man nach *Bannwarth* und anderen früheren Untersuchern annehmen müßte, besteht sicher nicht zu Recht. Nach der Art *Scheids* aufgestellte Zerfallskurven lehren, daß der Zellschwund in der Mehrzahl der Fälle sogar recht langsam vor sich geht. Diese Kurven geben jedoch sicher kein Bild vom wirklichen Zerfall der Liquorzellen, denn bei Betrachtung der Strukturen gewinnt man den Eindruck, daß die Zellen recht bald tiefgreifende Veränderungen durchmachen — bei Körpertemperatur sogar in kürzester Zeit. Ein Abfall des Zellspiegels in wenigen Tagen, z. B. bei Poliomyelitis (dessen Beobachtung *Scheid* in Verbindung mit dem in vitro gesehenen langsamen Zellschwund zur Annahme eines Zerfalls der Zellen außerhalb der Liquorräume geführt hat), erscheint also sehr wohl möglich. Denn es muß mit Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß ein direkter Schluß vom Reagenzglasversuch auf die Verhältnisse beim Lebenden bei der Art der hier durchgeführten Versuche in keiner Weise zulässig ist. Wenn es *Scheids* Verdienst ist, gezeigt zu haben, daß man den Liquorzellen hinsichtlich einer stärkeren Labilität keine Ausnahmestellung unter den morphologisch gleichen Zellen des Körpers einräumen muß, so nötigen andererseits die Folgerungen aus seinen Befunden wieder dazu, die Liquorzellen als Gebilde mit ganz eigenen Lebensgesetzen zu betrachten. Dies erscheint mir jedoch keineswegs gerechtfertigt.

Hier müssen nun einige allgemeine Betrachtungen über die Biologie der Zelle eingeschoben werden. Wir sehen heute in der Ausschwemmung von Zellen aus dem Gewebe in den Liquorraum einen ähnlichen Vorgang, wie er bei der Emigration von Zellen in ein Exsudat stattfindet. Das ist zwar nicht ohne weiteres richtig — besonders da man den Liquor nicht einem Exsudat gleichsetzen kann. Eines — und das interessiert in diesem Zusammenhang — ist hieran gleich: die Zellen werden aus ihrem Gewebsverband herausgelöst<sup>1</sup> und treten in ein fremdes Milieu über. Es widerspricht nun allen biologischen Überlegungen, wenn wir behaupten wollen, daß die Zellen diesen Vorgang nicht mit einer Veränderung ihres kolloidchemischen Zustandes (ihrer Vitalität also) beantworten. Mit dieser Herauslösung der Zelle aus dem Gewebsverband tritt noch ein anderer Punkt in Erscheinung, der zu berücksichtigen ist. Untersuchungen an Zellen im Explantat haben nämlich gezeigt, daß die „letzte lebensfähige

<sup>1</sup> Dies gilt auch für die Zellen aus dem Blut, das wir hier als „Gewebe“ bezeichnen dürfen.

Einheit“, als welche die Zelle von der klassischen Anatomie definiert wurde, trotz vollendeter Technik nicht am Leben zu erhalten war. *K. Bauer* sagt in seinem Referat über diese Fragen: „Daraus ergibt sich die Konsequenz, daß die sog. Zelle im Sinne der klassischen Definition eine Abstraktion ist, die, soll sie auf lebende Objekte *in vitro* übertragen werden, in gewisser Hinsicht tiefgreifender Änderungen bedarf“ (S. 358). „Aus den Untersuchungen von *Held* ergibt sich, daß die genannte Definition unhaltbar ist . . . Der Aufbau der lebendigen Substanz zeigt uns vielmehr mit großer Klarheit, daß die zunehmende Differenzierung der Gewebe zugleich eine *allmähliche Überwindung der Grenzen der zellulären Organisation mit sich bringt*, ein Vorgang, der zur Herausbildung eines allgemeinen, komplizierten Protoplasmakontinuums führt (*Held*: Neurencytiumbegriff anstatt Zellbegriff)“ (S. 358).

Daraus erhellt nun, daß die von *Bannwarth* und *Scheid* — und also auch in dieser Arbeit angewandten Untersuchungsmethoden — nicht geeignet sind, zur Frage des echten Zerfalls etwas Endgültiges auszusagen (wie ich schon mehrfach zu zeigen versuchte). Dadurch, daß sie nur das veränderte Erscheinungsbild und nicht auch die Ursache der Veränderungen erfassen können, werden sie im Gegenteil nur Verwirrung stiften. „*Carrel* weist darauf hin, daß die wissenschaftliche Anatomie ihr Augenmerk vorwiegend auf die durch die Eigenart unserer Fixier- und Färbemethoden bedingte Darstellung der *soliden* Bestandteile und Strukturen des lebendigen Körpers gerichtet habe und die Existenz der perizellulären Flüssigkeiten ganz vergessen habe. Die Unterscheidung von Zelle oder kernhaltiger, protoplasmatischer Substanz und Medium sei ebenso künstlich wie diejenige von Struktur und Funktion“<sup>1</sup>.

Es gilt also, einen möglichst objektiven Maßstab für den Zerfall von der Funktion der Zellen her zu finden. Dies kann nach allem bisher Ausgeführten nur die *Vitalität* der Zelle sein. Erst wenn es gelingt, das morphologische Bild von dem Lebenszustand der Zelle her zu deuten, wird es möglich sein, zur Frage des Alterns und Zerfalls der Liquorzellen mit Erfolg Stellung zu nehmen.

Immer wieder ist die Frage erörtert worden — meist mit ungeeigneten Untersuchungsmethoden —, ob die Faktoren für die an den Liquorzellen gesehenen Veränderungen in erster Linie in der Zelle selbst oder aber in ihrer Umgebung zu suchen sind. Ich bin auf Grund meiner Beobachtungen geneigt, die Ursache hauptsächlich der Zelle zuzuschreiben. Das Schicksal der Zelle ist bei ihrem Übertritt in den Liquorraum wahrscheinlich schon weitgehend entschieden. Dazu führte mich hauptsächlich die beobachtete Tatsache, daß Zellen, die einwandfrei erst vor kurzer Zeit in dem Liquorraum ausgeschwemmt wurden, genau so erhebliche oder stärkere Veränderungen zeigten als solche, die längere Zeit aus ihrem Gewebsverband

<sup>1</sup> *Bauer, K.*: S. 342.

losgelöst waren. Ich muß jedoch gleich sagen, daß diese Ansicht im Rahmen der hier durchgeführten Untersuchungen mehr oder weniger hypothetisch ist, d. h. mit den hier angewandten Methoden nicht zu erhärten ist. Jedoch sprechen auch andere Erfahrungen dafür, einen bestimmten Lebensrhythmus der Zellen anzunehmen. *Ries* führt dazu folgendes aus: „Bestimmte Zellen werden im Verband des Organismus nicht nur zu einer spezifischen funktionellen und morphologischen Differenzierung und dementsprechend zu einem charakteristischen Arbeitsrhythmus determiniert, sondern darüber hinaus zu einem festgelegten *Lebensrhythmus*, der sich auch unabhängig von den Einflüssen des Organismus geltend machen kann. Bisher kennen wir allerdings diese Lebensrhythmen der Gewebe nur recht wenig. Es scheint, als ob es alle Abstufungen von dauernd teilungsfähigen und züchtbaren, mithin nicht alternden Geweben (Fibrocyten) bis zu solchen Zellen gibt, die nur vorübergehend teilungsfähig sind (Pankreaszellen) und darüber hinaus zu den nach ihrer Differenzierung nicht mehr teilungsfähigen und in vitro nur noch lebens- und differenzierungs- bzw. unter Umständen auch regenerationsfähigen Geweben (Nervenzellen)“ (S. 314). „Aber bisher kennen wir eben noch nicht die inneren Faktoren dieser Lebensrhythmen und die der gesamten Periodik eines Zellstammes. Doch wäre es an der Zeit, den Lebenslauf bestimmter Gewebetypen in vivo und in vitro vergleichend zu untersuchen, um einer entsprechenden Faktorenanalyse näherzukommen. Außer diesen „inneren Bedingungen“ sind aber nach Versuchen *Carrels* sicherlich auch humorale Faktoren des Gesamtsystems für das Altern der Zellen maßgeblich. Die Beladung mit Stoffwechselschlacken und Kondensationsprodukten mag vielleicht in Abhängigkeit von jenen Faktoren und zusammen mit der Protoplasmahysteresis die Degeneration beschleunigen“ (S. 316f.).

Welche Methoden werden nun geeignet sein, die Frage nach dem Lebensrhythmus der Zellen einerseits und der Einwirkung fremder Systeme — hier also des Liquors — auf diesen Rhythmus andererseits zu klären? Es werden dies Methoden sein müssen, die etwas über die Funktion der Zellen als Ausdruck ihrer Vitalität aussagen. Es kommen hierfür wohl in erster Linie vitale und supravitale Färbungen in Betracht. Unter Ausnützung der verschiedenen Permeabilität lebender und toter Zellen wird es sodann möglich sein, auf einem von *B. J. Luyet* vorgeschlagenen Weg zu dem Entscheid vorzudringen, welche Zellen als tot zu bezeichnen sind. Wertvollste Befunde aber werden wir zweifellos durch die Untersuchung am *Carrel'schen* Explantat gewinnen. Am explantierten Meningengewebe wird es wahrscheinlich möglich sein, den Lebensrhythmus der Zellen zu studieren, die dann auf einen hauptsächlich entzündlichen, aber wohl auch rein mechanischen Reiz hin in den Liquorraum ausgeschwemmt werden. Indem die Zusammensetzung der das Gewebe umgebenden Flüssigkeit in unsere Hand gegeben ist, können wir die Einflüsse dieses uns

bekannten Mediums — das nach dem Stand unserer Kenntnisse mehr und mehr dem Liquor entsprechend gestaltet werden kann — auf das Gewebe beobachten. Es ist denkbar, daß es gelingt, durch einen dem Krankheitsgeschehen entsprechenden Reiz Zellen aus dem Gewebsverband zu isolieren und ihr weiteres Schicksal zu verfolgen. Diese Versuche erst würden es uns erlauben, die *in vitro* gewonnenen Ergebnisse als so physiologisch zu bezeichnen, daß ihre Übertragung auf den Lebenden gerechtfertigt wäre.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß schon im Jahre 1925 die Amerikaner *Kubie* und *Schultz* ähnliche Versuche an Katzen gemacht haben, in denen sie die oben vorgeschlagenen Methoden kombinierten<sup>1</sup>. Es kann im Rahmen dieser Arbeit nicht näher auf diese Versuche eingegangen werden — wie auch die vorgeschlagenen Untersuchungen nur in etwa einen Weg zu zeigen versuchen. Jedoch soll gesagt werden, daß *Kubie* und *Schultz* beachtenswerte Ergebnisse zur Frage der Herkunft der Liquorzellen und ihrer Beziehungen zu anderen Zellgruppen des Körpers liefern konnten. Der stete Vergleich der vital und supravital gefärbten oder im Explantat beobachteten mit denen nach den bisherigen Fixier- und Färbemethoden dargestellten Zellen wird uns schließlich in Stand setzen, etwas über die den gesehenen Veränderungen zugrunde liegenden Ursachen auszusagen. Auch die exakte Differenzierung der Zellen nach Art und Herkunft könnte hierdurch möglich werden. Dies vermag uns dann vielleicht dem Ziel näherzubringen, das wir letzten Endes hier verfolgen: in der qualitativen Untersuchung der Zellen der Cerebrospinalflüssigkeit ein brauchbares diagnostisches Hilfsmittel am Krankenbett zu besitzen.

### Zusammenfassung.

Den Ausgangspunkt zur Behandlung der Fragen nach Altern und Zerfall der Liquorzellen bildeten zwei Arbeiten von *Bannwarth* und *Scheid*. Sie wurden im Versuch verglichen. Zerfallskurven nach der Art *Scheids* aufgestellt, zeigten in zwei Drittel der Fälle einen langsamen Zellschwund. Diesem langsamen Zerfallstyp gegenüber wurde beim Rest der Fälle ein zweiter gefunden, der einen erheblichen Zellsturz in den ersten 24 Stunden

<sup>1</sup> *Kubie* und *Schultz*: Vital and Supravital Studies of the Cells of the Cerebrospinal Fluid and of the Meninges in Cats. Bull. Hopkins Hosp. 37, 91 (1925). S. 92: "The meninges have been vitally stained by the injection of trypan blue into the subarachnoid space, thus producing a sterile inflammation, and picking out those cells which will ingest the particles of colloidal dye. The free cells of the spinal fluid have then been studied not only in fixed smears . . . , but also by direct observation of the living cells in supravital preparations. Scrapings of living arachnoid cells have been studied in the same way, and have been allowed to grow in short-run tissue cultures. In addition, strips of formalin-fixed arachnoid and pia have been peeled from blocks of cord and brain by the method of Essick, And sections of all tissues have been cut".

aufwies. Als Grund dafür konnte eine Zusammenballung der Zellen, wie sie *Scheid* angenommen hat, ausgeschlossen werden. Auch ließen vergleichende Untersuchungen des Liquors keinen entsprechenden Befund für dieses Verhalten auffinden. Es war anzunehmen, daß noch nicht erfaßbare Eigenschaften der Zellen oder des Liquors dafür verantwortlich zu machen waren. Bis zur Klärung dieser Frage mußte für die Praxis die Forderung aufgestellt bleiben, daß die Zellen *sofort* nach Entnahme zu zählen sind.

Im Gegensatz zum reinen Zellschwund waren die Veränderungen, die die Zellen nach kurzer Zeit *in vitro* durchmachten — und wie sie ähnlich auch in frisch entnommenen Liquoren gesehen wurden — recht erhebliche. Zum Studium der feineren Zellstrukturen wurde das Verfahren nach *Alzheimer* herangezogen. Die Gesamtfärbung eines Schnittes, gleich, ob von einem sofort oder erst nach Stunden oder Tagen eingebetteten Liquor, war mit Toluidinblau und mit Methylgrün-Pyronin meist gut. Ein hiervon abweichendes Verhalten war gelegentlich zu bemerken, dann aber bei allen Schnitten eines Blöckchens. Da es, zwar nicht gleich ausgeprägt, bei beiden Färbungsarten in Erscheinung trat, schied eine besondere Empfindlichkeit der Methylgrün-Pyroninfärbung als Grund hierfür aus. Die Art des Liquors oder der Zellen konnte diese Frage ebenfalls nicht beantworten. Als Grund für dieses wechselnde färberische Verhalten mußten also Faktoren angenommen werden, die bei der Einbettung des Liquors bzw. Aufbewahrung der Schnitte mitwirkten.

Im Gegensatz zu *Scheid* und in Übereinstimmung mit *Bannwarth* wurden in frisch eingebetteten Liquoren Zellen mit Veränderungen gefunden, wie sie an länger *in vitro* aufbewahrten erst auftraten. *In vitro* nahmen die Veränderungen rasch zu, besonders bei 37° C, wo nach 24 Stunden meist keine unveränderte Zelle mehr zu sehen war. Bei 0° C war dieser Zustand erst nach etwa 7 Tagen erreicht.

Trotzdem war anzunehmen, daß nicht die Zeit, die sich die Zellen nach ihrer Ausschwemmung im Liquor aufhalten, allein für die Veränderungen der Struktur verantwortlich zu machen war. Dies mußte vor allen Dingen als in dem Lebensrhythmus der Zellen selbst festgelegt angesehen werden.

Zum Studium dieses Lebensrhythmus, der Vitalität, die allein den Maßstab für einen echten Zerfall zu bilden vermögen, erwiesen sich die angewandten Methoden als ungeeignet. Es zeigte sich, daß die mit ihnen erhobenen Befunde in der Frage des Zerfalls je nach Betrachtung eine andersartige Deutung zuließen. Ein Teil der großen Widersprüche der Arbeiten von *Bannwarth* und *Scheid* konnte hieraus erklärt werden. Eine direkte Übertragung der Befunde des Reagensglases auf den Lebenden, wie es seitens *Scheid* geschehen ist, mußte abgelehnt werden. Das

Verhalten der Liquorzellen in vivo würde dann allen ausgeführten biologischen Erwägungen zuwiderlaufen. Als Methode zur Erforschung des Alters der Zellen, ihres Lebensrhythmus überhaupt, und damit zur Gewinnung eines brauchbaren Maßstabes für den Zerfall wurden vitale und supravitale Färbungen in Verbindung mit Untersuchungen am explantierten Meningengewebe nach *Carrel* vorgeschlagen.

### Literatur.

- Bannwarth*: Arch. f. Psychiatr. **100**, 533 (1933). — *Bauer, K.*: Erg. Biol. **16**, 336 (1939). — *Gicklhorn*: Erg. Physiol. **31**, 388 (1931). — *Kafka*: Z. Neur. **5**, 252 (1911). — *Kubie and Schultz*: Bull. Hopkins Hosp. **37**, 91 (1925). — *Luyet*: Science (N. Y.) **85** (1937). Zit. nach *Ries*. — *Marchand*: Die örtlichen reaktiven Vorgänge. Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 4, Abt. 1. Leipzig 1924. — *v. Möllendorff*: Erg. Physiol. **18**, 141 (1920). — *Plaut, Rehm, Schottmüller*: Leitfaden zur Untersuchung der Cerebrospinalflüssigkeit. Jena 1913. — *Rehm*: Atlas der Cerebrospinalflüssigkeit. Jena 1932. — *Ries*: Grundriß der Histophysiologie. Probleme der Biologie, Bd. 2. Leipzig 1938. — *Scheid, W.*: Dtsch. Z. Nervenheilk. **149**, 254 (1939); **152**, 170 (1941). — *Szésci*: Z. Neur. **6**, 537 (1911); **9**, 481 (1912).