

UNTERSUCHUNGEN  
ÜBER DIE  
GRUPPE DER BINDESUBSTANZEN.  
I.  
DER HYALINKNORPEL.

---

VON  
F. C. C. HANSEN,  
KOPENHAGEN.

---

*Mit 5 Figuren im Texte und 23 Figuren auf den Tafeln 35/44.*

---

Diese Arbeit ist eine deutsche Ausgabe meiner am 11. September 1900 erschienenen dänischen Arbeit. An einigen Stellen ist etwas gekürzt und nur vier von den Abbildungen sind früher publiziert worden. Leider ist diese deutsche Ausgabe durch meine Übernahme der anatomischen Professur an der Universität Kopenhagen länger hinausgeschoben worden als ich damals ahnen konnte, aber ich glaube nicht, dass diese auf umfassenden Eigenuntersuchungen beruhende Darstellung durch die in zwischen erschienenen Arbeiten anderer Forscher überflüssig geworden ist. Die schönen Untersuchungen J. Schaffer's, F. K. Studnička's, um nur einige der hervorragendsten zu nennen, dürften mit den in dieser sowie in meiner früheren Arbeit vertretenen Anschauung sehr wohl harmonieren und zum grossen Teil betreffen sie Gebiete, welche ich nur so nebenbei oder gar nicht berührt habe.

---

## Erster Abschnitt.

---

### Zur allgemeinen Histochemie des Knorpels. Methodologische Untersuchungen.

---

Als ich anfangs 1895 mit farbenanalytischen Untersuchungen beschäftigt war, fand ich, dass die Grundsubstanz des jungen hyalinen Knorpels eine Reihe von eigentümlichen Farbdifferenzierungen aufwies (Fig. 4). Bei Durchsicht der einschlägigen Literatur zeigte sich, dass im Jahre 1888 Analogien dazu von C. Th. Mörner (161) in Upsala mitgeteilt worden waren; dieser Forscher aber hatte die besagten Farbdifferenzierungen nur an den älteren Trachealknorpeln des erwachsenen Rindes gefunden, dagegen wurde es ausdrücklich gesagt, dass der Knorpel von jungen Tieren (und auch vom Frosche) keine ähnliche Färbendifferenzierung aufwies.

Durch eine Reihe von Untersuchungen gelang es mir die wahrscheinliche Erklärung dieses Widerspruches zwischen Mörners und meinen Beobachtungen zu finden und gleichzeitig zu konstatieren, dass eine definitive Lösung der Fragen, welche die Strukturen der hyalinen Knorpelgrundsubstanz betreffen, sehr wohl möglich erschien durch eine Kombination von den physiologisch-chemischen mit den morphologisch-histiologischen und farbenanalytischen Resultaten. Um dieses Ziel zu erreichen, sah ich mich aber dazu genötigt, die ganze Knorpelfrage einer erneuerten Untersuchung zu unterwerfen, besonders musste ich die wichtigsten der ausserordentlich zahlreichen histiologischen

Untersuchungen über den Knorpel nachprüfen, um mich durch eigene Anschauung darüber zu versichern, wie die verschiedenen Beschreibungen und Deutungen der vielen angeblichen Knorpelstrukturen beurteilt werden müssten.

Meine Arbeit wurde hierdurch natürlich bedeutend vergrößert, es gelang mir aber, wie ich im folgenden hoffe zeigen zu können, so gut wie alle bisher beschriebenen Knorpelstrukturen<sup>1)</sup> zu erklären, und zu zeigen, dass man aus der wahren eigentümlichen Struktur der Knorpelgrundsubstanz alle übrigen bisher mehr weniger unerklärte oder rätselhafte Strukturen, welche nach Reagenswirkung auftreten, und von verschiedenen Autoren als präformierte beschrieben waren, ableiten kann.

Es wird zweckmässig sein, zuerst eine Übersicht über die Hauptpunkte der Chemie der Knorpelgrundsubstanz zu geben, weil die histiologischen Verhältnisse zum Teil eng mit den physiologisch-chemischen verknüpft sind und an vielen Punkten in den chemischen ihre Erklärung finden, oder umgekehrt diese ergänzen. Gerade in den letzten Jahren hat die Chemie des Knorpels einen relativen Abschluss erreicht, namentlich durch die Arbeiten von Mörner (161) und Schmiedeberg (217), deren wichtigste Ergebnisse, insoweit diese für die histiologische Untersuchung Bedeutung erhalten, ich in Kürze referieren muss.

Berzelius (19) unterschied zwischen den leimgebenden und den nicht leimgebenden Knorpeln. Zu den ersteren zählte er, was wir jetzt als die Bindegewebsknorpel — Synchondrosen bezeichnen, die letzteren umfassten alle echten und zugleich die elastischen Knorpel; die chemische Natur derselben sei unbekannt, und selbst nach mehr-(12)stündigem Kochen mit Wasser würden sie nicht weich oder durchscheinbar und wenn sie sorgfältig vom Perichondrium befreit würden, gäben sie keinen Leim.

---

1) B. Solger hat für die bei Alkohol-Wirkung auftretenden artificiellen Strukturen die wahrscheinliche Erklärung angegeben.



Der „Knochenknorpel“ (l. c. S. 470 ff.) dagegen, den er durch vorsichtiges Decalcinieren von Knochen mit Salzsäure erhielt, wurde durch Kochen gänzlich in echten Leim umgewandelt. Nun wies aber Joh. Müller (159) 1836—37 nach, dass die echten Knorpel bei anhaltendem, 18—24stündigen Kochen mit Wasser eine leimähnliche Lösung geben, die sich indes durch gewisse Reaktionen von dem echten Sehnen-, Bindegewebs- und Knochenleim unterscheidet, und 1849 gab M. Schultze (221) an, wenn er Knorpel mit verdünnter Kalilösung entferne, gebe das so behandelte Gewebe beim Kochen mit Wasser Leim statt Chondrin.

Diesen wichtigen Befund wollte Schultze (222) später, allerdings mit Unrecht, aber nicht behaupten, indem er glaubte, gewisse Verschiedenheiten in betreff des Sublimats, des Ferridcyankaliums und der Salzsäure zwischen dem aus dem Knorpel gewonnenen Leim und dem echten Glutin nachgewiesen zu haben (besonders unter Bezugnahme auf Friedlebens (71)<sup>1)</sup> und Trommers (272) Ansicht von der Umwandlung des Chondrogens in Kollagen), Verschiedenheiten, die, wie Krukenberg (125) nachwies, teils von Verunreinigung mit Albumin herrühren (deshalb Ausscheidung mit Ferridcyankalium und Salzsäure), teils von zu starker Einwirkung des Kalis (durch die auch der echte Knochenleim die Fähigkeit verliert, mit Sublimat gefällt zu werden). Die Diskussion handelte sich nun eine Reihe von Jahren hindurch um die Frage, ob der Knorpel, eventuell das Chondrin oder das Chondrogen echtes Glutin enthält; hierzu kam ausserdem die Frage über die „reduzierende Substanz“<sup>2)</sup> (Schmiedeberg's Chondrosin), die in den che-

---

<sup>1)</sup> Friedleben glaubte nachgewiesen zu haben, dass mehrere Tage lang in verdünnter Salzsäure macerierter Knorpel Leim und nicht mehr Chondrin gebe.

<sup>2)</sup> Die reduzierende Substanz wurde zuerst (1854) von C. Bödecker nachgewiesen. Zeitschr. f. rat. Medizin. 1854. N. F., Bd. VI, S. 188 und Bd. VIII, S. 144. Durch Behandlung von Knorpeln mit konz. Salzsäure, ver-

mischen Untersuchungen des Knorpels eine so grosse Rolle gespielt hat; wie interessant diese aber auch in chemischer Beziehung sein mag, in histiologischer Bedeutung<sup>1)</sup> tritt sie vor der Frage über das Kollagen in den Hintergrund zurück. Letzteres und zugleich die gesamte chemische Konstitution der Knorpelgrundsubstanz erschien in neuem Lichte durch Morochowetz (154) unter Kühnes Leitung 1877 veröffentlichte Arbeit. Durch Behandlung des Knorpels mit schwacher Kali- oder Natronlösung oder mit Kalk- und Barytwasser bei gewöhnlicher Temperatur oder durch Digestion war er im stande, aus der hyalinen Grundsubstanz einen Stoff auszuziehen, den er Mucinstoff nannte; der übrigbleibende Teil der Grundsubstanz bestand ausschliesslich aus Kollagen, beim Kochen gab derselbe echtes Glutin. Das Chondrin war mithin eine Mischung von Leim mit Mucin, die Knorpelgrundsubstanz also eine gewissermassen einfache Mischung leimgebenden und mucingebenden Gewebes. Wenn spätere Untersuchungen auch nachgewiesen haben, dass Morochowetz' „Mucin“ kein chemisch echtes Mucin ist, so schmälert das doch nicht sein Verdienst, denn das Prinzipielle seines Resultates liegt darin, dass die Knorpelgrundsubstanz eine Mischung aus kollagener Sub-

dünnter Schwefelsäure und Chlorzinklösung erhielt er eine Substanz, die er Chondroitsäure nannte; dieselbe reduzierte Kupfer in alkalischer Lösung. Später änderte er seine Ansicht dahin, dass sie eine echte reduzierende Zuckerart, dextrogyr und vergärbare sei. Siehe C. Bödecker und G. Fischer. *Annalen der Chemie*. Bd. 117, S. 111–118, 1861 und *Zeitschr. f. rat. Medizin* (3), Bd. X, S. 153. Später wurde sie zum Gegenstand mehrerer Untersuchungen gemacht. So hat Krukenberg l. c. 1884 diese auch von ihm Chondroitsäure genannte reduzierende Substanz einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Definitiv wurde die Frage nach der chemischen Natur der reduzierenden Substanz gelöst von Mörner (1889) und vorzüglich von Schmiedeberg (1891). [Vergl. Mörner l. c. 1889 (S. 227 u. 230). Schmiedeberg l. c. 1891.]

1) Dass die Knorpelkittsubstanz die reduz. Substanz enthält, könnte vielleicht für einzelne Reaktionen von Bedeutung sein, z. B. für die Silberfärbung des Knorpels; diese ist nämlich am stärksten, wo die Anhäufung der Verbindungen der Chondroitschwefelsäure am reichlichsten vorkommt, speziell in grösster Nähe der Zellen.

stanz mit einer anderen, jedenfalls mucinähnlichen Substanz ist. Hierdurch wurden die früheren verschiedenartigen Befunde erklärt und es war eine wichtige Analogie der Knorpelgrundsubstanz mit den übrigen Geweben der Bindegewebsgruppe gewonnen. 1877 zeigte nun Tillmanns (271) durch Behandlung der Knorpelsubstanz mit Trypsin, wie dieses zur Darstellung kollagener Fibrillen von Ewald und Kühne (56) angegeben war, dass die Knorpelgrundsubstanz aus echten kollagenen Fibrillen<sup>1)</sup> zusammengesetzt ist; auf diese Arbeit werde ich später im histiologischen Teile zurückkommen.

Mit Krukenbergs oben genannter Arbeit 1884, in der er wieder das Vorkommen des Glutins im Knorpelleim nachweist und die von ihm benannte Chondroitsäure, eine seiner Ansicht nach sehr variierende Substanz, näher behandelt, sind wir in die jüngste Zeit eingetreten. Dieser gehören die gewissermassen abschliessenden Arbeiten von Mörner und Schmiedeberg an, die ich im folgenden ein wenig näher besprechen werde, insofern die darin behandelten Verhältnisse von grösserer Bedeutung für die histiologischen Verhältnisse sind.

Mörners (161) erste Mitteilung erschien 1888 und enthielt als wesentliches Ergebnis die wichtige Beobachtung, dass man im Trachealknorpel erwachsener Tiere (der Ochsen, grosser Kälber) (S. 403) mittelst gewisser Färbungsmethoden eine eigentümliche Farbdifferenzierung nachweisen kann. Die den Zellen und den Zellengruppen zunächst gelegenen Teile der Grundsubstanz, die Mörner Chondrinballen benennt, färbten sich nämlich mit gewissen Farbstoffen, Methylviolett, Anilinrot

---

<sup>1)</sup> Schon viel früher hatten die Histiologen nachgewiesen oder doch wahrscheinlich gemacht, dass die Grundsubstanz des Knorpels Fibrillen enthalte, und 1874 hatte Tillmanns gezeigt, dass durch Maceration in verschiedenen Flüssigkeiten eine „fibrillierte“ Struktur des Gelenkknorpels entsteht, und die Mutmassung geäussert, der Knorpel bestehe aus Fibrillen mit dazwischenliegender Kittsubstanz (vgl. v. Ebners Arbeit über die Fibrillen des Knochens).

(Fuchsin), während die übrige Grundsubstanz (in der Form eines „Balkennetzes“ zwischen den Chondrinballen), die periphere Zone des Knorpels innerhalb des Perichondriums und letzteres selbst ungefärbt verblieben. Umgekehrt färbten sich diese Teile mit anderen Farbstoffen, Tropäolin und Indigoextrakt, die um die Knorpelzellen liegenden Partien dagegen nicht. Diese beiden Färbungen liessen sich kombinieren und gaben dann ein sehr charakteristisches Bild, z. B. bei zweifacher Färbung mit Methylviolett und Tropäolin: blaue „Chondrinballen“, gelbes „Balkennetz“. Die Chondrinballen entsprechen nach Mörner in der Hauptsache den Knorpelkapseln, erstrecken sich aber ein wenig weiter peripher und central, als diese angeben; der einzelne Chondrinballen enthält gewöhnlich mehrere, oft viele Zellengruppen. [Es ist zu bedenken, dass die Untersuchung an alten Tieren geschah, und dass die Grundsubstanz (scilicet Kapselsubstanz) zwischen den einzelnen Zellen und Zellengruppen (also die Scheidewand) sowie ein Teil der Grundsubstanz unmittelbar ausserhalb der äussersten gemeinsamen Kapsel mit zum Chondrinballen gehören (d. h. dieselbe Färbung annehmen.)] Das Balkennetz enthält niemals Zellen und berührt niemals Zellen; Mörner deutet dasselbe als dasselbe Kollagen (1889 aber als Albuminoid), das von verschiedenen Forschern chemisch in der Knorpelsubstanz nachgewiesen worden ist, teils weil es sich ebenso wie das echte Kollagen<sup>1)</sup> des Perichondriums färbt und in dieses direkt übergeht, teils weil es sich nach Isolation und auf chemischem Wege als Kollagen erwies. Er digerierte nämlich sehr dünne Schnitte des Knorpels zwei Wochen lang mit 0,1—0,2% Salzsäure bei 40° C und behandelte darauf die anscheinend unveränderten<sup>2)</sup> Schnitte mit dünner Kalilösung

<sup>1)</sup> Siehe z. B. S. 399 und 400 ff.

<sup>2)</sup> Die Schnitte waren sowohl makro- als mikroskopisch anscheinend unverändert, nur etwas weniger durchsichtig (S. 400). In seinem späteren Werke sagt er, das Kollagen löse sich zu Glutin auf. Bei meinen Versuchen damit schienen selbst die ungefärbten Schnitte nicht unverändert.

(0,1 %). Nach ganz kurzdauernder Einwirkung sind alle Chondrinballen völlig gelöst, so dass nur das Balkennetz mit den leeren Höhlen, in welchen jene gegessen haben, übrigbleibt; die Knorpelzellen schwimmen in der Flüssigkeit herum. Das Balkennetz wandelt sich im Papinschen Topfe in echtes Glutin<sup>1)</sup> um, welches alle Leim-, aber keine Chondrinreaktionen giebt. In der alkalischen Lösung der Chondrinballen erzeugen Säuren und in der neutralisierten Lösung gewisse Metallsalze Ausscheidungen, wie überhaupt Reaktionen, welche zeigen, dass man sich „die andere“ Substanz des Knorpels, Mucin (Morochowetz und v. Mering), — Hyalogen nach Krukenberg, in den Chondrinballen lokalisiert zu denken hat (S. 404).

Sein Resultat ist also folgendes: Die Knorpelgrundsubstanz ist ein Gemisch verschiedener Stoffe, die räumlich gesondert in der Grundstanz liegen und morphologisch verschiedene Bestandteile bilden, Mucin<sup>2)</sup> in den Chondrinballen, Kollagen dagegen im Balkennetze.

Da gewisse Unvollständigkeiten seiner histiologischen Resultate sich aus den von ihm angewandten Färbemethoden erklären lassen, führe ich diese in extenso an (S. 401 ff.: rein wässrige Farblösungen).

### 1. Färbung des Balkennetzes.

a) Knorpelschnitte von frischem Knorpel werden in eine konzentrierte Tropäolinlösung von 2—3 % gelegt (Tropäolin 000 Nr. 2 von Schuchardt), nach  $\frac{1}{2}$ —2 Stunden wäscht man sie in Wasser aus, bis das Balkennetz allein mit orangegelber Färbung hervortritt.

b) Zum Färben benutzt man eine konzentrierte (4—5 %) Lösung eines Indigoextraktes (von Gehe & Co., aus indigo-

---

<sup>1)</sup> S. 399. Das „Albuminoid“ erwähnt Mörner noch gar nicht.

<sup>2)</sup> Kurz gesagt, „Die andere Substanz“ — das Chondromucoid seiner anderen Arbeit.

schwefelsaurem Kali bestehend). Einwirkung einige Minuten. Sonstige Behandlung wie unter a). Das Balkennetz blau.

## 2. Färbung der Chondrinballen.

a) Man lässt die Schnitte  $\frac{1}{2}$ —2 Minuten in einer Lösung von Methylviolett liegen. Nach Abspülen mit Wasser lässt man sie in Essigsäure (10%) bleiben, bis das anfangs ebenfalls gefärbte Balkennetz sich vollständig entfärbt. Die Chondrinballen blau.

b) Farbflüssigkeit<sup>1)</sup>: eine Lösung von Anilinrot (0,15%), dieselbe Behandlung wie unter a). Die Chondrinballen rot.

c) Die Schnitte werden erst in eine schwache Lösung von Eisenchlorid getaucht, darauf nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser in eine sehr verdünnte Lösung gelben Blutlaugesalzes, wodurch ausschliesslich die Chondrinballen sich mit dem ausgeschiedenen Berlinerblau färben. Diese Färbung beruht darauf, dass die Hauptsubstanz<sup>2)</sup> der Chondrinballen mit dem Eisenchlorid eine in Wasser unlösliche Verbindung eingeht und mit-hin das Eisensalz zurückhält. Das Kollagen des Balkennetzes verhält sich dagegen ganz indifferent gegen dieses Reagens, welches deshalb durch Auswaschen mit Wasser leicht aus dem-selben entfernt wird.

## 3. Doppelfärbung.

a) Die Schnitte werden erst nach 1. a) behandelt. Nach Auswaschen mit Wasser taucht man sie einige Sekunden lang in Methylviolettlösung (0,15%), darauf einige Minuten lang in

<sup>1)</sup> Die Behandlung der Knorpelschnitte mit Fuchsin, Anilinrot, wurde schon früher (1866) von Landois (131) zur Darstellung der Zusammensetzung der Knorpelgrundsubstanz aus „Zellenterritorien“ empfohlen (S. 11). Orth giebt in seinem „Kursus der normalen Histologie“ 1886. Färbung des Knorpels mit Methylviolett an und erhält Analoges.

<sup>2)</sup> Das „Chondromucoid“, die Hauptsubstanz der Chondrinballen (siehe Mörner 1889) verbindet sich mit Eisenchlorid,

10% Essigsäure. Hierauf schnelles Entwässern in Alkohol und Aufhellen der Schnitte in Nelkenöl. — Das Balkennetz gelb, die Chondrinballen blau.

b) Man behandelt den Schnitt erst nach 1. b), darauf nach 3. a), doch mit dem Unterschied, dass man statt einer Lösung von Methylviolett eine solche von Anilinrot (0,15%) verwendet. Das Balkennetz blau, die Chondrinballen rot.

Die doppelgefärbten Schnitte werden am besten in Balsam eingeschlossen, da sie dann deutlicher werden. (Vgl. die Abbildungen Tafel I, 1889).

Auch wenn man dünne Knorpelschnitte abwechselnd in eine konzentrierte Chromsäurelösung<sup>1)</sup> (30%) taucht und mit Wasser abspült, kann man Präparate erhalten, die sich unter dem Mikroskop als nur aus dem Balkennetze bestehend erweisen, indem die Chondrinballen nebst den von denselben eingeschlossenen Zellen aufgelöst werden.

Die beschriebenen Verhältnisse des Trachealknorpels wurden an erwachsenen Tieren gefunden, dagegen findet man bei den besprochenen Färbungen und Macerationsmethoden nichts Entsprechendes im Knorpel ganz junger Tiere. Der Knorpel einwöchentlicher Kälber zeigte bei gewöhnlicher Behandlung mit Tropäolin-Methylviolett keine Gruppierung der Zellen. Die Grundsubstanz gleichmässig blau gefärbt.

Je älter die Tiere werden, um so mehr bilden sich die Differenzierungen zwischen dem Balkennetz und den Chondrinballen aus. Bei mehrmonatlichen Kälbern zeigten die den Zellengruppen zunächst gelegenen Teile der Grundsubstanz stärkere Blaufärbung als die zwischenliegenden, jedoch noch keine gelbe Farbe. Im Knorpel einer Färse war eine deutliche Sonderung der blaufarbigten Chondrinballen von einem gelben Balkennetze, nur

---

1) Vgl. Budges Methoden.

hatten die ersteren ihre völlige Grösse noch nicht erreicht. — Gelenknorpel von Fröschen zeigen ähnliche Blaufärbung<sup>1)</sup>.

Diese Arbeit von Mörner umfasst ja besonders die histio-chemischen Verhältnisse. Sein späteres Werk (163) (1889) ist wohl mehr rein chemischer Art, obschon er sich auch hier auf die soeben referierten histiologischen Verhältnisse einlässt, zum Teil mit etwas geänderter Auffassung namentlich der Bedeutung des Balkennetzes. Er bespricht wieder ausführlich seine histiologischen Färbemethoden (von 1888) und die hierdurch erschiene-  
nen Differenzierungen. hat aber den Passus, dass das Balkennetz Kollagen sei, gestrichen (und nennt es jetzt „Albuminoid“).

Der chemische Abschnitt seiner Arbeit ist sehr interessant, in diesem Zusammenhange können wir uns aber nicht näher darauf einlassen und heben nur die Umrisse hervor.

In der Grundsubstanz des Knorpels fand er vier verschiedene Substanzen:

1. Chondromucoid, 2. Chondroitsäure, 3. Kollagen und 4. Albuminoid.

Was deren chemische Zusammensetzung und Isolierung betrifft, muss ich auf das Original oder auf die physiologische Chemie (Hammarsten) (85) verweisen. Ich nenne nur einzelne chemische Data, die für das Verständnis der Einwirkung unserer Fixationen und der Farbenreaktionen eine gewisse Bedeutung haben oder solche zu haben scheinen.

I. Das Chondromucoid wird zugleich mit der freien Chondroitsäure durch Digestion mit Wasser bei 40° C und Fällung mit Salzsäure ausgezogen. In schwachen alkalischen Lösungen ist es leicht löslich. Auch bei Digestion des Knorpels mit 0,1—0,2% Salzsäure bei 40° (wo das Kollagen sich in Glutin<sup>2)</sup>)

---

1) Analoges Verhalten der anderen Knorpel wurde von Mörner und später in grossem Umfang und mittelst derselben Methoden von Wolters (1891) nachgewiesen.

2) In der früheren Arbeit wurde gesagt, die Schnitte blieben anscheinend unverändert und das Balkennetz bleibe übrig — dieses hielt er früher für Kollagen.



umwandelt) und Auswaschen des Restes mit Wasser und darauffolgender Behandlung mit 0,05—0,1 % Kalilösung löst es sich, während das Albuminoid als ein zierliches Netzwerk zurückbleibt. Einige der Eigenschaften des Chondromucoids werden angeführt. Es wird nicht durch Kochen (in alkalischer Lösung) ausgeschieden, reagiert schwach sauer, ist in Alkohol und Aqua destillata unlöslich, in schwachem Alkali aber löslich. Es ist als eine schwache Säure zu betrachten, die durch stärkere gefällt wird. Es wird gefällt durch Essigsäure, Weinsäure, Oxalsäure, wie auch durch Mineralsäuren.

Die Ausfällung mittelst Essigsäure in einer mit schwachem Alkali zubereiteten Lösung ist im Überschuss durchaus unlöslich, die Fällungen der Mineralsäuren schwer löslich. Zusatz von neutralen Salzen und von Chondroitsäure verhindert die Ausscheidung. Gerbsäure fällt nicht, und das Chondromucoid verhindert zugleich die Ausscheidung anderer Substanzen, z. B. des Leims! mit Gerbsäure. Die Quecksilberoxydulverbindungen sind unlöslich. Eisenchlorid fällt das Chondromucoid, und Zusatz von Alkali löst wieder den Bodensatz. Pikrinsäure, Quecksilberchlorid, Silbernitrat und Chlorbaryum fallen es nicht<sup>1)</sup>. Beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure giebt das Chondromucoid rotviolette Färbung, mit konzentrierter Salpetersäure die Xanthoproteinsäurereaktion mit gelben Flöckchen, mit Millons Reagens hellrote Flöckchen, mit Adamkiewics Reagens violette Flöckchen, mit Bleiacetat und Kalilösung schwarze Farbe, d. h. es enthält bleischwärenden Schwefel. Setzt man 5 % Salzsäure zu und kocht es, so giebt die Lösung bei der Trommerschen Probe Fällung von Kupferoxydul und mit Chlorbaryum reichliche Ausscheidung von Baryumsulfat, der Stoff enthält mithin einen Teil seines Schwefels in ätherschwefelsäureartiger Verbindung.

<sup>1)</sup> Selbst wenn die erwähnten Salze das isolierte Chondromucoid nicht fällen, können sie sich doch, wie unsere Fixationen zeigen, gegen das im Gewebe befindliche und gebundene sehr wohl ganz anders verhalten. (Der Verf.)

Derselbe enthält im Mittel:

12,58 % N.

47,30 % C.

6,42 % H.

2,42 = (1,72 + 0,70) % S.

31,28 % O.

Der Gehalt an N und C ist niedriger als der des Albuminstoffes und stimmt mehr mit dem der Mucine (speziell des Submaxillarismucins) überein. Das Chondromucoid ist reich an Schwefel, dessen Hauptmenge (1,72 %) sich in ätherschwefelsäureähnlicher Verbindung gebunden vorfindet; beim Kochen mit Mineralsäuren oder Alkalien wird es als Schwefelsäure abgespalten.

Die übrigen 0,70 % S sind meist als lose gebundener oder bleischwärzender Schwefel vorhanden. Durch Einwirkung von Alkalien spaltet es sich in: 1. Albuminat, 2. Chondroitsäure, 3. eine peptonähnliche Substanz, und bei starker, viertägiger Einwirkung von 5 % Kali bei 15° in 4. Schwefelkalium und Kalisulfat. — Das Albuminat stimmt mit dem von echten Eiweissstoffen herrührenden überein. Da die Chondroitsäure 6,33 % Schwefel in ätherschwefelsäureartiger Verbindung enthält, können höchstens 27 % Chondroitsäure aus dem Chondromucoid herauskommen, und diese theoretische Menge wird nie erreicht (da einige Schwefelsäure sich als Alkalisulfat abspaltet). Kocht man das Chondromucoid mit verdünnten Mineralsäuren, so spaltet es sich, der Alkaliwirkung analog, in: 1. Albuminat, 2. Chondroitsäure, 3. eine peptonähnliche Substanz (wurde nicht näher untersucht) und 4. freie Schwefelsäure. Das Albuminat enthält bleischwärzenden Schwefel. Nach all diesem erinnert das Chondromucoid stark an die Mucine; es ist unter die Proteide zu zählen, da es unter seinen Spaltungsprodukten echte Eiweissstoffe enthält. Es hat relativ niedriges N und C % und gibt beim Kochen

mit Mineralsäure eine reduzierende Substanz. Die Mucine dagegen enthalten keine Teile ihres Schwefels in Ätherschwefelsäureverbindung, und die Lösung des Chondromucoids ist dickflüssig, nicht aber zäh und fadenziehend wie die der echten Mucine.

II. Die Chondroitsäure findet sich: 1. in der Knorpelgrundsubstanz, als präformierter Bestandteil der Chondrinballen an Natrium oder Calcium gebunden, 2. und ferner wird sie neben anderen Produkten vom Chondromucoid durch Spaltung gebildet. Was deren detaillierte Darstellung betrifft, verweise ich aufs Original. Die Hauptsache ist, dass man durch Behandlung von Knorpelspänen mit 5% Kalilösung die Chondroitsäure abspaltet. Wünscht man nur die präformierte „freie“ Chondroitsäure, so extrahiert man den Knorpel mit Wasser, eventuell durch Digestion.

Die chemische Zusammensetzung der Chondroitsäure ist (S. 229): N. 3,15%, C. 35,28%, H. 4,68%, S. 6,33%, O. 50,36%. Die gesamte Schwefelmenge findet sich in ätherschwefelsäureartiger Verbindung. Hinsichtlich der Eigenschaften der Chondroitsäure ist folgendes zu bemerken: sie reagiert stark sauer und bildet mit Metallen neutrale Verbindungen. Quecksilberoxydulverbindungen und Zinnoxidulverbindungen, die basischen Bleiverbindungen, Eisenverbindungen<sup>1)</sup> und Uranverbindungen sind unlöslich. Bei allen Darstellungsmethoden ist ein Teil der Säure an Kalium gebunden (hier hat die Dialyse Bedeutung). Die Chondroitsäure löst sich in allen Verhältnissen in Wasser (NB. das Chondromucoid ist in reinem Wasser unlöslich) in eine dickflüssige, klebrige Lösung auf, die in physikalischer Beziehung an Gummi arabicum erinnert.

Beim Vorhandensein von Mineralsalz wird die Chondroitsäure mit Alkohol gefällt; ist die Menge des

---

1) Neutrales Eisenchlorid.

Mineralsalzes gar zu gering, so fällt der Alkohol fast gar nicht, man braucht dann aber nur ein wenig Kochsalz zuzusetzen.

Quecksilberchlorid und Silbernitrat fallen nicht, Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure gewöhnliche Essigsäure, Pikrinsäure und Gerbsäure fallen ebensowenig.

Nur eine einzige Säure, das mehrfache Volum der Eisessigsäure, fällt die Chondroitsäure als grobe Flöckchen, die sich nach Wasserzusatz sogleich lösen, dies kommt gewiss aber nur davon, dass Chondroitsäure in Eisessig unlöslich ist, ebenso wie in Alkohol, und Essig unter 50% hält sie gelöst. Nach Kochen mit ca. 5% Salzsäure gibt die Lösung der Chondroitsäure bei der Trommerschen Probe reichliche Ausscheidung von Kupferoxydul, ebenso wie Chlorbaryum einen Bodensatz von Baryumsulfat giebt. Die Xanthoproteinreaktion, Adamciewics und Millons Reagentien geben keine Färbung. Beim Erhitzen bis zum Verkohlen entweichen schwefelsäurehaltige Dämpfe. Die Chondroitsäure besitzt, wie früher erwähnt, eine eigentümliche Fähigkeit, die Fällung des Chondromucoids bei gewöhnlicher Temperatur zu verhindern, bei Erhitzung kann aber Fällung eintreten.

Eine mechanische Mischung der Chondroitsäure mit Glutin (S. 228), letzteres in Überschuss, wird durch mehrere Reagentien gefällt, die jedes für sich keins von beiden fällen. So die Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure und Kupfersulfat, neutrales und basisches Bleiacetat, saures Eisenchlorid und Alaun.

Eine solche Mischung ist einer Chondromucoidlösung sehr ähnlich. Die Chondroitsäure ist nicht krystallinisch (event. auftretende Krystalle sind gewöhnlich feine Gipsnadeln<sup>1)</sup>).

---

1) Solche Gipskrystalle, eventuell verbunden oder imbibiert mit einiger Chondroitinschwefelsäure, habe ich in wachsendem Epiphysenknorpel wahrgenommen, wie auch in den neugebildeten Markräumen an der Verknöcherungsgrenze, wo der Knorpel zerstört wurde.

### III. Das Kollagen.

Bekanntlich kann man reines echtes Glutin aus Knorpel erhalten.

1. Man kann dasselbe darstellen, indem man nach Behandlung des Knorpels mit  $\frac{1}{100}$  % Kali (welches die präformierte „freie“ Chondroitsäure löst) mehrere Tage hindurch bei  $40^{\circ}$  C. mit 0,2—0,3 % Salzsäure digeriert. Nach einigen Tagen hat sich ein grosser Teil des Kollagens gelöst, das Chondromucoid und das Albuminoid aber nicht<sup>1)</sup>.

2. Durch Digestion mit täglich gewechselter 0,2—0,5 % Kalilösung werden das Chondromucoid und die Chondroitsäure entfernt —, zurück bleiben das Kollagen und das Albuminoid; darauf sorgfältiges Auswaschen (Wochen hindurch mit ätherhaltigem Wasser bei  $40^{\circ}$ ), um die Alkalien fortzuschaffen, Hierauf Kochen bei  $110^{\circ}$  im Papinschen Topfe; hierdurch löst sich das Kollagen, das Albuminoid bleibt zurück (NB. man verhüte, dass eine Spur von Kali etwas des Albuminoids in Albuminat umwandle!). Das Glutin stimmt mit dem aus Knochenkollagen gewonnenen überein.

Reines Knorpelglutin enthält (ca. 16,14 % N) relativ weniger N als Knochenglutin und giebt beim Kochen mit verdünnter Salzsäure viel weniger, Kupfersulfat in alkalischer Lösung reduzierende Substanz als Knochenglutin, und dies hat seinen Grund nicht in Verunreinigung mit Chondroitsäure oder Chondromucoid (Zusatz des letzteren von 1 % setzt das N % nur um 0,1 herab).

Mörner meint deshalb, man müsse von einer Kollagengruppe (nicht von einem einzelnen Kollagen) reden, denn es gebe verschiedene Kollagene, dem analog, was man auch auf anderen Gebieten finde.

---

<sup>1)</sup> NB. meine Versuche an dergleichen digerierten Schnitten mit Färbung (siehe später).

## IV. Das Albuminoid

findet sich im Balkennetze der Grundsubstanz gelagert. Bei der Darstellung des Chondromucoids (und des Kollagens) nach Methode II wird es in Form eines zierlichen Netzwerkes gewonnen. Man kann den Knorpel auch im Papinschen Topfe kochen (bei 110—120°) und das Wasser wechseln, bis sich nichts mehr löst, das Albuminoid<sup>1)</sup> bleibt dann als eine schwammige Masse zurück, in welcher die Zellen liegen. Das Albuminoid ist in kaltem und siedendem Wasser unlöslich, gegen Säuren und Alkalien bei gewöhnlicher Temperatur relativ resistent, löst sich aber leicht in Albuminat durch Kochen mit denselben. Es enthält 15—16% N, wird bei 40° vom Magensaft langsam in Acidalbuminat und Pepton dissociiert. Es enthält bleischwärenden Schwefel, gibt beim Kochen mit Salzsäure keine reduzierende Substanz, giebt alle Farbenreaktionen der Eiweissstoffe, Xanthoprotein, Millons und Adamciewics Reaktion. Mörner weiss nicht recht, zu welcher Substanzengruppe es gehört, wenn es aber auch sehr schwer löslich ist, muss man es doch als einen Albuminstoff auffassen<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Im Original steht: das „Albuminat“, soll gewiss heissen: Albuminoid.

<sup>2)</sup> Das Albuminoid ist zunächst zu den Eiweissstoffen zu zählen, was mit den histiologischen Verhältnissen übereinstimmt, die auch darauf hindeuten, dass die pikrophilen Massen und Körnchen, welche in der Grundsubstanz als unlöslich auftreten, von der Kittsubstanz (dem Chondromucoid) herkommen. Vom Elastin unterscheidet es sich durch seinen Gehalt an Schwefel, vom Keratin durch seine Löslichkeit im Magensaft, während es sonst gegen Säuren und Alkalien ziemlich widerstandsfähig ist, was ja auch mit verschiedenen anderen Albuminoidstoffen der Fall ist. Die pikrophilen, teils pericellulären, teils interkapsularen Körnchen, die so oft beschrieben sind, z. B. von Rheiner, sind Albuminoid. Einige dieser Körnchen können sich in Elastin umwandeln und da wir im Innern des Knorpels das Elastin häufig in seinen Reaktionen maskiert finden, weil es an Chondroitinschwefelsäure gebunden ist, wäre es ja nicht unmöglich, dass das Albuminoid bei möglicher Umbildung in Elastin seinen Schwefel zur Bildung von Chondroitinschwefelsäure abgäbe.

Wegen seiner grossen Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und Alkalien ist es dem Elastin und dem Keratin ähnlich, unterscheidet sich aber vom Elastin durch einen Gehalt an bleischwärendem Schwefel und vom Keratin durch seine Löslichkeit im Magensaft.

#### V. Die Grundsubstanz als Ganzes.

Mit der Lokalisierung der verschiedenen Stoffe im Knorpel verhält es sich, wie folgt: das Chondromucoid und die Chondroitinsäure kommen ausschliesslich (?) in den Chondrinballen vor, während das Albuminoid nur im Ballennetze gefunden wird. Über die Lokalisierung des Kollagens lässt sich nichts Bestimmtes sagen, Mörner hält es aber für wahrscheinlich, dass diese Substanz sich sowohl in den Chondrinballen als im Balkennetze findet.

Über die quantitative Zusammensetzung des Knorpels als Ganzen sei folgendes hervorgehoben:

Knorpel von ausgewachsenen Ochsen enthält (N und S aus aschefreier Trockensubstanz berechnet): Asche 5,92%, Stickstoff 13,28%, total Schwefel 2,00%, Knorpel von jungen Kälbern enthält: Asche 7,29%, Stickstoff 13,38%, total Schwefel 2,08%.

Der totale Schwefelgehalt ist ca. 2,00%, hiervon finden sich 1,50% in ätherschwefelsäureartiger<sup>1)</sup> Verbindung, die 0,50% bestehen hauptsächlich aus bleischwärendem Schwefel im Chondromucoid und im Kollagen.

1. Durch Digestion des Knorpels mit Aqua destillata (gewöhnliche Temperatur oder 40°) zieht man das Chondro-

---

<sup>1)</sup> In guter Übereinstimmung mit der Tingibilität zeigt der Knorpel junger Kälber ein höheres Prozent des Schwefels in ätherschwefelsäureartiger Verbindung als der Knorpel alter Tiere. Junger Knorpel ist bekanntlich auch viel mehr basophil, d. h. enthält mehr Chondroitinschwefelsäure, mithin mehr Schwefel in ätherschwefelsäureartiger Verbindung.

mucoid und die Chondroitsäure aus; in dem konzentrierten Auszug bewirkt Alkohol eine Fällung, die 7—8% N enthält und aus Chondromucoid und Chondroitsäure im Verhältnis 1:2 besteht. 2. Durch Digestion mit verdünnter Kalilösung (0,05—0,5% bei 40°) werden das Chondromucoid und das Chondrin völlig gelöst; das Kollagen und das Albuminoid bleiben zurück. Im Papinschen Topfe löst sich auch das Kollagen; das Albuminoid bleibt zurück. 3. Digestion mit verdünnter Salzsäure, am besten von mikroskopisch dünnen Schnitten: das Kollagen verwandelt sich in Glutin und findet sich nebst der Chondroitsäure im Filtrate. Das Albuminoid und Chondromucoid finden sich im Reste. Die Digestionsflüssigkeit giebt Ausscheidung mit Gerbsäure, Sublimat und allen anderen Fällungsmitteln des Glutins. Die Chondromucoid-Reagenzien geben ebenfalls Fällungen, diese bestehen aber aus Chondromucoid + Glutin (siehe früher, S. 228). (Meisner kochte früher den Knorpel mit Salzsäure, deutete die Glutinreaktionen aber als Abspaltung des Glutins vom „Chondrin“). Wird nun mit Kali behandelt, so behält man nur das Albuminoid zurück. 4. Digestion mit Magensaft (bei 40°). Die Bestandteile lösen sich mit verschiedener Leichtigkeit. Das Albuminoid ist am schwersten löslich, die Chondrinballen lösen sich im ersten Stadium (fraktionierte Digestion). 5. Kochen mit Wasser im Papinschen Topfe. Das Kollagen wird zu Glutin; es löst sich im Verein mit dem Chondromucoid und der Chondroitsäure. Das Albuminoid bleibt zurück.

Das Chondrin oder der Knorpelleim ist also eine mechanische<sup>1)</sup> Mischung aus: **1. Chondromucoid, 2. Chondroitsäure, 3. Glutin.** Vom Knorpelleim wird angegeben, dieser werde im Gegensatz zum gewöhnlichen Leim nicht durch Gerbsäure gefällt. Dies kommt daher, weil das Chondro-

<sup>1)</sup> Vergl. Schmiedeberg, der indes bestreitet, dass es eine rein mechanische Mischung sei.



mucoid im Verein mit Leim eine Lösung giebt, die nicht durch Gerbsäure gefällt wird. Das Chondromucoid hat die Eigenschaft (siehe S. 218), dass es in hohem Grade die Fällung verschiedener Stoffe mit Gerbsäure verhindert<sup>1)</sup>. Fällt man Knorpelleim mit verdünnter Essigsäure, so kann man mikroskopisch verschiedene Arten Bodensatz unterscheiden: 1. grössere amorphe Massen, die aus Chondromucoid bestehen, 2. runde Kügelchen oder Tröpfchen = Chondroitsäure + Glutin in Verbindung<sup>2)</sup>.

Alle besprochenen Verhältnisse beziehen sich nur auf den völlig entwickelten Trachealknorpel. Der junge Knorpel zeigt, wie gesagt, keine Balkennetzstruktur, sondern hat eine homogene Grundsubstanz, die sich den Farbstoffen gegenüber wie die Chondrinballen verhält. Im Zusammenhang mit diesem morphologischen Unterschied giebt es auch einen chemischen, indem das Albuminoid<sup>3)</sup>, die dem Balkennetze des älteren Knorpels eigentümliche Substanz, im jüngeren fehlt. Die Grundsubstanz des jungen Knorpels besteht also aus drei Komponenten: 1. Chondromucoid, 2. Chondroitsäure, 3. Kollagen.

„Vom morphologischen wie chemischen Gesichtspunkte aus dürfte die gesamte Grundsubstanz des jungen Knorpels eine

---

<sup>1)</sup> Vergl. hiermit, dass Chondroitsäure im Gemisch mit Glutin die Fähigkeit besitzt von Stoffen gefällt zu werden, die sonst keine der Komponenten fallen.

<sup>2)</sup> Digeriert man Schnitte fixierten oder frischen Knorpels mit 0,2% Salzsäure, so sieht man, dass ein grosser Teil des Kollagens Glutin wird. Mikroskopisch sieht man Chondromucoid in amorphen Massen. Die Fibrillen sind angeschwollen oder zersetzt, gleichsam aus kleinen Kügelchen zusammengesetzt. Die Substanz ist noch stark basophil, d. h. das Chondromucoid ist zurückgeblieben: dieses giebt auch schwache Glutinreaktion; eine ganz geringe Menge Alkali löst alles. (Die Flüssigkeit, in der die Schnitte maceriert wurden, enthielt Glutin und Chondroitsäure).

<sup>3)</sup> Seine Auffassung hat sich also wesentlich von der früheren verändert, wo er das Albuminoid noch nicht kannte und das Netzwerk für Kollagen hielt.

mit den Chondrinballen des älteren analoge Bildung darstellen, und man könnte vielleicht das Auftreten der Chondrinballen in der Weise sich erklären, dass die ursprüngliche, junge Grundsubstanz durch das spätere Auftreten eines Albuminoidbalkennetzes auf kleinere, rundliche, voneinander abgetrennte Partien zusammengedrängt worden sei. Ausser den negativen Ergebnissen bei den Färbungsversuchen geht die Abwesenheit eines Albuminoidbalkennetzes im jungen Knorpel auch aus direkten chemischen Versuchen hervor“.

1. Man digeriert dünne Knorpelspäne mit 0,2% Salzsäure bei 40° C., um die (freie) Chondroitsäure und das Kollagen zu entfernen, und behandelt darauf mit 0,1% Kalilösung. (Vgl. S. 217—238): a) Bei jungem Knorpel. Der Rest besteht nur aus Chondromucoid und löst sich gänzlich. b) Bei altem Knorpel. Der Rest besteht aus Chondromucoid und Albuminoid; letzteres bleibt unzersetzt als das Balkennetzwerk zurück.

2. Kochen im Papinschen Topfe löst die junge Knorpelgrundsubstanz gänzlich.

3. Beim Kochen mit Millons Reagens in geeigneter Verdünnung nimmt der junge Knorpel eine helle, ziegelrote, der alte eine dunkelviolette Färbung an, die dem Albuminoid im Gegensatze zum Chondromucoid eigentümlich ist. Hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung siehe frühere Tabellen.

Mörner teilt von einem histiologisch-chemischen Gesichtspunkt aus die hyalinen Knorpel nun in zwei Gruppen: 1. Knorpel mit homogener, nur aus Chondromucoid, Chondroitsäure und Kollagen (ohne Albuminoid) bestehender Grundsubstanz, 2. Knorpel, deren Grundsubstanz teils aus Chondrinballen besteht, welche Chondromucoid, Chondroitsäure und Kollagen enthalten, teils aus einem dieselben umschliessenden Balkennetzwerke aus Albuminoid<sup>1)</sup>. Zur ersteren Gruppe rechnet

---

<sup>1)</sup> Diese Einteilung ist in histiologischer Beziehung wohl kaum als Basis zu empfehlen.

er Knorpel, die selbst in völlig ausgewachsenem Zustande bei den von ihm angegebenen Färbemethoden keine Differenzierung zeigen, zu beachten ist indes, dass die Knorpel der anderen Gruppe in nicht völlig ausgebildetem Zustande mit Gruppe Nr. 1 übereinstimmen. Zur Gruppe Nr. 2 zählt er unter den von ihm untersuchten Knorpeln den Tracheal-, Thyroid-, Cricoid- und Arytänoidknorpel ausgewachsener Rinder<sup>1)</sup>.

Der Knorpel ist also ein ziemlich kompliziertes Gewebe, zu dem Substanzen weit verschiedener Natur beitragen, die zur Mucin-, Kollagen- und Proteingruppe gehören, und ausserdem die eigentümliche Chondroitsäure.

Die andere grosse Arbeit über die Chemie des Knorpels verdanken wir Schmiedeberg (217), dessen Hauptpunkte ich im folgenden durchgehen werde. Die Arbeit war unabhängig von und gleichzeitig mit derjenigen Mörners, dessen Resultate er im grossen und ganzen bestätigt, zum Teil an gewissen Punkten erweitert. Als das Wichtigste und Interessanteste ist wohl zu bezeichnen, dass er die **Konstitutionsformeln** des Chondroitins und der Chondroitinschwefelsäure gefunden hat und die berühmte reduzierende Substanz, das Chondrosin isolierte. Ausserdem erhalten wir ein klareres Verständnis, warum die Beimischung eines einzelnen Stoffes, der Chondroitinschwefelsäure, zum Kollagen und zu Albuminstoffen teils die Reaktionen dieser Stoffe total maskieren, teils die Reaktionen anderer Stoffe simulieren kann; hieraus sind die vielen widersprechenden Angaben erklärlich, die sich in den Untersuchungen (namentlich den älteren) über die Chemie des Knorpels finden.

Als die dem Knorpel eigentliche charakteristische Substanz betrachtet Schmiedeberg den „Paarling“, an den die Schwefelsäure in Mörners Chondroitsäure als Ätherschwefelsäure

<sup>1)</sup> Wolters hat später diese Färbemethoden geprüft und auf andere Knorpel angewandt. — Mörner selbst hat 1894 die chemische Untersuchung ebenfalls über eine Menge verschiedener Knorpel ausgedehnt.

gebunden ist. Diesen „Paarling“ nennt er Chondroitin. Die Ätherschwefelsäure nennt er Chondroitinschwefelsäure, da der Name „Chondroitsäure“ früher für andere Substanzen, u. a. für die reduzierenden gebraucht wurde.

Zur Darstellung benutzte er den Nasenscheidewandknorpel des Schweines, den er der Pepsinverdauung unterwarf. Er erhielt eine Art Verbindung von Leimpepton mit Chondroitinschwefelsäure und bei unvollständiger Verdauung die Verbindung eines Theiles der Chondroitinschwefelsäure mit Glutin. Dieses Glutinchondrin ist der wesentliche Bestandteil des früheren Chondrins. Was die Isolation und die Reindarstellung der Chondroitinschwefelsäure betrifft, verweise ich auf das Original.

Mit Bezug auf die allgemeine Beschaffenheit des Chondroitins und der Chondroitinschwefelsäure ist die freie Chondroitinschwefelsäure sehr leicht spaltbar und deshalb nicht rein zu erhalten; sie spaltet sich leicht in Schwefelsäure und Chondroitin. Man ist auf die Analyse ihrer Salze, besonders der Kupfer- und der Kaliumverbindungen angewiesen. Sie verbindet sich in den verschiedensten Verhältnissen mit Metallen zu mehr oder weniger sauren und basischen Salzen und bildet nebst ihren Verbindungen ebenso wie das Chondroitin amorphe, ja kolloide Substanzen. Nach vielen Schwierigkeiten gelang es Schmiedeberg die Zusammensetzung der Chondroitinschwefelsäure und des Chondroitins auf  $N_1$  und  $C_{18}$  zu bestimmen.

Die Zusammensetzung der Chondroitinschwefelsäure ist

$$C_{18}H_{27}NSO_{17}$$

Die Zusammensetzung des Chondroitins ist:

$$C_{18}H_{27}NS^1O_{17} + H_2O = C_{18}H_{27}NO_{14} + H_2SO_4,$$

also

$$C_{18}H_{27}NO_{14}.$$


---

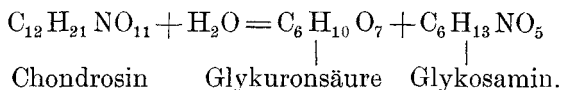
1) Dieses S ist in der gedruckten Formel vergessen, das Original hat S. 373, Zeile 7  $C_{18}H_{27}NO_{17}$ .

Auch hinsichtlich der Darstellung des Chondroitins verweise ich auf das Original. Deren Besprechung hat für unsere Zwecke kein Interesse. Unter den Eigenschaften des Chondroitins sind folgende für uns von Wichtigkeit: Es ist in Wasser in allen Verhältnissen leicht löslich, trocknet zu einer Gummi arab. ähnlichen Masse ein, erhält beim Vorhandensein von Alkalien das Kupferoxyd gelöst und reduziert dieses nicht bei Erhitzung. Das Chondroitin ist eine einbasische Säure, wässrige Lösungen reagieren ziemlich stark sauer; durch Neutralisation mit Basen und Fällung mit Alkohol erhält man die Salze. Speziell wurde das Barytsalz zur Analyse angewandt. Von Gummi unterscheidet es sich durch seinen Gehalt an Stickstoff, während es sonst dem Gummi<sup>1)</sup> sehr ähnlich ist. Landwehrs (132) tierisches Gummi, das er aus Knorpel gewann, ist offenbar eine Mischung aus Chondroitin und Chondroitinschwefelsäure, er übersah aber den Gehalt an N und S. Die reduzierende Substanz, die man durch verschiedene Behandlungen des Knorpels erhält (siehe Mörners Behandlung der Chondroitinsäure u. s. w.) und die eine grosse Rolle gespielt hat, nennt Schmiedeberg Chondrosin. Man erhält es durch Kochen einer Lösung des Chondroitins oder der Chondroitinschwefelsäure mit Schwefel- oder Salzsäure; die Spaltung geschieht langsam, am besten verwendet man zu derselben eine 4% Salpetersäure, da man dann das Chondrosin rein, ohne Nebenprodukte, erhält. Das Chondrosin ist keine Base, sondern eine Säure und eine Amidosäure; in freiem Zustande (aus Bleisalz durch  $H_2S$  dargestellt) ist es eine gummiähnliche Masse. Seine am meisten charakteristische Eigenschaft ist die, dass es in alkalischer Lösung das Kupferoxyd in der Wärme (nicht in der Kälte) ebenso schön wie der reine Trauben-

---

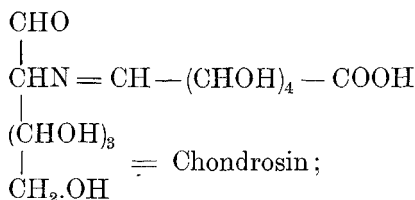
<sup>1)</sup> In diesem Zusammenhang mag daran erinnert werden, dass die Gummiarten grosse Affinität zum Fuchsin und zu anderen Anilinfarben haben.

zucker in Kupferoxydul reduziert. Es ist dextrogyr. Schmiedeberg vermochte die Konstitution des Moleküls des Chondrosins zu bestimmen:

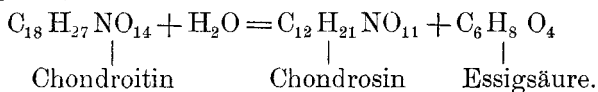


Über die weiteren Details siehe das Original.

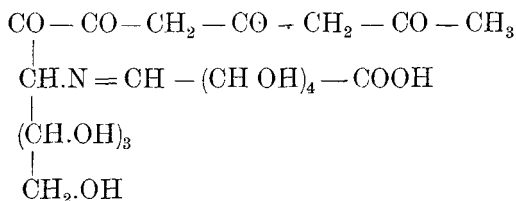
Die Molekularkonstitution ist nach Schmiedeberg:



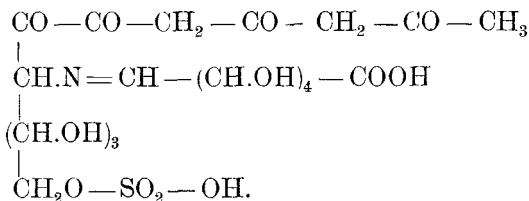
für das Chondroitin und die Chondroitinschwefelsäure erhält man (indem das Chondroitin sich mit Säuren nach folgender Formel spaltet):



Die wahrscheinlichen Konstitutionsformeln (siehe S. 394 bis 95) sind:

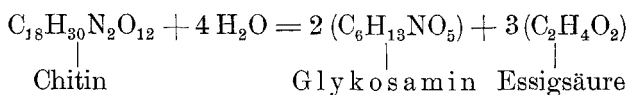


Chondroitin.



Chondroitinschwefelsäure.

Interessant ist es, dass N in diesen Kohlenhydratderivaten unter derselben Form wie im Chitin gebunden ist, nämlich:



indem das Chitin eine Acetylacetessigsäure des Glykosamins ist. Eine ähnliche Zusammensetzung wie das Chondroitin hat das Hyalin der Echinococcusblase. — „So ist durch das Glykosamin die Brücke hergestellt, die von dem Chitin der niederen Tiere zum Knorpel der höher organisierten Geschöpfe herleitet.“ (Schmiedeberg, S. 396.)

Was die Beschaffenheit der im Knorpel vorkommenden Chondroitinschwefelsäureverbindungen betrifft, so geht aus dem Vorhergehenden hervor, dass der Knorpel verschiedene Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure mit eiweissartigen Substanzen, d. h. Substanzen, welche die Biuretreaktion geben, enthält. Mörners Chondromucoid ist eine derartige Verbindung; Schmiedeberg bestätigt seine Beschreibungen.

Nach Schmiedeberg finden sich indes verschiedene Chondromucoide; er selbst stellte eines dar, dass alle „Chondromucoid“reaktion gab, jedoch keinen bleischwärenden Schwefel enthielt, was mit dem von Mörner durch Alkalibehandlung gewonnenen Chondromucoide der Fall war, das also wahrscheinlich eine Mischung mehrerer Chondromucoide ist. Wenn Mörner sagt, die im Wasserauszuge gefundene freie Chondroitinsäure sei nicht an Eiweissstoffe gebunden, so ist das bis zu einem gewissen Grade berechtigt; im Wasserauszuge findet sich aber auch eine Verbindung von Chondroitinschwefelsäure mit Albumin oder Albuminoid, die nicht mit Säuren gefällt wird. Auch nicht aus dem alkalischen Auszuge des mit Wasser und Essigsäure (8—10%) behandelten Knorpels kann man alle Chondroitin-

schwefelsäure als chondromucoidähnliche Substanz mit Salzsäure fällen. Ein Teil bleibt in der Lösung zurück und doch war dieser Teil<sup>1)</sup>, im Knorpel so fest gebunden, dass er selbst durch monatelanges Liegen in Essigsäure (8—10%) nicht aus dem Knorpel entfernt wurde.

Die Menge der Formen, unter denen die Chondroitinschwefelsäure vorzukommen scheint, ist geradezu unerschöpflich. Sie findet sich in Verbindungen als Glutinchondrin, Peptochondrin wie auch als Chondromucoid in mehreren Modifikationen; ferner als lösliche<sup>2)</sup>, Chondralbumin oder Chondralbuminoid, anscheinend auch in präformiertem Zustande. Alle diese Verbindungen lassen sich auch durch Behandlung mit dünnen Alkalien bei gewöhnlicher Temperatur aus dem Knorpel entfernen. Dies deutet darauf hin, dass die Chondroitinschwefelsäure im Knorpel nur in sehr loser, gleichsam salzähnlicher Verbindung mit eiweissartigen Stoffen zu finden ist und wahrscheinlich verhält diese Ätherschwefelsäure sich den Leim- und Eiweissstoffen gegenüber ähnlicherweise wie die Gerbsäure. Hierdurch wird eine Menge der anscheinend widerstreitenden Reaktionen erklärlich, die man am Knorpel oder an dessen Produkten, besonders dem Knorpelleim gewahrt.

1. Setzt man z. B. zu gewöhnliche Glutininlösung eine mit Essig- oder Salzsäure ziemlich stark angesäuerte Lösung chondroitenschwefelsauren Kalis, so bildet sich ein Bodensatz von Glutinchondrin, ganz wie dieses aus dem Knorpel gewonnen wurde. Dieser Stoff ist im Gegensatz zum Leim in warmem Wasser unlöslich und giebt deshalb keine Gelatinierung.

---

1) Der also nicht als Chondromucoid gefällt wird.

2) D. h. das nicht von Salzsäure aus der wässerigen Lösung als Chondromucoid gefällt.



2. Eine gelatinierende Lösung von Knorpelleim ist eine Mischung aus gewöhnlichem Leim und den chondroitinschwefelsauren Salzen der Alkalien. Diese Mischung lässt sich auch künstlich aus den Bestandteilen darstellen.

3. Metallsalze, z. B. Alaun, geben in der Chondrinlösung Bodensatz, weil sie mit den Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure unlösliche Verbindungen bilden.

4. Neutrale Salze, Natriumacetat und Kaliumacetat lösen den Säurebodensatz des Chondrins, weil sie mit den chondroitinschwefelsauren Verbindungen, saure, lösliche Doppelverbindungen, z. B. glutin-chondroitinschwefelsaures Kalium, bilden. Ebenso verhält sich die Chondroitinschwefelsäure gegen das Leimpepton und gegen die Eiweissstoffe, z. B. das Eier- und Serumalbumin.<sup>1)</sup> Diese entsprechen dann dem Chondromucoide Mörners. Die Chondroitinschwefelsäure findet sich im Knorpel als solche löslichen und unlöslichen Verbindungen mit den Leim- und Eiweissstoffen. Der Knorpel reagiert unmittelbar nach dem Tode des Tieres ziemlich stark sauer.

Man kann durch Behandlung mit sehr dünnen Alkali (Wochen hindurch) die Chondroitinschwefelsäure gänzlich aus dem Knorpel entfernen, ohne dass dieser seine Form und sein Aussehen verändert, indem die Eiweissverbindungen sich lösen und entweichen, worauf die Grundsubstanz (Morochowetz' Resultate analog) aus reinen Kollagen besteht. Das Chondrin ist eine Mischung aus Glutin und den obengenannten löslichen Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure mit Leim- und Eiweissstoffen.

Der Knochenknorpel und der echte Knorpel unterscheiden

---

<sup>1)</sup> Diese Verbindungen können künstlich aus den Bestandteilen dargestellt werden.

sich also nur durch die Chondroitinschwefelsäureverbindungen<sup>1)</sup> des letzteren voneinander.

Schmiedeberg stellte den Versuch an, Knochenknorpel (reines Kollagen) künstlich zu verknorpeln, indem er denselben lange Zeit hindurch bei gewöhnlicher Temperatur in einer Lösung angesäuerten chondroitinschwefelsauren Kalis liegen liess. Dies gelang nicht; hingegen gelang es leicht bei 40–50<sup>0</sup><sup>2)</sup>, indem wahrscheinlich eine oberflächliche Glutininierung des Kollagens eintritt, sodass sich Glutinchondrin bildet. Ein solcher, künstlich verknorpelter und gut ausgewaschener Knochen gab alle gewöhnlichen Knorpelreaktionen (mit Ausnahme der von den Eiweissstoffen herrührenden). Wenn er aus diesem Versuche aber schliesst, die Chondroitinschwefelsäure sei nicht an das kollagene Gewebe gebunden<sup>3)</sup>, sodass die erwähnten Verbindungen nur zwischen den Kollagenfibrillen eingebettet seien, so glaube ich freilich, dass dies gar keine notwendige Folgerung ist, sondern dass alles auf eine Verbindung auch des Kollagens mit der Chondroitinschwefelsäure hindeutet; dies zeigen sowohl die histiologisch-histiochemischen als auch andere Verhältnisse an<sup>4)</sup>. Die Verbindung im lebenden Gewebe lässt sich ja auf vielfache Weise hergestellt denken, z. B. durch Einwirkung oder

---

1) Morochowetz' Mučín.

2) Die Chondroitinschwefelsäure wird (nach Schmiedeberg) mit Wasser aus dem Knorpel ausgezogen, wenn dieser lange Zeit hindurch darin liegen bleibt. Dies dürfte kein Argument dagegen sein, dass dennoch zwischen der Chondroitinschwefelsäure und dem Kollagen eine leicht dissociierbare chemische Verbindung stattgefunden hat. Überdies braucht das Knorpelkollagen sich ja keineswegs wie das Knochenkollagen zu verhalten, auch brauchen die Verhältnisse im lebenden Knorpelgewebe nicht so einfach zu sein wie bei dem angeführten Versuche.

3) Weil künstliche Verknörpelung des Knochenkollagens nicht bei gewöhnlicher Temperatur gelingt.

4) Unter anderem ist das Kollagen des lebenden Knorpels ja mit der „Kittsubstanz“ verbunden und teilweise imbibiert und diese bildet gewiss eine Verbindung mit der Chondroitinschwefelsäure.

Bindung der Chondroitinschwefelsäure und des Kollagens in Statu nascendi oder durch „Fermentierung“.

Die Chondroitinsäure findet sich im Ohrknorpel und im Netz- und Bindegewebsknorpel.

Schmiedeberg meint, dass sie nicht in Verbindung mit den elastischen Fasern vorkomme<sup>1)</sup>; dass er sie nicht in Chondromen findet, hat nichts zu sagen. Wenn er hieraus schliesst, sie stehe nicht mit der morphologischen Struktur des Knorpels in Beziehung, so ist das nur bedingungsweise richtig.

Da diese Säure keinen nachweisbaren Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften des Knorpels u. s. w. hat, ist Schmiedeberg geneigt, wegen ihrer eigentümlichen chemischen Zusammensetzung anzunehmen, dass der Knorpel nur der Bildungsort dieser merkwürdigen paarigen Ätherschwefelsäure sei, die vielleicht als natürliches Adstringens (Analogie der Gerbsäure!) und als Regulator der Ernährungsprozesse in den Geweben (?) Bedeutung habe.

Die Chondroitinschwefelsäure wurde später von Lönberg (145) im Knorpel eines Rochen und einer Haifischart nachgewiesen, und 1894 untersuchte Mörner (164 u. 165) systematisch eine Menge verschiedener Knorpel, hyaline, elastische und Bindegewebsknorpel (von Kälbern) und fand in allen die Chondroitinschwefelsäure als spezifischen und konstanten Bestandteil des Knorpelgewebes. Diese Säure findet sich nur in geringen Mengen in anderen Geweben, besonders in der Intima der grossen Arterien, der Aorta und der Art. pulmonalis, wahrscheinlich in der sogenannten subendothelialen Schicht. Ebenfalls fand er die Chondroitinschwefelsäure konstant in 8 unter-

---

1) Meine Untersuchungen zeigen das Gegenteil; ich habe nachgewiesen, dass das Elastin im Netzkorpel, besonders in den tieferen Teilen, sich anders färbt als sonst; erst nach Kalibehandlung wird es demaskiert und erhält seine normale Tingibilität; dies zeigt, dass die Chondroitinschwefelsäure an das Elastin (wie an das Kollagen siehe später) gebunden ist. ~

suchten Enchondromen. Schmiedebergs an einem Enchondrom erhaltene negative Resultat erklärt Mörner (gewiss mit Recht) dadurch, dass die Chondroitinschwefelsäure durch lange dauerndes Liegen der Geschwulst in der Müllerschen Flüssigkeit oder in einem anderen Reagens aus der Geschwulst ausgezogen worden war.

Will man die Chondroitinschwefelsäure nachweisen, so muss man das Gewebe in frischem oder in alkoholfixiertem Zustande untersuchen. Das Vorhandensein der Chondroitinschwefelsäure in der Intima Aortae oder Arteriae pulm. sucht Mörner durch die Annahme zu erklären, diese Partien enthielten vielleicht kleine Mengen Knorpelgewebes.

Nach Schmiedebergs Hypothese von der wahrscheinlichen Rolle der Chondroitinschwefelsäure im Organismus, derzufolge der Knorpel vorzugsweise als Bildungsort der Chondroitinschwefelsäure zu betrachten sei, lag es nahe, derselben an anderen Orten des Organismus nachzuspüren. In geringen Mengen hat man diese Säure nun auch in anderen Organen gefunden; z. B. R. Oddi (174) und später Krawkow (123a) fanden sie in der Amyloidsubstanz; Einspritzung von Chondroitinschwefelsäureverbindungen an Hunden erregten aber keine Amyloiddegeneration. Möglicherweise rührt die gefundene Chondroitinschwefelsäure vom Knorpel her und ist nur in der Amyloidsubstanz abgelagert. Ich kann mich aber nicht auf alle hier her gehörenden Verhältnisse einlassen.

Mörners Färbemethoden wurden von M. Wolters (292) auf verschiedene Knorpel (des Menschen und des Rindes) angewandt. Seine Arbeit ist zunächst eine blosse Wiederholung von Mörners histiologischer Arbeit, und seine Resultate bringen nichts Neues. Bei der Frage nach den Saftbahnen des Knorpels werden wir diese Arbeit wieder berühren.

J. Aug. Hammar (84) hat in seiner vorzüglichen Arbeit über die Histiologie der Gelenke ebenfalls Mörners Methoden versucht und kann dessen Färbungsresultate bestätigen.

Durch Mörners und Schmiedebergs Arbeiten ist die Chemie der Knorpelgrundsubstanz in den Hauptzügen fast vollständig aufgeklärt. Es wurde festgestellt, dass im Knorpel vorhanden sind: 1. echt kollagenes Gewebe (als Hauptmasse), 2. Chondroitinschwefelsäureverbindungen, wesentlich mit Eiweissstoffen, hauptsächlich wohl in der Form von Chondromucoiden, und im ausgewachsenen Knorpel des Rindes zugleich 3. ein eigentümliches Albuminoid<sup>1)</sup>, über dessen Stellung Mörner nicht ganz im reinen ist; dasselbe nähert sich zum Teil dem Elastin und Keratin, giebt andererseits aber beim Kochen mit Säuren und Alkalien echtes Albuminat u. s. w., sodass es von ihm dennoch als ein sehr schwerlöslicher Albuminstoff aufgefasst und charakterisiert wird. Ferner wurde nachgewiesen, dass die hyaline Knorpelgrundsubstanz jedenfalls in einem frühen Stadium und in jüngeren Stadien nur Kollagen und die Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure enthält. Das Albuminoid tritt erst später hinzu.

In seiner ersten Arbeit meinte Mörner (161), wie gesagt, das Balkenwerk, das er zwischen den Chondrinballen des ausgewachsenen Knorpels darstellte, sei kollagener Natur, teils weil er es ebenso wie das echte Kollagen des Perichondriums zu färben vermochte (seine Färbung ist durchaus nicht spezifisch), teils weil das Netzwerk direkt in dieses echte leimgebende Bindegewebe übergang und mit diesem zusammenhing, und endlich weil er das Balkennetz isolierte<sup>2)</sup> und chemisch nachwies, dass es Leim giebt. Junger Knorpel hingegen zeigte kein Balkennetz nach den Färbungen oder den Macerationen.

Sehen wir vorläufig von dem jungen Knorpel ab und beschäftigen uns nur mit dem ausgewachsenen, so scheint mir

---

<sup>1)</sup> Dieses wird von Schmiedeberg gar nicht erwähnt, wahrscheinlich weil er jüngeren Knorpel untersuchte. Ob die Pepsinverdauung bewirkt hat, dass das Albuminoid S entgangen ist, kann ich nicht entscheiden.

<sup>2)</sup> l. c. 1888, S. 399 f. durch Maceration und Digestion in 0,1–0,2% Salzsäure und Kalibehandlung. Im Papinschen Topfe gab es darauf Leim.

zwischen dieser seiner Ansicht von der Kollagenatur des Balkennetzes<sup>1)</sup> des ausgewachsenen (!) Knorpels in seiner ersten Arbeit (1888) und seiner Auffassung der chemischen Natur des Balkennetzes in der grossen Arbeit (1889) einige Unübereinstimmung stattzufinden, denn in letzterer behauptet er, dasselbe bestehe aus Albuminoid, das, wohl zu beachten, mittelst desselben Verfahrens isoliert wurde, wodurch er im vorhergehenden Jahre gefunden hatte, es bestehe aus Kollagen<sup>2)</sup>. Man vergleiche l. c. 1889 S. 234 ff. mit S. 241—242. Über die Lokalisation des Kollagens kann er nichts Bestimmtes sagen, jetzt hält er es aber für wahrscheinlich, dass dasselbe sowohl in den Chondrinballen als im Balkennetze zu finden sei. Die Chondroitinschwefelsäure und das Chondromucoid sei „ausschliesslich“ (?) in den Chondrinballen, das Albuminoid dagegen allein im Ballennetze zu finden. Er ist geneigt, die junge Knorpelgrundsubstanz als eine den Chondrinballen analoge Bildung aufzufassen.

Seine histiologisch-chemische Einteilung der hyalinen Knorpel — in solche mit homogener Grundsubstanz (junge) und solche mit einer aus einem Albuminoid-Balkennetz und Chondrinballen bestehenden Grundsubstanz — möchte wohl aber keine grössere histiologische Bedeutung haben.

Seine Färbemethoden sind zu wenig fein; sie geben nur mangelhafte Differenzierungen und können nur solche geben, und sind eigentlich eher ein Fingerzeig, dass man vollkommnere Färbemethoden suchen muss. Wie leicht ersichtlich, vermögen sie kein einziges der komplizierten Verhältnisse des Knorpels zu erklären; ja nicht einmal ein Schluss wie der, dass

1) Siehe l. c. 1888, S. 404. Die Knorpelgrundsubstanz ist eine Mischung verschiedener Stoffe, die räumlich gesondert in der Grundsubstanz liegen und verschiedene (morphologische) Bestandteile bilden: das Mucin (in seiner anderen Arbeit: das Chondromucoid) in den Chondrinballen, das Kollagen aber im Ballennetze.

2) Des Albuminoids wurde hier gar nicht erwähnt.

das Albuminoidnetz allein sich anders färbe als die Chondrinballen, ist berechtigt. Bei meinen eigenen Untersuchungen hatte ich, wie gesagt, bevor ich Mörners Arbeiten kannte, in jungem Tracheal- und Gelenkknorpel sowohl kleiner als grosser Säugtiere Bilder gefunden, die den Mörnerschen analog waren, und nach allem zu urteilen, sprach die Wahrscheinlichkeit dafür, dass das Netzwerk hier kollagener Natur war, teils aus histologischen Gründen, teils weil ja chemisch sicher in der Grundsubstanz jungen Knorpels echtes Kollagen nachgewiesen worden war. Den Histiologen war es ja bereits, nachdem Tillmanns und später mehrere andere Autoren (z. B. Baber Nykamp, v. d. Stricht und in der jüngsten Zeit Hammar in seiner vortrefflichen Arbeit) nachgewiesen hatten, dass sich in der Knorpelgrundsubstanz einiger Knorpel kollagene Fibrillen in einer „Mucinsubstanz“ eingebettet finden, eine bekannte, wenn auch nur auffallend wenig hervorgehobene<sup>1)</sup> Theorie, dass die Grundsubstanz aus „Fibrillen“ bestehe, die in einer „Kittsubstanz“ eingebettet seien. Von Hammars Arbeit abgesehen war das von vielen Autoren als Fibrillen Beschriebene vielerlei: so ausser den sicherlich echten Bindegewebsfibrillen noch andere Fibrillen, z. B. Asbest, ausserdem eine ganze Menge problematischer Strukturen, wie die Budgeschen, Bubnoffschen, Fleschschens „Linien“, die „Faisceaux intercapsulaires“ (van der Stricht), die „Alkoholfasern“ (Solger, Spina) u. s. w. Diese „Strukturen“ werden bald als Fibrillen oder als Bündel von solchen, bald als „Saftkanäle“, Spaltenräume, Zellenausläufer (Heitzmann) u. s. w. gedeutet. Und wie verhielten sich die Fibrillen zu Renauts Trabekelstruktur (Formation cloisonnante), oder zu Bütschlis „Wabenstruktur“, oder wie

---

<sup>1)</sup> Ich habe hier zunächst vor Augen, dass die „homogene“ hyaline Grundsubstanz noch immer ohne weitere Angabe in sehr verbreiteten Lehrbüchern figuriert hat und nicht nur in Lehrbüchern sondern auch, sogar in der jüngsten Zeit in speziellen Arbeiten über den Knorpel.

waren sie mit der Theorie vereinbar, dass die Knorpelgrundsubstanz aus verschmolzenen Kapseln bestehe, aus Zellenterritorien, in die man mittelst gewisser chemischer Behandlungen, die anscheinend hyaline Knorpelgrundsubstanz immer sollte auflösen können? Was wurde aus den Fibrillen des Perichondriums, die man in den Knorpel eindringen sah? Was waren die Zellkapseln, und in welcher Beziehung standen sie zur Grundsubstanz und zu den Chondrinballen? Wie verhielt sich das „Albuminoidnetz“ im alten Knorpel zum Kollagen? War alles Kollagen in der Form von Fibrillen abgelagert? und wie wurde es ursprünglich abgelagert, homogen, in Körnchen oder in Fibrillen? Wie entstand das Albuminoid? Was war die „Kittsubstanz“? Kurz, es drängten sich eine Menge verschiedener Fragen auf, die man keineswegs als ins klare gebracht betrachten konnte, eine Reihe sich scheinbar widersprechender Theorien und Angaben; ferner die Gruppe von Problemen, welche die Grundsubstanz und das gegenseitige Verhältnis der Zellen berühren, wie die Bildung der Grundsubstanz, die Zellverlängerungen und die Zellenanastomosen. Eine andere Reihe von Problemen bot das Verhalten zum Bindegewebsknorpel und zum elastischen Knorpel dar. Ferner die Vorgänge bei der „Asbestbildung“, die Senilitäts-Änderungen und die Verkalkung, bzw. die endochondrale Verknöcherung.

Da nun die Chemie der Knorpelgrundsubstanz durch Mörners und Schmiedebergs vorzügliche Arbeiten in den wesentlichsten Zügen aufgeklärt war, versuchte ich es, Methoden zu finden, um die chemisch nachgewiesenen Hauptbestandteile des Knorpels histiologisch darzustellen, was mir gewisse feste Anhaltspunkte geben könnte, um möglicherweise einen Teil der mittelst der anderen Methoden gewonnenen Bilder zu beurteilen. Ich habe in grossem Umfang fast alle bisher angewandten Methoden, sowohl Fixations- als Färbe- und Macerationsmethoden u. s. w. benutzt, zugleich wandte ich aber



„spezifische“ Färbungen der beiden wichtigsten chemischen Bestandteile des Knorpels, nämlich der Chondroitinschwefelsäure wie auch der Verbindungen derselben und des Kollagens an. Diese „spezifischen“ Färbungen erwiesen sich als ein höchst wertvolles Hilfsmittel.

Unter spezifischer Färbung pflegt man in der histiologischen Technik eine Färbemethode zu verstehen, mittelst deren ein bestimmter Stoff, ein bestimmter Bestandteil des Gewebes sich „elektiv“, von den übrigen Bestandteilen des Gewebes deutlich unterschiedlich färbt. Welche Forderungen man, ideell betrachtet, an eine absolut sichere spezifische histiologische Methode, speziell Färbemethode stellen muss, hat z. B. Weigert (288) ausführlich formuliert, und es könnte gewiss nichts schaden, wenn der von ihm angelegte strenge Massstab etwas häufiger angewandt würde, als es jetzt geschieht. Es wäre dann unter vielen der sogenannten spezifischen Färbemethoden ganz bedeutend aufzuräumen. Es kann schwierig genug sein, die wirkliche Spezifität einer Färbung zu begründen oder nachzuweisen, selbst in den Fällen, wo man nur die spezifische Färbung eines gewissen ausgeformten Bestandteils verlangt und sich nicht darum bekümmert, dass ein oder mehrere andere Bestandteile des Gewebes, die sich strukturell nicht mit ersterem verwechseln lassen, sich ebenso oder mit einem anderen Farbentone färben; doppelt problematisch ist aber die Mehrzahl der sogenannten histiochemischen Farbenreaktionen auf die Gewebe, wo man eine echte oder nur scheinbar echte chemische Reaktion auf einen bestimmten Stoff unternimmt. Sehr oft fehlt es uns hier an einer direkten chemischen Kontrolle, oder können wir eine solche nicht anwenden. Im ersteren Falle mag jedoch immerhin die Struktur als Korrektiv und Probe dienen. Ich glaube deshalb, dass man recht daran thut, sich vielen sogenannten spezifischen Färbungen (z. B. vielen der Unnaschen), die nicht an einem grossen und verschiedenartigen Materiale geprüft

worden sind, äusserst skeptisch gegenüberzustellen; andererseits ist es aber ja eine bekannte Sache, dass auch die „spezifischen Färbungen“ grosse Dienste leisten können, vorausgesetzt, dass man stets die durch spezifische Färbung erreichten Resultate durch Variieren der Bedingungen und andere verfügbare histologische Methoden möglichst korrigiert, wie auch nicht zum wenigsten dadurch, ob dieselben mit den strukturellen Verhältnissen übereinstimmen. Später werde ich ausführlich auf diese Punkte zurückkommen.

In tinktorieller Beziehung ist es ja eine längst bekannte Sache, dass die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels starke Affinität zu gewissen Farbstoffen zeigt, so zum Hämatoxylin (Hämatein), in dessen gewöhnlicher Zusammensetzung Alaunhämatoxylin und in analogen Kombinationen. Ausserdem zeigt die Knorpelgrundsubstanz bei Färbung mit Safranin Orangefärbung. Letztere Angabe gilt indes nicht von allen Marken des Safranins. Orth (177) erwähnt, dass einige Teile der Knorpelzellkapseln und die zunächst gelegenen Teile älteren Rippenknorpels sich bei Färbung mit Anilinviolett hellrot, das Übrige sich bläulich<sup>1)</sup> färbte. Mörners (161) und Wolters (292) Färbungen haben wir besprochen. Von wichtigeren aus der jüngsten Zeit sind zu nennen:

Hammar's (84) (S. 828) Färbung mit Hämatoxylin-Eosin in Salzglycerin und Säurefuchsin-Malachitgrün; dieser Autor giebt an, die Anzahl der Farbenreaktionen im Knorpel („wo die Mantelschicht eine von den intermediären Zügen abweichende Färbung annimmt“) lasse sich leicht vermehren.

Deckhuysen (39) (1886) und u. a. auch R. Terrazas (265) (1896) reden von Acidophilie und Basophilie der Knorpelgrundsubstanz (beide Arbeiten kenne ich nur aus Hoffmann-Schwalbes Jahresbericht). Letzterer führt mehrere verschiedene

---

1) Das bläulich gefärbte ist das „Albumoid“.

Färbemethoden an (Z. f. wiss. Mikroskopie), auf seine durchaus unhaltbaren theoretischen Ansichten auf Grundlage offenbar unvollständiger Farbenanalysen werde ich mich nicht näher einlassen. Überhaupt sind fast alle besprochenen Doppelfärbungen der Knorpelgrundsubstanz — mit Ausnahme der Metallimprägnationen — Kombinationen saurer und basischer Farben. Nachdem Ehrlich (52 u. 53) seit 1877 die Farbenanalyse der Elemente des Blutes und der Gewebe begründet und die tinktoriellen Affinitäten der Gewebe in die 3 grossen Gruppen: Acidophilie, Basophilie und Neutrophilie (später auch Amphophilie) eingeteilt hat, ist diese Einteilung eigentlich noch jetzt die fundamentale (von den Lackfärbungen sehen wir hier ab).

Überall, wo man mit sauren oder basischen Farben färbt, kann man von Acidophilie und Basophilie reden. Dies ist inso weit nichts Neues oder Merkwürdiges; und eine Einteilung, geschweige denn weiterer theoretischer Entwicklungen auf Basis dieses Verhaltens allein hat nicht viel auf sich, denn die Begriffe sind gar zu umfassend und geräumig. Man wird hierdurch mit Recht nicht weiter kommen können als zu einer rein oberflächlichen Deskription. Das Aufzählen aller verschiedenen bisher angewandten Farben oder Kombinationen hat kein grösseres Interesse; ich prüfte sie fast alle und ausserdem eine Menge anderer an Knorpelgrundsubstanz und an anderen Geweben der verschiedensten Arten und kann mit Bezug auf den echten hyalinen Knorpel (den ich zum Ausgangspunkt nehme, da die Verhältnisse der anderen Formen sich leicht aus diesem ableiten lassen) die allgemeinen Resultate in folgende Punkte zusammenfassen:

1. Die Knorpelgrundsubstanz enthält überall eine Mischung basophiler und acidophiler Stoffe.
2. Diese können sich gegenseitig maskieren.
3. In der Regel ist im frischen oder gut fixierten Knorpel (am besten mit Alkohol, Formalin-Alkohol, Sublimat, Sublimat-

essig, der Zenkerschen Flüssigkeit) die Basophilie dominierend und erstreckt sich über das ganze Gebiet, das morphologisch betrachtet die Knorpelgrundsubstanz ist. Die Basophilie als Totalität ist am stärksten mitten im Innern des Knorpels und nimmt nach dem Perichondrium oder der Gelenkoberfläche hin mehr oder weniger ab.

4. Die Acidophilie ist gewöhnlich am meisten ausgesprochen nach aussen unter dem Perichondrium und den freien Oberflächen wie auch um die Gefässe des Knorpels. Von hier nimmt die Acidophilie ab, während die Basophilie zunimmt. In der Tiefe des Knorpels sind die acidophilen Stoffe oft total von den basophilen maskiert, so dass oft gar keine Acidophilie mehr angetroffen wird.

5. Gewisse Strecken der Grundsubstanz sind mithin basophil und acidophil zugleich, d. h. die Stoffe haben einander nicht völlig maskiert.

6. Die Basophilie, die Acidophilie und deren Verteilung in der Grundsubstanz stehen ausserdem in bestimmter Beziehung vor allen Dingen mit den „Zellen“, den Endoplasmen, des Knorpels, darauf mit verschiedenen Strukturen der Grundsubstanz, was später sämtlich zur näheren Besprechung kommen wird.

7. Durch gewisse Behandlungen der Knorpelgrundsubstanz kann man bewirken, dass diese ihre Basophilie verliert und (anscheinend ziemlich unverändert) überall stark acidophil wird, selbst da, wo vorher keine Spur der Acidophilie war. (Demaskierung des acidophilen Stoffes.)

8. Die verschiedenen sauren und basischen Farbstoffe zeigen in ihrem Verhalten gegen die Knorpelgrundsubstanz bedeutende Verschiedenheit. Nicht alle Kombinationen sind gleich gut geeignet oder brauchbar. Die Verschiedenheiten der Farbstoffe lassen sich mit Erfolg zu einer feineren Analyse benützen.

9. Die Knorpelgrundsubstanz färbt sich in der nicht zu starken wässerigen Lösung gewisser basischer Farbstoffe meta-

chromatisch (vgl. gewisse Safraninfärbungen); die wichtigsten sind: Methylviolett, Thionin, Toluidinblau, polychromes Methylenblau (oder eine Lösung von Methylenblau, die „Methylenrot“<sup>1)</sup> enthält), in diesen färbt sie sich nämlich mehr oder weniger rot, bzw. purpurn, oft der Metachromasie der Mucine analog. Durch gewisse Massregeln lässt die Metachromasie sich aufheben. (Ich werde an anderem Orte über die mutmasslichen Ursachen der Metachromasie berichten.)<sup>2)</sup>

Fragt man nun, welche Stoffe die Acidophilie und die Basophilie bedingen, so kenne ich nur zwei Autoren, die den ernstlichen, obschon unvollständigen Versuch gemacht haben, diese Frage zu beantworten. Der eine ist Mörner (161 u. 162) (1888–1889), der andere ist J. August Hammar (84). Wie aus dem Referate der Mörnerschen Arbeiten und histiologischen Ansichten hervorgeht, ist die Basophilie des Knorpels seiner Meinung nach dem Chondromucoid zu verdanken, da er ja gerade die Lokalisation seiner basischen Farbe die Lokalisation des Chondromucoids angeben lässt. Die Acidophilie rührt von seinem Albuminoid — oder, wie er in seiner ersten Publikation meinte, Kollagen-Balkennetze her. Dagegen fand er keine entsprechende Acidophilie im jungen, echt hyalinen Knorpel; wie wir später sehen werden, findet sie sich aber auch eben hier. Seine Angaben beziehen sich hauptsächlich auf den ausgewachsenen Trachealknorpel.

Mörners Beweise für diese seine histiologische Ansicht sind eigentlich ziemlich schwach und, wie früher nachgewiesen, meines Ermessens nicht ganz ohne Widersprüche an einigen Punkten. Eine genauere histiologische Farbanalyse hat er, soweit ersichtlich, nicht versucht; hauptsächlich betrachtete er den Knorpel

---

<sup>1)</sup> Ist ja eigentlich Methylenviolett.

<sup>2)</sup> Gesah in einem Vortrage: „Die wissenschaftliche Grundlage der mikroskopischen Färbungen“ in der biologischen Gesellschaft Kopenhagens. 18. XII 1903

aber ja auch von einem physiologisch-chemischen Gesichtspunkte aus. Weit ausführlicher und besser begründet, unzweifelhaft auch richtig, sind Hammar's (84) Ansichten von der histologischen und chemischen Konstitution der Knorpelgrundsubstanz. Es scheint mir, dass Hammar's Arbeit die beste in der jüngsten Zeit über die Histologie des Knorpel erschienen ist. Ich werde häufig auf dieselbe zurückkommen. Hier referiere ich nur in Kürze seine Resultate hinsichtlich der Knorpelgrundsubstanz. Die Untersuchungen wurden an Gelenknorpeln von Menschen, wesentlich erwachsenen Individuen angestellt, an einem Knorpel, den ich als „älteren oder alten hyalinen Knorpel“ bezeichne<sup>1)</sup>, fix. in L. Mülleri und (nicht zu starkem) Spiritus.

Hammar teilt die Grundsubstanz in: 1. die differenzierte, die durch und durch fibrilliert ist, 2. die formlose (d. h. nicht differenzierte). Den Zellen oder Zellengruppen zunächst — (vorläufig ist nur von der Region des Gelenknorpels die Rede, die man die Region der langgestreckten Zellengruppen nennt) — liegt der formlose Teil der Grundsubstanz, in welchem er

---

1) Unter jungem hyalinen Knorpel verstehe ich nämlich Knorpel, der ohne besondere Behandlung nur Zellen, Endoplasmen, mit oder ohne Kapseln, und eine entweder ganz hyaline, also anscheinend amorphe, oder nur fein geprückelte oder fibrillierte Grundsubstanz zeigt. Andere Strukturen oder Strukturelemente sind nur sehr spärlich und wenig hervortretend zu finden, wenn sie überhaupt vorkommen. Kurz, es ist der Typus des hyalinen Knorpels, wie dieser in den Lehrbüchern, z. B. von Ranvier, Renaut, Koelliker u. s. w. geschildert wird. Beisp.: Knorpel des Caput femoris des Frosches, Knorpel fötalen Ursprungs. Derselbe findet sich besonders bei jungen Tieren. Unter altem Knorpel verstehe ich Knorpel, in dessen „Zellen“ und Grundsubstanz die verschiedenartigen Strukturen auftreten (stark geschichtete Kapseln, Zellen-degenerationen, Körnchen- und Asbest-Entwicklung, Verkalkung u. s. w.), wie wir ihn typisch im Rippenknorpel 30—40-jähriger oder noch jüngerer Menschen antreffen. Es finden sich nun alle möglichen Übergänge aus dem jungen in den alten Knorpel, ja wir sehen, dass die Änderungen, die für den „alten“ Knorpel so häufig und charakteristisch sind, gelegentlich konstant in jungem (sogar fötalem) Knorpel, nur weit weniger hervortretend, gefunden werden. Dieselben sind nämlich keineswegs an und für sich Seneszenzerscheinungen, nur ihr massenhaftes Auftreten und ihre Persistenz ist eine Alterserscheinung.

weder Fibrillen noch ähnliches zu entdecken vermag — höchstens spärliche Körnchen oder Stückchen von Zellausläufern; darauf kommt um jede Zellgruppe oder isoliert liegende Zelle ein Teil der differenzierten Grundsubstanz, den er die „Mantelschicht“ nennt. Diese besteht, wie an den dünnen Schnitten, am besten nach Färbung mit Säurefuchsin-Malachitgrün zu sehen ist, aus roten, äusserst feinen, dichtliegenden, jedoch völlig deutlichen Fibrillen, die einander ziemlich parallel und ziemlich gerade verlaufen (keine Andeutung fascikulärer Anordnung); dieselben liegen in eine interfibrilläre Substanz eingebettet, welche sie zusammenzukitten scheint. Das übrige der differenzierten Grundsubstanz, das also ausserhalb der Zellengruppen mit ihrer formlosen Grundsubstanz und ihrer „Mantelschicht“ liegt, nennt er die „intermediären Züge“; diese bestehen ebenso wie die Mantelschicht aus denselben, in eine Kittsubstanz eingebetteten Fibrillen. An Präparaten, die mit Säurefuchsin-Malachitgrün<sup>1)</sup> gefärbt wurden, werden die Zellen (nebst Ausläufern) rot, die formlose Grundsubstanz grasgrün, die Mantelschicht grauviolett, die intermediären Züge rot<sup>2)</sup>. In der Mantelschicht liegen die roten Fibrillen in einer grasgrünen, interfibrillären Substanz, die in den zentralen Partien der Mantelschicht dieselbe Farbe hat wie die formlose Grundsubstanz. Nirgends gewahrte er, dass diese beiden Substanzen verschiedene Tingibilität zeigten. Mörners Methoden zeigen dasselbe. In den intermediären Zügen bemerkt er dagegen zwischen den roten Fibrillen einen nur ein wenig blässeren roten Farbenton, weshalb die Fibrillen hier nicht so distinkt hervortreten. Die Farbendifferenz zwischen den intermediären Zügen und der Mantelschicht rührt also von verschiedener Tingibilität der interfibrillären Substanz der differenzierten Grundsubstanz her. Mit Hämatoxylin,

1) Diese Färbemethode wird angeführt l. c. S. 828.

2) Vergl. l. c. Taf. XXXIV, Fig. 3.

Delafields (Eosin und Differenzierung in Salzglycerin) färbt sich die formlose Grundsubstanz und die Mantelschicht blau, die intermediären Züge gar nicht oder nur schwach.

Ich kann Hammars tinktoriellen Resultate folgendermassen zusammenfassen: Die formlose Grundsubstanz und die interfibrilläre Kittsubstanz der Mantelschicht sind stärker basophil als die der intermediären Züge; wir werden später sehen, dass es sich hier in tinktorieller Beziehung zum Teil um quantitative Unterschiede handelt.

Hammar unternahm ausserdem Macerations- und Digestionsversuche an Gelenknorpeln, nämlich mit 10% Kochsalzlösung und mit übermangansaurem Kali (Tillmanns), Kalk- und Barytwasser (Baber<sup>1</sup>), 1% Chromsäure (Van der Stricht), 5% neutr. chr. Ammoniak (Nykamp), ferner Trypsindigestion<sup>2</sup>) (Ewald, Kühne, Tillmanns).

Alle diese Reagentien gaben dem Knorpel schneller oder langsamer ein fibrilläres Aussehen, nur das chromsaure Ammoniak gab undeutliche Bilder. Alle erwähnten Reagentien wirken mehr oder weniger zersetzend auf die interfibrilläre Kittsubstanz. Ausserdem ändert sich aber die Tingibilität, z. B. für Hämatoxylin. Anfangs wird die Tingibilität (die Basophilie) nur abgeschwächt; darauf verschwindet sie gänzlich, erst in der Mantelschicht, dann in der formlosen Grundsubstanz, während die Färbung der intermediären Züge, die normal ja nur schwach ist, erst etwas später verschwindet<sup>3</sup>). Zuletzt hat

1) Die von Baber selbst im Knorpel gefundenen „Fibrillen“ waren wohl keine echten Fibrillen. Siehe hierüber später meine Bemerkungen über Pseudostrukturen.

2) Siehe S. 831. Glycerinextrakt des Kälberpankreas 6 ccm; 2 ccm 5% Sodalösung und 12 ccm Aqua destill.

3) S. 832 sagt er: „Die intermediären Züge sind im letzteren Falle die am stärksten blau (Htx.) gefärbten Teile des Schnittes. Die Farbverteilung in einem solchen Schnitt ist also derjenigen der Kontrollpräparate gerade entgegengesetzt.“ Gerade ein ähnliches Verhalten konnte ich an dem Laryngo-Trachealknorpel konstatieren; siehe später.



der Schnitt seine eigentümliche Tingibilität für Hämatoxylin gänzlich eingebüsst. Bei unvollständiger Maceration oder Digestion kann man noch formlose Grundsubstanz, bzw. interfibrilläre Substanz in den Schnitten nachweisen, schliesslich ist sie aber ganz verschwunden und die Zellreste liegen nun in weiten Hohlräumen, die von fibrillärer Substanz direkt begrenzt sind. Untersucht man den Schnitt in verschiedenen Stadien der Behandlung, so findet man, dass die formlose Grundsubstanz, bevor sie sich gänzlich auflöst, ihre Tingibilität (für Hämatoxylin) verliert. Sie kann teilweise und mit homogenem Aussehen zu einem Zeitpunkte vorhanden sein, wenn die Fibrillen der differenzierten Grundsubstanz bereits deutlich hervortreten.<sup>1)</sup> Dieselben Reagentien, welche die Knorpelfibrillen durch Zersetzung der interfibrillären Substanz freimachen (darstellen), können auch die formlose Grundsubstanz des Knorpels zersetzen. Hammar ist zu der Ansicht geneigt, dass eine und dieselbe Substanz die Zellen als formlose Grundsubstanz umgebe und sich als interfibrilläre Kittsubstanz mit allmählich modifizierter Tingibilität zwischen die Fibrillen hinaus fortsetze (S. 834). Nicht nur im hyalinen Gelenkknorpel des Menschen, sondern auch im Tierknorpel findet er allenfalls eine Andeutung analoger Verhältnisse, nämlich das gleichzeitige Vorkommen einer formlosen und einer fibrillär differenzierten Grundsubstanz. Neumanns (168 u. 169) pericelluläre Substanz hält Hammar für der formlosen Grundsubstanz entsprechend.

Hammar prüfte ferner den Thyroidea- und den Trachealknorpel des Rindes und bestätigt Mörners Angaben über diesen. Bei der Säurefuchsin-Malachitgrün-Methode wie auch bei Maceration oder Trypsindigestion zeigt das Trabekelwerk Knorpelfibrillen, während die Substanz der Chondrinballen

---

<sup>1)</sup> Hervorgehoben von mir.

strukturlos bleibt. Die formlose Substanz und die differenzierte Substanz des Gelenknorpels zeigen bei Mörners Färbungen, bei Hämatroxylin-Eosin, bei Goldfärbung u. s. w. Verhältnisse, die mit denen der Chondrinballen und des Trabekelwerkes übereinstimmen<sup>1)</sup>. Mit übermangansaurem Kali und mit Trypsinverdauung gelang die Zersetzung der Chondrinballen ohne weiteres. Die anderen Flüssigkeiten entzogen denselben allerdings mehr oder weniger vollständig die Tingibilität für Hämatroxylin, vermochten aber nicht sie zu entfernen<sup>2)</sup>, diese Differenz scheint aber nur eine quantitative zu sein und darauf zu beruhen, dass die Chondrinballen des Trachealknorpels mehr schwerlöslich sind als die formlose Grundsubstanz des Gelenknorpels. Bei 25% Chromsäure (Mörner) zersetzen sich die Chondrinballen (unter dem Mikroskop), ebenfalls bei Digestion in der Wärme (40° C.) mit Barytwasser und mit 1/2% Kalilösung. Dagegen vermochte 10% Kochsalzlösung selbst in der Wärme und bei 2wöchiger Einwirkung die Chondrinballen nicht zu zersetzen, sondern nur die Tingibilität für Hämatroxylin herabzusetzen<sup>3)</sup>.

1) Seine Äusserungen hierüber lauten so (S. 837): . . . „fand ich auch, dass die formlose und die differenzierte Grundsubstanz im Gelenknorpel eine mit derjenigen der Chondrinballen resp. des Trabekelwerkes übereinstimmende Beziehung aufweisen.“

2) Dies bestätigt noch ferner die Richtigkeit meiner Annahme, dass die Chondroitinschwefelsäure die Basophilie bedingt, und dass die Chondroitinschwefelsäure an verschiedene Grundlage gebunden ist, gewöhnlich als Chondromucoid an Albuminstoffe, auch aber an Albuminoidstoffe, Kollagen und weniger lösliche Albuminstoffe. Vergl. meine pericellularen, albuminoiden Körnchen, deren einige Chondroitinschwefelsäure enthalten, andere aber wohl nicht, und die sich nur mit Methylviolett-Salzglycerin blau färben. Ich habe bei meinen Färbungen nachweisen können, dass viele der „Chondrinballen“ sehr feine kollagene Fibrillen enthielten, die sich aber nicht so stark färbten wie die größeren Fibrillen des Trabekelwerks. (Siehe später.)

3) Dieses deutet indes eben darauf hin, dass diese beiden verschiedenartigen Stoffe nicht nur wegen des (geringeren) Grades der Löslichkeit verschieden sind, sondern dass der Unterschied zugleich ein qualitativer ist, dass wir bei den Chondrinballen im alten Knorpel mit einem schwerer löslichen Albumin-, bzw. Albuminoidstoffe zu thun haben als in dem jungen. Dass die Basophilie herabgesetzt wird, will heissen, dass die Chondroitinschwefelsäure

In der Region, die man die Region der runden Zellengruppen im Knorpel nennt, reduziert sich nach Hammar der Umfang der Mantelschicht; zuletzt verschwindet diese gänzlich, wenn man sich der Oberfläche nähert, ebenso wie auch die formlose Grundsubstanz, während gleichzeitig die Zellen reicher an Protoplasma werden. Die Fibrillierung dieser Region des Knorpels lässt sich an gewöhnlichen Schnitten nur ziemlich schwer konstatieren (Hammar, S. 842), der Knorpel hat ein mehr homogenes Aussehen. Bei Doppelfärbung mit Säurefuchsin und Malachitgrün heben die Fibrillen sich nur wenig hervor, indem diese Region und überhaupt der ganze oberflächliche Teil des Knorpels eine fast diffuse rote Färbung annimmt.

An Macerationspräparaten war er auch nur wenig imstande, die näheren Verhältnisse des Übergangs der Fibrillen aus der senkrechten Richtung in der Tiefe in der wagerechten in den der Oberfläche zunächst gelegenen Schichten zu studieren. Dass es einen solchen Übergang giebt, scheint ihm (wie auch van der Stricht) ziemlich unzweifelhaft.

In der Region der platten Zellengruppen und Zellen tritt wieder, den Zellen zunächst, eine homogene Masse auf, der formlosen Grundsubstanz analog, wohl aber kaum von derselben Natur wie letztere<sup>1)</sup>. Sie färbt sich u. a. nicht blau mit

ausgezogen wird, jedoch nicht so leicht wie aus jüngerem Knorpel. Ich selbst habe oft dieses Verhalten konstatieren können, zugleich auch (sowohl an unfixierten als fixierten Knorpeln), dass die Basophilie sich, selbst bei dünnen Alkalien (Kali, Natron), in einigen der „Chondrinballen“ des alten Knorpels oft erstaunlich lange erhält. Die Chondroitinsäure ist hier sehr fest an einen anderen (albuminoidähnlichen) Stoff gebunden, was die grosse Schwerlöslichkeit der Chondrinballen ja andeutet. In den intermediären Zügen und zwischen den Gruppen fand ich dagegen die Basophilie schneller verschwindend. Der alte Knorpel zeigt überhaupt verschiedene abweichende Eigenschaften.

<sup>1)</sup> Diese Kapselsubstanz betrachte ich wie auch den übrigen Teil der „Grundsubstanz“ als ein Ektoplasma, das entweder geringere Basophilie besitzt, sodass Hammar bei seinen eigenen und Mörners Methoden diese Basophilie nicht gewahrte (Methylenblau wandte er nicht an), oder auch gar keine. In beiden Fällen ist die Acidophilie hervortretend. Seine Fixierungen in L. Mülleri brachten gewiss in den mehr oberflächlichen

Hämatoxylin-Eosin, sondern rot, und mit derselben Färbung wie die intermediären Züge, (mit Mörners Färbung und Säurefuchsin-Malachitgrün). Gegen die Macerationsmittel verhalten diese „Kapselsubstanzen“ sich von der formlosen Grundsubstanz der tiefen Schichten abweichend: Sie lösen sich nämlich nicht in Kalk- und Barytwasser oder 10% NaCl oder 5% Chromammoniak; sehr langsam, wenn überhaupt, mit übermangansaurem Kali (das die formlose Grundsubstanz leicht auflöst); Trysin dagegen löst beide Substanzen gleich schnell.

Hammar bezeichnet letztere schwer lösliche Substanz, welche hier die Zellen umgibt, als Kapselsubstanz. Sonst will er die Benennung „Knorpelkapsel“ nicht für die formlose Grundsubstanz oder die Chondrinballen gebrauchen (vgl. S. 838). Für die „eingekapselten“ Zellen dieser Region gebraucht er aber diese Benennung in demselben Sinne, in welchem er sie von den eingekapselten, oft verästelten „Knorpelzellen“ der Gelenkmembran gebraucht (l. c. I. S. 287 f.). In beiden Fällen hält er diese „Kapselsubstanz“ für eine und dieselbe. In der Region der platten Zellen findet sich die Kapsel um die meisten nicht um alle Zellen als eine rote Linie (bei Eosin). Diese rote Linie nimmt auf Kosten der Zelle zu<sup>1)</sup>, zuweilen findet man

---

Knorpelschichten die existierende, indes schwächere Basophilie zum Verschwinden, sodass sie nicht nachweisbar war. Die Acidophilie, Säurefuchsin gegenüber, ist bei meiner Färbung nun keineswegs stark vorhanden (wohl aber bei Hammars); sie werden aber entweder gelb oder orange mit Säurefuchsin-Pikrin („Pikrophilie“) und rot mit Eosin. Die Eosinfärbung kann übrigens sehr wohl hier angetroffen werden, selbst wenn diese Bildungen zugleich ziemlich stark basophil sind, d. h. die Chondroitinschwefelsäure nimmt die basischen Stoffe auf, und Eosinfärbung bedeutet nicht, dass die Basophilie fehlt. Dass die pikrophile Kapselsubstanz in vielen Fällen „albumoid“ ist, kann ich deren Morphologie und Reaktionen zufolge nicht bezweifeln.

1) Die Zelle kann ganz verschwinden, indem sie sich in diese Kapselsubstanz, die schliesslich, wie auch Hammar sagt, die ganze Höhlung ausfüllen kann, umbildet oder dieselbe ablagert. Seine Schilderung der eingekapselten, verästelten Zellen, deren Kapsel sich einseitig oder universell ver-

scheinbar leere Knorpelzellen-Höhlungen, die sich indes bei Eosinfärbung als ganz mit einer rotfarbigen homogenen Masse gefüllt und von demselben Aussehen wie die Kapsel erweisen. Hammar fand verästelte Zellen mit Kapseln längs der Verästelungen; die Kapselausläufer können ebenfalls solid sein und wenige Körnchen enthalten; in anderen ist die Zelle ganz verschwunden. Die Zellen überall im Gelenkknorpel zeigten sehr häufig reichliche gröbere oder feinere Zellausläufer. Im Knorpel eines 13jährigen Kindes war die Zellverästelung, namentlich in den tieferen Teilen entweder viel geringer oder fehlte zum Teil gänzlich. [NB.]

Soweit ich weiss, äussert Hammar sich nirgends bestimmter über die chemische Natur der Stoffe, welche die Basophilie (und die Acidophilie) bedingen; nach allem zu schliessen muss ich indes annehmen, dass er hinsichtlich der Basophilie, obschon er diesen Begriff nirgends ausdrücklich nennt, mit Mörner einig ist. Dagegen ist es deutlich, dass Hammars und Mörners Befunde rücksichtlich der acidophilen Substanz (dieser Name wird von den beiden Autoren freilich nicht gebraucht) nicht ganz übereinstimmend sein können. Denn mit Hammars Nachweis der feineren Zusammensetzung des „Balkennetzes“ — Trabekelwerkes — aus Fibrillen mit zwischenliegender Kittsubstanz im Gelenkknorpel (und ebenfalls im Trachealknorpel) lassen sich Mörners histologische Ansichten und Angaben nur bedingungsweise in Harmonie bringen.

Meine eigenen Bemühungen richteten sich, wie früher angeführt, darauf, Färbungen zu finden, die für die Chondroitin-

---

dickt, wo die Zellausläufer schwinden, während die verästelte Kapsel mit solideren Ausläufern zurückbleibt u. s. w., stimmt ganz mit den Vorgängen überein, die ich im Discus intervertebralis und an anderen Orten gefunden habe. Ein neuer Beweis für die von mir aufgestellte Ansicht vom „Ektoplasma“ (vergl. Hammar l. c. S. 848—849).

schwefelsäure und das Kollagen hinlänglich spezifisch wären, um mittelst derselben deren Verteilung und Verbreitung im Knorpel verfolgen zu können.

Es wurde mir nun beim Studium des Auftretens der Basophilie in der Knorpelgrundsubstanz klar, dass alles dafür sprach, diese könne nicht von einem geformten Bestandteile herrühren, sondern sei einem Stoffe zu verdanken, der die Knorpelgrundsubstanz „imbibiere“ und derselben die basophilen Eigenschaften mitteile. Da die Basophilie stets oder doch gewöhnlich in der Mitte des Knorpels am stärksten auftritt und mehr oder minder allmählich nach dem Perichondrium hin abnimmt (als Typus benutze ich hier einen der mit Perichondrium bekleideten Knorpel; Beisp. den Tracheal- oder Larynxknorpel eines jüngeren Tieres), wie auch in der Umgegend der Gefässkanäle des Knorpels, und da um jede Knorpelzelle oder Knorpelzellengruppe ein Maximum der Basophilie fast konstant angetroffen wird, die dann an Intensität abnimmt, wenn wir uns von der Zelle entfernen, so könnte dies allenfalls u. a. (nach Schmiedebergs Ansicht von der Rolle des Knorpels als Bildungsort der Chondroitinschwefelsäure) so gedeutet werden, dass die basophile Substanz von den Zellen oder unter deren Einfluss gebildet werde<sup>1)</sup> und sich am stärksten um diese und in der Mitte des Knorpels anhäufe, wo sie nicht so leicht wegdiffundieren oder entfernt werden könne, wie in den Schichten unter dem Perichondrium, unter den freien Gelenkoberflächen, um die Gefässkanäle der Knorpel u. s. w.

Wenn ich alkoholfixierte Knorpelschnitte  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang mit Säuren, 2% Schwefelsäure, 1% Salzsäure u. s. w. behandelte, so bemerkte ich, dass die basischen Färbungen gleichsam mehr intensiv wurden, besonders nahm die Tingibilität ver-

1) Selbstverständlich ist mir die Möglichkeit nicht entgangen, dass die Chondroitinschwefelsäure sich auch sehr wohl ausserhalb der Zellen, eventuell von diesen unabhängig oder abhängig, bilden könnte.

hältnismässig am stärksten in den Gegenden zu, die schon in normalem Zustande relativ starke Basophilie zeigten<sup>1)</sup>.

Da ferner die Affinität des Knorpels zu basischen Farbstoffen durchweg bedeutend grösser war als die des Kernchromatins, dessen Basophilie wohl von der Nukleinsäure herrührt), und da der Gedanke a priori eine gewisse Wahrscheinlichkeit für sich hat, das eine so entschiedene Affinität eines Gewebes zu exquisit basischen Farbstoffen von dem Vorhandensein einer Säure im Gewebe, die Färbung mithin wahrscheinlich von einer Art Salzbildung herrührt, und da ferner Mörner und Schmiedberg ja eben im Knorpel das Vorhandensein reichlicher Chondroitinschwefelsäure nachgewiesen haben, und da keiner der anderen chemischen Hauptbestandteile des Knorpels, weder Albumin (Albumoid) noch Kollagen, besonders starke basophile Eigenschaften besitzt, so lag mir der Schluss nahe: Die Basophilie der Knorpelgrundsubstanz ist wahrscheinlich dem Vorhandensein der Chondroitinschwefelsäure zu verdanken.

Dass das Vorhandensein der Chondroitinschwefelsäure das Entscheidende ist, zeigen einige Versuche. Behandelt man z. B. fixierte<sup>2)</sup> oder frische Knorpelschnitte mit Rea-

---

1) Dies kann darauf hinweisen, dass die Chondroitinschwefelsäure durch die Säurebehandlung aus ihren gewissen Verbindungen befreit würde und deshalb den basischen Farbstoff intensiver als das umgebende Gewebe zu fixieren vermöchte; dass die Basophilie verhältnismässig am stärksten zunahm, wo sie schon vorher stark war, kann daher kommen, dass hier auch relativ am meisten gebundene Chondroitinschwefelsäure aus ihren Verbindungen zu befreien wäre, dass diese hier ihre grösste Dichte hätte.

2) Hierzu bedient man sich am besten des Alkohols oder des Formol-Alkohols, es lassen sich aber auch andere Fixierungsmittel, z. B. Sublimatessig, Sublimat, Müllers Flüss. u. s. w. gebrauchen. Osmiumfixierung eignet sich hierzu nicht so gut. Viele unserer wässerigen Fixierungsmittel, z. B. L. Müllers, Chromsalze, Chromsäurelösung, wässriges Formol u. s. w. ziehen einen Teil der basophilen Substanz aus. In vielen Fällen ist diese aber so reichlich vorhanden, dass die Verminderung bei gewöhnlichem Gebrauch nicht auffällt. Ganze Stücke leiden weniger, während Schnitte (namentlich dünne)

gentien, die der Erfahrung gemäss die Chondroitinschwefelsäure oder das Chondromucoid ausziehen oder auch nur die erstere von ihren, wie Schmiedeberg sagt, losen, salzigen Verbindungen mit Albuminstoffen (und Albuminoiden, Kollagen) abspalten, so verlieren die Knorpelschnitte ihre Basophilie durchaus. Behandelt man die gut fixierten Schnitte 1—2—3 Stunden hindurch oder länger mit schwacher wässriger Kali- oder Natronlösung  $\frac{1}{2}$ —1—2—3 $\frac{0}{0}$ , und wächst sie in Wasser aus, so kann man einen Zeitpunkt finden, wo der Knorpelschnitt in ungefärbtem Zustande unter dem Mikroskop ganz unverändert aussieht<sup>1)</sup>, wo nämlich die Kittsubstanz, welche die Albuminstoffe im Chondromucoid enthält, zwar ihre Basophilie verloren hat, jedoch entweder gar nicht oder nur in geringem Masse aufgelöst ist. Auch durch sehr langes Liegenlassen in Wasser (mit ein wenig Thymol versetzt) kann man die Basophilie zum Verschwinden bringen. Sehr hübsch beobachtete ich seinerzeit den Verlust der Basophilie an einigen Knorpelschnitten, die mehrere Jahre lang in verdünntem Alkohol<sup>2)</sup>, ca. 45 $\frac{0}{0}$ , aufbewahrt worden waren. Diese Schnitte waren nämlich in ungefärbtem Zustande anscheinend ganz unverändert, sahen durchaus nicht maceriert

---

weit mehr ausgesetzt sind. Kommt es darauf an, die Basophilie des Knorpels in dessen ganzem Umfang zu konstatieren, so benutzt man am besten absoluten Alkohol, Formol-Alkohol mit Überführung in starken Alkohol, auch Sublimat-Eisessig (mit unmittelbarer Überführung in Alkohol und gründlichem Auswaschen in diesem, nicht aber Jodbehandlung).

1) Kein bedeutendes Aufquellen u. s. w.; nach dem Auswaschen in Wasser kann man eventuell den Schnitt behutsam mit Alkohol in steigender Konzentration behandeln.

2) Es ist zu betonen, dass dieser ganz schwach alkalisch war, was sich nicht mittelst Lackmuspapiers nachweisen liess; nach Zusatz einer äusserst geringen Menge neutralen Orceins, dessen Ton bekanntlich rotviolett ist, wurde dieser in einen mehr blavioletten geändert, was durch schwache Alkalien geschieht. Selbstverständlich hat der Alkohol dazu beigetragen, dass die Albuminstoffe der Grundsubstanz (und des Chondromucoids) sich so gut erhalten hatten.



aus, zeigten ungefärbt keine deutliche Fibrillierung u. s. w. Die Kerne färbten sich, wenn auch nicht schnell, das Kollagen färbte sich gut (mit Säurefuchsin-Pikrin), die Zellen sahen ebenfalls so aus, wie man sie gewöhnlich findet, die Grundsubstanz zeigte aber durchaus keine Basophilie<sup>1)</sup>. Bewahrt man Schnitte des Knorpels längere Zeit hindurch, 2—3—4—9 Jahre lang in 60—70% schwach pikrinhaltigem Alkohol auf, so verliert sich die Basophilie ebenfalls, oder sie wird abgeschwächt, eine Erscheinung, die ich während der verflossenen Jahre oft zu kontrollieren vermochte.

Überhaupt giebt es eine Menge Methoden, vor allen Dingen die Behandlung mit Alkalien<sup>2)</sup>, mittelst deren der Knorpel seine Basophilie verlieren kann, und zwar nicht nur die Chondroitinschwefelsäure, sondern auch die Albuminstoffe u. s. w., die im Verein mit der Chondroitinschwefelsäure das Chondromucoid bilden. Ausserdem stellte ich einige Versuche an, welche die Bedeutung der Chondroitinschwefelsäure als Bedingung für die Basophilie der Knorpelgrundsubstanz direkt beweisen.

Behandelt man nämlich Knorpelschnitte, die mittelst einer der angegebenen oder anderer Methoden<sup>3)</sup> ihre Baso-

---

<sup>1)</sup> Nicht einmal bei Färbung mit einer ziemlich starken Lösung einer basischen Farbe (Methylenblau 1:1000 oder 1—200 mit oder ohne Säurezusatz).

<sup>2)</sup> Siehe gleichfalls das Referat über Hammars Macerationsresultate! Diese kann ich völlig bestätigen.

<sup>3)</sup> Behandlung der gut fixierten Schnitte mit Barytwasser, Kalkwasser, Barytwasser und 10% Kochsalzlösung aa (24 Stunden lang) oder mit dünner Kalilösung ein paar Stunden hindurch (oder länger). Am bequemsten ist die Kalibehandlung. Was die Auflösung der Gewebe oder der Kittsubstanz durch die genannten Mittel betrifft, so verhalten fixierte und frische (nicht fixierte) Schnitte sich sehr verschieden. An frischen Knorpelschnitten hat man ja sowohl Baryt- und Kalkwasser als 10% NaCl-Lösung angewandt, um die „Kittsubstanz“ zwischen den Fibrillen aufzulösen und letztere hierdurch besser sichtbar zu machen. Gut fixierte Schnitte dagegen vertragen, besonders wenn sie lange mit starkem Alkohol oder noch besser mit Formol-Alkohol, ebenfalls mit Sublimat und Alkohol oder Chromverbindungen behandelt wurden, sogar ziemlich lange Behandlung mit den genannten Reagentien, ohne sonder-

philie verloren haben, ohne dass die Grundsubstanz zersetzt wurde, mit einer Lösung der Chondroitinschwefelsäure, so erhält die Knorpelgrundsubstanz ihre Basophilie wieder. Ich habe diesen Versuch ausgeführt teils mit Chondroitinschwefelsäure, die ich selbst aus Kälber-Laryngeal- und Trachealknorpel nach Mörners Methode (l. c. 1889) darstellte, teils mit einer Probe chondroitinschwefelsauren Calciums, das der Prof. C. Th. Mörner in Upsala mir seinerzeit gütigst überliess. Beide Präparate gaben identische Resultate. Ich wandte eine ziemlich konzentrierte Lösung der Chondroitinschwefelsäure an, die mit Salzsäure, Schwefelsäure (cave Baryt) oder Oxalsäure schwach angesäuert war. Von drei Knorpelschnitten desselben Stückes, z. B. aus der Cartilago cricoidea des Kalbes (fixiert in Alkohol, Formolalkohol oder dgl.), die unmittelbar aufeinanderfolgten (das Celloidin wurde aufgelöst, wenn sie darin eingeschlossen gewesen waren), wurde das eine 24 Stunden lang in Barytwasser<sup>1)</sup> oder 2—3—4 Stunden lang (zuweilen länger) in dünnes Kali gelegt, das andere blieb ebenso lange in destilliertem Wasser liegen. Das dritte verblieb in 80 % Alkohol.

Der erste Schnitt wurde in mehrmals gewechseltem Wasser gut ausgewaschen, event. bekamen die ersten Waschwasser einen Zusatz von 1— $\frac{1}{2}$  : 1000 Salzsäure; darauf wurde der Schnitt

lich zu leiden (noch besser, wenn sie nach Chrombehandlung dem Lichte ausgesetzt gewesen waren); nur werden sie nach längerer Einwirkung etwas weicher und klarer; man wäscht sie behutsam und gründlich mit Wasser aus, breitet sie über den Spatel aus, sodass sie glatt liegen, und bringt sie erst in 30 %, darauf in 50 %—70 %—90 % Alkohol, ohne dass sie sich rollen oder kräuseln; sie erhalten dann fast ihr ursprüngliches Aussehen wieder. Unter anderen ist der grösste Teil der Albumine etc. des Chondromucoids ungelöst geblieben. Die Erfahrung muss bei jedem einzelnen Stücke Material den günstigen Zeitpunkt treffen lehren, was nun auch nicht schwer ist. Vergleiche Hammars Angabe, l. c., dass die Tingibilität für Hämatoxylin sich verliert, bevor die Grundsubstanz zersetzt wird.

1) Unter besonderen Vorsichtsmassregeln, um die Bildung kohlensauren Baryts zu verhüten.

bei einigen Versuchen wieder in Alkohol fixiert, wie oben beschrieben. Nun wurde derselbe zerschnitten, soweit möglich in zwei gleich grosse Stücke, und die eine Hälfte legte ich 5—10—15 Minuten (oder länger) in die schwach saure<sup>1)</sup> Lösung der Chondroitinschwefelsäure, worauf ich sie in destilliertem Wasser auswusch. Beide diese Hälften zusammen oder jede für sich wurden zu gleicher Zeit und gleich lange in die Lösung eines basischen Farbstoffes gelegt (gewöhnlich in Methylenblau, event. mit HCl oder besser mit Oxalsäure angesäuert.) Gleichzeitig wurden die beiden anderen nicht behandelten Schnitte jeder in sein Farbennäpfchen mit derselben Methylenblaulösung wie der erste Schnitt gelegt. Alle drei Schnitte wurden gleich lange, 5—10—15 Minuten oder darüber gefärbt und wurden dann in destilliertem Wasser abgespült. Es zeigte sich nun, dass der Knorpel der beiden letzten Schnitte sich ganz wie gewöhnlich und auf dieselbe Weise färbte. Die beiden Hälften des alkalibehandelten ersten Schnittes färbten sich aber durchaus verschieden. Die eine Hälfte, die mit der Chondroitinschwefelsäurelösung behandelt worden war, hatte ihre Basophilie<sup>2)</sup> wieder bekommen, schwächer allerdings als die

---

1) Ich gab Oxalsäure in Überschuss zu der Lösung des chondroitinschwefelsauren Calciums, teils um den Kalk zu fällen, teils um die Verbindungen (Chondromucoide), welche mutmasslich aus den Eiweissstoffen des nicht basophilen Schnittes und der Chondroitinschwefelsäure gebildet werden, in der sauren Flüssigkeit unlöslich zu erhalten; die Wiederherstellung der Basophilie des Schnittes geht dadurch schneller vor.

2) Als eine andere Frage, die sich aufdrängt, ist zu nennen: ob es die Chondroitinschwefelsäure (also die Sulfonsäuregruppe) ist, die speziell die Base bindet, oder nicht. Spaltete man die Schwefelsäure ab und stellte eine Lösung entweder des Chondroitins oder des Chondrosins dar, womit man die Schnitte behandelte, so zeigte sich ebenfalls ein Wiederauftreten der Basophilie, wenn auch wohl kaum in so intensivem Grade. Die Sulfonsäuregruppe verstärkt also vielleicht den Säurecharakter des Chondroitins und des Chondrosins. Vergl. Schmiedebergs Angabe, dass die freie Chondroitinschwefelsäure sich mit Wasser leicht in  $H_2SO_4$  und Chondroitin spaltet. Die isolierte Chondroitinschwefelsäure an und für sich färbt sich nicht, wohl aber, wenn sie mit Albumin oder mit Albumoidstoffen oder mit Kollagen eine

Kontrollschnitte, und wohl zu beachten mit ähnlicher Verteilung der Intensität, wie der Kontrollschnitt diese zeigte, nämlich am stärksten unmittelbar um die Zellen und die Zellengruppen u. s. w.<sup>1)</sup>, während die Knorpelgrundsubstanz der anderen Hälfte, die nicht in der Chondroitinschwefelsäurelösung gelegen hatte, ganz ungefärbt war oder nur einen ganz blassen Farbenton hatte.

Der Versuch lässt sich natürlich mehrfach variieren, so kann man einen und denselben Schnitt in 3 Stücke zerschneiden, die zwei mit Alkali, darauf eines dieser beiden mit Chondroitinschwefelsäure behandeln und alle drei färben. Das Resultat wird dasselbe wie das obengenannte. Ich wiederholte diesen

Verbindung eingegangen hat, indes giebt es ja viele Umstände, welche andeuten, dass nicht alle derartigen Verbindungen Basophilie zeigen; einige lassen sich entweder gar nicht färben oder zeigen Acidophilie; durch gewisse Macerationen kann die anscheinend maskierte Basophilie aufgedeckt werden. Es müssen denn auch die Karboxyd- oder die Hydroxylgruppen die Base binden können. Man vergleiche hiermit Lönbergs Angabe von der schwächeren diffusen Färbung des Knorpels des Rochen und des Haifisches mit allen Färbungen Mörners. Diese Knorpelarten enthalten viele „Chondroitinsäure“ und viel Kollagen, jedoch nur wenig Chondromucoid. Durch Färbung (der frischen Schnitte) erhielt Lönberg nur einige diffuse Färbung, obschon er alle Mittel gebrauchte, die nach Mörner entweder die Chondrinballen oder das Kollagen färben; es erschien also keine Differenzierung der Grundsubstanz. Diese Angaben stimmen sehr wohl mit meiner Ansicht überein, dass die Chondroitinschwefelsäure sowohl als Chondromucoid gebunden sein, als auch mit Kollagen Verbindungen schliessen kann. Es ist ein ganz natürlicher Gedanke, dass die Chondroitinschwefelsäure, wo Chondromucoid nur in geringer Menge gefunden wird, in grösserem Umfange an das Kollagen gebunden ist, und dass diese Bestandteile eventuell gegenseitig ihre tinktoriellen Affinitäten neutralisieren und verdecken können. Ich selbst fand, wie anderswo erwähnt, dass frische Knorpelschnitte sich gar nicht färben; erst wenn das Gewebe abzusterben beginnt, tritt Färbung ein. In abs. Alkohol fixierte Knorpelschnitte zeigen auch andere Tinktionsverhältnisse als in wässerigen oder sauren Flüssigkeiten fixierte. Ich habe ferner gefunden, dass die Fixationsmittel wahrscheinlich teilweise die Affinitäten der Chondroitinschwefelsäure befreien, sodass Färbung eintreten kann. An anderem Orte werde ich mich näher auf farbentheoretische Untersuchungen einlassen.

1) Je länger der alkalibehandelte Schnitt in der Chondroitinschwefelsäure verblieb, z. B. 2—3—4 Stunden oder darüber, um so stärker wurde die Basophilie.

Versuch an mehreren Knorpeln, die nach den beschriebenen Behandlungen ihre Basophilie verloren hatten, u. a. auch an den Schnitten, die mehrere Jahre hindurch in dünnem Alkohol gelegen hatten und sich nicht mehr basisch färbten. Diese wurden nach Chondroitinschwefelsäurebehandlung wieder basophil, am stärksten um die Zellen und die Zellengruppen herum u. s. w., ganz wie gewöhnliche Knorpelschnitte.

Das chondroitinschwefelsaure Calcium wandte ich auf ähnliche Weise an. Zu 1—1½ g Wasser setzte ich z. B. eine Messerspitze chondroitinschwefelsauren Calciums und säuerte ausserdem mit 2—3 Tropfen 1%ige Salzsäure an. Die Schnitte wurden auf oben angegebene Weise hiermit behandelt. Erst wurden sie in destill. Wasser gut abgewaschen, darauf einige Zeit in schwacher 1% Salzsäure um allen Kalk sicher aus-zuziehen, hierauf wieder in destill. Wasser. Übrigens wurde der Sicherheit wegen Kontrolle angestellt, indem ein (nicht mehr basophiler) Knorpelschnitt in eine neutrale oder schwach saure Lösung von Chlorcalcium gelegt wurde und ich dann prüfte, ob diese das Wiederauftreten der Basophilie bewirken könnte, wie erwartet aber mit negativem Resultat.

Eine andere Methode, bei der ich das chondroitinschwefelsaure Calcium anwandte, beruht auf der Tatsache, dass das Chondromucoid in Oxalsäure unlöslich ist (s. S. 548). Man setzt Oxalsäure in Überschuss zur Lösung der Chondroitinschwefelsäure und filtriert den ausgeschiedenen oxalsauen Kalk ab. In diese oxalsäure Lösung legt man nun den Knorpelschnitt. Ich vermute, dass die Chondromucoidmoleküle dann schneller gefällt werden oder sich, einmal gebildet, nicht so leicht dissociieren. Die Methode wirkt jedenfalls schnell genug. Zuletzt wird in Wasser ausgewaschen.

Decalciniertes Knochengewebe und gewöhnliches Bindege-webe in Schnitten, mit Alkali behandelt, wurde bei kürzerer<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Bei längerer, 2—4ständiger Behandlung verhielten nicht mit Alkali behandelte Schnitte sich indes anders.

Behandlung, 5—10—15—20 Minuten hindurch mit Chondroitinschwefelsäure nicht besonders basophil. Einfache Behandlung eines nicht mehr basophilen Knorpelschnittes mit Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure oder Oxalsäure kann die Basophilie nicht wiederherstellen.

Es scheint, dass die Albumin- etc. Kittsubstanz, die im Knorpel nach dem Ausziehen der Chondroitinschwefelsäure (oder allenfalls der Basophilie) zurückbleibt, besondere Affinität zur Chondroitinschwefelsäure hat und sich fast augenblicklich mit dieser verbindet. Wie Mörner nachwies, schliessen diese Stoffe ja auch chemische Verbindungen miteinander, — die Chondromucoide nämlich.

Die freie Chondroitinschwefelsäure wird wohl kaum durch andere unserer histiologischen Reagentien als Alkohol (und Eisessig, 50 %) gefällt, also rührt die Basophilie des Knorpels wahrscheinlich hauptsächlich von der im Chondromucoid gebundenen Chondroitinschwefelsäure her.

Da nun Knorpelschnitte, welche die Basophilie verloren haben, die Chondroitinschwefelsäure aus einer Lösung in sich aufnehmen und festhalten, da das Chondromucoid in Oxal-, Wein- und starker Essigsäure unlöslich ist, freie Chondroitinschwefelsäure aber nicht durch diese Reagentien gefällt wird, und da der gewöhnliche Knorpel auch freie Chondroitinschwefelsäure enthält, wird es nicht unwahrscheinlich, dass es das zum früheren Chondromucoid gehörende Albumin usw. ist, das sich besonders mit der Chondroitinschwefelsäure-Lösung verbindet. Ich setze Säure zur Lösung, am liebsten Essig- oder Oxalsäure, um die Chondroitinschwefelsäure von ihren Alkaliverbindungen zu befreien, beim Calciumsalze aber Oxalsäure, denn durch diese wird der Kalk ausgeschieden, die Säure wird frei, und das event. im Schnitte neu gebildete Chondromucoid (das in Oxalsäure ja unlöslich ist) wird unlöslich gehalten. Aus einer solchen Lösung kann auch das Kollagen ausser-

halb des Knorpels Chondroitinschwefelsäure anziehen und binden. Ich vermute deshalb, dass auch im Knorpel ein Teil der Chondroitinschwefelsäure an das Kollagen gebunden ist. (Siehe die chemischen Verhältnisse!). Da wir gewöhnlich den Knorpel in Stücken, nicht in Schnitten fixieren, ist es wahrscheinlich, dass auch ein grosser Teil der freien Chondroitinschwefelsäure im Knorpelstückchen verbleibt, namentlich da wir in der Regel aus den üblichen Fixationsmitteln in Alkohol überführen. Ausgeschlossen ist es denn auch nicht, dass die sogenannte freie (d. h. an Alkali gebundene) Chondroitinschwefelsäure zugleich eine leicht dissociable Verbindung mit Albuminstoffen geschlossen haben kann, so dass sie sich mit Hilfe unserer Fixierungsmittel in einigermaßen fester Form binden lässt.

Viele Fixierungen, besonders die wässerigen, Pikrinsäure, Chromsäure und Chromsalze, Formol (wässriges) geben niemals eine so starke Basophilie des Knorpels wie Alkohol, Formol-Alkohol, Sublimat-Eisessig usw.

Die stärkste totale Basophilie erzielt man mit Alkohol. — Wahrscheinlich sind die Fällungsverhältnisse im Knorpelgewebe selbst ganz anders kompliziert (Mischungen der Stoffe!) als in den chemisch isolierten Bestandteilen. Man betrachte z. B. das Verhalten der Chondroitinschwefelsäure und des Glutins u. s. w. (Vgl. Schmiedeberg über die fest gebundene Chondroitinschwefelsäure).

Die histologischen Verhältnisse enthalten nichts, was uns die Annahme verwehrt, dass es bei der sekundären Verknöcherung der Schnitte mit Chondroitinschwefelsäure in erster Reihe die „Kittsubstanz“, die interfibrilläre Substanz, die Albuminstoffe<sup>1)</sup> (im weitesten Sinne, Mörner, Schmiedeberg) u. s. w.

---

<sup>1)</sup> Etwas ganz anderes ist es aber, dass ein Teil der Chondroitinschwefelsäure in dem Knorpelgewebe wahrscheinlich auch Verbindungen mit allenfalls einem Teile des Kollagens (event. auch des Elastins und des Albumoids) eingeht. Ich vermag nicht einzusehen, dass sich hiergegen Entscheidendes

sind, die, wahrscheinlich durch eine chemische Bindung, die Chondroitinschwefelsäure aufnehmen.

Die chemischen und viele histiologische Verhältnisse sprechen sogar direkt hierfür. So z. B., dass die Basophilie nach Behandlung mit Chondroitinschwefelsäure gerade da (um die Zellen herum und in gewissen anderen Lokalitäten der Grundsubstanz) wieder am stärksten auftritt, wo wir mikroskopisch und chemisch nachzuweisen vermögen<sup>1)</sup>, dass das „Chondromucoid“, d. h. die ungeformte [nicht ausschliesslich im Hammarschen Sinne] „Kittsubstanz-Grundsubstanz“, die ja gerade wesentlich aus „Albuminstoffen“ besteht, am reichlichsten gefunden wird, während dagegen diejenigen Gegenden der Grundsubstanz, wo die „kollagenen“ etc. Knorpelfibrillen am stärksten entwickelt sind oder am dichtesten liegen, durchweg weniger zur Aufnahme der Chondroitinschwefelsäure geneigt sind.<sup>2)</sup>

anführen liesse; die histiologischen Verhältnisse sprechen zu Gunsten dieser Ansicht, die sich indes schwerlich direkt beweisen lässt. Schmiedebergs Versuche mit künstlicher Verknöpfung des Kollagens decalcinierter Knochen bei gewöhnlicher Temperatur liefern keinen Beweis dagegen, dass das Knorpelkollagen des lebenden Gewebes sich sehr wohl direkt mit Chondroitinschwefelsäure verbinden kann (ausser der indirekten Bindung mittelst des Albuminstoffes des Chondromucoids). Das Knorpelkollagen ist in der That nicht wenig vom Knochenkollagen verschieden (vergl. Mörner), es giebt u. a. viel weniger der reduzierenden Substanz (das Chondrosin ist jedoch reduzierend). Überdies tritt das Kollagen zum grossen Teil sogleich von seiner ersten Entstehung im Knorpel an in innigster Mischung mit Chondroitinschwefelsäureverbindungen auf. Die Verbindung mit dem Kollagen kann nun von Anfang an gegeben sein, vielleicht durch Differenzierung eines gemeinschaftlichen Vorstadiums, vielleicht dadurch, dass die Chondroitinschwefelsäure in statu nascendi wirkt. Auf einen histiologischen Umstand mache ich aufmerksam: je dünner und feiner die Knorpelkollagenfibrillen sind, um so fester scheint, ceteris paribus, ihre Verbindung mit Chondroitinschwefelsäure durchweg zu sein; und je stärker die Fibrillen werden, oder je mehr sie von Anfang an als „starre, dickere Fibrillen“ (vgl. F. C. C. Hansen: Über die Genese etc. 1899) angelegt sind, um so weniger innig scheint ihre Verbindung mit der Chondroitinschwefelsäure zu sein.

1) Siehe den späteren Abschnitt über die Lokalisation der Färbungen und deren Beziehungen zu den histiologischen Verhältnissen.

2) Man vergesse nicht, dass die „Kittsubstanz“ auch in anderen Beziehungen differieren kann, sodass es keineswegs immer von der rein quanti-



Je länger (bis zu einer gewissen Grenze) man den nicht basophilen Schnitt in der Lösung der Chondroitinschwefelsäure bleiben lässt, um so intensiver wird die Basophilie eben an den Stellen, die auch normal das meiste Chondromucoid enthalten, und um so mehr wird die künstliche Basophilie sowohl an Intensität als Verteilung den Verhältnissen des normalen Kontrollschnittes ähnlich, während die Basophilie bei ganz kurzem, 1—2—3 Minuten langen Liegen in der Chondroitinschwefelsäurelösung teils schwächer, teils mehr diffus verteilt ist.

Bei länger dauernder Behandlung kommen die Kontraste besser zum Vorschein, indem sich da aufs neue Chondromucoid am reichlichsten bildet, wo die grösste Anzahl Chondroitinschwefelsäure-Moleküle gebunden werden kann. Bei kurzer Behandlung können diese quantitativen Differenzen natürlich nicht so stark zur Geltung kommen. Endlich kommt nicht wenig darauf an, ob die Alkalibehandlung u. s. w. der Schnitte möglichst behutsam <sup>1)</sup> ausgeführt wurde; je weniger der Eiweisstoffe etc. der Schnitte bei Entfernung der Chondroitinschwefelsäure aufgelöst sind (deshalb am liebsten fixierte Schnitte), um so mehr nähert sich die Verteilung der neuentstandenen Basophilie dem Normalen.

tativen Differenz der Kittsubstanz abhängt, ob eine Gegend stark basophil ist oder dies durch Behandlung mit Chondroitinschwefelsäure werden kann. An gewissen Stellen und in verschiedenen Altersstufen können die Eiweisstoffe der Kittsubstanz geringere Affinität zur Chondroitinschwefelsäure besitzen als an und in anderen, oder derselben gänzlich ermangeln. Worauf dies beruht, welche chemischen Differenzen hier vorliegen, das auseinanderzusetzen muss anderen Untersuchungen vorbehalten bleiben; möglicherweise kann man hierdurch interessante Aufschlüsse über die chemischen Metamorphosen in der wirklich amorphen Grundsubstanz erhalten, u. a. hinsichtlich des Übergangs in Kollagen, Albuminoid (Mörner), Elastin u. s. w. Durch innige Mischung von Stoffen, die Affinität zur Chondroitinschwefelsäure besitzen, mit Stoffen, die keine solche haben, kann „Basophilie“ der letzteren simuliert werden, die gänzlich „maskiert“ werden können.

<sup>1)</sup> Deswegen ist eine alkoholische Lösung zur Behandlung der Knorpelschnitte mit Basen von gutem aber langsamem Erfolg. Der Alkohol sollte am liebsten ca. 50 % sein, mit stärker konzentriertem geht es zu langsam.

So genau wie im normalen Schnitte wird die Verteilung der neugebildeten Basophilie niemals; denn da aller Wahrscheinlichkeit nach die Zellen ja allenfalls der wichtigste Bildungsort<sup>1)</sup> der Chondroitinschwefelsäure sind, häuft diese sich eo ipso stark um dieselben an. Bei der künstlichen Verkörperung fällt dieser Faktor weg. Ich versuchte ebenfalls, fixierte Schnitte verschiedener anderer Gewebe mit Chondroitinschwefelsäure zu behandeln. Die Ergebnisse stimmten sehr gut mit dem oben Entwickelten überein; in diesem Zusammenhang werde ich mich aber nicht näher hierauf einlassen<sup>2)</sup>.

Dem oben Angeführten zufolge lässt es sich wohl nicht bezweifeln, dass die Chondroitinschwefelsäure und ihre Verbindung die charakteristische Basophilie der Knorpelgrundsubstanz bedingen.

In diesem Zusammenhang will ich nur noch die Färbung besprechen, die ich zum Nachweise der Basophilie des Knorpels, in casu also eines Gehalts an Chondroitinschwefelsäure benutzte. — In vielen Fällen kommt es mehr darauf an, die grösseren Differenzen der Verteilung der Chondroitinschwefelsäure im Knorpel als eigentlich die absolute Dichte nachzuweisen, und zwar besonders die alternierenden Maxima und Minima des Chondromucoids, bzw. des Kollagens. — Ja, indem die Chondroitinschwefelsäure im Knorpel, hauptsächlich in der Kittsub-

---

1) Oft findet man, dass das Zellprotoplasma normal im Knorpel stark basophil ist, und durchweg am stärksten in denjenigen (den inneren) Teilen des Knorpels, wo die Basophilie um die Zellen herum am stärksten ist. Später kommen wir hierauf zurück. Bei der künstlichen Behandlung mit Chondroitinschwefelsäure nehmen die Knorpelzellen diese oft in ziemlich hohem Grade an.

2) Es mag nur vom Bindegewebe angeführt werden, dass dieses in fixierten (nicht alkalibehandelten) Schnitten, die 10 Minuten bis 2 Stunden lang oder länger mit  $\frac{1}{2}\%$  salzsaurer Lösung der Chondroitinschwefelsäure behandelt wurden, sich mit saurem Methylenblau stark blau färbte; es könnte den Anschein haben, als wäre es eine Art Kittsubstanz, welche bekanntlich das Bindegewebe und die feinsten Fibrillen imbibiert, die sich vorzugsweise mit der Chondroitinschwefelsäure verbinde. (Vergl. Schmiedeberg).

stanz imbibiert ist, und gewöhnlich nicht ausschliesslich an ein bestimmtes Formelement gebunden ist, wird eine gar zu starke Färbung desselben oft geradezu nachteilig, indem die totale Färbung (ebenso wie die Kittsubstanz) die anderen Strukturen maskiert oder gänzlich verbirgt. Bei der Wahl der basischen Farbe waren deshalb viele Rücksichten zu nehmen. Nichts ist leichter als die Chondroitinschwefelsäure zu färben, denn sie ist sehr entschieden basophil, ist im ganzen einer der stärksten basophilen Stoffe. Die benutzte Farbe musste aber die Fähigkeit besitzen, wenigstens bei gewisser Anwendung nur die Chondroitinschwefelsäure des Knorpels zu färben<sup>1)</sup>, denn wie wir später sehen werden, gibt es in der Knorpelgrundsubstanz noch andere<sup>2)</sup>, basophile Substanzen, die von gewissen basischen Farbstoffen, namentlich Rosanilinen und Pararosanilinen, ebenso gefärbt werden können wie die Chondroitinschwefelsäureverbindungen, so dass diese Farbstoffe in vielen Fällen unbrauchbar oder unzweckmässig werden. Man muss deshalb derjenigen Farbe den Vorzug geben, die, wenigstens bei gewissen Anwendungen, diese anderen Stoffe nicht mitfärbt.

Ferner ist es wünschenswert und oft notwendig, dass diese basische Farbe sich mit anderen Färbungen kombinieren lässt, speziell mit denen, die zur Darstellung der übrigen histiologischen Bestandteile des Knorpels benutzt werden; sie muss also die Anwendung derjenigen Reagentien ertragen können, welche diese anderen Farbstoffe erfordern, und muss nicht nur an Farbe hinlänglich mit diesen kontrastieren, sondern zugleich die Eigenschaft besitzen, dass sie die anderen Färbungen optisch möglichst wenig verdeckt, zwei Eigenschaften, die keineswegs so leicht zu vereinen sind, wie man vielleicht glauben möchte.

1) Je weniger sie zugleich den übrigen Teil des Schnittes färbt, um so besser; doch thut es nichts zur Sache, dass sie Bestandteile färbt, die sich durch andere Merkmale, Form u. s. w. unterscheiden lassen.

2) „Albumoid“.

Schliesslich muss die Farbe möglichst einfach und schnell anzuwenden sein, und die Methode muss hinlängliche Geschmeidigkeit besitzen. Es gibt zwei Farben, die ich unter einer sehr grossen Anzahl geprüfter zweckmässig fand, nämlich das sogenannte Meldolas Blau<sup>1)</sup> (auch Echtblau oder Naphtolblau genannt) und das Methylenblau; jede derselben hat ihre Vorzüge, meistens gebrauchte ich jedoch Methylenblau, das sich am besten zur gewöhnlichen Anwendung eignet, teils weil kein Grund vorhanden ist, einen neuen Farbstoff einzuführen, wenn man wesentlich dasselbe mit einem wohlbekannten erreichen kann, teils weil das Methylenblau chemisch rein zu haben ist. Ich wende das reine Medizinal-Methylenblau (von Merck) (Methylenblau purissimum crystallisatum medicinale) an, und hebe ausdrücklich hervor, dass ich mit keinem anderen Präparate so gute Resultate erzielte.

Dasselbe wird in reiner wässriger Lösung angewandt, und es ist von Wichtigkeit, dass diese weder Methylenviolett noch Methylenrot in bedeutender Menge enthält. Lösungen, welche diese beiden Stoffe enthalten, wie alle älteren und besonders die mit Alkalien, bereiteten Lösungen und gleichfalls das sogenannte polychrome Methylenblau (Unna 274) eigneten sich nicht für meinen Gebrauch. Ich pflege meine Methylenblaulösungen jedesmal vor dem Gebrauch frisch zu zubereiten, um meiner Sache sicher zu sein. Lösungen die, auch nur kürzere Zeit hindurch gestanden hatten und anscheinend fehlerlos waren, verschafften mir viele Unannehmlichkeiten, die namentlich bei den Kombinationsfärbungen zum Vorschein kamen (siehe unten). Das Präparat erheilt sich nicht so gut, färbte sich oft weniger rein und schön, musste gebeizt werden u. s. w.

---

1) Siehe R. Nietzki: Chemie der organischen Farbstoffe. 2. umgearbeitete Auflage. Berlin 1894; 3. (1897). S. 179—180.

Die Methylenblaulösung, die ich zu gebrauchen pflege, ist ziemlich verdünnt. Allerdings kann man den Knorpel mit starken wässrigen Lösungen sehr schön färben, dann färben sich zugleich aber auch immer z. B. die Kerne<sup>1)</sup> und andere Teile des Schnittes. Jedenfalls muss man dann sehr kurze Zeit färben und nachher mit Alkohol ausziehen, wenn man die basische Färbung des Knorpels allein bezweckt. Gewöhnlich färbe ich den Knorpel in einer Lösung des Methylenblau (in destilliertem Wasser) von der Stärke 1 : 3,500 oder 1 : 5000 (gewöhnl.), gehe aber, wo ich es zweckmässig finde, bis 1 : 10,000 oder andererseits bis 1 : 1000. Zu 3 ccm dieser Lösung setze ich meist ein wenig verdünnte Salzsäure, zur Lösung 1 : 5000, die ich am häufigsten anwende, 1—2—3 Tropfen 1% Salzsäure (d. h. 5—10—20 ctgr. 1% Salzsäure). Hierdurch nimmt die Elektion in sehr hohem Grade zu, so dass sich vorzugsweise der Knorpel färbt, der übrige Teil des Schnittes aber gar nicht oder auch viel schwächer. (Fixation des Schnittes ist hier von Einfluss.) Zugleich spielt, wie früher bemerkt, wahrscheinlich auch der Säurezusatz eine Rolle hinsichtlich der Befreiung der Affinitäten der Chondroitinschwefelsäure.

Die Sache ist ja die, dass die Basophilie der Knorpelgrundsubstanz von den Chondroitinschwefelsäureverbindungen herührt, und deshalb zeigt die Methylenblaufärbung<sup>2)</sup>, an welchen Stellen diese (u. a. das Chondromucoid) zu finden sind, event. die Differenzen ihrer Menge und Lokalisation, und eben diese Verhältnisse sollen wir bei der Histologie des Knorpels gebrauchen. Natürlich kann man durch gleichzeitige Färbung

---

1) Zuweilen kann dies natürlich gerade erwünscht sein; die Methylenblau-Methode ist überhaupt ja sehr geschmeidig, weshalb sie grosse Variation gestattet.

2) Methylenblau in saurer Lösung färbt nicht die anderen, in der Grundsubstanz des Knorpels vorkommenden basophilen Stoffe, sondern nur die Chondroitinschwefelsäureverbindungen. Dies ist eine wichtige Eigenschaft, die mich ebenfalls zur Wahl des Methylenblau bewog.

in gleich starken Farblösungen auch ermitteln, ob zwei Schnitte grössere Differenz der Basophilie anzeigen, und hieraus seine Schlüsse ziehen; ebenfalls kann man sehen, ob die Basophilie sehr stark oder sehr schwach ist, oder ob sie gänzlich fehlt.

Totaler Mangel an Basophilie des Knorpels zeigt sich am besten bei einer Methylenblaulösung ohne<sup>1)</sup> Säurezusatz oder mit nur sehr geringem Säurezusatz. Man färbt solange oder so kurze Zeit hindurch, bis der Knorpel die zu dem gegebenen Zwecke erforderliche Intensität der Färbung angenommen hat, indem man hinlänglich berücksichtigt, dass eine hinterdreinfolgende Alkoholbehandlung ein wenig der basischen Farbe auszieht. Oft ist es indes auffallend, wie langsam der Alkohol die Verbindung spaltet, die das Methylenblau mit den Chondroitinschwefelsäureverbindungen geschlossen hat.

Zuweilen kann man in nicht angesäuertem Alkohol gar nicht hinlänglich entfärben<sup>2)</sup>. Je besser der Schnitt fixiert ist, um so kräftiger konserviert sich die Farbe.

Es liegt in der ganzen Natur dieser Färbung, dass eine schematische Anleitung zu ihrer Anwendung nicht gegeben werden kann noch soll. Diese erlernt man aber leicht mittelst weniger Versuche. Ich führe nur an, dass gewöhnlicher, gut fixierter, jüngerer, hyaliner Knorpel (Alkohol, Sublimat, Formolalkohol u. s. w.) sich im Laufe von 5—10 Minuten in der Lösung 1:5000 intensiv blau färbt.

Das Ideale wäre natürlich, wenn man eine echt-chemische Reaktion auf die Chondroitinschwefelsäure u. s. w. hätte, eine

---

1) Ich prüfe stets das Material auf verschiedene Weise, sowohl in neutraler als in schwach saurer und saurer Lösung. Ausserdem variere ich die Konzentration der Farbe.

2) Natürlich kann man den Alkohol dann (behutsam) mit Essigsäure oder Salzsäure schwach ansäuern, ich würde indes stets vorziehen, kürzere Zeit hindurch oder in dünnerer Lösung, etwa mit ein wenig grösserem Zusatz von Salzsäure zur Farbflüssigkeit, zu färben.

solche giebt es aber einstweilen nicht, weshalb man diesem Mangel durch sorgfältige Kritik und Diskussion der tinktoriellen Resultate abhelfen muss, was man denn auch kann; ein wichtiges Mittel ist hier die Variation der Bedingungen<sup>1)</sup> und Kombination mit den rein histiologischen Verhältnissen. Die Methode lässt sich also nur auf den Knorpel, besonders auf die Knorpelgrundsubstanz anwenden, denn hier wissen wir auch von anderer, physiologisch-chemischer Seite, mit welchen Stoffen wir zu thun haben, und da diese zu verhältnismässig wenigen Hauptgruppen gehören, können wir sie in tinktorieller Beziehung so ziemlich auseinanderhalten<sup>2)</sup>.

An und für sich wäre es also einerlei, ob der übrige Teil des Schnittes sich mehr oder weniger blau färbte; nun zeigt es sich aber, dass die Knorpelgrundsubstanz weit grössere Fähigkeit besitzt, das Methylenblau der salzsauren, wässerigen Lösung zu binden, als die meisten anderen Stoffe, so dass sie sich entweder isoliert färbt oder doch allenfalls sich viel intensiver färbt als diese (namentlich Mastzellkörnchen, Schleim der Schleimzellen, und, in gewissen Fällen, neugebildete Knochensubstanz! und Zellkerne).

Bei der späteren Alkoholbehandlung des Schnittes konserviert die Basophilie des Knorpels sich gewöhnlich viel besser, während

1) Durch Farblösung verschiedener Stärke mit oder ohne Säurezusatz.

2) Streng genommen kann man von der Chondroitinschwefelsäure auch nur mit Bezug auf diejenigen Knorpel reden, in welchen sie chemisch nachgewiesen ist; da sie aber bereits in so vielen verschiedenartigen Knorpeln verschiedener Tierarten gefunden ist, ohne jemals zu fehlen, scheint es mir äusserst wahrscheinlich, dass sie ein allgemein vorkommender Bestandteil des Knorpels ist. Mit Hinblick darauf, dass z. B. das Kollagen und das Elastin der Bindegewebsgruppe aller Wahrscheinlichkeit nach ja keine einzelnen scharf charakterisierten Stoffe, sondern im Gegenteil Gruppen etwas verschiedener Kollagene und Elastine sind, lässt sich aber die Möglichkeit nicht gänzlich ausschliessen, dass analoge Verhältnisse auch rücksichtlich der basophilen Substanzen der verschiedenen Knorpel vorkommen können. Dem könnte doch möglicherweise der Umstand widersprechen, dass die Chondroitinschwefelsäure im Knorpel so verschiedener Tiere wie z. B. einerseits des Kalbes und des Schweines, andererseits des Rochen und des Haifisches gefunden wurde.

die anderen Bestandteile sich entweder total oder fast gänzlich entfärben. Verdünnt man die Farbflüssigkeit auf 1 : 10000 und ferner durch Zusatz von 2 Tropfen 1% Salzsäure zu 3 ccm, so können wir das Vorherrschen des Knorpels noch mehr hervorheben. Dasselbe gilt zum Teil, wenn wir die Konzentration der Farbe vermehren und zugleich mehr der verdünnten Salzsäure zusetzen.

Die Färbung ist in diesem Falle als das Resultat von zwei sich entgegenwirkenden Affinitäten zu betrachten, indem einerseits der Schnitt, in casu die Chondroitinschwefelsäure, grosse Fähigkeit besitzt, sich mit den Methylenblau-Molekülen zu verbinden, andererseits aber die Salzsäure und das Wasser auf die solchergestalt gebildete Verbindung dissociierend wirken. Es lassen sich also, innerhalb gewisser Grenzen, eine Reihe Konzentrationen der Farbflüssigkeit<sup>1)</sup> (Methylenblau und Salzsäure) denken und finden, gegen welche die Tingibilität eines bestimmten Knorpelschnittes entweder 0 sein oder auch in jedem einzelnen Falle einen kleineren oder grösseren positiven Maximalwert haben kann d. h. der Schnitt kann nach gewisser Zeit keinen Farbstoff mehr aufnehmen, selbst wenn er länger darin liegen bleibt, während er bei einer anderen Zusammensetzung möglicherweise sehr wohl mehr Farbe aufzunehmen vermöchte). Ebenso wie der Knorpel (die Chondroitinschwefelsäure) verhalten sich nun alle übrigen Bestandteile. Um eine elektive Färbung der Knorpelgrundsubstanz zu erzielen, kann man nun zwei Wege einschlagen. Entweder findet man eine Farbenzusammensetzung (gewöhnlich eine ziemlich dünne Farbstofflösung mit ein wenig Säure), mittelst deren man in passender, willkürlich variabler Zeit den Knorpel hinlänglich intensiv, wenn auch nicht maximal, zu färben vermag, während die Färbung der anderen Bestandteile langsamer vorgeht und deshalb

---

1) Nach dem, was ich gesehen habe, findet wohl kaum zwischen der Konzentration des Farbstoffes und der der Salzsäure einfache Reciprozität statt.



während der Zeit, die der Knorpel zu seiner Färbung mit der gewünschten Intensität gebraucht, nicht besonders hervortretend werden kann; oder man wählt die Farbenzusammensetzung so, dass die anderen Gewebe sich entweder gar nicht oder nur ganz schwach färben können, wie lange der Schnitt auch in der Farbe liegt, während der Knorpel sich entweder rücksichtlich der betreffenden Farbenzusammensetzung maximal oder etwas unter dem Maximum färbt, jedenfalls aber für den vorliegenden Fall hinlänglich intensiv. In letzterem Falle ist die Färbung insoweit dem Knorpel spezifisch, denn dieser kann so lange in der Farbflüssigkeit liegen, wie man will, die anderen Gewebe färben sich dennoch nicht.

Man sieht, da auch nicht alle Teile des Knorpels dieselbe Affinität haben, und da diese Differenz nicht einzig und allein eine quantitative Differenz des Gehalts an Chondroitinschwefelsäure ist, dass Farben- und Säurekonzentrationen kommen können, bei denen sich jetzt nur die am meisten basophilen Teile des Knorpels färben lassen.

Gewöhnlich ist es zu empfehlen, eine solche mittlere Farbenzusammensetzung zu wählen, dass alle basophile Substanz des Knorpels gefärbt werden kann; es ist aber ganz zweckmässig, die Färbung mittelst der Zeitdauer reichlich variieren zu können.

Es ist also grosse Variation möglich, und da zugleich die Basophilie, je nach der Art des Knorpels, der Fixation u. s. w. variiert, muss man sich in jedem einzelnen Falle ein wenig vorprüfen, am häufigsten rücksichtlich der Dauer des Färbens.

Das Verfahren, das ich gewöhnlich anwende, um die Verbreitung der Basophilie und Differenzen ihrer Lokalisation zu bestimmen, ist folgendes: Vorerst prüfe ich den Schnitt in einer Lösung 1:5000 + 1 oder 2 Tr. 1% Salzsäure zu 3 ccm mit Variation der Dauer der Färbung von 5—10—12 Minuten und länger.

Erweist es sich als notwendig, so wird der Säurezusatz vermindert oder ganz weggelassen. Man erhält dann die Maximalverbreitung der Basophilie durch hinlänglich langes Färben. Wünscht man schnellere oder intensivere Färbung, so kann man die Konzentration auf 1:3000 oder 1:1000 steigern. Oft ist es indes vorteilhaft, wenn die Färbung ein wenig lange andauert, denn man kann dann den Schnitt herausnehmen und unter dem Mikroskop die Phasen verfolgen. Schliesslich vermehrt man den Säurezusatz oder vermindert die Konzentration oder thut beides zugleich.

Bei stärkeren Konzentrationen der Farbe und gleichzeitig vermehrtem Säurezusatz färbten sich häufig die am stärksten basophilen Teile relativ mehr intensiv, während der Rest des Knorpels absolut ungefärbt bleibt, selbst bei länger dauerndem Färben. Das oben von mir angedeutete Verhalten, dass in tinktorieller Beziehung keine einfache Reciprocität zwischen der Grösse des Säurezusatzes und der Konzentration des Farbstoffes besteht, beruht gewiss darauf, dass man sich den Säurezusatz als mehrfach wirkend zu denken hat, indem er nämlich teils die Farbstoffverbindung mit dem Schnitte dissociert, teils gewissermassen die Chondroitinschwefelsäure aus ihren Verbindungen befreit<sup>1)</sup> u. s. w. Dass

---

<sup>1)</sup> Als Beispiel hiervon mag folgendes dienen: Frische Cartilago circoidea oder thyroidea eines grossen Kalbes oder jungen Rindes wird auf dem Mikrotom (ohne Einschluss und mit allen möglichen Sicherungen vor dem Eintrocknen, also sehr geschwind) geschnitten, und die Schnitte werden augenblicklich in reichlichen absoluten Alkohol gebracht, wodurch der Chondroitinschwefelsäuregehalt des Gewebes gänzlich fixiert wird, weshalb a priori anzunehmen ist, dass die chemischen Verhältnisse der Grundsubstanz bedeutend geringere Änderung erleiden, als durch Fixation in anderen, chemisch mehr eingreifenden Flüssigkeiten. Nach der (einige Tage oder länger dauernden) Fixation ist das Material zu benutzen. Man bringt einen Schnitt erst in mehrmals zu wechselnden absoluten Alkohol und schneidet ihn darauf in drei gleichartige Teile. Den einen legt man in Xylol, die beiden anderen führt man durch mehrere Quanta immer mehr verdünnten Alkohols in Wasser über. Nun färbt man

die Chondroitinschwefelsäure ziemlich feste Verbindungen mit verschiedenen Stoffen des Knorpels auf die Weise schliessen

den ersten ziemlich kurze Zeit in 1. einer Lösung von Malachitgrünbase in Xylol, bis er kräftig grün geworden ist, ohne das Maximum zu erreichen (da er dann nämlich überall gleichmässig dunkelgrün wird), sodass zwischen den pericellulären Teilen und der übrigen Grundsubstanz deutliche Differenzierung ist; die Färbung wird in reinem Xylol unterbrochen. Die beiden anderen Schnitte werden gefärbt, (bis sie, bei schwacher Vergrösserung betrachtet, dieselbe Intensität der grünen Farbe erlangt haben), der eine 2. in einer dünnen, jedoch ziemlich kräftig grünen, wässerigen Lösung des Malachitgrün und der andere 3. in derselben Lösung mit einem Zusatz von 1—2 Tr. 1% Salzsäure pr. 3—5 ccm; immer ziemlich kurze Zeit hindurch. Wir bekommen nun folgende Resultate: Nr. 1 und Nr. 2 zeigen etwas mehr diffuse Färbung als Nr. 3. Am stärksten gefärbt sind in Nr. 1 und Nr. 2 die äusseren Schichten der Knorpel am Perichondrium und die den Gefässen zunächst gelegenen Teile, etwas schwächer, jedoch kräftig, die Mitte. Sonderbarerweise sind die den Zellen und den Zellengruppen am nächsten liegenden Partien, die in der That absolut betrachtet, die meiste basophile Substanz enthalten, relativ schwach gefärbt, während die Färbung in allen denjenigen Partien, die das meiste unmaskierte Kollagen enthalten, die mithin die grösste Vorliebe für saure Farbe zeigen, besonders kräftig ist! — Wir bekommen somit ein „interkapsuläres“ Netzwerk gefärbt. In Nr. 3 ist die Farbenverteilung die umgekehrte, hier haben wir sehr starke Färbung um die Zellen, in denjenigen Partien, die thatsächlich am meisten basophilen Stoff enthalten und die Farbenbasen sogar stark saurer Lösungen zu binden vermögen; dagegen ist das interkapsuläre Netzwerk und überhaupt Partien, die am meisten unmaskiertes Kollagen enthalten und am stärksten acidophil sind, wie die nach dem Perichondrium hin und um die Gefässe der Grundsubstanz liegenden, ungefärbt oder auch viel schwächer gefärbt. — Legt man aber Schnitt Nr. 2 (den in neutraler wässriger Lösung gefärbten) in die schwach saure Farblösung, in welcher Nr. 3 gefärbt wurde, oder auch in eine ebenso stark salzsäurehaltige aber schwächere Farblösung oder in Wasser von demselben HCl-Gehalt, so sieht man unter dem Mikroskope, wie die Farbe sich allmählich ebenso verteilt wie im Schnitt Nr. 3, indem die pericellulären Strecken sich am stärksten färben, während die Farbe im interkapsulären Netzwerk, um die Gefässe und in den perichondralen Partien u. s. w. schwächer wird oder verschwindet. Diese Färbungen müssen, das wiederhole ich, in einem Stadium betrachtet werden, wo die Grundsubstanz noch nicht überall intensive Farbe angenommen hat. — Die Deutung dieser Verhältnisse muss, in guter Harmonie mit allen anderen Tingibilitätsverhältnissen des Knorpels (siehe später), meiner Ansicht nach die werden, dass der basophile Stoff (die Chondroitinschwefelsäure) ungleichmässig gebunden ist. Derselbe ist in geringerer Menge, aber teilweise loser gebunden, an den Stellen vorhanden, wo es das meiste unmaskierte Kollagen giebt, da er sich verhältnismässig schnell und leicht mit der Farb-Base der Xylollösung und neutralen wässerigen Lösung des Farbsalzes verbindet. An den anderen Stellen

kann, so dass diese Verbindungen trotz ihres Gehaltes an maskierter Chondroitinschwefelsäure nur schwach oder gar nicht basophil sind, wie die physiologisch-chemischen Verhältnisse des Knorpels dies ja auch zeigten, halte ich für sicher. So tritt sowohl nach Säurebehandlung als zu einem frühen Zeitpunkte der Maceration (siehe oben) oder der Digestion mit destilliertem Wasser an Lokalitäten des Schnittes, die vorher entweder gar nicht oder auch nur schwach basophil waren, stärkere Basophilie auf, während andere, vorher stark basophile Partien, z. B. die Grundsubstanz (Kapsel, formlose Grundsubstanz) unmittelbar um viele der Zellengruppen, ihre frühere Basophilie total verloren haben. D. h.: an den Stellen, wo die Chondroitinschwefelsäure lose gebunden oder in Überschuss gebunden war und sich wohl deshalb leicht färbte, hat sie sich jetzt dissociiert; an den Stellen, wo sie früher fester gebunden oder vielleicht maskiert war, ist sie jetzt lockerer ge-

---

findet er sich in grösseren Mengen und fester gebunden. Dann wirkt die Salzsäure, um hier zum Teil seine Affinitäten zu befreien, während umgekehrt an anderen Stellen die Farbstoffverbindung sich ganz oder teilweise dissociiert. (NB. Durch länger dauerndes Färben kann man indes schliesslich auch die Färbung dieser entfärbten Partien bewirken.) Ganz analog färbt sich der Schnitt in wasserfreier Lösung freier Farbsäuren, in Jodeosin, in Äther, in Eosinsäure, in der roten Farbe des Salzes u. s. w.; also sind auch die acidophilen Bestandteile des Schnittes hier loser gebunden, und diese Färbung konserviert sich an denselben Stellen in Alkohol, Wasser, Salzglycerin. Ich bemerke gelegentlich, dass ich zu diesen Versuchen, welche ich schon 1899 anstellte, nicht nur Malachitgrünbase in Xylol, sondern auch die farblose Rosanilinbase, Rhodaminbase, Toluidinblau- und Methylenblaubase, alle in Benzol, Benzin oder Xylol gelöst, selbst darstellte und anwandte, indem ich natürlich sehr wohl wusste, dass ich damit eine echt chemische Färbung (nämlich die Bildung des gefärbten Salzes) erreicht hatte. Auch die Gegenfärbung mittelst ätherischen Jodeosins oder Eosinsäure (Bildung des roten Salzes in den entwässerten Knorpelschnitten, wobei die Färbung sich bemerkenswerterweise ganz dieser Xylolbasenfärbung analog lokalisierte) hatte ich damals angestellt und besitze Präparate davon, die sich jetzt mehr als fünf Jahre lang konserviert haben. Ebenfalls habe ich lange vor M. Heidenhains Publikation von 1901 mehreren Kollegen diese Versuche als Beispiele „echter chemischer Färbung“ demonstriert.

bunden, so dass sie sich färben lässt. Am Laryngeal- und Trachealknorpel habe ich dies Verhalten konstatieren können, u. a. nach Maceration frischer Schnitte 24 Stunden lang in Aqua destillata bei 50° C. und darauffolgendem gründlichen Auswaschen 4—5 Tage hindurch oder auch kürzer in Aqua destillata von gewöhnlicher Temperatur. An dünnen Schnitten hatten dann viele, ja die meisten der Chondrinballen ihre Basophilie in saurer Flüssigkeit 1 : 5000 + 2 Tr. 1% Salzsäure verloren, dafür war aber das intermediäre Netz, das in gewissen Zonen stark basophil sein kann und auch ist, teils stärker basophil geworden, teils hatte es die Basophilie gänzlich verloren, teils waren Teile desselben, die sonst nicht deutlich basophil, sondern sogar „pikrophil“ zu sein pflegen, sehr stark basophil geworden (dies verlor sich ganz bei fortgesetzter Maceration).

Der letzte Schritt wird nun der, dass die Chondroitinschwefelsäure sich gänzlich aus der Verbindung mit der Knorpelgrundsubstanz ausscheidet und mit der Macerationsflüssigkeit oder dgl. entweicht.

Weit wichtiger als die Färbung der Chondroitinschwefelsäure war in histiologischer Beziehung indes die Färbung des Kollagens im Knorpel und den Bindegewebsfasern.

Elektive Färbung des Bindegewebes, speziell des weissen fibrillären Bindegewebes hat man ja längst gekannt und geprüft, denn in der That zeigt das Bindegewebe eine ziemlich bedeutende Möglichkeit, sich elektiv zu färben, ganz anders als z. B. das Muskelgewebe, geschweige denn das Zellprotoplasma, unter welcher Benennung man ja, beiläufig gesagt, die heterogensten Dinge zusammenfasst. Ich werde in aller Kürze einige der wichtigsten Färbungen des Bindegewebes erwähnen, muss aber sogleich hinzusetzen, dass es, streng genommen, weniger korrekt ist, wenn man sie alle als spezifische Bindegewebsfärbungen bezeichnen will.

Ich nehme nur diejenigen Färbungen mit, die das Bindegewebe möglichst vom Elastin, jedenfalls aber von den Muskeln und dem Protoplasma tinktoriell hervorheben und unterscheiden.

Vorerst ist Ranviers Pikrokarmín (183) zu nennen, das bei gutem Erfolg das Bindegewebe schön rosarot, das Elastin gelb färbt. Ferner diejenigen Eosin-Hämatoxylin, Kombinationen, mit denen das Bindegewebe sich in einem anderen Tone oder einer anderen Farbe färbt als das Protoplasma die glatten Muskeln u. s. w. Unter diesen ist besonders Renauts (194) Glycerin-Eosin-Hämatoxylin zu nennen, welches das Bindegewebe graublau färbt. Dagegen lassen sich die gewöhnlichen Eosinfärbungen nicht dazu gebrauchen, eine einigermaßen deutliche Übersicht über die Verteilung des Bindegewebes zu geben.

Diese und mehrere andere Methoden, z. B. eine von mir angewandte, indes nicht veröffentlichte Hämatoxylin-Essig-Pikrinsäure-Pikrokarmín-Färbung (die Kerne, der Knorpel und der Schleim blau, das Protoplasma gelb, die Muskeln orange, das Elastin gelb und das Bindegewebe rot) können für allgemeine histiologische Arbeiten Genügendes leisten; kommt es aber darauf an, das Bindegewebe speziell zu verfolgen, so sind sie zu wenig prägnant.

Mit dem bestimmten Zwecke vor Augen, spezifische Bindegewebs-, oder wie man in der jüngsten Zeit gern sagt, Kollagenfärbungen zu finden, hat namentlich Unna (275) gearbeitet, dem wir mehrere vortreffliche histiologische Methoden verdanken. Er hat 3 Hauptgruppen: 1. die Orcein-Methode mit polychromem Methylenblau und Orcein, 2. die Methoden mit Sulfonsalzen, 3. die ursprünglich von Benecke (15) angegebene, von Unna modifizierte Jod-Methode. — Was die genauere Beschreibung dieser Methoden betrifft, muss ich auf die Originale verweisen; keine derselben hat sich als hinlänglich elektiv in dem Umfange erwiesen, der für den mehr universellen Gebrauch wünschenswert oder erforderlich ist. Unna gebraucht sie für

die Haut und härtet alles in absolutem Alkohol. Sie können nun auch in vielen Beziehungen vorzügliche Dienste leisten, nur nicht als sichere spezifische Färbungen, deren ich bedurfte. Jeder, der mit denselben viel gearbeitet hat, wird dies bestätigen können. Die Resultate der Färbungen können nach der Zeitdauer, dem Grad des Auswachsens u. s. w. bedeutend variieren.

Die polychr. Methylenblau-Orceinmethode ist eine sogar vorzügliche und allgemein brauchbare Quadrupelfärbung; erstens färben sich aber das „Elastin“ und das „Kollagen“ ganz auf dieselbe Weise und lassen sich nur schwer von einander unterscheiden, ferner können sich auch andere Elemente als diese ebenso wie das Kollagen färben, z. B. die quergestreiften Muskeln, Gliafasern u. s. w. Ähnliches gilt sowohl von Beneckes als von Unnas Jodmethode, die in der Hauptsache Weigerts modifizierte Fibrinfärbemethode ist. Allerdings färbt das Elastin sich in den meisten Fällen rot, das Kollagen blau hiermit, dies geschieht aber keineswegs immer konstant und ausserdem können viele andere Elements blaue Färbung annehmen (Glia, Kerne, quergestreifte Muskelsubstanz u. s. w.). Endlich sind diese Methoden durchaus nicht brauchbar zur Darstellung des Bindegewebes des Knorpels wegen der Basophilie des Knorpels und aus anderen Gründen. Ich bemerke hier gelegentlich, dass auch die Bindegewebsfärbung mit Mallorys<sup>1)</sup> Phosphormolybdän-Hämatoxylin aus vielen Gründen nicht zu gebrauchen ist, u. a. weil sie nicht hinlänglich spezifisch wirkt.

Bei den Methoden mit Sulfonsalzen werden die Sulfon-

---

<sup>1)</sup> In der achten Auflage seines Lehrbuches der Histologie (1898) führt Stöhr Mallorys Hämatoxylin als „Bindegewebsfärbung“ an. Ich selbst wende schon seit mehr als neun Jahren selbständig invertierte Hämatoxylinfärbungen an, nämlich Molybdän-Hämatoxylin und Wolfram-Hämatoxylin ganz anderer Konstruktion als das Mallorysche, auch zum Bindegewebe, Nervensystem u. s. w. In mehreren Fällen können sie verschiedene Vorzüge darbieten. 1896 hatte Mallory sie zu verschiedenen anderen Geweben benutzt.

säuren des Triphenylrosanilins angewandt, unter denen die Di- und die Trisulfonsäure das sogenannte Wasserblau geben (d. h. in Wasser löslich, im Gegensatz zum Triphenylrosanilin selbst, das in Wasser unlöslich, in Alkohol aber löslich ist, deshalb Spritblau), wie auch die Di-Sulfonsäure des Rosanilins, das sogenannte Säurefuchsin (Synonyme „Rubin“, Fuchsin S.). Das Wasserblau kommt u. a. in der bekannten Garbini-schen Kombination Safranin Wasserblau als gewöhnliche Doppelfärbung zur Verwendung.

Unna benutzt Wasserblau und Safranin als Doppelfärbung und als „spezifische“ Kollagenfärbung. Alle Sulfonsäuren des Triphenylrosanilins, nämlich die Monosulfonsäure (das sogenannte Nicholson's Blau oder Alkaliblau), die Disulfonsäure (das sogenannte Wasserblau für Seide) und die Tri- und Tetrasulfosäuren (ebenfalls Wasserblau genannt, für Baumwolle, Baumwolleblau) lassen sich neben einer roten Kernfarbe vortrefflich als „zweite Farbe“ verwenden, z. B. ausser mit Safranin mit den verschiedenen Karminen und Cochenillen (am besten mit denen von der röttesten Nuance), und sicher ist es, dass das Bindegewebe — das Kollagen — sich sehr schön damit färbt; die Elektion des Wasserblau für das Kollagen ist aber keineswegs so ausgesprochen wie z. B. die des Säurefuchsin, und überdies färbt Wasserblau das Elastin, ebenfalls und zwar stark, die übrigen Bestandteile des Gewebes, das Protoplasma, die Muskeln u. s. w., ja selbst die Zellkerne können sich sehr kräftig damit färben. Wünscht man eine möglichst reine Färbung des Bindegewebes, so muss man die blaue Farbe in Alkohol ausziehen und kann dann auch eine recht brauchbare Färbung des Bindegewebes und des Elastins im Verein erhalten, besonders wenn es nur auf eine vorläufige Übersicht über die Verteilung der Bindegewebssubstanzen im Schnitte ankommt. Es giebt aber so viel anderes, das gefärbt wird (Protoplasma, Muskeln, Nerven u. s. w.) und violette und blauviolette



oder auch, wenngleich schwächere, rein blaue Töne erhält, dass die Wasserblau-Kombination, obschon sie zu gewöhnlichem histiologischem Gebrauche sehr verwendbar sein kann, dennoch weder besonders spezifisch noch elektiv genannt werden kann. Das Elastin wird auch nicht genügend scharf von dem Kollagen differenziert.

Auf den Knorpel angewandt, der mich ja am meisten interessierte, ist das Wasserblau, seinem übrigen Verhalten analog, auch hier zu wenig elektiv und färbt z. B. die Knorpelzellen erheblich besser als die Knorpelfibrillen. Das mit Chondroitinschwefelsäureverbindungen imprägnierte Kollagen färbt sich mit Wasserblau viel schlechter als mit Säurefuchsin nach meiner Färbemethode (s. unten). Dasselbe eignet sich für den Knorpel entschieden schlechter als viele andere Farben. Es versteht sich ferner von selbst, dass Blau als Bindegewebsfarbe durchaus nicht mit der blauen basischen Farbe der Knorpelgrundsubstanz (der Chondroitinschwefelsäure!) zusammen zu gebrauchen ist; man müsste dann rote, orange oder braune Farben als „basische“ Farben anwenden. Auf meine Versuche in dieser Beziehung werde ich mich nicht einlassen; keine der roten, orange oder braunen Farben, mit denen ich Versuche anstellen konnte, war in dieser Hinsicht so zweckmässig wie das Methylenblau; überdies habe ich vorläufig keine saure Farbe, blauviolett, oder grün, gefunden<sup>1)</sup>, die geeigneter wäre als die Triphenylrosaniline. Da nun eine andere Farbenkombination völlig befriedigende Resultate lieferte, fand ich keinen Grund, mich ferner in dieser Richtung zu bemühen.

Die für mich entscheidenden Erwägungen waren nun folgende: Ich wollte ein Verfahren suchen, das mir gestattete, das Bindegewebe, das Kollagen von anderen Gewebsbestandteilen verschieden zu färben, von Protoplasma, Muskeln, Chondromucoid u. s. w. absolut verschieden und womöglich auch vom Elastin. Ferner musste diese Bindegewebsfärbung besonders

---

<sup>1)</sup> Selbstverständlich versuchte ich auch verschiedene Beizfärbungen.

auf den Knorpel anwendbar sein und sich schliesslich mit der basischen blauen Farbe kombinieren lassen, mit der ich die Chondroitinschwefelsäure im Knorpel färbte.

Da die blauen und grünen Bindegewebsfärbungen sich ja leider nicht eigneten<sup>1)</sup>, hatte ich die Wahl unter den gelben, den orange und den roten Farben. Des Farbenkontrastes wegen war die Kombination gelb und rot vorzuziehen, und die Rollen waren dann wo möglich so zu verteilen, dass das Gewebe, das ich besonders verfolgen wollte, rot gefärbt würde, während Gelb, das sich in optischer Beziehung schlechter zur mikroskopischen Differenzierung feinerer Strukturen eignet, für alle anderen Gewebsteile reserviert würde, so dass diese mehr in den Hintergrund kämen. Wo umgekehrt die Verhältnisse der letzteren näher zu untersuchen wären, müssten natürlich andere Methoden zur Anwendung kommen. Die orange Farben, von denen möglicherweise die Rede sein konnte, eigneten sich aus mehreren Gründen schlechter als die gelben, wovon ich mich durch Untersuchungen überzeugte. Unter den gelben und roten Farbstoffen prüfte ich eine Menge an den verschiedensten Geweben und Fixierungen, und ich überzeugte mich hierdurch, dass es sich lohnen konnte, mit zwei Farben, nämlich mit Säurefuchsin und Pikrinsäure, näher zu experimentieren. Diese Farbkombination hatte ja bereits ziemlich verbreitete Anwendung gefunden, z. B. zu Altmanns (2) Granulafärbung<sup>2)</sup>, zur sogenannten van Giesonschen Methode und schliesslich zu einer der Kollagenfärbungen Unnas (275), wie auch zu mehreren anderen, die uns hier nicht interessieren. Diese Farben boten den Vorteil dar, dass sie zu ziemlich verschiedenen Farbengruppen gehören, die Pikrinsäure zu den Nitrofarbstoffen, das Säure-

---

<sup>1)</sup> In mehreren Beziehungen (u. a. aus optischen Rücksichten) wäre es besser gewesen, eine elektiv blaue oder intensiv violette Bindegewebsfarbe zu haben.

<sup>2)</sup> 10% Säurefuchsin in  $\frac{1}{3}$  Alkohol diff. in konz. Pikrinsäure.

fuchsin zu den Sulfonsäuren der Farbenbasen, und dass sie verhältnismässig rein zu haben sind.

Unnas Methode ist folgende: Fixierung des Materials (Haut) in abs. Alkohol. — Celloidinschnitte. Man färbt: 1. in 2% wässerigem Säurefuchsin 5—10 Min. lang. 2. Abspülen in Wasser. 3. Man bringt die Schnitte in konz. wässrige Pikrinsäurelösung, in der sie 1—2 Min. bleiben. Hier findet Umfärbung statt und der Schnitt giebt eine rote Farb-Wolke ab. 4. Der Schnitt wird in absoluten, mit Pikrinsäure gesättigten Alkohol übergeführt, wo er bald mit dem Abgeben von Säurefuchsin aufhört und ohne Nachteil längere Zeit hindurch verbleiben kann, in der Regel sind 2 Min. aber genügend und wird darauf 5. in reinen absoluten Alkohol gelegt, abgespült und dann 6. in Bergamotteöl oder Xylol, — Balsam angebracht.

Dies ist, wie Unna angiebt, eine bequeme Methode. Resultate: Kornschicht und Kerne zinnoberrot. Die protoplasmatischen Einlagerungen, wie das Deckepithel, die Follikel, Drüsen, Gefässe — gelb. Das „Kollagen“, ist karminrot und enthält zahlreiche kleine, gelbe Flecke, d. h. Bindegewebszellen mit gelbem Protoplasma und mit einem kleinen roten Kreise, dem Kern. Die glatten Muskeln haben die gelbe Protoplasmafarbe, das Elastin ist rotfarbig ebenso wie das Kollagen und deshalb schwieriger zu gewahren.

Diese Methode ist also nur uneigentlich eine spezifische Kollagenfärbung zu nennen, denn ausser dem „Kollagen“ werden noch viele andere Sachen rot gefärbt. Dies ist freilich ein Übelstand einer „spezifischen“ Färbung, könnte aber doch angehen, wenn man nur immer sicher ginge, dass man konstante Resultate erhielte; dies ist aber keineswegs immer der Fall. Die Resultate können ziemlich bedeutend variieren, selbst rücksichtlich der Haut, geschweige denn anderen Materiales, und die Differenzierung in den pikrinsäurehaltigen Flüssigkeiten, von der doch alles abhängt, ist der schwierige Punkt. Für Übersichtsbilder giebt

das Verfahren sehr brauchbare Resultate; geht man aber in die Details, und eben auf diese kommt es oft an, so können unangenehme und häufig ganz launenhafte Abweichungen eintreten; so kann die rote Farbe auf das Protoplasma und die Muskeln übergreifen, oder umgekehrt kann die gelbe Nachfärbung zu weit gehen und z. B. einige Bindegewebsfasern gelb oder orange färben, ohne dass man einen Grund hierfür finden kann, und ohne dass man hieraus schliessen darf, diese Stellen des „Kollagens“ seien „degeneriert.“ Die Ursache einer solchen Gelbfärbung des Bindegewebes ist oft die, dass die Bindegewebsfasern weniger dicht, mehr zerstreut liegen, weshalb die Pikrinsäure auf diese Stellen weit mehr energisch entfärbend wirken konnte als auf Stellen, wo die Bindegewebsfasern dicht und kompakt liegen. Ähnliches gilt vom Elastin. Überhaupt ist die Differenzierung in einer Farblösung, die eine andere Farbe verdrängt, ein ziemlich heikler Punkt, wenn es nicht nur darauf ankommt, einen Gewebsbestandteil im Gegensatz zu den anderen zu färben oder nur zu differenzieren, sondern dieser zugleich (wie das „Kollagen“) eine bestimmte Farbe bekommen soll, um seine Beschaffenheit gegen Teile von ähnlicher Form zu dokumentieren. Denn eben dies wird ja unter der spezifischen Färbung verstanden. Zugleich ist ersichtlich, dass eine solche Methode anscheinend konstante Resultate zu geben vermag, solange es nicht auf die feinsten Verhältnisse ankommt. Zu feineren Untersuchungen erwies Unnas spezifische Kollagenfärbung sich als unbrauchbar; denn es war unmöglich, mit Sicherheit die Differenzierung genau im richtigen Stadium zu unterbrechen, da man, wie die Erfahrung zeigte, oft die Differenzierung, die Nachfärbung, an einigen Stellen zu weit vorgeschritten, an anderen dagegen unzulänglich fand. Ich bestreite übrigens durchaus nicht, dass man gelegentlich tadellose Präparate erhalten kann, das Bindegewebe färbt sich in den Details aber gar zu inkonstant.

Die andere Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin ist die sogenannte van Giesonsche Methode (81), die in den letzten Jahren oft zur Verwendung kommt.

1. Man färbt hier bekanntlich erst  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in Hämatoxylin, 2. wäscht in Wasser aus, 3. färbt 3—5 Min. hindurch in einer Mischung von Säurefuchsin und Pikrinsäure, die so zusammengesetzt ist, dass man einige Tropfen einer konz. wässerigen Säurefuchsinlösung zu 100 ccm einer konz. wässerigen Pikrinsäurelösung setzt, bis die Mischung dunkel granatrot geworden ist<sup>1)</sup>, mithin relativ viel Säurefuchsin enthält. Die Schnitte werden hierauf schnell in Wasser abgespült, in Alkohol entwässert, in Origänumöl aufgehellte und in Kanadabalsam gelegt. Die Färbung hebt die Ganglienzellen, das Neuroglia, die Blutgefäße und die sklerotischen Partien hervor, indem diese eine granatrote Farbe annehmen. Die Achsencylinder werden rot, das Nervenmark gelb.

Die Präparate wurden erst im L. Mülleri, darauf in Alkohol gehärtet. Die originale Methode wurde statt der Karminfärbungen auf das Nervensystem angewandt und machte anfangs gar nicht den Anspruch einer spezifischen Bindegewebsfärbung.

Später fand Paul Ernst (55), dass van Giesons Methode sich auch zur Färbung des sogenannten „Hyalins“ eignet. Es würde uns indes zu weit abführen, wollten wir uns in diesem Zusammenhang auf die Frage nach dem Hyalin einlassen; uns interessiert es nur mit Bezug auf die Bindegewebsfärbung, die Ernst einmal (l. c. S. 253) als purpurrot im Gegensatz zum scharlachroten, mehr gelblichen Hyalin beschreibt, während er an einem anderen Orte (S. 256) sagt, das gewöhnliche Bindegewebe sei ungefärbt oder pikringelb, das „sklerotische“, das zum Hyalin wird, rosa, das eigentliche Hyalin orangerot oder gelblich. Hier

---

<sup>1)</sup> Genauere Mischungsverhältnisse sind erst viel später von anderen angegeben.

ist also auch von keiner spezifischen Färbung des Bindegewebes die Rede. Überhaupt wird man sehen, wo van Giesons Methode in den späteren Jahren angewandt wurde, dass eine Eigenschaft ihr charakteristisch ist, nämlich die grosse „Geschmeidigkeit“, oft Launenhaftigkeit, indem die Farbenverteilung keineswegs konstant, sondern sehr wechselnd ist<sup>1)</sup>, was allen bekannt sein wird, die sich mit derselben beschäftigt haben. Obschon man häufig schöne, hie und da fast tadellose Differenzierung des Bindegewebes erhält, kann es sehr wohl geschehen, dass entweder die rote oder die gelbe Farbe zu weit geht; was ich über Unnas Säurefuchsin-Pikrinmethode bemerkte, gilt zum Teil in noch höherem Grade von van Giesons Methode. Es gelang mir auch nicht, wenn ich ein bestimmtes Verhältnis des Säurefuchsin zur Pikrinsäure anwandte, zuverlässige und konstante Resultate hinsichtlich des Bindegewebes zu erzielen<sup>2)</sup>. Zu meinen Bindegewebsuntersuchungen konnte ich diese Methoden also ebensowenig gebrauchen wie die anderen, sie gaben aber gewissermassen wieder einen Fingerzeig, dass die Farbkombination Säurefuchsin und Pikrinsäure die Möglichkeit darbot, eine zuverlässige, wenn man will, „spezifische“ Bindegewebsfärbung zu finden. Ich unternahm deshalb eine Reihe systematisch variiertter Versuche mit den beiden Farben, und 1895 gelang es mir, die endliche Methode zu finden, die ich bereits im Herbst 1898 publizierte<sup>3)</sup>.

Man kann das Säurefuchsin und die Pikrinsäure teils zur

---

1) Man vergl. z. B. die von den verschiedenen Autoren beschriebenen Farbeneffekte.

2) Es hatte keinen Zweck, mich auf alle verschiedenen Modifikationen der van Giesonschen Methode einzulassen, da keine der damals veröffentlichten besondere Vorteile darbot oder als Bindegewebsfärbung zuverlässig war; ihre Anwendbarkeit als gewöhnliche Tripelfärbung wird hierdurch nicht geschmälert.

3) Fr. C. C. Hansen: En paalidelig Methode til Farvning af Bindevævet. Hospitalstidende Nr. 42—1898. Kjöbenhavn (3. S.) und: Eine zuverlässige Bindegewebsfärbung. Anat. Anzeiger. XV. Bd. Nr. 9. 1898. S. 151—153.

zweimaligen, successiven Färbung, teils als Mischung beider Farben zu simultaner Färbung benutzen. Erstere Methode wird von Unna, letztere von van Gieson und anderen bevorzugt und von v. Gieson zugleich mit einer Vorfärbung mit Hämotoxylin kombiniert.

Es zeigt sich nun, dass die simultane Färbung in einer Mischung beider Farben weitaus den Vorzug verdient, weil die gleichzeitige Wirkung der beiden Farbstoffe auf die Gewebe deren verschiedene Affinität zu den Farben bedeutend grösseren Einfluss erhalten lässt, vorausgesetzt, dass diese dem Schnitte in angemessener Mischung geboten werden, was man natürlich ausprobieren muss. Ich versuchte viele verschiedene Variationen; die schliesslich gefundene Methode werde ich hier rekapitulieren, indem ich übrigens auf die frühere Publikation verweise.

1. Man bereitet eine Farbenmischung aus 100 ccm kalter konz. wässriger Pikrinsäure und 5 ccm 2% wässriger Säurefuchsinlösung, die im Dunkel oder in nicht gar zu starkem Lichte unbegrenzte Haltbarkeit besitzt. Will man färben, so setzt man zu 9 ccm dieser Lösung 1 Tropfen 2% Essigsäure (ca. 1 mg. Eisessig), also Eisessig zur Farbflüssigkeit wie 1: 9000. In dieser Lösung bleibt der Schnitt bis 20 Min., gewöhnlich genügen aber 1—2 Min. Andererseits liess ich Schnitte oft 24 Stunden ohne Nachteil, freilich auch ohne Nutzen, darin liegen. Die Art der Fixation kommt dann in Betracht, und das lange Liegen in der Farbflüssigkeit kann ich nicht empfehlen.

2. Mit einem Spatel oder einem ähnlichen Instrumente nimmt man den Schnitt aus der Farbflüssigkeit heraus, der anhaftende Überschuss derselben wird zum grössten Teil mittelst Filtrierpapiers aufgesaugt, und nun wird der Schnitt schnell (2—3—4 Sek.) in 3 ccm Aqua destill. abgespült, dem

man 2<sup>1)</sup> Tropfen der schwach essigsauen Flüssigkeit, in der man den Schnitt färbte, zugesetzt hat.

3. Man nimmt mit dem Spatel den möglichst geglätteten Schnitt heraus, saugt wieder schnell mittelst Filtrierpapiers möglichst viel der Flüssigkeit weg und bringt den Schnitt unmittelbar darauf in ca. 5 ccm 96 % Alkohol an, worin man ihn hin und her bewegt, damit die Farbe sich rasch fixiert. Nach 1 Min. wechselt man den 96 % Alkohol, in welchem der Schnitt<sup>2)</sup> nun ca. 2 Min. lang bleibt.

4. Der Schnitt wird jetzt in absolutem, ebenfalls einmal erneuertem Alkohol völlig entwässert. Gewöhnlich ist die Entwässerung in 2—5 Min. beendet.

5. Man bringt den Schnitt in Xylol (nicht in Öl), das man gleichfalls einmal wechselt.

6. Schliesslich legt man den Schnitt in die eben genügende Menge dicken Xylol-Kanadabalsams.

Nr. 2 und 3 sind jedenfalls für jeden Schnitt zu erneuern. Nr. 4 und 5 werden ziemlich häufig erneuert, besonders ist das letzte Quantum Xylol durchaus frei von Spuren von Alkohol zu halten. Man beachte ebenfalls, dass die essigsauere Farblösung sich verändert, wenn man mehrere grössere Schnitte in demselben Quantum färbt; die Lösung muss deshalb entsprechend oft gewechselt werden.

Die Resultate dieser Färbung sind folgende:

Das weisse Bindegewebe, das „Kollagen“, wird stark rot, die anderen Bestandteile des Schnittes, auch das Elastin, werden gelb.

Diese Methode ist meines Wissens einstweilen die einzige

---

1) Die Tropfen müssen so gross sein, dass 1 ccm nicht weniger als 20 giebt.

2) Alles ist auf mittelgrosse, höchstens 3—4 qcm grosse Schnitte berechnet; sind dieselben grösser, so muss man dem entsprechend grössere Quanta der Flüssigkeit nehmen.



einigermassen sichere und zuverlässige Farbenreaktion auf Bindegewebe. Die elektive Färbung tritt fast augenblicklich wie eine Reaktion ein.

Ich werde nun die Methode selbst und deren Anwendung ein wenig näher erörtern. Ausser der genannten Zusammensetzung der Farbflüssigkeit, auf die ich unten zurückkommen werde, sind es 3 Hauptpunkte, die **im Verein** die Methode in ihrer Wirkung sicher und konstant machen und ihr als Bindegewebsreaktion grössere Zuverlässigkeit verleihen als irgend eine andere Bindegewebsfärbung<sup>1)</sup>.

1. Der Zusatz der minimalen Essigsäuremenge zur Farbflüssigkeit. Wie dieser Zusatz eigentlich wirkt, darüber kann ich nur Vermutungen haben<sup>2)</sup>. Man sollte meinen,

---

1) Diese und die folgenden Seiten, die ich niedergeschrieben hatte, lange bevor ich J. Schaffers Bemerkungen über meine Bindegewebsfärbung (in der Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXVI, 2. S. 236) las, dürften eine genügende Beantwortung enthalten. Ich bemerke ausdrücklich, dass ich ebensowenig wie viele andere Histiologen Schaffers Artikel in der Wiener klin. Wochenschr. (1896, Nr. 45) kannte, als ich meine Methode publizierte; dasselbe gilt von dem von Schaffer citierten Aufsätze Terrazas aus 1896. Meine Methode war schon im Sommer 1895 ausgearbeitet, und sowohl ich als auch andere Forscher hier in Kopenhagen hatten längere Zeit hindurch mit derselben gearbeitet, bevor sie publiziert wurde, siehe l. c. Nach meiner Publikation habe ich mit Befriedigung gesehen, wie bald das eine, bald das andere Moment meiner Methode in verschiedene Verbesserungen der „v. Giesonschen Methode“ aufgenommen wurde, hoffentlich wird vorliegende Übersetzung meiner Arbeit dazu beitragen, dass eine ganze sichere „v. Giesons Methode“ endlich publiziert wird. (Siehe die verschiedenen Publikationen über „van Giesons Methode“ vor der Publikation meiner Artikel 1898).

2) Vergl. S. 634 u. f. Dass derselbe die Wirkung des Säurefuchsin verstärkt, ist sicher genug. Hiermit im Zusammenhang erwähne ich, dass ich gefunden habe, wie ein ähnlicher geringer Zusatz (1 Tr. zu 9 ccm) von 2% Essigsäure zu z. B. einer 1%igen Lösung des Eosins sehr empfehlenswert ist; die Färbung wird im Laufe ganz kurzer Zeit eine vollständige, ist weit mehr differenziert und elektiv und sitzt viel fester, sodass die Alkoholbehandlung ganz anders als sonst zur Differenzierung gebraucht werden kann. Setzt man aber zu viel Essigsäure zu, so wird das Eosin gefällt. Bekanntlich entfärben auch stärkere Säuren die Eosinfärbung oder fällen das Eosin.

dass die Pikrinsäure, die doch auch eine Säure ist, genügt; das thut sie aber nicht, wahrscheinlich u. a. weil die Pikrinsäure selbst zugleich färbend und dem Säurefuchsin gegenüber antagonistisch ist. Färbt man nämlich in einer Säurefuchsinlösung allein und setzt ein wenig irgend einer anderen Säure zur Farblösung, oder bringt man einen mit Säurefuchsin gefärbten Schnitt in eine schwache Säurelösung, z. B. von Salz-, Schwefel-, Essig-, Ameisensäure, so verstärkt sich die rote Farbe sehr erheblich und fixiert sich zum Teil noch mehr. Wird dagegen ein mit Säurefuchsin gefärbter Schnitt in konzentrierter Pikrinsäure gelegt, so färbt er sich gänzlich um, freilich nicht gleich schnell hinsichtlich aller Gewebe und am langsamsten, was das Kollagen betrifft; die gelbe Pikrinsäure dissociiert die Verbindung, die das Säurefuchsin mit den Geweben geschlossen hatte und geht eben wegen ihrer Eigenschaft als „Farbstoff“ eine neue gelbfarbige Verbindung ein.

Der Essigzusatz zur genannten Farbenmischung, die an und für sich gegen das Bindegewebe sehr elektiv ist, bewirkt die sichere<sup>1)</sup> und konstante Elektion selbst den feinsten Bindegewebsteilen gegenüber, wie auch die rote Farbe viel intensiver wird; wesentlich neu ist hier sowohl der Essigsäurezusatz als dessen Geringfügigkeit und Unentbehrlichkeit. Man darf nämlich nicht viel mehr Essigsäure als die angegebene, empirisch gefundene geringe Menge (ca. 1:8—9000) zusetzen; teils ist diese völlig genügend, teils bewirkt ein zu starker Zusatz der Säure, dass die rote Farbe auch auf andere Teile als

---

1) Diese Sicherheit der Färbung erweist sich ferner darin, dass man in manchen Fällen diese „essigsäure“ Farbflüssigkeit mit ein oder zwei Teilen Wasser verdünnen kann, wodurch das Verhältnis also nicht verändert wird, indem man übrigens wie gewöhnlich weiter verfährt; hierdurch erzielt man ebenfalls eine gute Differenzierung, die gelbe Farbe wird weniger intens, die Farbenverteilung aber annähernd gleichartig. Ich möchte dies aber nur unter Vorbehalt empfehlen; es geht nicht in allen Fällen sowie mit der ursprünglichen Färbung.

das Bindegewebe übergreift. — Andererseits ist der Essigsäurezusatz auch für die gelbe Pikrinsäurefärbung vorteilhaft, was sich u. a. dadurch erweist, dass die pikringelbe Farbe sich bei meiner Methode gegen die Alkoholbehandlung weit besser konserviert und an den Schnitten sich eben da, wo sie sein soll, besser fixiert hat, als bei den anderen Färbungen mit Säurefuchsin-Pikrin. — Entbehren lässt sich der Essigsäurezusatz absolut nicht (vgl. unten).

Hat der Schnitt sich in der Farbenmischung gefärbt, so kann man ihn an und für sich gern in der Farbflüssigkeit selbst untersuchen, denn die Differenzierung ist der Hauptsache nach vorhanden; ich sage „der Hauptsache nach“, denn die vollständige Differenzierung wird eigentlich erst angetroffen, wenn der Schnitt die beiden folgenden Stadien passiert hat. So zeigt sich die Färbung gewisser unzweifelhaft echter Bindegewebs- („Kollagene-“) Bestandteile nicht entschieden in der wässerigen Lösung; ganz feine unzweifelhafte Bindegewebsfasern können ziemlich farblos, ja sogar gelb aussehen, weil die Pikrinsäure ihre latent vorhandene „rote“ Färbung geradezu verdeckt<sup>1)</sup>. Dass dem so ist, lässt sich am besten durch Untersuchung eines und desselben Schnittes in den verschiedenen Stadien der Färbung ansehen; man wird dann oft sehen können, dass erst nach der Alkoholbehandlung, wenn der Schnitt in Xylol oder (am liebsten) in Balsam liegt, früher schwach oder gar nicht rotgefärbte Elemente, die ganz unzweifelhaft dem Bindegewebe angehören, jetzt die kräftige rote Farbe zeigen. Um den im Schnitte befindlichen Überschuss der Farbflüssigkeit zu entfernen, ist derselbe in Wasser abzu-

---

<sup>1)</sup> Eine analoge Erscheinung entsteht bei der Tripelfärbung des Knorpels mit saurem Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Liegt der farbige Schnitt in dem nicht gelben absoluten Alkohol, und ist die Differenzierung (d. h. die Alkoholauszüehung) der blauen Farbe eine angemessene, so zeigt der Schnitt weit geringere Ausdehnung und Intensität der blauen Farbe, als nachdem er in Xylol gebracht ist.

spülen; nimmt man hierzu aber reines Wasser, so treten fast augenblicklich Änderungen der Färbung ein, und die Erfahrung lehrte mich, dass man dem dissoziierenden Einflusse, den das reine Wasser auf die im Schnitte erzeugten Farbenverbindungen übt, ganz einfach dadurch entgegenwirkt, dass man

2. das Spülwasser vorher mit ein wenig der Farbflüssigkeit selbst versetzt<sup>1)</sup>. Hierdurch wird die Dissoziation der Farbenverbindungen um so viel verzögert, dass im Laufe der kurzen Zeit (3—4 Sek.), die erforderlich ist, um den Farbenüberschuss aus dem Schnitte zu entfernen, keine merkbare Änderung der erreichten Farbenverteilung eintritt. Die Folge der Einwirkung des Wassers auf den Schnitt oder der gar zu langen Einwirkung der verdünnten Farbflüssigkeit ist die, dass die Färbung des Schnittes ungleichmässig wird, und dass die rote Farbe die Tendenz hat, sich über andere Teile als das Bindegewebe auszubreiten.

3. Die erzielte Färbung wird schliesslich durch Behandlung in 96 % Alkohol fixiert und ausgeprägt. Das Wichtigste ist hier, dass der Schnitt unmittelbar in den starken Alkohol gelangt, der nach der Behandlung mit der angegebenen Farbflüssigkeit auf mehrfache Weise differenzierend wirkt. In starkem Alkohol ist die Pikrinsäure ja sehr leicht löslich, das Säurefuchsin dagegen sehr schwerlöslich, obschon ein geringer Teil desselben

---

<sup>1)</sup> Es geht nicht an, zu räsonnieren, es bliebe dem Schnitte doch stets etwas der Farbflüssigkeit anhaften, und beim Abspülen werde das Wasser in der That durch diesen Überschuss gefärbt, weshalb die Wirkung dieselbe werde wie bei vorhergehender Zusetzung der Farbflüssigkeit. Dies mag recht plausibel aussehen, die Erfahrung zeigt aber, dass die Färbung dann gewöhnlich eine sehr ungleichmässige wird, indem das Spülwasser sich nie gleichmässig stark färbt und die verdünnte Farblösung in verschiedener Konzentration und Dauer auf die verschiedenen Teile des Schnittes einwirkt. Natürlich kann die Übung etwas zum Anpassen der Verhältnisse helfen, dann und wann kann man selbstverständlich ein gutes Resultat erhalten, konstant wird dieses aber nur, wenn man wie von mir angegeben verfährt.

sich darin lösen kann. Der Alkohol wird daher so wirken, dass er Pikrinsäure auszieht, so dass sie mit einer Spur von Säurefuchsin in Lösung geht, dem Teile des Säurefuchsin's nämlich, der dem Schnitte anhaftete und nicht an das Bindegewebe gebunden war, denn dieser Teil wird nicht vom Alkohol dissoziiert. Nun ist aber auch die Pikrinsäure zum Teil an das Bindegewebe gebunden (die anderen Gewebsbestandteile lassen wir hier ausser Betracht), namentlich an die „mucinöse“ und eiweisshaltige (seröse) „Flüssigkeit, die dasselbe durchdringt<sup>1)</sup>, weshalb die vorhandene Färbung des Bindegewebes (besonders der feineren Strukturen), wie oben berührt, zum Teil verdeckt werden kann. Indem die Pikrinsäure nun zuvörderst hier ausgezogen wird, kommt die rote Bindegewebsfärbung immer mehr zum Vorschein, d. h. sie wird kräftiger. Zugleich fixiert der Alkohol das Säurefuchsin noch mehr an den Bindegewebsfibrillen, und ausserdem wirkt das bisschen im Alkohol aufgelöste Säurefuchsin auch noch färbend auf das Bindegewebe.

Schon bei meinen allerersten Experimenten mit dieser Bindegewebsfärbung hatte es meine Aufmerksamkeit erregt, dass man durch einen „passenden“ Zusatz von Pikrinsäure oder Säure-

1) Überhaupt wird man finden, dass das Vorhandensein solcher Bestandteile oft eine ziemlich entschiedene „Pikrophilie“, wie ich es nenne, bedingt, dabei können die „pikrophilen“ Bestandteile aber bei anderen Färbungen oft ziemlich stark basophil sein. Bindegewebe, das von mucinöser oder seröser Flüssigkeit stark durchdrungen ist, zeigt häufig viel geringere oder gar keine Affinität zum Säurefuchsin bei der Bindegewebsfärbung; ähnliches ist bei starker Durchsetzung mit eiweisshaltiger Flüssigkeit, z. B. in pathologischen Geweben anzutreffen; hier treten dann oft pikrophile Stellen auf. — Zuweilen gelingt es bei zweckmässiger und vorsichtiger Behandlung, z. B. mit schwachen Alkalien, eine solche Stelle normal, wie anderes Bindegewebe, gefärbt zu bekommen. Ich war imstande, diese Pikrophilie an gewissen Stellen des Bindegewebes zu erzeugen, indem ich dieses fleckenweise mit einer Eiweisslösung durchtränkte und es erwärmte. Diejenigen Stellen, die von der Eiweisslösung gut durchgetränkt worden waren, erschienen nun stark pikrophil, d. h. sie nahmen, im Gegensatze zum übrigen Bindegewebe, das Säurefuchsin nur schwach oder gar nicht an, färbten sich dagegen gelb. Eine gewissermassen ähnliche Maskierung des Bindegewebes in tinktorieller Beziehung haben wir in der hyalinen Knorpelgrundsubstanz.

fuchsin-Pikrinsäure zum Alkohol gelegentlich die Färbung „verbessern“ konnte; nachdem ich aber die verschiedenen Momente gefunden hatte, welche die Färbung sicher machen, habe ich nie nötig gehabt, meine Zuflucht zu diesem Mittel zu nehmen, dessen Anwendung ich jetzt nur abraten kann, denn man setzt sich leicht der Gefahr aus, im Schnitte zu viel oder zu wenig entweder der gelben oder der roten Farbe zu erhalten.

Ist die Differenzierung ein einzelnes Mal wegen Fahrlässigkeit weniger wohl geraten, so lässt sich in vielen Fällen Abhilfe schaffen, indem man die Vorgänge in umgekehrter Ordnung wiederholt; ist der Alkohol nur gut ausgewaschen, so legt man den Schnitt wieder in die Farblösung, und nach Verlauf einiger Zeit wird die richtige Differenzierung in der Regel wieder eintreten, worauf man den Schnitt weiter behandelt wie sonst.

Es ist von Wichtigkeit, dass im Schnitte nicht zu viel Pikrinsäure, nicht mehr als die eben notwendige, zurückbleibt, denn sonst wird die rote Färbung allmählich zerstört, selbst wenn der Schnitt in Balsam gelegt ist. Die Sache ist die, dass die Pikrinsäure, wie leicht demonstrierbar, stets, wenn auch nur in geringer Menge, in Xylol löslich ist, besonders wenn eine kleine Spur von Alkohol am Schnitte hangen geblieben ist. Im Xylol-Balsam geht dann eine Entfärbung vor, indem die Pikrinsäure, freilich sehr langsam, das Säurefuchsin verblasst und schliesslich verdrängt. Nach Verlauf einiger Jahre sind solche Präparate abgeblichen und zu feineren Studien unbrauchbar. Je mehr die Pikrinsäure ausgezogen ist, um so besser erhalten sich die Präparate, aus verschiedenen Gründen ist es indes wünschenswert, so viel gelbe Färbung der anderen Bestandteile des Schnittes zu haben, dass deren mikroskopische Untersuchung nicht unmöglich gemacht wird.

Je weniger und je dickeren Balsam man zum Einschliessen des Schnittes gebraucht, um so besser ist es, denn um so schwieriger löst sich die Pikrinsäure.

[Wohl zu beachten ist, wie Schaffer l. c. hervorgehoben hat, dass das Alkali des Glases die rote Farbe zu schädigen vermag; ich kann hierzu bemerken, dass oft solche Präparate sich gut halten, wo die Objekt- und Deckgläser mit Batterieflüssigkeit (Wasser + Schwefelsäure und Bichromas kalicus) gereinigt waren, auch die Fixation und sonstige Vorbehandlung des Materials und besonders die Pikrinsäure spielen aber ja, wie oben gesagt, eine Rolle.]

Schliesslich werde ich nun auseinandersetzen, weshalb ich die genannte Konzentration der Farbflüssigkeit wählte, und unter welchen Bedingungen die Methode eine spezifische Farbenreaktion auf das Gewebe zu nennen ist. Die oben von mir angegebene Konzentration der Farbflüssigkeit, nämlich 5 ccm 2 % Säurefuchsin zu 100 ccm kalt konz. Pikrinsäure, enthält 1 % Säurefuchsin in konz. Pikrinsäure gelöst, die bei 15—20° C etwa 1,15—1,20 % Pikrinsäure enthält. Bei dieser Konzentration der Farbstoffe und unter Beobachtung der Regeln, die ich oben in Betreff der Anwendung derselben gegeben habe, färben sich, soweit ich bisher zu sehen vermocht habe, nur das Bindegewebe und einzelne nahverwandte Substanzen; es ist absolut abzuraten, den Gehalt an Säurefuchsin geringer zu machen, denn die rote Farbe wird dann, selbst bei protrahierter Färbung, gar zu schwach. Durch eine Reihe von Versuchen fand ich 1 % Säurefuchsin als die niedrigste Grenze und als diejenige Konzentration, welche die allgemeinste Anwendung verdient, denn wie angegeben, kann man sehr lange darin färben, ohne gar zu starke Färbung besonders befürchten zu brauchen.

In der Regel ist die Färbung nicht aufgeklebter Schnitte vorzuziehen<sup>1)</sup>, die Färbung wird dann viel mehr energisch und durchaus gleichmässig; die Farbe lässt sich indes auch sehr wohl für aufgeklebte Schnitte benutzen, es sind dann

---

<sup>1)</sup> Also Celloidin — oder nicht aufgeklebte Paraffinschnitte.

aber geeignete Vorsichtsmassregeln bei den Manipulationen (Nr. 2 und 3) erforderlich, um das durchaus gleichmässige Abspülen der Farbflüssigkeit u. s. w. zu garantieren. Giebt es Stellen, die sich nicht an das Glas festgeklebt haben, oder die sich in Bläschen ein wenig emporgehoben haben, so muss man darauf vorbereitet sein, dass diese Stellen sich intensiver rot färben als die anderen Teile; ausserdem wird die rote Farbe an aufgeklebten Schnitten gewöhnlich wohl nicht ganz so kräftig wie bei der Färbung der freien Schnitte. Wo es gilt, die Reaktion auf das Bindegewebe bei sehr feinen Strukturen und in zweifelhaften, neuen oder unbekannten Fällen zu konstatieren, sollte man prinzipmässig immer die Färbung freier Schnitte anwenden.

Will man, wie ich es that, die Färbung als Bindegewebsreaktion benutzen, so darf dieselbe nicht mit Hämatoxylin, Karmin oder mit solchen Farben kombiniert werden, die mit Säurefuchsin-Pikrin zusammen rote Töne geben können. Es giebt viele Fälle, wo rote Töne in den Geweben von einer Mischfarbe des Hämatoxylins und der Säurefuchsin-Pikrinsäure herrühren und auf diese Weise Bindegewebe simulieren. Nehmen wir ein Beispiel: Amyloid-Substanz färbt sich nach meiner Methode gelb, wie es sich gehört, giebt man dem Schnitte aber eine Vorfärbung mit Hämatoxylin, so färbt die amyloide Substanz sich rötlich. Analoge Verhältnisse sind in vielen anderen Fällen zu finden, z. B. bei der hyalinen Degeneration (ich rede hier nicht von Fällen<sup>2)</sup>), die das Pseudohyalin, das hyalinisierte und kondensierte Bindegewebe und dgl. betreffen). Ebenso kann bei dickeren Schnitten ein orangegelber Ton gewisser Elemente in dickeren Partien bei schwacher Vergrösserung ganz scharlachrot aussehen u. s. w.

Ein anderes ist, dass man mit grossem Vorteil die Kombi-

---

<sup>1)</sup> Vgl. hierüber Fr. C. C. Hansen: Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. A. A. Bd. 16 1899. S. 437—38.



nation mit Hämatoxylin (wie bei van Gieson-Ernsts-Methode) als gewöhnliche Tripelfärbung benutzen kann und dennoch in vielen Fällen der roten Färbung, als Anzeichen von Bindegewebe, nicht zu misstrauen braucht; der Kontrolle wegen sollte man aber nie unterlassen, einen Schnitt mit Säurefuchsin-Pikrin allein zu färben.

Zu meinen eigenen Untersuchungen gebrauchte ich in grossem Massstab auch etwas stärkere Konzentrationen der Farbflüssigkeit, nämlich  $7\frac{1}{2}$  ccm 2% Säurefuchsin zu 100 ccm konz. Pikrinsäure, d. i.  $1\frac{1}{2}$ ‰ Säurefuchsin; diese giebt ganz dieselben Resultate, jedoch intensivere Säurefuchsinfarbe in mehreren Fällen, wo das Bindegewebe wegen starker Mucinhaltigkeit, wegen der Art der Fixierung u. s. w. zur roten Farbe geringere Affinität zeigt als normal; wendet man aber die Konzentration  $1\frac{1}{2}$ ‰ Säurefuchsin, oder wie es in einigen Fällen zweckmässig sein kann, 10 ccm 2% Säurefuchsin zu 100 ccm, also ca. 2‰ an, so darf man in der Regel nicht mehr als 5 Min., oft nur 1 Min. oder noch kürzere Zeit lang färben<sup>1)</sup>. Wo es sich nicht so sehr darum handelt, zu entscheiden, ob einige Fibrillen oder ähnliche Teile bindegewebsartiger Natur sind, sondern darum, diese aus optischen Gründen möglichst intensiv gefärbt zu erhalten, da kann man die Konzentration 2‰ oder sogar 3‰ überschreiten; es ist aber nicht zulässig, aus den hierdurch entstandenen Ergebnissen der Färbung unbedingt zu schliessen, etwas sei Bindegewebe oder auch nicht. Die Dauer des Färbens ist in diesen Fällen natürlich ad libitum.

Die beiden Konzentrationen 1‰ und  $1\frac{1}{2}$ ‰ des Säurefuchsin, die ich empfehle, zeichnen sich also dadurch aus, dass sie im Laufe hinlänglicher Zeit

---

<sup>1)</sup> Denn sonst hat man in einigen, nicht in allen Fällen zu befürchten, dass die rote Farbe sich über noch anderes als das Bindegewebe ausbreitet.

nur das Bindegewebe rot färben. Verstärkt man die Konzentration, so erhält man andere Resultate der Färbung, indem dann die Affinitäten des Säurefuchsin sich, wie oben berührt, im Verhalten zu den anderen Gewebsbestandteilen gegen die Affinitäten der Pikrinsäure geltend machen können; es gelingt dann mittelst des Säurefuchsin Nervenfasern (Achsen-cylinder), Glia, Elastin, Muskeln, Protoplasma und Zellausläufer (mit verschiedener Geschwindigkeit rücksichtlich der verschiedenen Zellarten), Kerne, Epithelien, die Kittsubstanz zwischen den Epithelien, Keratin und Keratohyalin u. s. w., rote Blutkörperchen, Sekrete u. s. w. zu färben. Unter einer langen Reihe von Versuchen, die ich in dieser Beziehung angestellt habe, führe ich, um das Verhalten zu illustrieren, nur eine einzige Serie an, welche die Reciprocität der beiden Farben in der Mischung zeigt. Das Folgende handelt alles von der gegenseitigen Dissoziation der Verbindungen dieser beiden Stoffe mit den Geweben, oder ist zu betrachten als ein Fall des **von den Masseverhältnissen abhängigen variierenden Gleichgewichts** zwischen festen Stoffen (Fasen) (d. h. den Verbindungen der Farben mit den Geweben) und Lösungen (flüssigen Fasen). Um eine Art von Begriff von dem relativen Färbungsvermögen der Pikrinsäure und des Säurefuchsin zu bekommen, wählte ich zum Ausgangspunkte einer Versuchsreihe eine wässrige Lösung, die etwa <sup>1)</sup> eine gleich grosse Anzahl Moleküle beider Farbstoffe enthält.

Die Formel der Pikrinsäure ist  $C_6H_2(NO_2)_3OH$ , ihr Molekulargewicht = 229, das des Säurefuchsin (des sauren Natriumsalzes der Rosanilindisulfonsäure) <sup>2)</sup> ist auf etwa 500 anzusetzen.

---

<sup>1)</sup> Die Konzentration der Pikrinsäure wechselt ein wenig nach der Temperatur, für meinen Zweck war es praktisch aber ohne Bedeutung, absolut genaue Gewichtsmengen zu erhalten. Ich sehe deshalb auch von einer geringeren Menge hygroskopisch gebundenen Wassers und vorläufig von der elektrolitischen Spaltung ab.

<sup>2)</sup> Die Trisulfonsäure giebt eine etwas höhere Molekularzahl, ca. 600.

Setzt man das Grammmolekül der Pikrinsäure = 230, das des Säurefuchsin = 500, so ist eine Lösung, die 2,30 Gramm Pikrinsäure und 5,00 Gramm Säurefuchsin in 200 Gramm Aqu. destill. bei 15° C. enthält, eine fast isomolekulare Lösung des Säurefuchsin in konz. Pikrinsäure zu nennen, da eine konz. Lösung der Pikrinsäure bei 15° fast genau 1,15% ist.

Verdünt man diese isomolekulare Lösung von Säurefuchsin und Pikrin allmählich mit einer konz. Pikrinsäurelösung<sup>1)</sup>, so kann man eine Reihe von Farblösungen erhalten, von denen man annähernd die relative Anzahl der Moleküle der beiden Farbstoffe kennt. Es bezeichne S.F. ein Molekül des Säurefuchsin, S.P. ein Molekül der Pikrinsäure; verdünnt man nun fortwährend ein Volum Farbfüssigkeit mit z. B. dem ebenso grossen Volum konz. Pikrinsäure, wodurch man also jedesmal die Anzahl der Pikrinsäuremoleküle im Verhältnis zu den Säurefuchsinmolekülen verdoppelt, so bekommt man eine Reihe von Farbfüssigkeiten, deren relative Anzahl der Moleküle folgende ist

- |                      |                              |
|----------------------|------------------------------|
| 1. (SF) <sub>1</sub> | } isomolekulare Stammlösung. |
| (SP) <sub>1</sub>    |                              |
| 2. (SF) <sub>1</sub> |                              |
| (SP) <sub>2</sub>    |                              |
| 3. (SF) <sub>1</sub> |                              |
| (SP) <sub>4</sub>    |                              |
| 4. (SF) <sub>1</sub> |                              |
| (SP) <sub>8</sub>    |                              |
| 5. (SF) <sub>1</sub> |                              |
| (SP) <sub>16</sub>   |                              |

Ihr prozentischer Gehalt an Pikrinsäure ist stets 1,15; ihr prozentischer Gehalt an Säurefuchsin variiert, wie folgt:

---

<sup>1)</sup> Man kann natürlich auch den entgegengesetzten Weg einschlagen, was in diesem Zusammenhang indes weniger Interesse hat.

1. 2,50 ‰
2. 1,25 ‰
3. 0,62 ‰
4. 0,31 ‰
5. 0,15 ‰

Ich färbte nun gleichartige Schnitte desselben Materials in jeder dieser Farbflüssigkeiten, untersuchte mittelst des Mikroskops die Resultate der Färbung und variierte zugleich die Art des Materials und der Fixierung, so dass ich eine Übersicht über den Einfluss dieser Faktoren auf die Resultate der Färbung in den verschiedenen Flüssigkeiten erhielt.

Die durch die Fixierung bedingten Differenzen sind nicht so eingreifend; ich komme später auf dieselben zurück. Was die Bedeutung der Zusammensetzung der Farbflüssigkeiten betrifft, werde ich in aller Kürze die wichtigsten Färbungs-Resultate für jede der fünf Farbflüssigkeiten nennen. Die Versuche wurden so ausgeführt, dass ein Schnitt mit möglichst wenigem anhaftendem Wasser in der fraglichen Kombination von Säurefuchsin und Pikrin in Wasser ohne Zusatz von Essigsäure gefärbt wurde<sup>1)</sup>, die Dauer der Färbung war anfangs bei allen Flüssigkeiten sehr kurz, nämlich 20 Sekunden; der Schnitt wurde unablässig hin und her bewegt, das Abspülen der überflüssigen Farbflüssigkeit geschah sehr schnell in ca. 3 ccm Aqu. destill. mit Zusatz von ein paar Tropfen der betreffenden Farblösung, und ganz wie bei der angegebenen normalen Methode wurde in Alkohol 96 ‰ übergeführt u. s. w.

**Nr. 1.** (SF)<sub>1</sub>(SP)<sub>1</sub>, isomolekulare Lösung (2,5 ‰ SF).

Alles war mehr oder weniger stark rotgefärbt (kirschrot), nur die quergestreiften Muskeln hatten einen kleinen orange-farbenen Ton ins Rote.

---

<sup>1)</sup> Selbstverständlich probierte ich bei diesen und anderen Kombinationen u. a. auch Essigsäure auf die angegebene Weise zuzusetzen, ebenfalls variierte ich die Zeitdauer.

**Nr. 2.**  $(SF)_1(SP)_2$  (1,25 % SF).

Das Bindegewebe stark kirschrot.

Das Elastin rot.

Die Kerne rot (namentlich der Kernsaft).

Die (quergestreiften und glatten) Muskeln dunkelorange.

Die Epithelzellen (Pflaster-) orange und ein wenig rot.

Die „Kittsubstanz“ zwischen denselben rot oder rot-orange.

Das Protoplasma der Bindegewebszellen orange mit rotem Ton.

Die roten Blutkörperchen rotorange.

Das Keratohyalin rot (scharlachrot).

Die Nerven, Achsencylinder, rot.

Das Myelin orange.

Die mucinösen Substanzen rötlich.

**Nr. 3.**  $(SF)_1(SP)_4$  (0,62 % SF).

Jetzt tritt das Gelb mehr hervor.

Das Bindegewebe stark karminrot.

Das Elastin rot oder rotorange.

Die Kerne rotorange.

Die Muskeln orange oder gelborange.

Die Epithelzellen (besonders das Pflasterepithel) gelb-orange oder orange mit ein wenig Rot.

Die Kittsubstanz zwischen den Epithelien orange und orangerot.

Das Keratohyalin orangescharlach und scharlach.

Das Protoplasma der Bindegewebszellen u. s. w. gelborange oder rötlich.

Die roten Blutkörperchen orange.

Die Achsencylinder scharlach oder orangerot.

Das Myelin orange.

**Nr. 4.**  $(SF)_1(SP)_8$  (0,31 % SF).

Das Gelb gewinnt nun immer mehr die Oberhand, und bei

der kurzdauernden Färbung wird die Differenzierung in der Hauptsache der normalen immer mehr ähnlich.

Das Bindegewebe (Kollagen) stark rot, aber nicht ganz so dunkel.

Das Elastin gewöhnlich gelb oder gelborange.

Die Kerne sind entweder gelborange oder enthalten nur sehr wenig rot.

Die Muskeln gelb.

Die Epithelien gelb (nur stellenweise ein wenig rötlich).

Die Kittsubstanz gelb (hie und da mit ein wenig rot).

Das Keratohyalin gelb (stellenweise ein wenig orange oder orangerötlich).

Das Protoplasma der Bindegewebszellen und der Endothelien der Gefäße gelb, einige Bindegewebszellen doch mit ein wenig rot.

Die Achsencylinder gelb oder orange.

Das Myelin gelb.

Die roten Blutkörperchen gelb, gelborange oder orangerot.

**Nr. 5.** (SF)<sub>1</sub>(SP)<sub>16</sub> (0,15% SF).

Das Gelb gewinnt noch mehr die Oberhand, das Rot wird schwächer, das Bindegewebe z. B. scharlachrot oder schwächer rot.

Die Farbe sonst gelb, ein wenig Orange oder schwaches Scharlachrot an einzelnen Stellen abgerechnet.

Das Rot zeigt also entschiedene Neigung, sich in allen Farbmischungen im kollagenen Bindegewebe zu fixieren. Die Kombination, die unter den angegebenen Bedingungen, kurzdauernder Färbung u. s. w. das beste Resultat giebt, ist Nr. 4, eine Mischung, die für 1 Molekül Säurefuchsin 8 Moleküle Pikrinsäure enthält (0,31% SF).

Wird die Dauer der Färbung aber verlängert, so hat das Rot sehr starke Neigung, sich auszubreiten, Nr. 5 ausgenommen;

wie ich aber oben entwickelte, ist keine der Kombinationen ohne Zusatz von Essigsäure in ihren Wirkungen durchaus konstant, namentlich lassen die Details dann und wann viel zu wünschen übrig.

Durch Zusatz von Essigsäure in minimaler Menge verstärkt sich die Affinität des Säurefuchsin zum Bindegewebe und, in geringerem Grade, zu den übrigen Geweben, so dass die Töne röter werden; ich hatte also empirisch solche Verhältnisse der Pikrinsäure zum Säurefuchsin gewählt, bei denen die grössere Affinität des letzteren zum Bindegewebe sich innerhalb eines nicht gar zu kurzen Zeitraumes am besten auf dieses Gewebe **allein** hinlänglich geltend machen konnte, so dass reichlicher Spielraum war, um die Färbung um den geeigneten Zeitpunkt zu unterbrechen. Das Säurefuchsin ist nämlich eine höchst progressive Farbe, während die Pikrinsäure in Mischung mit einer genügenden Menge Säurefuchsin (die Grenze liegt unter 1:15 Mol.) bei noch so langer Dauer der Färbung nichts anderes färbt, als was sie schon im Laufe der ersten 10—15 Sek. gefärbt hat.

Jedoch war es, wie die Versuche mit noch anderen Mischungsverhältnissen der Komponenten zeigten, nicht möglich, durch starke Vermehrung der Pikrinsäuremenge eine exklusive und gleichzeitig hinlänglich intense Färbung des Bindegewebes zu erzielen, denn das Rot bleibt dann allerdings nur im Bindegewebe, die Farbe wird aber sehr blass oder orange und wird aus den feinsten Bindegewebsfasern vertrieben (vgl. die Bemerkungen zu Unnas Methode).

Die verschiedenen Fixierungen haben relativ geringen Einfluss auf die Färbung, in der Regel handelt es sich nur um kleine Variationen der Intensität der Färbung, die sich leicht durch Verlängerung der Dauer oder durch Anwendung einer ein wenig veränderten Lösung, z. B.  $7\frac{1}{2}:100$ ,

wie ich angegeben habe, ausgleichen lassen. Ich habe die Methode an fast allen üblichen Fixierungen geprüft, und erhebliche Abweichungen fand ich nur in einem einzelnen Falle, nämlich bei Fixierung mit chromsauren Salzen (Liq. Mülleri, Liq. Zenkeri) und Chromsäuremischungen, wo das Chrom nicht hinlänglich ausgewaschen worden war. Es kann dann nämlich bei der Konzentration 0,15 % SF eine Neigung der Kerne und der Protoplasmafibrillen entstehen, ein wenig der roten Farbe anzunehmen, ebenfalls können die Achsencylinder und die Nervenzellen sich rot färben<sup>1)</sup>. Dies beruht darauf, dass das Chrom bei ungenügendem Auswaschen für das Säurefuchsin beizt. Am besten wendet man bei solchen Fixierungen die Farblösung 5 ccm : 100 ccm und 5 Min. dauernde Färbung, oder auch kurze Färbung (ca.  $\frac{1}{2}$  Min.) in  $7\frac{1}{2}$  : 100 an. Was die Beschaffenheit des Materials betrifft, so muss dieses möglichst gut konserviert sein. Lokales oder oberflächliches Eintrocknen, starkes Einschrumpfen, kadaveröse Veränderungen u. s. w. der Gewebe verändern die Tingibilitätsverhältnisse oft gänzlich und machen die Färbung der in Frage stehenden Partie unzuverlässig. Die Schnitte dürfen ferner nicht gar zu dick und auch nicht ungleich dick sein, denn dann giebt die Einwirkung der verschiedenen Flüssigkeiten allzu grosse Differenzen. Die Oberflächen dürfen nicht gerne gar zu faserig oder rauh sein (scharfe Messer!), weil das mechanisch stark Veränderte der Gewebe sich oft abweichend (gewöhnlich mehr rot) färbt, und die Oberflächen mithin mehr oder weniger unzuverlässig werden.

Noch ein paar andere Umstände bei dieser Färbung verdienen Erwähnung, nämlich:

1. Ist diese Färbung dem Bindegewebe spezifisch und
2. beruht sie auf physischen oder auf chemischen Vorgängen?

---

<sup>1)</sup> Man beachte, dass v a n G i e s o n seine Färbemethode ja gerade zu diesem Zwecke für im Liq. Mülleri gehärtete Objekte empfahl!



Die erstere Frage ist eine rein empirische, und in dieser Beziehung kann ich nur wiederholen, was ich früher (l. c. 1898) gesagt habe; ich und andere Forscher, die diese Methode an sehr verschiedenartigem Material benutzt haben, fanden sie durchweg zuverlässig, welchen Ausdruck ich lieber anwende als das Wort „spezifisch“.

Unter der Voraussetzung, dass man die von mir im vorhergehenden besprochenen Bedingungen berücksichtigt, erweist es sich, dass die Resultate sich mit den strukturellen und den übrigen histiologischen Verhältnissen in guter Übereinstimmung befinden, und jedesmal, wenn die Methode unerwartete und scheinbar abweichende Resultate gab, ist es mir in den meisten Fällen gelungen, zu ermitteln, dass die Abweichung nur eine scheinbare war; mehrmals zeigte es sich, dass gerade solche Abweichungen, wenn man ihrer Ursache nachspürte, den Schlüssel zu nicht unwichtigen histiologischen Problemen und Verhältnissen enthielten. Nehmen wir ein einzelnes Beispiel. Es war mir oft sehr auffallend und lange unerklärlich, dass in gewissen Knorpeln oder Knorpelpartien die peripheren Gegenden und ein Teil der Fasersubstanz der „Zellen“ sich konstant rot färbten, andere Zellen in demselben Schnitte aber nicht. Selbstverständlich war ich sehr ungeneigt, dies sogleich als ein Anzeichen des Vorhandenseins von Bindegewebe (Kollagen) zu betrachten, und vermutete vielmehr, es sei Fehlern der Methode oder der Konservierung des Materials zu verdanken; später gelang es mir aber, Beweise zu finden, dass hier wirklich eine Umbildung von den peripheren Gegenden der Zellen und von Teilen ihrer Fasersubstanz in echte Bindegewebsfibrillen stattfand. Dass unter Umständen, die sich nicht immer sogleich erklären oder nachweisen lassen, scheinbare (oder vielleicht auch wirkliche) Abweichungen der von der Methode gegebenen Resultate entstehen, ist eigentlich also nicht sonderbar; dass es überhaupt gelungen ist, eine solche in relativ hohem Grade spezifische

Färbemethode für das Bindegewebe zu finden, scheint mir aber dafür zu sprechen, dass es recht charakteristische, chemische Verhältnisse des Bindegewebes oder des kollagenen Gewebes sein müssen, die die Elektion der Färbung bedingen.

Es ist ja noch ein ständiger Streit unter den Histiologen (und wohl auch unter den Farbenchemikern), ob die Färbungen, in diesem Falle die mikroskopischen, als auf „chemischen“ oder auf „physischen“ Vorgängen beruhend zu betrachten sind. Ohne mich auf diesen Streit näher einzulassen, was gar zu weit führen würde, will ich hier als meine persönliche Auffassung dieser Frage aussprechen, wie die weit überwiegende Wahrscheinlichkeit nur dafür zu sprechen scheint, dass die Mehrzahl der mikroskopischen Färbungen wesentlich chemischer Natur ist. Ich stehe in dieser Beziehung auf einem ähnlichen Standpunkte wie dem, welchen Paul Mayer (150) in einem Streite mit B. Rawitz (186) über die Kernfärbungen einnimmt, und welchen Unna (273) mehrmals entwickelt hat, wenn ich letzterem Autor auch nicht in allen Stücken zu folgen vermag. Wir haben jedenfalls mit sehr komplizierten Verhältnissen zu thun, nur in den wenigsten Fällen unserer Färbungen möchten die Verhältnisse das Gegenteil anzeigen. Leicht dissociable, jedoch echt chemische Verbindungen der Farbstoffe mit den Geweben können „rein physische“ Bindungen simulieren („Oberflächenattraktion“, „Adsorption“); hierzu kommt aber, dass die Grenze zwischen physischen und chemischen Vorgängen eigentlich schwer zu ziehen ist. Eine grosse Menge von Prozessen, die freilich nicht von Fachchemikern, deutlich genug aber von vielen Histiologen (und Mikroskopikern) als „rein physische“ aufgefasst werden, sind in der That komplizierte chemische Vorgänge, bei denen entweder keine tiefergehende Zerteilung der Moleküle stattfindet oder auch der Vorgang sich relativ leicht

umkehren lässt, auch durch Mittel, die beim ersten Anblick den Anschein haben können, dass sie nur physisch wirken. Dissociation, Association, Ionisierung u. s. w. spielen hier gewiss eine grosse Rolle<sup>1)</sup>. Endlich ist nicht zu vergessen, dass unsere Farbstoffe zum Teil und ganz sicher die tierischen Gewebe sehr komplizierte Verbindungen und Mischungen sind, die, namentlich was die Gewebe betrifft, die Möglichkeit einer Menge verschiedener „Bindungsmodi“ darbieten. Die Tingibilitätsverhältnisse der Gewebe sind ja nichts weniger als einfach<sup>2)</sup>, dies steht aber gewiss damit in Verbindung, dass die Tingibilität, worunter man das Verhalten des Gewebes oder des Elementes gegen die verschiedenen Farbstoffe versteht, die Resultante mehrerer, gewöhnlich vieler chemischen Affinitäten ist<sup>3)</sup>. Es sei nun das normale Verhalten als das häufigste gegeben, wo die wichtigsten Affinitätskomponenten

---

1) Es fehlt mir an Anregung dies und das folgende weiter auszuführen, um nach dem beherzigenswerten Recepte, „wenig Thatsachen — viel Theorie“, meine farbechemische und physikalisch-chemische Lektüre zu zeigen. Aber auch ich habe meinen „Ostwald“, „Nernst“ u. dgl. studiert. Späterer Zusatz: Diese von mir angedeutete Lücke ist ja jetzt von berufenen Federn ausgefüllt.

2) Z. B. zeigt dasselbe Gewebe oder derselbe Gewebsteil Affinität sowohl zu basischen als zu sauren Farbstoffen und weist gegen Farben, die zu derselben Gruppe gehören, verschiedenes Verhalten aus: Elektion, Metachromasie u. s. w.

3) Die Fixierung ist hier von Bedeutung, entweder als komplizierend oder in den meisten Fällen als mehr simplifizierend, egalierend, indem viele unserer Fixierungsmittel z. B. die sauren Gruppen in den Molekülen einseitig hervorheben oder beizend wirken. An und für sich ist es ein richtiger Gedanke, dass Fixierungen, die solche Gruppen wohl nicht in die Gewebs-Moleküle einführen, bei den Untersuchungen über die chemischen Affinitäten der Gewebe und der Elemente den Vorzug verdienen. So wendet P. Ehrlich eine hohe Temperatur, Unna den Alkohol abs. als koagulierendes Mittel, P. Altmann „akutes Gefrieren bis unter die „kritische Temperatur“ an. Bei histiologischen Untersuchungen muss man indes aus Rücksicht auf die Konservierung der Form gewöhnlich ein Kompromiss schliessen. Umgekehrt kann es oft zweckmässig sein, mit Hilfe eines Fixierungsmittels irgend eine bestimmte Eigenschaft hervorzuheben und die anderen zurückzudrängen.

sämtlich gegenwärtig sind (z. B. die stärkere oder weniger starke Bindung des Kollagens an Mucin, Chondroitinschwefelsäureverbindungen, Albumin u. s. w.); wird jetzt aus Ursachen, an die man nicht gleich denkt, oder die man nicht ausfindig machen kann, eine oder mehrere dieser Komponenten entfernt, oder kommen umgekehrt neue hinzu, oder verschiebt sich ihr gegenseitiges Verhältnis, so lassen sich Änderungen der Tingibilität oft nicht vermeiden, entweder in positiver oder negativer Richtung, entweder partielle oder totale. Oft schlägt dieselbe in ihr Gegenteil um, aus Acidophilie in Basophilie oder umgekehrt.

Ist die Rede von einer bestimmten Färbemethode oder von einem bestimmten Farbstoffe, der als Reaktion („spezifische Färbung“) auf ein Gewebe oder einen bestimmten Stoff angewandt wird, so können Abweichungen von dem gewöhnlichen Verhalten daher sehr verschiedene Bedeutung haben, und jeder einzelne abweichende Fall ist dann für sich zu analysieren. Färbt sich mehr, als es dem Anschein nach sollte, so kann das z. B. auf einer „Demaskierung“ des Stoffes beruhen, für den die betreffende Färbung „spezifisch“ war und in der That fortwährend ist, nur ist der Umstand oder sind die Umstände (vielleicht ein anderer chemischer Stoff), welche gewöhnlich die Färbung an einer bestimmten Lokalität verhindern, entfernt worden, z. B. wenn man das Bindegewebe des Knorpels demaskiert, das sich sonst gewöhnlich nicht wie das übrige Bindegewebe des Schnittes färbt. Ein anderes Mal kann das Fixierungsmittel die Abweichung verursachen, indem es für den betreffenden Farbstoff beizt, z. B. der Einfluss des Chromsalzes, oder auch umgekehrt, indem es z. B. bei Osmiumbehandlung u. dergl. die Affinität zu den Farbstoffen schwächt.

Der verschiedene physiologische Zustand (Funktion oder Ruhe) oder der verschiedene pathologische Zustand eines Gewebes oder eines Gewebsbestandteiles kann die Abweichungen

bedingen, diese mögen nun in positiver oder in negativer Richtung gehen.

Da der molekular-physische<sup>1)</sup> Zustand eines Gewebes oder eines Gewebsbestandteiles in vielen Fällen gewiss als bedeutungsvoller Faktor mitwirkt und sicherlich nicht selten die scheinbar alleinbestimmende, d. h. dominierende Komponente der Tingibilitätsresultante ist, lässt sich ersehen, dass auch anscheinend rein physische und accidentelle Änderungen grossen Einfluss auf die Tingibilität üben können. Dass diese molekular-physischen Änderungen sehr wesentlichen Einfluss auf die chemischen Verhältnisse haben können, ist ja eine allgemein bekannte Sache<sup>2)</sup>.

Es liegt also gar nichts Erstaunliches darin, dass viele „spezifische Färbungen“ ihre Ausnahmen von der Regel haben. Je mehr es uns gelingt, die Färbung an eine hervorragende, charakteristische und relativ konstante Eigenschaft des betreffenden Gewebes zu knüpfen, dies geschehe nun durch zweckmässige Wahl des Farbstoffes oder z. B. mit dem Beizungsprozesse als Zwischenglied, um so mehr nähert sich die Färbung einer „echten chemischen Reaktion“, (womit das populäre Bewusstsein ja den Begriff von etwas extra Zuverlässigem zu verbinden pflegt), indem jedoch nicht zu vergessen ist, dass jede chemische Reaktion die Erfüllung gewisser mehr oder weniger zahlreicher Bedingungen erheischt, sowohl um geschehen zu können, als auch um als Reaktion benutzt werden zu können.

---

1) Dass dieser Begriff keinen scharfen Gegensatz des chemischen Zustandes bildet, wurde oben gesagt.

2) So hat, um ein Beispiel zu nennen, F. Mall (148) nachgewiesen, dass die Sehne und das Reticulum, wenn es ihnen gestattet wird, durch Kochen oder durch Erwärmung auf 70° einzuschrumpfen, im Gegensatz zu ihrem gewöhnlichen Verhalten von Pankreatin leicht verdaut werden, dass sie auch leicht verfaulen, werden sie aber ausgespannt, um sich beim Kochen nicht zu verkürzen, so konservieren sie sich.

Ich habe im vorhergehenden von Bindegewebsfärbung, von „dem fibrillierten weissen Bindegewebe“ u. s. w. gesprochen, habe diesen Begriff aber nicht, wie es häufig geschieht, als mit dem kollagenen Gewebe oder dem „Kollagen“ synonym genommen. Es ist in der That notwendig, die beiden Begriffe auseinanderzuhalten. Die Bezeichnung „Kollagen“, leimgebendes Gewebe, legt einen chemischen Gesichtspunkt an, der sich zu einer Einteilung histiologischer Elemente nur bedingungsweise eignet. Das Kollagen ist bekanntlich kein einzelner Stoff, sondern eine Gruppe von Stoffen, indem es verschiedene Arten Kollagen giebt, die sich u. a. durch ihre prozentische chemische Zusammensetzung und die Schnelligkeit, mit der sie Leim geben, ferner auch durch ihre Löslichkeitsverhältnisse und ihr Verhalten gegen verschiedene Reagentien u. s. w. voneinander unterscheiden<sup>1)</sup>. Allerdings ist es die Regel, dass das Kollagen in der Form von Fibrillen, als „weisse Bindegewebsfibrillen“ vorkommt; es kann aber auch thatsächlich mehr amorph vorkommen (d. h. durch kein beliebiges Mittel lässt sich Fibrillierung nachweisen), und überdies findet man Fibrillen und Gewebsbestandteile, die sich nach der Form, dem Aussehen, der Anordnung, der Genese u. s. w., kurz, nach den histiologischen und morphologischen Verhältnissen zu urtheilen, entweder gar nicht von den leimgebenden Fibrillen unterscheiden, oder von denen doch anzunehmen ist, dass sie sich dem übrigen „weissen fibrösen Gewebe“ aufs engste anschliessen, während sie in chemischer Beziehung von den „kollagenen“ Geweben abweichen. Als Beispiel von Fibrillen, die den leimgebenden Fibrillen durchaus

---

1) Über die verschiedene chemische Zusammensetzung siehe u. a. die citierten Arbeiten von Hammarsten, Mörner (1889), Schmiedeberg u. s. w., ausserdem: Hoppe-Seyler (107), C. Th. Mörner (166) 1894. Über das verschiedene Verhalten des Kollagens, der Bindegewebsfibrillen, siehe ferner: A. Ewald (54) 1889, Ranvier (182) 1888, F. Mall (148) 1891, F. Mall (147) 1888, C. Th. Mörner (167) 1899.

ähnlich sind, die aber dennoch keinen Leim geben, nenne ich nur die Bindegewebsfibrillen auf ihren allerersten Entwicklungsstufen; diese sind an Äusserem bekanntlich den echten leimgebenden durchaus ähnlich, geben aber keinen Leim und ähneln an Löslichkeitsverhältnissen etwas mehr den elastischen Fasern; erst später werden sie leimgebend; hier mag zugleich angeführt werden, dass dieses mehr neutrale Vorstadium zu kollagenen Bindegewebsfibrillen auch in echte elastische Fasern übergehen kann; oder auch können, wie z. B. Koelliker (119) angiebt, kollagene Fasern in elastische umgewandelt werden.

Das Narbengewebe enthält nach Mall (148) eigentümliche, widerstandsfähige Fibrillen, die an Form und Äusserem den weissen fibrösen Fibrillen durchaus ähneln und mit diesen nahe verwandt sind, sie schwellen aber nicht in Säuren an und geben beim Kochen keine Gelatine. Sie verhalten sich in dieser Beziehung wie die Fasern im Lig. nuchae ganz junger Embryone (z. B. von Kälbern); diese Fasern werden nämlich beim Kochen durchsichtig und lösen sich auf, schwellen in verdünnter Säure aber nicht an.

Das sogenannte retikulierte Gewebe, das z. B. in den Schleimhäuten des Magens und des Darms wie auch in allen Lymphdrüsen, nach Mall ferner in der Milz, der Leber und an vielen anderen Orten vorkommt, sollte diesem Autor zufolge aus feinen Fibrillen bestehen, die sich mikroskopisch nicht von den kollagenen unterscheiden liessen, die aber keinen Leim gäben und aus einem eigentümlichen chemischen Stoffe, dem Retikulin, bestünden, der sich auch durch verschiedene andere Reaktionen von dem weissen fibrösen (kollagenen) Bindegewebe unterscheidet. R. A. Young (294), der unter Halliburtons Leitung arbeitete, wies indes 1892 nach, dass das retikulierte Bindegewebe u. a. aus der Schleimhaut des Darms doch ziemlich reichlichen Leim giebt, was Mall aus verschiedenen Gründen nicht nachzuweisen vermocht hatte, und Max Siegfried (228)

zeigte, dass das retikulierte Gewebe sowohl leimgebende Substanz als einen neuen phosphorhaltigen<sup>1)</sup> Stoff, das Retikulin enthält. Ob das retikulierte Gewebe ein Gemisch kollagener und retikulierter Fibrillen repräsentiert, oder ob die Reticulumfibrillen aus einem Stoffe bestehen, der sich beim Kochen mit Wasser in Leim und Retikulin zerteilt, lässt sich nach Siegfried nicht entscheiden. Mikroskopisch ist es nicht möglich, die beiden Bestandteile, das Kollagen und das Retikulin, voneinander zu unterscheiden; selbst habe ich kein Mittel zu solchem Unterscheiden finden können, und dasselbe giebt Spalteholz (239) an. Nach Verdauung des Reticulums mit Trypsin bleiben diesem Autor zufolge die „retikulierten“ und die kollagenen Fibrillen übrig; seine eigenen Worte lauten (S. 378): „Zwar ist es nicht ausgeschlossen, dass wir die in Trypsinlösungen unverdaulichen Fasern noch weiter in Unterabteilungen werden trennen müssen, aber bis jetzt fehlt uns jeder Anhalt dazu. Vorläufig sind wir auch nicht einmal im stande, durch Färbung oder andere Mittel die kollagenen Fasern scharf von den retikulierten<sup>2)</sup> zu unterscheiden.“ Spalteholz glaubt indes, gewisse Schlüsse ziehen zu können, ob er mit kollagenen oder mit retikulierten Fasern zu schaffen hat<sup>3)</sup>: „Dickere Fasern und Bündel werden wir im allgemeinen für kollagene halten, feine netzförmig angeordnete für retikulierte.“ Ich vermute, dass auch Erwin Hoehl (106) kein besseres Kriterium hat, um kollagene Fasern von retikulierten zu unterscheiden, da er angiebt, eine exakte Unterscheidung derselben lasse sich nicht anstellen.

---

1) Während das Kollagen durchschnittlich ca. 0,6% S und kein P. enthält, hat das Retikulin 1,88% S und 0,34% Phosphor.

2) D. h. von den aus Retikulin allein bestehenden Fibrillen, wenn es wirklich solche giebt, und wenn die Reticulumfasern nicht aus einer Verbindung bestehen, die sich in leimgebende Substanz und Reticulum spalten lässt, was mir wahrscheinlicher dünkt.

3) Es ist ja wirklich sehr zweifelhaft, ob diese Meinung berechtigt ist. In der That wissen wir hierüber gar nichts.



Schon aus diesen Beispielen leuchtet ein, wie schwer es ist, einer histiologischen Einteilung einen solchen chemischen Gesichtspunkt zu Grunde zu legen, wenigstens solange wir keine sicheren Mittel haben, um in den einzelnen Fällen die Differenzen mikrochemisch zu konstatieren, da verschiedene Stoffe ja thatsächlich unter derselben Form und mit demselben Verhalten auftreten. Schon in der Gruppe der echten kollagenen Fibrillen, von denen also chemisch nachgewiesen ist, dass sie Leim geben u. s. w., finden, wie oben berührt, grosse Verschiedenheiten statt, z. B. verhält sich das leimgebende Bindegewebe, was seine Widerstandsfähigkeit<sup>1)</sup> betrifft, bei verschiedenen Tieren sehr verschieden. Das Bindegewebe der Fische ist weniger widerstandsfähig als das des Frosches, dieses weniger als das der Maus, der Ratte und des Kaninchens, dieses wieder weniger als das des Hundes und des Rindes u. s. w.<sup>2)</sup> Das Bindegewebe alter und grösserer Tiere ist gewöhnlich stärker als das von jungen Tieren derselben Art, ebenfalls ist das kollagene Bindegewebe aus verschiedenen Organen in chemischer Beziehung verschieden u. s. w.

Ganz ähnliche Verhältnisse bietet übrigens das „elastische“ Gewebe dar. Es giebt, wie schon längst nachgewiesen, verschiedene Arten Elastin, und es ist zugleich in vielen Fällen schwierig, zwischen den „elastischen“ Fibrillen und den „weissen Bindegewebsfibrillen“ die Grenze zu ziehen. Ich mache in dieser Beziehung nur auf Unnas (275) Untersuchungen über „Basophiles Kollagen, Kollastin und Kollacin“ wie auch über „Elastin und Elacin“ aufmerksam.

Analoge Verhältnisse sind in den letzten Jahren gelegentlich von mehreren Seiten hervorgehoben worden. In den Knorpeln habe ich selbst z. B. in der Cartilago arytaenoidea einen bestimmten Übergang zwischen echten kollagenen

---

<sup>1)</sup> Vgl. Ewald l. c.

<sup>2)</sup> Vgl. Ewald, Mall, Ranvier l. c.

und elastischen Fibrillen nachweisen können und eine Bindegewebsgrundsubstanz gefunden, die ich zu keiner der beiden grossen konventionellen Gruppen rechnen konnte, und die ich deshalb teilweise mit dem neutralen Namen „Albumoid“ bezeichnete. Ist es gleich von grosser Wichtigkeit, die verschiedene chemische Natur der Fibrillen festzustellen und die chemischen Verhältnisse des Bindegewebes klarzulegen, so sollte man doch bei der Beurteilung und Einteilung der Bindegewebsgrundsubstanzen in histiologischer Beziehung in erster Reihe die morphologischen Verhältnisse, die Form, Entwicklung, die histiologischen Verwandtschaftsverhältnisse u. s. w. berücksichtigen, während die chemische Beschaffenheit erst in zweiter Reihe hinzukäme, eventuell als Grundlage für Unterabteilungen in einer und derselben histiologischen Gruppe.

Es ist deshalb eine ungeeignete Vermengung von zwei Einteilungsprinzipien, deren jedes für sich berechtigt ist, wenn man, wie es in der jüngsten Zeit so oft geschieht, von dem kollagenen Gewebe als synonym mit dem weissen fibrillierten Bindegewebe spricht. Gerade der Umstand, dass man nachzuweisen vermag, wie Bindegewebsfibrillen, die in morphologisch-histiologischer Beziehung sich fast ganz gleich sind, dennoch sehr abweichende chemische Verhältnisse darbieten können<sup>1)</sup>, bezeugt am besten, dass man gar zu viel das fibrillierte Bindegewebe mit dem Kollagen identifiziert hat. Auch der Umstand, dass die in chemischer Beziehung verschiedenen Fibrillen oder Stoffe imstande sind, ineinander überzugehen und sich während des Laufes der Entwicklung einer in den anderen

---

<sup>1)</sup> Dies kann u. a. jedoch auf einer Verbindung oder Imprägnierung mit einem anderen chemischen Stoffe beruhen; so werden die echten Bindegewebsfibrillen des Knorpels, die sich chemisch als kollagene erwiesen, durch Imprägnieren mit Chondromukoid u. s. w. durchaus von den Fibrillen des gewöhnlichen Bindegewebes abweichend.

umzuwandeln, macht eine solche rein chemische Einteilung noch mehr prekär, oft wenigstens unzweckmässig. Braucht nun das weisse fibrilläre Bindegewebe nicht immer kollagen zu sein (eine andere Sache wird es, dass dies äusserst häufig der Fall ist), so steht dem an und für sich nicht das Geringste im Wege, dass Kollagene ausserhalb des Bindegewebes vorkommen können, ebenso wie Mucinarten in den verschiedensten Geweben vorkommen, oder ebenso wie bei Säugetieren und Vögeln z. B. das Keratin zwar wesentlich als epitheliale Bildungen angetroffen wird, jedoch u. a. auch in den Nerven (Neurokeratin, Kühne) vorkommt und sich z. B. bei Fischen im Bindegewebe<sup>1)</sup> bilden kann, ganz wie andere Albuminoide.

Meine Bindegewebsfärbung mit Säurefuchsinpikrin verhält sich nun, wie früher gesagt, auf die Weise gegen diese verschiedenen Gewebe, dass vor allen Dingen das reine Kollagen sich rot färbt, und darauf alles andere, was man auch aus anderen histiologischen Gründen zunächst zu dem „weissen fibrösen“ Bindegewebe zu zählen berechtigt sein würde.

Die Reticulumfibrillen<sup>2)</sup> färben sich überall rot (ebenfals die Narbenfibrillen); dass dies in guter Übereinstimmung mit der chemischen Zusammensetzung des Reticulums ist, leuchtet ein, und ausser den anderen, von Siegfried (228) hervorgehobenen chemischen Gründen kann auch dies dafür sprechen, dass die retikulierten Fasern aus einem Stoffe bestehen, der die chemische Verbindung einer kollagenen Gruppe mit einer phosphorhaltigen „Retikulin“-Gruppe ist; jedenfalls ist diese Annahme zulässig, solange das Gegenteil, dass nämlich das Reticulum aus zwei verschiedenen Arten von Fasern bestehe, nicht bewiesen ist. Was die neugebildeten Bindegewebsfibrillen be-

---

1) Krukenberg (126) 1886 und Ross Granville Harrison (91) 1893.

2) Natürlich mit Ausnahme der darin enthaltenen elastischen Fasern.

trifft, die ein Zwischenstadium zwischen „Elastin“ und „Kollagen“ oder eine Art Vorstadium repräsentieren, so verhalten diese sich etwas verschieden, je nachdem sie die eine oder die andere Bestimmung haben; je mehr sie sich dem Elastin nähern, um so weniger nehmen sie das Rot an, was sie vielleicht gar nicht thun. Bekanntlich sind die neugebildeten Bindegewebsfibrillen oft stark mit „mucinartigen“ Substanzen<sup>1)</sup> imprägniert, und dieser Umstand kann bewirken, dass selbst echte und zwar ganz kollagene Bindegewebsfibrillen das Rot nicht annehmen (sondern sich nur ganz schwach färben oder auch mehr farblos oder sogar gelb werden), bis man die mucinöse Imprägnierung entfernt hat. Man sei dessen eingedenk, was ich oben über die Verhältnisse des Knorpels sagte! Zuweilen kann man auch sehen, wie die Bindegewebsfasern in einiger Entfernung von ihrem Ursprung, z. B. den Zellen, die rote Farbe kräftig aufnehmen, in dessen Nähe aber mehr farblos oder minder kräftig gefärbt werden, ein ähnliches Verhalten also wie das zwischen jüngeren und älteren Stadien desselben Gewebes.

Ausser den genannten Gruppen von Bindegewebsubstanzen (Albuminoiden) haben wir ja die mehr modifizierten Formen der Bindegewebsgrundsubstanzen, wie das Corneagewebe, die sogenannten Glasmembranen, die Basalmembranen, das Sarkolemma, um einige der wichtigsten anzuführen. Man hat hier mit sehr verschiedenartigen Bestandteilen zu schaffen, und diese illustrieren sehr gut die Thatsache, dass wir mit Bezug auf die Albuminoidstoffe der Bindegewebsgrundsubstanzen keine scharf gesonderten Gruppen aufrechterhalten können, sondern im Gegenteil, je mehr unsere Kenntniss der chemischen Zusammensetzung und der chemischen Verhältnisse zunimmt, um so häufiger finden wir Reihen von Übergängen und Zwischenformen, welche die Hauptgruppen mit einander verbinden. Ich muss mich hier auf einige

---

1) Gewöhnlich sind diese ja in gewissen Beziehungen stark basophil.

Bemerkungen über einzelne der Stoffe beschränken. Das Bindegewebe der eigentlichen Corneasubstanz ist<sup>1)</sup> ein Kollagen mit etwas geringerem Schwefelgehalt (0,30 % S) als das gewöhnliche (0,6 % S) und mit einem N-gehalt (ca. 17 %), der etwas niedriger ist als der N-gehalt (18 %) im Kollagen von Sehnen, Hausenblase und Knochen und etwas höher als der des Knorpelglutins (16 %); ferner enthält die Cornea ein besonderes Mucoid, das u. a. reicher an Schwefel ist als alle anderen Mucinsubstanzen, das aber, im Gegensatz zum Chondromucoid, bei Zersetzung kein Albuminat giebt; dasselbe inhibiert das kollagene Netzwerk in konz. Lösung<sup>2)</sup> und wird leicht durch destill. Wasser oder schwache Alkalien extrahiert.

Die histiochemische Zusammensetzung der Cornea (und der Sclera) befindet sich in völliger Analogie mit der des Knorpels, was früher schon Morochowetz (154)<sup>3)</sup> behauptete, indem er ihre Bestandteile ebenso wie die des Knorpels als Kollagen und ein „Mucin“ angab (das, wie Mörner nachwies, kein echtes „Mucin“ ist). Ganz in Übereinstimmung hiermit ist ja auch die histiologische Stellung der Cornea und des Knorpels als **hyalinisiertes Bindegewebe**, und was die Sclera betrifft, so ist es ja eine bekannte Sache, dass man in derselben bei Vögeln, Amphibien und Fischen, ausserdem bei Echidna<sup>4)</sup> und Ornithorhynchus Knorpel findet. Gegen Färbung verhält die Cornea sich ihrer chemischen Beschaffenheit gemäss. Das Bindegewebe färbt sich rot mit Säurefuchsin — Pikrin —, natürlich auch die Bowmannsche Membran. Die

1) C. Th. Mörner (166) 1894.

2) Die Cornea enthält 82,2% Kollagen und 17,8% Corneamukoid (nach dem N-gehalt berechnet). Die Sclera enthält 87% Kollagen, 13% Mucoid (mit dem Corneamucoid identisch). Mithin beträgt das Kollagen in der Cornea ca.  $\frac{4}{5}$ , in der Sclera  $\frac{7}{8}$  des Ganzen.

3) Schon Johs. Müller gab an, die Cornea gebe Chondrin und keinen Leim (vgl. was über die Chemie des Knorpels gesagt wurde).

4) Siehe u. a. Fr. Leydig (136) 1857, S. 229 u. f.

Färbung wird nicht in bemerkbarem Grade<sup>1)</sup> von dem Mucin-gehalte gehemmt (der ja auch nur ganz leicht imbibiert ist, sich nicht wie wahrscheinlich im Knorpel mit wenigstens einem Teile des Kollagens chemisch verbunden hat); dagegen giebt die Cornea eine schöne metachromatische „Mucinreaktion“ bei Färbung mit „Mucämatin“ (Paul Meyer), Toluidinblau, Thionin etc.; bei Methylenblau zeigt sie starke Basophilie — also ebenfalls dem Knorpel analog. Dasselbe gilt, wenn auch in geringerem Grade, von der Sclera der Säugetiere.

Sehen wir einstweilen von der Membrana Descemeti und der Linsenkapsel ab, die genauer untersucht worden sind, so fasst man recht verschiedene Sachen unter den Namen: Membranae vitreae, Membr. propriae, Basalmembranen u. s. w. zusammen. Viele derselben tragen auch die gemeinschaftliche Bezeichnung: „strukturlose Membranen“, indem man in diesen entweder gar keine oder nur eine undeutliche feinere Struktur gewahren konnte. Von vielen derselben ist es ja eine bekannte Sache, dass man sie als eine fibrilläre Struktur besitzend betrachten muss, die man entweder deutlich nachgewiesen hat, oder die sich nur als feine Streifung kundgiebt. Eine solche Zusammensetzung aus Fibrillen (oder allenfalls die Möglichkeit, diese durch chemische Mittel in Fibrillen aufzulösen) ist nun viel häufiger verbreitet, als gewöhnlich hervorgehoben wird.

Ohne den Angaben anderer Forscher in dieser Beziehung im geringsten zu nahe treten zu wollen, spreche ich als meine persönliche Erfahrung aus, dass die meisten derartigen Bildungen als Bildungen aufzufassen sind, die zum Bindegewebe in weiterem Sinne gehören<sup>2)</sup>, ganz von derjenigen Gruppe abgesehen, welche man das lamelläre Bindegewebe nennt, z. B. das um die

1) Wenigstens in den von mir untersuchten Corneae von Maus, Ratte, Kaninchen, Katze, Hund, Schwein, Rind, Schaf, Delphin, Mensch, Huhn, Taube, Lacerta vir., Frosch, Triton, Salamandra mac., Dorsch, Goldbutte.

2) Wenigstens bei den Wirbeltieren.

Nerven liegende. Bei Säurefuchsin-Pikrinfärbung werden wenigstens die meistens derselben rot, und ich fand dann immer, dass man entweder ihre Zusammensetzung aus Bindegewebsfibrillen nachweisen konnte, oder dass wenigstens nichts uns verwehrte, sie zum Bindegewebe zu rechnen. Dass z. B. auch das Sarkolemma sich rot färbt, stimmt mit dessen chemischer<sup>1)</sup> Natur und Stellung wohl überein; es ist allerdings kein Kollagen, wird aber auch aus morphologischen Gründen als diesem Gewebe nahestehend betrachtet; als ein hierfür redender Umstand kann angeführt werden, dass die Fibrillen, mittelst deren das Sarkolemma in die Sehne übergeht, und die den echten Bindegewebsfibrillen durchaus ähnlich sind, sich chemisch wie das Sarkolemma verhalten.

Die Membrana Descemeti färbt sich mehr scharlach-orangerot<sup>2)</sup>, die Linsenkapsel dagegen rot, ganz wie das Bindegewebe z. B. im Corpus vitreum, das ja echt kollagene Fibrillen enthält<sup>3)</sup>. Beide diese Membranen wurden von Mörner (166) mit Genauigkeit chemisch untersucht; sie gehören zu einer von Mörner die „tierischen Membranine“ genannten eigentümlichen Gruppe von Stoffen, die sowohl mit den Albuminoiden (besonders dem Elastin) als auch gewissermassen mit mucinartigen Substanzen Verwandtschaft zeigen. Die Membrana Descemeti nähert sich wegen ihrer grösseren Widerstandsfähigkeit mehr dem Elastin, die Linsenkapsel verhält sich gegen die verschiedenen Reagentien analog, ist indes etwas weniger widerstandsfähig und steht wegen ihrer grösseren Löslichkeit den Mucinarten (im weitesten Sinne) näher. Die Farbenreaktion der Membrana Descemeti, ihre grössere Pikrophilie ist in Übereinstimmung mit ihrer grösseren

---

1) Vgl. Chittenden (35).

2) NB. Chromfixierungen können, wie früher erwähnt, die Farbenverteilung ändern.

3) Vgl. G. Retzius (207).

Elastinähnlichkeit. Umgekehrt scheint mir die Linsenkapsel, die auch u. a. wegen ihrer Färbung als Bindegewebe dem letzteren nahe steht, eine ganz interessante Illustration des Konnexes zu bilden, der gewiss vielfach zwischen den Mucinen und den Muroiden im Bindegewebe und dessen Albumoiden existiert, sie seien nun ausgeformt oder mehr amorph.

Ich habe mich bei diesen meinen neuen Hauptmethoden so ausführlich aufhalten müssen, teils um zu zeigen, welche Kritik man bei solchen Färbemethoden anzuwenden hat, teils um darzulegen, mit welcher Berechtigung ich den mittelst derselben gewonnenen Resultaten so grosse Bedeutung und Zuverlässigkeit beilege, wie ich es thue. Bevor ich zur Darstellung der speziell histologischen Verhältnisse schreite, werde ich einige Bemerkungen über meine übrige Technik und über mein Untersuchungsmaterial machen. Ich wandte nicht nur die isolierte Färbung der Chondroitinschwefelsäure (des Chondromucoids) wie auch des Bindegewebes im Knorpel an, sondern kombinierte auch selbstverständlich beide Färbungen, da es oftmals notwendig ist, beide diese Bestandteile in demselben Schnitte gefärbt zu haben, u. a. um ihr gegenseitiges Verhalten zu bestimmen.

Man färbt erst mit Methylenblau und darauf mit Säurefuchsin-Pikrin. Es ist bei dieser kombinierten Tripelfärbung durchaus notwendig, dass die Methylenblaulösung rein ist, d. h. keine anderen Farben, namentlich kein „Methylenrot“ oder Methylviolett enthält; diese Stoffe (Unna) bilden sich leicht, wenn Alkali (auch aus dem Glase) oder kohlensaure Alkalien in der Farblösung vorhanden sind. Ich rate deshalb absolut davon ab, eine Farblösung des Methylenblau längere Zeit hindurch stehen zu haben; doch ist die saure Methylenblaulösung ziemlich haltbar, vorausgesetzt, dass sie aus chemisch reinem Methylenblau bereitet ist. Ist die Methylenblaulösung rein und frisch be-



reitet, so kann man nach hinlänglicher Färbung<sup>1)</sup> des Schnittes in derselben den Schnitt ohne weiteres gut in destilliertem Wasser<sup>2)</sup> abspülen und (nach Aufsaugen des überflüssigen Wassers) unmittelbar in meine Säurefuchsin-Pikrinlösung bringen. Während die Pikrinsäure sonst bekanntlich mit dem Methylenblau eine chemische Verbindung in eine violette oder grauviolette Farbe eingeht, erhält sich in diesem Falle, wo das Methylenblau an die Chondroitinschwefelsäure (das Chondromucoid) gebunden ist, die blaue Farbe<sup>3)</sup>, und zwar so, dass man, sobald der Schnitt in nicht gelbfarbigem Alkohol liegt, wieder das reine Blau gewahrt, wo es (bei schwächerer Vergrößerung) nicht modifiziert oder optisch verdeckt wird, z. B. von der roten Farbe oder von gelbgefärbten Zellen oder elastischen Fasern und Körnchen oder Albuminoidkörnchen.

Dass ich hier die Bedeutung der reinen Methylenblaulösung mit Recht hervorgehoben habe, davon kann man sich leicht durch Anstellung einiger Kontrollfärbungen mit unreinen Lösungen, z. B. mit Löfflers Methylenblau überzeugen. Auch die Methode, eine Lösung des Methylenblau in absolutem Alkohol zu haben, und einige Tropfen derselben zu Aqu. destill. zu setzen, kann ich (nach mehrjähriger Erfahrung) nicht empfehlen. Einer der wesentlichsten Übelstände ist ferner der, dass Schnitte, zu denen unreines oder zu viel, d. h. nicht gehörig extrahiertes Methylenblau gebraucht wurde, nach Verlauf einiger Zeit (oft schon nach kurzer Zeit) zerstört werden, indem die Farbe sich

---

1) Siehe oben.

2) Sodass sich keine freie überschüssige basische Farbe im Schnitte oder diesem anhaftend befindet, denn sonst erhält man sogleich Krystalle von Methylenblau-pikrat. Umgekehrt ist das an das Gewebe gebundene Methylenblau in der pikrinsauren Farblösung völlig unlöslich, sodass das Vorhandensein der Pikrinsäure Umfärbung z. B. mit Säurefuchsin verhindert.

3) NB. Man vergesse nicht, dass das Blau, wenn der Schnitt in der roten Säurefuchsin-Pikrinlösung oder in dem ersten gelbfarbigen Alkohol liegt, selbstverständlich rein optisch modifiziert wird. (Siehe ebenfalls S. 622 und die Note).

unter Einwirkung der Pikrinsäure<sup>1)</sup> als violette oder blauviolette Nadeln auskrystallisiert. Man kann auch das Methylenblau im Schnitte fixieren, wenn man nach hinlänglichem Färben mit der basischen Vorfärbung und nach gutem Auswaschen das Blau entweder in einer 3% (im Dunkel aufbewahrten) wässerigen Lösung von Ferridcyankalium oder, noch besser, 5—10 Minuten oder länger in einer 5% Lösung molybdänsauren Ammoniaks fixiert, worauf man in beiden Fällen gut in Aqu. destill. auswäscht, bevor man wie gewöhnlich in Säurefuchsin-Pikrin färbt. Ich selbst ziehe die molybdänsaure Ammoniaklösung vor. Diese Methode wende ich stets in einzelnen Fällen an, wo ein bestimmtes Stück Material aus Gründen, die ich nicht nachzuweisen vermochte<sup>2)</sup>, trotz aller Vorsichtsmassregeln bei Kombination des Methylenblau mit Säurefuchsin-Pikrin geneigt war, grüne Färbung zu geben, entweder sogleich, oder wenn das Balsampräparat mehrere Tage gelegen hatte. Es ist aber auch von Wichtigkeit, das Blau in anderen Fällen stark fixieren zu können. Besonders beim molybdänsauren Ammoniak wird die Methylenblauverbindung viel schwerer in Alkohol löslich<sup>3)</sup>; dies kann man sich beim Färben

1) Über das Verhalten derselben in Balsampräparate siehe S. 625 ff.

2) Da ich Mittel besass, die Übelstände unschädlich zu machen, war mir nicht daran gelegen, näher festzustellen, was diese abweichende Tingibilitätsverhältnisse bedingte, wovon ich doch Vermutungen habe; mit Methylenblau allein traten niemals Übelstände ein, sondern nur, wenn die Pikrinsäure hinzukam.

3) A. Bethe wandte bekanntlich die Molybdänsäure auch an, um die Methylenblaufärbung der Nerven zu fixieren. Ohne Bethes Versuche zu kennen, hatte ich selbst molybdänsaures Ammoniak zur Fixierung des Methylenblau beim Knorpelfärben angewandt, ebenfalls zur Fixierung des Thionins, des Toluidinblau u. s. w. eine Anwendung, die sich ganz von selbst ergibt, wenn man nur ein wenig in der Chemie der Farbstoffe zu Hause ist. Auch H. F. Harris Methode (Mai 1898. Siehe Zeitschr. f. w. Mikr. XVI, S. 60—65) der Toluidinblau- (und Thionin-) färbung beruht auf demselben Prinzip. Ich hatte schon 1897 eine solche Methode (am besten Toluidinblau) bei der Färbung von Klammatocyten zu Dauerpräparaten angewandt, die sich nun mehrere Jahre hindurch konserviert haben. Die Klammatocyten färben sich intens rotviolett und lassen sich mit

des Knorpels sowohl bei reiner Methylenblaufärbung als bei der Kombination mit Säurefuchsin-Pikrin gelegentlich zu nutze machen.

Übrigens hat man es ja völlig in seiner Gewalt, die Intensität und die Verbreitung der Methylenblaufärbung je nach den Umständen zu variieren. Vgl. meine obigen Bemerkungen über die Färbung des Chondromucoids.

Man kann diese Kombination von Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin auch mit Erfolg als gewöhnliche Tripelfärbemethode benutzen, z. B. statt der van Giesonschen. Man färbt dann in einer schwach sauren, reinen Methylenblaulösung, die man etwas stärker macht als zum Färben des Knorpels, sodass die Kerne sich kräftig färben, wäscht aus und fixiert das Blau in einer 5% Lösung molybdänsauren Ammoniaks, wäscht gut aus und färbt darauf wie gewöhnlich in meiner Säurefuchsin-Pikrinlösung. Bei der Nachbehandlung mit Alkohol kann die blaue Farbe nach Belieben moderiert werden. Ich gebe oft dieser Tripelfärbung vor der van Giesonschen den Vorzug, u. a. weil die rote Farbe, wie ich früher entwickelte, sich nicht mit absoluter Sicherheit als Reaktion bei einer Hämatoxylinfärbung gebrauchen lässt<sup>1)</sup>.

Bei der kombinierten Färbung des Chondromucoids und des Bindegewebes des Knorpels halten die beiden Farben sich genau an diejenigen Komponenten des Gewebes, die

---

Leichtigkeit in den verschiedensten Organen nachweisen, am schönsten und kolossalsten wie auch in grossen Mengen fand ich sie in Tritonen, sowohl in Larven als in ausgewachsenen Tieren. Alkohol, Formol-Alkohol, Sublimat und Zenkers Flüssigkeit geben die schönsten Färbungen. Schnitte von der Haut und abgezogene Stücke des Peritoneums sind besonders zu empfehlen. Nicht selten fand ich typische Klammatocyten in Mitose. (Vgl. Ranvier, Metschnikoff; die von Reinke l. c. Fig. 14–15 abgebildeten Zellen sind offenbar Klammatocyten).

<sup>1)</sup> Siehe S. 627.

sie jede für sich färbten. Nur erleichtert die basische Vorfärbung in guter Übereinstimmung mit dem, was ich früher über die Fähigkeit der Chondroitinschwefelsäure, das Kollagen zu maskieren, sagte, die Bindegewebsfärbung ganz bedeutend. Indem die Chondroitinschwefelsäure zum Teil von dem basischen Methylenblau gebunden wird<sup>1)</sup>, verliert sie etwas von ihrem Vermögen, die Färbung des Kollagens zu verhindern, weshalb das Säurefuchsin jetzt viel mehr des früher maskierten Kollagens färben kann; nicht alles Kollagen kann aber auf diese Weise mittels einer basischen Vorfärbung allein demaskiert werden, denn die Methylenblaufärbung ist an und für sich zu schwach, um alle Chondroitinschwefelsäure aus deren Verbindungen mit den Grundsubstanzen auszulösen. Ich verweise in dieser Beziehung auf den Abschnitt über die chemischen Verhältnisse und die Färbungen des Knorpels, u. a. auf S. 605 ff. Dass diese beiden Farben somit in Kombinationen fortwährend ihre spezifischen Affinitätsverhältnisse bewahren, scheint mir noch ferner für die chemische<sup>1)</sup> Natur der Färbung zu sprechen.

Zur Darstellung des „Elastins“ des Knorpels bediente ich mich natürlich aller bekannten Methoden, u. a. auch der beiden bekannten „spezifischen“ Färbemethoden, der Unna-Tänzer-schen mit saurem Orcein und der Weigertschen (291) neuen Elastinfärbemethode mit Fuchsin-Resorcin-Eisenchlorid. Wie so viele andere „spezifische“ Methoden sind auch diese nicht in absolutem Sinne spezifisch. So färbt Orcein die Chondroitinschwefelsäureverbindungen sehr stark; diese

---

<sup>1)</sup> Basische Vorfärbung mit anderen Farbstoffen begünstigt ebenfalls die Färbung des Bindegewebes mit anderen sauren Farben. So kann man z. B. durch starke Vorfärbung mit Safranin bewirken, dass Wasserblau das Bindegewebe des Knorpels ein wenig färbt, während es sonst sehr abgeneigt ist, das Knorpelbindegewebe zu färben, ebenfalls mit Safranin-Säuregrün u. s. w.

können hierdurch Elastin maskieren oder simulieren; umgekehrt kann das Elastin durch seine Verbindung mit Chondroitinschwefelsäure seine Fähigkeit verloren haben, sich mit saurem Orcein zu färben, so dass man erst die Chondroitinschwefelsäure (mit Alkali) entfernen muss, um alles Elastin gefärbt zu bekommen. Es findet sich hier das Sonderbare, dass, während das Elastin und die Chondroitinschwefelsäure sich sonst jedes für sich mit saurem Orcein färben, die Verbindung dieser beiden Stoffe sich dagegen nicht damit färben lässt! — Ein Punkt, auf den ich später zurückkommen werde.

Auch Weigerts Methode ist keine durchaus spezifische. Sie eignet sich für den Knorpel zwar ein wenig besser als die Orceinmethode, weil sie das Chondromucoid nicht ganz so intensiv färbt, dagegen färbt sie Mastzellenkörnchen und im Knorpel das „Albumoid“<sup>2)</sup> ausser dem „Elastin“.

---

1) So kann ich nicht finden, dass der Streich, den der Botaniker Alfred Fischer in seinem sonst vortrefflichen und lehrreichen Werke: Die Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, Fischer 1899, gegen die chemische Natur der histiologischen Färbungen richtet, ein entscheidender wäre. Ich glaube ebensowenig wie er, dass alle Färbungen (selbst die „spezifischen“), die man findet oder anwendet, rein chemische Reaktionen sind, meiner Meinung nach kann man aber die Ansicht nicht verlassen, dass chemische Affinitätsverhältnisse in den allermeisten Fällen der Färbung zu Grunde liegen. Seine Diffusionstheorie und Adsorptionstheorie scheinen mir nicht im stande zu sein, die von mir besprochenen Färbungen zu erklären, u. a. spricht die Färbung der Chondroitinschwefelsäure und des Kollagens wohl kaum zu gunsten seiner „physikalischen“ Theorie. Ich glaube nicht, dass wir ein Kompromiss zwischen der chemischen und der sogenannten physikalischen Färbungstheorie, wie ich es früher andeutete, vermeiden können. Übrigens kam Fischers Werk mir erst in die Hände, als der betreffende Abschnitt meiner Arbeit aufs Papier gebracht war, weshalb ich seine Untersuchungen dort nicht besprechen konnte, um so mehr, da seine Argumentation wesentlich andere Verhältnisse betrifft, und mir auch die oben angeführte Betrachtung der hierauf bezüglichen Verhältnisse nicht zu erschüttern scheint.

2) Sie färbt das Albumoid und die extracellularen „fibrillogenen“ Centren („Sterne“), färbt aber nicht die von den „Sternen“ ausgehenden

Einige Worte über mein Material sind noch hinzuzufügen. Ich habe Knorpel untersucht an den Säugetieren: Mensch, Hund, Katze, Seehund (A)<sup>1)</sup>, Meerschweinchen, Kaninchen, Ratte (weisse und graue), Maus (do. do.), Schwein, Kamel (A), Kalb und Rind, Schaf, Pferd, Delphin (A), Igel. Ich habe die verschiedenen Altersstufen untersucht, Embryone, junge und alte Individuen, ebenfalls die verschiedenen Knorpel, Gelenknorpel, Skelettnorpel und die Laryngo-Trachealknorpel.

Als zweite Hauptgruppe untersuchte ich Amphibienknorpel an *Rana esculenta* und *temporaria*. *Bufa* vulg. *Triton punct. et cristat.*, *Salamandra mac.*, Axolotl (A) (sprit. fix.). Von diesen Tieren untersuchte ich ebenfalls sehr verschiedene Altersstufen.

Von Vögeln untersuchte ich Laryngo-Tracheal- und Gelenknorpel an Taube, Huhn, Lerche, Star.

Endlich Knorpel von *Lacerta* und Schildkröte, wie auch von Dorsch und Goldbutte, von Dornhai (Kopf- und Skelettnorpel), von *Petromyzon marinus* und von Cephalopoden, *Sepiotheutis* (Kopf-, Augen-, Nackenknorpel).

Ich habe reichlich 150 verschiedene Arten Knorpel ausser den verschiedenen Altersstufen innerhalb der einzelnen Art benutzt. Vom Menschen also z. B. Hyalinknorpel aus Larynx, Trachea, Bronchien, Hyalinknorpel aus verschiedenen Gelenken, Skelettnorpel (Septum nasi, Rippenknorpel u. s. w.), Bindegewebsknorpel (Discus intervertebralis, Menisci u. s. w.), elastischer Knorpel (Ohr, Larynx u. s. w.).

---

Fibrillen, es sei denn, dass dies „Elastin“-Fibrillen sind. Vgl. hierüber: F. C. Hansen: Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. A. A. Nr. 17—18. Bd. XVI. 1899.

<sup>1)</sup> Die Bezeichnung A giebt an, dass ich nur den Knorpel eines grösseren Tieres untersucht habe.

Die Knorpel der Knochenfische, des Hais, des Petromyzons und der Tintenfische benutzte ich, von einzelnen Verhältnissen der Zellen abgesehen, hauptsächlich um die Zusammensetzung der hyalinen Knorpelgrundsubstanz festzustellen. Obschon ich das Knorpelgewebe des Petromyzon marinus und den Cephalopodenknorpel in ziemlich grossem Umfang bearbeitet habe, rücksichtlich des Petromyzons mit Hinblick auf die neuesten Untersuchungen von Schaffer und Studnička, kann ich mich hier doch nicht näher auf diese Verhältnisse oder auf meine Resultate hinsichtlich dieser Tiere einlassen, da wir hier in vielen Beziehungen, namentlich in Betreff des Petromyzons und Ammocoetes, mit Verhältnissen zu thun haben, die von dem Gewöhnlichen anscheinend ziemlich abweichen, deren wesentliche Analogien ich indes in gewissen Säugetierknorpeln gefunden habe. Mein Hauptmaterial waren, wie gesagt, der Säugetier- und der Amphibienknorpel.

Es ist keineswegs meine Absicht, eine komparative Übersicht über die Histiologie des Knorpels bei den verschiedenen Tieren zu geben, ich werde hingegen die allgemeine Histiologie des Knorpels am meisten ins Auge fassen. Eine solche lässt sich mit Recht aufstellen, denn das Knorpelgewebe bietet in allgemeiner histiologischer Beziehung so viele und auffallende Übereinstimmungen dar, dass diese Betrachtung des Stoffes sich von selbst ergibt.

Die hier zu schildernden Verhältnisse habe ich grossenteils bei fast allen untersuchten Knorpelarten wiedergefunden; wenn ich vorzugsweise die Verhältnisse bei einzelnen Säugetieren, besonders Kalb, Rind und Hund abbilde, so hat das seinen Grund darin, dass diese grösseren Säugetiere sowohl wegen der Grösse der Zellen als wegen der Deutlichkeit der Strukturen besonders günstige Bedingungen darboten. Was die Fixierung und die übrigen Präparationsmethoden betrifft, so habe mich, wie oben berührt, nicht auf wenige, bestimmte be-

schränkt, sondern systematisch alle gebräuchlichen Fixationsmittel<sup>1)</sup> angewandt, ausserdem soweit thunlich in grossem Massstabe die frischen, lebenden oder überlebenden Gewebe untersucht und die Einwirkung der Reagentien **auch** mittelst direkter Beobachtung unter dem Mikroskope geprüft. Wo es sich thun liess, kontrollierte ich meine Resultate an dem lebenden, frischen Material. Ausserdem habe ich alle die wichtigsten der bisher veröffentlichten Methoden der Knorpeluntersuchung<sup>2)</sup> wieder geprüft, um mir über dieselben ein selbständiges Urteil bilden zu können.

Celloidineinschluss habe ich in vielen Fällen angewandt, ebenfalls Paraffin, in anderen schnitt ich das Knorpelstückchen auf dem Mikrotom oder auf freier Hand ohne Einschliessen, indem ich natürlich acht gab, dass das Stückchen oder die Schnitte nicht eintrockneten, nicht einmal an der Oberfläche, oder sonst versehrt wurden. Überhaupt gilt es, mit dem Knorpel sehr behutsam zu sein, damit keine derartigen, nicht kontrollierbaren Änderungen einlaufen. Bei frischen Präparaten muss man besonders geschwind sein und namentlich sehr scharfe Messer haben, wenn man Schnitte herstellen will.

Ausser meinen beiden Hauptmethoden zum Färben des Bindegewebes und der Chondroitinschwefelsäure wandte ich selbstverständlich auch andere Färbemethoden in weitester Ausdehnung an und untersuchte ich, je wie es zweckmässig war, in den verschiedensten Medien. Überall im folgenden, wo es notwendig ist, werde ich deshalb die spezielle Methode, oder die

---

1) Am brauchbarsten zum Fixieren sind: Alkohol, Formol-Alkohol, Sublimatmischungen, Liquor Mülleri mit oder ohne Zusätze, Chromsäureverbindungen, Pikrinsäure, Zenkers Flüssigkeit, Osmiumräuchern, ausser einigen anderen (Salpetersäure, Pérényis Flüssigkeit).

2) Macerationen, Injektionen, Imprägnationen u. s. w., Dissociationen (namentlich am Discus intervertebralis).



speziellen Methoden, die ich im betreffenden Falle zur Darstellung der Strukturverhältnisse anwenden musste, anführen.

Ich bin nicht gesonnen, eine geschichtliche Darstellung der wechselnden und streitigen Ansichten von der Histiologie des Knorpelgewebes zu geben, da eine solche, ohne lohnend zu sein, gar zu grossen Raum beanspruchen würde. Ausserdem liegen in der Litteratur bereits mehrere ausführliche geschichtliche Schilderungen vor, so von M. Flesch (65) und von O. van der Stricht (254), wie man auch in den meisten Abhandlungen mehr oder weniger vollständige geschichtliche Abschnitte findet. In Betreff der zusammenhängenden geschichtlichen Darstellung verweise ich daher an die erwähnten Arbeiten.

Im Anfange des chemischen Teiles dieses Buches gab ich eine geschichtliche Übersicht über die Entwicklung der Chemie und der Histochemie des Knorpels und besprach dort zugleich die seit 1887, mit welchem Jahre van der Strichts Abhandlung schliesst, erschienenen Arbeiten von wesentlicher Bedeutung. Wenn ich Mörners, Schmiedebergs und Hammers Arbeiten genannt habe, glaube ich hiermit die seit 1887 erschienenen Arbeiten angeführt zu haben, die für die Frage nach der Histiologie der hyalinen Knorpelgrundsubstanz die grösste bleibende Bedeutung besitzen. (Ich sehe hier von denjenigen Arbeiten Schaffers und Studničkas ab, die nach der Ausgabe des vorliegenden Buches erschienen.)

Ich betone hier indes ausdrücklich, dass ich mir die geschichtliche Seite der Sache nicht leicht genommen habe, im Gegenteil, ich habe die allermeisten Arbeiten über den Knorpel gerade zu dem Zwecke studiert, eine geschichtliche kritische Übersicht liefern zu können, und durch möglichst ausgedehnte Kontrolle der Untersuchungen der Autoren habe ich mir eine begründete, selbständige Meinung davon zu bilden gesucht, was dieselben gesehen, eventuell abgebildet und beschrieben haben, wie auch die Gründe der abweichenden Ansichten und mög-

lichen Irrtümer ins klare zu bringen. Denn es liegen in der Litteratur nicht wenige scheinbar richtige Resultate vor, die sich auf Beobachtungen und Untersuchungen stützen, welche die Autoren keineswegs zu den von ihnen gezogenen Schlüssen berechtigen. Es geht nämlich oft aus dem Texte oder häufig noch klarer aus den Abbildungen (wo sich solche finden) und ferner aus den Nachuntersuchungen hervor, dass die Prämissen mangelhaft oder fehlerhaft sind, und dass die Resultate der Autoren einen ganz anderen Sinn als den gemeinten haben. Überdies ist die Anzahl der Möglichkeiten ja ziemlich begrenzt, weshalb es nicht sonderbar ist, dass eine im allgemeinen gehaltene Konklusion selbst auf Grundlage unvollständiger oder irrtümlicher Deutungen zuweilen das Richtige trifft. Jedenfalls kommt es doch ebensowohl auf die richtige Begründung als auf das richtige Facit an, — ein Gesichtspunkt, der auch auf die Beurteilung einiger Arbeiten aus den allerletzten Jahren Anwendung finden könnte. — Eine einigermaßen erschöpfende Schilderung der Ansichten der verschiedenen Autoren von dem Knorpel zu geben, würde in der That ein ausführliches kritisches Referat fast jeder einzelnen Publikation erfordern, und darauf kann ich mich u. a. schon aus Rücksicht auf den Raum in dieser Publikation nicht einlassen.

Van der Stricht teilte 1887 die vom hyalinen Knorpel dargebotenen Fragen (von der Frage nach der Genese abgesehen) folgendermassen ein:

- |                                                  |                      |
|--------------------------------------------------|----------------------|
| 1. Die fibrilläre Struktur                       | } der Grundsubstanz. |
| 2. Die lamelläre Struktur                        |                      |
| 3. Die Kittsubstanz.                             |                      |
| 4. Die Saftbahnen, Saftkanäle oder Lymphspalten. |                      |
| 5. Die Ausläufer der Zellen.                     |                      |

Seitdem hat die Frage nach der Histochemie und den tinktoriellen Verhältnissen der Knorpelgrundsubstanz durch die besprochenen Arbeiten von Mörner und Hammar indes her-

vorragendes Interesse erhalten, und andererseits sind wohl die Fragen nach den Saftbahnen, den Ausläufern der Zellen, der lamellären Struktur und mehrere andere, die eine Zeitlang dominierten, teils weniger brennend geworden, teils von mehreren Forschern in ein etwas anderes Licht als früher gestellt, wiewohl man sogar in Publikationen relativ neuen Datums die alte Verwirrung rücksichtlich dieser Fragen finden kann.

Der Plan, dem ich in den Hauptzügen bei der Darstellung meiner Resultate folgen werde, ist am zweckmässigsten folgender:

A. Die Histochemie und die tinktoriellen Verhältnisse der Knorpelgrundsubstanz; im Zusammenhang hiermit

B. deren strukturelle Verhältnisse, hierunter u. a. die Frage nach den Fibrillen und der „Kittsubstanz“;

C. Die Zellen (das Endoplasma) und ihre Beziehung zu den Grundsubstanzen, die ektoplasmatischen Bildungen, wie die Zellkapseln, ferner die Zellausläufer, Anastomosen u.s.w.;

D. eine Gruppe, welche ich Pseudostrukturen nenne.

Als ein Abschnitt für sich folgt dann später die Genese der Knorpelgrundsubstanz, zum Teil im Zusammenhang mit naheliegenden Gegenständen aus anderen Gruppen der Bindegewebssubstanzen. Man erwarte jedoch keine scharfe Sonderung der einzelnen Abschnitte, im Gegenteil — alle hier behandelten Fragen stehen im engsten Zusammenhang und in Wechselwirkung miteinander.

---

## Zweiter Abschnitt.

---

### Allgemeine Histiologie des Hyalin-Knorpels.

---

#### A. Die spezielleren histiochemischen und tinktoriellen Verhältnisse der Knorpelgrundsubstanz.

---

In dem jungen, in histiologischer Beziehung indes völlig charakterisierten hyalinen Knorpel haben wir, wie nachgewiesen, 3 chemische Hauptbestandteile, nämlich das Kollagen und die Chondromucoiden, die hauptsächlich aus Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure mit Eiweissstoffen und dergl. bestehen. Die Chondroitinschwefelsäure bedingt die Basophilie, und wir haben es in unserer Gewalt, dieselbe histiochemisch nachzuweisen, u. a. durch „spezifische“ Färbung mit saurem Methylenblau. Für das Kollagen oder das Bindegewebe des Knorpels haben wir ebenfalls eine „spezifische“ Färbung. Ich erwähnte ferner alle anderen histiochemischen Methoden zur Darstellung und Isolierung des Bindegewebes und zur Untersuchung der sogenannten „Kittsubstanz“, oder wie sie auch heisst: „der interfibrillären Substanz“. Fragen wir, unter welcher Form die 3 genannten chemischen Bestandteile in der Knorpelgrundsubstanz vorkommen, so wurde ja schon längst von Tillmanns nachgewiesen und später von mehreren anderen Forschern bestätigt, dass wenigstens ein Teil des Kollagens in vielen echt hyalinen Knorpeln als Fibrillen auftritt. Diesen Befund hat man einerseits stark generalisiert, so dass man ohne weiteres voraussetzte, dies gelte von allem Kollagen und allen Knorpeln, den untersuchten sowohl als den nicht untersuchten; oder auch hielt man eine Reihe mehr oder weniger bestreitbaren Strukturen, die man bei

der Untersuchung des Knorpels fand, für Fibrillen<sup>1)</sup>, und setzte voraus, dieselben seien Kollagen. Andererseits hat man teils diesen Nachweis von Fibrillen im Knorpel ziemlich auffallend vernachlässigt<sup>2)</sup>, teils hat man in der Knorpelgrundsubstanz eine Menge recht verschiedener Bauverhältnisse supponiert (z. B. Lamellierung, Aufbau von Zellterritorien, Kammerwerk — „Wabenstruktur“), die sich entweder gar nicht oder nur mittelst ziemlich unsicherer und zweifelhafter (oft aber ganz sinnreicher) Kombinationen miteinander oder mit der fibrillären Struktur in Zusammenhang bringen liessen.

Alle Forscher, die für die Knorpelfibrillen sind, nehmen ferner an, dieselben würden zusammengehalten und lägen umschlossen von einer Kittsubstanz, die amorph sei, und die z. B. weil sie ähnliche Lichtbrechung habe wie die Fibrillen oder diese auf andere Weise maskiere, dazu beitrage, der Knorpelgrundsubstanz ihr ganz „hyalines“ strukturloses oder nur schwach körniges Aussehen zu geben. Nicht nur die Fibrillen, sondern auch die verschiedenen anderen, durch Reagenzwirkung auf den Knorpel gefundenen Strukturverhältnisse sollten im frischen Knorpel von der Kittsubstanz verborgen werden. Ferner waren alle darin einig, dass die Kittsubstanz ziemlich wasserhaltig sei und ihren Wassergehalt leicht sowohl vermehren als vermindern könne. Namentlich sei sie im Besitze grossen Imbibitionsvermögens im Gegensatz zu den Fibrillen, die einen relativ festeren Bestandteil repräsentierten.

Diese Kittsubstanz bezeichneten Morochowetz und Tillmanns als „Mucin“, „mucinös“. Über ihre chemische Natur

---

1) So sind z. B. Spinas „Fibrillen“ reine Pseudostrukturen.

2) So findet man noch jetzt (1899) die „hyaline“ Knorpelgrundsubstanz häufig in Lehrbüchern und anderswo besprochen, ohne dass dieser wichtige Umstand auch nur genannt würde, und ohne dass darauf aufmerksam gemacht wird, dass das fein punktierte oder schwach körnige Äussere, welches in der „hyalinen“ Grundsubstanz verschiedener echter Knorpel ziemlich hervortritt, in der That von der Fibrillierung herrührt.

sind wir ja durch Mörners und Schmiedebergs Untersuchungen völlig ins klare gekommen, und in dieser Beziehung verweise ich nur auf meine Darstellung der Chemie des Knorpels.

Das Resultat meiner eigenen Untersuchungen über die Natur und die Zusammensetzung der hyalinen Knorpelgrundsubstanz in allen von mir untersuchten Knorpeln steht in bester Übereinstimmung mit den chemischen Verhältnissen. Die echte typische **hyaline** Knorpelgrundsubstanz besteht, histiologisch betrachtet, aus zum grössten Teile fibrillär differenziertem weissen kollagenen Bindegewebe, eingelagert in eine gewöhnlich chondroitinschwefelsäurehaltige amorphe Mischung verschiedener Eiweissstoffe. Das Vorhandensein dieser Chondroitinschwefelsäureverbindungen (denen Mörner den gemeinsamen Namen<sup>1)</sup> „Chondromucoid“ gab) und die Verbindungen der Chondroitinschwefelsäure mit dem Kollagen bedingen die in chemischer und in histiologischer Beziehung abweichenden Verhältnisse des Knorpels und des Knorpelkollagens (des Knorpelbindegewebes).

Um die Verteilung des Kollagens<sup>2)</sup> und der Chondroitinschwefelsäure (im Verein mit dem Chondromucoid) zu untersuchen und ihr gegenseitiges Verhältnis zu bestimmen, ist die „spezifische“ Färbung dieser beiden Bestandteile von allergrösster Wichtigkeit. Die Färbung gut fixierter Schnitte hat den grossen Vorteil, dass die topographische Verteilung der Stoffe sich weit genauer konserviert als bei Macerationsmethoden

---

<sup>1)</sup> Schmiedeberg wies nach, dass Mörners Chondromucoid nicht ein einzelner Stoff ist, dass es hingegen mehrere Arten von Chondromucoiden giebt. Gemeinschaftlich ist diesen aber die Chondroitinschwefelsäurehaltigkeit.

<sup>2)</sup> Ich rede vorläufig ja von dem jungen oder jüngeren hyalinen Knorpel, von dem man chemisch nachgewiesen hat, dass alle Bindegewebsfibrillen kollagen sind. Deshalb gebrauche ich hier die beiden Wörter „Bindegewebe“ und „Kollagen“ ohne Unterschied.

und ähnlichen eingreifenderen Behandlungen; wie gesagt benutzte ich aber auch, um der wechselseitigen Kontrolle willen, die anderen Methoden in weitestem Umfang. Meine Hauptfärbungen waren deshalb die basische Methylenblaufärbung der Chondromucoide und die Bindegewebsfärbung mittelst meiner Säurefuchsin-Pikrinmethode.

Das Chondromucoid und die Chondroitinschwefelsäureverbindungen können nun das Kollagen des Knorpels mehr oder weniger maskieren, nicht nur, wie erwähnt, bei der physiologisch-chemischen, sondern auch bei der histiologischen Untersuchung. Bei der näheren Besprechung der Knorpelfibrillen werde ich berühren, wie das Chondromucoid, die Kittsubstanz, auf mehr physische Weise die fibrilläre Struktur zu verbergen vermag. Hier nenne ich die Fähigkeit der Chondroitinschwefelsäureverbindungen, das Kollagen bei der „spezifischen“<sup>1)</sup> Bindegewebsfärbung zu maskieren. Man erfährt sogleich, wenn man es versucht, das Bindegewebe des Knorpels mit Säurefuchsin-Pikrin zu färben, dass die äusseren Schichten, z. B. unter dem Perichondrium, weit stärkere rote „Kollagenfärbung“ zeigen als die inneren, ungefärbten oder schwach gefärbten Schichten. Wie stark ausgesprochen die Färbung wird, und wie weit sie sich im Knorpel erstreckt, richtet sich nach den verschiedenen Knorpelsorten und dem verschiedenen Material, ist aber für dasselbe Material konstant. Ebenfalls kommt die Fixierung in Betracht; das Kollagen, das man auf diese Weise gefärbt bekommt, repräsentiert aber bei weitem nicht alles Kollagen, das sich wirklich im Schnitte findet. Entfernt man aber behutsam die Chondroitinschwefelsäure<sup>2)</sup> (ich sage ausdrücklich nicht das Chondro-

---

<sup>1)</sup> Analoge Verhältnisse machen sich bei anderen sauren Färbungen des Kollagens geltend.

<sup>2)</sup> Z. B. durch sehr vorsichtige Behandlung mit schwachen Alkalien, worauf man gut auswäscht und den Schnitt eventuell wieder fixiert, z. B.

mucoid), wie früher besprochen, so dass die Knorpelgrundsubstanz ihre Basophilie verliert, dem Anschein nach aber ziemlich unverändert bleibt, und färbt man darauf in gewöhnlicher Weise mit Säurefuchsin-Pikrin, so färbt sich **alles** Kollagen des Knorpels, und wir erhalten eine starke Rotfärbung der **gesamten** Knorpelgrundsubstanz. Die übrigen Teile des Schnittes ausserhalb des Knorpels verändern ihre Tingibilitätsverhältnisse nicht merkbar, jedenfalls nicht so auffallend. Untersucht man nun mikroskopisch, so sieht man, dass die Knorpelgrundsubstanz überall (nicht überall aber gleich dicht) eine Menge feiner, roter, kollagener Fibrillen zeigt, selbst an den Stellen, wo man vor der Entfernung der Chondroitinschwefelsäure entweder gar keine oder auch nur spärliche rote Fibrillen gewahrte. Ferner bemerkt man, dass kollagene Fibrillen, die schon vor der „Entfernung der Basophilie“ die rote Farbe, wenn auch schwächer, annahmen, sich jetzt stärker färben, und ebenfalls, dass Fibrillen, die zwar zu sehen waren, sich aber nicht rot färbten, jetzt ebenso wie die anderen gefärbt werden. In tinktorieller Beziehung unterscheide ich deshalb im Knorpel hauptsächlich zwei Gruppen von Kollagen: das **unmaskierte**, das sich schon an den gewöhnlichen basophilen Schnitten mittelst meiner Säurefuchsin-Pikrinmethode rot färbt, und das **maskierte**, das sich erst nach einer Behandlung färben lässt, welche wenigstens bis zu einem gewissen Grade die Chondroitinschwefelsäure entfernte, resp. deren Verbindung mit dem Kollagen aufhob oder lockerte, welches letztere somit demaskiert wird. Das „unmaskierte“ Kollagen des Knorpels ist indes durchaus nicht

---

glatt auf dem Spatel oder dem Objektglas ausgebreitet, in Alkohol, Pikrinsäure u. s. w., kurz, in Fixationsmitteln, die der Erfahrung gemäss auf die Säurefuchsin-Pikrinfärbung nicht kompromittierend wirken.



in allen Fällen ganz frei von einiger Bindung an Chondroitinschwefelsäure, bezw. Chondromucoid, denn bei basischer Färbung (mit saurem Methylenblau) kann man häufig direkt gewahren, dass auch solche Knorpelfibrillen das Blau angenommen haben, die sich bei Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin rot färben. Man hat sich natürlich zu überzeugen, dass dies wirklich dieselben und keine anderen Fibrillen sind. Dies geschieht z. B. dadurch, dass man die Methylenblaufärbung mit Säurefuchsin-Pikrin kombiniert, wie früher besprochen, und in verschiedenen Stadien der Differenzierung mit Alkohol untersucht<sup>1)</sup>. Merkt man sich dann eine bestimmte, leicht erkenntliche Stelle, z. B. in der Nähe eines Gefässes, oder einen kleinen Fleck, wie er selbst in ganz jungem, ja fötalem Knorpel (von Mensch, Kalb u. s. w. — grössere Tiere sind am besten —) vorkommen kann, und an dem sich etwas dickere, z. B. asbestähnliche Fibrillen finden, so kann man sehen, wie diese anfangs rein und stark blaugefärbt in schwächer blaufarbigem oder in rotfarbigem Umgebungen liegen, wie sie bei fortgesetzter Extraktion des Blau diese Farbe verlieren, und wie ihre rote Farbe nun zum Vorschein kommt; oft ist ihre Farbe dann stärker als die der Fibrillen in ihrer nächsten Umgebung. Man kann auch erst mit Blau färben, in Wasser abspülen, untersuchen, darauf die Farbe mit Alkohol ausziehen oder die Farbflüssigkeit etwas stärker salzsauer machen und verdünnen, den Schnitt wieder in diese legen, so dass das Blau aus dem Schnitt in die Lösung zurückkehrt, gut in Wasser auswaschen (um Säure zu entfernen), konstatieren, dass die vorher blauen Fibrillen jetzt farblos sind, darauf denselben Schnitt in Säurefuchsin-Pikrin färben und schliesslich konstatieren, dass die genannten Fibrillen nun rotfarbig sind.

Der Versuch lässt sich selbstverständlich auf vielfache Weise variieren; so kann man zwei aufeinander folgende Schnitte einer Serie gebrauchen, deren jeder an korrespondierenden Stellen

---

<sup>1)</sup> Mit Immersionslinsen.

seinen Teil von einer solchen Gruppe leicht erkennbarer Knorpelfibrillen hat; den einen Schnitt färbt man dann basisch auf Chondroitinschwefelsäure, den andern mit Säurefuchsin-Pikrin.

Ein Objekt, an dem man dies sehr leicht demonstrieren kann, ist z. B. der Larynx-Knorpel des Ochsen oder des Kalbes, wo sich eine geringe beginnende Bildung von Markräumen oder Asbest mit starker Entwicklung der „dicken, starren Fibrillen“<sup>1)</sup> findet. Man kann alsdann sogar mit Trockenlinsen diese Verhältnisse leicht konstatieren, die noch ferner bestätigen, was ich oben sagte, dass die basische Färbung sich mit dem einen Bestandteile, die Chondroitinschwefelsäure, die rote, saure Farbe sich aber mit einem anderen, dem Kollagen, verbindet.

Dieses Verhalten, dass ein und dasselbe strukturelle Element gleichzeitig beide Färbungen anzunehmen vermag, ist jedoch bei weitem nicht überall anzutreffen, auch gilt es nicht von allem Kollagen oder von allen kollagenen Fibrillen in demselben Knorpelschnitte oder an derselben Lokalität. Im Gegenteil, die tinktoriellen und die chemischen Verhältnisse, die übrigens an allen Punkten aufs beste miteinander harmonieren, zeigen uns unzweifelhaft und zwingen uns zu der Annahme, dass die Chondroitinschwefelsäure (und das Chondromucoid) ungleichmässig<sup>2)</sup> an die übrigen Bestandteile der Knorpelgrundsubstanz gebunden ist, in casu also besonders an das Kollagen<sup>3)</sup> und an die Eiweissstoffe der Chondromucoide.

---

1) Vgl. mit Bezug auf diese Fibrillen meinen Artikel im Anat. Anzeiger, Bd. XVI, 1899: Die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen.

2) Dies ist z. B. sehr schön in stark basophilen Partien der Knorpelgrundsubstanz zu sehen, wo man äusserst feine dünne (oder ein wenig dickere) Knorpelfibrillen nebeneinander gewahrt, deren einige intens blau ohne Spur von Rot gefärbt sind, andere dagegen intens rot, welche letzteren entweder zwischen den ebenso aussehenden blauen Fibrillen oder in einer „amorphen“ blauen Grundsubstanz liegen.

3) Dies gilt nicht nur vom Kollagen, sondern auch vom Elastin und „Albumoid“. Wie erwähnt, giebt es zwei Möglichkeiten einer Bindung der

Die Tingibilität des Kollagens mit Säurefuchsin-Pikrin wird hauptsächlich davon abhängen, ob dasselbe lose oder gar nicht an Chondroitinschwefelsäure und an deren Verbindungen gebunden ist, kurz, davon, in wie hohem Grade das Kollagen als relativ stark acidophile Substanz mit den entschieden basophilen Substanzen verbunden ist, die Bindung sei nun „rein-chemisch“ oder auch mehr „physikalisch-chemisch“.

Das tinktoriell unmaskierte Kollagen ist entweder gar nicht oder nur schwächer<sup>1)</sup> an die basophilen Stoffe gebunden; es färbt sich also mit Säurefuchsin-Pikrin jedenfalls rot, nur derjenige Teil desselben, der zugleich eine, wenn auch lose Bindung an Chondroitinschwefelsäureverbindungen hat, lässt sich aber zu gleicher Zeit mit saurem Methylenblau färben.

Chondroitinschwefelsäure an das Kollagen: eine indirekte Weise, wo z. B. das Kollagen sich entweder mit Albuminstoff verbunden hat oder mit solchem ganz einfach physisch imbibiert ist, worauf dieser Stoff sich mit Chondroitinschwefelsäure zu Chondromucoid verbunden hat, und eine direkte Weise, wo das Kollagen/ohne Mittelglied mit Chondroitinschwefelsäure verbunden ist. Die histiologischen Verhältnisse machen es wahrscheinlich, dass das Kollagen in vielen Fällen eben auf letztere Weise direkt mit der Chondroitinschwefelsäure im Knorpelgewebe verbunden ist (alles maskierte Kollagen?). Andererseits findet sich in vielen Fällen gewiss die indirekte Bindung neben einer direkten Bindung der Chondroitinschwefelsäure an das Kollagen realisiert. Endlich kann davon die Rede sein, dass die Tingibilität des Knorpel-Kollagens sich durch „Imbibition“ mit oder Verbindung mit nicht chondroitinschwefelsäurehaltigen Eiweissstoffen u. dgl. (in „Pikrophilie“) umändern könnte. Vgl. hierüber meine Bemerkungen über „Pikrophilie“.

<sup>1)</sup> Ich nahm hier nur die praktische Rücksicht darauf, wie das Kollagen des Knorpels sich gegen Säurefuchsin-Pikrin, also gegen das Säurefuchsin verhält; für andere saure Farbstoffe, z. B. Säuregrün, Wasserblau, alle Eosine u. s. w. ist die Tingibilität eine andere. Im grossen und ganzen färbt in den chondroitinschwefelsäurehaltigen Schnitten das Säurefuchsin-Pikrin relativ am meisten Kollagen). Wasserblau und Eosin hingegen färben viel weniger Kollagen des Knorpels. Bei Säurefuchsin kann das Kollagen gerne stärker mit basophiler Substanz verbunden sein als bei den anderen Farben. Für diese liegt die Grenze der Tinktionsfähigkeit schon bei einer schwächeren Bindung des Kollagens an basophile Substanz. Umgekehrt kann dann das Eosin z. B. andere Stoffe der Knorpelgrundsubstanz färben, welche das Säurefuchsin-Pikrin nicht färbt.

Im maskierten Kollagen haben wir wieder Unterabteilungen. Jedenfalls färbt es sich mit Säurefuchsin-Pikrin nicht rot (sonst würde es ja zum unmaskierten gehören), dagegen verhält die Verbindung des Kollagens mit Chondromucoid oder Chondroitinschwefelsäure sich gegen basische Färbung auf verschiedene Weise. Es existieren hier thatsächlich mehrere Variationen.

Entweder kann die Verbindung der beiden Gruppen von Stoffen eine so feste sein, dass das Kollagen (tinktoriell, hinsichtlich der Löslichkeit u. s. w.) gänzlich maskiert ist, und bei gleichzeitigem Übergewicht oder **Überschuss** an Chondroitinschwefelsäure wird das Resultat eine entschiedene und intense Basophilie. — Oder auch ist das Kollagen wegen seiner Verbindung mit den Chondromucoiden total maskiert, während aber auch die Chondroitinschwefelsäureverbindungen sich hier in solcher Form oder Menge finden, dass sie basische Farbstoffe gar nicht oder nur schwach zu binden vermögen. Da nun alles darauf hindeutet, dass es die Hydroxylgruppen des Chondroitins (nicht die der Sulfonsäure allein) sind, die die basischen Farbstoffe binden (dem analog, was Karl Otto Weber [286 b] von der amorphen Cellulose nachwies), so haben wir vielleicht auch hier bei der Chondroitinschwefelsäure Grund, eine Art Ätherbildung zwischen dieser und dem Kollagen und vielleicht noch andere Bindungsmodi zu vermuten, durch welche die Basophile zum Teil oder gänzlich aufgehoben würde. Hierdurch wird selbstverständlich nicht ausgeschlossen, dass diese gegen Methylenblau nicht basophilen Stoffe andere Farben, z. B. besonders saure Farben (Pikrinsäure) binden können. Die hier aufgestellten Ansichten befinden sich an allen Punkten in guter Übereinstimmung mit dem uns aus den physiologisch-chemischen Untersuchungen Bekannten, und sie bilden einen einfachen und natürlichen Ausdruck für die

## Färbungsverhältnisse in der Grundsubstanz des Knorpels.

Eine einzelne Seite der Tingibilität bestätigt das hier Aufgestellte auf ganz interessante Weise: Gewisse Partien der Knorpelgrundsubstanz, die entweder gar nicht oder nur in schwächerem Grade basophil sind, erhalten in den frühen Stadien von Macerationen<sup>1)</sup> (auch bei Säurebehandlung [kein Alkali!], aber nicht so eklatant) stark basophile Eigenschaften, während die anderen, vorher stark basophilen Partien diese Eigenschaft jetzt verloren haben<sup>2)</sup>.

Bei einer Behandlung also, die gerade darauf abzielt, die Chondroitinschwefelsäure aus ihren Verbindungen loszureissen, können wir durch Färbung in einem frühen Stadium des Prozesses Chondroitinschwefelsäure an Stellen nachweisen, wo dieselbe vorher nicht nachweisbar war, d. h. wo sie also ursprünglich zu fest gebunden! — maskiert — war. — Solche Stellen in der Grundsubstanz sind zunächst als gegen die angeführten Färbungen neutral zu betrachten.

Es wird jetzt eine verhältnismässig leichte Sache, die Bedeutung der eigentümlichen Farbendifferenzierungen in den Knorpeln zu verstehen, welche mehr oder weniger vollständig von verschiedenen Autoren der jüngsten Zeit beschrieben worden sind, nachdem Mörner zuerst<sup>3)</sup> auf dieselben aufmerksam ge-

---

1) In Stadien, wo die „Kittsubstanz“ noch gar nicht aufgelöst ist, die Chondroitinschwefelsäure mithin zwar im Begriffe steht, sich von ihren Verbindungen abzuspalten, die albuminöse (und albuminoide) Grundlage (der Kittsubstanz) sich aber noch nicht gelöst hat.

2) Vgl. meine früheren ausführlicheren Bemerkungen hierüber, wie auch Hammars Bemerkung, das die normal relativ schwächere Färbung „der intermediären Züge“ bei Maceration später schwindet als die Färbung der „Mantelschicht“ und der „formlosen Grundsubstanz“: „Die Farbverteilung in einem solchen Schnitte ist also derjenigen des Kontrollpräparates gerade entgegengesetzt.“

3) Streng genommen ist auch Landois (131) Färbung der „Zellenterritorien“ mit Fuchsin hierzu zu zählen.

macht hatte. Am besten und mit Bezug auf den menschlichen Gelenknorpel sehr vollständig hat Hammar die Tinktionsverhältnisse beschrieben.

Meine eigenen Untersuchungen harmonieren aufs beste mit seinen Resultaten und gehen an mehreren Punkten weiter, z. B. rücksichtlich der „formlosen Grundsubstanz“, wie jeder, der die betreffenden Verhältnisse etwas kennt, leicht selbst ersehen kann.

Die von Hammar abgebildeten und beschriebenen Verhältnisse gehören indes zum Teil zu denjenigen, die man im älteren Knorpel findet, wenn der Gelenknorpel auch bei weitem nicht in so frühen Stadien wie die anderen „permanenten Knorpel“ die dem älteren Knorpel eigentümlichen Abänderungen zeigt. Hammars Nomenklatur, die für die Verhältnisse des älteren Gelenknorpels sehr geeignet ist, kann ich jedoch nicht ohne weiteres anwenden, denn bei Übertragung einer bestimmten, für ein gewisses Untersuchungsobjekt geschaffenen Nomenklatur auf ein anderes wird es leicht ein Hindernis für die Beschreibung, wenn die histiologischen Befunde einer gegebenen Nomenklatur angepasst werden sollen. Eine gewisse Freiheit in dieser Beziehung muss man sich vorbehalten.

Die gewöhnliche junge Knorpelgrundsubstanz ist in ihrem ganzen Umfang stark basophil, mithin überall stark chondroitinschwefelsäurehaltig. Bei starker Färbung<sup>1)</sup> wird sie ganz blauschwarz, oft fast undurchsichtig. Verschiedenheiten des Materials kommen natürlich etwas in Betracht (die Dicke des Schnittes wird als die gewöhnliche vorausgesetzt,  $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{30}$  mm). Man darf, wie angeführt, keine maximalen Färbungen anwenden, wenn man über die relative Verteilung der Maxima und Minima der Basophilie Klarheit erlangen will; es versteht sich aber von selbst, dass die auftretenden

---

<sup>1)</sup> Ich meine hier immer die beiden von mir angegebenen Methoden der sauren und basischen Färbung. Sonst wird das Nötige angeführt.

Differenzen der Färbungsintensität kein Mass für die absolute Menge der Chondroitinschwefelsäureverbindungen abgeben, sondern nur ein annäherndes Gutachten über die relative Menge basophilen Stoffes gestatten, also über die an Ort und Stelle befindliche Menge Chondroitinschwefelsäure, die zur Bindung der Farbenbase disponibel ist.

Indes geben uns alle histiologischen und histochemischen Verhältnisse die grösste Wahrscheinlichkeit, dass wir dort, wo wir die relativ stärkste Färbung finden, auch die absolut grösste Menge der Chondroitinschwefelsäureverbindungen antreffen. Nichts spricht dagegen, alles dafür. Umgekehrt zeigt die Erfahrung, dass dort, wo wir die wenigste Basophilie finden, die Menge des unmaskierten Kollagens relativ am grössten ist.

Hieraus folgt eine gewisse **Reciprocität** der Methyleneblaufärbung und der Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin. Auf diesem Verhalten beruhen alle die vielen möglichen Kombinationen von sauren und basischen Farben zur Färbung des Knorpels. (Siehe S. 574 ff.)

Untersucht man ferner mittelst der von mir besprochenen Methoden, wie gross die Totalmenge des Kollagens (d. h. die Summe des „unmaskierten“ und des „demaskierten“) an den verschiedenen Lokalitäten des Schnittes ist, so erhalten wir zugleich eine Schätzung der Menge von „Interfibrillärsubstanz“, die zugegen ist. Wir sehen nämlich an den Schnitten, denen wir ihre Basophilie entzogen haben, und in denen wir daher alles<sup>1)</sup> Kollagen zu färben vermögen, wie dicht die Kollagenfibrillen liegen, oder, bei schwacher Vergrösserung, wie stark die Rotfärbung an den verschiedenen Stellen des Schnittes ist, also ob viel oder wenig Kollagen vorhanden ist, oder umgekehrt, ob von den „Eiweissstoffen“, welche (mit Chon-

---

<sup>1)</sup> Die Färbungen und die Macerationen (mit Trypsin u. s. w.) geben übereinstimmende Resultate.

droitinschwefelsäure kombiniert) die Hauptmasse des Chondroitinmucoids bilden, wenig oder viel angetroffen wird. Natürlich sieht man nur den Platz, den die Interfibrillärsubstanz einnimmt, von ihrer „Dichtigkeit“, ihrem grösseren oder geringeren Wassergehalt, — also auch von ihrer Neigung zum Einschrumpfen — kann man sich mittelst anderer Methoden eine Vorstellung bilden.

Als allgemeine Regel kann ich nun aufstellen:

1. Wo wir eine grosse Menge der amorphen Interfibrillärsubstanz<sup>1)</sup> haben, da ist auch die Chondroitinschwefelsäuremenge **relativ** am grössten, deshalb bleibt auch verhältnismässig wenig, eventuell gar kein unmaskiertes Kollagen zurück an **solchen Lokalitäten, die also Prädilektionsstellen der basischen Färbung werden.**

2. Umgekehrt, wo die absolute Kollagenmenge (also die Totalsumme des maskierten und des unmaskierten Kollagens) am grössten ist, da wird in der Regel der Chondroitinschwefelsäuregehalt ein **relativ** geringer und die Menge des **unmaskierten** Kollagens eine relativ grosse sein; **solche Stellen werden Prädilektionsstellen der sauren Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin.**

Hervorzuheben ist aber, dass wenn sich auch an Stellen, wo viel Kollagen und nur wenige interfibrilläre Substanz ist, ein ungewöhnlich grosser Chondroitinschwefelsäuregehalt findet, dieser genügen wird, um auch hier das Kollagen zu maskieren. Wir erhalten dann entweder gar keine oder auch nur unbedeutende Färbung des Kollagens, das dennoch vielleicht in maximaler Menge vorhanden ist. Dieses Verhalten findet sich freilich seltener und in den weitaus überwiegenden Fällen gelten

---

1) Also Kittsubstanz — Chondroitinschwefelsäureverb.



die beiden allgemeinen Regeln, die ich angegeben habe; indes zeigt es doch, dass man prinzipiell all sein Material auf das Verhältnis zwischen maskiertem und unmaskiertem Kollagen untersuchen soll. Ferner sieht man, dass die Verteilung der Chondroitinschwefelsäure für die Tingibilitätsverhältnisse des Knorpels eine dominierende Rolle spielt.

Ich schreite nun zur Beschreibung der Resultate der Färbung an den Schnitten (es wird vorausgesetzt, dass die Richtung des Schnittes senkrecht zur Fläche des Knorpels ist): Die Basophilie ist am stärksten in den tieferen, zentralen Schichten des Knorpels, die überhaupt das kräftigste Blau bekommen, dieses bei Entfärbung am längsten behalten, und die sich bei sehr dünnen oder bei stärker sauren Farblösungen oder bei ganz kurz dauerndem Färben allein blau färben. Der Knorpel lässt sich gewöhnlich so weit blau färben, wie er auch morphologisch betrachtet Knorpel ist, und die Grenze am Perichondrium ist oft eine sehr scharfe, d. h. es giebt keinen oder auch einen ganz jähen Übergang oder nur eine schmalere Übergangszone trotz des innigen Zusammenhangs zwischen dem Bindegewebe des Knorpels und den Bindegewebsbündeln des Perichondriums, unter denen einige sich ja oft eine kürzere oder längere Strecke<sup>1)</sup> bis in die Knorpelgrundsubstanz verfolgen lassen, ohne dass hierzu besondere Methoden nötig wären (wir sehen einstweilen von dem sogenannten Faserknorpel = Bindegewebsknorpel ab). Bei hyalinem Knorpel kleiner Tiere, bei embryonalem, fötalen Knorpel ist der Übergang aus dem Peri-

---

<sup>1)</sup> Auch echte elastische Fasern können vom Perichondrium aus in die oberflächlichen, peripheren Schichten des echten hyalinen (nicht „elastischen“ Knorpels eindringen. Dies geben Hammar und Solger nebst einigen anderen Autoren an. Ich selbst sah es in vielen Fällen, offenbar ist es keine Seltenheit. Ebenfalls sah ich, wie Hammar, solche Fasern in der freien Oberfläche des Gelenkknorpels; hier konnte ich zum Teil ihren Ursprung in den Endoplasma-Ausläufern verästelter „Zellen“ finden, namentlich in der Peripherie der Knorpel.

chondrium in Knorpel im grossen und ganzen sowohl rein morphologisch als in tinktorieller Beziehung schärfer als beim Knorpel grösserer Tiere. Wir finden nämlich, dass die blaue Farbe gerade am Perichondrium aufhört, wo wir dessen charakteristische Struktur beginnen sehen. Bei Färbung mit Säurefuchsin und Pikrinsäure findet man dasselbe; wir erhalten an solchen gut fixierten Knorpeln keine oder nur geringe Rotfärbung — unmaskiertes Kollagen — der peripheren Schichten. Die Knorpel grösserer und älterer Tiere und überhaupt Knorpel mit kräftiger entwickeltem Bindegewebe zeigen dagegen einen verhältnismässig weniger jähren Übergang in den peripheren Schichten der Grundsubstanz, obschon die Übergangszone stets ziemlich schmal ist, wenn wir die basische Färbung anwenden, die wir als so kräftig voraussetzen, dass sie zwar das ganze Knorpelgebiet, jedoch nicht mit maximaler Intensität färbt. In diesen Knorpeln färbt sich weit mehr (zuweilen alles) Bindegewebe in den peripheren Schichten unter dem Perichondrium oder den freien Gelenkflächen; hier ist also verhältnismässig viel unmaskiertes Kollagen. Die oberflächlichen Schichten, auch die Gelenkflächen, des Knorpels sind stets weniger chondroitinschwefelsäurehaltig als die centralen, und dies beruht nicht nur auf einem geringeren Gehalt an Chondromucoid (Kittsubstanz). Ebenfalls ist gewöhnlich die Grundsubstanz in unmittelbarer Nähe der Gefässkanäle des Knorpels<sup>1)</sup> weniger basophil. Soweit ich zu ersehen vermochte, findet sich ferner geringere Chondroitinschwefelsäurehaltigkeit in den oberflächlichen Knorpelschichten an Stellen, wo das Perichondrium loser und das ausserhalb desselben gelegene Gewebe stärker vascularisiert ist, als da, wo das Perichondrium

<sup>1)</sup> Ich sehe von den Verhältnissen an der Verknöcherungsgrenze ab, die ich in vielen Beziehungen abweichend fand und wo in der Regel vermehrte Basophilie und grosser Chondroitinschwefelsäuregehalt angetroffen werden, die oft Hand in Hand mit einer kammerwerkähnlichen Verdichtung des Bindegewebes in der Knorpelgrundsubstanz gehen (siehe später).

fest und dick und der Saftwechsel der Gewebe wahrscheinlich geringer ist. Man muss unwillkürlich einen gewissen Zusammenhang vermuten zwischen diesen Verhältnissen und der von Schmiedeberg angedeuteten Möglichkeit, die Chondroitinschwefelsäure werde fortwährend in den Knorpeln gebildet, diffundiere aber aus diesen, um zu irgend einem einstweilen unbekannten, aber wohl nicht unwichtigen Zwecke im übrigen Gewebe des Organismus angewandt zu werden. — Eine Analogie mit der Funktion der Gland. thyroidea und ähnlichen „internen Sekretionen“ ist ja eine naheliegende Gedankenassociation.

Wert zu bemerken ist die Thatsache, dass man ausserhalb des Gebietes, das strukturell betrachtet Knorpel ist, gewöhnlich keine Spur der charakteristischen Basophilie findet.

Anders verhält es sich mit dem elastischen und besonders mit dem Bindegewebs-Knorpel [dem Faserknorpel]; hier ist die Grenze gegen das umgebende Gewebe zuweilen ja nicht scharf abgesteckt, und man findet dann oft ausserhalb des Gebietes, das man morphologisch mit zum Knorpel zählen würde, eine amorphe Grundsubstanz zwischen den Bindegewebeelementen (Zellen und Fibrillen), die die intense Farbenreaktion zeigt, welche die Chondroitinschwefelsäure in dem nahe gelegenen Knorpel hervorhebt. Diese kann sich auch sehr schön zeigen z. B. zwischen Klümpchen von Fettzellen in der Nähe der Cartilago epiglottica z. B. des Kalbes, ebenfalls sah ich sie sehr hübsch in der nächsten Umgegend des elastischen Teiles der Cartilago aryt. bei einem grossen Hunde. Bei typisch hyalinem Knorpel dagegen ist die Grenze fast immer eine scharfe. Der Umstand, dass die Chondroitinschwefelsäure sich ausserhalb des Knorpels in dessen nächstem Umkreise nicht tinktoriell nachweisen lässt, widerstreitet durchaus nicht der Annahme, die Chondroitinschwefelsäure diffundiere allmählich, wie sie gebildet werde, aus dem Knorpel, denn dies kann darauf beruhen, dass sie sogleich verbraucht, in andere Verbindungen

umgesetzt oder „maskiert“ würde, und überdies kann es sich wohl nur um verhältnismässig sehr kleine Mengen handeln.

Ich fand einen Umstand, der direkt darauf hinzudeuten scheint, dass die Chondroitinschwefelsäure solchergestalt stets aus dem Knorpel hinweggeführt wird (Fig. 7). Als ich nämlich die ziemlich eigentümlichen histologischen Verhältnisse in den „Markräumen“ und Gefässkanälen<sup>1)</sup> der Knorpel von Rindern und Pferden, sowohl jungen als alten Individuen, untersuchte, gewährte ich, dass die Kapillaren und einige der kleineren Gefässe rote Blutkörperchen in einem Plasma liegend enthielten, das stark basophil war und sich stark blau färbte, ganz wie die Chondroitinschwefelsäureverbindungen in der Knorpelgrundsubstanz und in der weicheren „Intercellulärsubstanz“ des „Markraumes“. Durch Tripelfärbung mit saurem Methylenblau, Säurefuchsin-Pikrinsäure bekam man die Zellen der Gefässwände und die roten Blutkörperchen gelb gefärbt, in einigen Gefässen färbte sich ausserdem das Plasma gelblich, in anderen, diesen unmittelbar anliegenden, war das die gelb gefärbten roten Blutkörperchen umgebende Plasma aber oft intens blau gefärbt. Beim Verfolgen der Gefässe eine kürzere Schnittserie hindurch sah ich, dass die Gefässe mit dem basophilen Plasma in eine grössere dünnwandige Vene einmündeten, die ebenfalls gelbe Gefässwandung, bläuliches (stärker oder schwächer gefärbtes) Plasma und gelbe Blutkörperchen zeigte, während die nebenan liegende leicht erkennbare, dickwandige Arterie zwar einige gelbe Blutkörperchen enthielt, aber kein blaufarbiges Plasma zeigte, auch nicht in ihren feineren Verzweigungen. Natürlich können in den Gefässen sehr wohl Unterbrechungen der Blutsäule vorkommen. Der Umstand, dass nur gewisse der Gefässverästelungen das blaufarbige basophile Plasma enthielten, scheint mir gegen die Möglichkeit zu sprechen, dass die Chondroitinschwefel-

---

1) Siehe später.

säure nach dem Tode oder während des Fixierens in diese Gefässe diffundiert sein könnte. Ausserdem habe ich nie beobachtet, dass Chondroitinschwefelsäureverbindungen sekundär in das umgebende Gewebe diffundierten, einerlei, ob die Fixierung ganz kurz oder erst lange, nachdem das Material aus dem Tiere herausgeschnitten wurde, vorgeht. — Die betreffenden Markräume enthalten ausserdem viele amorphe, chondroitinschwefelsäurehaltige Substanz und die ganz eigentümlichen, stark vakuolisierten und umgebildeten, oft verästelten Zellen, die auch in den zunächst anstossenden „Knorpelhöhlen“ liegen und sowohl in ihrem „Protoplasma“ als besonders in den Vakuolen<sup>1)</sup> sehr viel Chondroitinschwefelsäure enthalten.

Ich denke mir also die Möglichkeit, dass die Saftströme in den benachbarten Geweben, die von der Blut- und der Lymph-cirkulation herrühren, während das Tier lebt einen Saftwechsel zwischen dem Knorpel und dessen Umgebungen unterhalten, und dass auf diese Weise Chondroitinschwefelsäureverbindungen in das Gefässsystem eindringen, wo sie ganz natürlich vorzugsweise in denjenigen Gefässen zu finden sind, welche Blut oder Lymphe vom Knorpel hinwegführen.

Was die mehr detaillierte Verteilung der Chondroitinschwefelsäureverbindungen im Knorpelgewebe selbst betrifft, so zeigt die blaue Färbung uns (wie gesagt, in Übereinstimmung mit allen anderen Untersuchungsmethoden) deren wichtigste Lokalisationen.

Um jede Knorpelzelle, jedes Endoplasma, und in den mehr centralen Gegenden des Knorpels zugleich um jede Knorpelzellengruppe haben wir ein Maximum des Blau. Stark basophil ist stets die sogenannte Knorpelzellkapsel<sup>2)</sup> und (in den äusserst

---

1) Dass diese Vakuolen keine blossen Fixierungsprodukte sind, lässt sich leicht nachweisen, denn an ganz frischen „überlebenden“ Schnitten, ohne Zusatz mit Zeiss' apochromat. Immersion 3 . 1,40 untersucht, kann man die Vakuolenstrukturen u. s. w. im Protoplasma wenigstens einiger der Markraumzellen ganz blass, jedoch deutlich sehen.

2) Über diese Bildung siehe später.

zahlreichen Fällen), wo eine solche sich nicht bestimmt als eine Bildung für sich nachweisen lässt, die unmittelbar um die „Zelle“ und die „Knorpelhöhlung“ liegende Partie der hyalinen Grundsubstanz. Es ist hier von dem typischen hyalinen (nicht „alten“) Knorpel die Rede. Es kann einzelne Zellen geben, die keine solche stark basophile Zone haben, weil sie entweder zeitweilig oder für immer aufgehört haben, Chondroitinschwefelsäureverbindungen zu bilden (siehe hierüber später in „Die Genese der Knorpelgrundsubstanz“). Ausserhalb dieser maximal basophilen Zone kommt dann konstant eine Zone mit geringerer Basophilie, und hieraus resultiert ein sehr charakteristisches Färbungsbild, das mit einer Unzahl von sekundären Variationen als **Typus** fast alles hyalinen Knorpels wiedergefunden wird. Wie ausgeprägt das typische Bild wird, das ist abhängig von den Differenzen der Basophilie (also der Menge der Chondroitinschwefelsäure) und von dem unmaskierten Kollagen an den betreffenden Stellen. Deshalb wird das Bild oft ein sehr verschiedenes, je nachdem wir die peripheren oder die centralen Partien eines Knorpels betrachten, je nachdem der Knorpel jung (fötal, embryonal) oder mehr entwickelt ist, je nachdem dieser von einem grösseren oder kleineren Tiere herrührt u. s. w. Ich werde das ausgeprägt typische Bild und die Extreme der Variationen beschreiben.

Nehmen wir den Querschnitt eines nicht zu schmalen Knorpels, z. B. des Larynx- oder Trachealknorpels eines mittelgrossen Hundes, eines Kalbes oder eines Schafes, färben wir denselben mit der Tripelfärbung, saurem Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin, und extrahieren wir so viel Blau in absolutem Alkohol, dass wir eine deutliche Differenzierung auch derjenigen Schichten erhalten, die unmittelbar unter den subperichondralen Schichten liegen. Die charakteristische Verteilung der Farben sieht dann in diesen mittleren Schichten ungefähr aus, wie **Fig. 1** und ff.

zeigt; unmittelbar um die gelbfarbigen Zellen, die sich in diesem Falle, wie es oft bei Fixierung des Knorpels geschieht, ein wenig von der inneren Wand der „Knorpelhöhle“ retrahiert haben (darum der schmale ungefärbte Raum um die Zellen) sieht man eine stark blaue **Zone I**, übrigens von ungleicher Dicke und Intensität um die verschiedenen Zellen<sup>1)</sup>; hierauf folgt mit jäharem oder sanfterem Übergange eine etwas weniger intensiv gefärbte blaue **Zone II**, teils um die einzelnen Zellen herum, teils und zwar hauptsächlich einzelne Zellengruppen (sogenannte „isogenetische“ Gruppen) umgebend. Ausserhalb dieser die Zellengruppen umschliessenden Grundsubstanz kommen die obengenannten weniger basophilen Zonen. In diesem Falle, wo wir willkürlich eine weit unter der maximalen Intensität liegende basische Färbung gewählt haben, bekommen diese weniger basophilen Zonen entweder eine stark rote Farbe, oder auch sind sie ganz schwach blau oder hellrot (zuweilen ganz ungefärbt) je nach der Menge der Chondroitinschwefelsäure und des unmaskierten Kollagens. Ausserhalb der den Zellengruppen zunächst liegenden Massen blaufarbiger Grundsubstanz erhalten wir auf diese Weise mehr oder minder ring- oder bogenförmige, stark rotgefärbte Züge, **Zone III**, des unmaskierten Kollagens. Um einige Zellengruppen herum findet sich isoliert ein dünnerer oder dickerer geschlossener roter Ring, in anderen Fällen ist der Ring unvollständig oder sind die „kollagenen“ rotfarbigen Züge um die kleineren Zellengruppen in grösserem oder geringerem Umfang zusammenhängend, wodurch bogige Netzwerke von roten Trabekeln oder mehr arkadenähnliche Bilder entstehen. Äusserst häufig gehen von

---

<sup>1)</sup> Viele der Zellen zeigen ausserdem „kollagene Mäntel“ aus dem kurzen, starren, dicken Fibrillen, was uns in diesem Zusammenhang nichts angeht, Vgl. hierüber meinen Übersichts-Artikel im *Anatom. Anzeiger*. Bd. XVI, Nr. 17–18. 1899.

diesen dickeren roten Zügen schmalere, stark oder schwächer rotfarbige Streifen tiefer oder kürzer in die blaue Grundsubstanz um die Zellengruppen hinein und teilen letztere somit in Unterabteilungen. Man kann auch gewahren, wie schmalere rote Streifen anscheinend ohne Zusammenhang mit den dickeren daliegen und einzelne Zellen oder kleine Zellengruppen voneinander trennen.

Denken wir uns, dass diese dünneren, roten Streifen sich erweitern, verbreitern, verlängern, kurz: „wachsen“, während zugleich die Zellen der einzelnen Gruppen sich vermehren und die blaue Grundsubstanz um diese zunimmt, so erhalten wir ein ähnliches Bild wie das, von dem wir ausgingen.

Um die einzelnen kleineren Zellengruppen haben wir also eine blaue Grundsubstanz (Zone I + II), von einer bogen- oder ringförmigen roten Zone (III) umgeben. Diese kleineren Gruppen sind im Knorpel ja wieder zu grösseren Gruppen höherer Ordnung gesammelt, und nun kommt zwischen den Gruppen niederer Ordnung (den einfachen Gruppen), also ausserhalb und rings der roten Zonen derselben, wieder eine stärker basophile, deshalb blaue Grundsubstanz, **Zone IV**, die gewissermassen den Zwischenraum zwischen den Gruppen ausfüllt und je nach der Formation der Zellengruppen mehr unregelmässige, gestreckte oder bogige blaue Netze bildet.

Wo die roten Zonen um die Zellengruppen niederer Ordnung unvollständig sind, steht das blaue Netz also mit der blauen Grundsubstanz um die Zellen in Verbindung; wo die Netzbildung der roten Ringe stärker entwickelt ist und wo die roten Ringe zu kürzeren oder längeren Zügen zusammenfliessen, influirt das selbstverständlich auf die Form dieses blauen Balkennetzes (Zone IV), das mit seinen breiteren und gröberen Partien die grösseren, zusammengesetzten Gruppen von Knorpelzellengruppen (also die



**Gruppen höherer Ordnung**) mehr oder weniger vollständig voneinander trennen wird. Wir bekommen mithin zwischen den Gruppen höherer Ordnung ein gröberes, grossmaschiges blaues Balkennetz<sup>1)</sup>. (Vgl. Fig. 1 u. 5.) Endlich können in diesem gröberen blauen Balkennetze schmalere oder breitere rote Streifen, **Zone V**, angetroffen werden, die mit den die kleineren Zellengruppen umgebenden roten Zonen entweder gar nicht oder nur in grösseren Zwischenräumen in Verbindung stehen.

Das gröbere blaue Balkennetz (Zone IV) enthält gewöhnlich<sup>2)</sup> keine Zellen oder Zellengruppen, und selbst wo es sich zu grösseren Flächen (also auch Räumen) ausbreitet, ist die Annahme falsch, es seien nur Tangentialschnitte der blauen Substanz (Zone I + II) um die Zellengruppen niederer Ordnung; man kann sich z. B. durch Serienschnitte und übrigens auch aus der ganzen Anordnung leicht vom Gegenteil überzeugen.

Diese Anordnung der 4 (5) Zonen um die Knorpelzellen**gruppen**<sup>3)</sup> erhalten wir der Hauptsache nach überall mehr oder weniger ausgesprochen in den Knorpelschnitten fast in jeder beliebigen Richtung des Schnittes, die Form, Anordnung und Ausdehnung des roten und des blauen **Trabekelwerks** beruhen natürlich aber auf der Richtung des Schnittes und auf der Anordnung und Gruppierung der Knorpelzellen in den verschiedenen Knorpeln und in den verschiedenen Schichten der Knorpel. Dass wir bei fast jeder Richtung des Schnittes notwendigerweise solche Trabekelwerksbilder

1) Vgl. Mörners Beschreibungen l. c. Dieses Balkennetz darf jedoch keineswegs mit dem Mörnerschen identifiziert werden, mit welchem es nur bis zu einem gewissen Grade die Form gemein hat.

2) Doch kann man gelegentlich eine einzelne Zelle oder einen Zellrest darin finden, wie überall im Knorpel, was sich leicht erklären lässt, wenn man die Entwicklung der Grundsubstanz kennt. (Vgl. F. C. C. Hansen, l. c.)

3) Eine „Zellengruppe“ kann eventuell nur eine einzige Zelle enthalten.

erhalten **müssen**, ist einleuchtend, eben weil in der Intensität der Basophilie oder, wenn man so will, in der Verteilung der Acidophilie oder des unmaskierten Kollagens diese zonale Abwechselung stattfindet.

Bei Färbung mit **saurem Methylenblau allein** erhalten wir um die einzelnen Zellen oder kleineren Zellengruppen herum eine blaufarbige Sphäre (Zone I und II), gewöhnlich am intensivsten nach innen gefärbt, und um diese herum kommt eine ganz schwach blaugefärbte oder ungefärbte Sphäre (Zone III), die ring- oder bogenförmig ist und ein ungefärbtes Trabekelwerk bildet. Ausserhalb des letzteren, mit demselben abwechselnd und die Zwischenräume anfüllend, findet sich ein stark blaues Trabekelwerk (Zone IV), dass dann eventuell hellere Streifen enthalten kann (Zone V). Die blauen Sphären und das blaue Trabekelwerk werden grösser und sind mehr intensiv gefärbt, je mehr wir uns dem Centrum des Knorpels nähern, wo das helle Trabekelwerk oft gänzlich fehlt. Doch hat man es in seiner Gewalt, dasselbe auch hier hervorzurufen, indem man entweder das Blau extrahiert oder auch mit starker saurer Lösung färbt. Die mehr peripheren Partien des Schnittes werden dann weniger blau oder ganz weiss. Durch partielle Entfernung der Chondroitinschwefelsäure aus einem Schnitte mit Hilfe der oben von mir angegebenen Mittel kann man erforderlichenfalls auch in den centralsten Partien das charakteristische Bild hervorrufen. Durch Färbung mit **Säurefuchsin-Pikrin allein** erhalten wir das unmaskierte Kollagen gefärbt; alle diejenigen Partien der Grundsubstanz, die bei der isolierten, basischen Färbung weiss oder nur schwächer blaufarbig wurden, also Zone III (event. V), werden jetzt in verschiedenem Grade rot, je nachdem sie mehr oder weniger des unmaskierten Kollagens enthalten, was ja im ganzen und grossen zu ihrer Basophilie in umgekehrtem Verhältnisse steht. Diejenigen Stellen, die bei der isolierten, basischen Färbung am stärksten

blau waren, sind jetzt entweder ungefärbt oder schwach gelblich. Das Resultat wird ein rotes Trabekelwerk und rote Ringe, welche ungefärbte Sphären um die Zellen und die Zellengruppen herum umgeben. Ausserhalb des stark roten Trabekelwerks und demselben komplementär haben wir wieder ein ungefärbtes oder schwächer rotes Trabekelwerk, der Zone IV entsprechend; diese enthält nämlich an vielen Stellen ausser ihrer grossen Chondroitinschwefelsäuremenge eine kleinere Menge unmaskierten Kollagens, das oft aus Fibrillen von etwas grösserer Dicke als in den anderen Zonen (besonders Zone I und II) besteht, und das die basische Färbung nicht sonderlich abzuschwächen braucht, gelegentlich aber doch eine hellere rote Färbung der Zone IV bedingen kann. In dieser findet sich dann wieder stellenweise die stärker rote Zone V. Die **Figur 2** zeigt halbschematisch die isolierte basische und saure Färbung, wie auch deren komplementäres Verhalten.

Die 4—5 geschilderten Zonen sind nur Ausdrücke für die abwechselnden Tingibilitätsverhältnisse, und die Grenzen zwischen den einzelnen Zonen brauchen keine scharfen zu sein. Bei schwächeren Vergrösserungen erhält man natürlich oft den Eindruck ziemlich scharfer Abgrenzungen, untersucht man aber mittelst stärkerer Linsen, so wird es fast stets gelingen, mehr oder weniger sanfte Übergänge nachzuweisen, und infolge der ganzen wirklichen, histiologischen Struktur des Knorpels, kollagener Fibrillen in einer basophilen, amorphen Substanz, muss dem auch so sein. Namentlich werden die Stellen mit weniger entschiedener Basophilie sich bei saurer Färbung, wenn auch etwas schwächer, bisweilen rot gefärbt zeigen. Zone III (und V) werden bei isolierter Färbung mit Säurefuchsin Pikrin breiter sein als die Zone, die bei der isolierten Färbung mit saurem Methylenblau ungefärbt bleibt oder sich schwach blau färbt. Bei der Tripelfärbung wird man also oft sowohl in Zone II als in Zone IV äusserst feine oder etwas dickere rote Fibrillen

unmaskierten Kollagens in der blaufarbigem Substanz<sup>1)</sup> eingelagert liegend gewahren. In einigen Knorpeln können die Zonen II und IV in ihrem ganzen Gebiete ziemlich reich an unmaskiertem Kollagen sein, ja in gewissen Knorpeln kann man ohne besondere Behandlung dieses sogar in Zone I<sup>2)</sup> finden. In mehreren Fällen stehen diese Verhältnisse in direktem Zusammenhang mit dem Bildungsmodus des Kollagens in den betreffenden Gegenden (Fig. 6). In jüngerm Knorpel, der ja überhaupt überall stark chondroitinschwefelsäurehaltig ist, sind die Übergänge oft sanfter; die Zone III kann sehr wohl stark rot und deutlich sein, die Farben sind aber wegen der innigen Mischung des äusserst fein fibrillierten Kollagens mit den Chondromucoiden mehr fein „schattiert“, selbst wo die „Übergangsgürtel“ zwischen den einzelnen Zonen ganz schmal sind und die Grenzen deshalb relativ scharf werden. In älterem und namentlich in altem Knorpel enthalten diejenigen Partien, in denen das **meiste** unmaskierte Kollagen vorkommt, dieses gewöhnlich in auffallend reichlicher Menge, oft so dicht, dass die einzelnen Fibrillen sich in gewissen Schichten nicht deutlich voneinander unterscheiden lassen (ganz ebenso wie sehr feste und dicke Bündel von Bindegewebsfibrillen oft ganz homogen aussehen und man erst durch geeignete Behandlung die einzelnen Fibrillen zum Vorschein bringen kann). Namentlich in „älterem“, jedoch nicht „altem“ Knorpel ist Zone II geneigt, als ein ziemlich scharf abgegrenzter roter Ring zu erscheinen, dem sich an beiden Seiten ein schwächer rotfarbiger Gürtel von variabler Breite anschliessen kann. (Fig. 2 u. 9.) Vorläufig bemerke ich, dass die 4–5 Zonen, die ich als dem wohlentwickelten jüngeren hyalinen Knorpel typisch schilderte, zwar auch

---

1) Dass basische Vorfärbung bis zu einem gewissen Grade die Darstellung des Kollagens mittelst Säurefuchsin-Pikrins begünstigt, wurde früher erwähnt.

2) Selbst wenn wir von den kollagenen „Mänteln aus unmaskiertem Kollagen (besonders bei grösseren Tieren) absehen.

im älteren Knorpel wiederzufinden sind, dass die Verhältnisse hier indes gewöhnlich komplizierter werden; wir können hier um jede Zelle oder Zellengruppe herum weit zahlreichere abwechselnde Zonen<sup>1)</sup> roter und blaufarbiger Ringe, Gürtel und Trabekel bekommen; die Grenzen zwischen den einzelnen Schichten werden oft sehr scharf; stellenweise ist die Sonderung nicht nur eine tinktorielle, sondern kann mit allen möglichen Übergängen bis zur wirklichen Trennung und Lösung des Zusammenhangs zwischen der betreffenden Zelle oder Zellengruppe und der übrigen Grundsubstanz steigen; wir erhalten eventuell eine isolierte „Mutterkapsel“<sup>2)</sup>, welche „Tochterkapseln“ enthält.

Beachtenswert ist, dass die Trennung gewöhnlich an der Grenze zwischen einem stark verdickten, roten kollagenen Ringe (also eigentlich einer Hülse) und der ausserhalb desselben gelegenen, in diesem Falle meist sehr stark basophilen Grundsubstanz vorgeht, in welcher letzteren man mehr oder weniger reichliche, oft dicke Bindegewebsfibrillen gewahrt, die mitunter zum Teil noch mit dem Kollagen des roten Ringes in Verbindung stehen. Zuweilen sieht es aus, als ob das Kollagen ausserhalb des „Ringes“ zum Teil verschwinde, sich auflöse oder vielleicht in Chondromucoid<sup>3)</sup> umgebildet werde. Über den Grund dieser Veränderungen wissen wir vorläufig nichts.

1) Dies sind die sogenannten zusammengesetzten und geschichteten Kapseln. Die scharf konturierten, stark lichtbrechenden Schichten derselben sind dann in der Regel gar nicht stark basophil, wie z. B. die innerste, die Kapsel genannte Schicht um die Zellen in jungem Knorpel oder im typisch hyalinen Knorpel kleiner Tiere, sondern bestehen aus verdichtetem, stark rotfarbigem Kollagen, abwechselnd mit mehr oder weniger basophilen Schichten Chondromucoid + Kollagen oder gelegentlich mit pikrophilen „Albuminoidschichten“ von Körnern, Schollen oder Fasern aus Albuminoid.

2) Die äussersten, stark kollagenen „Kapseln“ entsprechen dann dem, was man früher (auch nach Koelliker: Gewebelehre 1889) die Cellula, die Zellmembran nannte; das Protoplast hierin (mein Endoplasma) ist unsere gewöhnliche „Zelle“. Die „Zellmembran“ verdickt sich also durch abwechselndes Ablagern von Chondromucoid, kollagenen und albumoiden Schichten.

3) Da das Kollagen des Knorpels thatsächlich in einer chondromucoidartigen amorphen Grundsubstanz und wahrscheinlich durch deren Umbildung

Nachdem ich nun die elementarsten Verhältnisse der Farbverteilung im Knorpel besprochen habe, beschreibe ich jetzt ganz im allgemeinen die typischen Verhältnisse bei der Anordnung des Trabekelwerks in den verschiedenen Schichten des Knorpels. Bestimmend ist hier einerseits die zonale periodische Abwechselung der Tingibilität um die einzelnen Knorpelzellengruppen herum, andererseits teils die relativ grössere Basophilie der mehr centralen Gegenden im Gegensatz zu den peripheren und den perichondralen, teils der bekannte Unterschied der Anordnung der Knorpelzellen und der Knorpelzellengruppen in den peripheren und in den tieferen Schichten. Die Knorpelpartien unmittelbar um die Gefässkanäle können oft in tinktorieller und struktureller Beziehung ähnliche Verhältnisse zeigen wie die peripheren Knorpelschichten<sup>1)</sup>.

Im grossen und ganzen sind die Knorpelzellen der peripheren Schichten teils mehr abgeplattet, teils in Gruppen geordnet, die ebenfalls platter sind und ihre Längsachse zur Oberfläche des Knorpels parallel haben. In den folgenden Schichten werden die Knorpelzellen im ganzen weniger nach einer bestimmten Richtung abgeplattet<sup>2)</sup>, wie auch die Gruppen

---

entstehen kann, liegt durchaus nichts Sonderbares in der Möglichkeit des umgekehrten Vorgangs. Analogien hiermit sind vielfach anzutreffen.

1) Neben diesen Ähnlichkeiten mit den mehr peripheren Schichten (Ähnlichkeiten, welche teils durch die Gegenwart der Gefässe — besserer Saftwechsel — bedingt sind, teils in der durch die Ausgrabung des Gefässkanals in der Grundsubstanz hervorgerufene „Oberflächenbildung“ und dadurch veränderten mechanischen Struktur ihre Erklärung finden) können sich teils Eigenschaften finden, die auch den tieferen Schichten des Knorpels charakteristisch sind (Albumoidbildung), teils Eigenschaften, die den Gefässkanälen eigentümlich sind.

2) Da die Form der Knorpelzellen (der Endoplasmen) in der That ja so äusserst verschieden ist, lässt sich die gewöhnliche Schilderung nicht ohne weiteres generalisieren, der zufolge die Knorpelzellen unter der Gelenkoberfläche oder dem Perichondrium platt sind, darauf rundlicher werden und in den tieferen Schichten (oder unten an der Knochengrenze) wieder etwas mehr länglich oder in länglichen Gruppen senkrecht zur Oberfläche des Knorpels, geordnet sind. Diese Schilderung passt namentlich für Gelenkknorpel und

rundlicher werden, indem ihre Anordnung doch stets eine gewisse Konzentrität mit der Oberfläche zeigt. In den tieferen und tiefsten Schichten ordnen die Knorpelzellengruppen (besonders die mehr zusammengesetzten Gruppen höherer Ordnung) sich mehr mit ihrer Längsachse senkrecht zur Oberfläche oder, wo diese sich stärker krümmt, radiär zur Oberfläche. Ein ähnliches Verhalten ist in einigen, bei weitem aber nicht allen Fällen, rücksichtlich der einzelnen Zellen in dieser Region wiederzufinden. Wo im Innern des Knorpels Gefässkanäle vorkommen, lässt sich oft in grösserem oder geringerem Umfange eine in Beziehung zur Achse des Kanals radiäre Anordnung der Knorpelzellengruppen nachweisen.

Es wird nun klar sein, dass das rote Trabekelwerk unmaskierten Kollagens gemäss der Form und Verteilung der Knorpelzellengruppen oder der einzelnen Zellen seine Form und Anordnung ändern muss. Die Fig. 3 u. 5 (Laryngealknorpel eines Hundes) zeigt das typische Bild, das man mit einiger Variation in fast allen hyalinen Knorpeln dieses histiologischen Typus wiederfindet, der ja weitaus der vorherrschende ist<sup>1)</sup>.

Nach Färbung entweder mit Säurefuchsin-Pikrin allein oder mit diesem in Kombination mit saurem Methylenblau, findet man alles Bindegewebe ausserhalb des Knorpels rotgefärbt, das des Perichondriums ebenfalls intens rot. Wir sehen nun, wie das unmaskierte Kollagen sich im Zusammenhang mit dem Perichondrium als rotfarbige Streifen, Netze und Bogen um die Zellen und die Knorpelzellengruppen in der „hyalinen“ Knorpelgrundsubstanz wie geschildert abzeichnet. In den mehr peripheren Schichten, wo wir entweder eine freie (Gelenk-) Oberfläche oder Perichondriumbekleidung haben, sind die Bogen

---

zum Teil für Skelettknorpel kleinerer und jüngerer Tiere, z. B. unter den Säugetieren und Amphibien.

1) Ich sehe hier also von den Fällen ab, wo wir, wie z. B. in der Sclera vieler Fische, grössere zellenlose Knorpelstellen an beiden Flächen finden.

gewöhnlich platter, darauf werden sie höher, oft zugleich grösser, und auf diese Weise bekommen wir eine „Arkade“ von roten Bogen innerhalb einer anderen, als Umkreisung der ungefärbten oder (nach Tripelfärbung) blauen Knorpelzellengruppen. Die Konvexität der Bogen ist in den meisten Fällen der Peripherie zugekehrt, was darauf beruht, dass die rotfarbige Zone III, die ja vorzugsweise das unmaskierte Kollagen enthält, fast stets am stärksten gefärbt oder am breitesten, kurz am deutlichsten ausgesprochen oder auch allein an derjenigen Seite einer Knorpelzellengruppe vorhanden ist, die der zunächst liegenden Perichondriumfläche zugekehrt ist oder auch einem Gefässkanal, wenn ein solcher in der Nähe liegt. In den mehr peripheren Schichten, wo das unmaskierte Kollagen am reichlichsten ist, erhalten wir die Zellen oder die Zellengruppen mit oder ohne (blaufarbige oder farblose) Zone<sup>1)</sup> I—II in einem zusammenhängenden roten Maschennetze mit länglichen, spindelförmigen oder mehr sichelförmigen Maschen liegend. Weiter nach innen wird das Maschennetz mehr zu roten Arkaden um die perichondrale Seite der innersten, blaufarbigten Zone (I und II) der Zellengruppen. Da die Bogen der äusseren Arkaden gleichsam mit ihren Schenkeln auf der Konvexität der Bogen der inneren Reihe ruhen oder in dieselbe übergehen, werden die respektiven Knorpelzellengruppen natürlich gänzlich oder fast gänzlich von einem roten Maschennetz umgeben, das aus einem äusseren und einem, zwei oder mehreren inneren roten Bogen zusammengesetzt ist, welche letztere sich deutlich als den im Innern gelegenen Zellengruppen angehörend dokumentieren. Aus diesem giebt es alle möglichen Übergänge in echte Ringbildung um die Zellen oder die Gruppen; noch

---

<sup>1)</sup> Da die Zonen die Differenz der Chondroitinschwefelsäurehaltigkeit und die Verteilung des unmaskierten Kollagens zum Ausdruck bringen, ist es, wie früher entwickelt, keineswegs immer möglich, zu bewirken, dass diese Differenzen sich bei der Färbung gleichzeitig überall in demselben Schnitte geltend machen.



immer ist aber das rote Trabekelwerk vorherrschend, und die blauen Gruppen liegen meistens als Inseln in einem roten Maschennetze mit sichelförmigen oder rundlichen Maschen u. s. w.

Zone III ist also anastomosierend oder den meisten der Gruppen dieser peripheren Schichten gemeinsam, wenngleich gewisse Teile der Zone III sich gewöhnlich der einen oder der anderen enger anschliessen. Eine Zone IV (das blaue Trabekelwerk) ist relativ schwach ausgesprochen.

Je mehr wir uns indes der Mitte des Knorpels nähern, um so mehr tritt in der Regel das rote Trabekelwerk an Mächtigkeit zurück, während die Zone IV, das blaue Trabekelwerk, deutlicher wird. An den Übergangsstellen finden wir das oben beschriebene Bild mit den 4 (5) wohl ausgesprochenen Zonen (siehe Fig. 1, 2, 5). Darauf nimmt das unmaskierte Kollagen, Zone III, noch mehr ab. Es erscheint seltener als vollständige Ringe, sondern meist als rote Bogen nur an der peripheren Begrenzung der Zellengruppen, anfangs auch an den kleineren Zellengruppen, später wesentlich nur um die grösseren. Die Schenkel der Bogen verlaufen mehr oder weniger als rote Streifen (Zone V) ausgestreckt<sup>1)</sup> in den breiteren Teilen des die Gruppen trennenden blauen Trabekelwerks. Zuletzt verschwindet das rote Trabekelwerk gänzlich, und der Schnitt zeigt nur die Zellen von verschieden stark gefärbten blauen Zonen umgeben — indem fortwährend stark basophile Gegenden mit weniger basophilen abwechseln.

Wo die tieferen Teile des Knorpels sehr basophil sind, sehen wir entweder nur Andeutungen von Zonen oder auch gar keine Zonen um die grösseren Gruppen. Doch können sich mitten in den zentralen Teilen einzelne rote Streifen (Zone V) in einem oder mehreren Zügen des blauen Trabekelwerks finden. Auch

---

<sup>1)</sup> Allmählich sind wir nämlich bis an die tieferen Teile des Knorpels gelangt, wo die Gruppen sich radiär oder senkrecht zur Oberfläche mehr in Reihen ordnen.

um einzelne tiefliegende Zellengruppen kann gelegentlich ein roter Bogen oder Ring auftreten. Stets ist jedoch hervorzuheben, dass wir es fast immer in unserer Gewalt haben, die ganze zonale Anordnung und das rote Trabekelwerk, sogar in den centralsten Teilen, darzustellen, indem wir die Chondroitinschwefelsäure zum Teil ausziehen und das Kollagen zum Teil demaskieren.

Um die Gefässkanäle herum tritt, wie oben angegeben, in der Regel ebenfalls rotfarbiges, unmaskiertes Kollagen auf, das im tiefsten Innern um den Kanal eine ganz rote Zone bildet (ganz wie unter dem Perichondrium), aus welcher sich bis in verschiedene Tiefe ein ähnliches rotes Arkaden- oder Trabekelwerk in den Knorpel erstreckt.

Wie weit das rote Trabekelwerk sich also im einzelnen Falle bei der isolierten Säurefuchsin-Pikrinfärbung erstreckt, hängt deshalb von vielen Umständen ab, u. a. ist die Fixierung von Bedeutung. Fixation in Flüssigkeiten, die wie z. B. Formol-Alkohol, absoluter Alkohol, Sublimat u. s. w. die Chondroitinschwefelsäure entweder gar nicht oder nur in geringem Masse extrahieren, bewirken ein weniger ausgedehntes rotes Trabekelwerk als z. B. Pikrinsäure, Liquor Mülleri, Formol und Müllers Flüssigkeit<sup>1)</sup>, reines Formol u. s. w., die mehr Chondroitinschwefelsäure auslösen.

Wie früher hervorgehoben, sind die hier besprochenen typischen Bilder der Knorpelgrundsubstanz nur ein Anzeichen und eine notwendige Folge der zonalen, periodischen Abwechselung stark basophiler Partien mit weniger basophilen, und selbstverständlich ist es absolut unmöglich, aus dem relativ „zufälligen“ Umstande, ob eine Knorpelgegend unmas-

---

1) Aus Rücksicht auf die Färbung kann man beim Auswaschen aller Chromverbindungen nicht sorgsam genug sein (siehe oben), an und für sich können Chromverbindungen jedoch ebenso zuverlässige Resultate liefern wie andere Fixierungen.

kiertes Kollagen zeigt, ob sie „acidophil“ oder nicht acidophil oder ob sie basophil ist, auf den Ursprung der acidophilen Gegenden aus dem Perichondrium und auf den Ursprung der basophilen aus den Zellen zu schliessen, wie einzelne Autoren<sup>1)</sup> das zu thun scheinen.

Das eigentümliche architektonische Bild, welches das rote Trabekelwerk in den als Totalität betrachteten Knorpeln gestaltet, erregt unwillkürlich den Gedanken, dass die verschiedene Totalform des Trabekelwerks in den peripheren und in den tieferen Schichten eines Knorpels auch mechanische Bedeutung hat (analog der Spongiosa-Architektur der Knochen). Das rote Trabekelwerk bezeichnet ja die Lokalitäten des unmaskierten und des leichter demaskierbaren Kollagens, es lässt sich in einer in allem Wesentlichen übereinstimmenden Anordnung darstellen, sogar in denjenigen Knorpeln und denjenigen Partien, wo die Basophilie normal es verdeckt; und diese Lokalitäten des unmaskierten oder des am leichtesten demaskierbaren Kollagens sind ferner diejenigen Partien der Grundsubstanz, in denen die Bindegewebsfibrillen, absolut betrachtet, am dichtesten liegen, in denen sich das meiste Kollagen findet.

Die Anordnung des Trabekelwerks im Gelenkknorpel nebst der ganzen Weise, wie das Trabekelwerk je nach der Form und den mechanischen Relationen der Knorpel, teils untereinander, teils zu den umgebenden Geweben (Muskeln, Knochen, Bändern u. s. w.), variiert, ferner der später zu besprechende Verlauf der Fibrillen im Trabekelwerk deuten ebenfalls entschieden darauf hin, dass die mechanischen Verhältnisse in ihren **grossen Zügen**, jedoch nicht ausschliesslich, für die eigentümliche Anordnung des

---

<sup>1)</sup> U. a. R. Terrazas l. c. (citirt nach dem Referat in Hoffmann-Schwalbes Jahresbericht 1896). Vergl. ebenfalls Deckhuysen l. c.

Trabekelwerks mitbestimmend sind. Dasselbe ist der Fall mit dem Verhalten des Trabekelwerkes zu den Zellen und den Zellengruppen, deren Anordnung (ebenso wie die Hauptrichtungen der Fibrillen in den verschiedenen Schichten des Knorpels) bekanntlich im grossen und ganzen mit den mechanischen Prinzipien harmoniert. Ich sage ausdrücklich, dass das mechanische Prinzip nicht das alleinbestimmende ist, denn die eigenen „formativen Fähigkeiten“ der Zellen und der Grundsubstanzen sind, wie die feineren histiologischen Verhältnisse dies deutlich genug zeigen, das für das Wachstum und die primären Verhältnisse des Gewebes Entscheidende, während die Akkommodation an die mechanischen Forderungen und Aufgaben, die wir daneben finden, ein Kompromiss (eine Resultante) zwischen den mechanischen „Rücksichten“ und den übrigen histiologischen und histiochemischen Verhältnissen des Gewebes ist. Es wäre einseitig, irgend ein Prinzip als das alleinherrschende zu betrachten, da alles dafür spricht, dass die Verhältnisse, so wie wir sie antreffen, eine harmonische Lösung **vieler verschiedenen**, hierunter auch rein mechanischer **Aufgaben** bezeichnen, die gleichzeitig an das Gewebe gestellt werden. Dass die mechanische Rücksicht oft am meisten in die Augen fällt, während ihre Rolle ebenso oft in der That nur anderen nebengeordnet und nur für die grossen Züge entscheidend ist, wird etwas anderes. Ich wollte nur den mechanischen Gesichtspunkt andeuten, den man natürlich nicht übersehen darf, werde mich aber nicht näher auf die spezielleren Untersuchungen über den Knorpel einlassen, welche dessen Bau, die Spaltrichtungen und dergl. betrifft und vorzüglich die mechanischen Aufgaben des Knorpels (Gelenkknorpels) oder die Bedeutung, welche diese für die Histologie des Gewebes haben, ins Auge fassen.

---

1) J. W. Hultkrantz (109) 1897. Idem (110) 1896.

Dass hier ein weites Gebiet für künftige, wichtige Untersuchungen liegt, lässt sich ruhig voraussagen, u. a. mit Hinblick auf die höchst interessanten und bedeutenden Resultate, welche J. W. Hultkrantz<sup>1)</sup> Untersuchungen über die Spaltrichtungen der Gelenkknorpel und über die Abhängigkeit der Richtungen der Fibrillen von den mechanischen Verhältnissen der Gelenke ans Licht gebracht haben.

Natürlich gibt der Umstand, dass gewisse Strukturverhältnisse des Knorpels eine Akkomodation (Zweckmässigkeit) an mechanische Prinzipien zeigen, uns vorläufig kein wirkliches Verständnis oder Wissen von den Vorgängen, denen diese eigentümlichen Strukturverhältnisse in erster Reihe zu verdanken sind<sup>1)</sup>. Andererseits weisen die histiologischen und histochemischen Verhältnisse des Knorpels alle auf die grosse Rolle hin, welche die Beziehung der Grundsubstanz zu den Zellen spielt. Teils stehen die Grundsubstanzen des Knorpels, was ich anderswo besprechen werde, wenigstens zum grossen Teil in bestimmter genetischer Beziehung zu den Zellen<sup>2)</sup>, obschon einige Grundsubstanz, allenfalls während gewisser Perioden, extracellular gebildet wird; teils scheint der Abstand von den Zellen oder Zellengruppen Bedeutung zu haben.

Was das genetische Verhalten betrifft, so ist die in den Zellen (dem „Endoplasma“) vorgehende periodische Ausscheidung oder Bildung abwechselnd unmaskierten, resp. leicht maskierten Bindegewebes und basophiler, mehr „hyaliner“ Grundsubstanz (Fig. 1, 6) in vielen Fällen deutlich genug für die zonale Anordnung entscheidend; dieser Grund erklärt aber nicht die zonale Anordnung in allen den vielen Fällen oder an

---

<sup>1)</sup> Vgl. übrigens v. Ebners bekannte Theorie von Druck- und Zugrichtungen als für die Differenzierung der fibrillären Strukturen bestimmend. Vgl. v. Ebner (47, 51).

<sup>2)</sup> Vgl. ebenfalls meinen Artikel: Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Abt. Bd. XVI. 1899.

allen den Stellen, wo eine solche periodische Ausscheidung nicht angetroffen wird. Auch die schichtweise wechselnde primäre Bildung der Grundsubstanz lässt sich nicht zur Erklärung gebrauchen, wenn es eine Thatsache ist, dass eine primär gegebene „zonale“ Abwechselung in der zuletzt gebildeten Grundsubstanz in vielen Fällen relativ schnell verschwindet, indem diese Grundsubstanz sich von der Zelle entfernt, und während ihre Bestandteile sich fortwährend anders ordnen und lagern<sup>1)</sup>, womit sich zum Teil auch extracelluläre Neubildung kombiniert, mit den weiter von der Zelle gelegenen Partien in Verbindung tritt. Diese werden nun der Sitz einer sekundären zonalen Anordnung, sowohl in tinktorieller als, mehr oder weniger, auch in struktureller Beziehung. Jedem, der sich der Mühe unterzieht, einige Knorpelschnitte mittelst meiner Methoden zu untersuchen, wird das hier Gesagte unmittelbar einleuchten. Der Verlauf der Entwicklung wird selbstverständlich komplizierter wegen der Vermehrung, der Neubildung (und eventuell des Untergangs) von Zellen, wie auch überhaupt wegen des Wachstums des Knorpels; eben der Umstand aber, dass wir, solange der Knorpel wächst und oft sogar längere Zeit hindurch, nachdem der völlig entwickelte Zustand erreicht ist, der Hauptsache nach dieselbe typische zonale Farbenverteilung um die Zellen und die Zellengruppen und denselben relativ einfachen Typus des Trabekelwerks des unmaskierten Kollagens wiederfinden, zeigt im Verein mit vielen anderen Verhältnissen, z. B. der Anordnung der Fibrillen, unwiderleglich, dass eine unablässige Umlagerung auch der bereits gebildeten Grundsubstanz vorgeht. Ferner wird es hierdurch klar, dass diese Umlagerung nicht nur in einer Erweiterung und Vergrößerung der

---

<sup>1)</sup> Dies lässt sich natürlich am leichtesten rücksichtlich der Fibrillen konstatieren.

ursprünglich gebildeten Schichten<sup>1)</sup> um die Mutterzellen und deren Tochterzellen herum besteht [wenn letzteres Verhalten dem Anschein nach an einigen Lokalitäten, besonders in älterem Knorpel vorkommt, so ist dies als ein spezieller Fall zu betrachten, der keineswegs so einfach ist, wie er aussieht, und der für die feinere Untersuchung keine prinzipielle Abweichung von den Verhältnissen bildet, die wir sonst von der Knorpelgrundsubstanz kennen], sondern auch die zonalen, chemischen und tinktoriellen Differenzen, welche die Knorpelsubstanz aufweist, namentlich die Schwankungen rücksichtlich der Verteilung der Basophilie, der Chondroitinschwefelsäure und des Chondromucoids (zum Teil auch des Kollagens) in der Beziehung zu den Zellen und den Zellengruppen, müssen teilweise mit der relativen Entfernung von letzteren im Zusammenhang stehen. Es ist jedoch nicht wahrscheinlich, dass diese Differenzen „einfache Funktionen“ der Entfernung von den Zellen sind; nur in Betreff der Chondroitinschwefelsäure lässt sich einstweilen ein einigermaßen einfaches Verhältnis vermuten, indem ja anzunehmen ist, dass die Zellen ein wesentlicher, in gewissen Knorpeln und während gewisser Lebensperioden vielleicht sogar der wesentlichste Bildungsort<sup>2)</sup> dieser eigentümlichen Ätherschwefelsäure sind. Bedenkt man, wie äusserst kompliziert z. B. die Stoffwechselverhältnisse wahrscheinlich sind, und dass wir nur erst eine Ahnung von dem Zusammenhänge zu haben beginnen, der sicherlich zwischen den strittigen Bildern und Differenzierungen des Knorpels und dessen mechanischen, histiochemischen und strukturellen Verhältnissen besteht, so leuchtet es ein, dass wir im Augenblicke

---

1) Die Theorie von der fortwährenden Zusammensetzung der Knorpelgrundsubstanz aus den ursprünglichen Zellenterritorien beruht in ihrer allgemein bekannten Form auf einer falschen Auslegung.

2) In den centralen Gegenden der Knorpel kann man u. a. oft das ganze Protoplasma (auch die Filarsubstanz) sehr stark basophil finden, ganz wie bei Chondroitinschwefelsäuregehalt der Grundsubstanz (z. B. Fig. 18).

unsere Unwissenheit hinsichtlich der Ursachen, die eigentlich alle besprochenen Differenzierungen der Knorpelgrundsubstanz bewirken, eingestehen müssen. — Die Beantwortung aller dieser Fragen kann wahrscheinlich nur die experimentelle Histologie und Histiochemie geben, und es erleidet keinen Zweifel, dass der Knorpel gerade wegen seines ganzen eigentümlichen Baues und seiner Konsistenz eines der besten Untersuchungsobjekte ist.

Der unzweifelhafte Zusammenhang zwischen den zonalen Differenzen der Knorpelgrundsubstanzen und der Entfernung von den Zellen kommt auch in anderen chemischen und strukturellen Verhältnissen zum Vorschein. Die „hyaline“ Grundsubstanz z. B. ist eine andere in der Nähe der Zellen als in grösserer Entfernung. Bekannt ist es ja, dass die den Zellen<sup>1)</sup> zunächst liegenden Schichten gegen gewisse Reagentien (s. B. chlorsaures Kali und Salpetersäure, Digestion mit Aqu. destill., Säuren u. s. w.) widerstandsfähiger sind als die etwas fernerer Schichten, während letztere umgekehrt gegen andere Reagentien (Alkalien) widerstandsfähiger sein können. Zum Teil beruhen diese Verhältnisse auf dem grösseren oder geringeren Gehalt an Chondroitinschwefelsäure, der u. a. das Anschwellen oder die Lösung des Bindegewebes in Säuren verhindern oder herabsetzen kann, jedoch ist sowohl die eiweissartige Grundlage des amorphen Chondromucoids als auch das Kollagen, das Bindegewebe, und dessen Vorstadium in der Knorpelgrundsubstanz im stande, ungleiche Widerstandsfähigkeit und ungleiche Löslichkeitsverhältnisse, vom Chondroitinschwefelsäuregehalt unabhängig, darzubieten. Die Bindegewebsfibrillen des Knorpels sind in verschiedener Entfernung von den Zellen in demselben Knorpel qualitativ voneinander verschieden, ebenfalls ist ja die Wider-

---

1) Die innerste Schicht um die Zellen ist ja mitunter als eine doppelt konturierte „Kapsel“ zu gewahren, die übrigens als eine innerste Ektoplasmaschicht zu betrachten ist, worüber später.



standsfähigkeit des Bindegewebes in Knorpeln verschiedener Individuen (alter und junger Tiere) und Arten eine sehr ungleiche; in dieser Beziehung gelten die oben gemachten Bemerkungen.

Die „Kittsubstanz“ des Knorpels (das Chondromucoid) ändert thatsächlich ihre chemischen Verhältnisse (Löslichkeit in Macerationsmitteln) auch gegen Farben (grössere „Pikrophilie!“), wenn der Knorpel älter wird, indem sie in älterem Knorpel schwerer löslich ist als in jüngerem u. s. w. Die Verhältnisse sind offenbar kompliziert, und um einige Klarheit über dieselben zu schaffen, ist eine ganze Reihe neuer systematischer, mikrochemischer Untersuchungen erforderlich.

Auf dieser ungleichen Widerstandsfähigkeit des Bindegewebes und der amorphen Grundsubstanz zonal um die Zellen des Knorpels bei verschiedenen Tieren und in verschiedenem Alter, auf der Entwicklung von Albumoid u. s. w. wie auch auf der anderswo berührten periodischen, wechselnden Ausscheidung von Grundsubstanzen beruht es, wenn man geglaubt hat, durch verschiedene Mittel die Grundsubstanz in ihre „Zellenterritorien“<sup>1)</sup> auflösen zu können. Diese prätendierten Zellenterritorien sind also nur das Symptom der ungleichen chemischen Widerstandsfähigkeit der Grundsubstanz und beruhen oft auf sekundären histiochemischen Abänderungen. Weiter besagen die Versuche nichts. Die alte Theorie von der Zusammensetzung der Grundsubstanz aus Zellenterritorien wie eine Mauer aus Backsteinen ist völlig unhaltbar und mit allen anderen histiologischen, sowohl genetischen als komparativen und anderen

---

<sup>1)</sup> Fürstenberg, Landois, Heidenhain u. a. m. Ganz interessant ist es, dass der Knorpel des Frosches sich leicht in Zellenterritorien auflöst, die isoliert werden. Sein Bindegewebe ist ja weniger widerstandsfähig als das der Säugetiere. Es ist ebenfalls bezeichnend, dass Landois, Orth u. m. Fuchsinfarbe und Methylviolett zur Färbung der Zellenterritorien gebrauchen.

Verhältnissen speziell der Knorpelfibrillen unvereinbar, denn die Fibrillen bekümmern sich absolut nicht um die prätendierten Zellenterritorien. Ein anderes ist, dass jede Zelle gewissermassen als spezielles Centralorgan für das in der Nähe liegende Territorium der Grundsubstanz betrachtet werden kann.

Die Bedeutung, welche der relative Abstand von den Zellen für die Knorpelgrundsubstanz hat, erweist sich ferner durch gewisse Abänderungen, deren Sitz die Knorpelgrundsubstanz in mehreren Fällen in grossem Umfang ist, wenn der Knorpel etwas älter wird. Ich fasse hier speziell das Vorkommen von **Albumoid** ins Auge. Wie früher erwähnt, fand Mörner bei der chemischen Analyse der Knorpelgrundsubstanz des Rindes und überhaupt der Knorpelgrundsubstanz älterer, ausgewachsener Tiere, dass in der „hyalinen“ Grundsubstanz ein Netzwerk, Trabekelwerk auftritt (das nicht mit dem von mir besprochenen verwechselt werden darf), das aus einem schwerlöslichen Albuminoid besteht, welches wegen seiner grossen Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene Reagentien an Elastin und Keratin erinnert, wegen anderer Verhältnisse aber zunächst zu den Eiweissstoffen gehört. — Dasselbe ist offenbar ein schwerlöslicher Proteinstoff<sup>1)</sup>, der weder zu den eigentlichen Eiweissstoffen, noch zu den eigentlichen Albuminoiden zu zählen ist, sondern eine Art Übergang zwischen den beiden Hauptgruppen bildet. Von dergleichen Übergängen haben die physiologischen Chemiker ja schon mehrere nachgewiesen, und sie werden wahrscheinlich immer mehr finden, je eingehender und ausgebreiteter unsere Kenntnis der chemischen Bestandteile des Organismus wird.

Um nichts zu präjudizieren, werde ich für Mörners Albuminoid“ und für ähnliche schwerlösliche resistente Stoffe

---

1) Was die Nomenklatur betrifft, bediene ich mich der von Hammarsten angewandten. (Lehrbuch der physiol. Chemie. 1895.)

der Knorpelgrundsubstanz, deren Auftreten ich an vielen Stellen gewahrt habe, und deren nahe Verwandtschaft mit Mörners Albuminoid ich mit grösster Wahrscheinlichkeit annehmen muss, obgleich ich dieselbe nicht immer zu beweisen vermag, und die weder Kollagen noch Elastin (selbstverständlich auch keine Albuminstoffe) sind, die neutrale Bezeichnung **Albumoid** benutzen, um hierdurch anzuzeigen, dass sie zu dieser Gruppe der mit den Eiweisstoffen verwandten, jedoch mehr resistenten Substanzen gehören.

Die Entwicklung von Albumoid im Knorpel ist an vielen Stellen anzutreffen. (Fig. 8, 9.) In meiner vorläufigen Mitteilung im Anat. Anzeiger besprach ich einige hierher gehörende Verhältnisse. Dasselbe findet sich gelegentlich überall im Knorpel jedes Alters; sein Vorkommen ist aber, sowohl was Ausbreitung als Häufigkeit betrifft, in jungem Knorpel (und im Knorpel kleinerer Tiere) durchweg viel seltener und spärlicher als in älteren Knorpeln. Als allgemeine Regel kann ich sagen, dass der Knorpel grösserer und namentlich ausgewachsener und älterer Tiere die stärkste Entwicklung des Albumoids zeigt. Gewöhnlich erscheint es als grössere oder kleinere Körnchen<sup>1)</sup> oder Reihen von Körnchen; es ist stark lichtbrechend und bei Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin pikrophil. Es kann, wie ich an oben genanntem Orte angab, ein Vorstadium sowohl des Elastins (in den elastischen Knorpeln) als der Bindegewebsfibrillen sein, bleibt in vielen Fällen aber auf dem erwähnten mehr undifferenzierten Standpunkte stehen, um so mehr, je reichlicher und massenhafter es auftritt.

Der Prädilektionsort des Albumoids in der Knorpel-

---

<sup>1)</sup> Ich werde anderswo zur näheren Besprechung dieser Körnchen im Knorpel kommen, die Rheiner, Deutschmann und andere erwähnt haben, und die wesentlich Albumoidkörnchen sind. Dieselben stehen in den „elastischen“ Knorpeln auch mit der Elastinbildung u. s. w. in Beziehung.

grundsubstanz<sup>1)</sup> sind die tieferen Schichten des Knorpels (in den mehr peripheren ist es niemals so ausgebreitet) und vorzüglich die mehr basophilen Zonen um die Knorpelzellen und die Knorpelzellengruppen, speziell Zone IV, und hiermit in Zusammenhang das blaue (basophile) Trabekelwerk zwischen den Knorpelzellengruppen. In Knorpeln, wo es stärker auftritt, erhält man nun ein sehr charakteristisches Bild, wenn man im ganzen Knorpel oder in sehr grossen Abschnitten desselben das der Zone IV entsprechende „basophile“ Trabekelwerk voll von Albumoid findet, teils in Körnchen oder Reihen von Körnchen, teils als grössere körnige Massen, während die Grundsubstanz zunächst den Zellen entweder gar kein Albumoid oder, allenfalls was die Mehrzahl der Zellen betrifft, nur wenig Albumoid enthält.

Die Grenze zwischen den stärker albumoidhaltigen und den übrigen Teilen der Grundsubstanz kann oft eine ziemlich jähe sein; wir erhalten dann bei reichlicher Albumoidentwicklung (in Zone IV) eine Art Trabekelwerk aus Albumoid, und eben dieses vermochte Mörner chemisch (wie ich sogleich besprechen werde, aber nicht tinktoriell) zu isolieren. Man kann auch einzelne grössere Gegenden mit sehr reichlichem Albumoid finden, namentlich an Stellen, wo Zellen zu Grunde gehen, kann sich sowohl aus der Grundsubstanz als aus den zu Grunde gegangenen Zellen und auch auf andere Weise Albumoid entwickeln. Die Entwicklung von „Asbestfibrillen“ und von den starren, kurzen, dicken Bindegewebsfibrillen geht häufig gleichzeitig mit der Albumoidentwicklung vor. Mit Bezug auf die chemischen und mikrochemischen Reaktionen<sup>2)</sup> des „Albumoids“ verweise

---

1) Dass es auch in den Zellen und in deren nächster Nähe gefunden werden kann, erwähnte ich l. c. An anderem Orte werde ich mich ausführlicher hierauf einlassen.

2) Schon Rheiner (1853) gab einige der wichtigsten Reaktionen an, durch welche diese Körnchen im Knorpel, deren topographisches Vorkommen

ich auf das oben (unter „Chemie des Knorpels“) Gesagte. Hervorheben will ich nur, dass die „Albumoidkörnchen“, obschon sie, chemisch betrachtet, gewiss sämtlich zu einer und derselben Stoffgruppe zu zählen sind, selbstverständlich in Betreff ihrer Eigenschaften <sup>1)</sup> nicht ganz gleichartig sind, indem wir Übergänge und graduelle Unterschiede antreffen, deren nähere Bestimmung <sup>2)</sup> künftigen Untersuchungen vorbehalten sein muss.

Einige ganz interessante Farbenreaktionen werde ich noch nennen. Die Albumoidkörnchen färben sich in den meisten Fällen mit Pikrinsäure bei Säurefuchsin-Pikrin stark gelb, oft mit kräftigem Orangeton. Bei saurem Methylenblau zeigen sie gewöhnlich keine stärkere Basophilie, erscheinen aber ungefärbt (oder ganz schwach blaufarbig) in der stark basophilen Chondromucoidsubstanz, die übrigens ja auch Bindegewebsfibrillen enthält. Wir bekommen also ein negatives Bild derselben. Wo sie in der blauen Substanz in grösserer Menge auftreten und dicht aneinander liegen, kann diese deshalb ganz natürlich ein „Kammerwerk“ bilden, d. h. die Räume zwischen den Körnchen ausgiessen. Demaskiert man das Bindegewebe (Kollagen), so sieht man, wie die Fibrillen zwischen den Körnchen verlaufen, zuweilen von diesen auseinander gedrängt, an anderen Stellen mehr zusammengedrängt. Wo die

---

im laryngealen Knorpel er zuerst beschrieb, sich von anderen Körnchen (Kalk, Fett u. s. w.) unterscheiden.

<sup>1)</sup> Auch hinsichtlich der Verwendung und des weiteren Schicksals des Albumoids giebt es grosse Unterschiede; einiges wird zu höher differenzierten Bindegewebssubstanzen, anderes ist zunächst als Degenerationsprodukte zu betrachten.

<sup>2)</sup> Ich war im stande, Differenzen zu konstatieren teils zwischen jüngerem und älterem Albumoid, teils zwischen einigem Albumoid, das sich mehr dem Elastin anschloss, und anderem, das zu Bindegewebe (Kollagen) u. s. w. wurde. Die letzteren Verhältnisse habe ich anderswo in Kürze berührt; in einer folgenden Arbeit werde ich näher auf gewisse morphologische Verhältnisse hierbei eingehen.

Fibrillen fein und dünn und ohne spezifische Färbung schwer zu gewahren sind, liegt die Versuchung nahe, eine „Wabenstruktur“<sup>1)</sup> anzunehmen (z. B. in einem homogenen Kollagen). Die Fig. 2 zeigt diese Tingibilitätsverhältnisse im Knorpel eines grossen Kalbes, wo in der Zone IV beginnende Entwicklung von Albumoidkörnchen stattfindet, und zeigt zugleich, dass das Albumoid seinen Hauptsitz ausserhalb der stärker bindegewebshaltigen Zone III hat. Ich bemerke noch, dass die Untersuchung des überlebenden unveränderten Knorpelgewebes mit den hier besprochenen Verhältnissen völlig übereinstimmt.

Eine mehr isolierte Färbung des Albumoids im Knorpel erhält man mit Methylviolett. Die Färbung, die Hammar (84) angiebt, nämlich Methylviolett mit folgender Differenzierung in Salzglycerin, um die Knorpelzellen darzustellen, lässt sich hierzu anwenden. Ausserdem benütze ich oft Methylviolett auf etwas abgeänderte Weise, indem ich die fixierten (jedoch nicht celloidinhaltigen) Schnitte in einer wässrigen Lösung von Methylviolett 5 B, 1:2,500 färbe (die Lösung sollte am liebsten frisch zubereitet sein, darf aber jedenfalls nicht viele Tage gestanden haben). Das Färben dauert ein paar Minuten oder länger, wenn es notwendig ist; darauf spült man ab in Wasser oder noch besser in 2%—10% Na Cl-Lösung, wobei die Farbe sich nicht verändert oder extrahiert wird, während dies beim Auswaschen in Aqu. destill. geschehen kann. Das Abspülen in 2% Na Cl-Lösung hat den Vorteil, dass man die Schnitte kürzere Zeit lang färben und die Färbung auf einer Stufe fixieren kann, die für die Untersuchung geeignet ist. Man untersucht in 2% Salzlösung oder in physiologischer Kochsalzlösung.

---

<sup>1)</sup> Auch ohne diese Albumoideinlagerungen in die Grundsubstanz kann ein kammerwerkartiger Bau der in der That fibrillierten Grundsubstanz simuliert werden. Hierüber später.

Das Resultat der Färbung wird nun, dass das körnige „Protoplasma“ und besonders das Albumoid stark blauviolett, die Grundsubstanz dagegen mehr rötlich oder schwächer violett gefärbt ist. Da die rote Farbe der Grundsubstanz die blauviolette oft optisch verdeckt, kann es mitunter zweckmässig sein, den roten Ton zu entfernen. Bei stark gefärbten Schnitten kann dies durch Differenzierung in Kochsalzglycerin<sup>1)</sup> nach Hammars Methode geschehen; ich ziehe es aber oft vor, die in 2% NaCl abgespülten Schnitte (event. unter dem Deckglas) in nicht zu stark verdünntem Kochsalzglycerin (1 Teil Kochsalzglycerin zu 6—10 Teilen destillierten Wassers) zu differenzieren; die rote Farbe<sup>2)</sup> verschwindet dann immer mehr aus der Grundsubstanz, und das sehr stark blaugefärbte Albumoid bleibt zurück (auch das Elastin der elastischen Knorpel wird blau). Das Protoplasma der Zellen wird etwas mehr violett, man hat es aber völlig in seiner Gewalt, dieselben, wenn es für die Untersuchung zweckmässig ist, stärker oder schwächer zu färben<sup>3)</sup>, je nach der Färbung oder Differenzierung.

Das Albumoid und das Elastin färben sich stark und konservieren ihre Farbe sehr fest. Die Bindegewebsfibrillen und die übrige Grundsubstanz bleiben ungefärbt oder färben sich schwächer. — Für die Untersuchung der feinsten struk-

---

1) Kochsalzglycerin: Glycerin, Aqu. destill. aa mit NaCl in Überschuss.

2) Der Farbstoff wird zum Teil extrahiert oder setzt sich dann und wann an der Oberfläche des Schnittes ab in Form dunkler, purpurfarbiger Krystalle, die bei der Untersuchung oft gar nicht genieren, und jedenfalls durch Streichen mit einem Pinsel leicht zu entfernen sind.

3) Die Farbe des Protoplasmas wird jedoch immer eine solche, dass man dasselbe leicht von der Grundsubstanz, den Fibrillen und dem Albumoid zu unterscheiden vermag. Selbstverständlich kann man bei guten Immersionslinsen das Protoplasma auch da verfolgen, wo es schwach gefärbt ist. Die Resultate, die ich erreichte, wurden nie durch schablonenmässige Anwendung einer Färbung gewonnen, sondern durch ausgedehnte Kombination variiert Färbungen, Fixierungen und durch Untersuchung der Schnitte in verschiedenen Medien u. s. w. kontrolliert, vor allen Dingen durch möglichst feine Analyse der strukturellen Verhältnisse.<sup>1</sup>

turellen Verhältnisse hat diese Methode sehr grossen Wert eben wegen ihrer Geschmeidigkeit, die jedoch nicht mit Launenhaftigkeit parallelisiert werden darf, überdies wegen des Umstandes, dass man den Schnitt in verschiedenen Konzentrationen<sup>1)</sup> entweder von reiner Kochsalzlösung oder von Verdünnungen der Glycerinkochsalzlösung untersuchen kann, ohne dass die Resultate Änderungen von prinzipieller Bedeutung erlitten. In guter Verkittung oder in der feuchten Kammer können die Färbungen sich Monate hindurch fast unverändert erhalten (ich hatte einige gut verkittete mehrere Jahre lang liegen. Die Hauptsache für uns ist in diesem Zusammenhang, dass das Albumoid sich leicht färbt und zwar kräftig blau oder blauviolett<sup>2)</sup>, während die chondromucoidhaltige Grundsubstanz sich rot färbt oder bei Extraktion mit Salzglycerin schwächer bläulich oder farblos wird.

Schliesslich führe ich an, dass das Albumoid sich auch mit Weigerts „Elastinfärbung“ und mit Unna-Tänzers saurem Orcein färbt — Will man sich mittelst dieser Methoden eine Übersicht über das Albumoid verschaffen, so ist es zweckmässig, weil die chondromucoidhaltige Grundsubstanz sich, wie früher gesagt, ebenfalls hiermit färbt, vorerst die Chondroitinschwefelsäure gänzlich oder zum Teil aus den Schnitten zu entfernen, worauf das Albumoid sich mehr isoliert färben lässt.

Auch Eosin färbt das Albumoid, ausserdem aber das Protoplasma und, wenngleich schwächer, die „Kittsubstanz“. Es fällt uns nun leicht, zu zeigen, teils wie das Albumoid im Knorpel

---

1) Gewisse sehr feine Strukturverhältnisse sieht man nur, wenn man in 0,6—1,0—2,0% NaCl-Lösung, höchstens mit unbedeutendem Glycerin-gehalt, untersucht. Wechselt man mit den verschiedenen Konzentrationen unter dem Deckglase ab, so kann man das für jeden einzelnen Fall günstigste Medium aufsuchen.

2) Bei dieser Färbung des Albumoids kann man die Färbung in 5%igem molybdänsauren Ammoniak fixieren, auswaschen, darauf entwässern und in Balsam überführen, wenn man dies vorzieht und sich nicht um die feineren strukturellen Verhältnisse bekümmert.



verbreitet ist, teils, dass das saure Methylenblau und das Methylviolett wirklich jedes seinen Bestandteil färbt, und dass die Färbungen insofern komplementär sind.

Das Albumoid kann auch in Stadien, wo es noch nicht typisch körnig geworden ist, als eine, nur etwas schwerer lösliche, Modifikation der amorphen Kittsubstanz gefunden werden und, wenn auch schwächer, mit Chondroitinschwefelsäure verbunden sein.

Das Albumoid muss gewiss zum grossen Teil aus den Eiweissstoffen des Chondromucoids, im weitesten Sinne also von der amorphen Kittsubstanz herrühren. Alle Verhältnisse machen nämlich die Annahme höchst wahrscheinlich, dass die Eiweissstoffe<sup>1)</sup> der Knorpelgrundsubstanz und gewiss auch die der Zellen durch eine Reihe gradueller Übergänge in mehr oder weniger resistente und schwer lösliche<sup>2)</sup> Stoffe modifiziert werden können, z. B. in „Albumoid“ und, wo die Umbildung noch weiter geht, in „Elastine“, „Kollagene“ und ähnliche Bindegewebssubstanzen. Wie und aus welchen näheren Ursachen dies geschieht, ist uns bis jetzt nicht bekannt. Thatsache ist es aber, dass der Knorpel, namentlich morphologisch und, soweit unser leider sehr unvollkommenes histiochemisches Wissen geht, auch chemisch auf Übergänge zwischen den Stoffen hindeuten, ohne dass es uns gegenwärtig möglich ist, dieselben mit erwünschter Genauigkeit zu präzisieren. Der Thatsache, dass die Kittsubstanz bei zunehmendem Alter des Knorpels in vielen Fällen schwerer löslich, gegen die dieselbe zersetzenden Reagentien mehr resistent wird, scheint die Entwicklung eines mehr oder weniger reichlichen

---

<sup>1)</sup> Dieser Begriff ist in weiterem Sinne genommen, eventuell als auch die „Proteiden“ umfassend (Hammarsten Nomenklatur).

<sup>2)</sup> Nach der physiologischen Chemie sind die Albuminoiden, z. B. die Elastine und Kollagene u. s. w. ja mehr zusammengesetzte Stoffe (mit höheren Molekularzahlen) als die Eiweissstoffe in weiterem Sinne. Wir können uns deshalb die Übergänge vielleicht in Analogie mit einer Art Kondensationsprozessen denken.

Gehalts an ausgeformtem „Albumoid“ in grösseren Teilen der Grundsubstanz sehr wohl zu entsprechen.

Viele der abweichenden histologischen Verhältnisse, die man in älterem, im Gegensatz zum jüngeren Knorpel antrifft, werden wir leichter verstehen oder besser unter gewisse gemeinschaftliche Gesichtspunkte zusammenfassen können, wenn wir das hier berührte Verhalten im Gedächtnisse haben.

Obschon ich anderswo eine detaillierte Beschreibung einiger hierher gehörenden Strukturen und Entwicklungsverhältnisse der Knorpel zu geben beabsichtige, muss ich doch auch hier hervorheben, dass nicht nur „Albumoid“, Elastine, Kollagene u. s. w. sich in und aus mehr amorphen und undifferenzierten Grundlagen entwickeln und differenzieren können, sondern dass auch der umgekehrte Prozess eintreten kann, indem differenzierte Albuminoidstoffe sich auflösen oder eine Metamorphose in amorphe, eventuell „tiefer stehende“ Grundsubstanz, z. B. in Chondromucoid erleiden können, oder auch z. B. Bindegewebsfibrillen in körniges Albumoid umgewandelt werden u. s. w. Wer den Knorpel etwas genauer untersucht, wird in diesem Gewebe, mehr vielleicht als in irgend einem anderen, mikroskopisch nachweisbare Anzeichen der in allen lebenden Geweben gleichzeitig vorgehenden anabiotischen und katabiotischen Prozesse finden. Das Amorphe wird differenziert und das Differenzierte wird amorph, um eventuell wieder differenziert zu werden. Zum Teil gilt dies sowohl von den Zellen- als von den Grundsubstanzen.

Es ist nun leicht, Mörners Färbungen des Knorpels zu verstehen. An jungem Knorpel konnte er keine Differenzierung der Grundsubstanz in „Chondrinballen“ und Trabekelwerk finden, letzteres trat erst in älteren Stadien auf und war am meisten ausgeprägt in altem Knorpel ausgewachsener Tiere (Rind). Seine Färbungen waren teils basische, Methylviolett und Fuchsin, teils

saure — Tropäolin 000 und Indigoextrakt (indigoschwefelsaures Kali). — Was Mörner also nachwies, war die bekannte Differenz der Basophilie, die ich oben beschrieb. Es ist ebenfalls leicht zu verstehen, dass die von ihm angewandten, durchaus nicht spezifischen Methoden nur die am allerstärksten ausgesprochenen Verschiedenheiten zu zeigen vermochten. Dies ist u. a. aus dem Umstand zu ersehen, dass es ihm nicht einmal gelang, eine Andeutung der zonalen Differenzierung in dem überall stärker basophilen Knorpel jüngerer und kleinerer Tiere hervorzurufen; erst wenn der Knorpel älter wurde (von einer Färse), begann das Trabekelwerk zu erscheinen.

Mörners acidophiles Balkennetz besteht seinen eigenen Angaben zufolge aus Albuminoid. Hammar fand aber Fibrillen in demselben. Das ist leicht zu verstehen. Mörners Trabekelwerk ist wirklich zum grossen Teil an die reichlichere Entwicklung von Albumoid in dem von mir besprochenen gröberen basophilen Trabekelwerk (Zone IV) gebunden, die gerade massenweise vorgeht, wenn der Knorpel älter wird. Mörners acidophiles Balkennetz umfasst ausserdem aber einen Teil meines Trabekelwerks unmaskierten Kollagens, diejenigen Partien des Kollagens nämlich, die nur wenig oder gar nicht an Chondroitinschwefelsäureverbindungen gebunden sind.

Da nun, wie ich früher erwähnte, alle diese Partien der Knorpelgrundsubstanz (Zone IV und III) Bindegewebsfibrillen enthalten, ist es klar, dass Hammar, der auf feinere strukturelle Verhältnisse als Mörner untersuchte, die Fibrillen finden musste, während Mörner es zwar für wahrscheinlich hielt, dass überall in der Grundsubstanz (chemisch als Glutin nachweisbares) Kollagen vorkomme, über dessen Lokalisation aber nichts Bestimmtes sagen konnte und namentlich nicht die Knorpelfibrillen erblickte<sup>1)</sup>.

---

<sup>1)</sup> Seine Untersuchungen zeigen, dass er sich auch nicht auf die feineren histiologischen Strukturen einlassen wollte.

Chemisch vermochte er dagegen in seinem acidophilen Balkennetz ein Albumoidnetz zu isolieren, weshalb die Annahme ihm offenbar nahe lag, dass er eben dasselbe Netzwerk auch färberisch darstellte, was, wie bewiesen, nicht ganz der Fall war.

Mörners chemische Resultate decken sich in der That nicht mit seinen tinktoriellen, haben auch nicht dieselbe Bedeutung<sup>1)</sup>. Das Balkennetz, das Möerner durch Färbung des Knorpels hervorbrachte, umfasst das Albumoid und die weniger stark basophilen Zonen der Grundsubstanz. Wegen der reichlichen Entwicklung von Albumoid in meinem basophilen blauen Trabekelwerk ist dieses also dazu gekommen, eine stark acidophile Substanz zu enthalten, die eventuell die basophile Substanz in den Hintergrund drängt (vgl. meine obigen Bemerkungen über die Tingibilitätsverhältnisse des Albumoids).

In altem Knorpel nimmt ferner das Bindegewebe der Grundsubstanz oft in hohem Grade auf Kosten des Chondromucoids zu, so dass Zone IV (das basophile grobe Trabekelwerk) sehr reich an Kollagen wird; infolgedessen kann Zone IV ganz oder zum Teil verschwinden, während Zone III und V (der Hauptsitz des Bindegewebes, besonders des unmaskierten) verfließt. Wir erhalten dann in gewissen Fällen ein stark entwickeltes rotes Trabekelwerk, das eventuell mehr oder weniger Albumoid enthält, und natürlich findet sich zwischen den Fibrillen Chondromucoid und basophile Substanz, das basophile Trabekelwerk ist jedoch in gewissen Fällen entweder gar nicht ausgeprägt (wie in Hammars Bildern der Gelenknorpel) oder auch nur in geringerem Masse. Das Hauptquartier der blauen Substanz beschränkt sich dagegen auf die Gegend um die Zellen und die Zellengruppen, und hierdurch werden die sogenannten

---

<sup>1)</sup> Einen fernerer Beweis für das hier Gesagte haben wir daran, dass Mörners prätendiertes Albumoid-„Balkennetz“ bei den Färbungen sich ganz ebenso wie das echte Kollagen des Perichondriums färbt.

Chondrinballen ausgeprägt, was mit der von älterem und altem Knorpel so wohlbekannten Tendenz zur entschiedenen Gruppierung der Zellen in grösseren zusammengesetzten, durch verhältnismässig viel grössere zellenlose Grundsubstanzpartien gesonderten Gruppen Hand in Hand geht. — Die Chondrinballen sind nämlich nur die grossen und am stärksten basophilen Teile der Grundsubstanz, die durch Mörners Methode und andere Methoden (mehr zufällig) hervorgehoben werden, während die in den anderen Teilen der Grundsubstanz befindliche basophile Substanz während der Differenzierung in Säure (10% Essigsäure) oder Alkohol die basischen Farben nicht zu behalten vermocht hat. Nach meinen früheren ausführlichen Bemerkungen über die Tinktionsverhältnisse ist dies leicht zu verstehen. —

Dass Mörners Färbung mit Methylviolett u. s. w. das Albumoid nicht färbt, beruht darauf, dass er nach dem Färben in 10% Essigsäure differenziert, denn diese saure Differenzierung hebt nur die stärkeren Chondroitinschwefelsäureverbindungen in der Grundsubstanz hervor, während das Albumoid sich entfärbt.

Ich betone noch, dass im alten Knorpel und innerhalb der „Chondrinballen“ die zonale Abwechselung der Basophilie mit der Acidophilie anscheinend weniger einfach und deutlich ist als in jüngerem Knorpel; dies hat indes keine prinzipielle Bedeutung und bedarf keiner näheren Erklärung; dem oben Gesagten zufolge sind die Verhältnisse leicht verständlich, wenn man meine Färbemethoden anwendet; denn man weiss dann jedenfalls, was die Färbung bedeutet mit Bezug auf die Bestandteile des Knorpels, wie Chondroitinschwefelsäure, Chondromucoid, maskiertes und unmaskiertes Bindegewebe (Kollagen), Albumoid, Elastin u. s. w. Wenn ich die bei der Beschreibung des jüngeren, völlig entwickelten Knorpels benutzten Ausdrücke „Zone III, IV, V“ u. s. w. auch vom alten Knorpel gebrauchte,

so hat das seinen Grund darin, dass man im gegebenen Falle die zonale Differenzierung entweder auf die einzelne Zelle oder auf Zellengruppen niederer oder höherer Ordnung (also auf mehr oder weniger zusammengesetzte) zurückführen kann, denn prinzipiell wiederholt sich die genannte zonale Differenzierung mit Bezug auf diese.

Wie entschieden die Differenzen innerhalb der niederen Zellengruppen werden, ist abhängig teils von der Mächtigkeit der Grundsubstanz zwischen den Zellen, teils von dem grösseren oder geringeren Grade der Basophilie. Wo sich ein sehr grosser Gehalt an Chondroitinschwefelsäure findet, wird das Kollagen eventuell völlig maskiert, und wir erhalten dann (von gewissen pericellulären Entwicklungen von Albumoid und von den kurzen, dicken, starren, kollagenen Fibrillen abgesehen) keine entschieden zonale Differenzierung zwischen den einzelnen Zellen.

Nachdem ich nun im Vorhergehenden die Verhältnisse der völlig entwickelten und typischen hyalinen Grundsubstanz des Knorpels dargestellt habe, indem ich zugleich den Verlauf charakterisierte, den die Entwicklung in der etwas älteren und der alten Knorpelgrundsubstanz nimmt, was die tinktoriellen und histiochemischen Differenzierungen betrifft, erübrigt nur die Besprechung des anderen Extrems der Farbendifferenzierung im hyalinen Knorpel, indem ich natürlich nur darauf aufmerksam zu machen brauche, dass es zwischen allen verschiedenen Stadien sanfte Übergänge giebt. Der „Vorknorpel“ geht uns hier nichts an.

Dieses Extrem mit anscheinend relativ einfacheren Verhältnissen finden wir z. B. in jungen fötalen Knorpeln und zum Teil in dem sehr jungen Knorpel kleiner Tiere. Das Charakteristische ist hier die entschiedene, starke, ziemlich gleichartige Basophilie der Grundsubstanz, weshalb diese Knorpel ohne Vorbehandlung gar keine oder auch nur angedeutete Anläufe zu zonalen Abwechselungen der Basophilie um die Zellen

zeigen und zwar wesentlich nur in der alleräussersten unter dem Perichondrium (und den freien Oberflächen) gelegenen Schicht.

Das rote Trabekelwerk unmaskierten Kollagens bei der Säurefuchsin-Pikrinfärbung findet sich noch nicht angedeutet. Entweder liegt das rotfarbige Perichondrium mit einer scharfen Grenze unmittelbar am Knorpel, oder es finden sich höchstens Anläufe zur „Arkadenbildung“ aus schwächer rotgefärbtem, halbmaskiertem Kollagen in der oder in den äussersten peripheren Schichten des Knorpels im Zusammenhang mit dem roten Perichondrium und mit dessen Fibrillen. Einzelne Male kann man einen etwas weiter in die Grundsubstanz eindringenden kräftiger roten Streifen finden. Wenn man aber mittelst der oben von mir besprochenen Methoden behutsam die Chondroitinschwefelsäure (nicht die „Kittsubstanz“) gänzlich oder in grösserem Umfang entfernt, kann man auch in diesen Fällen das Kollagen oder ein Vorstadium desselben demaskieren. Man erhält dann mit Säurefuchsin-Pikrinfärbung eine mehr oder minder starke Rotfärbung der Knorpelgrundsubstanz, mit dem Perichondrium zusammenhängend, und ebenfalls Andeutungen eines roten Trabekelwerks, von dem man in vielen Fällen nachzuweisen vermag, dass es oft aus äusserst feinen, **echten** Bindegewebsfibrillen besteht, worüber näheres unten. Die Maxima der Rotfärbung des Trabekelwerks in dergleichen ganz jungen demaskierten Knorpelschnitten liegen indes nicht immer in solcher Beziehung zu den Zellen, dass sie der Zone III bei der typisch ausgeformten zonalen Differenzierung im völlig entwickelten Knorpel entsprechen würden; man findet hingegen häufig und in gewissen Gegenden durchweg, dass das Bindegewebe (also die am kräftigsten rotgefärbten Teile) den Zellen am nächsten liegt, die sich an diesen (demaskierten) Schnitten oft als zuinnerst von einer stark roten Zone umgeben erweisen, welche übrigens durch Züge mit der Zone um die benachbarten Zellen in Verbindung stehen oder (sowohl

in den centralen als den peripheren Teilen des Schnittes) in stärker roten Zügen verlaufen, die mehr typisch in einiger Entfernung von den Zellen liegen, wie in der typischen Zone III. Übrigens sind die peripheren perichondralen Schichten auch dieser Knorpelstadien relativ die an Bindegewebe reichsten. Es ist leicht zu ersehen, dass das Totalbild des roten Trabekelwerkes, das wir in diesen ganz jungen und jüngsten Stadien des hyalinen Knorpels nach Entfernung der Chondroitinschwefelsäure mehr oder weniger angedeutet bekommen können, in der Hauptsache dennoch dem Trabekelwerk unmaskierten Kollagens ähnlich sein muss, das wir in den mehr entwickelten Stadien des Knorpels erhalten. Es scheint übrigens ganz erklärlich, dass in starker Entwicklung begriffene Knorpel, besonders die fötalen, keine so entschieden zonale Anordnung zeigen wie die späteren Stadien, wo das Wachstum langsamer ist.

Der Verlauf der Fibrillen u. s. w. in diesen ganz jungen Knorpeln bietet sonst keine prinzipiellen Abweichungen von den späteren Stadien dar, wie ich im nächsten Abschnitte erörtern werde. Schliesslich mache ich auf ein Verhalten aufmerksam, das mir oft auffallend war, nämlich dass fötale (und andere) Knorpel, deren Verkalkung oder Verknöcherung in naher Zukunft bevorsteht<sup>1)</sup>, oft relativ mehr Bindegewebe (Kollagen) zu enthalten scheinen, sowohl was die Totalmenge als die Menge des unmaskierten oder leicht demaskierbaren betrifft; sie färben sich also stärker rot als diejenigen Knorpelteile, die länger als Knorpel persistieren. Übrigens nimmt bei Verkalkung und Verknöcherung gewöhnlich die Basophilie um die Zellen (d. h. die Menge der disponiblen Chondroitinschwefelsäureverbindungen) zu, während in grösserer Entfernung von den Zellen die relativ grössere Acidophilie zunimmt, welches Verhalten wir in späteren Stadien wiederfinden können. Nach dem früher

---

<sup>1)</sup> Die Verkalkung und Verknöcherung zeigen jedoch ihre eigentümlichen Verhältnisse.



Gesagten braucht dieses Verhalten keinen Widerspruch zu enthalten.

Von Bedeutung für diese Verhältnisse sind nun auch die Gefäßskanäle, die in den Knorpel eindringen; in deren unmittelbarer Nähe enthält die Grundsubstanz stets mehr unmaskiertes oder leichter demaskierbares Bindegewebe, ganz in Analogie mit dem früher hierüber Bemerkten.

Die im Vorhergehenden besprochenen Verhältnisse repräsentieren die allgemeinen, einfacheren Typen, aus denen sich alle anderen Tingibilitätsverhältnisse der Knorpel ohne Schwierigkeit ableiten lassen. In den speziellen Fällen muss man aber auf reiche Variation vorbereitet sein. Die zonale Differenzierung kann sowohl komplizierter als auch einfacher als oben geschildert sein. Dies wird sich z. B. darin erweisen, dass die Zonen V und IV in grösserem Umfang oder durchaus fehlen. Sehr häufig kommt es in stärker wachsendem Knorpel, z. B. in jüngeren Stadien des epiphysären Knorpels vor, dass nur Zone I und II und ausserhalb derselben das rote Trabekelwerk, Zone III, stark entwickelt sind, während die Zonen IV und V nur andeutungsweise oder durchaus nicht ausgeprägt gefunden werden. Die einfacheren Fälle sind speziell durch die hyalinen Laryngo-Trachealknorpel und die Rippenknorpel, den Nasenscheidewandknorpel und ähnliche permanente Knorpel vertreten. Dass die Verhältnisse schon wegen zunehmenden Alters der Knorpel komplizierter werden, berührte ich oben. Je mehr der Knorpel als Skelettknorpel mit anderen Organen in Beziehung tritt, um so mehr sind Abweichungen von dem geschilderten einfachen Typus der Zellen- und Fibrillenordnung, von der Form des Trabekelwerks u. s. w. zu erwarten. Das Prinzip, die zonale Abwechselung im Knorpel und die wichtigen Beziehungen zwischen den Chondroitinschwefelsäureverbindungen, dem Chondromucoid und dem maskierten und unmaskierten Kollagen, lässt sich aber stets nachweisen.

Die somit angetroffenen vielfachen Abweichungen lassen sich mit Hilfe der neuen Methoden zum Teil analysieren und beurteilen, und die Wahrscheinlichkeit spricht dafür, dass man durch eine künftige systematische Untersuchung der speziellen topographischen Histiologie der verschiedenen Knorpel und knorpeligen Organe im stande sein wird, einen tieferen Einblick in deren Wachstums- und Stoffwechselverhältnisse wie auch in die Rolle zu erhalten, welche ihre Funktionen und ihre Beziehungen zu den Umgebungen für die histiologische Struktur spielen.

Unter den Momenten, die auf solche Weise für die Variationen von Bedeutung sind, können z. B. im Knorpel selbst genannt werden: die Vermehrung und Gruppierung der Zellen — die verschiedene Form der Zellen, die ungleich starke Produktion von Chondroitinschwefelsäure<sup>1)</sup> (sowohl wie es sich nachweisen lässt, in und von den Zellen selbst als wahrscheinlich auch in der Grundsubstanz), die Menge der Kittsubstanz und des Bindegewebes u. s. w. Ferner die Form und die Ausdehnung des Knorpels, seine Mächtigkeit, die Oberflächenbildung, die Gelenkoberflächen (mit Abnützung!), die Gefässkanäle und die Hohlräume im Knorpel und dergl., ferner Verkalkung und Verknöcherung (Epiphysekerne). Abweichende Verhältnisse (wie relativ viel unmaskiertes Bindegewebe) können wir z. B. da zu finden erwarten, wo Knorpel thatsächlich durch sekundäre Verknorpelung fibrillierter Bindegewebe und Binde-

---

<sup>1)</sup> Wenn z. B. in gewissen Schichten oder Teilen eines Knorpels mehr Chondroitinschwefelsäure als in anderen produziert wird, kann das ja eine Abweichung vom Typus bedingen und u. a. bewirken, dass in mehr peripher gelegenen Schichten verhältnismässig wenig unmaskiertes Kollagen entsteht, während tiefer gelegene mehr unmaskiertes Kollagen enthalten. Schichten mit kräftiger Vermehrung der Zellen fand ich durchweg verhältnismässig stark chondroitinschwefelsäurehaltig. Die Differenzen der Natur des Kollagens und des Bindegewebes wie auch die der Zusammensetzung des Chondromucoids, der Kittsubstanz (daher ungleiche Bindungen der Bestandteile) haben natürlich ihre schwieriger nachweisbare, jedoch sicherlich wichtige Bedeutung.

gewebsbündel entstehen, u. a. im Perichondrium<sup>1)</sup>, 'wie auch beim Epiphyseknorpel, bei der Kallusbildung u.s.w. Auf die spezielle Beschreibung solcher Verhältnisse kann ich mich indes nicht einlassen; ich wollte nur andeuten, ein wie reiches Arbeitsfeld sich hier den Spezialuntersuchungen der Knorpel und der Bindegewebssubstanzen überhaupt darbietet.

Bevor ich dieses Kapitel schliesse, mag mir noch die Bemerkung gestattet sein, dass die besprochenen Verhältnisse, soweit ich zu sehen vermag, im Prinzip für alle von mir untersuchten hyalinen, elastischen und Bindegewebs-Knorpeln gelten, nicht nur hinsichtlich des Knorpels der Wirbeltiere, sondern auch hinsichtlich der Cephalopodenknorpel.

## B. Die sonstige Struktur der Knorpelgrundsubstanz, Fibrillen und dergl.

Soweit ich zu sehen vermochte, ist allenfalls der grösste Teil des Bindegewebes (Kollagens) in der Knorpelgrundsubstanz

---

1) Die alte Frage wegen des Interstiel-Wachstums des Knorpels oder dessen Wachstums aus dem Perichondrium hat ja schon längst ihre Beantwortung dahin gefunden, dass beide diese Entwicklungsmodi gefunden werden. Selbst bin ich übrigens nach meinen eigenen Untersuchungen zu der Ansicht geneigt, dass die Verknorpelung der innersten Schicht des Perichondriums, die mehrere Autoren nachgewiesen haben, in vielen Fällen nicht so gross zu sein braucht, dass ein wesentlicher Teil dessen, was für perichondralen Zuwachs des Knorpels gehalten wurde, aber den peripheren Schichten eben des Knorpels zu verdanken ist. Wenigstens fand ich, dass die Zellen der peripheren Zonen in vielen Knorpeln eine sogar besonders starke Bildung der „kollagenen Mäntel“ mit basophiler Grundsubstanz abwechselnd darbieten können. Vorzüglich schöne Beispiele hiervon sah ich im Laryngo-Trachealknorpel einer einjährigen Katze und einer jüngeren *Phoca vitulina*. Hier waren die ersten 2—3 (platten) Zellenreihen unter dem Perichondrium verhältnismässig frei von „kollagenen Mänteln“, darauf folgten aber 2—3 ein wenig lockere Zellschichten um den ganzen Knorpel herum, wo diese Grundsubstanzbildungen äusserst hübsch entwickelt waren, und ganz charakteristisch lagen die roten kollagenen Mäntel fast ohne Ausnahme an der dem Perichondrium abgekehrten, also der tiefen Seite der Zellen. In den tiefen Schichten des Knorpels fand sich diese exklusive Anordnung der kollagenen Mäntel dagegen nicht.

als Fibrillen vorhanden. Ob aber alles Kollagen und überhaupt die Substanzen, die sich dem weissen fibrillären Bindegewebe eng anschliessen (vom Elastin und dergl. sehe ich hier ab), in Fibrillen differenziert oder überhaupt „ausgeformt“ ist, diese Frage ist schwieriger zu entscheiden. Indes haben meine Untersuchungen über die Genese des Bindegewebes im Knorpel, die ich in einem anderen Artikel ausführlicher darstellen werde, es mir höchst wahrscheinlich gemacht, dass wir zum Teil ein mehr amorphes Stadium sowohl des echten Kollagens als der demselben nahestehenden Vorstadien annehmen müssen. Dass dies sich so verhält, zeigt teils der Umstand, dass ich sah, wie echte Bindegewebsfibrillen des Knorpels, sowohl äusserst feine und dünne als auch dickere, durch Aneinanderlagerung sehr kleiner oder grösserer Körnchen entstehen; teils spricht hierfür auch die an eine Auskrystallisation so sehr erinnernde Bildung von Knorpelfibrillen, von den „dickeren, starren Fibrillen“, die ich anderswo erwähnt habe (vergl. Fig. 1 und 6). Besonders in der stark chondromucoidhaltigen, neugebildeten, basophilen hyalinen Knorpelgrundsubstanz, die wir in der Nähe der Zellen (des Endoplasmas) finden, ist anzunehmen, dass das Kollagen, und was dazu gehört, teils in äusserst feine oder etwas dickere Fibrillen differenziert gefunden wird, teils mehr amorph mit dem Chondromucoid vermischt ist. In verschiedenen ganz jungen fötalen Knorpeln, z. B. denen der Salamanderlarven, gelang es mir nicht, selbst nicht mit den besten optischen Hilfsmitteln und unter den günstigsten Bedingungen in Betreff der Färbung, des Lichtes u. s. w., überall in der Grundsubstanz unzweifelhafte Knorpelfibrillen zu gewahren.

An einigen Orten in solchen Knorpelschnitten (einerlei, ob mehr peripher<sup>1)</sup> oder mehr central) konnte ich z. B. nach Fär-

---

<sup>1)</sup> Selbstverständlich sehe ich von den dem Perichondrium zu allernächst liegenden Stellen ab, wo ja immer zu erwarten steht, dass die Fibrillierung

bung mit Säurefuchsin-Pikrin, nötigenfalls nach behutsamer Entfernung der Chondroitinschwefelsäure, bei Untersuchung mit Zeiss Apochromat 2.1,30 (Comp. Oc. 4—6) oder noch besser mit 3.1,40 (Ocular 6—8) in starker Beleuchtung — Öl auf dem Kondensor und volle Ausnutzung der Apertur —, deutlich ungeheuer feine dünne rote Bindegewebsfibrillen erblicken, die in einer etwas schwächer rotgefärbten Grundsubstanz lagen. An anderen Stellen war es mir nicht möglich, die Struktur in Fibrillen aufzulösen, hier sah ich nur eine Streifung, übrigens ganz ebenso angeordnet wie die echten Fibrillen. Auch eine feine Punktierung (zerschnittener Fibrillen) war zu bemerken. — Dazwischen war die Grundsubstanz stärker oder schwächer rotfarbig, ohne dass es mir gelang, irgend eine echte Struktur zu gewahren. In solchen sehr jungen Knorpeln war die Fibrillierung bald am deutlichsten unmittelbar um die Zelle, indem sie von hier an mit der grösseren Entfernung abnahm, bald hatte man der Zelle zunächst eine anscheinend mehr amorphe Stelle und in den intercellulären Zügen deutliche Streifung oder feine Fibrillierung. An einigen Stellen konnte ich deutlich sehen, wie die feinen Fibrillen aus feinen Körnchen entstanden; an anderen Stellen lag zwischen den äusserst dünnen Fibrillen eine einzige oder wenige etwas dickere, deren Entstehung aus Körnchen sich eventuell ebenfalls beobachten liess. An ganz einzelnen Stellen in der Grundsubstanz, besonders in den mehr „intermediären“, d. h. in den den Zellen ferner gelegenen Zügen konnte man die Mehrzahl der Fibrillen oder der Körnchenreihen von durchschnittlich grösserem Kaliber als in dem übrigen Teile des Schnittes

---

relativ mehr ausgeprägt ist; diese braucht doch nicht immer in den perichondralen Gegenden am leichtesten zu beobachten zu sein.

finden<sup>1)</sup>. Ich bemerke ausdrücklich, dass die hier beschriebenen Verhältnisse nichts mit Pseudostrukturen, falschen Fibrillen u. s. w. zu schaffen haben. Ich hütete mich aufs sorgsamste vor Verwechselung mit solchen accessorischen Bildungen<sup>2)</sup>, die übrigens an einzelnen Stellen eines Schnittes sehr wohl neben der echten Struktur vorkommen und zum Vergleiche dienen können.

Die angeführte Beobachtungsmethode und Färbung gestatten die Wahrnehmung dieser Dinge am besten, natürlich kontrollierte ich aber auch mittelst anderer Methoden, u. a. durch Untersuchung in schwach lichtbrechenden Flüssigkeiten und dergl., soweit thunlich. — Dass diese Fibrillen des ganz jungen Knorpels Bindegewebsfibrillen sind, ist den Tinktionsverhältnissen und den anderen Reaktionen zufolge als sicher zu betrachten, ebenfalls, dass die rötlich gefärbte, nicht deutlich fibrillierte Grundsubstanz ihre rote Färbung einem Gehalt an Kollagen oder an einem naheverwandten Vorstadium desselben verdankt. Kommt es nur darauf an, die Fibrillen und die Körnchen, kurz, die differenzierten Bestandteile der Grundsubstanz möglichst stark zu färben, um ihrer ansichtig zu werden, und verzichtet man zugleich darauf, die Färbung als histochemische Reaktion zu benutzen, so kann man z. B. Säurefuchsin-Pikrinmischungen mit einem etwas stärkeren Gehalt an Säurefuchsin und mit stärkerem Zusatz von Essigsäure anwenden, länger färben u. s. w.

Auch andere Färbungen — Eisenhämatoxylin und ähnliche — sind in gewissen Fällen brauchbar. Hierbei sieht man indes keine anderen Strukturen der Grundsubstanz als die oben von mir genannten, namentlich sieht man keine anderen Fibrillen

---

<sup>1)</sup> Hier ist also schon in diesen frühesten Stadien die Andeutung eines Verhaltens, das in späteren Stadien durch die „dickeren, starren“ Fibrillen vertreten wird. (Vgl. hierüber meinen Übersichtsartikel: Über die Genese etc. l. c. 1899.)

<sup>2)</sup> Über die Bedeutung und das Verhalten derselben zu der echten Struktur siehe unten!

Die genannten Strukturen liegen, oft wenigstens, eben an der Grenze dessen, was wir mit unseren jetzigen optischen Hilfsmitteln<sup>1)</sup> zusehen im stande sind, und die Möglichkeit darf selbstverständlich nie zurückgewiesen werden, dass das Bindegewebe selbst an Stellen, wo durchaus kein uns verfügbares Mittel eine fibrilläre Struktur nachzuweisen vermag, dennoch in differenzierter Form vorkäme, entweder als Fibrillen oder als Körnchen<sup>2)</sup>, indem diese Strukturen nur für unsere Augen zu fein, zu molekular wären<sup>3)</sup>.

Mit den hier genannten Reservationen vermochte ich sonst echte Fibrillen in allen von mir untersuchten Knorpeln und überall in der Grundsubstanz nachzuweisen. Die leichteste und beste Methode, um die Bindegewebsfibrillen im Knorpel nachzuweisen, ist meine Säurefuchsin-Pikrinfärbung. Mittelst dieser, eventuell mit Methylenblau kombiniert, stellen sich also sogleich die unmaskierten Bindegewebsfibrillen dar. In den Knorpeln vieler, namentlich grösseren und älteren Formen finden sich, wie früher erwähnt, besonders viele unmaskierte Bindegewebsfibrillen in der Grundsubstanz, die meisten natürlich in den das rote Trabekelwerk bildenden Zonen, ziemlich reichlich aber auch in den Zonen II und IV, wie leicht verständlich. Auch in der Zone I lassen sich in nicht

---

1) Die theoretische Grenze des Vermögens der mikroskopischen Objektive, feine Strukturen aufzulösen, liegt bekanntlich um gar nicht viel höher als die Grenze, die bereits von den apochromatischen Immersionssystemen der Gegenwart erreicht ist.

2) Das „Körnchen“ repräsentiert ja die niederste, die einfachste Form differenzierten Materials.

3) Vgl. hiermit z. B. Martin Heidenhains Artikel (94) und seine spätere Diskussion mit Apathy (1901—1902).

Durch die Untersuchung in polarisiertem Lichte können wir bekanntlich wohl keine Entscheidung der Frage erwarten, weil ein negatives Resultat nichts besagt, und weil andererseits die ungleiche Spannung in einer homogenen Substanz eine ähnliche optische Erscheinung geben kann, wie eine echte fibrilläre Struktur.

Vgl. mit Bezug auf die Bindegewebsfibrillen auch V. v. Ebners verschiedene Artikel.

wenigen Fällen mehr zerstreut liegende Fibrillen unmaskierten Bindegewebes nachweisen. Nach (gänzlicher oder partieller) Entfernung der Basophilie aus der Knorpelgrundsubstanz kann man nun auch die anderen in tinktorieller oder auch in struktureller Beziehung ganz oder teilweise maskierten Fibrillen bemerken. Wir erhalten alsdann alle Fibrillen, alles Bindegewebe des Knorpels gefärbt. Es zeigt sich dann, dass die Knorpelgrundsubstanz des typischen, hyalinen Knorpels oft sogar unmittelbar an den Zellen (dem Endoplasma) Fibrillen enthält. Auch in demjenigen Teile der Grundsubstanz, der dem Endoplasma zunächst liegt und häufig als sogenannte „Kapsel“ differenziert ist, lassen sich in sehr vielen, ja fast den meisten Fällen, namentlich im Knorpel grosser Tiere, feine Fibrillen in einer amorphen Grundsubstanz nachweisen. Es ist dann natürlich von Wichtigkeit, zu erfahren, ob die Zellen eingeschrumpft oder ein wenig von den Wänden der Knorpelhöhle retrahiert sind, denn in diesem Falle erhält man einen schmaleren oder breiteren hellen ungefärbten Zwischenraum zwischen der rotfarbigen Grundsubstanz und der „Zelle“, und man kann hierdurch zu dem Glauben verleitet werden, es sei der innerste Teil um die Zelle, der kein maskiertes Bindegewebe enthalte. Man muss deshalb die Schnitte sorgfältig mikroskopieren<sup>1)</sup>, schon bevor man die Chondroitin-

---

1) In einigen Fällen ganz jungen fötalen Knorpels mit grossen runden Zellen, wo die kleinen Knorpelstückchen nur wenige Zellen enthielten, mass ich die Grösse der Zellen und der „Knorpelhöhlen“, um gewisse Zellen vor und nach der Behandlung mit Alkalien und der Färbung, obschon ich mir des sehr problematischen Wertes solcher Messungen bewusst war. Die Resultate der Messungen waren nicht im Widerspruch mit den Resultaten, zu deren Annahme ich infolge des mikroskopischen Bildes gekommen war, sondern stützten dieselben. Theoretisch betrachte ich die „Knorpelzellen“ jedoch als Endoplasma und die Knorpelgrundsubstanz als Ektoplasma und erkenne keinen scharfen Gegensatz derselben an, da ich im Gegenteil den Übergang zwischen Endo- und Ektoplasma nachgewiesen habe. Die Fragen, in wie grossem Umfang wir Bindegewebe, Kollagen, in der Knorpelgrundsubstanz nachzuweisen vermögen, lassen sich deshalb auch so formulieren: Wo werden wir, praktisch genommen, die Grenze, den Übergang zwischen Ekto- und Endoplasma ansetzen? Hat sich



schwefelsäure entfernt, um noch mehr der wirklichen inneren Begrenzung der Knorpelhöhle sicher zu sein. Einem geübten Untersucher wird es nach und nach möglich, durch umfangreiches systematisches Vergleichen und Studieren der Knorpelzellen in lebendem (überlebendem) Zustande und nach Fixation mit den verschiedenen Flüssigkeiten u. s. w., wenigstens in sehr vielen Fällen zu entscheiden, wo, praktisch betrachtet, die wirkliche innere Begrenzung der Knorpelhöhle liegt oder gelegen haben muss. Ich hebe indes ausdrücklich hervor, dass die Grundsubstanz um äusserst viele „Zellen“ allerdings bis unmittelbar an die innere Grenze der Knorpelhöhle bindegewebshaltig ist, dass dies aber doch bei weitem nicht immer der Fall zu sein braucht. Teils giebt es zwischen dem Endoplasma, der Zelle und der Grundsubstanz eine oft ganz schmale, oft fast „virtuelle“ „Übergangspartie“, teils kann ja die innerste Ektoplasmaschicht um die „Zelle“ andere Eigenschaften besitzen, z. B. mehr albumoidartig sein, oder als echte Kapselsubstanz differenziert sein, in der sich ebenfalls mitunter kein maskiertes Kollagen nachweisen lässt. Hierher gehören z. B. einige (nicht alle) der Kapseln um die (Knorpel-) Zellen, die Hammar um seine „eingekapselten Zellen“ in den oberflächlichen Schichten des Gelenkknorpels (älterer Individuen) und in den Gelenkkapseln<sup>1)</sup> (den Synovialmembranen) nachwies; überhaupt muss

das Endoplasma von der innersten Schicht des Ektoplasmas hinweggetrahiert oder umgekehrt, was dieselbe Wirkung hat? Wo hatten wir denn in diesem Falle zuletzt die Grenze zwischen den beiden Bestandteilen? — Wie weit können wir in den verschiedenen Fällen Bindegewebsfibrillen im Ektoplasma nachweisen und ist dieses stets oder nur in mehr oder weniger zahlreichen Fällen bis ganz an die Grenze bindegewebshaltig?

1) Die Zellkapseln (d. h. das Ektoplasma) waren ziemlich oft verästelt, zuweilen war auch die Zelle (das Endoplasma) verästelt, zuweilen nicht, oder es fand sich gar keine Zelle mehr in den Kapseln. Diese Kapseln sind meinen Untersuchungen zufolge als zum Teil albumoid zu betrachten, in vielen Fällen konnte ich gar kein Bindegewebe in denselben nachweisen. Übrigens harmoniert Hammars Befund hinsichtlich dieser Formen „eingekapselter Zellen“, wie leicht zu ersehen, sehr wohl mit meinen Untersuchungen über die Zellen im Discus intervertebralis.

man darüber im klaren sein, dass weder die chondroitinschwefelsäurehaltige noch die nichtchondroitinschwefelsäurehaltige amorphe Grundsubstanz notwendigerweise Kollagen und Bindegewebsfibrillen enthalten muss.

Während es freilich die Regel ist, dass grössere, bindegewebsfreie Massen von Chondromucoid nicht in der hyalinen Knorpelgrundsubstanz angetroffen werden, findet man doch an verschiedenen Stellen u. a. im „Bindegewebsknorpel“, z. B. im Discus intervertebralis, zwischen Bindegewebsbündeln wirklich amorphe Massen chondroitinschwefelsäurehaltiger Grundsubstanz<sup>1)</sup>, die nur relativ wenig oder gar kein Bindegewebe enthalten. Mitunter liegen in den amorphen Klümpchen verästelte oder unverästelte Zellen mit „Kapseln“ oder ohne solche. Um die Zellen kann dann sehr wohl ein wenig Bindegewebsentwicklung oder einzelne Bindegewebsfibrillen oder Bündel von Fibrillen vorkommen, welche die übrigens amorphe Substanz durchkreuzen. — Mit der grösseren Tendenz des Bindegewebes, Bündel echter Fibrillen zu bilden, scheint oft die Neigung zu mehr räumlicher Sonderung zwischen der Bindegewebssubstanz und dem Chondromucoid in Verbindung zu stehen, im Gegensatz zu der äusserst innigen Mischung der beiden Bestandteile, die dem typischen hyalinen Knorpel so charakteristisch ist. Verhältnisse, die an das gesamte Verhalten des Bindegewebs(Faser)knorpels erinnern, finden wir, sehr charakteristisch, zum Teil in älterem Knorpel bei beginnender Markraumbildung u. dgl. ausgesprochen. In altem Knorpel konnte ich an sehr vielen Stellen nachweisen, dass auch die den Zellen zunächst liegende basophile Substanz maskiertes Bindegewebe enthielt; dies war aber bei weitem nicht immer der Fall, und dann erwies die amorphe Substanz sich oft als

---

1) Dann und wann ist die charakteristische Basophilie auch nur schwächer ausgesprochen oder fehlt gänzlich.

in den Macerationsmitteln schwerer löslich als anderswo; sie war mehr albumoidartig und hielt zuweilen erstaunlich fest an einem Teile ihres Chondroitinschwefelsäuregehalts, so dass die Basophilie erst nach langer Einwirkung der Macerationsmittel verschwand<sup>1)</sup>. — In diesem Zusammenhang nenne ich noch die oft excessive Entwicklung von Asbest in älteren Knorpeln und den bunten Bau von abwechselnd kollagenen Schichten und Schichten basophiler Substanz mit oder ohne maskiertes „Kollagen“, noch ferner kompliziert mit Schichten von Albumoidsubstanz oder Albumoidkörnchen, welchen die „zusammengesetzten Kapseln“ und die pericelluläre Grundsubstanz des älteren Knorpels darbieten. Hier sehen wir besonders deutlich die Neigung zu einer partiellen räumlichen Sonderung der verschiedenen Komponenten der hyalinen Grundsubstanz, die sich auch in jüngerem Knorpel, freilich nur mehr vorüber-

<sup>1)</sup> Die den Zellen zunächst liegende, ev. als eine „Kapsel“ differenzierte Grundsubstanz zeigt folgende Variationen:

I. Chondroitinschwefelsäurehaltig und **basophil**.

- a) enthaltend: Bindegewebe (Kollagen, maskiertes oder unmaskiertes) + junger oder „alter“ Kittsubstanz;
- b) enthaltend: junge Kittsubstanz, aus der sich event. Kollagen entwickeln kann, hierunter die Fälle einbegriffen, wo sich ein Vorstadium des Kollagens findet;
- c) enthaltend: „alte“ Kittsubstanz; kein untermengtes Bindegewebe, die Kittsubstanz aber mehr albumoidartig.

II. **Acidophil** allein (kein direkt nachweisbarer Chondroitinschwefelsäuregehalt).

- a) enthaltend: reines oder fast reines Bindegewebe (+ ein wenig interfibrillärer Substanz). Färbt sich mit Säurefuchsin;
- b) enthaltend:
 

1. junge Kittsubstanz (leicht löslich) oder	}	Färben sich besonders mit Pikrinsäure oder Eosin.
2. alte, albumoidartige, schwerer lösliche Kittsubstanz.		

III. **Kombinationen**: Schichten von I und II wechseln miteinander ab.

Unter „Kittsubstanz“ verstehe ich die amorphe Proteinstoffgrundlage der interfibrillären und intercellulären Substanz; „alte“ Kittsubstanz nenne ich die mehr unlösliche Kittsubstanz, die besonders pikrophil oder eosinophil ist und am häufigsten in altem Knorpel gefunden wird.

gehend und temporär während der Entwicklung der Grundsubstanzen, manifestiert, z. B. in der periodischen Bildung der „kollagenen Mäntel“ aus den starren dickeren Knorpelfibrillen abwechselnd mit Schichten gewöhnlicher hyaliner, maskiertes Kollagen enthaltender Grundsubstanz.

Charakteristisch für das typische fibrilläre, weisse Bindegewebe ist u. a. die wohlbekannte „Neigung“ der Fibrillen, sich, wo es thunlich ist, enger aneinander zu schliessen, oder in Bündeln aufzutreten, wodurch sich das Kollagen und das amorphe „Bindegewebsmucin“ und die Gewebsflüssigkeit, kurz, die interfibrilläre Substanz, gewissermassen mehr räumlich sondern<sup>1)</sup>. In der typischen hyalinen Knorpelgrundsubstanz sind die Fibrillen dagegen gerade auseinander gesprengt und liegen wie ein dichter Filz mit gewissen vorherrschenden Hauptrichtungen des Verlaufes der Fibrillen, innig mit dem Chondromucoid vermischt. Dies bedingt, wie schon früher berührt, das abweichende Verhalten des Knorpelbindegewebes. Ich erwähnte, wie die Bindegewebsfibrillen in der Grundsubstanz des Knorpels tinktoriell und histochemisch maskiert sind. Ausserdem verdecken aber auch die mehr physisch-optischen Verhältnisse die Fibrillierung gänzlich oder zum Teil. Es ist leicht einzusehen, wie der Umstand, dass die Fibrillen des frischen Knorpels innig mit einem amorphen Stoffe von ähnlicher Lichtbrechung wie ihre eigene vermischt sind, ihre Beobachtung erschweren, resp. ein ganz homogenes Aussehen der Grundsubstanz hervorbringen muss. Alle Fixierungen, die den Brechungskoeffizienten der Fibrillen und den der amorphen Zwischensubstanz ungleich verändern, müssen deshalb die Fibrillierung mehr oder weniger deutlich machen, — was viele unserer Fixationsmittel gerade anzeigen. Ich hebe z. B. den günstigen

---

1) Von der geringen, variablen Menge „Mucin“ abgesehen, das die Gewebsbündel durchdringt.

Einfluss hervor, den Chromsäurelösungen, gewisse chromsaure Salze (z. B. Müllers Flüssigkeit), zum Teil auch Osmium, Sublimat, Pikrinsäure<sup>1)</sup> u. s. w. auf die Markierung der echten Fibrillierung nicht nur im Knorpel, sondern auch in gewöhnlichen Bindegewebsbündeln üben. Teils wirken diese Fixierungen dadurch, dass sie das Kollagen in geringem Grade zum Einschrumpfen bringen, teils scheint die geringere, sicherlich aber nicht bedeutungslose, leicht macerierende Wirkung, die z. B. Chromverbindungen und Pikrinsäure (wie auch andere wässrige, aber nicht aufquellende Lösungen) auf die amorphe Kittsubstanz sowohl im Knorpel als anderswo üben, das ihrige zu dem wohlverdienten Ansehen beizutragen, das sie stets genossen haben, wo es auf die Darstellung und Untersuchung der „Fibrillierungen“ ankam.

Die eigentlichen Macerationsmittel des Knorpels, wie Alkalien, Kalk- und Barytwasser, Pankreatinverdauung u. s. w. wirken dagegen zunächst nur zersetzend auf die Kittsubstanz, was u. a. aus der Anwendung des bekannten Hilfsmittels, das man gebraucht, wenn die Fibrillierung nicht recht zum Vorschein kommen will, nämlich des Zusatzes einer 10 % NaCl-Lösung hervorgeht, die ohne stark lichtbrechend zu sein, die eventuell angeschwollenen Bindegewebsfasern ein wenig einschrumpfen macht, so dass sie konsistenter<sup>1)</sup> und stärker lichtbrechend als die Umgebungen werden. Ebenso verhindert eine 10 % NaCl-Lösung (wie in von

---

<sup>1)</sup> Alkohol absol. und Formol-Alkohol erwiesen sich in vielen Fällen als sehr gute Fixationsmittel. Man lasse sich nicht von fibrillenähnlichen Einschrumpfungen oder anderen Pseudostrukturen täuschen, welche der Alkohol relativ leicht hervorruft. Wurden Schnitte der alkoholfixierten Präparate später in Wasser gelegt, so zeigten die echten Fibrillen sich oft ebenso hübsch wie bei anderer Fixation.

<sup>1)</sup> Bekanntlich sind auch andere Reagentien brauchbar. Es ist eine bekannte Sache, dass ein Druck auf das Deckglas die Fibrillierung oft besser sichtbar macht. Ebenfalls kann man durch Ausstrecken oder Komprimieren von Bündeln von Bindegewebsfibrillen, die durch Anschwellen (z. B. in Säuren) ihr fibrilläres Aussehen verloren haben, dieses wieder zum Vorschein bringen.

Ebners bekanntem Decalcinierungsmittel) das Aufquellen der Bindegewebsfibrillen bei der Maceration. (Vgl. die anderswo angeführten Macerationsmittel.) — Ich kombinierte auch mit gutem Erfolg z. B. Barytwasser mit NaCl-Lösung. Wenn nun, wie bekannt, sogar die gröbere Fibrillierung häufig sehr undeutlich sein und erst nach besonderer Behandlung hervortreten kann, auch in gewöhnlichen (grösseren und kleineren) Bindegewebsbündeln, wo wir doch mit einigen der am leichtesten nachweisbaren und distinktesten Fibrillen<sup>1)</sup> zu thun haben, und wo die Fibrillen alle in derselben Richtung liegen, so ist es leicht verständlich, dass das Bindegewebe des Knorpels, das in der Regel in seine sehr feinen, oft ungeheuer dünnen Primitivfibrillen<sup>2)</sup>, in einer amorphen Substanz auseinander gestreut, aufgelöst ist, die entweder gar keine oder eine von der der Fibrillen nur wenig verschiedene Lichtbrechung hat, dem Nachweis der Fibrillen besondere Schwierigkeiten darbieten muss, grössere vielleicht als an irgend einer anderen Stelle des Bindegewebes. Ferner liegen die Knorpelfibrillen ja wie ein Filz, d. h. sich mehr oder weniger kreuzend, höchstens gewissermassen in Zügen, nicht in eigentlichen Bündeln, mit gewissen Hauptrichtungen für eine grössere Anzahl der Fibrillen. Die Wahrscheinlichkeit könnte ausserdem vielleicht dafür sprechen, dass die Knorpelfibrillen überdies durch Einwirkung des Chondromucoids ein wenig angeschwollen wären und deswegen sich schwerer in der interfibrillären Substanz gewahren liessen. Bestimmtes kann man in dieser Beziehung nicht sagen.

Ich brauche natürlich nicht hervorzuheben, dass die Fibrillen des Knorpels, von denen ich rede, echte Fibrillen sind, die

---

<sup>1)</sup> Ich erinnere hier nur an den langwierigen Streit über die Natur der Fibrillierung im gewöhnlichen Bindegewebe; bekanntlich behauptete Reichert es seien hier keine wirklichen Fibrillen zu finden, sondern nur eine Streifung einer homogenen Substanz.

<sup>2)</sup> Hiermit soll jedoch nicht gesagt sein, dass diese sich nicht noch ferner teilen könnten. Vgl. ferner meine Bemerkungen unten.

sich als wirkliche „isolierte“ Elemente beobachten lassen, die also nicht nur als eine Streifung oder scheinbare Fibrillierung gewahrt werden, sondern auf die übliche bekannte Weise sowohl in wirklichem als in optischem Querschnitt zu erblicken sind, und die durchaus nicht von Einschrumpfungen oder Faltungen herrühren und ebensowenig (wie z. B. Bütschli [34] glaubt) das Scheinbild eines langmaschigen Kammerwerks in einer homogenen Substanz sind. — Über falsche Fibrillierungen siehe unten.

Um die Fibrillen in situ im Schnitte nachzuweisen und um zu zeigen, dass sie wirkliche Fibrillen sind, habe ich mehrmals die Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin hervorgehoben. Bei Untersuchung des Farbenbildes mit Linsen von hoher Apertur gewahrt man die einzelnen Fibrillen deutlich als besondere Bildungen und schützt man sich bestens vor Täuschungen durch Diffraktionslinien u. dgl. Daneben kann man die Knorpelschnitte<sup>1)</sup> aber mit grossem Vorteil in schwach lichtbrechenden Flüssigkeiten<sup>2)</sup> untersuchen, z. B. in physiologischer Kochsalzlösung 0,5—0,7 % oder 1—2—5—10 % NaCl-Lösung, eventuell mit ein wenig Zusatz von Glycerin; auch Fluornatriumlösungen gebrauchte ich mit Erfolg. — Man muss Linsen von sehr hoher Apertur, z. B. Zeiss Apochromat 2.—1,30 oder 3.—1,40, Öl auf dem Kondensor, sehr kräftiges Auerlampenlicht<sup>3)</sup> oder das beste Tageslicht und geeignete Abblendung anwenden. Unter den

---

1) Fixierte Knorpelschnitte sind gewöhnlich die besten, oft konnte ich aber die Strukturen an frischen Schnitten überlebenden Knorpels (besonders grösserer Tiere, z. B. des Kalbes, des Ochsen) kontrollieren, obschon alle Strukturen bekanntlich viel blässer sind. (Vgl. Flemmings bekannte Kontrollmethode für Strukturen in fixiertem und in lebendem Gewebe.)

2) Untersuchung in konzentrierter Pikrinsäure oder nach Färbung mit Säurefuchsin-Pikrin in ein wenig dieser Flüssigkeit oder der verdünnten Farbflüssigkeit ist oft zweckmässig.

3) Oft fand ich es von Nutzen, den Knorpelschnitten einen schwach bläulichen Ton mit Methylviolett und Entfärbung in Salzglycerin zu geben, wie oben erwähnt.

Ocularen passte mir am besten Comp. Oc. 4—6, höchstens 8. — Da das System 3.—1,40 grössere äquivalente Brennweite und deshalb grössere Focustiefe der Bilder hat, gebe ich demselben den Vorzug bei der Beobachtung der feinen fibrillären Strukturen; man bekommt hierdurch nämlich eine etwas längere Strecke einer Fibrille zu sehen, wenn diese auch, was gewöhnlich der Fall ist, im Verhältnis zum Focalplan ein wenig schräge verläuft; solche Strukturen werden hierdurch oft leichter zu beobachten<sup>1)</sup>.

Diese Untersuchung der Fibrillierung (und auch anderer feinen Strukturen, z. B. im Endoplasma) des Schnittes in schwächer lichtbrechenden Medien ergänzt oft auf sehr willkommene Weise die Untersuchungen mittelst der Färbung der Strukturen und mittelst des Farbenbildes; eventuell sind beide zu kombinieren. Die Struktur im gefärbten Knorpelschnitt kann zuweilen ja nämlich in gewissen Gegenden, wo die Fibrillen sehr dicht liegen, z. B. nach dem Perichordium hin und an ähnlichen Orten, undeutlicher werden, indem die Farbwirkung sich summiert und die einzelnen Fibrillen schwieriger, resp. unmöglich voneinander zu unterscheiden sind, wenn die Schnitte nicht sehr dünn sind<sup>2)</sup>.

---

1) In diesem Zusammenhang erwähne ich das beim ersten Anblick ziemlich paradoxe Verhalten, dass die Fibrillierung in einem mit Säurefuchsin-Pikrin gefärbten Knorpelschnitt scheinbar mit schwächeren Linsen, z. B. Apochromat 8.—0,65 oder 4.—0,95 oft viel deutlicher zu gewahren ist als mit den Immersionslinsen. Dieses Verhalten beruht teils darauf, dass diese Trockenlinsen (namentlich 4.—0,95) mit ihrer relativ grossen Apertur und grossen Focaltiefe verhältnismässig viel grössere zusammenhängende Strecken von schräg verlaufenden Fibrillen abbilden, teils auf der Summation nahe aneinander liegender Fibrillen zu einzelnen, die bei der Bildergestaltung dieser Linsen notwendigerweise eintreten muss. Vieles dessen, was frühere Beobachter Fibrillen nannten, waren in der That Summationsbilder weit feinerer echter Fibrillen.

2) Natürlich kann man an Paraffinschnitten sehr dünne Schnitte erhalten, 5—3  $\mu$ , die dann behandelt und nicht-aufgeklebt gefärbt werden, wie freie Schnitte.



Die Untersuchung in schwächer lichtbrechenden Medien kann uns über diese Schwierigkeit hinweg bringen und gestattet zugleich die Anwendung mitteldicker oder dickerer Schnitte, was oft von grossem Vorteil ist. In allen Fällen aber, wo es nicht darauf ankommt, jede einzelne Fibrille der Schnitte gefärbt zu erhalten, hilft die eigene histiochemische Konstitution des Knorpels uns gewöhnlich über die Schwierigkeiten hinweg, weil ein Teil der Fibrillen, wie gesagt, in tinktorieller Beziehung maskiert ist und sich nicht färbt, weshalb die unmaskierten natürlich um so deutlicher hervortreten. Mitunter kann es ausserdem, um die Fibrillen zu gewahren, vorteilhaft sein, dem Knorpel eine leichtere Methylenblaufärbung zu geben, wie oben gesagt, wodurch die roten Fibrillen sich in der blauen Grundsubstanz noch mehr hervorheben. — Durch die hier und früher genannten Mittel (auch die Demaskierung) beherrscht man jedenfalls die Darstellung und Untersuchung der Knorpelfibrillen vollständig und kann diejenigen Methoden wählen, die in jedem einzelnen Falle und in Betreff jeder einzelnen Frage als die zweckmässigsten erscheinen. Ich brauche daher nur in aller Kürze die in allgemein histiologischer Beziehung wichtigsten Verhältnisse der Knorpelfibrillen zu erwähnen.

Charakteristisch für die Mehrzahl der Bindegewebsfibrillen im typischen hyalinen Knorpel ist die geringe Dicke der Fibrillen und deren geringe Neigung, sich in grösseren Bündeln aneinander zu schliessen.

In allen ganz jungen Knorpeln und in den Knorpeln kleinerer Tiere sind die Fibrillen durchweg äusserst fein und dünn, wovon ich bereits Beispiele genannt habe. Auch in anderer typischen hyalinen Knorpelgrundsubstanz, namentlich solange der Knorpel als „jung“<sup>1)</sup> zu bezeichnen ist, sind die Fibrillen aber durchweg von sehr geringem Kaliber. Es kann indes ein

---

1) Über diesen Begriff siehe oben.

nicht gar geringer Unterschied zwischen den einzelnen Fibrillen vorhanden sein, teils in demselben Knorpel, teils in den verschiedenen Knorpeln desselben Tiers, teils mit der Art und den Altersstadien des Tieres variierend. Eine bestimmte Regel für die Variationen kann ich vorläufig nicht angeben, nur die allgemeine, dass im ganzen und grossen die hyaline Knorpelgrundsubstanz kleinerer wie auch jüngerer Tiere die dünnsten und feinsten Fibrillen zu haben scheint, die mitunter eben an der Grenze des Sichtbaren liegen, während die Knorpelgrundsubstanz grösserer und namentlich älterer Tiere teils relativ mehr Fibrillen grösseren Kalibers neben sehr feinen zu haben scheint, teils durchweg nur dickere Knorpelfibrillen hat<sup>1)</sup>. In letzteren Fällen werden die echten Knorpelfibrillen einigermassen leicht zu gewahren sein. So gehören die von Hammar (l. c.) im Gelenkknorpel beobachteten und sehr schön 'abgebildeten' echten Fibrillen, obschon sie sehr dünn und fein sind, dennoch zu den leichter sichtbaren. Als Beispiel des Unterschieds zwischen verschiedenen Knorpeln nenne ich den echt hyalinen (nicht den elastischen) Teil der *Cartilago arytaenoidea* des Kalbes und die *Cartilago cricoidea* oder *thyroidea* desselben Tieres. Im ersteren Knorpel scheinen mir die Fibrillen durchgängig etwas dicker zu sein als in den beiden letzteren oder in den Trachealknorpeln. Vergleicht man z. B. die Laryngo-Trachealknorpel des Menschen und des Pferdes einerseits mit denen des Ochsen und des Kalbes andererseits, so sind die Fibrillen der letzteren durchschnittlich relativ dicker und leichter zu gewahren als die der ersteren. Ausdrücklich betone ich „durchschnittlich“, denn in den einzelnen Knorpeln der genannten Arten sind sowohl äusserst feine und schwerer sichtbare als auch relativ dickere und leichter sichtbare echte Fibrillen enthalten.

Analoges gilt meiner Erfahrung nach von den anderen von

---

1) Von den Asbestfibrillen oder der Neigung zur Asbestbildung gänzlich abgesehen.

mir untersuchten Knorpeln. Je mehr „hyalin“ die Knorpelgrundsubstanz ist, um so feiner scheinen die Fibrillen zu sein.

Häufig gelang es mir, zu beobachten, dass dickere Knorpelfibrillen stellenweise aus dünneren oder äusserst feinen Fibrillen zusammengesetzt waren oder sich in solche teilten, ohne dass man darum dieses Verhalten ohne weiteres auf alle dickeren Fibrillen generalisieren oder diese mit den gewöhnlichen Bindegewebsfibrillenbündeln homologisieren dürfte. Die Entwicklung der Knorpelfibrillen, die ich schon berührt habe, und die ich an anderem Orte ausführlicher besprechen werde, giebt ebenso wie die Asbestfibrillen, die oftmals sehr deutlich als aus vielen dünneren zusammengesetzt zu sehen sind, noch ferner Beweise für das Verhalten ab, dass die hyaline Knorpelgrundsubstanz eine Reihe von Übergängen aus den feinsten, an der Grenze des Sichtbaren liegenden Fibrillen in grössere und dickere darbietet.

Die verschiedene Dicke der Fibrillen scheint mir vorläufig in keinem bestimmten Zusammenhang mit den mechanischen Verhältnissen des Knorpels zu stehen. Dies ins Auge fassend habe ich z. B. Gelenkknorpel verschiedener Gelenke und aus verschiedenen Lokalitäten desselben Gelenkes sowohl an grossen als kleinen Tieren untersucht, jedoch mit negativem Resultate.

Der Verlauf der Fibrillen ist ein gestreckter oder in verschiedenem Grade gebuchteter und gekrümmter; eine feine Wellung ist auch anzutreffen, besonders stark an Stellen ausgesprochen, wo die Knorpelgrundsubstanz sich in geringerer Spannung befindet, oder wo anzunehmen ist, dass die natürlichen Spannungsverhältnisse aufgehoben sind und eine Relaxation eingetreten ist. Die weicheren Stellen der Knorpelgrundsubstanz sind ganz natürlich am geneigtesten, mehr wellige Fi-

brillen zu zeigen. Besonders deutlich ist dies zu sehen, wenn aus irgend einem Grunde, z. B. durch die Fixation, ein Einschrumpfen der interfibrillären Substanz des Knorpels stattgefunden hat, ohne dass dieses Einschrumpfen sonst die Struktur oder die Lagerungsverhältnisse des Gewebes in prinzipiell wichtiger Beziehung irgendwie zu ändern brauchte. (Der Knorpel ist übrigens ja wegen seiner Elasticität bekannt, so dass er ziemlich bedeutende Deformationen zu ertragen und dennoch zu seiner ursprünglichen Form zurückzukehren vermag.) Die dickeren Knorpelfibrillen, von den Asbestfibrillen vorläufig abgesehen, haben gewöhnlich einen mehr starren Verlauf oder krümmen sich in längeren Bogen<sup>1)</sup>, daneben sind sie aber dann und wann ziemlich gewellt anzutreffen, ohne dass sie jedoch auch nur im geringsten „Elastin“ wären (was ihr tinktorielles und chemisches Verhalten z. B. gegen Pankreatin erweist).

Die echten Bindegewebsfibrillen des Knorpels anastomosieren oder gabeln sich gewöhnlich nicht, in guter Übereinstimmung mit ihrer Natur als weisse Bindegewebsfibrillen. Doch sah ich in gewissen Fällen, u. a. bei der Entwicklung der Knorpelfibrillen aus den extracellulären Centren, den „fibrillogenen Sternen“<sup>2)</sup> durchaus unzweifelhafte Fälle anastomosierender echter Bindegewebsfibrillen, die mit „elastischen Fibrillen“ entschieden nichts zu schaffen hatten. — Anderswo werde ich diese Fälle, die ich übrigens mehreren Histologen demonstriert habe, abbilden und näher beschreiben<sup>3)</sup>.

---

1) Die hier angegebenen Verhältnisse sind die allgemeineren, Abweichungen hiervon können gelegentlich aber sehr wohl vorkommen. Bei der Darstellung der Bindegewebsgrundsubstanzen werde ich gewisse Abweichungen besprechen.

2) Siehe hierüber meine vorläufige Mitteilung: „Die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen“. A. A. Bd. XVI.

3) In seinem Artikel: Die Chordascheide der niederen Fische und die Entwicklung des fibrillären Bindegewebes. Zeitschr. f. wiss. Zoolog. Bd. 62. S. 469–526. Mit 3 Tafeln. 1896 — hat V. v. Ebner im Abschnitt VIII;

Was die Anordnung der Fibrillen in der Knorpelgrundsubstanz betrifft, so kann ich mich selbstverständlich nicht auf die spezielleren Verhältnisse in den verschiedenen Knorpeln einlassen, über die wir übrigens nur spärliche detaillierte Angaben besitzen, besonders von Donders, v. Ebner, v. Brunn, Ranvier, Tillmanns, Hammar, Hultkrantz und einzelnen anderen. Dieselben haben namentlich den Gelenkknorpel und die Rippenknorpel vor Augen. Eine detaillierte Schilderung des Verlaufes der Fibrillen in den verschiedenen Knorpeln könnte natürlich mit Hinsicht auf die speziellere Anatomie und die mechanischen Verhältnisse derselben von grossem Interesse sein, ist aber erst im Werden begriffen (vgl. in dieser Beziehung auch Hultkrantz' Untersuchungen über die Spaltrichtungen und die Richtungen der Fibrillen im Gelenkknorpel). In Betreff des Verlaufes der Fibrillen stimmen alle Autoren, welche die echten Fibrillen gesehen haben, so ziemlich überein. Die Fibrillen verlaufen in den oberflächlichen Schichten des Knorpels mehr platt, konzentrisch oder parallel zur Oberfläche. In der Tiefe verlaufen

---

„Die Bildung und das Wachstum der leimgebenden Fibrillen und der elastischen Substanz“ bei der Besprechung von A. Spulers Arbeit (1896) über die Bindegewebsentwicklung den Einwurf erhoben, dass die netzbildenden Fibrillen, die Spuler im Innern des Protoplasmakörperchens der Zellen abgebildet hat, wohl kaum die Vorstadien kollagener Bindegewebsfibrillen sein könnten, da der typische Charakter der letzteren ein glatter und unverästelter Verlauf sei. Ohne hier zur Bestreitbarkeit der von Spuler gegebenen Deutung seiner Bilder Stellung zu nehmen, sei mir gegen v. Ebners Argument der Einwand gestattet, dass wir allerdings die fertigen Bindegewebsfibrillen durchweg unverästelt finden, dass dies aber nicht ausschliesst, dass sie, selbst in ausgewachsenem Zustande, wenn auch seltener, sich verästeln oder anastomosieren könnten und namentlich widerspricht das Verhalten im mehr entwickelten Zustande durchaus nicht einer Verästelung oder Anastomosierung in den früheren Stadien der Entwicklung. Endlich möchte ich fragen, ob es denn so durchaus sicher ist, dass man unter fertigen, echten kollagenen Fibrillen keine Anastomosen finden darf, und ob der postulierte, absolut unverästelte Verlauf der Bindegewebsfibrillen nicht die Äusserung einer stark ausgesprochenen Spaltbarkeit längs einer Achse in der „fibrillär differenzierten“ (kollagenen) Bindegewebssubstanz sein könnte? Man vergleiche hiermit M. Heidenhains oben citierten Artikel.

sie im Gelenkknorpel<sup>1)</sup> senkrecht zum Knochen, im Rippenknorpel<sup>2)</sup> mehr senkrecht zu den Oberflächen, und in den mittleren Partien findet sich der Übergang zwischen den peripheren und den tiefen Schichten — als mehr schräge und verflochten verlaufende Fibrillen. Dieses allgemeine Verhalten kann ich nur bestätigen, auch hinsichtlich der Knorpel, in denen die Fibrillen sich nur schwerer gewahren lassen. Der in den peripheren Teilen mehr platte, in den tieferen Teilen in der Beziehung zur Oberfläche mehr radiäre oder senkrechte Verlauf der Fibrillen stimmt in den grossen Zügen sehr wohl mit der oben angeführten allgemeinen Anordnung des Trabekelwerks und der Knorpelzellengruppen überein. Wenn ich früher wiederholt die filzige Anordnung der Knorpelfibrillen hervorgehoben habe, wollte ich hierdurch auch gerade die mehr unregelmässige Weise betonen, wie die Fibrillen hier verlaufen, im Gegensatz zu anderem Bindegewebe, wo ja immer mehr oder weniger zahlreiche, in derselben Richtung verlaufende Fibrillen zu Bündeln vereinigt sind. Der Filz des Knorpels ist im Verhältnis zur

1) Vgl. z. B. die angeführten Artikel von Hammar, v. Brunn u. a. m.

2) Angaben hierüber finden sich nach Solger (1888), Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. 31 schon bei Donders. Ausführlicher bespricht V. v. Ebner in seiner Schrift: Untersuchungen über die Ursachen der Anisotropie organisierter Substanzen, Leipzig 1882, den Verlauf der Fibrillen in der Knorpelgrundsubstanz nach Polarisationsbildern (S. 68 f.). Ich führe das Wesentliche an: Die Polarisationsbilder sind von der Richtung der Fibrillen abhängig, die sich in verschiedenen Richtungen kreuzen. Die Fibrillen sind ebenso wie in der Knochensubstanz und im Bindegewebe positiv einachsig, wofür der histologische Befund angeführt werden kann. Die Fibrillen der peripheren Schichten (des Rippenknorpels) sind vorzugsweise cirkulär, zu alleräusserst subperichondral findet sich aber eine Schicht längsverlaufender Fibern, die sich in der Längsrichtung kreuzen können. Im Innern des Knorpels laufen die Fibrillen mehr in allen Richtungen, hauptsächlich jedoch in der Längsrichtung der Grundsubstanzbalken zwischen den Zellengruppen. Die Richtungen dieser Balken sind so, dass die Zellengruppen mehr zusammengedrängt in der kurzen Achse (des Rippenknorpels), zuweilen aber auch mehr radiär liegen. Die Zellen sind gewöhnlich länglich in der Richtung senkrecht zur Längsachse, in der Richtung der Längsachse selbst aber mehr abgeplattet. Vgl. auch Ranvier (183).

grossen Dünne der Fibrillen durchweg dicht, übrigens von ungleicher Dichte, in Übereinstimmung mit dem, was ich oben über die verschiedenen Zonen des Knorpels anführte. Nirgend verlaufen die Fibrillen in der echten hyalinen Knorpelgrundsubstanz nur in einer einzelnen Richtung. Überall sieht man die Fibrillen, gerade wie im Filz, in verschiedenen Richtungen verlaufen, also sowohl längs der Schnittfläche als schräge und quer über diese, und zwar überall in der Grundsubstanz; ein anderes ist, dass sich an den verschiedenen Stellen im grossen und ganzen gewöhnlich eine oder mehrere Hauptrichtungen des Verlaufes der Fibrillen nachweisen lassen, zuweilen als deutliche Züge, in denen diese ziemlich parallel laufen oder sich unter spitzeren Winkeln kreuzen, wobei die Hauptzüge mehr oder weniger häufig Fibrillen miteinander umtauschen. Neben und zwischen solchen einigermassen gleichartig verlaufenden Zügen finden sich andere Züge von Fibrillen oder mehr isolierte Fibrillen, welche die Hauptrichtung mehr oder weniger senkrecht kreuzen. Dass die Hauptrichtung, wenn eine solche hervortretend ist, sich gradweise von den peripheren bis in die tieferen Schichten ändert, ergibt sich von selbst.

Betrachtet man den Verlauf der Knorpelfibrillen in seiner Beziehung zur Anordnung der Zellen und der Zellengruppen, so zeigen die Fibrillen in guter Übereinstimmung mit den oben berührten zonalen Differenzierungen und den genetischen Verhältnissen eine gewisse Abhängigkeit von den Zellen (dem Endoplasma). Im allgemeinen haben die Fibrillen, besonders ausgeprägt in der Nähe der Zellen, in grossem Umfang die Neigung, in grösseren oder kleineren Bogen um die Zellen herum zu verlaufen; so sind die meisten der letzteren von Schichten von Fibrillen umgeben, die mehr oder weniger in allen Richtungen konzentrisch um die Zelle laufen, indem sie gleichsam ein Nest<sup>1)</sup> aus filzig angeordneten Fibrillen bilden.

<sup>1)</sup> Hammar bildet Nester von dicken, starren Fibrillen aus der oberflächlichen Schicht des Gelenkknorpels ab. Wenn ich später zur Besprechung

Aber nicht nur um die einzelnen Zellen, sondern auch um die grösseren oder kleineren Zellengruppen wiederholt sich dasselbe in verschieden ausgeprägtem Masse<sup>1)</sup>, und indem zugleich ein fortwährender Austausch von Fibrillen stattfindet, die, wie es sich treffen kann, von der einen Stelle nach einer anderen hinüberkreuzen, erhalten wir durchweg einen mehr oder weniger bogigen Hauptverlauf der Fibrillen in der Nähe der Zellen und der kleineren Gruppen, einen mehr gestreckten Verlauf in den grösseren Zwischenräumen in grösserer Entfernung von den Zellen und den Gruppen. Wo die Zellen und namentlich die Zellengruppen langgestreckt sind, werden natürlich auch die Strecken, in denen die Fibrillen relativ gestreckt verlaufen können, relativ länger und mehr augenfällig; ebenso ist der gestreckte Verlauf häufig, indes weniger auffallend, da zu finden, wo die Fibrillen grössere zellenlose Zwischenräume durchkreuzen.

Eine andere Hauptregel ausser der Konzentrität um die Zellen, sich zum Teil aber mit dieser deckend, wird nun die, dass die Bindegewebsfibrillen des Knorpels auch die Neigung haben, parallel zur Längsachse und zu den grössten Flächen der Zellen und der Zellengruppen zu verlaufen. Auf diese Weise entstehen, wie sich leicht denken lässt, die oben genannten verschiedenen Hauptrichtungen des Verlaufes der Fibrillen in den peripheren und den tieferen Gegenden der Knorpel.

In den grösseren zellenlosen Zwischenräumen, wo wir bekanntlich Prädilektionsstellen der Entwicklung der

---

der Entwicklung des Bindegewebes komme, werde ich zeigen, wie solche Bilder, die ich selbst an vielen anderen Orten gefunden habe, nur spezielle Formen einer im Knorpel sehr gewöhnlichen Form der Bindegewebsentwicklung sind; sie illustrieren aber insofern die genannte Neigung zur konzentrierten Anordnung.

1) Vgl. hiermit die geschichteten Kapseln mit konzentrischen kollagenen Schichten um sich herum.



dickeren Knorpelfibrillen haben (zu denen die bekannten dicken, starren Asbestfibrillen als Unterabteilung gehören), können die Fibrillen dann und wann (ebenso wie die dünnen Fibrillen) als ein dichter Filz von „dicken, starren, spitzen“ Fibrillen liegen; sehr häufig, und rücksichtlich des eigentlichen Asbestes meistens, ist nur **eine einzige** Hauptrichtung an jeder solchen Lokalität vorherrschend, und eben hierdurch entsteht ja das makro- und mikroskopisch so charakteristische Äussere, das dieser „Asbestbildung“ den Namen gegeben hat. Wo die Asbestbildung, die bekanntlich oft, bei weitem aber nicht immer, mit der Zerstörung eines Teiles der Zellen im betreffenden Abschnitte der Grundsubstanz Hand in Hand geht, sehr stark auftritt, treten die dünneren Fibrillen zurück, das Kollagen wird entweder aufgelöst und aufs neue zu dickeren starren Fibrillen formiert, oder die dünneren Fibrillen werden umgeordnet und mehr parallel gelagert und schliessen sich zu längeren oder kürzeren Asbestfibrillen aneinander; dass oft zu gewahren ist, wie diese aus äusserst feinen, dünnen Fibrillen zusammengesetzt sind, bemerkte ich schon oben<sup>1)</sup>. Es giebt überhaupt eine grosse Mannigfaltigkeit von Übergängen, und die Bilder, die man er-

---

1) Wo der Asbest und wo überhaupt eine bestimmte Orientierung der Fibrillen herrscht, wird das nähere Verhalten der Fibrillen zu den Zellengruppen und den Zellen natürlich ein weniger ausgesprochenes, tritt resp. ganz in den Hintergrund. Die filzige Anordnung der Fibrillen, die an und für sich einen gewissen Zusammenhang bedingt (z. B. dem Zusammenhang des „Watte“filzes analog), verschwindet (ganz so, wie man Baumwolle zu parallelen Bündeln auskämmen kann), und hierdurch wird die Kohäsion in gewissen Richtungen der Grundsubstanz vermindert, was sich im Knorpel als die Neigung zum Spalten in bestimmten Richtungen bei mechanischen Eingriffen zeigt und zu „blätterigen“ oder parallelfaserigem „Bruche“ der Knorpel führt. Am meisten zu dieser stark parallelfaserigen Anordnung prädisponiert ist die Knorpelgrundsubstanz der mit Perichondrium bekleideten Knorpel, z. B. der Rippenknorpel und des Laryngo-Trachealknorpels in ihren tieferen, resp. tiefsten Teilen, während die mehr peripheren Teile viel seltener „Asbestbildung oder Neigung zur besprochenen Parallelfaserung“ zeigen.

hält, zeigen reiche Variationen, welche sich im grossen und ganzen freilich den genannten allgemeinen Hauptregeln für die Richtung der Fibrillen unterordnen lassen, uns aber zugleich beim eingehenden Studium dieser Verhältnisse wichtige Aufschlüsse über die feineren histiologischen Verhältnisse und über die Entwicklungsprozesse der Bindegewebssubstanzen geben.

Auch hier beim Verlaufe der Fibrillen in den Knorpeln erhält man durch ausgedehnte und detaillierte Untersuchung deutliche Beweise für das früher von mir hervorgehobene Verhalten, dass die histiologischen Strukturen und ihre mikroskopisch-anatomische Anordnung im Knorpelgewebe das Kompromiss zwischen mehreren Prinzipien und eine Resultante teils der mechanischen Erfordernisse des Organs, teils der eigenen eigentümlichen Wachstums-, Entwicklungs- und Stoffwechselverhältnisse des „lebenden“ Gewebes sind, in die wir hier im Knorpelgewebe in grösserem Umfang als an den meisten anderen Orten einen partiellen, wenn bis jetzt auch nur sehr unvollständigen Einblick gewinnen können<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Was speziell die mechanischen Verhältnisse betrifft, so habe ich persönlich den Eindruck erhalten, dass die Rücksicht auf mechanische Forderungen für die, wenn man so will, halbwegs makroskopischen, „gröberen“ Verhältnisse bei der Verteilung der Elemente und die Dichte der „Stützsubstanzen“, speziell der Fibrillen, wesentlich entscheidend ist. Ebenso wie das mechanische Prinzip sich in den Knochen, im organisierten Knochengewebe, am klarsten in der Anordnung der Spongiosabalken und in ähnlichen gröberen Bauverhältnissen erweist, während die feineren Strukturverhältnisse von der eigenen eigentümlichen Struktur, dem Wachstum u. s. w. des Knochengewebes reden und gewisse Teile des Knochengewebes, z. B. der Inhalt der Spongiosamaschenräume, sowohl was die Osteoblastbekleidung mit der primären Bindegewebusbildung, als auch die Markzellen und den übrigen Markinhalt betrifft, erst in dritter oder vierter Reihe „mechanische Rücksichten“ zu nehmen haben, — ebenso geht es mit den Knorpeln: In den feineren Verhältnissen und in den in mechanischer Beziehung mehr indifferenten Räumen können die eigenen eigentümlichen „Lebensprozesse“ des Gewebes sich am deutlichsten und freiesten manifestieren, während ausserhalb derselben „mechanische Rücksichten genommen werden“, die wegen ihrer egalisierenden Gewalt wieder eine scheinbare „einfache Abhängigkeit vom mechanischen Prinzip“ simulieren können.

Die im Vorhergehenden geschilderten Verhältnisse sind die dem eigentlichen hyalinen Knorpel typischen. Zwischen diesen und dem gewöhnlichen Bindegewebe giebt es aber ja eine Menge von Übergängen. Als typisches Beispiel eines solchen Übergangs pflegt man die sogenannten Faserknorpel anzuführen, die ich hier natürlich nicht herzuzählen brauche; charakteristisch ist diesen ja teils der Umstand, dass die Bindegewebsfibrillen hier in grossem Umfang zu grösseren und kleineren Bündeln von echten Fibrillen gesammelt sind, teils, dass die „Zellen“ zwischen diesen Faserbündeln, an grossen Strecken wenigstens „Knorpelzellen“, d. h. eingekapselt und von einer „echten Knorpelkapsel“ umgeben sind, teils endlich, dass die Zwischensubstanz zwischen den Fibrillenbündeln ebenso wie diese selbst in hohem Masse chondroitinschwefelsäurehaltig, bezw. mit Chondroitinschwefelsäure verbunden und basophil ist. Alle chemischen Reaktionen, Farbenreaktionen u.s.w., die ich mit Bezug auf den hyalinen Knorpel schilderte, gelten auch für den Faserknorpel, ebenfalls lässt sich leicht nachweisen, dass die zwischen den Faserbündeln befindliche hyaline Zwischensubstanz teils maskiertes Kollagen enthält, teils echte „amorphe Kittsubstanz“ ist.

Zwischen dem typischen Faserknorpel und dem hyalinen Knorpel z. B. an den Epiphysen der Wirbelknorpel giebt es einen völlig sanften Übergang. Ähnliche Übergangsformen zwischen dem gewöhnlichen Bindegewebe und dem hyalinen Knorpel finden sich bekanntlich an den Grenzen zwischen den hyalinen Knorpeln und dem Perichondrium und im Gelenknorpel. Die Verhältnisse an diesen Übergangsstellen sind leicht zu verstehen, wenn man die Zusammensetzung der hyalinen Knorpelgrundsubstanz kennt, weshalb ich mich in dieser Beziehung nicht auf Einzelheiten einzulassen brauche.

Was hier vorgeht, ist ja teils die Imbibition des Bindegewebes mit Chondroitinschwefelsäureverbindungen wegen der

Fähigkeit zur Bildung dieser Stoffe, welche die Zellen haben oder erhalten, teils die im Vorhergehenden von mir hervor-gehobene „Hyalinisierung“ der Bindegewebsbündel, nicht nur dadurch, dass sie in eine Zwischensubstanz mit derselben Lichtbrechung eingelagert und somit rein optisch immer mehr maskiert werden, sondern auch durch den Umstand, dass die Faserbündel mehr oder weniger schnell in ihre dünneren und dünnsten einzelnen Fibrillen zersprengt werden. Wie schnell dies geschieht, bis wie weit in den Knorpel, d. h. in die chondroitinschwefelsäurehaltige und an ihren charakteristischen Lichtbrechungsverhältnissen und anderen histiologischen Merkmalen gewöhnlich ja leicht erkennbare<sup>1)</sup> Knorpelgrundsubstanz hinein man die Bindegewebsbündel zu verfolgen vermag, ist ja verschieden. Die Anordnung in Bündel weicht allmählich der Anordnung in Züge von Fibrillen, wie oben gesagt. In den ober-

1) „Wo man theoretisch die bestimmte Grenze zwischen Knorpel und Perichondrium oder Bindegewebe zu setzen hat, kann in vielen Fällen eigentlich schwer genug zu entscheiden sein. Praktisch hat diese Frage indes weniger Interesse. Gewissermassen hängt das davon ab, welche Definition man vom „Knorpelgewebe“ geben will. Mörner schlug vor, den Chondroitinschwefelsäuregehalt das für den Knorpel Charakteristische sein zu lassen dies konnte aber nur angehen, so lange man keine Chondroitinschwefelsäure in anderen Geweben nachgewiesen hatte und die Definition ist in histiologischer Beziehung eigentlich etwas misslich. Die Schwierigkeit liegt selbstverständlich, wie überall, darin, dass die Natur die für uns so bequemen und für die Beschreibungen so ziemlich notwendigen festen Rubrizierungen nicht anerkennt, sondern fortwährend neben den typischen Extremen Übergangsformationen darbietet. Allenfalls was die Bindegewebsgruppe betrifft, wird es täglich schwieriger, die konventionellen Unterabteilungen auseinander zu halten. Es ist ja leicht genug, die Typen in der Bindegewebsgruppe voneinander zu unterscheiden, und in den vielen Fällen, wo diese direkt aneinander grenzen, entstehen keine Schwierigkeiten; zu anderen Malen haben wir aber, wie im vorliegenden Falle, zwischen dem typischen Knorpelgewebe und den perichondralen Bindegeweben verschieden breite Übergangszonen. Ich pflege die Grenze zwischen dem Knorpel und dem Perichondrium da anzusetzen, wo das typische perichondrale Bindegewebe aufhört, was sich aus vielen verschiedenen Gründen als das Natürlichste erweist. Übrigens habe ich deshalb, wie leicht verständlich, wohlbedacht unterlassen, eine ausführliche Definition des Knorpelgewebes aufzustellen.“

flächlichen Schichten der Knorpel liegen die Fibrillenzüge, in welche die Bündel sich ganz oder zum Teil aufgelöst haben, mehr platt, parallel oder spitzwinkelig zur Oberfläche oder zu den grössten Flächen der Zellen (die Formen der Zellen in diesen Gegenden brauche ich selbstverständlich nicht wieder zu beschreiben). Die Züge kreuzen sich oft so, dass eine gewisse Lamellation (die mit der hypothetischen Lamellation der Grundsubstanz, welche z. B. Fleisch und andere zu finden geglaubt haben, nicht verglichen oder verwechselt werden darf) ist unverkennbar, besonders wenn wir mit grösseren Knorpeln oder mit Knorpeln nicht gar zu kleiner Tiere zu thun haben. Diese Lamellation erweist sich u. a. dadurch, dass die Hauptrichtungen der Fibrillenzüge sich in den aufeinander folgenden Schichten mehr oder weniger rechtwinkelig, indes in annähernd parallelen Flächen kreuzen. Innerhalb der einzelnen Schicht kreuzen die Fibrillenzüge sich aber mehr spitzwinkelig, indem die Züge in verschiedener Menge Fibrillen miteinander austauschen. Häufig kann man (an Flächenschnitten) sehen, dass die Fibrillen von dem mehr geraden Verlaufe in den Zügen abbiegen, sich einer Zelle anschliessen und gekrümmt um diese herum laufen, oder umgekehrt. Auch in senkrechter Richtung, also unter den „benachbarten Lamellen“, werden häufig Fibrillen ausgetauscht<sup>1)</sup>. Da die Richtung der Fibrillen übrigens ja stets mehr oder weniger spitzwinkelig zur Oberfläche steht, flechten die Fibrillenzüge in den peripheren Schichten des Knorpels sich

---

1) Die besprochene Lamellation in den peripheren Teilen des Knorpels erweist sich u. a. darin, dass man von der Oberfläche der Knorpel häufig grössere oder kleinere Fladen losreissen kann (vgl. übrigens Hultkrantz (110) Versuch, die Fibrillen- und Spaltrichtungen der Knorpel zu bestimmen). Diese Spaltbarkeit ist übrigens nicht nur vom Hauptverlaufe der Fibrillenrichtung abhängig (es zerreißen ja immer einige Fibrillen, die in die Tiefe gehen), sondern auch die Form, die Flächenausdehnung und die Anordnung der Zellen hat in vielen Fällen grosse Bedeutung für die Spaltrichtungen des Knorpels, was u. a. schon längst hinsichtlich der Zone der langgestreckten Zellen im Knorpel nachgewiesen worden ist (Henke).

in der That wie ein Bandgeflecht ineinander, also in platten Kurven zwischen den Zellen u. s. w. Wenn wir nach und nach tiefer in den Knorpel eindringen, bilden viele der Fibrillenzüge und der Fibrillen einen immer grösseren Winkel mit der Oberfläche des Knorpels, bis wir im Centrum oder in der Tiefe des Knorpels, wie oben erwähnt, einen zur Knorpelperipherie mehr rechtwinkligen Verlauf erhalten. An den Kanten und an den Spitzen des Knorpels, indes auch an anderen Stellen, z. B. an der sogenannten „Encoche d'ossification“ (Ranvier) im Epiphyseknorpel findet man häufig Fibrillenbündel und Fibrillenzüge, die sogleich mehr steil ansteigen.

Hervorzuheben ist, dass die Richtung der Fibrillen um die eigentlichen Gefässkanäle des Knorpels herum mit dem Umkreis des Kanals wesentlich konzentrisch ist<sup>1)</sup>, natürlich unter hinlänglicher Bezugnahme auf die Anordnung der Zellen u. s. w., was ich hier nicht zu wiederholen brauche. Was die Übergangsformationen zwischen hyalinem Knorpel, Faserknorpel und eigentlichem Bindegewebe betrifft, bietet der Gelenkknorpel oft besonders interessante Verhältnisse dar. Als ein bekanntes Beispiel nannte ich vorher den Discus intervertebralis, auch die anderen Gelenkknorpel sind aber sehr interessante und aufklärende Studienobjekte; einige meiner Resultate in dieser Beziehung werde ich anderswo mitteilen. Hier muss ich mich mit einigen kurzen Bemerkungen begnügen.

Einige der Gelenkknorpel sind typisch hyaline Knorpel und bieten prinzipiell keine grösseren Differenzen von z. B. echten perichondriumbekleideten Hyalinknorpeln dar. Besonders bei kleinen Tieren sind die meisten Gelenkknorpel und Epiphyseknorpel fast durchweg echt hyalin (die weniger bedeutenden

---

<sup>1)</sup> Dies ist mit Hilfe der angeführten Methoden leicht zu ersehen, wie auch, dass Renauts Trabekelwerk und andere ähnliche Pseudostrukturen und Pseudofibrillen senkrecht zur Richtung der echten Fibrillen verlaufen oder dieselbe kreuzen.

Übergangszonen ins Bindegewebe ausgenommen). Auch hinsichtlich der Gelenkflächen finden sich in diesen Fällen eigentlich keine besonders auffallenden Abweichungen. Man findet geringere Basophilie, resp. grössere Acidophilie der Grundsubstanz in der Oberfläche der Gelenke, oft eine etwas mehr hervortretende Fibrillierung (die einige Autoren veranlasst hat, von einer Art Perichondrium an der Gelenkoberfläche<sup>1)</sup> zu reden) in den oberflächlichsten Schichten u. s. w. Anders verhält es sich dagegen mit den Gelenkknorpeln grosser Tiere. Ausser dem hier stark hervortretenden Einflusse der mechanischen Verhältnisse auf die Struktur des Knorpels finden wir auch in allgemeiner histologischer Beziehung äusserst interessante Verhältnisse. Unter anderem machen die mächtigen Übergangsformationen zwischen dem hyalinen Knorpel und den Bindegewebsbildungen der Gelenkkapsel die Untersuchung dieser Gegenden so lehrreich; auch auf andere Weise, z. B. wegen ihrer relativ stark hervortretenden Fibrillierung, wegen des Verhaltens der Zellen und dergl. haben viele der Gelenkknorpel spezielles Interesse. Ich kann in dieser Beziehung auf Hammers oft citierte Abhandlung verweisen, die gewiss weitaus die beste und interessanteste Arbeit über die mikroskopische Anatomie des Gelenkknorpels und der Gelenke ist, welche die jüngere und die jüngste Zeit hervorgebracht haben.

---

<sup>1)</sup> Ich selbst habe übrigens an Gelenkknorpeln kleiner Tiere, z. B. Salamander, Triton, Frosch und kleinerer Säugetiere, Maus, Ratte, wo die mechanische Abnutzung der Knorpeloberfläche (im Gegensatz zu den Gelenken grosser Tiere) offenbar eine relativ geringe ist, bemerkt, dass an grösseren Strecken der Oberfläche gleichsam eine ganz dünne Membrana vitrea aus verdichtetem Bindegewebe gefunden werden konnte, wo die Fibrillierung entweder ziemlich undeutlich war oder sich gar nicht gewahren liess. Die Zellen in den oberflächlichen Schichten der Gelenke solcher kleinen Tiere sind in der Regel auch weniger abgeplattet als bei grösseren Tieren.

### C. Das Verhalten der „Knorpelzellen“ zu der Grundsubstanz, der „Kapsel“, zu Zellverästelungen und Anastomosen.

Indem ich mir vorbehalte, in einem anderen Artikel mehrere hierher gehörende Fragen etwas ausführlicher zu besprechen, werde ich an diesem Orte einige Bemerkungen über die Knorpelzellen und ihr Verhalten zur Knorpelgrundsubstanz machen. Wie mehrmals früher auf meine vorläufigen Mitteilungen über die Entwicklung der Knorpelgrundsubstanzen in Betreff gewisser theoretisch wichtiger Verhältnisse zwischen den „Zellen“ und den „Grundsubstanzen“ verweisend, hebe ich nur hervor, dass wir dasjenige des Knorpels, was wir gewöhnlich „Knorpelzellen“ nennen, als ein Endoplasma zu betrachten haben, während die Grundsubstanz der echten hyalinen Knorpel eventuell als ein **gemeinschaftliches** und mit Bezug auf das Endoplasma mehr oder weniger selbständiges Ektoplasma aufzufassen ist. In solchen Knorpeln wie dem Faserknorpel und anderen Übergangsformationen lässt sich die Richtigkeit dieser Auffassung klar demonstrieren, die zugleich das Verhalten der „Grundsubstanzen“ zu den „Zellen“ erhellt. Eine scharfe Sonderung in „Protoplasma“, „Zellkörper“ und Grundsubstanzen lässt sich in vielen Fällen unmöglich aufrecht erhalten oder nachweisen. Ob man sagt, die „Zelle“ „scheide“ an ihrer Oberfläche Grundsubstanz „aus“ oder „bilde“ solche, oder ob man sagt, die peripheren Protoplasmaschichten „verwandelten“ sich in Grundsubstanz oder in ein Vorstadium derselben, so bleibt die Thatsache doch die, dass in einer grossen Menge von Fällen irgendwo ein mehr oder weniger umfangreicher, oft direkt nachweisbarer Übergang aus „Protoplasma“ in Grundsubstanz angetroffen wird. In einigen Fällen gewahren wir mit unseren jetzigen Hilfsmitteln keinen Übergang, vielleicht weil



er überhaupt nicht oder zur Zeit der Untersuchung nicht existiert, oder auch weil er sich einstweilen unserem Nachweise entzieht, in anderen Fällen ist es bei sorgfältiger, ohne vorhergefasste Meinung, eventuell mit neuen Hilfsmitteln angestellter Untersuchung möglich, sowohl einen Unterschied zwischen z. B. den mehr peripheren „Protoplasmaschichten“ und den näher an dem Kerne gelegenen Schichten, wie auch einen Übergang zwischen den peripheren Schichten der Zelle und den innersten Schichten der Grundsubstanz oder den direkten Zusammenhang des Protoplasmas oder gewisser echter Protoplasmabestandteile (z. B. der Filarsubstanz) mit gewissen Elementen der Grundsubstanz, z. B. den Bindegewebs- und den elastischen Fibrillen, zu konstatieren. Eine prinzipielle, theoretische, scharfe Sonderung der Bindegewebsgruppen in Zellen und Grundsubstanz lässt sich nur auf künstliche Weise und indem man den Thatsachen Gewalt anthut, aufstellen; ausser anderen Misslichkeiten (z. B. der Unmöglichkeit, die beiden Begriffe bestimmt zu definieren) besitzt sie auch die, dass sie das Verständnis einer Menge verschiedener histologischer Verhältnisse erschwert. Etwas ganz anderes ist es, dass man aus praktischen Gründen gewisse Teile des Gewebes als Protoplasma oder als mehr protoplasmatisch, andere als „Zwischensubstanzen“, „Grundsubstanzen“, geformte oder ungeformte, rubrizieren kann und muss, nur darf man diesen Rubriken oder Schemata nie eine absolute Gültigkeit beilegen, die ihnen nicht gebührt. Ich werde mich natürlich nicht auf die Frage einlassen, woran man das Protoplasma zu erkennen habe, da ich selbstverständlich voraussetzen kann, dass alle Histiologen so ziemlich darin einig sind, was man in praktischem Sinne unter einer Zelle versteht (von Grawitz „Schlummerzellen“ und ähnlichen problematischen Existenzen abgesehen), nämlich einen Kern und einen Zellkörper, d. h. ein um den Kern liegendes, sehr zusammengesetztes Gemisch verschiedener Stoffe, das

grösseren oder geringeren Umfang hat, sehr verschiedene Eigenschaften, Form und Struktur besitzt und zuweilen, praktisch genommen, von den Umgebungen deutlich abgegrenzt ist, zuweilen aber auch nicht. Die Zelle ist besser am Kern als am „Protoplasma“ zu erkennen. — Der Grenzbegriff des „Ektoplasmas“ ist ein zweckmässiger, weil er sich gebrauchen lässt, um die Übergangsstadien zu subsummieren, die Übergangsformen zwischen den Gewebsbestandteilen, die von allen als typische, echte Grundsubstanzen betrachtet werden, wie z. B. die Bindegewebsfibrillen u. s. w. und die um die „Kerne“ herum liegenden Teile, die wohl alle Histiologen ebenso einstimmig als „Protoplasma“ zu den Zellen als jedenfalls einen unzweifelhaften Teil des „Zellkörpers“ ausmachend, zählen werden. Zuweilen schliesst das „Ektoplasma“ sich, wenigstens mit sehr bedeutenden Teilen, dem Protoplasma, dem Endoplasma inniger an, hängt eng mit diesem zusammen oder behält z. B. die (eventuell ursprünglichere) Form der Zelle, lässt sich durch einfache und wenig eingreifende Mittel (z. B. Zupfen, leichte Maceration in relativ „indifferenten“ Flüssigkeiten und 0,7% Kochsalzlösung, Serum, Humor aqueus u. s. w.) leicht im Verein mit dem Endoplasma aus der typischen Grundsubstanz und ähnlichen Substanzen isolieren, obschon sich zugleich unverkennbare Spuren des Zusammenhanges mit diesen gewahren lassen. Zuweilen hängt das Ektoplasma mit den „Grundsubstanzen“ inniger zusammen als mit dem Endoplasma, das sich vielleicht vom Ektoplasma leicht retrahiert, d. h. der Übergang, die vermittelnde Schicht ist schwächer, zerreisst leicht u. s. w. Gewisse hervortretende chemische Bestandteile hat das Ektoplasma vielleicht vorwiegend mit entweder den Grundsubstanzen oder dem „Endoplasma“ gemein, und hieraus resultiert dann sein in den einzelnen Fällen variierendes Verhalten gegen Reagentien und seine grössere oder geringere Ähnlichkeit in einer oder mehreren Beziehungen mit den respektiven Extremen

(der Grundsubstanz und dem Endoplasma)<sup>1)</sup>. Das Ektoplasma ist ein Grenzbegriff der Übergangsformationen, und hieraus folgt zugleich, dass es sich selbst widersprechen würde, wollte man demselben Grenzen abstecken. Ein anderes ist, dass es in der Praxis häufig sehr wohl möglich wird, zu sagen: hier oder da haben wir eine breitere oder schmalere Grenzzone, eventuell Grenzfläche, oder eine „Solutio continui“; an jeder Seite derselben liegt etwas, das sich am zweckmässigsten als Endoplasma und Ektoplasma oder als letzteres mit der eigentlichen Zwischensubstanz, Grundsubstanz, auffassen lässt. Selbstverständlich steht dem aber nicht das Geringste im Wege, dass das Ektoplasma selbst in seinen verschiedenen Abschnitten solche chemischen und strukturellen Differenzen zeigen kann (z. B. Schichtung), dass gewisse chemische oder mechanische Einwirkungen und auch „vitale Prozesse“ während des Wachstums und der Entwicklung des Gewebes gelegentlich einer Sonderung im Ektoplasma selbst hervorbringen<sup>2)</sup>.

Dass während des Wachstums und der Entwicklung der Gewebe und während des ganzen späteren Lebens zwischen ekto- und endoplasmatischen Bildungen und deren Verhalten zur Grundsubstanzbildung<sup>3)</sup> vielfache Verschiebungen und variierende Verhältnisse, auch in genetischer Beziehung, stattfinden, habe ich anderswo erwähnt und nachgewiesen. Ebenfalls brauche ich wohl nur daran zu erinnern, dass man, weil der Begriff

---

1) Als ein Paar Beispiele nenne ich hier die völlig entwickelten „Sehnenzellen, Häutchenzellen“, wo das platte oder verästelte Ektoplasma innig mit der „protoplasmatischen“ („körnigen“), kernhaltigen mittleren Gegend, dem Endoplasma, zusammenhängt, und andererseits die Knorpelzellen vieler hyalinen Knorpel, wo das Endoplasma sich leicht von den innersten Schichten des Ektoplasmas retrahiert.

2) Beispiele finden sich genug in der Entwicklung der Intercellularsubstanzen, Grundsubstanzen, wo die gebildeten Elemente-Fibrillen etc. immer selbständiger werden.

3) Gewisse Grundsubstanzen werden bald aus Ektoplasma, bald aus Endoplasma, bald aus beiden zugleich gebildet.

des Ektoplasmas gerade gebraucht wurde, um den prinzipiellen Zusammenhang zwischen Zelle und Grundsubstanz zu pointieren, je nachdem es für die Darstellung gewisser Strukturen und Lebensprozesse der Gewebe und für das Verständnis von deren Bedeutung zweckmässig erscheint, das Ektoplasma entweder in weiterem Sinne nehmen kann, als eventuell auch die typischen, relativ sehr selbständigen Grundsubstanzbildungen umfassend, oder dass man das Gebiet desselben auf gewisse, von dem eigentlichen centralen, perinuklearen<sup>1)</sup> „Endoplasma“ mehr oder weniger verschiedene periphere Schichten der „Zelle“ begrenzen kann, wenn zwischen diesen Teilen ein innigerer Zusammenhang vorhanden ist; oder umgekehrt, wo dieser Zusammenhang weniger stark ist, können die innersten Schichten der „Grundsubstanz“ als Ektoplasma im engeren Sinne betrachtet werden, indem sie wegen ihrer Anordnung und wegen verschiedener Eigenschaften, eventuell wegen ihrer relativ guten Abgrenzung von der übrigen Grundsubstanz, in engerer Beziehung zum Endoplasma stehen.

Die Untersuchungen, auf die ich meine oben angeführte Ansicht von der Zelle und der Grundsubstanz begründe, habe ich früher in Kürze dargestellt. Ebendaselbst hob ich kurz hervor und gab ich einige „Beweise“ dafür, dass die sogenannten Grundsubstanzen als lebend zu betrachten sind, ebensowohl als die Zellen, d. h. dass sie innerhalb gewisser Grenzen von den Zellen, dem Endoplasma unabhängig eine „formative“ Thätigkeit entfalten können. In dieser Beziehung trete ich (von einzelnen, weniger wesentlichen Differenzen abgesehen) völlig den von W. Flemming (63) gegen Weigert (290) aufgestellten Ansichten bei.

Unter den Fragen nach dem Verhalten der Knorpelgrund-

---

1) Renaut gebraucht die Benennungen Ekto- und Endoplasma in anderem Sinne als ich.

substanz zu den „Zellen“ war die Frage von der sogenannten Knorpelzellkapsel bekanntlich eine der am eifrigsten debattierten. Ich kann mich auf eine ausführliche geschichtliche Diskussion des Begriffes der „Kapsel“ nicht einlassen und bringe nur in Erinnerung, dass derselbe eben mit dem Problem der Zelle, mit dem, was wir als zum Begriffe der Zelle gehörend aufzufassen haben, in engem Zusammenhang steht. Die den Cellulosemembranen der Pflanzenzellen analogen Bildungen, die Th. Schwann (226) gerade im Knorpel durch die „Knorpelkapseln“ repräsentiert fand, werden von mehreren Histologen noch als zur Knorpelzelle selbst gehörend betrachtet, so z. B. von Koelliker (119), der insoweit sprachlich richtiger zwischen „Protoblasten“ und „Zellen“ unterscheidet. Erstere entsprechen dem, was man jetzt gewöhnlich „nackte“ Zellen, Protoplasma<sup>1)</sup>, nennt, letztere hingegen haben zugleich eine äussere Membran, als eine distinkte Bildung, und nur, wenn das Protoblast auf diese Weise in einer eigentlichen „Cellula“ liegt, nennt Koelliker es eine Zelle. Dass die meisten Histologen der Gegenwart gewöhnlich keine solche Unterscheidung in der zoologischen Histologie anwenden, ist ja bekannt. Man spricht von Zellen, einerlei, ob sie eine eigene Membran haben<sup>2)</sup> oder nicht. Koellikers Protoblaste des Knorpels entsprechen dem, was ich die „Knorpelzellen“ oder eigentlich Endoplasma nenne.

Es ist nun ja eine bekannte Sache, dass man in vielen verschiedenen Knorpeln, z. B. in dem so häufig zur Demonstration eines typischen, einfachen, hyalinen Knorpels gebrauchten Caput femoris von Amphibien die Knorpelzelle<sup>3)</sup>, d. h. das Endo-

---

1) Vgl. Max Schultze (223).

2) Vgl. auch hinsichtlich einer Nomenklatur, die indes nicht gebraucht wird: F. E. Schultze (220): Zellmembran, Pellicula, Cuticula und Crusta.

3) Siehe z. B. die typischen Abbildungen von Knorpelschnitten (ohne Zusatz) bei Ranvier (183), Fig. 96–97. S. 234.

plasma (sowohl in lebendem Zustande als nach Zusatz von Reagentien), ganz von einer deutlichen, dünneren oder dickeren „Kapsel“ umgeben findet, die gewöhnlich überall gleich dick und stärker lichtbrechend als die übrige Grundsubstanz ist, so dass man eine „doppelte Kontur“ erblickt, sowohl eine innere nach der Zelle (dem Endoplasma) hin als eine äussere, welche die Kapsel anscheinend von der Grundsubstanz trennt. In anderen Knorpeln ist nur zuinnerst um die Zellen herum eine stärker lichtbrechende „Kapselschicht“, die indes nicht durch eine solche deutliche Kontur oder Grenze von der Grundsubstanz getrennt zu sein braucht, in welche sie überzugehen scheint, und an anderen Stellen sieht man thatsächlich gar keine Kapsel oder abweichend lichtbrechende Schicht unmittelbar um die Zellen<sup>1)</sup>, oder auch fehlt die „Kapsel“ an einem Teile der Peripherie der Zellen u. s. w.

Diese verschiedenen Stufen können übrigens sehr wohl in demselben Knorpel nebeneinander angetroffen werden. Dass man häufig mehrschichtige Kapseln gewahren kann, d. h. solche, die aus abwechselnd stärker und schwächer lichtbrechenden Schichten von verschiedener Dicke um die Zellen bestehen, und dass mehrere „Tochterzellen“, jede mit oder ohne ihre besondere Kapsel, von einer gemeinschaftlichen „Mutterkapsel“<sup>2)</sup>, die zusammengesetzt oder nicht zusammengesetzt u. s. w. ist, umschlossen sein können, brauche ich nur in Kürze zu erwähnen, wie auch den Übergang aus den Kapseln in Mörnerns „Chondrinballen“ und in Hammars „Aussen- und Innenkapsel“ und „formlose Substanz“. Die Deutungen, die man auf Grundlage dieser Bilder zu verschiedenen Zeiten rücksichtlich des Verhaltens zwischen „Zelle“ und „Grundsubstanz“

---

1) Ausser in anderen Knorpeln fehlt eine eigentlich abgegrenzte „Kapselschicht“ z. B. in vielen jüngeren fötalen Knorpeln.

2) Ein Bild, das man auch dem ursprünglichen Sprachgebrauche gemäss eine Mutterzelle genannt hat, welche Tochterzellen umschliesst.

aufgestellt hat, sind sehr verschiedenartig. Man hat behauptet, die gesamte Knorpelgrundsubstanz bestehe in der That aus den miteinander verschmolzenen Knorpelkapseln<sup>1)</sup>, und es gäbe mithin eigentlich keine Intercellularsubstanz im Knorpel. Eine andere Ansicht behauptete gerade das Gegenteil; die gesamte Knorpelgrundsubstanz mit Einschluss der Zellkapseln sei Intercellularsubstanz, und endlich hat man, wie z. B. Koelliker (im Handbuch der Gewebelehre, 6. Auflage, Bd. I, § 31, und in früheren Artikeln), die Knorpelkapseln mit zu den Zellen gerechnet, so dass die eigentliche Intercellularsubstanz, die Knorpelgrundsubstanz, an der äusseren Seite oder ausserhalb der Zellkapseln ausgeschieden werde, die dasselbe seien wie die Zellmembranen, und diese könnten sich entweder erhalten oder eventuell zugleich (wie es mit den geschichteten Kapseln und mit den Mutter- und Tochterkapseln geschehe) durch Ablagerungen an der inneren Seite verdickt werden. Bekanntlich nehmen Koelliker und andere Histiologen an, es gäbe „Knorpel“, die keine eigentliche Intercellularsubstanz hätten, deshalb die Benennung „Zellenknorpel“, wo das Gewebe aber nur aus den Protoblasten nebst deren Membranen bestehe, nach Koellikers eigener Nomenklatur also allein aus „Zellen“.

<sup>1)</sup> So fasste Remak (191) die Knorpelsubstanz als eine intracelluläre Bildung, verschmolzene „Parietalsubstanz“ auf, die von der Zelle (eigentlich vom „Primordialschlauch“) innerhalb der Zellmembran abgelagert werde, welche wenigstens längere Zeit hindurch um die zuerst abgelagerte Knorpelmasse persistieren bleibe und eventuell Tochterzellen umschliesse, zwischen deren eigener, innerhalb der ursprünglichen Mutterzellmembran neugebildeter und von dieser unabhängiger Membran und dem „Primordialschlauch“ ebenfalls Parietalsubstanz — Knorpelmasse abgelagert sei.

Bekannt sind ja Fürstenbergs und Heidenhains Ansichten von der Zusammensetzung der Knorpelgrundsubstanz aus „Zellenterritorien“. Vgl. hierüber und über Landois' prätiendierte Fuchsinfärbung der Zellenterritorien meine früheren Bemerkungen. — Max Schultzes Ansicht zufolge müssten die Knorpelgrundsubstanz und überhaupt andere „Intercellularsubstanzen“ aus den umgebildeten peripheren Zellschichten entstanden sein; dagegen behauptet M. Schultze nicht die Zusammensetzung der Knorpelgrundsubstanz aus Zellenterritorien in dem Sinne, wie die anderen Autoren diesen Begriff auffassten.

So nennt Koelliker (l. c. S. 111): Chorda dorsalis von Embryonen und vielen ausgewachsenen Fischen, ferner viele fötale Knorpel von Wirbeltieren, zum Teil die Knorpel der Myxinoiden, ebenfalls zum Teil den Knorpel in den Kiemblättern der Fische, den Knorpel in der Achillessehne des Frosches, im äusseren Ohre vieler Säugetiere, ausserdem mehrere andere Knorpel (von Geryonien, Anneliden, Cephalophoren und von Limulus, mit welchen letzten Abteilungen ich mich nicht beschäftigt habe). Über diese Auffassung der Zellmembran und der Knorpelkapsel äussert Gegenbaur<sup>1)</sup> (76) sich u. a. mit Bezug auf den Begriff des „Zellknorpels“ folgendermassen: „Bei der Prüfung solcher Knorpelformen kann man sich nur darüber wundern, dass über die Beziehungen der Grundsubstanz des Knorpels die Gewebelehre es noch nicht zu einer übereinstimmenden Auffassung gebracht hat. Der Streit darüber, ob die geschichteten Formen der Grundsubstanz zu den Zellen selbst gehören, oder ob sie nur eine von der Zelle unabhängige Grundsubstanz seien, verliert gänzlich seine Spitze, sobald man weniger die formellen Zustände jener Substanz, als die Beziehungen zur Knorpelzelle ins Auge fasst<sup>2)</sup>. In dieser Hinsicht sind beide Formzustände gleich, beiderlei Grundsubstanzen sind intercelluläre, d. h. von der Zelle<sup>3)</sup> oder von den Zellen abgesonderte und haben im einen Falle ebenso wenig mit dem Organismus der Zelle zu schaffen als im anderen. Die Verschiedenheit ist eine rein quantitative, in Beziehung auf die Kohärenz der abgesonderten Schichten, oder vielleicht auf die Zeitfolge der Schichtenabsetzung. Wo die Abscheidung kontinuierlich und in gleichartigem Materiale vor sich geht, wird die Intercellulärsubstanz homogen erscheinen; wo sie

---

1) Besonders S. 12. Anm.

2) Von mir hervorgehoben.

3) Also vom „Endoplasma“, dem eigentlichen Protoplasma, von Koellikers Protoblast.



in einzelnen Folgen statt hat, wird die Lamellenbildung<sup>1)</sup> der Ausdruck dieses Vorganges sein müssen. Freilich ist bei alledem nötig, dass man über das, was man als „Zellmembran“ zu fassen habe, im reinen sei, und man darf von der Zelle getrennte, abgeschiedene Schichten nicht als Zellmembranen ansehen<sup>2)</sup>. Darin scheint Koelliker zu fehlen, wenn er, wie in seinen „neuen Untersuchungen über die Entwicklung des Bindegewebes“ die Knorpelzellen als „primordiale Zellen“ mit sekundären Zellmembranen ansieht<sup>3)</sup> und die Knorpelkapsel für einen Teil der Zelle erklärt. In statu nascendi mag dies gehen, denn es ist ein Zustand denkbar (ja er muss existieren), in welchem das Protoplasma der Zelle an seiner Oberfläche mit der von letzterer sich abscheidenden Substanz in Verbindung ist, allein in dem, was als schon gebildete „Knorpelkapsel“ erscheint, ist gar nichts vorhanden, was veranlassen könnte, sie in einem engeren Konnex zur Zelle zu setzen als jede andere Intercellularsubstanz“.

Koellikers Gründe scheinen Gegenbaur nicht überzeugend, einen derselben benutzt er sogar zur Widerlegung. Es heisst weiter: „Es wird da gesagt, dass der Zellknorpel verschiedener Tiere nur aus Zellen ohne Grundsubstanz bestehe. Hier kann man fragen, weshalb denn jenes Gewebe als Knorpel bezeichnet werde, wenn die Intercellularsubstanz fehlt! Oder müssen die um die Zellen jenes Gewebes liegenden „Kapseln“ doch als Intercellularsubstanz gelten, damit das Gewebe sich in die Reihe der Bindesubstanzen füge, dann können die „Kapseln“ aber nicht „sekundäre Zellmembranen“ und zur Zelle gehörige Teile sein. Auch wenn bei embryonalen Knorpelzellen die „Kapseln“ früher auftreten als die Grundsubstanz, so brauchen

---

1) d. h. die Schichtung der Kapseln.

2) Von mir hervorgehoben.

3) Ja, denn das ist eine ganz willkürliche Definition.

sie deshalb doch nichts anderes zu sein als abgesonderte Inter-cellularsubstanz.“

Dass die Kapseln als eine besondere Schicht um die Zellen bestehen blieben, und dass die Grundsubstanz sich erst jenseits der Kapsel bilde, ist eine rein hypothetische Ansicht.

„Thatsächlich ist daran nur, dass bei wachsendem<sup>1)</sup> Hyalinknorpel um die Zellen kapselartige Lagen sich finden, und dass ausserhalb dieser homogene Grundsubstanz liegt<sup>2)</sup>. Daraus folgt aber noch lange nicht, dass dieselben Kapseln, die an der jüngsten Knorpelform sich finden, fortauern und nach aussen hin Grundsubstanz absondern, denn ebenso gut können sie untergehen, sich in die homogene Grundsubstanz auflösen, nachdem der Platz um die Zelle durch neue „Kapseln“ erfüllt ist.“

„Doch kehren wir zur Thatsache zurück, zu jener nämlich, dass die Knorpelkapseln ausserhalb der Zellen liegen. Nennen wir nun alles, was im Gewebe ausserhalb von Zellen sich findet, Inter-cellularsubstanz oder Grundsubstanz, so müssen auch die Knorpelkapseln zu dieser Substanz gerechnet werden.“

Gegenbaurs Kritik des Kapselbegriffes ist völlig berechtigt, nicht so sehr gegen Koelliker<sup>3)</sup> als im allgemeinen gegen die übertriebene Bedeutung, die man den „Kapselbildungen“ im Knorpel beigelegt hat, was seine Erklärung wohl ebenso sehr

---

1) Und in vielen Fällen auch in ausgewachsenem Knorpel.

2) Von mir hervorgehoben.

3) Dieser hebt selbst hervor, dass die Differenz zwischen ihm und Gegenbaur zum Teil ein Unterschied der Wörter sei. Die Sache ist die, dass auch Koellikers vermittelnder Standpunkt zwischen den beiden anderen, extremen Ansichten nicht haltbar ist, denn sowohl die extra- als die intrakapsularen Ablagerungen sind Knorpelsubstanz. Die Kapselbildung ist thatsächlich nur eine sehr leicht auffallende Erscheinung, hat aber gar keine prinzipielle Bedeutung. — Eine Einteilung, die auf hervortretende Weise dieses mehr accessorische strukturelle Verhalten zu Grunde legt, wird deshalb immer wieder mit der Wirklichkeit in Konflikt geraten, und die verschiedenen Thatsachen lassen sich häufig gar nicht oder nur auf gezwungene Weise in den Rahmen einfügen.

in geschichtlichen als in sachlichen Gründen findet. In mehreren Beziehungen kann ich natürlich nicht ganz mit Gegenbaur einig sein, so z. B. nicht über die ausschliessliche Entstehung der Grundsubstanz aus den Zellen, sonst scheinen mir seine Bemerkungen aber treffend zu sein, weshalb ich sie gerade in extenso angeführt habe. Was den Zellknorpel betrifft, so ist auch Koellikers Auffassung dieses Begriffes nicht haltbar, was in der jüngsten Zeit übrigens wohl immer mehr anerkannt wird. Unter dieser Abteilung hat man gewiss ziemlich ungleichartige Gewebe zusammengefasst, teils wirkliche Knorpel<sup>1)</sup> (wenn auch nicht ausschliesslich hyaline Knorpel), in denen eine genauere Untersuchung Knorpelgrundsubstanz, obschon in geringerer Menge, nachzuweisen vermag, nur dass die „Kapselbildung“ wegen des grossen Reichtums an Zellen dominiert und mehr auffällt als in gewöhnlichem Knorpel, teils Gewebe wie die Chorda dorsalis, die in ihrer typischen Form wohl nichts mit dem Knorpel zu schaffen hat, sondern lieber (nach v. Ebners<sup>2)</sup> Untersuchungen) als ein Gewebe sui generis mit stark entwickelten Zellmembranen aufzufassen ist, obschon die Möglichkeit einer Knorpelmetamorphose in gewissen Stadien sich nicht ausschliessen lässt. Was meine Ansicht von dem eigentümlichen „Knorpel“ in der Achillessehne des Frosches<sup>3)</sup> betrifft, so betrachte ich die Zellen hier nicht als Knorpelzellen; dieselben zeichnen sich dadurch aus, dass sie eine sehr starke

---

1) Im Knorpel des äusseren Ohrs vieler Säugetiere, wie auch in verschiedenen Knorpeln der Myxinoiden und überhaupt der Cyklostome spielt wohl Albumoid in der Grundsubstanz eine grosse Rolle, so zwar, dass bei den Säugetieren das Elastin oder „Elastoid“ vorherrschend ist, bei den anderen Tieren dagegen ein mehr ungeformtes Albumoid, eine mehr unlösliche amorphe Grundsubstanz, die in vielen Fällen nicht basophil ist. Ich kann mich hier nicht auf die Untersuchungen anderer Forscher oder auf meine eigenen über die Knorpel dieser Formen einlassen.

2) V. v. Ebner (51 und 50).

3) Analoge Bildungen finden sich übrigens, so weit ich zu sehen vermochte, bei gewissen Fischen.

äussere Begrenzung, eine Pellicula<sup>1)</sup> haben, die durchaus nicht typisch basophil ist und mit gewöhnlichen Knorpelkapseln nichts zu thun hat; zwischen den Zellen findet sich aber teils amorphe basophile Grundsubstanz<sup>2)</sup>, teils echtes fibrilläres, mitunter in Bündel gesammeltes Bindegewebe.

Keine der besprochenen Theorien von der Beziehung zwischen Zelle, Zellkapsel und Grundsubstanz lässt sich in der That in ihrer ursprünglichen und gewöhnlichen Bedeutung aufrecht erhalten, was ich nicht ausführlicher zu entwickeln brauche. Die eingehende histiologische und histochemische Untersuchung des Knorpels, die ich früher besprochen habe, und ebenfalls die Entwicklung der verschiedenen Bestandteile, des Bindegewebes, des Chondromucoids, und viele andere genetische und histiologische Verhältnisse, die ich anderswo bereits in Kürze geschildert habe, und deren ausführlichere Darstellung ich später veröffentlichen werde, zeigen uns mit der grössten Deutlichkeit, dass zwischen Kapsel und Grundsubstanz kein prinzipieller Unterschied besteht, und dass die Grundsubstanz (inklusive der Kapsel) sich als ein Ektoplasma zu den Knorpelzellen (Protoblasten nach Koelikers Nomenklatur) oder dem Endoplasma verhält. Als „Kapseln“ kann man übrigens nicht die sogenannten zusammengesetzten oder geschichteten Kapseln betrachten, diese sind, wie ich oben bemerkte, nur mehr oder weniger konzentrisch angeordnete Grundsubstanzen von einem in histiologischer und histochemischer Beziehung oft sehr kompliziertem Bau. Allerdings kann man häufig sehen, wie sich Schichten von Kollagen, Albumoid oder Chondromucoid innen an der Wand einer Knorpelhöhle, deren frühere innere Wand noch eine Zeitlang er-

<sup>1)</sup> Diese ist eine stärkere Grenzschicht, die mit der Filarsubstanz der Zelle in Verbindung steht, ganz wie es mit den echten Knorpelzellen in geringerem Masse der Fall ist.

<sup>2)</sup> Die ebenso reagiert wie amorphe chondroitinschwefelsäurehaltige Knorpelgrundsubstanz.

kennbar sein kann, abgesetzt oder entwickelt haben; die Verhältnisse komplizieren und ändern sich aber ja unablässig, teils wegen der Umlagerung, die stets in der Knorpelgrundsubstanz vorgeht, und wegen des selbständigen Wachstums der letzteren, teils wegen der Entwicklung neuer Zellen. Viele derjenigen Bildungen, die beim ersten Anblick als „Mutterkapseln“ aussehen, erweisen sich bei näherer Untersuchung nur als Äusserungen der Neigung zur zonalen Anordnung in der Beziehung zu den Zellen und den Zellengruppen (zum Teil mit sekundären chemischen Differenzierungen der Grundsubstanz verbunden), die ich früher hervorhob, und die sich nur bei mehr oberflächlicher Betrachtung durch die Annahme der Persistenz der Knorpelkapseln in der Grundsubstanz erklären zu lassen scheint. Die verhältnismässig zusammengesetzte Struktur, welche die Knorpelgrundsubstanz aufweist, besonders die fibrilläre Struktur, die sich durchaus nicht um „Kapseln“ oder Zellenterritorien bekümmert, und die sich eventuell ganz bis an das Endoplasma in der innersten Schicht der Grundsubstanz nachweisen lässt, macht die genannte Theorie von der, wenn ich so sagen darf, mosaikartigen Zusammensetzung der Grundsubstanz aus miteinander verschmolzenen Zellkapseln auf immer zur Unmöglichkeit. Die grosse Mannigfaltigkeit in der Entwicklung der Knorpelgrundsubstanzen und überhaupt gewisser Bindegewebsgrundsubstanzen, die ich nachgewiesen habe, und die komplizierten Prozesse, Umlagerungen und dergl., welche die Knorpelgrundsubstanz so deutlich zeigt, erklären vielleicht besser als alles andere, dass die Theorien, die sich auf „Knorpelzellen“, „Kapseln“ und „hyaline Substanz“ stützten, nicht mehr in Betracht kommen können. Selbst wenn man den Begriff der Kapsel nicht in seinem ursprünglichen Sinne und Umfange zu behaupten vermag, soll hiermit aber doch nicht gesagt sein, dass man notwendigerweise den Gebrauch des Wortes

Kapsel aufgeben müsse, wenn man nur darüber im klaren ist, dass dasselbe ein mehr deskriptiver Terminus ist. Es giebt ja alle die vielen Fälle, wo die innerste (oder die innersten) Schicht der Grundsubstanz wegen der Lichtbrechung, oder weil sie sich mehr oder weniger konzentrisch oder parallel zu dem hält, was wir praktisch die äussere Begrenzung der Zelle, des Endoplasmas nennen müssen (dieselbe sei nun verästelt oder auch nicht), sich der Zelle mehr anschliesst als in anderen Fällen und mithin mehr oder weniger deutlich als eine „Kapsel“ um letztere differenziert ist. Die Frage nach der Knorpelkapsel resultiert nun in der Konklusion dass die „innersten“ Schichten der Grundsubstanz um die Zelle zuweilen als ein Ektoplasma in engerem Sinne in eine mehr oder weniger deutliche „Kapsel“ differenziert sein können, zuweilen aber auch nicht. Schon oben bemerkte ich, dass die Kapseln optisch mehr oder weniger anscheinend gegen die übrige Grundsubstanz wie auch gegen die Zelle abgegrenzt sein können. Mitunter ist die Abgrenzung gegen die Grundsubstanz wesentlich eine optische (Unterschied der Lichtbrechung), oft lässt sich aber auch eine Differenz in chemischer<sup>1)</sup> und in tinktorieller Beziehung nachweisen. Die „Kapselpartie“ kann dann, relativ betrachtet, etwas

---

1) Z. B. rücksichtlich der Löslichkeit in siedendem Wasser oder der Maceration und Digestion bei 40—50° C. in Aqu. destill., eventuell mit Zusatz von ein wenig Salzsäure. Man erhält dann oft die Kapsel oder die der Zelle zunächst liegende Schicht isoliert. Andererseits kann man durch Färbung nachweisen, dass das Kollagen darin mit dem Bindegewebe der übrigen Grundsubstanz in Verbindung steht; durch andere Reagentien, z. B. Alkalien, wird die Kapsel aufgelöst wie sonst das Chondromucoid. Dass solche Differenzen der Löslichkeitsverhältnisse der Grundsubstanz anzutreffen sind, ist ja leicht verständlich. Man vergleiche hiermit, was ich früher über die ungleiche Widerstandsfähigkeit des Bindegewebes des Knorpels bemerkte, die sich nach der Durchdringung mit Chondromucoid und nach der Art des Tieres richtet. — Die „Kapseln“ um Knorpelzellen im Knorpel der Amphibien werden relativ leichter isoliert als im Knorpel der Säugetiere u. s. w.

stärker basophil sein, so dass sich häufig auch nach Färbung eine äussere Grenzlinie nachweisen lässt, d. h. die ausserhalb der Kapsel liegende Grundsubstanz ist etwas weniger basophil; die Grenzlinie selbst kann ganz scharf oder mehr verwischt sein. Auch im Verhalten gegen verschiedene Farbstoffe (z. B. dünnes, event. schwach essigsaures Methylviolett und dergl.) ist häufig aber nicht immer, eine Differenz zwischen dem der Zelle zunächst liegenden und dem weiter nach aussen liegenden Teile der Grundsubstanz. Die „Kapsel“ färbt sich zuweilen metachromatisch rot, z. B. mit dünnem, saurem Methylviolett. Prinzipielle Bedeutung haben diese Differenzen, deren Anzahl sich natürlich leicht vermehren lässt, aber nicht. Das Verhalten der „Kapsel“ und der Grundsubstanz zur Zelle, zum Endoplasma, wurde ja bereits angedeutet. Im Knorpel pflegt dasselbe so zu sein, dass der Zusammenhang des Endoplasmas mit der Grundsubstanz, dem Ektoplasma, weniger fest ist, so dass die Knorpelzelle, wenn sie einschrumpft, z. B. wegen angewandter Reagentien, sich gewöhnlich von den Wandungen der Knorpelhöhle, der Innenseite der Knorpelkapsel, retrahiert, was sich direkt unter dem Mikroskop verfolgen lässt, denn in äusserst vielen Fällen kann man ja schon im frischen und lebenden Knorpel die „Grenze“ zwischen der Zelle, dem Endoplasma, und der Grundsubstanz gewahren. An gewissen Knorpeln, z. B. von Triton und Frosch, wo ich die lebenden Knorpelzellen unter dem Mikroskop (Immersion) ohne Zusatz beobachtete und darauf, ebenfalls unter dem Mikroskop, verschiedene Reagentien und Fixationsmittel wie Osmiumsäure, dünne Jodjodkaliumlösung, Jodserum, Pikrinsäure, Alaunlösung (5%) u.s.w. zusetzte, gelang es mir in mehreren Fällen, zu konstatieren, dass die doppelt konturierte, stark lichtbrechende und anscheinend homogene Kapsel, die ich um die lebenden Knorpelzellen sah, in der That aus zwei Bestandteilen „zusammengesetzt“ war. Wurde z. B.

eine dünne Jodjodkaliumlösung<sup>1)</sup> zugesetzt, so sonderte sich die Zelle nach einiger Zeit ein klein wenig von der Grundsubstanz ab, und es erwies sich dann, dass die Zelle, das Endoplasma, von einer Pellicula, einer äusseren, etwas stärker lichtbrechenden Schicht umgeben war, die, wie die Untersuchung mittelst der gewöhnlichen verschiedenen histiologischen Methoden ergab, aus (Fig. 14—15) einem feinen, mit der Filarsubstanz und dem Spongionplasma der Knorpelzelle in Verbindung stehenden Netzwerk bestand und im Verein mit der innersten, ebenfalls stärker lichtbrechenden Schicht der Grundsubstanz die doppelt konturierte, anscheinend homogene Knorpelkapsel gebildet hatte. Zeichnete man die Zellen nebst deren Kapseln erst lebend und darauf nach Reagenzzusatz, so konnte man auch hierdurch, ausser durch direkte Beobachtung und durch Messung der Dicke der „Kapsel“ und der Komponenten, noch ferner die ganz interessante Thatsache konstatieren, dass dieselben Kapsel, die sich lebend als eine einzige doppeltkonturierte homogene Schicht ausnahm, in der That zusammengesetzt war aus 1. der „innersten“ Schicht des Ektoplasmas und 2. der „äussersten“, eine Pellicula bildenden Schicht des Endoplasmas. Ich werde dies später anderswo näher erörtern, wie auch die Frage nach dem Zusammenhang zwischen dem Endo- und dem Ektoplasma.

In dieser Relation erwähne ich nur noch eine einzelne Erscheinung, die auf das Verhalten der Knorpelzellen zur Grundsubstanz ebenfalls einiges Licht wirft. Betrachtet man Knorpelschnitte, die z. B. in Alkohol absol., Sublimat, Sublimat-Eisessig und verschiedenen anderen Fixationsmitteln fixiert wurden, so findet man bekanntlich oft, jedoch nicht immer, viele, mit-

---

1) Die Wirkung derselben war zunächst eine leicht macerierende und schwach fixierende, die Knorpelzellen schrumpften fast gar nicht ein. Das Bild erhielt sich 24 Stunden hindurch und länger wesentlich unverändert in der feuchten Kammer.



unter fast alle, „Knorpelzellen“ etwas, ganz wenig oder ziemlich bedeutend, von der inneren Seite der „Knorpelhöhle“ retrahiert und gleichsam mit „Stacheln“ dicht besetzt, gewöhnlich so, dass die äussere Seite der Zelle und die innere Seite der Knorpelhöhle gleich „stachlig“ sind. Sehr oft sieht man, wie eine Menge der Stacheln an der Zelle mit Stacheln an der inneren Seite der Knorpelhöhle zusammenhängen, andere dagegen nicht. (Fig. 16, 17, 18.) Diese Erscheinung hat man teils als feine, radiäre Zellausläufer beschrieben, die sich bis in die Grundsubstanz erstrecken sollten und erst nach der Retraktion der Zelle zum Vorschein kämen; teils hat sie veranlasst, dass man von radiär gestreiften und porösen Kapseln redete, wie sie auch noch andere Deutungen fand. Meinen Untersuchungen zufolge verhält die Sache sich so, dass die innerste Schicht des Ektoplasmas und die äusserste Schicht der Zelle, des Endoplasmas, eine sehr oft sowohl Chondromucoid als auch feinste Fibrillen enthaltende, weiche, gemeinsame Grenzschicht, die gewissermassen zu beidem gehört, zum Bindeglied gehabt haben. Wegen der Retraktion oder Schrumpfung des Endoplasmas ist diese weiche, vielleicht klebrige Schicht zerteilt und zu Fasern ausgezogen worden. Dass dies die richtige Deutung ist, lässt sich aus mehreren Umständen ersehen, teils durch direkte Beobachtung der Bildung unter dem Mikroskop, teils aber auch aus dem tinktoriellen Verhalten der Stacheln. Diese sind nämlich sehr stark basophil, ebenso stark wie die innerste Schicht der Knorpelhöhle und, was bezeichnend ist, wie die äusserste Schicht der retrahierten Zelle, selbst wenn die übrigen Teile der letzteren auch sonst sehr wohl stark acidophil sein können. (Fig. 17—18.) Auch in anderen Beziehungen zeigen die „Stacheln“ völlige Übereinstimmung mit der innersten Schicht der Grundsubstanz und der Aussenseite der Zelle ansitzenden Schicht<sup>1)</sup>.

1) Je nach der Natur der Fixierungsflüssigkeit können die Dichte und die Form der Stacheln der Zellen indes grosse Verschiedenheit darbieten. Leicht

Endlich erübrigen noch die morphologischen Verhältnisse der Stacheln. — Untersucht man diese Bildungen in den verschiedensten Medien, Alkohol, Wasser, Glycerin-Wasser, u. s. w., ungefärbt oder gefärbt, eventuell in Balsampräparaten, so sieht man, wie die „Stacheln“ an der äusseren Seite der Zelle mit kegelförmiger Basis beginnen, sich darauf gewöhnlich verjüngen und, wenn sie mit der Schicht an der inneren Seite der Knorpelhöhle in Verbindung stehen, auch hier mit einem kleinen Kegel enden, dessen Basis der basophilen Schicht an der inneren Seite der Knorpelhöhle zugekehrt ist, an derselben fest sitzt und mit ihr zusammenfliesst. Nie sah ich, dass diese Stacheln sich bis in die Grundsubstanz fortsetzten oder in einem kleinen Trichter einmündeten, dessen Mündung der Knorpelhöhle zugekehrt war. — Letztere Anordnung ist freilich von einigen Autoren beschrieben worden, nach sehr sorgfältiger Untersuchung dieser Bildungen an einem sehr grossen Materiale kann ich jedoch mit Bestimmtheit erklären, dass dergleichen Wahrnehmungen anders gedeutet werden müssen<sup>1)</sup>; man hat z. B. den Raum zwischen zwei konischen Stacheln an der inneren Seite der Knorpelhöhle, deren Verbindung mit der Zelle zerrissen war, für die trichterförmige Einmündungsstelle der von mehreren Autoren (z. B. Budge) supponierten feinen radiären Kanäle gehalten, die von der Knorpelhöhle ausstrahlen sollten. Ebenfalls kann man feine Faltungen der inneren Kontur der Knorpelhöhle finden, die sich u. a. als kleine abgerundete Zacken präsentieren können, zwischen denen dann natürlich kleine Einschnitte

---

macerierende Flüssigkeiten, Jodjodkaliumlösung, Jodserum, 33% Alkohol, 2% NaCl-Lösung u. s. w. geben oft keine charakteristischen oder auch nur wenige Stacheln der Zellen in einem frischen Knorpelschnitt. Dasselbe gilt zum Teil von Osmium oder wässrigem Formol.

<sup>1)</sup> Wenn z. B. J. Arnold (8) noch 1898 diese künstlichen Produkte abbildet und als feine radiäre Zellausläufer beschreibt, kann ich diese Deutung nicht anerkennen. Rettersers (202) Ansicht von diesen Bildungen ist mir nicht ganz klar.

mit ihren Spitzen der Knorpelhöhle abgekehrt entstehen. Diese Erscheinung hat ihren Ursprung<sup>1)</sup> jedoch in der Schrumpfung der Knorpelgrundsubstanz um die betreffende Knorpelhöhle und hat mit den „Stacheln“ direkt nichts zu thun, ist von denselben jedenfalls ganz verschieden.

Im Vorhergehenden bezeichnete ich die Strukturen als „Stacheln“; dieser Ausdruck ist insofern unkorrekt, als ich nachwies, dass was sich als Stachelbildung oder als feine Verbindungsfäden zwischen der Oberfläche der Zelle und der inneren Seite der Knorpelhöhle präsentiert, in der That die Wände oder die Reste von Wänden eines „Kammerwerks“<sup>2)</sup> sind, die sich ganz natürlich in der „klebrigen“ mucinösen, basophilen Grenzschicht „zwischen“ dem Ektoplasma und dem Endoplasma bilden können, wenn letztere sich retrahieren. Zerbersten die Wände gänzlich oder teilweise, so erhalten wir bezw. frei endende Stacheln oder Verbindungsfasern. Grössere oder kleinere Überreste des Kammerwerks lassen sich bei sorgfältiger Untersuchung sehr oft nachweisen, u. a. als ein feineres oder gröberes polygonales Maschenwerk (Fig. 17) sowohl an der inneren Seite der Knorpelhöhle als an der Oberfläche des Endoplasmas. Ein solches grobes Maschenwerk an der inneren Seite der Knorpelhöhle beschrieb z. B. Hammar<sup>3)</sup> (l. c. I. S. 287). Indem ich mir vorbehalte, dieses Verhalten genauer zu erörtern hebe ich nur hervor, dass das Kammerwerk ganz fein, kaum sichtbar, oder auch, besonders in altem Knorpel, ziemlich grob

---

1) Diese Faltung der Wände der Knorpelhöhle durch Schrumpfung der Grundsubstanz hat B. Solger 1887—1888 beschrieben und abgebildet, ich selbst fand häufig beide Strukturen in demselben Schnitt.

2) Nicht zu verwechseln mit Bütschlis hypothetischem „Wabenwerke“.

3) Ein ähnliches grobes Maschenwerk und gewisse gröbere Verbindungsfäden zwischen dem retrahierten (resp. vakuolisierten) Endoplasma ist das von Spina (1886) als ein radiäres, pericelluläres Kanalsystem mit Zellausläufern beschriebene und abgebildete.

sein kann<sup>1)</sup>. Mit einer „Wabenstruktur“ der Knorpelgrundsubstanz hat es durchaus nichts zu schaffen, denn eine solche giebt es nicht. Das Kammerwerk ist nicht präformiert, es ist aber anzunehmen, dass seine Bildung durch die physische und chemische Beschaffenheit der Grenzschicht prädisponiert wird; es giebt eine Weise an, wie diese und zum Teil auch die Zelle gegen gewisse Einwirkungen reagiert. Seine Entstehung ist in den meisten Fällen fremden Einwirkungen zu verdanken, speziell also gewissen unserer Reagentien und Fixationsmittel. Am häufigsten ist es ein fixiertes Bild gewisser durch die geänderten osmotischen Gleichgewichtsverhältnisse entstandener Strukturen<sup>2)</sup>, hieraus folgt aber nicht, dass diese Bilder bedeutungslos oder wertlos wären, denn das lebende

---

<sup>1)</sup> Der Raum zwischen den „Stacheln“ oder, wenn die Zelle ohne besondere Stachelbildung eingeschrumpft ist, der Raum zwischen der Zelle und der inneren Wand der Knorpelhöhle ist natürlich mit etwas ausgefüllt, gewöhnlich mit einer Substanz, die auch nach direkten, von mir angestellten Beobachtungen, vom Endoplasma selbst herausgepresst sein muss, und die bald mehr wässerig, bald fester sein kann. Mitunter ist sie sehr stark chondroitinschwefelsäurehaltig, und mithin erhält die thatsächlich eingeschrumpfte Zelle oft eine Art basophiler Kapsel, die dicker ist als die ursprüngliche, mitunter ist sie nur wenig chondroitinschwefelsäurehaltig. Ist die Substanz sehr wässerig, so ist sie oft gar nicht zu gewahren, in vielen Fällen wohl auch weil die Stacheln die festeren, von den Zellen ausgeschiedenen Substanzen gerade absorbieren und sich zum Teil aus denselben bilden, während das Wasser im Zwischenraume zurückbleibt. Die von Neumann erwähnte pericelluläre Substanz ist in einigen Fällen wirklich von der lebenden Zelle ausgesondert worden, in den meisten anderen Fällen ist die pericelluläre Substanz oder der pericelluläre Raum (zwischen dem retrahierten Endoplasma und der inneren Seite der Knorpelhöhle resp. der Kapsel aber, wie gesagt, ein künstliches Produkt. Durch den Umstand, dass die Zelle anscheinend die Knorpelhöhle erfüllt, darf man sich daher nicht zu dem Glauben verleiten lassen, die Zelle könne in diesem Falle nicht eingeschrumpft sein.

<sup>2)</sup> Dass solche Bilder am häufigsten durch Fixationsmittel entstehen, die stark fäallend, wie z. B. der Alkohol, und schnell koagulierend wirken, ist natürlich. Man kann auch gewahren, dass die Struktur, die man erhält, wenn man das Stückchen z. B. mit Formol-Alkohol oder Alkohol abs. fixiert und Schnitte desselben in der Fixationsflüssigkeit oder in Alkohol untersucht, sich in einigen Fällen ändert, wenn man Wasser zusetzt. Hierauf werde ich mich jedoch nicht näher einlassen, da es keine so grosse Bedeutung hat.

Gewebe kann uns an gewissen Zellen und besonders in älteren Knorpeln (z. B. Laryngo-Trachealknorpel vom Menschen, Ochsen u. s. w.) allenfalls ähnliche Erscheinungen zeigen. Ich vermochte nämlich durch Untersuchung überlebender Knorpel (ohne Zusatz) zu konstatieren, dass um einige Knorpelzellen oder in diesen (namentlich in den peripheren Schichten) oder an einem Teile ihrer Oberfläche albumoide<sup>1)</sup> Massen oder Körnchen in einem Maschen- oder Kammerwerk abgelagert waren, das in vielen Fällen aus Resten der Filarsubstanz und des Spongioplasmas des Endoplasmas bestand, sich in anderen Fällen aber vielleicht mit dem Kammerwerk oder Maschennetz („Stacheln“) homologisieren liess, das ungleich häufiger durch Reagenzwirkung an der „Grenze“ zwischen dem Endoplasma und dem Ektoplasma gebildet wird. Besonders auffallend wird es in ganz einzelnen Fällen, die man dann und wann, aber nicht gerade ganz häufig, im Knorpel antrifft, nämlich bei den echten radiär gestreiften Kapseln<sup>2)</sup>. Ausser der durch die „Stachelbildung“ künstlich hervorgerufenen radiären Struktur um die Zelle (die man auch als radiäre Streifung der Kapsel beschrieben hat) findet man nämlich auch Zellen mit einer ziemlich dicken albumoiden „Kapselschicht“, die stark lichtbrechend, mehr gelblich gefärbt ist, und worin es mir in einigen Fällen<sup>3)</sup> gelang, schon am lebenden Gewebe eine feine radiäre Streifung zu erblicken (mit dem Apochromat 3. 1,40.

1) Dieser sehr widerstandsfähige Stoff ist in vielen Fällen gewiss schon im lebenden Gewebe zu erkennen; seine Natur lässt sich darauf durch Behandlung des Schnittes mit Reagentien weiter verifizieren; und, was hier von Wichtigkeit ist, es entstehen bei nachfolgender Reagentienwirkung keine Bildungen, die ihm ähnlich wären. — Der Laryngo-Trachealknorpel älterer Kälber oder namentlich ausgewachsener Ochsen (auch Pferde) ist zu diesen Beobachtungen besonders geeignet.

2) Arnold hat (l. c. 1898) einen ähnlichen Fall abgebildet.

3) Besonders im Knorpel des Larynx einer (älteren) Katze, jedoch auch anderswo, z. B. beim Kalbe, Rinde und bei Amphibien.

Kompensat. Ocular 6—8). Bei nachfolgender Fixation u. s. w. erwies diese sich als der durch Reagentien gebildeten Stachelung analog, nur waren die Maschenräume mit Albumoid gefüllt. Schon längst hat man eine solche „Körnung“ im Umkreise der Knorpelzellen beschrieben<sup>1)</sup>. In einigen Fällen war dies gewiss eine falsche Deutung der Stachelbildung, in anderen Fällen hatte man hier Albumoid- oder Elastinkörnchen. Untersucht man nun eine solche „Kapsel“, die keine gar zu dichte Körnung zeigt, von der Fläche, so kann man nach Färbung<sup>2)</sup> des Albumoids mitunter sehen, dass die Albumoidkörnchen gleichsam in den Lücken eines Maschenwerks liegen. Dies, damit zusammengehalten, dass ich Albumoidkörnchen nachzuweisen vermochte, welche die „Vakuolen“ in den peripheren Schichten des Knorpelendoplasmas erfüllten, kann darauf hindeuten, dass die Prädisposition zur Kammerwerksbildung, die wir u. a. bei gewissen Fixierungen in der Grenzschicht zwischen dem Endo- und dem Ektoplasma ausgesprochen finden, auch für Prozesse von Wichtigkeit sein kann, die, wenngleich in weit geringerem Umfange, im lebenden Gewebe vorgehen<sup>3)</sup>. Die erwähnten hypothetischen, sogenannten radiären „Zellausläufer“ beruhen also auf einer falschen Deutung; im üblichen Sinne des Wortes existieren diese gar nicht.

Es können indes sehr wohl wirkliche Ausläufer des Endoplasmas vorkommen, die mehr radiär zu den Knorpelzellen geordnet sind (an einem anderen Orte werde ich dergleichen Formen abbilden und beschreiben); diese sind dann aber lange nicht so

---

1) Vgl. z. B. Deutschmann, Schottelius, Ranvier u. a. m.

2) Mit Methylviolett, dünnem Salzglycerin, wie oben angegeben.

3) Auch die Fälle von radiär gestreiften „Kapseln“, die nicht albumoid sind, und die man dann und wann, am leichtesten an fixierten Präparaten gewahrt, sprechen hierfür. Solche echten radiär gestreiften Kapseln dürfen nicht mit denjenigen verwechselt werden, die von der „Stachelbildung“ durch Retraktion des Endoplasmas herrühren.

zahlreich und kommen bei weitem nicht allgemein vor, und namentlich müssen sie, damit ihr wirkliches Vorhandensein anerkannt werde, eine ganz andere Kritik und Prüfung ertragen können als diejenigen Strukturen, die bisher in den meisten Fällen als Beweis angeführt wurden; u. a. kann man in den wirklich positiv beweisenden Fällen die Zellausläufer als echte Protoplasma-Endoplasmaverlängerungen bis in die Grundsubstanz hinein verfolgen.

In diesem Zusammenhang führe ich noch an, dass ich in vielen, bei weitem aber nicht allen Fällen unzweifelhaft gesehen habe, wie echte feine Filarfibrillen sich direkt aus dem Endoplasma in Bindegewebsfibrillen (kollagenen Fibrillen) bis tief in die „hyaline“ Knorpelgrundsubstanz fortsetzten (Fig. 19). Ebenfalls sah ich, von grösseren Endoplasmaanastomosen abgesehen; wie eine grössere oder kleinere Anzahl feiner Verlängerungen der Filarsubstanz aus einer Knorpelzelle durch „hyaline“ Grundsubstanz hindurch in benachbarte Zellen eindringen, dies kann gelegentlich sowohl in ausgewachsenem als in ganz jungem, fötalem Knorpel vorkommen; in letzterem, besonders in kräftig wachsendem Knorpel ist es nicht selten (Fig. 20—21). Meistens sind diese Verbindungen unter den Zellen nur an einem begrenzten Teile der Zelle vorhanden, und in diesen Fällen werden natürlich, wenn das Endoplasma sich gelegentlich von der inneren Wand der Knorpelhöhle retrahiert hat, „Verbindungsfasern“ aus der Zelle in die Grundsubstanz anzutreffen sein, und selbstverständlich kann dann auch ein Teil der basophilen Grenzschicht, welche die „Stacheln“ zu bilden vermag, die Bindegewebsfibrillen — oder Endoplasmafibrillen umgeben, die den Spaltraum zwischen der Zelle und der inneren Wand der „Kapsel“ durchlaufen.

Es kann sehr wohl eintreten, dass „Stacheln“, als künstliche Produkte, an einer Zelle zu finden sind, die ausserdem echt fibrillären Konnex mit der Grundsubstanz zeigt; selbstver-

ständig sind die beiden Bildungen aber prinzipiell verschieden. — Diese Kontinuität zwischen einigen, oft nicht gar wenigen Filarfasern des Endoplasmas und Bindegewebsfibrillen der Grundsubstanz oder Filarfasern benachbarter Zellen, die ich ebenfalls beobachtet habe, ist bei weitem nicht bei allen Knorpelzellen oder in allen Knorpeln zu finden, dies ist aber ja nur, was wir so häufig im gewöhnlichen Bindegewebe gewahre<sup>1)</sup>. Man darf dieses Phänomen nicht generalisieren und als für alle Knorpelzellen geltend annehmen<sup>2)</sup>. Meinen Untersuchungen zufolge ist es durchaus unthunlich und unberechtigt, alle hypothetischen „radiären Zellausläufer“ dadurch retten zu wollen, dass man sie mit der von mir besprochenen Kontinuität der Fibrillen in Zusammenhang bringt, denn eine solche giebt es in vielen Fällen gar nicht, was die Stacheln betrifft; sie lässt sich jedenfalls mit Hilfe selbst der besten optischen Mittel oder der Methoden, mittelst deren wir die anderen echten, sehr feinen Fibrillenanastomosen und Zellausläufer zu erblicken vermögen, nicht nachweisen. Übrigens spricht das ganze Verhalten der „Stacheln“, u. a. ihre grosse Abhängigkeit von den Fixationsmitteln, welche die echten Zellanastomosen und Fibrillenausläufer bei weitem nicht in so hohem Masse zeigen, entschieden gegen eine solche Erklärung und solche Generalisierung der genannten Verhältnisse.

1) Vgl. meine Untersuchungen über den Discus intervertebralis.

2) Das Thatsächliche ist, dass an vielen Stellen der Knorpel (besonders leicht nachweisbar in älteren, wie gesagt aber auch in jüngeren Knorpeln) ein intimer Zusammenhang zwischen dem Endoplasma (z. B. dessen Fibrillen) und dem Ektoplasma, der „Grundsubstanz“, resp. deren Fibrillen oder Körnerreihen existiert, resp. persistiert oder auch sich ausbildet. Man kann diesen Zusammenhang nun gegebenenfalls sowohl bei retrahiertem als auch bei unretrahiertem Endoplasma konstatieren, die Richtung der Fibrillen im Ekto- und Endoplasma kann aber variabel sein; sie kann radiär zur Knorpelhöhle stehen oder mit dieser konzentrisch verlaufen u. s. w.

Zur Orientierung über dergleichen Phänomene empfehle ich die Untersuchung z. B. dünner Schnitte von älterem Trachealknorpel des Menschen oder Ochsen (*cartilago cricoid.*) und von jungem fötalem Knorpel (z. B. der Schweinföten, hier sind sie als die Überreste der „Zellteilung“ aufzufassen).



Dass die Knorpelzellen (das Endoplasma) **keine typische** Form haben, ist ja bekannt, und es lässt sich hierüber im allgemeinen wohl nicht viel sagen. Es handelt sich denn auch wesentlich darum, ob die Knorpelzellen verästelt oder nicht verästelt sind, ob sich Zellanastomosen finden oder nicht. Auch in dieser Beziehung ist streng zu sondern zwischen 1. echten endoplasmatischen Zellverästelungen nebst Anastomosen und 2. Pseudostrukturen, die z. B. von Heitzmann<sup>1)</sup> als Zellausläufer, Zellanastomosen u. dgl. gedeutet wurden. Wie man mikroskopisch bestimmt, was eine Zelle, ein Endoplasma ist, wie man in zweifelhaften Fällen gezwungen werden kann, alle uns jetzt verfügbaren Untersuchungsmethoden, nicht zum wenigsten die Untersuchung am frischen Gewebe mit nachfolgender Reagenzbehandlung unter dem Mikroskope systematisch in Anwendung zu bringen, brauche ich natürlich nur eben wieder zu berühren. Nur hebe ich hervor, dass viele Fälle sich jetzt leichter unterscheiden lassen, weil wir Mittel besitzen, die Bestandteile chemisch und tinktoriell darzustellen, so das Chondromucoid und namentlich das Bindegewebe der Grundsubstanz. Hierdurch im Verein mit den anderen Untersuchungsmethoden wird es ja möglich, positiv zu bestimmen, was zu den Pseudostrukturen der Grundsubstanz ge-

---

<sup>1)</sup> C. Heitzmann (96) 1872. Ausserdem (98) 1883. S. 149—193, 193—225 und 225—270, wo er u. a. Spina (240—243) lobt wegen seiner vortrefflichen „Alkoholmethode“ zur Darstellung der „Zellausläufer“. Da nun Heitzmann auf diese Weise selbst die Identität seiner eignen mit Spinass Strukturen anerkennt, und da letztere, wie andere ähnliche, mittelst meiner Methoden leicht als Pseudostrukturen der Grundsubstanz zu erkennen sind (die durch partielle Umlagerungen und Schrumpfung der Knorpelfibrillen und des Chondromucoids entstehen), so ist mithin auch auf diesem Wege ausser auf dem der direkten Nachprüfung bewiesen, dass Heitzmanns Netzwerk aus radiären Zellausläufern und Knorpelkanälen, das den Theorien dieses Forschers gemäss das Protoplasma aller Zellen untereinander vereinen sollte, zu der sehr grossen und umfassenden Gruppe von Bildungen gehört, die man als Pseudostrukturen im Knorpel bezeichnen muss. Vgl. auch Colomiatti (37) (1874), der ebenfalls Heitzmanns Bilder für künstliche Produkte erklärt.

hört, und sehr ausgedehnte Untersuchung und Nachprüfung haben mir gezeigt, dass solche Fälle die weitaus vorwiegenden sind.

Zu verlangen ist, dass das, was man Ausläufer des Endoplasmas, des Protoplasmas, nennen will, mit unzweifelhaften Zellen in Zusammenhang stehe und in solche übergehe<sup>1)</sup>, indem zugleich zu bedenken ist, dass derartige Ausläufer nicht immer während ihres ganzen Verlaufes „protoplasmatisch“ zu bleiben brauchen, sondern eventuell total oder partiell in mehr ekto-plasmatische Bildungen übergehen können, z. B. zu echten Elastinfasern, Bindegewebsfibrillen u. dgl. werden. Häufig kann man sehen, dass Zellausläufer, welche zwei Zellen miteinander verbinden, in der Mitte ihres Verlaufs nicht eigentlich „protoplasmatisch“ im bekannten üblichen Sinne sind, wie das mehr perinukleare Endoplasma, sondern sich an Aussehen, Lichtbrechung, Färbungsverhältnissen und anderen Reaktionen gleichsam gewissen „ektoplasmatischen“ Bildungen nähern, an Elastin oder weisses Bindegewebe<sup>2)</sup> erinnern, kurz, mehr den Charakter von „Albumoidstoffen“<sup>3)</sup> annehmen. Ich habe in den

---

1) Dies gilt natürlich auch von Zellen, deren Kern degeneriert u. s. w. ist; zuweilen verhilft uns indes erst die Genese oder das spätere Verhalten der Bildungen — oder eine verbesserte Methodik — zum Erlangen der Klarheit.

2) Um Missverständnissen vorzubeugen, sage ich absichtlich nicht Bindegewebsfibrillen.

3) Freilich weiss ich, dass die Knorpelzellen selbst gegen verschiedene Zersetzungsmittel, Kochen, starke Alkalien oder Säuren u. s. w. oft äusserst widerstandsfähig sind, und dass sie aus sehr widerstandsfähigen Proteinstoffen bestehen. Man entschuldige die mangelhafte Präzision der Ausdrücke, die ihren Grund in unserer relativen Unkenntnis der genaueren chemischen Natur und der gegenseitigen Anordnung des Gemisches von Stoffen, das man „Protoplasma“ nennt, zu suchen hat. Es liegt ausserhalb meines Plans, auf die chemische Zusammensetzung der Zellen und auf deren Reaktionen einzugehen. Wenn man weiss, wie grosse Uneinigkeit noch jetzt über Protoplasmastrukturen herrscht, ist es klar, dass es ziemlich nutzlos sein würde, in diesem Zusammenhang die wahrscheinliche Lokalisation der in einigen Zellarten nachgewiesenen chemischen Stoffe zu versuchen, ja auch, sich nur in den Hauptzügen darüber zu äussern.

Zellen des Discus intervertebralis Beispiele hiervon nachgewiesen, wie solche auch in den peripheren, perichondralen Schichten des hyalinen Knorpels und unter den Gelenkoberflächen zu finden sind. Nicht wenige Elastinfasern, z. B. in den peripheren Schichten des Gelenkknorpels und anderer Knorpel lassen sich auf verästelte Zellen zurückverfolgen, die entweder mittelst mehr protoplasmatischer Ausläufer oder auch zugleich mittelst der erwähnten **albumoidartigen** Ausläufer zum Teil miteinander anastomosieren. — Ich setze hinzu, dass sich oft nachweisen lässt, dass die sogenannten umspinnenden Fasern der Bindegewebsbündel und die spärlichen langgestreckten „Elastinnetze“ um Sehnenbündel oft in einer Beziehung wie der genannten zu den „Zellen“ stehen<sup>1)</sup>. Sieht man vorläufig von derartigen Verhältnissen ab, der thatsächlich die anscheinend einfache Frage nach der Form und Ausdehnung der „Knorpelzellen“ sehr oft komplizieren, so ist es ja eine bekannte Sache, dass es einerseits hyalinen Knorpel giebt, in welchem die Zellen durchweg eine ziemlich einfache, wenig oder gar nicht verästelte Form haben, andererseits aber Knorpel, in denen die Zellen durchweg verästelt sind.

So haben die Knorpel der Kephelopoden und der Selachier durchweg mehr oder weniger, oft reich verästelte Endoplasmazellen mit verschiedenartig entwickelten echten Protoplasmaanastomosen, während eine äusserst grosse Menge der hyalinen Knorpel, z. B. von Säugetieren, Vögeln, Amphibien u. s. w. ziemlich einfach geformte Zellen haben, entweder ganz rundliche, kurze, dicke, mehr oder weniger

---

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. Henles (101) bekannte „Kernfasern“. Ebenfalls nenne ich die Virchowschen sternförmigen Bindegewebskörperchen und Donders Hypothese, dass u. a. elastische Fasern u. dgl. sich aus den „Zellmembranen“ entwickelten, die aus einem besonders widerstandsfähigen Stoffe, der „tierischen Cellulose“ bestünden. F. C. Donders. (44) 1851—53.

prismatische, oder breite ohne besondere Verlängerungen<sup>1)</sup>; oder die Formen sind etwas mehr unregelmässig, platt, gebogen, windschief, oft gestreckt mit mehreren oder weniger, kürzeren oder längeren Prozessen (wie z. B. sehr hübsch im hyalinen Laryngo-Trachealknorpel des Kalbes und vieler anderen Tiere ausgesprochen). Übrigens können die Zellen eines ganzen Knorpels und gewisser Abschnitte desselben ein mehr gleichartiges Aussehen haben, oder auch sind viele Formen untereinander gemischt zu finden, so zwar, dass sehr stark verästelte Zellen und unverästelte gewöhnlich nicht bunt untereinander vermischt sind; es kann aber sehr wohl stattfinden, dass z. B. einige Säugetierknorpel mit unverästelten Zellen stellenweise oder in bestimmten Abschnitten mehr oder weniger verästelte Zellen aufweisen. Ausserdem finden sich auch Übergangsstellen von sehr verschiedener Mächtigkeit aus Knorpel in Bindegewebe<sup>2)</sup>, Faserknorpel, Perichondrium, Gelenkkapsel u. dgl., wo wir sowohl unverästelte Knorpelzellen als sehr stark verästelte Zellen finden, die oft sehr interessante histiologische Verhältnisse darbieten, z. B. schöne Ektoplasmaabildungen um die Bindegewebszellen.

Ein genaueres Herzählen der Zellenformen, der Verteilung der Zellen und der eventuellen Zellanastomosen in den Knorpeln der einzelnen Tiere und der verschiedenen Tierarten gehört indes mehr zu den deskriptiv-topographischen Fragen der mikroskopischen Anatomie, auf die ich mich in diesem Zusammenhang

1) So durchweg in den meisten fötalen hyalinen Knorpeln, Amphibienknorpeln, ausserdem aber auch in vielen anderen hyalinen Knorpeln sowohl grösserer als kleinerer Tiere.

2) Wo das Bindegewebe in den hyalinen Knorpel hineingezogen wird, wie beim Epiphyseknorpel (nicht nur an der sogenannten „Encoche d'ossification“) und an anderen Stellen, wo die Grenzen des Knorpels sich wegen der sogenannten perichondralen „Apposition“ auf Kosten des Bindegewebes erweitern, behalten die Zellen des letzteren oft kürzere oder längere Zeit hindurch ihre verästelte und anastomosierende Form, wenngleich die Anastomosen, wie oben bemerkt, keineswegs sämtlich rein protoplasmatisch zu sein brauchen.

nicht einlassen werde. Auch mit der Entwicklung der Knorpelzellen kann ich mich nicht beschäftigen; ich nenne nur, dass der Charakter des embryonalen Gewebes (meistens Bindegewebes), aus dem der Knorpel entsteht, ein sehr verschiedener sein kann. Als ein paar Beispiele unter vielen führe ich an, dass im Discus intervertebralis, den ich u. a. genauer untersuchte, die unverästelte oder nur wenig verästelte endoplasmatische Knorpelzelle aus reich verästelten, anastomosierenden (fast ganz endoplasmatischen oder, wenn man lieber will, „protoplasmatischen“) Bindegewebszellen durch eine ganze Reihe von interessanten Umbildungen entsteht. In anderen Fällen hingegen (so in vielen fötalen hyalinen Knorpeln, wenigstens bei Säugetieren, Vögeln und Amphibien) bildet sich sehr schnell, ja anscheinend fast unmittelbar, hyaliner Knorpel mit fast ausschliesslich unverästelten Endoplasmazellen aus dem sogenannten „Vorknorpel“, der sehr dicht aneinander liegende, ganz oder fast ganz protoplasmatische, grosskernige, kurze und ziemlich isodiametrische Zellen besitzt<sup>1)</sup>. Die Zellen des auf diese Weise entstandenen hyalinen Knorpels sind denn auch rundlich, kurz prismatisch oder (von einigen Zellen der am meisten peripheren „perichondralen“ Schichten abgesehen) höchstens ein wenig eingezogen oder zugespitzt. Durchweg liegen sie sehr dicht aneinander und teilen sich lebhaft. Sehr oft trifft man, besonders in den jüngeren Stadien des fötalen Knorpels, bei näherer Untersuchung kurze, äusserst dünne oder etwas dickere oder breitere echte Protoplasma-(Endoplasma-) Verbindungen sowohl zwischen Schwesterzellen allein als auch zugleich zwischen mehreren (3—4, 5—6 . . .), zu derselben „isogenetischen“ Gruppe gehörenden und dicht aneinander liegenden Zellen an. Ich über-

---

1) Auf die Frage nach den Zellen des Vorknorpels und deren gegenseitigem Zusammenhang mittelst einer Menge feiner Protoplasmaanastomosen kann ich mich hier nicht einlassen.

zeugte mich, dass diese Protoplasmaanastomosen<sup>1)</sup> gewöhnlich nur vereinzelt oder in verhältnismässig geringer Anzahl vorkommen, und dass sie als Überreste von Zellteilungen aufzufassen sind; ihr in den frühen Stadien relativ häufiges Vorkommen beruht auf der grösseren Lebhaftigkeit der Zellteilung. Wenn die „Grundsubstanz“ allmählich im Vergleich mit den Zellen an Mächtigkeit zunimmt, verliert sich auch diese Endoplasmaverbindung, und findet sich später und in gewissen Altersstufen jedenfalls weit seltener oder auch gar nicht in vielen echt hyalinen Knorpeln oder in grossen Abschnitten derselben. Jedoch können später, wie Hammar in seinen interessanten Untersuchungen über die Gelenke, besonders die Gelenkknorpel des Menschen nachwies, und wie ich dies nach Untersuchungen teils an demselben Material, teils an Gelenkknorpeln von Kälbern und Ochsen verschiedener Altersstufen bestätigen kann, echte feinere oder gröbere, oft reich entwickelte endoplasmatische Ausläufer, Verästelungen und Anastomosen der Zellen im Gelenkknorpel und in Abschnitten des Gelenkknorpels, die in früheren Stadien sowohl des fötalen als des postfötalen Lebens entschieden keine derartigen Verästelungen zeigen, zu erscheinen beginnen. Ich muss indes darauf aufmerksam machen, dass dieses eigentümliche Verhalten wesentlich im Gelenkknorpel vorkommt (der ja auch sonst auf verschiedene Weise eine Sonderstellung einnimmt) und namentlich bei grösseren Tieren recht zum Vorschein kommt, während ich es nicht einmal annähernd so ausgesprochen z. B. im Laryngo-Trachealknorpel oder Rippen-

1) Universelle radiäre Endoplasmaverbindungen sind ganz sicherlich auch in diesen Stadien nicht anzutreffen; ich vermochte wenigstens nicht, welche Hilfsmittel ich auch gebrauchte, solche zu gewahren; im Gegenteil deutet alles darauf hin, dass der stark entwickelte Zusammenhang der Zellen des Vorknorpels mittels vieler feineren Verbindungen durch die Ausbildung des Ektoplasmas (der Grundsubstanz) wirklich aufgehoben und nicht nur maskiert wird. Man gedenke, wie leicht der ganz junge fötale hyaline Knorpel bei Druck zerbricht und die Zellen mit oder ohne anhaftende Schichten von „Grundsubstanz“ isoliert werden.

knorpel angetroffen habe, selbst wenn in diesen Knorpeln an gewissen Lokalitäten auch analoge Erscheinungen auftreten können. Besonders in der Umgebung der „Markraumbildungen“, der Gefässkanäle und an weicheren Stellen kann man erwarten, viele interessante abweichende Verhältnisse der Knorpelzellen<sup>1)</sup> zu finden, hierunter eine starke Neigung wirklich echter Knorpelzellen, sich zu verästeln und lange, oft stark fibrillierte Protoplasmaausläufer in die Knorpelgrundsubstanz zu entsenden, miteinander zu anastomosieren und eventuell zu echten Bindegewebszellen zu werden (Fig. 7). Diese und andere merkwürdige Verhältnisse werde ich anderswo näher erörtern<sup>2)</sup>. Dass auch in jüngerem Knorpel unverästelte Knorpelzellen unter pathologischen Verhältnissen, Entzündungen u. dgl., sich verästeln und in echte Bindegewebszellen, wie auch in „Rundzellen“ übergehen können, ist ja bekannt. Übrigens muss man mit seinem Urteil über die Form der Zellen überall behutsam sein, um sich nicht von Pseudostrukturen der Grundsubstanz, von Schrumpfungen, Vakuolisierung und ähnlichen Änderungen des Endoplasmas täuschen zu lassen, die gelegentlich sehr wohl bei

---

1) Dass es allein Bindegewebszellen sein sollten, die mit den Gefässen in den Knorpel hineinwachsen und abgeänderte Knorpelzellen simulierten, davon ist gar nicht die Rede, was ich ausdrücklich betonen muss.

2) Das Verhalten der Knorpelzellen bei der endochondralen Verknöcherung und bei der direkten metaplastischen Verknöcherung des Knorpels, die gelegentlich vorgefunden wird, wie ich ebenso wie andere Forscher, mit Sicherheit beobachtet habe (vgl. gleichfalls Masquelin (1878), Ch. Julin (1880) u. m. a.), ferner die Verknöcherung des Epiphyseknorpels bei Rachitis (Koelliker), zeigt uns auch, dass entschieden unverästelte Knorpelzellen anfangen können, sich zu verästeln und mit Bindegewebszellen, die mit den Gefässen eindringen, in Kommunikation zu treten, u. s. w., und dass Knorpelzellen zu verästelten Knochenzellen werden können (in Knochen mit „grob fibrillierter, geflochten angeordneter“ Grundsubstanz). Bei der Bildung von Markräumen oder der Bildung der sogenannten Emollitions foci im Knorpel, ohne Zusammenhang mit der Verknöcherung, ferner unter gewissen pathologischen Verhältnissen kann man deutlich sehen, dass ursprüngliche, unzweifelhafte Knorpelzellen auch als „Chondroklasten“ wirken, analog den Osteoklasten, freilich ohne morphologische Ähnlichkeit mit letzteren zu zeigen.

Reagenzwirkung auf viele Zellen auftreten können, namentlich in den tieferen Schichten und vorzüglich bei Zellen, die weniger konsistent, weniger protoplasmareich, sind, dafür aber mehr Flüssigkeit enthalten. Es können sich dann Artefakte bilden, die u. a. Zellverästelungen, Ausläufer u. s. w. simulieren. Ich habe durch Vergleich und Studium der lebenden Zellen und der bei Reagentien (Fixation u. dgl.) auftretenden Bilder ziemlich umfangreiche Kontrolluntersuchungen dieser Erscheinungen angestellt, um mich bei der Beurteilung der Bilder vor Verwechselungen u. a. mit falschen Zellverästelungen zu sichern. Denn von den vielen Fällen abgesehen, wo man die Echtheit der Zellausläufer und deren Präexistenz im lebenden Gewebe durchaus nicht bezweifeln kann, entweder weil man sie schon in diesem zu gewahren vermag, oder weil die Bilder der Zellausläufer, das gegenseitige Verhalten der Zellen im fixierten Gewebe und gewisse Anordnungen der Grundsubstanz so sicher, wie nur irgend bei histiologischen Bildern die Möglichkeit eines Irrtums ausschliessen, kann man doch andere Fälle finden, wo man erst nach systematischer Anwendung der verschiedenen Reaktionen und Hilfsmittel, nicht zum wenigsten einer sorgfältigen Kritik und Diskussion der Bilder und eventuell des Vergleichens mit anderen Geweben, die Frage zu entscheiden vermag, ob die Struktur rücksichtlich der Zellverästelung und ähnlicher Verhältnisse eine echte, präformierte ist oder nicht. Endlich kann es Fälle geben, die unentschieden bleiben müssen; dann unterliess ich stets, Schlüsse aus denselben zu ziehen. Sicherlich findet sich aber unter den in der Litteratur beschriebenen (und zum Teil abgebildeten) Fällen verästelter Knorpelzellen (z. B. „innerhalb der Zellkapsel“) vieles, was meinen Erfahrungen zufolge aus verschiedenen Gründen wohl nicht als zuverlässig zu betrachten ist<sup>1)</sup>. Der Umstand, dass einige, ja

---

1) Ich lasse mich gar nicht auf die speziellen Fälle ein, da dies allzu weitläufig werden würde, ohne besonderen Nutzen zu bringen.



vielleicht die meisten Zellen eines Schnittes wirklich wohlkonserviert<sup>1)</sup> und dem Anschein nach naturgetreu sind, schliesst bekanntlich nicht aus, dass andere Zellen desselben Schnittes sogar erheblich deformiert sein können. Hier ist nichts anderes zu thun, als sich die möglichst eingehende Kenntnis der Veränderungen zu verschaffen, welche die Fixationsmittel, Reagentien und fremde Einwirkungen überhaupt im Untersuchungsobjekt erzeugen.

Man braucht nicht zu den Kephelopoden und den Selachiern zu gehen, um die verästelte Form der Knorpelzelle reich entwickelt zu finden. Bei Säugetieren kann man, wie oben gesagt, namentlich im Gelenkknorpel grösserer Tiere, sehr schön verästelte und reich anastomosierende Zellen antreffen, nicht nur bei älteren, sondern auch bei jüngeren Tieren. Als ein gutes Beispiel empfehle ich z. B. Gelenkknorpel aus der Fusswurzel<sup>2)</sup> (Talus u. s. w.) eines mittelgrossen Kalbes; man kann hier nicht nur in den Übergangsstellen zur Gelenkkapsel, sondern auch weiter nach innen an den Gelenkflächen (den mehr oberflächlichen Schichten) echten hyalinen Knorpel finden, der verästelte Zellen mit langen Ausläufern und Anastomosen im Gemisch mit unverästelten enthält (Fig. 22); in der Tiefe sind die Zellen bei jungen Tieren aber nicht verästelt. Nahe am Rande des Gelenkknorpels, jedoch noch immer in echtem hyalinem Knorpel, entsenden die Zellen z. B. aus einer kernhaltigen mittleren Partie, die einer gewöhnlichen rundlichen oder länglichen Knorpelzelle ähnelt<sup>3)</sup>, eine grössere oder geringere

1) Umgekehrt geht es natürlich auch nicht an, wie G. Thin (267) es z. B. bei der Untersuchung eines Enchondroms that, ohne weiteres anzunehmen, ein verschiedenes Fixationsmittel für zwei Stellen derselben Geschwulst habe an der einen Stelle unverästelte Zellen, an der anderen dagegen verästelte hervorgebracht.

2) Diese Partie ist in den Schlachthäusern leicht ganz frisch und „überlebend“ zu haben.

3) Die Schnitte müssen Flächenschnitte und nicht zu dünn sein, denn sonst bekommt man die Ausläufer nicht im Zusammenhang mit der mittleren

Anzahl gröberer und feinerer, oft reich verästelter Ausläufer und Anastomosen, die zum Teil von einer stärker lichtbrechenden, als eine Art Kapselschicht differenzierten Schicht der Grundsubstanz umgeben sind (vgl. Fig. 22); in den Schichten ein wenig unter der Oberfläche bilden die Zellen häufig ein ganzes, sternförmiges, anastomosierendes Netzwerk. Je näher wir der eigentlichen Gelenkkapsel kommen, um so mehr wird der Übergang der Grundsubstanz in das gewöhnliche fibrilläre Bindegewebe vorherrschend und erhalten die Zellen Formen wie in diesem. Man vergleiche auch Hammars Beschreibungen l. c.

Verästelte Zellen aus den Randpartien der Gelenknorpel waren schon längst bekannt, wie auch Hammar hervorhebt, wenn auch nur in den besonders hervortretenden Fällen. Man sehe z. B. G. Retzius (204). Unter anderen Autoren nenne ich van der Stricht, obwohl seine Abbildungen keine rechte Vorstellung von dem Reichtum an Zellverästelungen geben, den man wirklich findet. Die eigentlichen Gründe, weshalb wir in einigen Knorpeln verästelte und eventuell anastomosierende Endoplasmazellen finden, in anderen aber nicht, entziehen sich meines Erachtens vorläufig durchaus unserer Kenntnis. Natürlich kann man mehr oder weniger wahrscheinliche Erklärungen hiervon aufstellen; entweder sind diese aber zunächst eine Art Umschreibung der Thatfachen oder maskierte teleologische Auslegungen, die für die Histiologie wohl keinen besonderen Wert besitzen, oder auch passen sie dem Anschein nach ganz gut für einige Fälle, nicht aber für andere. Allerdings können wir einen gewissen Zusammenhang mit den Ernährungsverhältnissen,

Strecke, und man glaubt dann, gewöhnliche unverästelte Knorpelzellen vor sich zu haben. Man thut am besten daran, die Zellen zu färben, z. B. mit Methylviolett und Differenzierung in Salzglycerin, oder mit Eosin und darauf Abspülen und Differenzierung in Salzglycerin (Hammar), danach eventuell Zusatz von ein wenig Alaunglycerin. Übrigens kann man mit einer guten Immersionslinse auch ohne Färbung einen grossen Teil der Verästelung sehen. Die Goldmethode (Ranvier) lässt sich ebenfalls anwenden.

den mechanischen Bedingungen, dem Alter u. s. w. vermuten; bei unserem jetzigen Wissen erscheint es mir aber, aufrichtig gesagt, zunächst als „zufällig“, d. h. unerklärlich, dass wir bald eine, bald eine andere Form der Zellen finden<sup>1)</sup>. Ein anderes ist, dass man im einzelnen Falle oft die spezielleren Vorgänge, Entwicklungsverhältnisse u. s. w. nachzuweisen vermag, aus denen die gegebene augenblickliche Zellform resultiert.

### D. Pseudostrukturen.

Die Knorpelgrundsubstanz ist wegen ihres eigentümlichen Baues mit sehr feinen Fibrillen, filzig in eine stark wasserhaltige Kittsubstanz eingelagert, der Bildung von Pseudostrukturen stark ausgesetzt, die von verschiedenen Forschern als echte präformierte Strukturen des Knorpels beschrieben worden sind, und die bei vielen verschiedenen<sup>2)</sup> Behandlungen zum Vorschein kommen sollten. Ich hatte schon früher Gelegenheit, diese Verhältnisse zu berühren und einige derselben zu besprechen. Auf

---

1) Die von Hammar l. c. S. 867 f. geäußerte Vermutung, dass „ungünstige äussere Verhältnisse“ der Zellen, z. B. eine mehr resistente Grundsubstanz, das stärkere Auswachsen der Ausläufer der kurzverästelten Zellen hemmen könnte, mag in einigen Fällen möglicherweise richtig sein; ich für meine Person habe jedoch kein Anzeichen zu finden vermocht, dass eine solche, teilweise mechanische Erklärung sich anwenden liesse, namentlich nicht in grösserem Umfang. Ich glaube nicht, dass die grössere oder geringere Resistenz der Grundsubstanz (man nehme diesen Begriff nun in mechanischem oder auch zugleich in chemischem Sinne) direkten Einfluss auf die Zellverästelung in der Bindegewebsgruppe hat. In der weichsten hyalinen Grundsubstanz (so in fötalen Knorpeln) sind die Zellen ja ziemlich unverästelt, und im Knochengewebe und Dentin haben wir verästelte Zellen! Denn dass die Kanäle für die Ausläufer der Knochenzellen nicht ausschliesslich in der Grundsubstanz ausgespart werden, dass die Ausläufer der Knochenzellen sich hingegen selbst während der Entwicklung den Weg in bereits gebildeter Knochensubstanz bahnen, ist meiner Ansicht nach keinem Zweifel unterworfen. Die Verhältnisse sind hier wahrscheinlich wie überall komplizierte Resultate koordinierter Prozesse und „Rücksichten“, die wir einstweilen nicht aufzuklären im stande sind.

2) Vgl. u. a. van der Strichts Zusammenstellung der Methoden.

eine ausführliche Besprechung aller hierher gehörenden Fragen kann ich mich nicht einlassen, da diese Probleme, die mit Unrecht eine gar zu grosse Rolle gespielt haben, jetzt nicht mehr so sehr in den Vordergrund treten; ebensowenig kann ich alle verschiedenen Benennungen und Abweichungen der Beschreibung, Darstellung u. s. w. herzählen, die wichtigsten Pseudostrukturen will ich indes in Kürze nennen, ohne eine nähere Beschreibung derselben zu geben. Den meisten Histiologen sind sie gewiss wohlbekannt, überdies wurden sie sehr ausführlich besprochen z. B. von Flesch (65) (1880) und von van der Stricht (254) (1887), auf deren Artikel ich deshalb zur Orientierung verweisen muss, ausser den unten genannten Autoren.

Als Pseudostrukturen des Knorpels sind zu bezeichnen die **Bubnoffschen** „Linien“ oder Gewebsspalten, Heitzmanns „Zellausläufer“, Spinas, Sproncks, Zuckerkandls „Fibrillen“ und „Zellausläufer“, Budges „Saftkanäle“ und radiäre Kanäle nebst den anderen Strukturen, die von verschiedenen Autoren, z. B. Julius Arnold, A. Vogel, M. Wolters als „Saftbahnen“ und „weniger dichte Stellen“ der Grundsubstanz u. s. w. gedeutet worden sind. Ferner ist Babers (9)<sup>1)</sup> fibrilläre Knorpelstruktur eine reine Pseudostruktur; dasselbe gilt von einigen der „Fibrillen“ van der Strichts, ferner von einem grossen Teile seiner Lamellation und von allen seinen „faisceaux intercapsulaires“, die übrigens auch von anderen Forschern beschrieben worden sind, z. B. von Lioni. Renauts „substance trabéculaire“, „formation cloissonante“ wie auch „Flesch' „Linien“, Lamellarstruktur und radiäre Struktur des Knorpels sind ebenfalls Pseudostrukturen.

Solger wies in verschiedenen Abhandlungen nach, dass

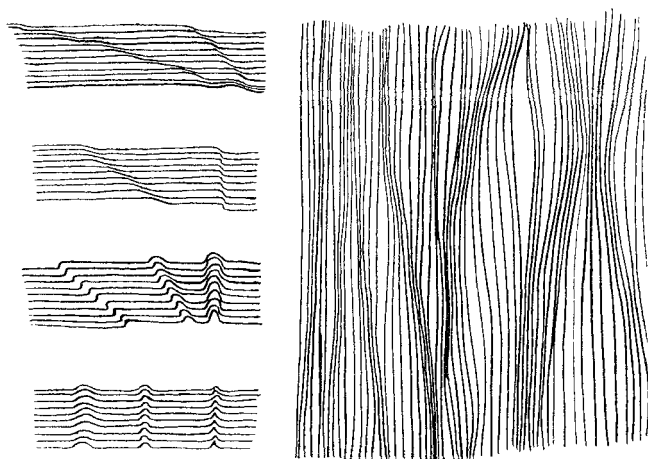
1) Babers Abbildungen zeigen deutlich, dass allenfalls die von ihm abgebildeten „Fibrillen“ Pseudostrukturen sind. Dieses Beispiel zeigt ebenso wie so viele andere, dass nicht alles, was der betreffende Autor für Fibrillen erklärt, ohne weiteres als echte Fibrillen acceptiert werden kann.

eine ganze Reihe von Bildern, die durch Alkoholwirkung entstanden, die sogenannten „Alkoholfasern“, Schrumpfungerscheinungen im Knorpel sind und an einigen Stellen ersichtlich von Faltungen echter Fibrillen herrühren.

Hammar äusserte sich später (l. c.) ganz in derselben Richtung. Ich selbst habe alle Methoden der verschiedenen Forscher geprüft, soweit möglich ihre Untersuchungen wiederholt, zugleich die betreffenden Strukturen mittelst meiner eigenen Methoden untersucht und überdies Knorpelstückchen und Knorpelschnitte studiert unter den verschiedenartigsten Bedingungen, Einschrumpfen, Aufquellen u.s.w., welche künstliche Produkte der verschiedensten Art hervorbringen konnten. Ich ging systematisch die Einwirkung unserer Fixationsmittel auf den Knorpel durch, und als Ergebnis dieser langwierigen und oft langweiligen Untersuchungen kann ich auch ganz entschieden behaupten, dass alle von mir als Pseudostrukturen bezeichneten Strukturen durchaus keine echten präformierten Strukturen der Knorpelgrundsubstanz repräsentieren.

Eine andere Sache ist es, dass derartige Pseudostrukturen der ganzen eigentümlichen Struktur der Knorpelgrundsubstanz zufolge in letzterer prädisponiert sind. Man kann nämlich in den allermeisten Fällen (von einem Teile der sogenannten Lamellation abgesehen) sowohl bei direkter Beobachtung des ungefärbten Schnittes als nach Einwirkung verschiedener Zusätze auf diesen und ausserdem am deutlichsten nach meinen Färbungen bemerken und nachweisen, dass die Pseudostrukturen teils auf sowohl quer- als schrägliegenden Faltungen der echten, äusserst dünnen Knorpelfibrillen, teils auf deren Verdichtungen beruhen, indem die Fibrillen sich in grösserer oder geringerer Anzahl aneinander legen (sowohl mehr in der Querrichtung als in der Längsrichtung mit allen möglichen Variationen, und kürzere oder längere Strecken hindurch).

(Schema 1—5, auch Fig. 1 und 5.)<sup>1)</sup> Derartige Agglomerate simulieren dann oft eigentliche Fibrillen oder Bänder oder Flächen, Lamellation, Netzwerk u. s. w. Zuweilen verlaufen diese Bildungen in derselben Richtung wie die wirklichen echten, viel dünneren Fibrillen, zuweilen und zwar am häufigsten kreuzen sie diese unter sehr verschiedenen Winkeln. — Da wir Mittel zur Dar-



Schema 1—5.

stellung der echten Fibrillen besitzen, kann man bei sorgfältiger Untersuchung deren Verhalten zu den Pseudostrukturen konstatieren.

Es ist leicht zu verstehen, dass die Aufhebung der natürlichen Spannungsverhältnisse im Knorpel die durch Reagenzwirkung, durch Zerschneidung von Knorpelstückchen u. s. w. stattfindet, das Entstehen solcher künstlichen Produkte veran-

<sup>1)</sup> Die vorliegenden Zeichnungen sollen nur einzelne der wichtigsten Arten veranschaulichen, wie derartige Pseudostrukturen in der Längs-, der Querrichtung und in schräger Richtung zum eigentlichen Fibrillenverlauf entstehen. Es gibt natürlich in Wirklichkeit eine Unendlichkeit von Variationen, und da namentlich die Fibrillen verhältnismässig viel dünner sind und viel dichter aneinander liegen, wird es leichtverständlich, dass die Pseudofibrillen und Pseudostrukturen weit mehr im Schnitte als im Schema illudieren.

lassen kann. Bei ungleichen Schrumpfung der verschieden stark wasserhaltigen interfibrillären Substanz, zum Teil auch der Bindegewebsfibrillen, erhalten wir dann alle möglichen verschiedenen Erscheinungen, entweder so dass die Bindegewebsfibrillen des Filzes näher aneinander rücken (eventuell so dicht, dass man zwar ein Summationsbild und eine starke Färbung derselben bekommen kann, nicht immer aber allenthalben die einzelnen, feinsten Fibrillen zu unterscheiden vermag), oder so dass sie von der basophilen amorphen Grundsubstanz weiter auseinander gedrängt werden.

Das Resultat wird oft, dass verdichtete Bindegewebspartien (also eventuell stärker acidophile Partien) regelmässig oder unregelmässig in Abschnitten des Knorpels mit anderen Partien abwechseln, die entweder mehr oder weniger acidophil oder auch stärker basophil sind und aus mehr amorpher, wenn auch nicht immer fibrillenloser Kittsubstanz<sup>1)</sup> bestehen. Wegen der filzigen Anordnung der Bindegewebsfibrillen können derartige Verschiebungen, Umlagerungen und Zusammenlagerungen sowohl des Bindegewebes als der Kittsubstanz äusserst leicht entstehen. Die Elastizität und die mechanischen Funktionen des Knorpels lassen sich ja sehr gut aus dem histiologischen Bau der Grundsubstanz erklären, ebenfalls die Entstehung der Pseudostrukturen, und diese sind als Anzeichen aufzufassen, dass die natürlichen Spannungs- und Lagerungsverhältnisse der Grundsubstanz aufgehoben sind<sup>2)</sup>. Die Form und der Umfang ihres Auftretens sind ja äusserst variierend, und es ist unmöglich, die Gründe anzugeben, weshalb speziell diese

1) Ich mache ausdrücklich darauf aufmerksam, dass die Knorpelstückchen selbstverständlich ihre äussere Form gar nicht auffallend verändert zu haben brauchen (obschon dies gewöhnlich der Fall ist), und dass die Grundsubstanz dennoch voll von Pseudostrukturen sein kann.

2) Es ist eine bekannte Sache, dass Pseudostrukturen, wiewohl in geringerem Umfang, in anderem Bindegewebe entstehen können, z. B. die bekannte Querstreifung der Sehnen.

oder jene Form auftritt<sup>1)</sup>. An einer Stelle sind es gleichsam radiär von den Zellen auslaufende „Budgesche Linien“, an einer anderen Stelle gehen sie in „faisceaux intercapsulaires“ über, an einer dritten Stelle haben wir eine grosse Strecke hindurch parallele „Lamellation“<sup>2)</sup>, diese möge nun aus hellen und dunkeln Bändern, wie bei Lapisbehandlung, oder nur aus stärker und schwächer lichtbrechenden Streifen bestehen oder auch, wie nach Färbung, abwechselnd acidophile und basophile Schichten enthalten u. s. w.

Was speziell die „Lamellation“ oder, wie sie oft ganz bezeichnend genannt wird, die „Bänderung“ — die Abwechselung heller und dunkler Bänder von verschiedener Dicke — betrifft, so hat man die Flesch'schen Bänder oder Streifen oder Lamellen von einer anderen, supponiert echten Lamellation unterschieden, die u. a. weit feiner sei und aus Fibrillen bestehe, welche zu „Lamellen“ vereint würden, während Flesch's Bänder mehr parallel, gleichartig, dicker u. s. w. seien und die „echten Fibrillen oder Lamellen“ oft senkrecht überqueren sollten.

1) Nicht selten sieht man, dass gewisse Pseudostrukturen sich gleichsam um die „Zellen“ als Centren gruppieren, gleichsam von diesen ausstrahlen. In anderen Fällen bekümmern sie sich offenbar nicht um dieselben. Man bedenke, dass die Zellen, die Knorpelhöhlen, eine Unterbrechung der Grundsubstanz repräsentieren, und dass häufig auch die Anordnung der Fibrillen in gewisser Beziehung zu den Zellen steht. Es scheint nicht unwahrscheinlich zu sein, dass solche „differenten“ Stellen gelegentlich Knotenpunkte werden können.

2) Das ganze Problem von dem Auftreten und der Form der Pseudostrukturen ist offenbar ein ziemlich verwickeltes; erst wenn wir genauere Aufschlüsse über die Spannungsverhältnisse, die feinere Verteilung von Zug und Druck, indifferente Räume u. s. w. in den Knorpeln erwerben und zugleich erfahren, welchen Einfluss unsere Reagentien im gegebenen Falle auf die osmotischen Verhältnisse und die Spannungsverhältnisse des Gewebes haben, werden wir einige Einsicht in die Ursachen erhalten, welche das Auftreten der verschiedenen Formen von Pseudostrukturen bewirken. Oft zeigen die Pseudostrukturen ja eine gewisse Regelmässigkeit in ihrem Auftreten; vielleicht werden wir umgekehrt dereinst im stande sein, aus den Pseudostrukturen oder aus gewissen Formen derselben die mechanischen Spannungsverhältnisse des Knorpels zu berechnen.



Es verhält sich nun ganz richtig, dass die zuerst von Flesch (und später von anderen, z. B. Thin) ausführlich beschriebene Erscheinung im Knorpel mit einer echten Lamellation nicht das Geringste zu schaffen hat; es ist dieselbe, wahrscheinlich aus mehr physischen Gründen regelmässig periodisch auftretende parallele Streifung oder „Bänderung“, die wir ganz genau anderswoher kennen, und die z. B. Nervenfasern und Nervenzellen (von Jakimowitch [111] beschrieben und von ihm für eine wirkliche Struktur gehalten) als Zebras erscheinen lässt, oder die wir durch Silberbehandlung oder durch Golgis Methode gelegentlich auch in thatsächlich amorphen Exsudaten, Sekreten, Koageln im Blute und in Lymphgefässen, an Leim<sup>1)</sup> u. s. w. zum Vorschein bringen können.

Die Ursache dieser Erscheinung ist bis jetzt noch nicht recht aufgeklärt, sie hat aber sicherlich nichts mit einer präformierten Schichtung der histologischen Struktur zu schaffen. Auch die andere prätendierte Lamellation, die z. B. van der Stricht beschrieben hat, oder die Tillmanns (271)<sup>2)</sup> in seiner Fig. 5 als „balkenartige Anordnung der Fasern“ beschreibt, vermag ich aber nicht als echt anzuerkennen. In beiden Fällen sind es Pseudostrukturen, Agglomerate und (mehr oder weniger periodische) Verdichtungen der Grundsubstanz, den oben genannten analog, und mit einer echten lamellären Anordnung

1) Prof. Chievitz hat mir mitgeteilt, dass er seiner Zeit, als viel von den verschiedenen Pseudostrukturen die Rede war, ähnliche lichtbrechende Linien durch Behandlung des Leims mit Chromsäurelösung hervorzubringen vermochte. Dies gelang auch mir, und ausserdem mit Alkohol; auch in Celloidin, das die Knorpelstückchen umgab, konnte ich gelegentlich dergleichen Erscheinungen antreffen, nicht selten setzten sich dann einige der Pseudostrukturen des Knorpels kontinuierlich in denen des Celloidins fort, — ein Zeichen, dass sie zum Teil unter dem Einflusse des Äther-Alkohols und während der Härtung des Celloidins entstanden waren.

2) 1877. Die anderen Abbildungen Tillmanns zeigen freilich „lamellenartige Anordnung“, seine „Fibrillen“ sind aber teils Bündel von Fibrillen, teils Agglomerate.

der Fibrillen, wie wir sie im eigentlichen Bindegewebe oder im Knochengewebe finden, haben diese gar nichts zu thun. Ich muss ausdrücklich hervorheben, dass z. B. sowohl Tillmanns als van der Stricht es versuchten, eine ausgedehnte Analogie gewisser supponierter Strukturen, Lamellen und Fasernverläufe u. s. w. in den Knorpeln mit gewissen der von v. Ebner (46) (1876) im Knochengewebe nachgewiesenen Typen für die Anordnung von Fibrillen durchzuführen (parallel fibrilliert, netzförmig oder geflochten und lamellenartig angeordnet u. s. w.), was an mehreren Orten offenbar suggerierende Wirkung auf ihre Auffassung der Strukturen (und Pseudostrukturen) der Knorpelgrundsubstanz geübt hat.

Eine lebhaft debattierte Frage waren die Saftbahnen. Dass solche vorzufinden sein müssen, ist selbstverständlich, da das Gewebe und die Zellen ja sicherlich Stoffwechsel haben. Ein anderes ist, ob es gewisse bestimmte Wege giebt, auf denen die „Saftströmungen“ vorzugsweise stattfinden, und ob solche Saftbahnen eventuell ihre eigenen Begrenzungen und Wandungen haben. Man hat die Lösung dieser Fragen auf verschiedene Weise versucht, Budge z. B. durch Injektion von in Chloroform, Benzin oder Terpentin aufgelöstem Asphalt, teils in den Knorpel selbst, teils in dessen Umgegend; auch hat man versucht, die „Saftkanäle“ in Analogie mit den Knochenkörperchen u. s. w. mit Luft zu füllen; ferner Imprägnation mit Silber oder Gold; ebenfalls Darstellung und eventuell Isolierung der vermuteten Saftkanäle durch Behandlung mit Osmiumlösung, Chromsäure in verschiedenen Konzentrationen u. dgl. Man hat versucht, dem lebenden Tiere entweder in die Gefässe oder ins Gewebe fein verteilten Zinnober zu injizieren (Reitz u. a. m.), oder die sogenannte physiologische Selbstinjektion durch Infusion indigoschwefelsauren Natrons in ziemlich grosser Menge (Arnold [7] 1878 u. a. m.). Endlich hat man geglaubt, die „Saftbahnen“, die „Gewebspalten“ durch

Färbung z. B. mit Hämatoxylin und Pikrinsäure darstellen zu können (Wolters l. c.) u. s. w. Ich verweise rücksichtlich einer Übersicht über die verschiedenen Methoden auf van der Strichts oben citierte Abhandlung.

Dass man (wie Budge) durch direkte Injektion, z. B. mit Asphaltbenzin in den Gelenkknorpel, und auf andere Weise, indem man z. B. die Gelenkhöhle mit Injektionsmasse füllt und darauf das Gelenk bewegt, Injektionsmasse in den Knorpel hineinpresseu kann, am leichtesten in der Nähe der Gelenkkapsel, zum Teil auch in die Zelhöhlen und die Zellen, ist ganz gewiss. Ebenfalls hat man (wie Reitz) nach Injektion fein verteilten, aufgeschlemmten Zinnober in die Vena jugularis des Kaninchens im Knorpelgewebe und in den Zellen Zinnoberkörnchen nachweisen können<sup>1)</sup>. Bei Arnolds Versuchen mit Infusion indigoechwefelsauren Natrons fand sich der blaue Farbstoff auch im Knorpel (und in den Knorpelkapseln)<sup>2)</sup>. Die Versuche mit Imprägnation und direkter Injektion, die übrigens keineswegs immer gelingen, sagen uns, streng genommen, nicht, ob die von der Injektionsmasse eingeschlagenen Wege auch wirklich von den Saftströmen im lebenden Gewebe benutzt werden, und die Versuche, die Budge u. a. m. gemacht haben, die Saftkanäle durch chemische Reagentien oder durch Färbungen darzustellen, eventuell zu isolieren, beweisen nicht das Geringste. Denn dass Pseudostrukturen, Verdichtungen u. dgl. andere Lösungsverhältnisse zeigen, z. B. retardierte Löslichkeit in konzentrierter Chrom-

1) Rief man zugleich Croup hervor, indem man 1 Tr. Ammoniakwasser in die Trachea einführte, so fanden sich im Knorpel viel mehr Zinnoberkörnchen, als wenn man diesen Kunstgriff unterliess, dessen Bedeutung R. selbst in der möglicherweise vermehrten Saftströmung zu finden glaubt.

2) Arnolds Versuche wurden von Vogel u. m. a. nachgemacht. Auf die Methodik kann ich mich nicht einlassen; ich bemerke nur, dass der Farbstoff nach der Infusion im Knorpel fixiert wurde, indem das herausgenommene Gewebe in starken Alkohol kam, oder indem man einige Zeit nach der Infusion Alkohol in die Gefässe einspritzte.

säure, kommt nicht in Betracht, ist im Gegenteil sehr wahrscheinlich. Anders dagegen mit den vitalen Injektionen; namentlich die Wanderungen der Zinnoberkörnchen liefern einen positiven Beweis für das Vorhandensein von Saftströmungen. Die Versuche mit dem indigoschwefelsauren Natron zeigen uns auch weiter nichts, als dass dieser Stoff auch in den Knorpel einzudringen vermag, beweisen aber durchaus nicht, dass diejenigen Stellen, wo wir namentlich nach der Fixation in Alkohol den Farbstoff lokalisiert finden, die Saftbahnen bezeichnen, jedenfalls keine bestimmten Saftbahnen.

Da nun ferner eine Hauptlokalisation des indigoschwefelsauren Natrons, wie Arnolds Fig. 2<sup>1)</sup> zeigt, sich deutlich in den Räumen zwischen den festgestellten Pseudofibrillen<sup>2)</sup> befindet, welche letzteren Budges einerseits als die speziellen Saftbahnen beschreibt, und da das (blaue) Netz, das bei Arnold die Knorpelzellen zwischen der Zelle und der inneren Fläche der Knorpelkapsel umspinnt (siehe Fig. 6 und 8), sich durch viele andere Mittel darstellen lässt und in vielen Fällen tatsächlich ein künstliches Produkt ist, erhöht dies auch nicht eben die Gewissheit, dass die besprochenen Bilder uns die präformierten „Saftkanäle“ zeigten. Auch die radiäre Anordnung der Bahnen des Saftwechsels, die man (in der Beziehung zu den Zellen und den Gefässkanälen) zu finden glaubte, hat nicht viel zu sagen. Man kann sich eigentlich wohl selbst sagen, dass der Saftwechsel schwerlich in den Bindegewebsfibrillen vorgeht, aller Wahrscheinlichkeit nach hingegen in der interfibrillären amorphen „Kittsubstanz“, und am leichtesten natürlich, wo diese am weichsten und reichlichst vorhanden ist, und wo es die wenigsten Bindegewebsfibrillen giebt. Man kann sich ferner sehr wohl denken, dass der Stoffwechsel zu gegebener Zeit auch vorzugsweise

1) l. c. 1878.

2) Arnolds und Budges Beschreibungen und Bilder ähneln sich ebenso, wie ein negatives und ein positives Bild der Pseudofibrillen.

auf gewissen, nicht scharf abgegrenzten Wegen stattfände; was speziell die Zellen betrifft, so ist es, wenn diese einigermassen rundlich oder unverästelt sind, ganz gut denkbar, dass der Saftwechsel zu und aus den Zellen mehr oder weniger radiär verlief. Auch stellt sich nichts der Annahme entgegen, dass die Saftbahnen in dem Sinne, in welchem ich diesen Begriff hier nehme, sich innerhalb nicht gar langer Zeiträume verschieben könnten und u. a. ihre Lage ändern müssten, je nachdem die mechanischen Verhältnisse, denen der Knorpel unterworfen ist, sich wegen der veränderten Lage der Umgebungen, wegen Muskelanziehungen und wegen Bewegungen der Gelenke sich änderten.

Andererseits muss man sagen, dass alle Versuche, Saftbahnen durch eigene Wände abgegrenzt in echtem hyalinen Knorpel<sup>1)</sup> zu finden, vorläufig gescheitert sind; die Bilder, die man in dieser Beziehung erhalten hat, sind als mit dem identisch zu bezeichnen, was auf anderem Wege als Pseudostrukturen, aber nicht Kanäle, festgestellt wurde oder auch aufzufassen als durch die eigenen Spannungsverhältnisse und den histiologischen Bau des lebenden Gewebes zwar prädisponiert, jedoch nicht präformiert. Es ist natürlich nicht nötig, ferner darauf aufmersam zu machen, dass auch die Theorie von den präformierten Gewebsspalten in der Knorpelgrundsubstanz ohne Belang ist in dem Sinne, dass Bilder wie z. B. das eines gelben Netzwerkes, das Wolters (292) durch Färbung mit Hämatoxylin-Pikrinsäure im Knorpel erhielt, mehr lockere Stellen oder Saftbahnen angeben sollten. In einer Kritik dieser Arbeit hat Solger (237) 1891 nachgewiesen, dass Wolters<sup>2)</sup>

1) Ganz anders verhält es sich im Faserknorpel oder im Übergange aus hyalinem Knorpel in Bindegewebe (wie an den Grenzen des Gelenkknorpels); hier kann man die schönsten Blut- und Lymphgefäße nachweisen.

2) Weder Wolters Erwiderung der Kritik (im Arch. f. mikr. Anat., Bd. 38, S. 618—621, 1891) noch das „eigentümliche Verhalten des Netzwerkes zu den Gefäßen, dem Perichondrium und den Knorpelzellen“ kann seine Ansicht retten.

Theorie, diejenigen Teile der Knorpelgrundsubstanz, deren Färbung mit Pikrinsäure ihm gelungen war, seien besonders lockere Gegenden oder Gewebsspalten, unhaltbar ist; diese Teile sind gerade mehr feste Stellen, nämlich die sogenannten „Alkoholfasern“. — Dies kann ich, wie leicht zu verstehen, völlig bestätigen und überdies hinzufügen, dass allenfalls Wolters Abbildung deutlich zu zeigen scheint, dass mehrere seiner pericellulären, pikrinfarbigten „Saftbahnen“ ganz einfach die wohlbekannten pikrophilen Ablagerungen von Albumoidkörnchen um die Zellen waren.

Mein Resultat rücksichtlich der Saftbahnen im Knorpel wird deshalb, dass eigens abgegrenzte Saftbahnen bisher nicht nachgewiesen worden sind, und dass die ganze Struktur des Knorpels vorläufig sehr wohl die Annahme gestattet, dass der Saftwechsel, in den meisten typischen Hyalinknorpeln wenigstens, wesentlich, mehr oder weniger diffus, durch die interfibrilläre „Kittsubstanz“ hindurch stattfindet.

In aller Kürze muss ich noch ein Paar in den jüngsten Jahren erschienene Theorien von der Struktur der hyalinen Knorpelgrundsubstanz berühren.

Die eine Theorie rührt von A. Spuler<sup>1)</sup> her, der ein feines Netzwerk in der hyalinen Grundsubstanz annimmt. Ich habe anderswo (Anat. Anzeiger, Bd. XVI, S. 422) aus diesem Anlass einige Bemerkungen gemacht und halte es für überflüssig, dieselben weiter auszuführen. Die andere Theorie wurde von O. Bütschli (34)<sup>2)</sup> aufgestellt, der auch in der Knorpelgrundsubstanz ein Kammerwerk („Wabenwerk“) nachweisen zu können glaubt. Seine Angaben beziehen sich u. a. auf den hyalinen Rippenknorpel des Kalbes und auf Knorpel von Sepia off. Er untersucht Korpelstückchen, die nach Behandlung mit

<sup>1)</sup> A. Spuler (245) 1895.

<sup>2)</sup> Man sehe besonders S. 337—339 und 344, wie auch den Atlas, Tafel XVI, Fig. 4—7.

Alkohol von steigender Konzentration bis Alkohol absolutus im Vacuum getrocknet, oder auch aus abs. Alkohol in Xylol übergeführt und im Vacuum getrocknet wurden. Es findet nur geringe Schrumpfung statt. Mit einem Rasirmesser werden feine Schnitte der kreideweissen Masse abgetrennt, und diese werden am besten untersucht, wenn sie schnell in festen Kanadabalsam eingelagert werden<sup>1)</sup>. In solchen Schnitten findet Bütschli nur „einen wabigen Bau“ mit ungeheuer feinen Maschenräumen. Die fibrilläre Struktur sei ein Trugbild, diese bestehe aus den langen Seiten der Maschen, die wiederum der optische Durchschnitt der Wände des Kammerwerks seien. S. 338 heisst es: „Der allgemeine Charakter der wabigen Struktur der Grundsubstanz ist ein mehr weniger faseriger, indem die Wabenräumenchen faserig gereiht sind. Stellenweise findet man eine gewisse Zugrichtung der Faserung durch grössere Strecken oder Schnitte eingehalten, indem sich zwischen den Knorpelzellen faserige Züge erstrecken, die bei schwächerer Vergrösserung auch als gröbere Faserzüge erscheinen können. Letzteres beruht wesentlich darauf, dass dunkler aussehende, anscheinend gröbere Fasern häufig dadurch gebildet werden, dass die Wabenräumenchen gewisser Züge feiner sind und diese daher als dunklere, gröbere Züge in dem lockereren und helleren Wabenwerk der Umgebung imponieren. Genauere Untersuchung mit hinreichend starken Vergrösserungen und an genügend dünnen Stellen klärt hierüber auf und zeigt, dass sich die wabige Struktur ganz gleichmässig und überall durch die Grundsubstanz erstreckt.“ An einzelne Stellen findet Bütschli auch eine (mitunter konzentrische, geschichtete) radiäre Anordnung der Maschenräumenchen um die Zellen. Auch kann er finden, dass die Züge des Kammerwerks sich kreuzen. Die den Knorpel-

---

1) Dass die ganze Methode in hohem Grade geeignet ist, in einem Gewebe wie dem Knorpel Pseudostrukturen zu erzeugen, wird jeder Unbefangene voraussagen können.

höhlen zunächst liegende Grenzschicht wird gebildet aus „einer Lage radiär gestellter Wabenräumen<sup>1)</sup>, die gegen die Höhlen selbst von einer etwas dickeren und dichterem pelliculaartigen Lamelle abgegrenzt wird. (Von mir hervorgehoben.) Diese Grenzlage hat daher ganz die Beschaffenheit eines Alveolarsaumes“; Bütschli meint, dies sei als die einfachste Andeutung der sogenannten Knorpelkapsel zu betrachten. Diese Erscheinungen werden mit den Strukturen analogisiert, die man durch Behandlung der Gelatine mit 0,3% Chromsäure erzielt.

Indem ich glaube, Bütschlis Polemik gegen die Kittsubstanz und die fibrilläre Struktur ruhig übergehen zu können, füge ich nur einige Bemerkungen zu den angeführten Beschreibungen und speziell zu seinen Abbildungen, denn diese zeigen noch besser als die Beschreibungen die wahre Natur von Bütschlis „Wabenwerk“ der Knorpelgrundsubstanz. Wir treffen hier die ganze Auswahl derselben Pseudostrukturen an, die uns schon früher unter anderen Namen wohlbekannt waren. Versuche mit Knorpeln, die nach Bütschlis Methode behandelt wurden, bestätigten dies zur Genüge. Besonders mache ich auf seine Abbildungen (Mikrophotographien) Tab. XVI, Fig. 4—7 aufmerksam. Sein „Wabenwerk“ ist, wie jeder unbefangene Beobachter zugeben wird, einem Kammerwerke eigentlich sehr unähnlich; was er photographiert hat, sind ausschliesslich die bekannten Schrumpfungerscheinungen und Pseudostrukturen, die im Knorpel so leicht dadurch entstehen, dass die Kittsubstanz (die ja ziemlich wasserhaltig ist) zum Teil einschrumpft, und dass die Fibrillen sich auf alle verschiedenen, oben besprochenen Arten aneinander legen oder auseinander weichen, ohne dass die Knorpelstückchen darum stets ihre Form merkbar veränderten. — Ganz dieselben Bilder, die Bütschli erhielt, kenne ich sehr gut von einer Menge

---

<sup>1)</sup> NB. Das von mir erwähnte Retraktionskammerwerk um die Pellicula des Endoplasmas.



Knorpeln. Sehr schön kann man sie z. B. nach Alkoholbehandlung (oder bei anderen Methoden) im Laryngealknorpel des Pferdes oder des Ochsen sehen; mittelst meiner Färbung bin ich nachzuweisen im stande, dass diese Maschenraumwände aus echten Knorpelfibrillen bestehen, indem diese sich, wie gesagt, in gewissen Gegenden dicht aneinander gelegt haben und in anderen dementsprechend auseinander gewichen sind. Diese Fibrillen sind aber viel, viel dünner, als sie sein sollten, wenn sie optische Querschnitte des Bütschlischen Wabenwerks, sogar der feinsten Maschen desselben wären; man kann direkt erblicken, dass die Wände der einzelnen Kammer eine Menge oft ungeheuer feiner, echter Fibrillen enthält, die bald im Längsschnitte, bald im Querschnitte zu sehen sind. Ein anderes ist es aber, dass die gewöhnlich relativ stärkere Dicke der Pseudofibrillen<sup>1)</sup> sehr gut für Bütschli's Theorie passt, was ferner die Beschaffenheit seines „Wabenwerks“ und der anderen Pseudostrukturen charakterisiert. Dass Bütschli in amorpher Gelatine ähnliche Strukturen erhielt, liefert, wie leicht zu verstehen, keinen Beweis für die Echtheit einer Struktur, eher das Gegenteil.

Dagegen finde ich an einzelnen Stellen in der Knorpelgrundsubstanz, z. B. wo diese sich verkalkt hat oder im Begriffe steht, sich zu verkalken, ein echtes (präformiertes) Maschenwerk und Kammerwerk aus Kollagen (Bindegewebe) gebildet. Diese Struktur steht hier durchaus nicht in Widerspruch mit der eigentlich fibrillären Struktur, entsteht aber auf die Weise, dass Kalk sich in Verbindung mit der Kittsubstanz unter der Form grösserer oder kleinerer Körnchen in den Knorpel einlagert, wodurch die äusserst feinen Bindegewebsfibrillen der Grundsubstanz auf kleinere Räume (zwischen der Körnung) zusammengedrängt werden und sich dicht aneinander legen, so dicht, dass man oft die einzelnen Fibrillen nicht überall deutlich

---

<sup>1)</sup> So z. B. der von Spina, Spronek, Zuckerkandl u. s. w. gefundenen.

gewahren kann. Es sind zwischen den Kalkkörnchen also dünnere Platten, Wände und Züge entstanden, die aus membranös kondensiertem (fibrilliertem) Bindegewebe bestehen, welches zum Teil aus seiner engeren Verbindung mit der hier stark basophilen Kittsubstanz gelöst ist; nach Auflösung des Kalks bleibt die mit ihm verbunden gewesene basophile, oft ein wenig albumoid geänderte Kittsubstanz zurück, welche die Räume dieses Bindegewebs- (kollagenen) Kammerwerks gänzlich erfüllt. Die Untersuchung stellt man z. B. so an, dass man vorerst (mit Immersion) den ungefärbten, fixierten, jedoch nicht decalcinierten Schnitt untersucht, eventuell das Maschenwerk abzeichnet, darauf behutsam mit schwacher Salzsäure decalciniert, während man den Schnitt unter dem Mikroskop betrachtet; man wäscht den Schnitt aus, konstatiert das Vorhandensein von Kittsubstanz in den Maschenräumen und färbt dann die Kittsubstanz mit dünnem, schwach salzsaurem Methylenblau. Die Wände des Kammerwerks bleiben ungefärbt, während sein Inhalt an Kittsubstanz sich stark blau färbt. Darauf wäscht man die überflüssige Farbe aus und färbt nun, ebenfalls unter dem Mikroskop, mit Säurefuchsin-Pikrin; das Kammerwerk wird rot. Natürlich kann man, wenn man erst über dieses Verhalten ins reine gekommen ist, die Methode auf verschiedene Weise variieren, z. B. das Kammerwerk allein mit Säurefuchsin-Pikrin färben (an decalcinierten Schnitten) u. s. w. Fig. 23.

Man beachte, dass dieses „kollagene“ Kammerwerk durch die Verkalkung nicht immer gleich stark aus der Verbindung mit Chondroitinschwefelsäureverbindungen losgetrennt wird, sondern zum Teil tinktoriell maskiert sein kann; es lässt sich dann auf gewöhnliche Weise demaskieren. An günstigen Stellen kann man sehen, dass die dünnen Kammerwerkswände aus äusserst feinen, echten Bindegewebsfibrillen zusammengesetzt sind. Die fibrilläre Struktur ist je nach dem Material und der Lokalität bald mehr, bald weniger hervortretend. An der Verkalkungsgrenze

des Epiphyseknorpels findet man zwischen den langen, säulenförmigen Zellenreihen bekanntlich mehr längsverlaufende Züge echter, dickerer isolierter Fibrillen<sup>1)</sup>, denen analog, die man als dünne „Asbestfibrillen“ finden kann; auch diese erweisen sich aber oft als aus noch dünneren Fibrillen zusammengesetzt. Ausserdem findet man, dass es an solchen Stellen häufig ein mehr langgestrecktes Maschenwerk derselben Art wie das oben beschriebene geben kann, dessen Wände also aus dünnsten, kondensierten Fibrillen zusammengesetzt ist, und das mit den obengenannten, gleichfalls vorkommenden, echten, längsverlaufenden Fibrillen nicht verwechselt werden darf. Dieses hier besprochene Maschenwerk lässt sich zum Teil in derselben Klasse anbringen wie ähnliche Formen kondensierten und anscheinend homogenisierten Bindegewebes, die wir z. B. an verschiedenen sogenannten Glasmembranen, *membranae vitreae, propriae*, haben, deren Zusammensetzung aus Fibrillen sich ja auch in vielen Fällen nachweisen lässt. Mit dem von Bütschli beschriebenen und abgebildeten „Wabenwerk“ der Knorpelgrundsubstanz hat dasselbe nichts zu schaffen.

---

<sup>1)</sup> Vgl. v. Brunn (1874).

## Erklärung der Abbildungen auf Tafel 35/44.

Fig. 1. Aus der Cartilago cricoidea eines mittelgrossen jüngeren Hundes. Fixation in Alcohol abs., Färbung mit meiner Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrinmethode. Zeiss Apochromat. 4. 0,95 n. Ap. Komp. Ok. 6., Abbéscher Zeichenapparat. Man sieht das Trabekelwerk und die zonale Differenzierung in der Grundsubstanz. Die „Stacheln“ an der Oberfläche der gelben Zellen (Endoplasmen) sind basophil, blaugefärbt. Ferner sieht man in der Umgebung vieler Zellen die kollagenen rotgefärbten „Manteln“ aus den starren Fibrillen und man sieht zugleich, wie das also gebildete Kollagen weiter in die Grundsubstanz ausrückt, um in veränderter Anordnung an die Ausbildung der roten Trabekeln und Scheidewände zwischen den blauen pericellularen Massen teilzunehmen, teilweise wird dieses Kollagen auch maskiert. Stellenweise finden sich ziemlich zahlreiche rote Verdichtungsstreifen, Pseudofibrillen, „Faisceaux intercapsulaires“, die grösstenteils in einer Richtung verlaufen. Die echten weit feineren Knorpelfibrillen in der Grundsubstanz sind in dieser Zeichnung nicht dargestellt.

Fig. 2. Die zonale Differenzierung des Ektoplasmas (der Knorpelgrundsubstanz) in Beziehung auf ein einzelnes Endoplasma. Diese halbschematische Darstellung zeigt die Reciprocität der rein sauren und der rein basischen Färbung; die obere Hälfte ist mit saurem Methylenblau, die untere mit Säurefuchsin-Pikrin gefärbt. Das Endoplasma hat sich ein wenig retrahiert und zeigt als äussere Begrenzung eine mehr verdickte Lage, — Pellicula. Die gelben Körner in Zone IV—V in der unteren Hälfte der Figur sind Albumoidkörner durch Pikrinsäure gefärbt; in der oberen Hälfte der Figur sind sie ungefärbt geblieben, während die basophile Grundsubstanz zwischen den Körnern stark blaugefärbt ist. Man beachte in der unteren Hälfte die dickeren roten Fibrillen aus unmaskiertem Kollagen, die feineren Fibrillen der Grundsubstanz sind nicht gezeichnet.

Die Figur ist nur insoweit schematisiert, als sie aus den zwei ungleichen Hälften zusammengesetzt ist, im übrigen ist sie eine getreue Nachbildung der gleichen Tinktionsverhältnisse, wie man sie um den einzelnen Zellen im Knorpel eines grösseren Kalbes oder jüngeren Ochsens trifft. Dieser abgebildete Knorpel ist zwar älterer aber nicht eigentlich alter Knorpel.

Fig. 3. Mikrophotographie vom Laryngealknorpel eines mittelgrossen Hundes. — (Vergr. 35 fach.) (C. U. Maaløe phot. Jan. 1896.) Fixation und Färbung wie in Fig. 1. Zeigt die Anordnung des (rotgefärbten) kollagenen Trabekelwerkes in typischem hyalinen Knorpel. (Vergl. übrigens den Text.)

Fig. 4. Trachealknorpel von einem jungen Kaninchen, als Typus eines kleineren Knorpels. Alcohol abs. Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Zeiss: Obj. B. Ok. III. — Die blaue Farbe ist mittelst Alkohol ziemlich stark ausgezogen. Die um die Zellen und Zellengruppen blaugefärbte basophile Grundsubstanz grenzt sich gegen das unmaskierte Kollagen an vielen Stellen ziemlich jäh ab, man bekommt also deutliche „Chondrinballen“ an diesem jungen Knorpel. Unten ist das Perichondrium ganz mitgezeichnet, oben aber nicht. Aus den peripheren Teilen des Knorpels ist die blaue Farbe fast gänzlich ausgezogen.

Fig. 5. Aus der Cartilago cricoidea eines grösseren Hundes, als Typus eines grösseren Knorpels. Alcohol abs. fix., Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Zeiss: Obj. A. Ok. III. Die subperichondralen Partien liegen links, die blaue Farbe ist aus den peripheren Teilen stark ausgezogen, daher die den Zellen zunächst liegende (basophile) Grundsubstanz hier teilweise schwach gelblich gefärbt erscheint, die Zellen nur angedeutet. Etwas unter der Mitte sieht man einen Gefässraum, dessen Umgebung sich in tinktorieller Beziehung den subperichondralen Partien analog verhält. Das unmaskierte Kollagen streckt sich weit in den Knorpel hinein, wird aber teilweise von der (hier nicht ausgezogenen) blauen Farbe optisch verdeckt. Massenhafte rote Pseudofibrillen in der Grundsubstanz strahlen mehr weniger radiär von dem Gefässkanal aus. Man beachte die zonale Differenzierung.

Fig. 6. Aus der Cartilago cricoidea des Kalbes. Formol-Alkohol fix. Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Zeiss: Apochromat 2 1,30, Komp. Ok. 6. Die blaue Farbe ist ziemlich stark ausgezogen, man sieht aber das blaugefärbte Chondromucoid um die gelbgefärbten Endoplasmen, sowie auch weiter aussen in der Grundsubstanz zwischen den Fibrillen. Die Figur zeigt die eigentümliche Struktur der hyalinen Knorpelgrundsubstanz mit den äusserst feinen rotgefärbten Fibrillen; ein Teil des Kollagens ist aber noch maskiert und daher nicht gefärbt, so dass in Wirklichkeit weit mehrere Fibrillen zugegen sind. Man beachte ausserdem die sehr schönen Beispiele von „kollagenen Manteln“ aus den kürzeren starren, etwas dickeren Fibrillen; das Kollagen hat sich hier sogleich in dieser Form angelegt, meistens in der unmittelbaren Nähe des Endoplasmas. Zwei „Zellen“ sind in grosser Ausdehnung von den „Manteln“ umgeben, bei anderen Zellgruppen, besonders links, liegen die starren dickeren Fibrillen mehr einseitig an den Zellen; man sieht hier teils wie einige früher angelegte Kollagenmantel im Begriffe sind sich der übrigen gewöhnlichen Grundsubstanz anzuschliessen, indem die Fibrillen einer Umlagerung unterzogen werden, resp. dünner und länger werden (event. miteinander zu längern verschmelzen), teils wie in die Scheidewände zwischen den Zellgruppen und Zellen eben solche Fibrillen verwendet werden. Rechts sieht man in einer Vertiefung einer Zelle ein kleines Klümpchen von zusammengeballten ganz kurzen starren Kollagenfibrillen.

Fig. 7. Histiologisches bei der Bildung eines Markraumes im Knorpel. Aus der *Cartilago arytaenoidea* eines Ochsen. Sublimatfixation. Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Die blaue Farbe ist stark ausgezogen worden. Die Umrisse wurden gezeichnet mit Zeiss: Apochromat 4.0,95 (n. Ap.) Komp. Ok. 6. und das feinere Detail mit Immersion 3.1,40. Gefäßführendes Gewebe ist in dem Knorpel eingewachsen (resp. darin entwickelt worden), oben sowie rechts und links erkennt man noch Knorpel, dessen Grundsubstanz viel rotgefärbtes Kollagen enthält. Rechts liegen einige ziemlich unveränderte längliche Knorpelzellen mit ein wenig blauer Grundsubstanz um sich, sonst ist die Grundsubstanz von gelben, stark verästelten Zellen durchwachsen. Verschiedene Blutgefäße verlaufen in dem veränderten Gewebe; zwei davon enthalten stark blaugefärbtes Plasma (in dem einen auch Blutkörperchen), ein anderes Gefäß (rechts unten) enthält gelbgefärbtes Plasma und ditto Blutkörperchen. Ein roter Streifen von Knorpelgrundsubstanz (stark fibrilliert) verläuft von oben bis unten rechts in dem Markraum, dieser Raum enthält bunt durcheinander gemischt Blutgefäße, langgestreckte und verästelte Bindegewebszellen (zum Teil sicher von Knorpelzellen abstammend) und eigentümliche mehr weniger anastomosierende und verästelte Zellen, dessen Zellkörper grössere oder kleinere, oft ganz kleine Vakuolen mit einer mehr weniger konsistenten und teils glykogenhaltigen, teils basophilen Substanz enthalten. Diese Substanz ist blaugefärbt und enthält u. a. Chondroitinschwefelsäureverbindungen. Man findet gelegentlich, dass einige von diesen Zellen die blaue Substanz oder den Vakuoleninhalt in toto ausgestossen haben, oder selbst geborsten resp. degeneriert, ganz kernlos u. s. w. sind, die blauen Körner liegen dann isoliert oder zu Haufen ausserhalb der Zellen und gehen zuletzt in die formlose basophile Grundsubstanz auf. Es kann direkt verfolgt werden, dass diese eigentümlichen Zellen umgebildete Knorpelzellen sind; z. B. findet man in der Umgebung von einem solchen Markraume (links oben) viele von den unzweifelhaften Knorpelzellen in ihren ursprünglichen (noch nicht eröffneten) Höhlen gelegen und in ganz ähnlicher Weise vakuolisiert, wie die in dem Markraume gefundenen. Auch an lebendem Knorpel lässt sich zeigen, dass keine Kunst- oder Fixationsprodukte hier vorliegen. Analoge Vorgänge an den Knorpelzellen findet man ausserhalb der Markraumbildung bei der Bildung des Chondromucoids. Die in der Figur farblose oder schwach gelbliche oder bläuliche Intercellularsubstanz ist in der Wirklichkeit sehr stark basophil und enthält reichlich Chondroitinschwefelsäureverbindung und gelegentlich maskiertes Kollagen; die blaue Farbe ist aber mittelst Alkohols entfernt, um die histologischen Einzelheiten besser zeichnen zu können. Nicht wenige „Zellen“ sind von Massen von den dickeren starren Fibrillen ganz umgeben oder haben sich darin ganz umgewandelt; ausserdem zeigt die Grundsubstanz längs und quer viele von den starren Kollagenfibrillen, welche gegen den beginnenden Markraum hin sich in feinere, dünne Fibrillen auflösen, ebenso wie dies mit den um und aus den Zellen gebildeten Kollagenmassen geschieht. Während dieser Umordnung werden sie teilweise von der amorphen basophilen Substanz (Chondromucoid) maskiert. Man beachte wie die sonst mehr gestreckt verlaufenden roten Fibrillen ab und zu ganz wellig und in kleine Bündeln vereint eine Strecke

verlaufen. Die Verhältnisse hier bei der Markraumbildung ähneln in mancher Beziehung den weicheren Stellen im Discus intervertebralis.

Fig. 8. Mikrophotographie. Zeiss: Apochromat 8—0,65 Ap. Komp. Ok. 6. Verteilung des Albumoids im „alten“ Knorpel — Bronchialknorpel eines Mannes von 56 Jahren. Fixation in Formol-Alkohol. Die Chondroitinschwefelsäure ist mittelst Alkalis entfernt. Färbung mit Unnas saurem Orcein. Es hat sich das Elastin im Perichondrium sowie die Zellkerne gefärbt; im Knorpel ist das Albumoid gefärbt, es zeigt sich in Form von Körnern und Körnerreihen, welche zum Teil miteinander verschmelzen zu Albumoid-Fasernetze. Es kann nicht bezweifelt werden, dass an einigen Stellen des Knorpels, besonders unter dem Perichondrium, viele der dort anzutreffenden unzweifelhaften Elastinfasern ursprünglich aus Albumoid entstanden sind, um so mehr als man sie im nicht elastischen Knorpel gelegentlich im Zusammenhang mit den tiefer gelegenen Albumoidmassen antrifft. — Die scheinbaren Knorpelhöhlen in der Figur enthalten in der Wirklichkeit „Knorpelzelle“ + Zone I und II = Chondrinballen.

Fig. 9. Aus der Cartilago arytaenoidea eines erwachsenen Pferdes. Sublimatfixation. Methylenblau, Säurefuchsin-Pikrin. Zeiss: Apochromat 2.1,30, Komp. Ok. 6. Die um den Endoplasmen differenzierten Ektoplasmalagen (Kapseln) zeigen ein verschiedenes Verhalten (vergleiche auch Fig. 2); rechts ist jede der den zwei Endoplasmen zunächst gelegene Zone I am stärksten basophil, die folgende, schwächer basophile Zone ist beiden gemeinsam und erstreckt sich zugleich als Scheidewand zwischen den beiden Schwesterzellen. An den gegeneinander gekehrten Seiten zeigen die beiden Endoplasmen eine „Stachelung“ (Kunstprodukt?) und enthält das Endoplasma besonders hier eine feine blaue Körnelung, was ebenso wie die bedeutendere Dicke und Basophilie von Zone I auf eine lebhaftere Bildung von Chondromucoid deutet. Ausserhalb dieser zwei basophilen Zonen folgt, anscheinend sehr scharf ausgebildet Zone III aus viel unmaskierten Kollagen (die Fibrillierung ist nicht gezeichnet); man beachte die kleinen gelben Albumoidkörnchen in der blauen Substanz innerhalb des roten Kapsels links unten. Die ausserhalb des roten Ringes liegende Grundsubstanz Zone IV und V enthält teils unmaskiertes und maskiertes Kollagen, teils blaue basophile Substanz, teils gelbe Albumoidkörnchen und Schollen. Ein abweichendes Bild bietet die linke Knorpelzelle und deren Kapsel. Das Endoplasma ist hier weit kleiner (auch der Kern nur circa halb so gross als rechterseits; bei dem oberen Pol befindet sich eine Vakuole. Das Ektoplasma der Kapsel zeigt keine Sonderung in Zone I und II, keine basische Färbung, sondern ist gelbgefärbt und besteht zum grossen Teile aus albumoidartiger Substanz, teils in der Form von Körnchen, teils amorph; die konzentrische Streifung bekundet in diesem Falle einen Gehalt an kollagenen Fibrillen; bei geeigneter Vorbehandlung liesse sich auch hier maskiertes Kollagen nachweisen, wie ich nicht selten beobachtet habe; in anderen Fällen bestünde die ganze gelbe Kapsel aus albumoidartigen Stoffen.

Fig. 10. Aus der Cartilago cricoidea eines erwachsenen Pferdes. Sublimatfixation, isolierte Färbung mit saurem Methylenblau,

Untersuchung in der verdünnten wässrigen Farblösung. Zeiss: Apochromat 2.1,30 — Komp. Ok. 6. Die abgebildeten Zellen lagen nahe beieinander und zeigen die stufenweise fortschreitende Umbildung des Endoplasmas im Kapsel-ektoplasma. In Fig. *a* ist das Endoplasma noch relativ gut ausgebildet, Kern, Plasmastrukturen u. s. w. normal; man sieht eine ganz feine Grenze gegen das Ektoplasma, welches stark basophil ist; eine stärker lichtbrechende (graue) Schicht aus dichtliegendem unmaskierten Kollagen, entsprechend dem stark roten Ringe in Fig. 9 ist an *a* noch nicht ausgebildet, findet sich dagegen an den folgenden Stufen *b*, *c*, *d*. In *b* ist der Kern noch erhalten, das Endoplasma zeigt zackige Konturen, in *c* ist der Kern ganz klein, eingeschrumpft, das Protoplasma stark reduziert, noch mehr in *d*; zuletzt wäre alles Endoplasma in Ektoplasma umgewandelt. Beispiele derselben Art lassen sich in allen Knorpeln auffinden.

Fig. 11, 12, 13. Knorpelzellen aus einem Schnitte von den oberflächlichen Lagen des Gelenkknorpels (Talus) eines Kalbes. Fixation in Chromessigsäure, Färbung in dünnem wässrigen Methylviolet. 5 B. mit einer Spur von Essigsäure; Untersuchung in Wasser. Zeiss: Apochr. 2—1,30. Komp. Ok. 6. Die Figuren zeigen die verschiedene Farbenreaktion des Ekto- und Endoplasmas; man beachte besonders die metachromatisch rotgefärbte innerste Ektoplasmalage in Fig. 12 und eine in Fig. 13, wo das Endoplasma in den zwei „Zellen“ ausserdem stärker violett ist. Die Kerne sind in Fig. 11 und 12 gelappt als ein Zeichen der Amitose (conf. *Hammar* loc. cit. u. a.) in Fig. 13 ein Doppelkern.

Fig. 14. Lebende Knorpelzellen in dem Sternalknorpel des Frosches. Ohne Zusatz von Reagentien. Zeiss: Apochromat 2—1,30. Komp. Ok. 4. Der doppelkonturierte homogene Saum (Kapsel) ausserhalb der „Zellen“ ist in der Wirklichkeit zusammengesetzt aus einer Pellicula des Endoplasmas und einer innersten Lage des Ektoplasmas.

Fig. 15. Zwei Knorpelzellen aus demselben Sternalknorpel des Frosches wie in Fig. 14. Zeiss: Apochromat 2.1,30 — Komp. Ok. 6. Sie hatten ganz dasselbe Aussehen wie die Zellen in Fig. 14; nach Behandlung mit dünner Jodjodkalilösung hat sich die anscheinend homogene Kapsel in zwei Schichten gesondert: a) Pellicula des Endoplasmas, b) innerste Schichte des Ektoplasmas; zwischen diesen beiden Schichten besteht nun ein feiner Spalt. An den gegeneinander gekehrten Flächen der beiden Endoplasmen besteht noch keine Ektoplasmaschicht, nur die beiden Pelliculae. Die zackigen Konturen des unteren Endoplasmas sind durch Reagenzwirkung hervorgebracht, ebenso einige der grösseren Vakuolen. Die Pellicula dieses Endoplasmas ist durchgehends dünner und schlechter ausgebildet; über die mutmasslichen Ursachen vergleiche den Text.

Fig. 16. Knorpelzelle aus der Cartilago thyroidea einer grossen (jungen) Katze. Fixation in Sublimat-Eisessig. Wurde ungefärbt beobachtet in  $\frac{1}{3}$  Glycerin und  $\frac{2}{3}$  Wasser, sowie auch in reinem Wasser und in 80% Alkohol. Zeiss: Apochromat: 2.1,30. Komp. Ok. 8. Das Endoplasma hat sich etwas retrahiert und hängt durch sehr viele feine „Stacheln“ resp. Fäden mit der innersten Lage des Ektoplasmas zusammen. Wurde das



Präparat in 80% Alkohol untersucht, zeigte sich ausserdem eine Schrumpfung der Knorpelsubstanz und traten dadurch bedingte, nicht so feine Faltungen an der Innenseite der Knorpelhöhle auf (vergl. Text); ersetzte man den Alkohol unter dem Deckglase mit Wasser, so beobachtete man wie die Faltungen wieder verschwanden, die Knorpelhöhle zugleich grösser wurde; aber die Stacheln und Verbindungsfäden wurden dadurch nicht beeinflusst.

Fig. 17. Zwei Knorpelzellen aus der *Cartilago thyroidea* der Katze. Fixation in Sublimat-Eisessig. Derselbe Schnitt wie in Fig. 16, aber gefärbt in Alaun-Hämatoxylin-Eosin, Balsampräparat. Zeiss: Apochromat 2.130 und Komp. Ok. 8-12-18; die Vergrösserung entspricht Komp. Ok. 18. Volles Farbenbild; Öl auf dem Kondensor. Das Endoplasma ist mit Eosin rotgefärbt; das Ektoplasma und die Grenzschicht zwischen Endo- und Ektoplasma ist stark basophil und von dem Hämatoxylin gefärbt. Man sieht wie die „Stacheln“, resp. Verbindungsfäden in der Wirklichkeit einem Kammerwerke entsprechen, wie im Texte näher ausgeführt. Links ist ein optischer Profildurchschnitt gezeichnet und „die Zelle“ haftet noch an der Scheidewand zwischen den „Knorpelhöhlen“. Rechts ist mehr an der Oberfläche des Endoplasmas eingestellt, man gewahrt die Polygone des Kammerwerkes; durch einen Riss in der basophilen Oberflächenlage schimmert das rotgefärbte eigentliche Endoplasma hervor, ebenso durch den Boden einiger Abteilungen des Kammerwerkes.

Fig. 18. Aus der Mitte einer unverkalkten Carpalknorpel von *Triton cristatus*. Zenckersche Flüssigkeit. Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Zeiss: Apochromat 2.130, Komp. Ok. 6. Das Kollagen ist hier noch maskiert gewesen, die Basophilie des Gewebes sehr stark, nur die Zellkerne und ein einziges Endoplasma haben die saure (Pikrin)-Farbe angenommen, sonst sind auch die Endoplasmen mehr weniger basophil (Chondroitinschwefelsäurehaltig). An zwei Knorpelzellen gewahrt man das Auftreten von „Stacheln“, an den andern nicht. Die Scheidung zwischen Pellicula des Endoplasmas und innerste Lage des Ektoplasmas an mehreren „Zellen“ deutlich. Der Kern ist in dem Endoplasma rechts unten deutlich geschrumpft. Die zonale Differenzierung in der Grundsubstanz ist an der Hand von Fig. 2 leicht zu deuten — scheinbare Mosaik von Knorpelkapseln in der Grundsubstanz.

Fig. 19. Knorpelzellen aus der *Cartilago arytaenoidea* eines fast erwachsenen Kalbes, Sublimatfixation. Färbung in sehr dünner wässriger Methylviolettlösung, Differenzierung und Beobachtung in dünnem Salzglycerinwasser. Zeiss: Apochromat 3.140, Komp. Ok. 6. Die Grundsubstanz enthielt einen dichten Filz von Kollagen-Fibrillen bis dicht an das Endoplasma; diese Fibrillen sind aber nicht gezeichnet, sie verliefen zum grössten Teile quer im Verhältnis zu den gezeichneten Fibrillen des Endoplasmas. Die Filarsubstanz der Endoplasmen setzen sich zum Teil ineinander fort, man sieht Fibrillen aus der einen „Zelle“ in die andere sich fortsetzen oder als dickere oder sehr dünne schwach lichtbrechende Fortsätze oder Fibrillen weit in die Grundsubstanz hinaus verlaufen; ein Teil dieser Fibrillen

färbte sich in einiger Entfernung von dem Endoplasma wie Bindegewebsfibrillen. — Das Endoplasma ist nur sehr wenig retrahiert.

Fig. 20—21. Gruppen von Knorpelzellen aus der Tibia und Tarsus eines 8 cm langen Schweinsfötus. Fixation in Zenckers Flüssigkeit. Schwache Methylviolett-färbung. — Untersuchung in 0,7% und 2,0% Kochsalzlösung mit ein wenig Glycerinzusatz (15%). Zeiss: Apochromat 3.1,40. Komp. Ok. 8 und 12. *a* ist mit Ok. 8 *b* und *c* mit Ok. 12 gezeichnet, Fig. 21 mit Oc. 12 gezeichnet. Die Verbindungen zwischen den Endoplasmen rühren wahrscheinlich von der Zellteilung her; die nicht gezeichnete Knorpelgrundsubstanz ging bis dicht an die Oberfläche der Endoplasmen und enthielt reichlich Bindegewebsfibrillen.

Fig. 22. Reich verästelte und anastomosierende endoplasmatische „Knorpelzellen“ aus dem Gelenkknorpel (Tarsus) eines Kalbes. Fixation in 0,3% wässriger Chromsäurelösung, hernach in Alkohol steigender Konzentration. Das „Protoplasma“ ist sehr wohl konserviert; Rasiermesserschnitt gefärbt in wässrigem Methylviolett, differenziert in dünnem Salzglycerinwasser. Zeiss: Apochromat 2.1,30. — Komp. Ok. 6. Die Grundsubstanz war echt „hyalin“ und sehr fein fibrilliert; die innerste Lage des Ektoplasmas *ec* war als eine (mehr rotviolett gefärbte) „Kapselschicht“ dicht um den „Zellen“ differenziert und liess sich auf grösseren oder kleineren Strecken auch um den Verästelungen und Ausläufern der Endoplasmen verfolgen; doch bestand (Reagenzwirkung — in der Zeichnung weiss) ein feiner Spaltraum zwischen dieser Kapsellage und dem Endoplasma. An den feinsten Verästelungen des Endoplasmas liess sich keine so deutliche Kapsellage nachweisen.

Fig. 23. Aus teilweise verkalktem Carpalknorpel von Triton cristatus dicht unter dem Perichondrium. Fixation in Sublimat-Pikrinsäure. Zeiss: Apochromat 2.1,30. Komp. Ok. 4—6. Methylenblau-Säurefuchsin-Pikrin. Die „Knorpelzelle“ ist gelb gefärbt, zeigt deutlich an seiner Peripherie die Pellicula, welche mit der Filarsubstanz zusammenhängt. Man sieht in der Grundsubstanz ein rotes Kammerwerk, welches aus verdichtetem Kollagen besteht: in dessen Maschen waren die Kalkkörner eingelagert, gebunden an die basophile Mucoidsubstanz, welche nach Auslösung des Kalks zurückgeblieben und jetzt in einem Teile des Maschenwerkes blaugefärbt, dargestellt ist; in den übrigen Maschen ist die blaue Farbe weggelassen. Gegen das Perichondrium hin ist offenbar mehr unmaskiertes Kollagen als gegen die Tiefe, daher die grössere Intensität der roten Farbe an ersterer Stelle. Man beachte, dass an der linken Seite der „Knorpelzelle“ ein roter Kollagenstreifen unmittelbar an die Zellpellicula grenzt, während rechts das blaugefärbte Chondromucoid dies tut. Vergleiche übrigens den Text S. 796 ff.

## Litteratur-Verzeichnis.

---

Die mit † bezeichneten Arbeiten kenne ich nur aus Referaten. Nur ausnahmsweise führe ich die speziell chemische, pathologische oder allgemeine, histiologische Litteratur an.

---

1. Aeby, Über die Symphysis ossium pubis etc. Z. f. rat. Medizin. [3]. 4. Bd. 1858.
2. Altmann, R., Studien über die Zelle. Leipzig, 1886.
3. Id., Die Elementarorganismen. 2. Auflage. Leipzig 1894.
4. Ambrohn, H., Anleitung zur Benutzung des Polarisationsmikroskops bei histologischen Untersuchungen. Leipzig 1892.
5. Apáthy, Stefan, Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie. 1. Abteilung. Braunschweig 1896.
6. Apolant, Hugo, Über Faserknorpel. Diss. Berlin 1890.
7. Arnold, Julius, Die Abscheidung des indigenschwefelsauren Natrons im Knorpelgewebe. Virchows Arch. Bd. 73. 1878.
8. Id., Über Struktur und Architektur der Zellen. I. Mitteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 52. 1898.
9. Baber, E. Creswell, On the structure of hyalin cartilage. Journal of anatomy and physiology. Vol. X. 1876.
10. Baraban, L., Sur l'existence des fibres élastiques dans l'épiploon humain et leurs modifications sous l'influence de l'âge. Pouchet Journ. de l'anat. et de le physiol. 1888. Nr. 1.
11. de Bary, J., Untersuchungen über Leimstoffe. I. Chondrin u. seine Zerlegung durch konz. Salzsäure. Hoppe-Seylers med. chem. Untersuch. Heft 1. S. 71—73. Berlin 1866.
12. Baur, Die Entwicklung der Bindesubstanz. Diss. Tübingen 1858.
13. Behrens, Wilh., Tabellen zum Gebrauche bei mikroskopischen Arbeiten. 3. Aufl. Braunschweig 1898.
14. Bendz, H., Haandbog i den alm. Anatomie. Kjøbenhavn 1846—47.

15. Benecke, Über eine Modifikation des Weigert'schen Fibrinfärbefahrens. Verh. d. anat. Gesell. 7. Versammlg. 1893 og Referat i. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XI. 1894.
16. Bernays, A., Die Entwicklungsgeschichte des Kniegelenkes des Menschen mit Bemerkung über die Gelenke im allgemeinen. Morphologisches Jahrbuch. Bd. IV. 1878.
17. Bergh, R. S., Die Zelle und die einfachen Gewebe des tierischen Körpers. Wiesbaden 1894.
18. Bergh, R. S., Beiträge zur vergleichenden Histologie. S. A. aus d. anat. Heften. Wiesbaden 1898.
19. Berzelius, J. J., *Traité de chimie*. (Traduit par Esslinger). Paris 1833. Tome VII. Pag. 487—489.
20. †Bicfalvi, Beiträge zur Struktur der Grundsubstanz d. hyalinen Knorpels (ungarisch). 1883. Referat in med. Centralblatt.
21. Bichat, X., *Anatomie générale, seconde partie*. Tome III. Paris 1801.
22. Bigelow, W. S., Notiz über den Teilungsvorgang bei Knorpelzellen sowie über den Bau des Hyalinknorpels. Arch. f. mikr. Anat. Band 16. 1879.
23. Boedecker, C., Kleine Beiträge zur chem. Kenntnis des Eiters. S. 188—201. ff. S. 203. Z. f. rat. Medizin [2]. Bd. 6. 1854 u. Bd. 8. S. 144.
24. Boedecker C. u. G. Fischer, Künstliche Bildung von Zucker aus Knorpel etc. Annalen der Chemie. Bd. 117. 1861.
25. Böhm, A. A. u. M. v. Davidoff, *Lehrbuch der Histologie des Menschen*. Wiesbaden 1895. 2. Auflage. 1898.
26. Boll, Franz, Untersuchungen über den Bau u. Entwicklung der Gewebe. Abteil. II. IV. Die Entwicklung des fibrillären Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 8. 1872.
27. Brachet, A., Etude sur la résorption du cartilage et le développement des os longs chez les oiseaux. Internat. Monatsschrift f. Anat. u. Physiologie. Bd. 10. 1893.
28. v. Brunn, A., Beiträge zur Ossifikationslehre. Arch. f. Anat. und Physiol. 1874.
29. Brücke, E., Die Elementarorganismen. Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathemat.-naturw. Klasse. Bd. 44. Abteil. II. 1861.
30. Bubnoff, Beiträge zur Struktur des Knorpels. Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathemat.-naturw. Klasse Bd. 57. Abteil. 1. 1868.
31. Budge, A., Die Saftbahnen im hyalinen Knorpel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14. 1877.
32. Id., Weitere Mitteilungen über die Saftbahnen im hyalinen Knorpel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16. 1879.
33. Bütschli, O., Zur Kenntnis des Teilungsprozesse der Knorpelzellen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 29. 1877.
34. Id., Untersuchungen über Strukturen. Mit Atlas. Leipzig. Engelmann. 1898.
35. †Chittenden, u. a.: Über die Reaktionen des Sarkolemmas. Untersuchungen aus d. physiol. Institut zu Heidelberg. Bd. 3.

36. Chittenden u. Hart, Elastin u. Elastosen. Z. f. Biologie. Bd. 25.
37. †Colomiatti, Sulla struttura della cartilagini ialine e fibro-elastico-reticulate. Revista clinica di Bologna. Maggio 1874. (Ref. i. Hoffm.-Schwalbes Jahresber.)
38. Czermak, N., Vergleichende Studien über die Entwicklung des Knochen- und Knorpelgewebes. Anat. Anzeiger. Bd. 3. 1888.
39. †Deekhuysen, M. C., Over den aard van het prozess der kleuring vooranavelijk naar anleiding van een onderzoek over het kraakbeen. Versl. d. buiteng. wetensch. verg. der nederl. Dierk. Vereen. van 18—XII. 1886. (Ref. Hoffm.-Schwalbe.)
40. †Id., Het hyaline kraakbeen, zijn beteeknis en zijn groei. Nederl. tijdschr. v. Geneesk. 1889. 2. deel. (Ref. ibid.)
41. Deutschmann, R., Über die Entwicklung der elast. Fasern. Diss. 1873 og Arch. f. Anat. und Physiol. 1873.
42. Dippel, Leop., Grundzüge der allgemeinen Mikroskopie. Braunschweig 1885.
43. †Donders, F. C., Mikroskop. u. mikrochem. Untersuchungen tierischer Gewebe. Holländische Beiträge zur Naturwiss. (Cit. bei Solger 1888.)
44. Id., Form, Mischung und Funktion der elementären Gewebeteile in Zusammenhang mit ihrer Genese. Z. f. wiss. Zool. Bd. 3 og 4. 1852 (1851)—53.
45. Duval, Math., Précis d'histologie. Paris 1897.
46. v. Ebner, Victor, Über den feineren Bau der Knochensubstanz. Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-naturw. Klasse. Bd. 72. III. Abt. (Jahrg. 1875)—1876.
47. Id., Untersuchungen über die Anisotropie organisierter Substanzen. Leipzig 1882.
48. Id., Sind die Fibrillen des Knochengewebes verkalkt oder nicht? Arch. f. mikr. Anat. Bd. 29. 1887.
49. Id., Histologie der Zähne mit Einschluss der Histogenese. S. A. Wien 1890.
50. Id., Über die Wirbel der Knochenfische und die Chorda dorsalis der Fische und Amphibien. Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-naturw. Klasse. Bd. 105. Abteil. III. 1896.
51. Id., Die Chorda dorsalis der niederen Fische und die Entwicklung des fibrillären Bindegewebes. Z. f. wiss. Zool. Bd. 62. 1896.
52. Ehrlich, P., Beitrag zur Kenntnis der Anilinfarben. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13. 1877.
53. Id., Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. I. Berlin 1891.
54. Ehrlich, P. u. A. Lazarus, Die Anämien. I. Berlin 1898.
55. Ernst, P., Über Psammome. Zieglers Beiträge zur path. Anat. Bd. 11. 1892.
56. †Ewald, A. u. W. Kühne, Die Verdauung als histologische Methode. Verhandlg. des Naturhist.-med. Vereins in Heidelberg. N. F. 1. Bd. 1874.

57. Ewald, A., Zur Histologie und Histochemie der elastischen Fasern und des Bindegewebes. Z. f. Biologie. Bd. 26. 1890.
58. Fischer, Alf., Die Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.
59. Flemming, W., Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung. 1882.
60. Id., Zur Entwicklung der Bindegewebsfibrillen. Festschrift für Virchow. I. 1891.
61. Id., Über den Bau der Bindegewebszellen und Bemerkungen über die Struktur der Zellsubstanz im allgemeinen. Z. f. Biologie. Bd. 34. Jubelband zu Ehren W. Kühnes. 1896.
62. Id., Über die Entwicklung der kollagenen Bindegewebsfibrillen bei Amphibien und Säugetieren. Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abt. 1897.
63. Id., Über Intercellularsubstanzen. Ergebnisse der Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. VI. (1896). S. 262—264. 1897.
64. Flesch, M., Über Zelle und Intercellularsubstanz im Hyalinknorpel. Verh. d. physikalisch-med. Gesell. zu Würzburg. Bd. 14. 1880. (Sitzber. 4./I. 1879).
65. Id., Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels. Würzburg 1879 (1880).
66. Id., Bemerkungen zur Kritik der Tinktionspräparate. Z. f. wiss. Mikroskopie. Bd. II.
67. Fol, H., Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie. Leipzig 1896.
68. Frey, H., Das Mikroskop u. die mikr. Technik. Leipzig 1863.
69. Id., 7. Auflage. 1881.
70. Id., Handbuch der Histologie und Histochemie des Menschen. 5. Aufl. Leipzig 1876.
71. Friedleben, A., Zur chemischen Konstitution des Knorpelgewebes. Z. f. wiss. Zoologie. Bd. 10. (1859—60).
72. Fürbringer, M., Über das Gewebe des Kopfkorpels der Cephalopoden. Morphol. Jahrbuch. Bd. 3. 1877.
73. Fürstenberg, Über einige Zellen mit verdichteten Wänden im Tierkörper. Joh. Müllers Archiv. 1857.
74. Fusari, R., Contribution à l'étude du cartilage hyalin. Archives ital. de Biologie. Bd. 25. 1896.
75. Gautier, A., Leçons de Chimie biologique normale et pathologique. 2. édit. Paris 1897.
76. Gegenbaur, C., Vergleichende Anatomie der Wirbelsäule bei Amphibien und Reptilien. 1862.
77. Id., Über die Bildung des Knochengewebes. Jenaische Zeitschrift für Med. und Naturwiss. Bd. I. 1864.
78. Genzmer, A., Über die Reaktion des hyalinen Knorpels auf Entzündungsreize und die Vernarbung von Knorpelwunden nebst einigen Bemerkungen zu Histologie des Hyalinknorpels. Virchows Archiv. Bd. 67. 1876.

79. Gerlach, Jos., Handbuch d. allgemeinen und speziellen Gewebelehre des menschlichen Körpers. 2. Auflage. Mainz 1853.
80. Gerlach, L., Über die Anlage und die Entwicklung des elastischen Gewebes. Morphologisches Jahrbuch. Bd. 4. 1878. Supplement.
81. van Gieson, J., Laboratory notes of technical methods for the nervous System. The New York médical Journal. 20. Juli 1889. (Cit. after P. Ernst.)
82. Gradenigo, Über die embryonale Anlage des Mittelohrs. Wiener med. Jahrbücher. 1887.
83. Halliburton, W. D., Lehrbuch der chemischen Physiologie u. Pathologie. (Deutsch v. Kaiser). Heidelberg 1893.
84. Hammar, J. Aug., Über den feineren Bau der Gelenke. I. Die Gelenkmembran. II. Der Gelenkknorpel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43. 1894.
85. Hammarsten, Olof, Lehrbuch der physiologischen Chemie. 1891. 3. Auflage. Wiesbaden 1895. (4. Aufl. 1899).
86. Hannover, A., Om Bruskens første Dannelse og Udvikling. Kgl. Danske Vidensk. Selskabs Skrifter. 5. Række naturv. math. Afd. 7. Bd. Kjøbenhavn 1864.
87. Hansen, Fr. C. C., En paalidelig Methode til Farvning af Bindevævet. Hospitalstidende. 1898.
88. Id., Eine zuverlässige Bindegewebsfärbung. Anat. Anz. Bd. 15. 1898.
89. Id., Om Udviklingen af Grundsubstanser i Bindevævsgrupper. Biologisk Selskabs Forhandl. Kjøbenhavn 1899.
90. Id., Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Anz. Bd. 16. 1899.
91. Harrison, Ross, Granville, Über die Entwicklung der nicht knorpelig vorgebildeten Skeletteile in den Flossen der Teleostier. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42. 1893.
92. Harting, P., Das Mikroskop. Braunschweig 1859. 2. Ausg. 1866.
93. Hassal, A., Mikroskopische Anatomie des menschlichen Körpers. V. d. Engl. übersetzt v. Kohlschütter. I—II (Atlas). Leipzig 1852.
94. Heidenhain, M., Beiträge zur Aufklärung des wahren Wesens der faserförmigen Differenzierungen. Anat. Anzeiger. Bd. 16. 1899.
95. Heidenhain, R., Studien aus dem physiolog. Institute zu Breslau. Heft 1. 1861. Heft 2. 1863.
96. Heitzmann, C., Studien am Knochen und Knorpel. Wiener med. Jahrbücher. 1872.
97. †Id., Über Entwicklung und Bau der Knorpel. Wiener med. Wochenschrift. 4. Jan. 1873.
98. Id., Mikroskopische Morphologie des Tierkörpers im gesunden und kranken Zustande. Wien 1883.
99. Henke, W., Genealogisches über Knorpel Elemente. Z. für rat. Medizin [3]. Bd. 18.
100. Henle, J. und Fr. Merkel, Über die sogenannte Bindesubstanz der Centralorgane des Nervensystems. Z. f. rat. Medizin. [3]. Bd. 24.
101. Henle, J., Allgemeine Anatomie. 1841.

102. Henneguy, L. Félix, Leçons sur la Cellule. Paris 1896.
103. Hertwig, O., Über die Entwicklung und Bau des elastischen Gewebes im Netzknoorpel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 9. 1873.
104. Id., Über das Zahnsystem der Amphibien und seine Bedeutung für die Genese des Skeletts der Mundhöhle. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 11. 1874. (Supplements-Bd.)
105. Hoehl, Erwin, Beitrag zur Histologie der Pulpa und des Dentins. Archiv für Anat und Entwicklungsgesch. 1896.
106. Id., Zur Histologie des adenoiden Gewebes. Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1897.
107. Hoppe-Seyler, F., Medizinisch-chem. Untersuch. 1866—71. (Spec. Über das Vorkommen von leimgebendem Gewebe bei Avertebraten).
108. Id., Handbuch der physiologisch und pathol. chemischen Analyse. 6. Auflage. Berlin 1893.
109. Hultkrantz, J. Wilh., Das Ellenbogengelenk und seine Mechanik. Jena 1897.
110. Id., Über die Spaltrichtungen der Gelenkknoorpel. Verhandlg. d. anat. Gesellsch. 12. Versammlung. 1898. Ergfft. zum A. A. Bd. 14.
111. Jakimowitsch, J., Sur la structure du Cylindre-axe et des cellules nerveuses. Journal de l'anat. et de physiol. 24ème année. 1888.
112. Julin, Charles, Recherches sur l'ossification du maxillaire inférieur et sur la constitution du système dentaire chez le fœtus de la Balænoptera rostrata. Archives de Biologie (de Gand.) Bd. 1. 1880.
113. Kapsammer, G., Knoorpelentzündungsbilder. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 49.
114. Id., Die periostale Ossifikation. Ibid. Bd. 50.
115. M. Kassowitz, Die normale Ossifikation und die Erkrankungen des Knochensystems bei Rhachitis u. hereditärer Syphilis. Wiener med. Jahrbücher 1879 og 1880 (s. S. 145—224 u. Kap. VI 293—457). (Rhachitis S. 315—466).
116. Klebs, E., Beobachtungen und Versuche über Kretinismus. Archiv für experiment. Pathologie. Bd. 2. 1874.
117. Koelliker, A., Mikroskopische Anatomie. Bd. 2. 1. Hälfte. 1850.
118. Id., Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 2. Auflage. 1855.
119. Id., Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Auflage. Band I. Leipzig 1889.
120. Id., Die Energiden von Sachs im Lichte der Gewebelehre der Tiere. Verhandlungen der phys.-med. Ges. zu Würzburg. N. F. Bd. 31. 1897.
121. Hartmann Koller, Ist das Periost bindegewebig vorgebildeter Knochen im stande Knoorpel zu bilden? Archiv. für Entwicklungsmechanik. Bd. 3. 1896.
122. Kolster, R., Über die Intercellularsubstanz des Netzknoorpels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 29. 1887.
123. Krause, Wilh., Handbuch d. Anat. des Menschen. I. Bd. Allgemeine Anat. 1876, mit Nachträge 1890.
- 123a. Krawkow, Arch. f. exp. Pathologie u. Pharmakologie. 40. Bd.



124. Kromayer, (Modificat. von Weigerts Fibrinfärbung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 39. 1892 og Z. f. wiss. Mikr. Bd. 9. 1892.
125. Kruckenberg, C. Fr. W., Die chemischen Bestandteile des Knorpels. Z. f. Biologie. Bd. 20. 1884.
126. Id., Über die chemische Beschaffenheit der sogenannten Hornfäden von Mustelus und über die Zusammensetzung der keratinösen Hüllen um die Eier von Scyllium stellare. Mitteil. d. zool. Station. Neapels. Bd. 6. 1886.
127. Kupffer, C. v., Über die sogenannten Sternzellen der Säugetierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54. 1899.
128. Kuskow, N., Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung des elastischen Gewebes im Ligam. nuchæ und im Netz. Archiv für mikr. Anat. Bd. 30. 1887.
129. Kusnetzoff, Alex., Beitrag der Entwicklungsgeschichte der Cutis. Sitzber. der K. Akad. der Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Kl. Bd. 56. Abteil. II. 1867.
130. Lachmann, J., Über Knorpelzellen. Joh. Müllers Archiv. 1857.
131. Landois, L.: Untersuchungen über die Bindesubstanz und den Verknöcherungsprozess derselben. Z. f. wiss. Zoologie. Bd. 16. 1866.
132. Landwehr, Über die Bedeutung des tierischen Gummis. Pflügers Archiv. Bd. 39. 1886.
133. Lieboucq, Recherches sur le mode de disparition de la corde dorsale chez les vertébrés supérieurs. Arch. de biologie (de Gand.) Tome I. 1880.
134. Lee, A. Bolles et L. Felix Henneguy, Traité de méthodes techniques de l'anatomie microscopique. 2éme éd. Paris 1896.
135. Leser, E., Über histiologische Vorgänge an der Ossifikationsgrenze mit besonderer Berücksichtigung des Verhaltens der Knorpelzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 32. 1888.
136. Leydig, Franz, Lehrbuch der Histologie des Menschen und der Tiere. Hamm 1857.
137. Id., Vom Bau des tierischen Körpers. Handbuch der vergleichenden Anatomie. I. Band. 1. Hälfte. Tübingen 1864.
138. Id., Zelle und Gewebe. 1885.
139. †Lionti, G., Sulla struttura della cartilagine ialine fetale et adulto. Palermo 1896. (Ref. i. Hoffm.-Schw. Jahrb.)
140. †Livini, F., Intorno alla struttura della trachea. 1896. (Ref. i. Hoffm.-Schw. Jahrb.)
141. Loisel, G., Formation et évolution des éléments du tissu élastique. Thèse de Paris 1896.
142. Lovén, Chr., Untersuchungen über das Knochengewebe mit besonderer Rücksicht auf die Entwicklung. Med. Archiv utgifvet af Lärarne vid Carolinska Institutet. Bd. 3. Heft 3. Stockholm 1863.
143. Luschka, H., Die Halbgelenke des menschlichen Körpers. 1858.
144. Lwoff, Basilius, Über die Entwicklung der Fibrillen des Bindegewebes. Sitzber. d. K. Akad. der Wiss. in Wien. Math.-Nat. Klasse. Bd. 99. Abt. III. 1889.

145. Lönberg, Ingolf, Några iakttagelser rörande de kemiska sammansättning af brosket hos slätrockan (raja batis). Upsala läkareföreningens förhandlingar. Bd. 24. 1889.
146. Id., Om broskets kemiska sammansättning hos hajen, *Scymnus microcephalus* (Schneid.) *ibid.* Bd. 25. 1890.
147. Mall, F., Reticulated and yellow elastic tissues. *Anat. Anz.* 3. Jahrg. 1888.
148. Id., Das retikulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. *Kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wiss. Abh. math.-nat. Kl.* Bd. 17. 1891.
149. Masquelin, H., Recherches sur le développement du maxillaire inférieur de l'homme. *Bulletin de l'acad. de Belgique.* 2ème série tome 45 1878.
150. Mayer, Paul, Beruht die Färbung der Zellkerne auf einen chemischen Vorgang oder nicht? *Anat. Anz.* Bd. 13. 1897.
151. Meissner, G., Untersuchungen über die Verdauung der Eiweisskörper. *Z. f. rat. Medizin* [3]. Bd. 14. 1862.
152. Merkel, Fr., Zur Histogenese des Bindegewebes. *Verhandlg. d. anat. Gesellsch.* 9. Verslg. 1895.
153. Metchnikoff, Elie, Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation. 1892.
154. †Morochowetz, Leo, Zur Histochemie des Bindegewebes. *Verh. d. naturhist.-med. Vereins in Heidelberg.* I. Bd. Hft. 5. 1876. (Ref.)
155. Müller, Erik, Studien über Neuroglia. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 55. 1899.
156. †Müller, Heinrich, Würzburger naturh. Zeitschrift. I. S. 92. (Erwähnt „poröse Knorpelkapseln im Ohrknorpel des Hundes.)
157. Id., Über die Entwicklung der Knochengrundsubstanz nebst Bemerkungen über den Bau rhachitischer Knochen. *Z. f. wiss. Zoologie.* Bd. 9. 1858.
158. Müller, Johannes, Über den feineren Bau und die Formen der Geschwülste. 1. Lieferung. Berlin 1838.
159. Id., Über die Struktur und die chemischen Eigenschaften der tierischen Bestandteile der Knorpel und Knochen. *Arch. f. Anat. u. Physiol.* 1837. (Jahresber. über d. Jahr 1836 S. 39.)
160. †Id., *Annalen d. Chemie u. Pharmacie.* Bd. 29. S. 277.
- 160a. Id., *Pogg. Annalen.* Bd. 38. S. 295 ff.
161. Mörner, C. Th., Histochemische Beobachtungen über die hyaline Grundsubstanz des Trachealknorpels. *Z. f. physiologische Chemie.* Bd. 12. 1888.
162. Id., Studier öfver trachealbroskets kemi. Upsala läkarföreningens förhandlingar. Bd. 24. 1889.
163. Id., Chemische Studien über den Trachealknorpel. *Skandinavisches Archiv für Physiologie.* Bd. 1. 1889. (S. 210—243 mit I Tafel.)
164. Id., Några rön angående Kondroitinsvafvelsyrans förekomst. Upsala läkareföreningens förhandlingar. Bd. 29. 1894.

165. Id., Einige Beobachtungen über die Verbreitung der Chondroitinschwefelsäure. Z. f. physiolog. Chemie. Bd. 20.
166. Id., Untersuchungen der Proteinsubstanzen in den lichtbrechenden Medien des Auges. II—III. Z. f. physiol. Chemie. Bd. 18. 1894.
167. Id., Beitrag zur Kenntnis einiger Eigenschaften des Glutins. Z. f. physiol. Chemie. Bd. 28. 1899.
168. Neumann, E., Bemerkungen über das Knorpelgewebe und den Ossifikationsprozess. Archiv für Heilkunde. Bd. 11. 1870.
169. Id., Die Jodreaktion der Knorpel und Chordazellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14. 1877.
170. Neumeister, R., Lehrbuch der physiologischen Chemie. II. Teil. Jena 1895.
171. Nietzki, R., Chemie der org. Farbstoffe. 2.—3. Aufl. Berlin 1894 u. 1897.
172. Nykamp, A., Beitrag zur Kenntnis der Struktur des Knorpels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14. 1877.
173. Obersteiner, H., Über Entwicklung und Wachstum der Sehne. Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-nat. Kl. Bd. 66. II. Abteil. 1867.
174. Oddi, R., Über das Vorkommen von Chondroitinschwefelsäure in der Amyloidleber. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakolog. Bd. 33. 1894.
175. Ognew, J., Zur Frage von der morpholog. Bedeutung des fibrillären Bindegewebes. Arch. f. Anat. u. Physiolog. Anat. Abt. 1885.
176. Ogston, A., On articular cartilage. Journal of Anat. and Physiol. Vol. 10. 1876.
177. Orth, J., Kursus d. normalen Histologie. 5. Auflage. Berlin 1888.
178. †Pansini, Interno alla costituzione della cartilagine ed alla origine delle fibro elastiche nella cartilagine reticulata od elastica. Giorn. d. associaz. Napolitana di medici e natur. Anno I. 1890. (Ref. in Hoffm.-Schw. Jahreshb.)
179. †Petrone, A., Comunicazione preventive sull' inflammatione della cartilagine e sulla sua struttura. Revista clinica di Bologna 1874. (Ref. in Hoffm.-Schw. Jahreshb.)
180. Poljakoff, P., Beiträge zur mikroskopischen Anatomie u. Physiologie des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45. 1895.
181. Rabl-Rückhardt, Über den Netzknorpel des Ohres. Reicherts u. du Bois-Reymonds Archiv. 1863.
182. †Ranvier, L., Les éléments et les tissus du système conjonctif. Journal de micrographie (Nr. 16) (Ref. Hoffm.-Schwalbe.) 1888.
183. Id., Traité technique d'histologie. 2ème éd. Paris 1889.
184. Id., Des Clasmatoocytes. Archives d'anatomie microscopique. Tome III. 1900. (Siehe frühere Mitteil. in „Comptes rendus de l'Acad. des sciences.)
185. Ravogli, A., Untersuchungen über den Bau, die Entwicklung und Verletzung der Cutis. Wiener med. Jahrbücher. 1879.

186. Rawitz, B., Bemerkungen über Mikrotomschneiden und über das Färben mikroskopischer Präparate. *Anat. Anz.* Bd. XIII. Nr. 3. 1897.
187. Reichert, K. B., Bericht über die Leistungen in der mikroskopischen Anatomie des Jahres 1846. In Joh. Müllers Archiv 1847. (S. 55 ff. Gebilde der Bindesubstanz).
188. Id., *ibid.* 1852.
189. Reinke, Fr., Zellstudien. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 43. 1894.
190. Reitz, W., Über die passiven Wanderungen von Zinnoberkörnchen durch den tierischen Organismus. *Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathm. nat. Klasse.* Bd. 57. II. Abteil. 1868.
191. Remak, R., Über Entstehung der Bindegewebe und des Knorpels. *Joh. Müllers Archiv.* 1852.
192. Id., Über die extracelluläre Entstehung tierischer Zellen und über die Vermehrung derselben durch Teilung. *Ibid.* 1852.
193. Renaut, J., Sur la bande articulaire, la formation cloisonnante et la substance chondrochromatique des cartilages diarthrodiaux. *Compt. rendus.* Tome 104. 1887.
194. Id., *Traité d'histologie pratique.* Tome I et II. 1—2. Paris 1889—93 u. 1899.
195. Retterer, E., Sur le développement morphologique et histologique des bourses muqueuses et des cavités peritendineuses. *Journal de l'anat. et de physiologie.* 23 A. 1896.
196. Id., Développement des tissus conjonctifs muqueux et réticulés. *Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biologie.* 1896.
197. Id., Épithélium et tissu réticulé. *Journal de l'anat. et de physiologie.* 1897.
198. Id., Note de technique relative au tissu osseux. *Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biologie.* 1898.
199. Id., Origine et structure des osteoblastes et du tissu osseux. *Deuxième note.* *Ibid.* 1898.
200. Id., De l'ossification enchondrale. *Ibid.* 1898.
201. Id., Structure et évolution du cartilage transitoire. *Ibid.* 1899.
202. Id., Des voies d'absorption du cartilage. *Ibid.* 1899.
203. Id., Transformation de la cellule cartilagineuse en tissu conjonctif réticulé. *Ibid.* 1899.
204. Retzius, G., Bidrag til kännedommen af broskväfnaden. *Nord. med. Arkiv.* Bd. IV. 1872.
205. Id., Einige Beiträge zur Histologie und Histochemie der Chorda dorsalis. *Arch. f. Anat. u. Physiol.* 1881.
206. Id., Zur Kenntnis der enchondralen Verknöcherung. *Biologiska Föreningens Föreläsningar.* Bd. I. Nr. 1. Stockholm 1888.
207. Id., Über den Bau des Glaskörpers und der Zonula Zinnii in dem Auge des Menschen und einiger Tiere. *Biologische Untersuchungen.* N. F. Bd. VI. (9). 1894.
208. Rheiner, H., Beiträge zur Histologie des Kehlkopfs. *Diss.* 1852.

209. Rollet, A., Binde-substanzen, Knorpel. Strickers Handbuch d. Lehre von den Geweben. 1871.
210. †Id., Über die Entwicklung des fibrillären Bindegewebes. Untersuchungen aus dem anat. Institute für Physiol. u. Histologie in Graz. 1872. (Cit. og ref. bei Lwoff).
211. Sappey, P. C., Traité d'anatomie générale. Paris 1894.
212. Schäfer, E. A., General anatomy or histology. London 1891. (Quains Anatomy 10 ed. Vol. I, part. II).
213. Schaffer, J., Die Verknöcherung des Unterkiefers und die Metaplasiefrage. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 32. 1888.
214. Id., Über das knorpelige Skelett von Ammonoites branchialis. Z. f. wiss. Zool. Bd. 61. 1896.
215. Id., Bemerkungen über die Histologie und Histogenese des Knorpels der Cyclostomen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 50. 1897.
216. Schleicher, W., Die Knorpelzellteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16. 1879.
217. Schmiedeberg, O., Über die chemische Zusammensetzung des Knorpels. Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmacologie. Bd. 28. 1891.
218. Schottelius, M., Die Kehlkopfknorpel. 1879.
219. Schulin, Karl, Über die Entwicklung und weitere Ausbildung der Gelenke des menschlichen Körpers. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1879.
220. Schultze, Fr. E., Zellmembran, Pellicula, Cuticula, Crusta. Verhandl. d. anat. Gesellschaft. 10. Versammlung. 1896.
221. Schultze, Max., Über die Einwirkung von Zucker und Schwefelsäure auf organische Substanzen etc. Annalen der Chemie und Pharmacie. Bd. 72. 1849.
222. Id., Zur Frage über die sogenannte künstliche Umwandlung chondrogenen Knorpels in kollagenen. Journal f. prakt. Chemie. Bd. 83. 1861.
223. Id., Über Muskelkörperchen und das, was man eine Zelle zu nennen habe. Reicherts und du Bois-Reymonds Arch. 1861.
224. Schultz, G. u. P. Julius, Tabellarische Übersicht d. künstlichen organischen Farbstoffe. 3. Ausg. 1896.
225. Schwalbe, G., Beiträge zur Kenntnis des elastischen Gewebes. Zeitschrift f. Anat. u. Entwicklungsgeschichte. 2. Bd. 1876—77.
226. Schwann, Th., Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Tiere und Pflanzen. Berlin 1839.
227. Seyewetz, A. et P. Sisley, Chimie des matières colorantes artificielles. Paris 1897.
228. Siegfried, Max, Über die chemischen Eigenschaften des retikulierten Gewebes. Leipzig 1892.
229. Sieveking, H., Beiträge zur Kenntnis des Wachstums und der Regeneration des Knorpels nach Beobachtungen am Kaninchen- und Mäuseohr. Morphologische Arbeiten (herausgegeben von G. Schwalbe.) 1. Bd. 1892,

- 
230. Smith, H., Enthalten die Knochen Keratin? Z. f. Biologie. N. F. Bd. 1, 1883.
231. Solger, B., Über das verschiedene optische Verhalten bestimmter Abschnitte anscheinend normalen Gelenkknorpels nach Einwirkung von absolutem Alkohol. Virchows Archiv. Bd. 102. 1885.
232. Id., Über die Alkoholreaktion normalen Gelenkknorpels. Ein Beitrag zur Histophysik. Archiv f. Anat. u. Physiolog. Anat. Abt. 1886.
233. Id., Die Wirkung des Alkohols auf den hyalinen Knorpel. In Festschrift für Koelliker. 1887.
234. Id., Über Schrumpfungerscheinungen am hyalinen Knorpelgewebe des Menschen und deren Beziehungen zu den Fibrillen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 31. 1888.
235. Id., Über pericelluläre und intercelluläre Ablagerungen in Hyalinknorpel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 34. 1889.
236. Id., Über Knorpelwachstum. Verhandlungen der anatom. Gesellschaft. Berlin 1889.
237. Id., Über Saftbahnen des Hyalinknorpels. Deutsche med. Wochenschrift. Nr. 34. 1891.
238. Id., Über Rückbildungerscheinungen im Gewebe des hyalinen Knorpels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42. 1893.
239. Spalteholz, Werner, Das Bindegewebsgerüst der Dünndarmschleimhaut des Hundes. Arch. f. Anat. und Physiolog. Anatom. Abt. 1897. Supplement-Bd.
240. Spina, A., Untersuchungen über den Bau der Sehnen. Wiener med. Jahrbücher. 1873.
241. Id., Über die Saftbahnen des hyalinen Knorpels. Sitzber. der K. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-nat. Klass. Bd. 80. Abteil. III. 1879.
242. Id., Untersuchungen über die Bildung der Knorpelgrundsubstanz. Ibid. Bd. 81. 1880.
243. Id., Beiträge zur Histologie des hyalinen Knorpels. Wiener med. Jahrbücher. 1886.
244. Spronck, C. H. H., Zur Kenntnis der Struktur des Hyalinknorpels. Anat. Anz. Jahrg. 2. 1887.
245. Spuler, Arnold, Über den Bau und Entstehung des elastischen Netzkorpels. Sitzungsbericht der physikal.-medizin. Gesellsch. zu Erlangen. 27. Heft. 1895.
246. Id., Beiträge zur Histologie und Histogenese der Binde- und Stützsubstanzen. Anat. Hefte. Bd. 7. 1896.
247. Id., Beiträge zur Histogenese des Mesenchyms. Verhandlg. der anat. Gesellsch. 13. Versammlg. 1899.
248. †Stieda, Ludwig, Die Bildung des Knochengewebes. Leipzig, Engelmann. 1872 (Autorref.).
249. Id., Studien über die Entwicklung der Knochen und des Knochengewebes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 11. 1875.

250. Stöhr, Ph., Lehrbuch d. Histologie. 8. Aufl. 1898.
251. Strelzoff, Beitrag zur normalen Knochenbildung. Vorläufige Mitteilg. Centralblatt f. d. med. Wiss. Nr. 29. 1872.
252. Id., Zur Lehre von der Knochenentwicklung. Ibid. 1873. Nr. 18.
253. †Id., Über die Histogenese der Knochen. Untersuch. aus d. path. Institut. zu Zürich. I. Heft. 1873. (Ref.).
254. van der Stricht, Omer, Recherches sur le cartilage hyalin. Archiv. de Biologie (de Gand). Tome 7. 1887.
255. Id., Recherches sur la structure de la substance fondamentale du tissu osseux. Archives de Biologie. Tome 9. 1889.
256. Id., Recherches sur le cartilage articulaire des oiseaux. Archives de Biologie. Tome 10. 1890.
257. Stricker, S., Handbuch der Lehre von den Geweben. Bd. 1—2. Leipzig 1871—72.
258. Stricker, S., Vorlesungen über allgemeine und experimentelle Pathologie. Wien 1883.
259. Studnička, F. K., Bemerkungen über die Histologie und Histogenese des Knorpels der Cyclostomen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 48. 1897.
260. Id., Weitere Bemerkungen über das Knorpelgewebe der Cyclostomen und seine Histogenese. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 51. 1898.
261. Id., Die Knorpelkapseln in den Knorpeln von Petromyzon. Anat. Anz. Bd. 14. 1898.
262. Id., Über verknorpelte Fasern im Bindegewebe. Sitzungsber. d. k. Böhm. Ges. d. Wiss. Prag 1897.
263. Tenderich, H., Untersuchungen über die Struktur des normalen und pathologisch veränderten Knorpels. Diss. Greifswald 1892.
264. Id., Untersuchungen über genetische und biologische Verhältnisse der Grundsubstanz des Hyalinknorpels. Virch. Arch. Bd. 131. 1893.
265. †Terrazas, R., Métodos de coloracion de la substancia fundamental cartilag. Rev. trim. de micr. Vol. 1. 1896 (Ref. in Schwalbes Jahresb. N. F.).
266. Textbook of Physiology. Edited by E. A. Schäfer. Vol. first. Edinburgh-London, Pentland. 1898.
267. Thin, G., On hyaline cartilage and deceptive appearances produced by reagents etc. Proceed. Royal Soc. of London. Vol. 28. 1879.
268. Id., On the structure of hyaline cartilage. Proceed. Royal Soc. of London. Vol. 38. 1885.
269. Tillmanns, H., Beiträge zur Histologie der Gelenke. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10. 1874.
270. Id., Untersuchungen über die Unzuverlässigkeit der Versilberungsmethode für die Histologie der Gelenke. Virch. Arch. Bd. 67. 1876.
271. Id., Über die fibrilläre Struktur des Hyalinknorpels. Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abteil. 1877.

272. Trommer, C., Zur chemischen Natur der wahren oder chondrogenen Knorpel und der Knochen- oder kollagenen Knorpel. Virch. Arch. für pathol. Anat. Bd. 19. 1860.
273. Unna, P. G., Über weitere Versuche, Farben auf dem Gewebe zu erzeugen und die chemische Theorie der Färbung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30. 1888.
274. Id., Über die Reifung unserer Farbstoffe. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. 8. 1892.
275. Id., Eine Serie von Artikeln über mikr. Färbetechnik in Monatshefte für praktische Dermatologie 1893—94—95. Speziell: „Die spezifische Färbung des Kollagens (Bd. 18. 1894) auch Z. f. wiss. Mikr. (Bd. 11. 1894), und „Elastin u. Elacin“ und „Basophiles Kollagen, Kollastin u. Kollacin“. Mh. pr. D. Bd. 19. 1894.
276. †Uranossow, G., Beitr. z. Lehre von der Entwicklung des Knochengewebes aus Knorpel. Diss. Moskwa 1872. (Ref.)
277. Valentin, G., Gewebe des menschlichen und tierischen Körpers. R. Wagners Handwörterbuch der Physiologie Bd. 1. 1842.
278. Virchow, Rudolf, Kombinations- und Übergangsfähigkeit bösartiger Geschwülste. Verh. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg. Bd. 1. 1859.
279. Id., Neue Beobachtungen über Knochen- und Knorpelkörperchen. Ibid. Bd. 1. 1850.
280. Id., Über die Identität von Knochen-, Knorpel- und Bindegewebskörperchen, sowie über Schleimgewebe. Ibid. Bd. 2. 1852.
281. Id., Weitere Beiträge zur Struktur der Gewebe der Bindesubstanz. Ibid. Bd. 2. 1852.
282. Id., Die Cellularpathologie. 3. Aufl. Berlin 1862.
283. Vogel, A., Die Saftbahnen des Hyalinknorpels. Diss. Bern 1883.
284. Waldeyer, W., Über den Ossifikationsprozess. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 1. 1865.
285. Id., Über Bindegewebszellen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 11. 1875.
286. Weber, E. H., Allgemeine Anatomie des menschlichen Körpers (Bd. I von Hildebrandts Anatomie. 4. Aufl.) Braunschweig 1830.
- 286b. Weber, K. O., Zur Theorie des Färbeprozesses. Chem. Centralbl. I. 1899. Jahrg. 70. S. 507.
287. Weichselbaum, A., Die senilen Veränderungen der Gelenke und deren Zusammenhang mit der Arthritis deformans. Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-nat. Klasse. Bd. 75. III. Abteil. 1877.
288. Weigert, C., Artikel „Technik“ in Ergebnisse d. Anat. u. Entwicklungsgeschichte. Bd. 3. (1893—1894.)
289. Id., Beiträge zur Kenntnis der menschlichen Neuroglia. Festschrift zum 50jähr. Jubiläum d. ärztlichen Vereins zu Frankfurt a. M. 1895.
290. Id., Neue Fragestellungen zur pathologischen Anatomie. Deutsche med. Wochenschrift Nr. 40. 1896.
291. Id., Zentralblatt f. allgem. Pathologie u. pathol. Anat. Bd. 9. 1898.



- 292. Wolters, M., Zur Kenntnis der Grundsubstanz und der Saftbahnen des Knorpels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37. 1891.
  - 293. Id., Zur Kenntnis der Grundsubstanz und der Saftbahnen des Knorpels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38. 1891.
  - 294. Young, R. A., The Fibres of retiform tissue. Journal of Physiology. Vol. 13. 1892.
  - 295. Id., Does bone contain mucin? Journal of Physiology. Vol. 13. 1892.
  - 296. Zimmermann, A., Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wissenschaftlichen Mikroskopie. Leipzig, Wien 1895.
  - 297. Zuckerkandl, E., Beitrag zur Lehre von dem Baue des hyalinen Knorpels. Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-nat. Klasse. Bd. 91. Abteil. III. 1885.
-