

## Erklärung der Abbildungen.

Tafel XII.

- Fig. 1. Querschnitt durch den völlig obturirten Theil des Duct. thor. Schwache Vergrößerung. a Gefässwand. b Granulationsgewebe mit Krebsalveolen. b' Krebszellen, in die Wand eindringend. d Gerinnsel.
- Fig. 2. Theil eines Querschnittes. Mittlere Vergrößerung. a Gefässwand. a' Intima. b Krebszellen, bei \* die Wand wie Cylinderepithel bedeckend. d organisirte Thrombusmasse, zum Theil von Kanälen durchzogen.
- Fig. 3. Knötchen aus der Wand des Duct. thor. Mittlere Vergrößerung. a Media. a' Intima. a'' die durch Krebsmassen aufgefaserte Gefässwand. b Krebsalveolen. c Zotte mit Krebszellen. d Rundzellen.

## XXII.

## Ueber Entwicklung und Ausbildung der Erythroblasten.

(Aus dem Pathologischen Institut zu Berlin.)

Von Dr. Artur Pappenheim.

(Hierzu Taf. XIII und XIV.)

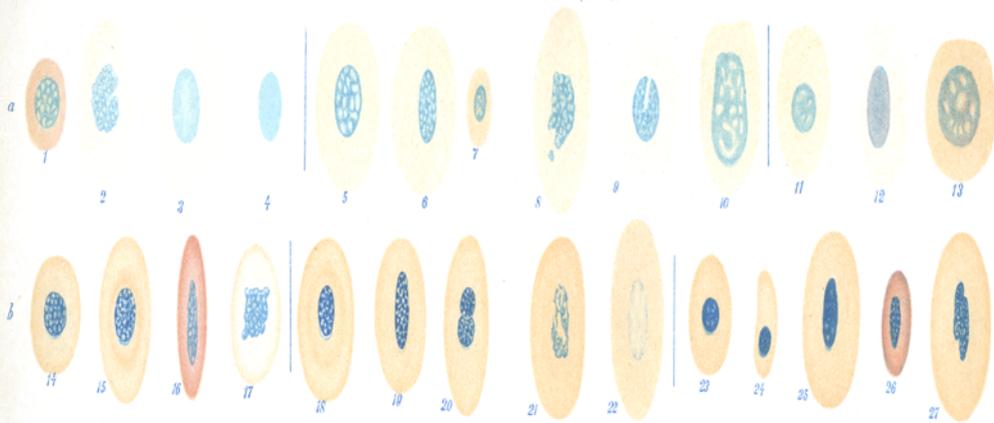
In meiner Arbeit „Die Bildung der rothen Blutscheiben“<sup>1)</sup> hatte ich das Problem, betreffend das Verhältniss zwischen Megaloblasten und Normoblasten, bereits kurz gestreift. Auch S. Askanazy<sup>2)</sup> und O. Schauman<sup>3)</sup> haben jüngst diese hoch interessante Frage wiederum recht eingehend erörtert, ohne indess, wie mir scheint, die Angelegenheit zu einem befriedigenden Abschluss gebracht zu haben. Rücksichtlich der grossen diagnostisch-prognostischen Bedeutung der Megaloblasten erscheint eine neue Untersuchung dieses Gegenstandes zur Kenntniss des Wesens der Anämien förderlich.

Askanazy vertritt augenblicklich die auf den ersten Blick sehr naheliegende Anschauung, als ob „die Megaloblasten die

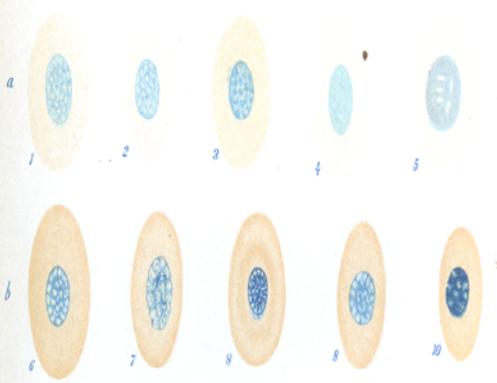
<sup>1)</sup> A. Pappenheim, Diss. inaug. Berlin 1895.

<sup>2)</sup> S. Askanazy, Zeitschr. f. klin. Med. XXVII. 5 und 6. 1895.

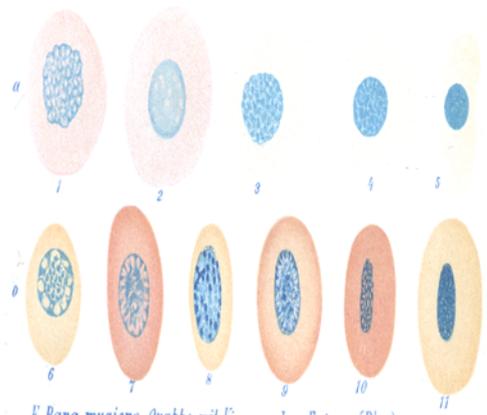
<sup>3)</sup> O. Schauman, Zur Kenntniss der sogen. Bothriocephalus-Anämie. Berlin 1894.



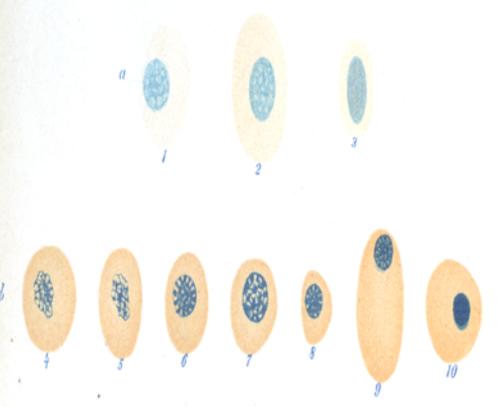
B. *Rana temporaria*. Altes Frühlings-tier. (Knochenmark)



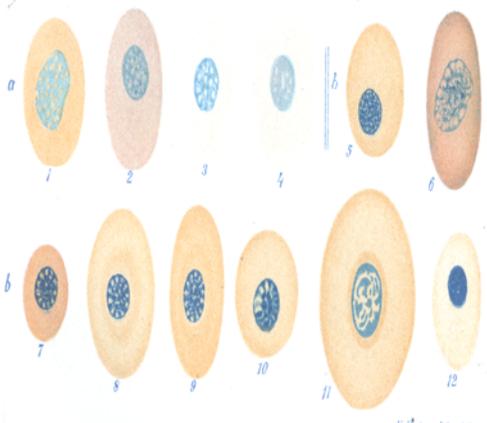
C. *Rombinator igneus*. Junges Frühlings-tier (Blut)



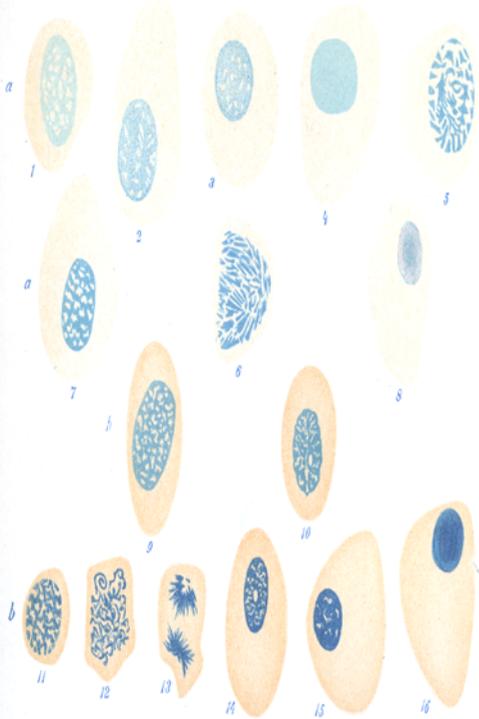
D. *Rana temp.* Quabbe ohne Kiemen mit 4 Extremitäten u. Ruderschwanz. (Blut)



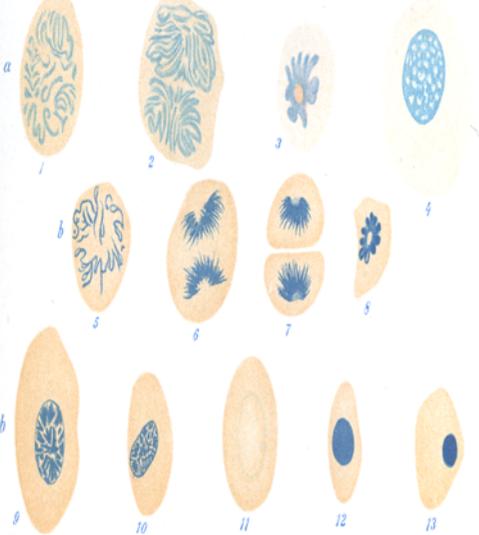
E. *Rana mugiensis*. Quabbe mit Kiemen ohne Extremitäten. (Blut)



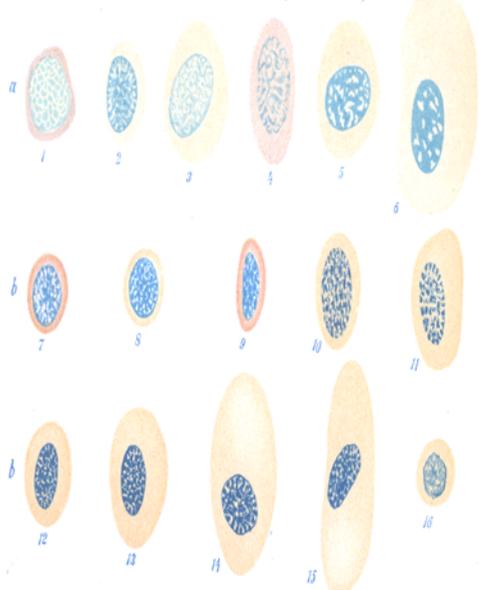
A. Salamandra macul. Altes Tier (Blut u. Milz)



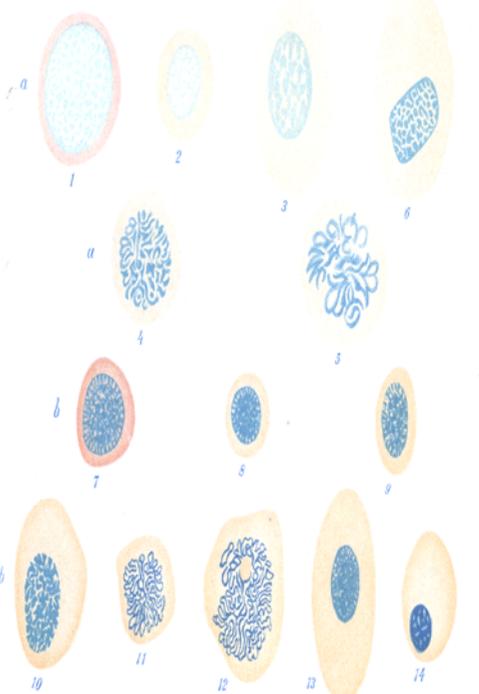
B. Salamandra macul. Quabbe, aus Uterus excidirt (Blut)



C. Amblystoma Marrot. Junges Tier (Blut u. Milz)



D. Siredon pisciform. Altes Tier (Blut u. Milz)



jugendlicheren, die Normoblasten die älteren Formen darstellen, letztere also aus ersteren hervorgehen“; er sieht demnach in den verschiedenen Grössenformen nur den anatomischen Ausdruck für verschiedene cytogenetische Alterszustände in einer und derselben Zellart. Er entfernt sich mit dieser seiner Ansicht von der Anschauung Ehrlich's, der in den verschiedenen Grössenformen zwei hämatogenetisch-differente Zellgattungen erblicken zu können meinte, so zwar, dass die Megaloblasten den frühesten Phasen embryonalen Lebens, die Normoblasten den späteren entsprächen. Einen gewissermaassen vermittelnden Standpunkt vertritt Engel, der zwar auch in seinen Metrocyten und Normoblasten verschiedene, den verschiedenen embryonalen Phasen entsprechende Zellarten erblickt, aber letztere aus ersteren durch Kernausswanderung hervorgehen lässt. Askanazy sowohl wie Engel halten demnach dafür, dass aus der grösseren Zelle eine kleinere hervorgehen solle. Der Kernausswanderung braucht wohl, vorläufig wenigstens, keine erneute Aufmerksamkeit mehr zuzuwenden sein. Inwieweit die Annahme, dass durch einfache Zellfortpflanzung und Theilung ohne sonstige Veränderungen am Protoplasma direct aus einer grösseren Art eine kleinere Zellart werden könne, deren Individuen nun mit einem Mal durchgehends kleiner bleiben, als die noch nicht herangewachsenen jungen Individuen der Mutterzellenart, aus der sie hervorgingen, inwieweit diese Annahme mit den herrschenden Ansichten über Vererbung vereinbar ist, ist an dieser Stelle nicht weiter zu untersuchen<sup>1)</sup>. [Die Verhältnisse bei der Spermatogenese, wo die Spermatiden karyokinetisch aus den Spermatogonien entstehen, beruhen auf Reductionstheilung und die Verhältnisse zwischen grossen und kleinen Lymphocyten<sup>2)</sup> <sup>3)</sup> liegen anscheinend auch nicht so einfach.] Schauman<sup>4)</sup> giebt Askanazy zu, dass ein principieller

<sup>1)</sup> cf. Hansemann's Typus der inäqualen Zelltheilung und die Bemerkungen dazu von Ribbert, Deutsche med. Wochenschr. S. 471. 1896. No. 30.

<sup>2)</sup> C. Benda, Verhandl. der physiol. Gesellsch. zu Berlin. 1895/96. 8. Sitzung am 7. Februar 1896. Ausgabe vom 20. März 1896.

<sup>3)</sup> Saxon, Centralbl. f. allg. Path. 1896.

<sup>4)</sup> Schauman, a. a. O. S. 145.

Unterschied im Sinne Ehrlich's (Kernschicksale) zwischen Megalo- und Normoblasten nicht gemacht werden könne, dass es ferner auch bis jetzt unmöglich sei, eine aus dem Zusammenhang gelöste Zelle mit der einen oder der anderen Bezeichnung mit Sicherheit zu belegen, da einerseits die Grössenverhältnisse durchaus fließende sind, andererseits sich grosse Zellen mit Kernen finden lassen, die für die Mehrzahl der kleineren Zellen charakteristisch zu sein scheinen und umgekehrt; trotzdem aber ist er geneigt, zwei Arten rother Blutkörperchen von verschiedener Werthigkeit anzunehmen, wobei er sich besonders auf den durch die Erfahrung sicher gestellten grossen prognostischen und diagnostischen Unterschied zwischen dem Befund von Normoblasten und Gigantoblasten bei Anämien stützt (vergl. aber E. Grawitz, *Klin. Pathol. des Blutes*. S. 21, Abs. 3). Auch ich hielt in meiner citirten Arbeit den Standpunkt von der Verschiedenheit beider Zellarten aufrecht, vor Allem darauf hin, dass sich bei Normo- und Gigantoblasten junge und alte Zellen finden liessen. Wenn nemlich beide Zellgrössen, wie Askanazy will, nur zu einer Zellart gehören sollen, dann darf es doch nicht bei beiden Grössen junge und alte Individuen geben und wenn die Normoblasten aus den Megaloblasten entstehen sollen, dann kann man entweder annehmen, dass die alten Normoblasten aus jungen Normoblasten und diese aus jungen Megaloblasten entstanden sind, oder aber die alten Normoblasten aus alten Megaloblasten, diese aber aus jungen Megaloblasten: im ersten Falle wäre der thatsächlich zu constatirende Befund von alten Megaloblasten (Schauman, a. a. O. S. 145), im letzteren der von jungen Normoblasten unverständlich.

Dass, wie zugegeben werden muss, junge Normoblasten und vor Allem alte Megaloblasten in der Blutbahn relativ selten gefunden werden, beruht nicht auf ausnahmsweise regelwidrigen Entwicklungsvorgängen, sondern wird weiter unten anderweitig zu erklären sein.

Zu diesen Resultaten war ich gelangt durch Berücksichtigung gewisser, das Zellalter betreffenden cytologischen That-sachen und zwar habe ich in gewissen, mit den Altersstadien einhergehenden Veränderungen des Zellkerns Symptom und anatomischen Ausdruck für den Alterszustand der betreffenden Zelle sehen zu dürfen geglaubt. Den Klinikern, in deren Händen

fast allein die Pflege hämatologischer Studien liegt, waren entschuldbarer Weise die in Specialzeitschriften niedergelegten neueren allgemein-anatomischen Thatsachen wahrscheinlich entgangen, so dass sie sich über das Alter der rothen Blutkörperchen Ansichten hingaben, die nach dem heutigen Standpunkt eigentlich nicht mehr recht aufrecht zu erhalten sind.

So wurden z. B. Grösse und Zellalter mit einander in Beziehung gesetzt. Die einen, mit ihnen Askanazy, nehmen an, dass die grösseren Zellen die jüngeren seien; sie stehen, indem sie den physiologischen Vorgang des Wachstums vernachlässigen, im Gegensatz zu anderen, die in der geringeren Grösse einen Ausdruck für die grössere Jugend erblicken, wie denn ja auch E. Neumann<sup>1)</sup> in seiner letzten Arbeit es ausgesprochen hat, dass die kernhaltigen, rothen Blutkörperchen des Frosches aus kleinen, farblosen „Spindelzellen“ unter Hämaglobinaufnahme heranwachsen. Die Vertreter dieser Ansicht übersehen dabei aber wieder, dass individuelle Ausnahmen, Riesen- und Zwergformen als Abarten vorkommen können. Wenn auch meist kleinere Formen die jüngeren sind und zu grossen heranwachsen, so ist doch nicht umgekehrt ein Zwerg eo ipso auch ein jugendliches Individuum, und auch junge Riesen können gleich gross und grösser als ausgewachsene Durchschnittsindividuen sein.

Erstere Ansicht (Askanazy) stützt sich unter anderem auf die Thatsache, dass auf den ersten Blick eine gewisse Relation zwischen Grösse und Hämoglobingehalt der Zellen zu bestehen scheint, indem die meisten Megaloblasten hämoglobinarmer, die meisten Normoblasten dunkelgefärbt erscheinen. Ganz abgesehen aber davon, dass sich helle Normoblasten neben dunklen Megaloblasten finden lassen<sup>2)</sup> (Taf. XIII. E. 1, 12), erwies sich auch die aus dieser Thatsache gezogene Folgerung, welche ihrerseits wieder die directe Voraussetzung zu der oben genannten ersten Theorie wurde, als nicht stichhaltig, nach welcher Alter und Hämoglobingehalt der Zelle parallel liefen, so zwar, dass die Hämoglobinzunahme eine Function des zunehmenden Alters sei und man im Grad der Färbung einen Anhalt für das betreffende

<sup>1)</sup> E. Neumann, Dieses Archiv. Bd. 143. 1896.

<sup>2)</sup> cf. Rieder, Atlas der klin. Mikroskopie des Blutes. Taf. VIII. Fig. 31 und 32.

Zellalter besässe. Dieser von M. B. Schmidt formulirte Satz vernachlässigt wieder den physiologischen Vorgang der Zelltheilung, durch welche eine dunkle Zelle im theilungsreifen Alter sich zu zwei dunklen Zellen verjüngt (Taf. XIV. B. 7).

Aus dem Mitgetheilten ergibt sich, dass die Berechtigung, in den Megaloblasten die an Zellalter jüngeren Gebilde zu sehen, nur eine scheinbare sein kann, die auch keineswegs grösser wird durch die Thatsache, dass vorzugsweise bei Megaloblasten Mitosen sich finden und dass besonders bei Megaloblasten, ruhenden und sich theilenden, die polychromatophile Färbung häufig ist. Es finden sich nemlich auch bei Normoblasten Mitosen und polychromatophile Färbungsverhältnisse (Taf. XIV. B. 9) und deshalb erscheint auch der von Gabritschewsky<sup>1)</sup> gezogene Schluss, auf den Askanazy seine Behauptung von der grösseren Jugendlichkeit der Megaloblasten im Gegensatz zu den Normoblasten stützt, unberechtigt, in der Polychromatophilie einen Ausdruck der Jugendlichkeit zu sehen.

Wie wir also gesehen haben, darf man es für unstatthaft halten, Hämoglobingehalt und Grösse mit dem Alter in directe und einfache Beziehung zu setzen, deshalb, weil die Verhältnisse des Wachstums und der Zelltheilung entweder unberücksichtigt bleiben müssten oder ihr plastischer Erfolg als störende Ausnahme von der Regel hervortreten würde. In der Berücksichtigung der Kernverhältnisse glaube ich nun ein allgemeines Merkmal zur Bestimmung des Zellalters anempfehlen zu dürfen, zumal sich dann die scheinbar störenden Schwankungen in Grösse und Hämoglobingehalt sehr gut unter Hinweis auf die doppelte Entstehung der rothen Blutkörperchen erklären lassen, welche ja, wie bekannt, ihren Ausgang nehmen, sich neubilden und vermehren entweder von farblosen Hämatoblasten aus, also durch heterogene Transformation, oder von sich aus durch homogene Proliferation. In Berücksichtigung der Kernverhältnisse ergab sich, dass Polychromatophilie auch bei alten Zellen sich findet (Taf. XIII. A. 26), sowie dass der Satz von M. B. Schmidt nicht allgemein gültig ist, nach welchem Färbbarkeit des Zelleibes und Zellkernes Hand in Hand gehen, derart, dass „je höher der Hämoglobingehalt einer Zelle, desto kleiner der Kern und desto plumper sein

<sup>1)</sup> Gabritschewsky, Archiv für experiment. Pathol. XXVIII. No. 5.

Chromatingerüst ist“. Denn es finden sich hell gefärbte Zellen mit alten Kernen und umgekehrt.

Es ist dabei mit dem Moment zu rechnen, dass zwar extreme Erscheinungsformen der besonderen Erklärung bedürfen, dass aber um ein mittleres Maass herum innerhalb der physiologischen Breite individuelle Schwankungen vorkommen, so dass zwei gleichaltrige und auf gleiche Weise (isotyp) entstandene Zellen doch nicht absolut gleich gross und gefärbt zu sein brauchen; ferner ist man auch noch nicht mit Sicherheit darüber orientirt, einmal ob Theilung in jedem Zellalter vorkommt oder eines gewissen Reifestadiums, kenntlich ebenfalls an den Kernverhältnissen, benöthigt, und zweitens, ob auch die Metamorphose der farblosen Zellen an bestimmte Altersgrenzen dieser gebunden ist. Vorausgesetzt ferner, dass zur Neubildung von rothen Blutzellen ein bestimmtes Alter der farblosen oder gefärbten Mutterzellen erforderlich wäre, so ist dieser Lebensphase der Zeugungsfähigkeit doch auch eine gewisse Ausdehnung zu vindiciren. Fraglich ist es nun, ob die im Beginn der Reife gebildeten jungen Blutzellen homolog sind solchen, die aus der Zeit der zur Neige gehenden Fruchtbarkeit abstammen. Aehnlich liegen vielleicht auch die Dinge hinsichtlich des Entwicklungsgrades des hämatopoetischen Organs. Man weiss nichts Genaueres darüber, ob beispielsweise embryonales Knochenmark rothe Blutzellen bildet, identisch denen, die aus dem Knochenmark eines Greises ihren Ursprung nehmen, beziehungsweise ob junge Blutzellen beim jugendlichen und beim gealterten Thier absolut äquivalent sind.

Bevor ich fortfahre, will ich nur noch bemerken, dass auch bei der Beurtheilung der kernlosen Blutscheiben ganz ähnliche Anschauungen maassgebend waren, vor Allem die Factoren der Grösse und des Hämoglobingehalts. In jedem Präparat von normalem Menschenblut kann man kräftig gefärbte, scharf contourirte Formen neben meist etwas grösseren, blasseren, mit zarten Contouren ausfindig machen. Im gefärbten, nach Ehrlich hergestellten Trockenpräparat erscheinen erstere meist gleichmässig gefärbt und rund („Blutkugeln“), letztere zeigen in Folge des Druckes von Seiten des abgezogenen Deckglases meist leichte Verziehungen der Form, sowie in der Mitte, dort wo die Delle liegt, eine hellere Stelle; letztere ist aber nicht etwa der durch Färbung kenntlich gemachte Ausdruck derselben; zeigen doch auch die dunklen Formen, wie man sich am frischen, ungefärbten Präparat leicht überzeugen kann, die centrale Impression. Es handelt sich also hier nicht um einen optischen Effekt, sondern eine Folge durch künstliche

Tinctionen sichtbar werdender ungleichmässiger Hämoglobinvertheilung. Es gehören nun die blassen „chlorotischen“ Formen meist, nicht durchweg, zu den grösseren, die dunklen zu den kleineren, und während letztere sich als ziemlich resistente Gebilde repräsentiren, verrathen erstere eine hochgradige Labilität gegen die verschiedensten physikalischen und chemischen Einflüsse<sup>1)</sup>. Da man nun auch nach Blutverlusten hauptsächlich zuerst diese blassen Formen vorfindet<sup>2)</sup>, so hat sich die überkommene Ansicht eingebürgert, dass die grossen chlorotischen, labilen und „protoplasmatischen“<sup>3)</sup> Formen als die jüngeren, die discoplasmareichereren als die älteren Elemente angesehen werden, wobei man sich vorstellte, dass durch Hämoglobinzunahme in Menge und Ausbreitung über die Fläche, sowie durch Abnahme des eigentlichen Protoplasma die letzteren Formen aus ersteren hervorgingen. Ganz abgesehen nun davon, dass sich auch kleine helle neben grossen dunklen Formen finden, und dass Forscher, wie Hayem, Eichhorst, Eisenlohr, Botazzi, die grösseren aus den kleineren Blutscheiben entstehen lassen wollen, dürfte jedenfalls wenigstens der eine Modus der Entwicklung als sicher vorhanden gelten, nach welchem nicht sowohl alte Blutscheiben aus jungen Blutscheiben hervorgehen, ganz gleich, ob die kleineren oder die grösseren, die hellen oder die dunklen die jüngeren sind, als vielmehr Megalocyten<sup>4)</sup> aus Megaloblasten, Normocyten aus Normoblasten; glauben wir doch in unserer oben citirten Arbeit gezeigt zu haben, dass Erythroblasten der Säugethiere in jeder Grösse, in jeder Färbungsintensität und jedem Alter zu kernlosen Scheiben umgebildet werden können. Ob kernlose Gebilde, Blutscheiben, plastische Veränderungen durchmachen können, helle Erythrocyten zu dunklen, kleine zu grossen werden können oder umgekehrt, ist

1) Cf. Köppe, Arch. für Anat. und Physiol. 1895. Phys. Abtheilung. — Deutsche med. Wochenschr. 1895. S. 545.

2) Lyon, Dieses Arch. Bd. 84. — J. Otto, Pflüger's Arch. Bd. XXXVI. — Laache, Die Anämie. Christiania 1883. — Bizzozero und Salvioli, Centralbl. für die med. Wissenschaften. 1879. No. 16. — Moleschott's Untersuchungen. Bd. XII. 1881. — Sanfelice, Arch. ital. de biol. Bd. XIII. — Köppe, Münch. med. Wochenschr. 1895. No. 39.

3) Cf. O. Hertwig, Die Zelle und die Gewebe. 1893. S. 259.

4) Ich möchte vorschlagen, die kernlosen rothen Blutkörperchen mit „Erythrocyten“ zu bezeichnen nach dem Ausdruck „Cytode“, den Haeckel im Gegensatz zu „Cyte“ für kernloses Protoplasma reservirt. Es dürfte dies die einfachste Aenderung der Nomenclatur sein, falls man überhaupt auf gewisse Einheitlichkeit in derselben Werth legt. Wollte man den conventionellen und durch die Tradition sanctionirten Ausdruck „Erythrocyten“ für kernlose Scheiben beibehalten, so müsste man eigentlich alle kernhaltigen Zellen nach dem Beispiel der kernhaltigen Erythroblasten, nicht mehr als Lymphocyten, sondern als Lymphoblasten, Leukoblasten, Spermatoblasten u. s. w. bezeichnen.

nicht mit Sicherheit bekannt. Betreffs der Chlorose kann man somit bislang eigentlich nur annehmen, dass keine dunklen Erythroblasten mehr entstehen, sondern dieselben bereits im hämoglobinarmer Zustand entkernt werden, vielleicht in Folge einer tropischen Störung durch das irgendwie veränderte Serum<sup>1)</sup>.

Nachdem wir in der verschiedenen Kernstruktur ein Mittel zur Bestimmung der verschiedenen Stadien des Zellalters gefunden hatten, zuverlässiger als Grössen- und Färbungsunterschiede, waren wir überzeugt, mit Recht den Schluss ziehen zu dürfen, dass zwei verschiedene rothe Blutzellarten anzunehmen seien, wenn schon es bis dato nicht möglich war, durchgreifende Unterschiede zwischen beiden ausfindig zu machen; und doch, wenn die Voraussetzung richtig ist, muss es möglich sein, sog. „Uebergangs- und Mittelformen“ an ihren wesentlichen Merkmalen aus einander zu halten; ist man doch beispielsweise sehr gut im Stande, nicht nur ein altes Pony von einem jungen Pferd, sondern auch überhaupt ganz schlechthin auch ein besonders grosses Pony von einem mal ausnahmsweise kleinen Pferd zu unterscheiden. Auf die Festlegung dieser wesentlichen Artunterschiede spitzt sich nun die ganze folgende Betrachtung zu; dürfte doch diejenige Auffassung über die Entwicklung der Erythroblasten ziemlich als erledigt gelten, welche einen directen Uebergang von Megaloblasten zu Normoblasten anzunehmen geneigt ist. Es fragt sich jetzt nur noch, ob das Verhältniss zwischen beiden ein derartiges sei, dass sie, wie ich in meiner Arbeit (s. oben) angenommen hatte, nach einander, gleichsam specifisch für die verschiedenen Altersphasen des Thieres gebildet werden (histogenetisches Blutalter im Gegensatz zum cytogenetischen Zellalter) oder ob noch andere Möglichkeiten verwirklicht sind. In dem Ausdruck „Entwicklung der Erythroblasten“ ist ferner mit

<sup>1)</sup> Es ist demnach unstatthaft, die kernhaltigen Erythroblasten als solche insgesamt ohne Weiteres als Jugendformen im Gegensatz zu den kernlosen Erythrocytoden zu bezeichnen; dies wäre nur statthaft, wenn die Entkernung stets eine Function des zunehmenden Alters wäre, vergleichbar der Metamorphose der kimentragenden Kaulquappe bei Salamandra zur kimenlosen Landform. Höhere Ausbildung und Alterung sind aber in unserem Falle nicht vertauschbar. Die Verhältnisse liegen hier etwa so wie bei der Metamorphose des Axolotl, wo die Siredonform als solche bis in die Geschlechtsreife persistiren kann, aber auch schon ganz junge Individuen in die Amblyostomaform umzüchtbar sind.

einbegriffen, wie aus jungen Blutzellen die alten werden sowohl bei der einen wie bei der anderen Art.

Was den letzten Theil unserer Aufgabe betrifft, so hatten wir bereits erwähnt, dass gewisse an den Kernen sich abspielende Veränderungen der cytogenetischen Altersbestimmung zu Grunde gelegt werden müssen, ausgehend von der Thatsache, dass, wie Hertwig<sup>1)</sup> sagt, „je nach dem Alter und der Entwicklungsstufe einer Zelle, der Kern in allen seinen einzelnen Theilen, im Aussehen seines Kerngerüsts, in Zahl, Grösse und Beschaffenheit der Nucleolen erhebliche Veränderungen erleiden kann“. Aehnlich drückte sich Pfitzner<sup>2)</sup> aus, wenn er in seiner Pathologie des Zellkerns sagt, dass alle physiologischen Vorgänge und Störungen des Zellebens, wie Alter und Absterben u. s. w. in seinem morphologischen und chemischen Verhalten ihren charakteristischen Ausdruck erhalten, indem sie sich stets auch in einer qualitativen oder quantitativen Veränderung seiner Substanz oder Form äussern und zwar mit solcher Sicherheit, dass wir gelegentlich auch diese Veränderungen benutzen können, um auf die in dem Zelleben obwaltenden Verhältnisse zurück zu schliessen. In meiner Dissertation war ich der Anschauung von Pfitzner und Schmaus-Albrecht gefolgt, dass die ungemein stark, fast homogen sich färbenden Kerne mit grobem und plumpem Chromatingerüst, wie sie sich z. B. bei den corps résiduels finden, der physiologischen Altersdegeneration der Zellen entsprechen, dass dagegen zu einer jugendlichen Zelle deutlich und zierlichst strukturirte, weniger stark färbbare ruhende Kerne gehören. Da ich indess seither in der Literatur auf einzelne scheinbar widersprechende Angaben gestossen bin, dürfte eine erneute Berücksichtigung dieser Angelegenheit im allgemein-cytologischen Interesse wünschenswerth erscheinen. Wie man also bei gewissen Drüsenzellen aus dem morphologischen Bau von Kern und Protoplasma auf den jeweiligen Functionszustand schliessen konnte, so wäre nun an der Hand der rothen Blutzellen festzustellen, in wie weit es möglich und berechtigt sei, aus dem

<sup>1)</sup> Hertwig, a. a. O. S. 45. — Archiv für mikroskop. Anat. Bd. XXXVI. 1890. — Flemming, Kernsubstanz u. s. w.

<sup>2)</sup> Pfitzner, Dieses Archiv. Bd. 103. 1886. S. 280.

anatomischen Bild einen Schluss auf den physiologischen Vorgang der zunehmenden Alterung zu ziehen. Es scheinen nehmlich der bereits von Henle begründeten Lehre Pfitzner's zu widersprechen beispielsweise die Kerne gewisser Rundzellen, des reifen Eies und der Spermien, indem besonders die letzteren ganz aus compacter, stark färbbarer Nucleinsubstanz bestehen. Es herrscht die Neigung, in lymphoiden Zellen ganz allgemein jugendlichere, noch indifferente Gebilde zu sehen und dabei histogenetische und cytogenetische Altersbegriffe mit einander zu verquicken; ein ähnlicher Kernzustand, wie bei den kleinen Lymphzellen<sup>1)</sup>, findet sich bei den Spermatozoen und diesen Kernzustand hält Hertwig<sup>2)</sup> für den elementaren und einfachen, wo nehmlich die Kerne gewissermaassen nur aus activen Kernsubstanzen zusammengemischt und frei von anderen Beimengungen entgegnetreten; er meint, dass hier der naturgemässe Ausgangspunkt für die richtige Beurtheilung der übrigen Kernformen liegt. „Es lassen sich nehmlich die verschiedenen Strukturen, wie man bei pflanzlichen und thierischen Kernen wahrnimmt, hauptsächlich auf das eine Moment zurückführen, dass die activen Kernsubstanzen eine grosse Neigung haben, Flüssigkeiten und in diesen gelöste Stoffe in sich aufzunehmen und in Lücken abzuscheiden, meist in solchem Maasse, dass der ganze Kern das Aussehen eines in Protoplasma eingeschlossenen Bläschens gewinnt.“ Dieser Vorgang der Saftaufnahme bis zur Bläschenform finde sich bei vielen Drüsen, entsprechend dem Functionszustand der Zelle, lasse sich ferner direct beobachten bei der künstlichen Befruchtung, wo der Samenkern bis auf das Zwanzigfache seiner ursprünglichen Grösse anschwellt und zwar nicht durch Vermehrung seiner activen Substanz, deren Quantum genau das gleiche bleibt, sondern einzig und allein durch den trophischen Vorgang der Aufnahme von flüssigen, gelösten Stoffen. In dem zu einem Bläschen umgebildeten Samenkern ist das Nuclein in feinen Fäden zu einem Netz ausgebreitet, ein Vorgang, der sich ähnlich bei jeder Kerntheilung und während der Reconstruction der

<sup>1)</sup> Cf. die Beschreibung der Lymphocyten bei Grawitz, *Klin. Path. des Blutes*. 1896. S. 28.

<sup>2)</sup> O. Hertwig, *a. a. O.* S. 39.

Tochterkerne wiederholt; es vergrößert sich hierbei<sup>1)</sup> der Kern nennlich so, dass er wie ein Lymphocytenkern die ganze Zelle einnimmt, so dass die Zelle fast ganz aus Kernsubstanz zu bestehen scheint, da man bei ihnen oft nur mit äusserster Mühe noch einen Cytoplasmasaum erkennen kann (freier Kern!). Es ist nun zwar der Samenkern nicht im eigentlichen Sinne des Wortes ein jugendlicher, sondern höchstens gereifter, identisch mit dem der Spermatide, aus dem er durch Streckung hervorging, indessen ist er doch im Gegensatz zu den stark färbaren, aber ächt pyknotischen Kernen ein lebensfrisches Gebilde. Auch Schandinn (Zeitschr. für wissensch. Zool. LIX. 1895) und Rohde (Arch. f. mikr. Anat. XLVII. 1896. S. 124, 125) beschreiben bei Protisten (*Calcituba*) und bei Ganglienzellen von *Doris*, dass junge Kerne stark färbbar und homogen seien, sie aber mit zunehmendem Alter strukturirt und schwächer färbbar würden. Im Gegensatz hierzu sagt Strasburger<sup>2)</sup>, dass junge Kerne durch viel Kernsaft homogen seien, indem erst mit zunehmendem Alter Cytoplasmafäden eindringen, und Toldt<sup>3)</sup>, dass scharf umschriebene, mit körnerreicher Substanz erfüllte Bläschenkerne sich bei allen jungen und lebhaft functionirenden Zellen finden, z. B. bei gewissen Drüsen, dagegen die deutlich abgegrenzten, fast homogenen Kerne bei solchen, die schon eine lange Lebensdauer hinter sich haben, oder auch bei bestimmten anderen Functionszuständen. Schliesslich nimmt noch Arnheim<sup>4)</sup> die schwach färbbare Bläschenform für karyolytische, also regressive Kerne, deren Chromatin ausgelaugt ist, in Anspruch.

Aus dem soeben Mitgetheilten ist ersichtlich, dass ganz heterogene Dinge die gleiche Erscheinungsform annehmen können, woher denn auch entgegengesetzte Dinge mit demselben Namen belegt werden und umgekehrt ein und dieselbe Sache in entgegengesetzter Weise aufgefasst werden kann. (Wie erwähnt, konnten blasse, labile und polychromatophile Zellen bald als zarte, jugendliche, bald als pathologisch degenerirte Ge-

1) Flemming, a. a. O. S. 263.

2) Strasburger, Das botanische Practicum.

3) Toldt, Lehrbuch der Gewebelehre. III. Aufl. 1888. S. 12 und 13.

4) Arnheim, Dieses Archiv. Bd. 120. 1890.

bilde, grosse und kleine Zellformen bald als junge, bald als alte, progressive oder katabiotische Dinge je nach dem Gutdünken des Beobachters ausgelegt werden. Grund dafür ist, dass hier eben wie auch sonst in unserer Wissenschaft Dinge von extrem conträrem Werth ähnliche Erscheinungsform darbieten können. Es genügt, kurz an die Verhältnisse bei Hyperplasis und Atrophie zu erinnern oder an die bisweilen so gleiche Gestaltung primitiver und rückgebildeter Organe.) Auf eine Kritik der einzelnen mitgetheilten Ansichten über Pyknose- und Bläschenform (Oedematose) kann hier nicht eingegangen werden; wahrscheinlich ist auf den Unterschied zwischen absolutem und relativem Nucleinvorrath zu wenig Rücksicht genommen worden; zu bemerken aber ist, dass die mitgetheilten Widersprüche über Struktur und Färbbarkeit älterer Zellkerne (bei dem einen, Pfitzner, compact, stark färbbar, dem anderen, Rohde, strukturirt, schwach färbbar) leicht sich erklären lassen, indem der Effekt des Alterns noch nicht sogleich das Greisenalter ist, älter gewordene Kerne noch nicht uralte senile sein brauchen. Die gewissermaassen noch embryonale, im Entstehen begriffene Zelle hat einen compacten, stark färbbaren „Tochterkern“ (Taf. XIV. B. 7, 8). Dieser neugeborne Kern altert, wie Rohde lehrt, zum jugendlichen strukturirten Kern, der (Toldt) bei schwacher Färbung (s. S. 599) als Bläschen imponiren kann, und welcher denn erst bei weiter zunehmendem Alter mit Pfitzner zum pyknotischen Kern wird, der ebenso dunkel färbbar und strukturlos wie ein „Tochterkern“ ist.

Für unsere weiter unten anzustellenden Betrachtungen ist ferner von Wichtigkeit, dass sowohl die Pyknose wie die „Oedematose“ arteficiell zu Stande kommen können, ganz ebenso, wie auch andere natürliche Vorgänge physiologischer und pathologischer Art, und somit ausserhalb des Organismus Bilder erzielt werden können, die den Vorgängen *intra corpus* durchaus gleichen, ohne im betreffenden Falle berechtigt zu sein, einen Schluss auf die gerade zu erforschenden, innerhalb des Organismus sich abspielenden Vorgänge und im Moment der Entnahme aus demselben vorhandenen Zustände zuzulassen. Es möge hier kurz beispielsweise an die Verhältnisse bei der Poikilocytose und Hämoglobinämie einerseits, der Erythrothrypsie und

Plasmorrhexis<sup>1)</sup>, Erythrolyse und Plasmolyse<sup>1)</sup>) andererseits erinnert sein. Aehnlich liegen die Verhältnisse in unserem Falle. Die Pyknose bezeichnet eine durch die Struktur bedingte tinctorielle Eigenschaft des Kernes, ein relativ zu anderen Kernen besonders starkes Aufnahmevermögen für Farbstoffe. Dies gilt aber nur unter Zellen derselben Gattung; wenn sich z. B. in einem Schnittpräparat die Kerne gewisser Rundzellen insgesamt stärker färben, als die der fixen Stromazellen, so leitet sich daraus noch keine Berechtigung her, letztere als pyknotisch zu bezeichnen. Färbt man schwächer, mit dünnen Farblösungen oder kürzere Zeit, so erscheinen nun die Kerne der kleinen Lymphzellen deutlich strukturirt, die der grossen Lymphzellen und sonstigen Parenchymzellen aber fast ungefärbt, „ödematotisch“<sup>2)</sup>, Beweis genug, dass durch zu starkes oder zu schwaches Färben, bezw. Entfärben künstlich nach Belieben Pyknose und Bläschenform vorgetauscht werden<sup>3)</sup> kann. Wenn aber bei einer und derselben Zellart, z. B. grossen Lymphocyten oder Normoblasten, vorausgesetzt gleichmässige Dicke der Zellschicht und Einwirkung des Farbstoffes, die einen Zellen deutlich strukturirte, die anderen verklumpte, scheinbar überfärbte Kerne haben, so ist man wohl berechtigt, von Pyknose zu sprechen. Abgesehen von zu schwacher Färbung kann weiterhin Bläschenform und Karyolyse vorgetauscht werden künstlich durch zu langes und zu starkes Fixiren, wodurch eine Zustandsänderung der Kernsubstanzen eintritt, in Folge deren das Nuclein seine Affinität zu basischen Farbstoffen verliert. Bisweilen färbt sich dann nur noch das achromatische Gerüst solcher schlecht fixirten Kerne und zwar mit sauren Farben (Eosin oder Benzazurin [Bonnet]), so dass nunmehr das Electionsvermögen des Kernes in das entgegengesetzte umgeschlagen (polarisirt) zu sein scheint, was als Analogon angesehen werden kann zu der von mir<sup>4)</sup> erwähnten Thatsache, dass schlecht fixirte Zelleiber durch eine Art In-

<sup>1)</sup> Die Ausdrücke „Cytoschisis“ und „Cytolysis“ dürften sich, um Missverständnisse mit gewissen botanischen Terminis technicis zu vermeiden, mehr empfehlen.

<sup>2)</sup> Siehe auch bei Saxer, a. a. O.

<sup>3)</sup> Cf. hierüber bei Howell, Journ. of Morphol. IV.

<sup>4)</sup> Pappenheim, a. a. O. S. 89.

version von Safranin statt von Eosin gefärbt werden können. Wie sehr künstliche Eingriffe den wahren Verhältnissen nicht entsprechende, aber durchaus physiologisch erscheinende Bilder vortäuschen können, ergibt sich unter anderem aus den Arbeiten von Germer<sup>1)</sup> über Eizellen und vor Allem Kaiserling<sup>2)</sup> über Blutkörperchen. Auch Auerbach<sup>3)</sup> ist geneigt, speciell bei gewissen Megaloblasten der Amphibien mit bläschenförmigen Kernen den Erfolg einer im Verlauf der Beobachtung eingetretenen Blutplasmaconcentrationsänderung zu sehen. Während der Zelleib durch spontane Erbleichung (Diffusion des Hämoglobin) und gallertige Erweichung zu Grunde gehe, entstände auch an dem so frei werdenden Kern durch „Gesamtquellung“ und eine Art „innere Quellung“ ein Kunstprodukt. Solche durch Cytolyse des Zelleibes frei gewordenen, bläschenförmig gequollenen Kerne agglutiniren leicht und können dann, wenn sie, wie meist, nur schwach Farbstoff angenommen haben, sehr leicht mit gewissen, gleichfalls agglutirten, schwach gefärbten grossen Lymphocyten verwechselt werden, eben so wie die durch Cytoschisis des Zelleibes frei gewordenen pyknotischen Kerne mit kleinen Lymphocyten. Ersterem Irrthum ist bekanntlich Engel zum Opfer gefallen, der annimmt, dass gewisse, aus Normoblasten ausgewanderte, grosse, bläschenförmige Kerne zu weissen Blutkörperchen werden. Dies etwa sind die Ueberlegungen, die bei Vornahme unserer Untersuchungen und Deutung der Befunde zu beherzigen waren.

Das naheliegendste Object für die Untersuchung kernhaltiger rother Blutkörperchen wären anämisches Blut, Knochenmark, Blut von Säugethierembryonen, vielleicht auch vom Schwein (Bizzozero) gewesen. Es erschien indessen nicht unberechtigt, zur Förderung der für die menschliche Klinik so wichtigen That-sachen, sich vorher erst auch an phylogenetisch tieferstehenden Thieren vergleichend und embryologisch über diesen Gegen-

<sup>1)</sup> Germer, Inaug.-Diss. Berlin 1893. Dieses Archiv. Bd. 133.

<sup>2)</sup> Kaiserling, Inaug.-Diss. Berlin 1893. Dieses Archiv. Bd. 133. — Cf. auch Uhlmann, Ziegler's Beiträge. 1896. S. 533. — Griesbach, Festschr. für Leukart. 1892. — Bergonzini, Rassegna di scienze mediche. Anno V. Modena 1890.

<sup>3)</sup> Auerbach, Anatom. Anzeiger. V. 1890. —

stand zu orientiren. Es wurde zu dem Zweck das Blut der Amphibien gewählt, welches gerade wegen der Grösse seiner Elemente so überaus häufig den Forschern zu den verschiedensten Zwecken hat erhalten müssen, weshalb wir denn auch über eine stattliche Reihe von Forschungsergebnissen über diesen Gegenstand verfügen. Abgesehen davon, dass hier die kernhaltigen rothen Blutzellen in durchaus genügender, weil überwiegender Zahl vorhanden sind, durfte man auch hoffen, in Folge der eigenartigen platten und ovalen Form dieser Gebilde selten in Verlegenheit zu kommen, gewisse sehr hämoglobinarne Zellen mit farblosen Elementen zu identificiren, bzw. Schwierigkeiten bei ihrer Unterscheidung zu haben, wie solche bei den rundlichen mehr drei-dimensionalen, embryonalen Säugethierblutzellen früher oft recht störend aufgestossen waren und zwar nicht nur im ungefärbten Präparat, sondern auch ganz besonders im gefärbten, wenn man zur Färbung des Zelleibs nur eine saure Farbe, etwa Eosin, angewandt hatte. Letztere Hoffnung wurde indess illusorisch gemacht durch den Umstand, dass sich bei Amphibien die farblosen sog. „Spindelzellen“<sup>1)</sup> finden, die ihrerseits bisweilen mit gewissen ovalen rothen Blutkörperchen verwechselt werden können, falls man nicht hiergegen geeignete Vorsichtsmaassregeln getroffen hat. Eine zweite Möglichkeit, farblose und rothe Blutzellen zu verwechseln, wird hervorgerufen, wenn man nur eine Kernfarbe und zwar dann Hämatoxylin verwendet. Dasselbe erscheint nemlich, wie alle natürlichen Farben, als ein Farbgemisch und ist daher im Stande, auch das Cytoplasma, besonders das der Leukocyten<sup>2)</sup>, mitzufärben, zu dem es grössere Verwandtschaft zu haben scheint als die sauren Anilinfarben, so dass, wenn ihr Kern nur schwach gefärbt ist, sie ungemein ähnlich sehen den durch Cytolyse (s. oben) freigewordenen und ähnlich wie Leukocytenleiber granulirten Kernen rother Blutzellen, wenn der runde Kern aber deutlich ist, sie leicht verwechselt werden können wegen ihres lawendelgrau bis heliotrop gefärbten Zelleibes mit polychromatophilen rothen Blutzellen<sup>3)</sup>. Es müsste also bei unserer Untersuchung äusserst wünschenswerth erscheinen,

1) Cf. E. Neumann, Dieses Archiv. Bd. 143. 1896.

2) Cf. Weiss, J., Hämatol. Unters. 1896. S. 24.

3) Cf. Timofejewsky, Centralbl. f. allgem. Pathol. VI. 1895.

sowohl im gefärbten wie im ungefärbten Präparat ein Reagens auf Hämoglobin zu besitzen, mittelst dessen man mit Sicherheit im Stande wäre, etwaige „Uebergangsformen“ den weissen oder rothen Blutkörperchen zuzuweisen. Ganz besonders schwierig ist solches im ungefärbten Präparat, wo schon eine ganze Reihe sicher Leukocyten vorstellender Elemente einen grünlich-gelblichen Schimmer des Zelleibes aufweist und wo man noch obendrein ganz besonders von der Gunst der Beleuchtungsbedingungen (heller oder trüber Tag,\* Morgens oder Nachmittags, natürliches oder künstliches Licht) abhängig ist. Einigen Vorthail indess bot die entschieden zu weiteren Verbesserungen aufmunternde Beobachtung im monochromatischen Licht, d. h. die Nutzbarmachung des Principes der absorbirenden Filter; an einem Polarisationsmikroskop (mineralogisches Stativ) wurden anstatt der Gyps- und Glimmerplättchen zwei durch ein Tröpfchen Blut der betreffenden Thierart zusammengeklebte Deckgläschen eingeschaltet, so dass die von den hämoglobinhaltigen Elementen des Präparates herrührenden Lichtstrahlen von gleicher Wellenlänge wie das Hämoglobin zwischen den Deckgläschen in das beobachtende Auge gelangen konnten. Blut einer anderen Thierart versagte für diesen Zweck, so dass vielleicht jeder Thierart ein spezifisches Hämoglobin zukommen dürfte.

Die Beobachtung ungefärbter Präparate ergab für unseren Zweck eigentlich nur wenig wichtige Ergebnisse; sie wurde vornehmlich aus methodologischen Gründen in Anwendung gezogen, um eventuell durch die färberische Behandlung entstandene Artefacte als solche zu erkennen. Aus demselben Grunde, nemlich um präformirte Gebilde als solche mit Sicherheit nachzuweisen, wurde sie auch in verschiedenen Modificationen erprobt, die ebenfalls nur den Zweck hatten, sich einander ergänzend zu controliren, nemlich als Untersuchung frischen Blutes, Untersuchung des angetrockneten unfixirten Blutes, Untersuchung feucht fixirten Blutes, Untersuchung des angetrockneten und fixirten Blutes.

Am frischen, ohne Zusatzflüssigkeit<sup>1)</sup> mit Wasserimmersion

<sup>1)</sup> Bei der Untersuchung des Blutes einer Kaulquabbe passierte es mir, dass das aus dem Wasser genommene Thier bei der Blutentnahme nicht ganz trocken war, so dass sich hervorquellendes Blut mit Wasser mischen konnte. Auch hier beim Anurenembryo liess sich Rind-

betrachteten Präparat konnte man nun constatiren, dass nicht alle Blutzellen die bekannte ovale Form der Lehrbuchsabbildungen mit länglichem Kern haben, sondern dass, sicher präformirt, auch runde Zellen vorkommen mit runden Kernen, wie sich auch runde Kerne bei ovalen Zellen finden (ovale Kerne bei runden Zellen kamen nicht zur Beobachtung). Ferner muss ich nach meinen Beobachtungen sagen, dass wenigstens die ovalen Formen, im Profil betrachtet, nicht eigentlich, wie gewöhnlich angegeben wird, spindelförmig oder kürbiskernähnlich aussehen. Kaiserling<sup>1)</sup> vergleicht die Kantenansicht sehr treffend mit dem Bilde des Saturn und seinen Ringen, ich möchte den optischen Querschnitt mit gewissen Stäbchenzellen der Sinnesepithelien vergleichen, nur dass die beiden vom Kerne ausgehenden Stäbchen zwei Anschwellungen, eine am Kern und eine kleinere am äussersten Ende<sup>2)</sup> zeigen, zwischen denen sich eine dellentartige Vertiefung befindet. Im Grossen und Ganzen bilden die oblongen, dunkelgefärbten, scharf contourirten Zellen die Mehrheit (Normoblasten); daneben aber finden sich, wie gesagt, mehr rundlich-ovale bis ganz runde, grössere und blässere Zellen mit mehr verwaschenen Zellgrenzen. Auf den ersten Anblick könnte es scheinen, als ob ein continuirlicher Uebergang von den grossen blassen, runden Zellen mit den grossen und runden Kernen zu den kleinen oblongen Formen mit den kleinen gestreckten Kernen stattfindet; bei genauerem Zusehen kann man aber alle möglichen Combinationen der Form, Grösse und des Hämoglobingehaltes feststellen, so dass unsere Aufgabe, die Deutung der einzelnen Erscheinungsformen, wesentlich erschwert erscheint.



Optischer Querschnitt eines rothen Blutkörperchens (schematisch).

Hatte unter Anderen Schaumann<sup>3)</sup> aus seinen Deckglasfleisch's Beobachtung prachtvoll bestätigen, indem aus dem überwiegend kernführenden Amphibienblut sämtliche Kerne wie mit einem Schlage ausgestossen wurden. Der gleiche plasmolytische Vorgang findet sich bestätigt bei Griesbach (a. a. O. S. 222) und Bergonzini (l. c.). Bei Zusatz von „physiologischer“ Kochsalzlösung diffundirt nur das Hämoglobin.

<sup>1)</sup> Kaiserling, a. a. O.

<sup>2)</sup> Vergl. Dehler, Archiv für mikr. Anat. Bd. XLVI. 1895.

<sup>3)</sup> Schaumann, a. a. O. S. 148.

präparaten von anämischem Blut angegeben, dass das Cytoplasma der Megaloblasten häufig an den Kanten mehr oder weniger zernagt, zerknittert, mitunter wie gefaltet oder drapirt erscheint, so lässt sich auch bei den grossen protoplasmatischen und blassen Blutzellen der Amphibien sehr leicht experimentell feststellen, dass sie äusserst labil gegen Druck, Zug und Quellungsvorgänge erscheinen. Durch Druck und Zug erhält man Deformationen, in Folge allmählicher Verdünnung des Blutplasma diffundirt das Hämoglobin, das Cytoplasma quillt auf, zerfliesst, der gleichfalls gequollene Kern bleibt übrig<sup>1)</sup>. Im Gegensatz hierzu stehen die kleinen dunklen Normoblasten: gegen mechanische und Quellungsvorgänge ziemlich resistent (bei plötzlicher starker Verdünnung des Serums stossen sie in Folge eigentlicher Plasmolyse ihren Kern aus), verhalten sie sich äusserst empfindlich gegen Austrocknungserscheinungen, wahrscheinlich wegen ihres eigenen geringen Wassergehaltes; bei zu starker Flüssigkeitsentziehung contrahirt sich der Zelleib, wobei er häufig rund wird, der Zellcontour zeigt Einrisse und der Kern reisst leicht ab.

Schliesslich ist noch zu erwähnen, dass die Kerne der Normoblasten wie das Hämoglobin des Zelleibes einen gelblichen Schimmer zeigen, indem gelbliche Stränge den farblosen Kern durchziehen, dass sie häufig sehr unregelmässig begrenzt und vom Zelleib undeutlich abgegrenzt erscheinen, wohingegen die Kerne der meisten Megaloblasten gewöhnlich eine zarte und deutliche Struktur ihrer rundlichen, farblosen Kerne erkennen lassen. Einzelne Kerne der Megaloblasten indess imponiren als völlig strukturlose „weisse Tropfen“ innerhalb des gelblichen Cytoplasmaibes und sind im Uebrigen völlig identisch mit den oben erwähnten gequollenen, durch Cytolyse frei gewordenen Kernen. Es ist nun zu beweisen, dass diese „ödematösen“ Kerne nicht erst während der Beobachtung, wie Auerbach will, entstanden

<sup>1)</sup> Vielleicht kann dieser Vorgang der Cytolyse (Auerbach, s. o.) geeignet erscheinen, zur Erklärung für die sich bei Säugethieren physiologisch so spärlich findenden freien pyknotischen Kerne mit herangezogen zu werden. Letztere stammen nemlich entweder aus Normoblasten und sind dann durch „Plasmorrhaxis“ frei geworden, oder vielleicht aus den spärlichen Megaloblasten mit pyknotischen Kernen, durch Cytolyse frei geworden. Je nach der Consistenz des Cytoplasma ist der pathologische Prozess ein anderer.

sind, sondern bereits intra vasa präformirt, vielleicht durch Concentrationsschwankungen des Plasma hervorgerufen, auf den Objectträger gelangt sind. Diese Megaloblasten mit Bläschenkernen finden sich nehmlich auch, einmal, wenn man das eiligst beschickte, vorher absolut lufttrockene Deckgläschen sofort mittelst Pincette (um es vor Feuchtigkeit der Finger zu schützen) gefasst, zur schnellen Antrocknung in den Exsiccator bringt, als auch wenn man den eben austretenden Blutstropfen sofort in Sublimat fixirt. Wenn wir demnach nun dieselben Gebilde später auch an erst angetrockneten und hernach mit Fixationsmitteln (Osmiumsäure) behandelten Präparaten finden, so werden wir sicher sein dürfen, dass diese runden und ödematös erscheinenden Elemente präformirt und nicht durch künstliche physikalische oder chemische Einwirkung des Fixationsmittels<sup>1)</sup> entstanden sind. Da es sich herausgestellt hat, dass bei der sofortigen und schnellen Antrocknung im Exsiccator sich keinerlei Kunstprodukte bilden, falls die Antrocknung nicht bis zur Austrocknung fortgesetzt wird, dagegen bei der Fixation des feuchten, nicht angetrockneten Blutes eine allgemeine Verkleinerung<sup>2)</sup> der einzelnen Elemente statt hat, proportional ihrem osmotischen Aequivalent, so bevorzugten wir die erstere als die bei weitem überlegene Methode.

Nach vielfachen Versuchen mit den verschiedensten, von den Autoren zu unserem Zweck angegebenen Fixationsmitteln<sup>3)</sup> erwies sich uns zur Fixation von Hämoglobin und Kernsubstanz für Amphibienblut wenigstens am vorzüglichsten ein Nikiforoff-Gemisch, dem etwa zwei Tropfen concentrirter, käuflicher Formolösung (40 pCt. Formalin) zugesetzt sind oder noch viel besser und bequemer wegen der schnelleren Wirkung ein Gemisch von concentrirter Sublimatlösung und 2procentiger, frischbereiteter Osmiumsäure [Thanhoffer, Mosso<sup>4)</sup>] zu gleichen Theilen (ob-

<sup>1)</sup> Cf. Kaiserling, a. a. O. S. 54 und 55.

<sup>2)</sup> Cf. Kaiserling, a. a. O. S. 56.

<sup>3)</sup> Ich kann bestätigen, dass die Methode von Foà, Ziegler's Beiträge, Bd. V. 1889, Internationale Beiträge zur wissensch. Medicin, Berlin 1891, und Muir, Journal of Anat. and Physiol. normale et pathol. XXV. N. S. V. 1891, mit Recht verworfen wurde von Griesbach, Festschr. für Leukart. 1892.

<sup>4)</sup> Mosso, Atti della R. Accad. dei Lincei Roma. Rendic. IV. 1888. p. 427 ff.

wohl Heidenhain saure Fixationsmittel principiell verwirft). Zusätze von Kal. bichrom., das in Schnitten bekanntlich vorzüglich das Hämoglobin conservirt, wirken hier bei Deckglaspräparaten selbst in schwächster Verdünnung störend, da das Chromsalz als Beize fungirt, wodurch unbeabsichtigte Inversionen bei der Färbung entstehen. Im Folgenden werde ich der Betrachtung in Sublimat-Osmiumsäure fixirte Deckglastrockenpräparate zu Grunde legen. Das Präparat wurde nun derart hergestellt, dass mit dem herausgeschnittenen Herzen (bezw. mit der Schnittwunde der decapitirten Kaulquabbe) oder mit der mittelst Rasirmesser durchschnittenen Milz, oder mit dem aus der Femurepiphyse bei gelindem Druck hervorquellenden Knochenmark über das in Alkoholäther gereinigte und durch die Flamme gezogene Deckgläschen 2—3 mal parallel hingefahren wurde. Das so beschickte Deckgläschen gelangt mittelst Pincette zum Lufttrocknen in den Exsiccator, wird dann wenige Augenblicke über eine weithalsige geschüttelte Ammoniakflasche (s. unten S. 616) gehalten, darauf in dem Uhrschälchen, das Fixativ enthaltend, einmal untergetaucht und herumgeschwenkt (cave zu langes Fixiren, s. S. 599) und zum Schluss in stark verdünnter Pyrogallussäure, schliesslich in reiner Aqu. dest. abgespült. Diese Methode giebt nach meinem Dafürhalten trotz Neumann<sup>1)</sup> bei weitem vortrefflichere Bilder, als wenn man feucht fixirt<sup>2)</sup>, oder nach Mischung mit Zusatzflüssigkeiten auf dem Deckgläschen antrocknen lässt. In einem solchen Präparat nun erscheinen bei abgeblendetem Licht mittelst Oelimmersion alle Conturen und Einzelheiten der Strukturen bei weitem schärfer als im unfixirten Präparat. Im Uebrigen ist zu bemerken, dass in diesen sowohl der grösseren Bequemlichkeit, als auch der gleichmässigeren Vertheilung wegen mittelst Ausstreichens hergestellten Deckglaspräparaten sich nicht gar zu selten Formationen finden liessen von der Art, wie sie Geelmuyden<sup>3)</sup> und Engel abbilden; es sind dies Zellen, die bisweilen an einem Pol birnförmig zugespitzt

<sup>1)</sup> Neumann, a. a. O.

<sup>2)</sup> Feuchte Fixation für Amphibienblut empfahl auch v. Griesbach, Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. VII. 1890, und Deckhuyzen, Verh. der anat. Gesellschaft, Wien, Anat. Anz., Ergänzungsheft. 1892.

<sup>3)</sup> Geelmuyden, Dieses Archiv. Bd. 105.

sind, wie das E. Neumann<sup>1)</sup> jüngst beschrieben hat, oder die, in der Mitte, in der Gegend der Kernstelle sanduhrförmig eingeschnürt, dann für directe Zelltheilung zu sprechen scheinen, oder sie sind kometenförmig ausgezogen, so, dass der Kern am äussersten Pol der Zelle liegt, was man für Kernausstossung in Anspruch nehmen könnte, wenn es sich nicht in jedem Fall deutlich nachweisen liesse, dass die betreffende Zelle mit ihren Polen auf dem Deckgläschen in der Richtung der applicirten parallelen Züge orientirt ist<sup>2)</sup>. Ausserdem wissen wir seit Pfitzner<sup>3)</sup>, dass kernlose Scheiben bei den Amphibien zwar vorkommen und in ihrem äusserst raren Auftreten zu den phylogenetisch interessantesten<sup>4)</sup> Dingen gehören, dass aber dieselben, wenn sie vorkommen, jedesmal dem intracellulären Kernschwund ihre Entstehung verdanken.

Ich wende mich nunmehr zur Schilderung der gefärbten Präparate<sup>5)</sup>. Solche wurden hergestellt einmal im frischen unfixirten Zustande des Blutes, und dann nach Fixation des angetrockneten Blutes. Im frischen unfixirten Blut wurde wieder nach der Methode von O. Israel und A. Pappenheim<sup>6)</sup> Neutralroth zugesetzt, welches hier auch beim Blut erwachsener Amphibien womöglich noch präziser und prompter wirkt, als beim Blut embryonaler Säugethiere. Auch hier markirten sich im Cytoplasma der rothen Blutzellen, wenn auch an Zahl weniger und an Form gröber, die beim embryonalen Mäuseblut beschriebenen Granulationen. Inwieweit dieselben etwa mit den von J. Arnold<sup>7)</sup> geschilderten und abgebildeten Dingen identisch sind, entzieht sich vorläufig der Beurtheilung (Granulafärbung nach Nissl wurde nicht unternommen). Indess ist zu erwähnen, dass

1) E. Neumann, a. a. O.

2) Ich möchte hier erwähnen, dass Gerassimoff (Bullet. de la Soc. des naturalistes de Moscou. 1890) kernlose „Zellen“ bisweilen so entstehen lässt, dass in den letzten Stadien der ablaufenden Mitose beide Tochterkerne in der einen Tochterzelle zu liegen kommen, während das andere Zellsegment kernlos ausgeht.

3) Pfitzner, a. a. O.

4) Cf. Israel und Pappenheim, Dieses Archiv. Bd. 143. S. 445.

5) Gleichzeitige Fixation und Färbung, angewandt von Deckhuyzen, a. a. O.

6) O. Israel und A. Pappenheim, a. a. O. S. 424.

7) J. Arnold, Dieses Archiv. Bd. 144. 1896.

schon Griesbach (a. a. O.) im Innern des gefärbten Zelleibes bei rothen Blutzellen der Amphibien stärker lichtbrechende, körnerähnliche Gebilde beschreibt, die er geneigt zu sein scheint, ebenso wie Cuénot<sup>1)</sup> mit der Bildung des Farbstoffes in Zusammenhang zu setzen. Es färbten sich im Grossen und Ganzen am schnellsten und stärksten die kleinen ovalen Kerne der Normoblasten, weniger stark die grossen rundlichen Kerne in Normoblasten und Megaloblasten. Die Bläschenkerne der Gigantoblasten hatten nach Stunden erst einen matten Schimmer aufzuweisen. Der Farbenton der Kerne war orange, ein Beweis, dass eben abgestorbene, bezw. plötzlich getödtete Kerne trotz ihres Gehalts an Nucleinsäure neutral reagiren.

Im Gegensatz hierzu steht eine Notiz von Bizzozero<sup>2)</sup> und A. Mosso<sup>3)</sup>, die das, vielleicht durch Beimengung von Methylviolett (Fol, Squire, Hoyer, P. Mayer), metachromatische Methylgrün anwandten zur Unterscheidung frischer und todter Kerne. Nach diesen Autoren sollen lebende Kerne wegen ihrer alkalischen Reaction ungefärbt bleiben; mit eintretendem Tode, d. h. Abnahme der Alkalescenz und zunehmender Säuerung soll sich der Kern erst violett, sodann bläulich und schliesslich grün färben (Cf. Grandis, *Atti Accad. Torino* 1890. XXV. und Cuénot, *Arch. biol.* XIV. 1895). Im fixirten Präparat unterscheidet Hermann<sup>4)</sup> vor der Fixation lebende und abgestorbene Kerne durch seine Doppelfärbung mittelst Gentiana-violett und Safranin: das Gerüst des normalen Kerns ist violett, beim Sterben nimmt die rothe Färbung Ueberhand.

Bevor ich mich nun zur Beschreibung der gefärbten Deckglastrockenpräparate wende, aus deren Ergebnissen die eigentliche Lösung unserer Aufgabe zu erfolgen hat, will ich nur kurz recapituliren, dass wir bis jetzt im Amphibienblut Formen gefunden haben, die durchaus mit homologen Gebilden im kernhaltigen Säugethierblut auf gleiche Stufe zu setzen sein dürften, nur ist der Formenkreis hier noch mannichfaltiger, da ausser runden auch noch mehr oder weniger gestreckte Gebilde in die Erscheinung treten. Im Uebrigen gilt hier genau das gleiche, was wir oben hinsichtlich der Megaloblasten und Normoblasten des Menschen und der Säugethiere überhaupt hervorgehoben haben. Es erscheinen zwar im Grossen und Ganzen die Megaloblasten rund-

<sup>1)</sup> Cuénot, *Arch. de zool. expériment.* 2<sup>me</sup> Sér. 1. VII. 1889. p. 26.

<sup>2)</sup> Bizzozero, *Dieses Archiv.* Bd. 113. 1888.

<sup>3)</sup> A. Mosso, *Rend. Accad. Lincei Roma* 1888. IV. p. 419.

<sup>4)</sup> Hermann, *Anat. Anzeiger.* 1888.

licher, heller und labiler, doch giebt es auch grosse Formen, deren Cytoplasma durchaus dunkel gefärbt und hyalin erscheint, wie das der meisten Normoblasten; wir haben deshalb schon oben deducirt, dass der durchgreifende Unterschied zwischen Megalo- und Normoblasten ebenso wie der zwischen jungen und alten Zellen wohl in den Kernverhältnissen gelegen sein dürfte. Wir finden nun auch hier, dass die meisten Megaloblasten zwar relativ grosse und runde Kerne besitzen, finden aber auch zuweilen bei Zellen, die im Uebrigen ganz den Habitus von Normoblasten aufweisen, grosse und runde Kerne, sowie hin und wieder Megaloblasten mit Kernen, die täuschend denen der meisten Normoblasten gleichen. Wollten wir demnach auch Grösse, Helligkeit und Form von Zelleib und Kern für grössere Jugendlichkeit, bzw. Megaloblastentypus in Anspruch nehmen, so werden wir bald von dem Ungerechtfertigten dieses Vorurtheils überzeugt durch den Befund von Zellen, die eines Theils Uebergangsformen von der grösseren, runderen und helleren Art zu der kleineren, gestreckteren und dunkleren bilden und demnach bei dem Ineinanderübergehen aller natürlichen Verhältnisse mit demselben Recht der einen wie der anderen Gattung zugetheilt werden könnten: andererseits durch den Befund von Zellen, die auf Grund einer ihrer Eigenschaften zwar zu der einen, auf Grund der übrigen aber eigentlich zu der anderen Gattung gerechnet werden müssten. Haben wir doch gesehen, dass sich zwischen Grösse, Form, Färbung des Zelleibes und Grösse, Form und Färbung des Kernes alle nur denkbaren Combinationen auffinden lassen, so dass eine Eintheilung nach nur einem Merkmal, etwa nach der Grösse, in Megaloblasten und Normoblasten a priori unbedingt eine künstliche sein muss. Wir werden weiter unten sehen, dass wir auch bei unserer Classificirung nach den Kernen mehr wie eine Eigenthümlichkeit derselben werden berücksichtigen müssen. Angenommen nemlich, die grossen runden und sich mit Neutralroth hellfärbenden Kerne wären Vorstufen der kleinen, dunklen, gestreckten Kerne: dann wären die ganz hellen, diffus sich färbenden, strukturlosen, grossen Bläschenkerne die allerjüngsten Formen, obwohl dieselben wahrscheinlich weiter nichts wie regressive Quellungsprodukte vorstellen<sup>1)</sup>. Ferner

<sup>1)</sup> Auch hier sieht man wieder, wie je nach der Auffassung ein und das-

wohin soll man Zellen mit gleich grossen, aber dunkel gefärbten Kernen rubriciren, und in welchem Connex stehen mit den genannten Formen Zellen mit zwar hellen, aber kleinen Kernen? Gehen die grossen Formen in die kleinen über, oder die hellen Formen in die dunklen? Findet das eine statt, dann scheint das andere unmöglich zu sein und umgekehrt.

Zum Schluss will ich noch kurz angeben, dass Schiefferdecker<sup>1)</sup> betreffs der jungen und alten Formen angiebt: „Bei den übrigen Thieren, welche stets kernhaltige Blutkörperchen besitzen, vermag man unter diesen doch Jugendformen und erwachsene un schwer zu unterscheiden. Die ersteren sind zuerst mehr kreisförmig, zeigen nur einen ganz schwachen, leicht gefärbten Hof um den runden Kern, werden dann allmählich grösser, mehr elliptisch u. s. w.“

Ferner sagt Deckhuyzen<sup>2)</sup>, dass die jungen Erythrocyten sich von den erwachsenen unterscheiden,

1) durch die bedeutendere Länge des grossen Durchmessers (13—32  $\mu$ ), die Gestalt (kreisspindelförmig, oval), den geringen Hämoglobingehalt, die faserige Struktur des Stroma;

2) der Kern ist grösser, mehr blasenförmig, Kernmembran zeigt Neigung zu Einbuchtungen, Chromatin feiner vertheilt, Nucleolus grösser (2—4  $\mu$ ).

Bei der Färbung unserer fixirten Deckglastrockenpräparate war unsere erste Aufgabe die Auffindung eines Reagens auf Hämoglobin. Nach den bis jetzt vorliegenden Erfahrungen war die Lösung derselben kaum zu erwarten durch Anwendung nur einer einzigen sauren Farbe, weshalb Versuche mit der zu diesem Zweck empfohlenen Lugol'schen Lösung, sowie der Indigofärbung von Nörris und Shakespeare (Merkel<sup>3)</sup>) meinerseits bald als nicht zum Ziel führend aufgegeben wurden. Auch das metachromatische Orcein reicht in fraglichen Fällen eben so wenig aus, wie das bei Grübler bezügliche sog. französische (Ranvier) Eosin, dessen Herstellung von Wissotzky<sup>3)</sup> angegeben ist. Von Ge-

selbe Gebilde bald als progressive, bald als regressive Lebenserscheinung gedeutet werden kann.

1) P. Schiefferdecker und A. Kossel, *Gewebelehre*, I. Abtheil. Bd. 2. 1891. S. 368.

2) Deckhuyzen, a. a. O. S. 96.

3) Wissotzky, *Arch. für mikr. Anat.* Bd. XIII.

mischen saurer Farben waren bisher für unseren Zweck in Anwendung gekommen

1) Ehrlich's dreifaches Glyceringemisch, enthaltend:  
Aurantia, Eosin.

2) Spuler's<sup>1)</sup> Orange (Tropäolin), Eosin.

Die Resultate mit diesen beiden befriedigten für den von uns gewünschten Zweck eben so wenig, wie Versuche mit folgenden Gemischen.

3) Aurantia, S. Fuchsin.

4) Corallin, Benzopurpurin.

5) Aurantia, Methyl-Orange, Congoroth.

Entschieden überlegen und zu weiteren Versuchen aufmunternd erwiesen sich die Gemische, welche enthalten

6) Orange G, Fuchsin S.

Es sind dies einmal die verschiedenen neutrophilen Mischungen und das Triacid Ehrlich's, ferner das Gemisch von Philipp und Aronson, von Biondi-Heidenhain und das Goldorange enthaltende Gemisch von Bergonzini<sup>2)</sup>.

Während nun beispielsweise in Schnittpräparaten durch Gewebe die rothen Blutzellen im Verhältniss zu den Gewebszellen die Minderzahl bilden und daher die Hämoglobinhaltigen Elemente aus Orange und Säurefuchsingemischen den ersteren Farbstoff in Folge einer fast spezifischen Affinität an sich reissen, selbst wenn er in nur minimalen Quantitäten gegenüber den anderen Farbstoffen vorhanden ist, so stellte es sich im Gegentheil bei Deckglaspräparaten, wo die rothen Blutzellen die Mehrzahl bilden, als thunlich heraus, gerade auf das Electionsvermögen der farblosen Elemente Rücksicht zu nehmen und wurde deshalb das Gemisch so eingerichtet, dass der rothe Farbstoff, der, nebenbei gesagt, eine enorme färberische Kraft hat, und sich selbst in minimalen Verdünnungen noch bemerkbar macht, dass der rothe Farbstoff also im Verhältniss zum Orange nur in Spuren vorhanden war. Vor Allem aber ist unbedingt erforderlich ein Zusatz von Alaun und Sulfanilsäure. Ich stellte mir eine Farblösung stets so her, dass ich in ein Reagenzröhrchen füllte:

<sup>1)</sup> Spuler, Arch. für mikr. Anat. Bd. XL.

<sup>2)</sup> Bergonzini, Anat. Anzeiger. Bd. VI. 1891. No. 20 und 21. S. 595—600.

1 Maass von der Grösse etwa eines gestrichenen  
Löffelchens Orange G.

Wenige Körnchen Patent-S.-Rubin (Kultschitzky).

Ein gehäuftes Maass Alaun.

Zwei gehäuftes Maass Acid. sulfanilic.

Aq. dest. auffüllen bis etwa  $\frac{3}{4}$  des Glases.

Glycerin anfüllen bis zum Rest.

Umschütteln und Umrühren mit einem in Essigsäure-  
anhydrit getauchten Glasstab.

Geringe Schwankungen in der Zusammensetzung schaden nicht, nur müssen zur Vergleichung dienende Präparate stets mit einer und derselben Lösung gefärbt sein; dann ergibt sich, die Dauer der Färbung stets als gleich vorausgesetzt, dass von den verschiedenen Amphibien der Farbenton der rothen Blutkörperchen ein verschiedener, innerhalb der einzelnen Thierart aber constanter ist. Ob es sich hier um qualitative oder nur quantitative Differenzen handelt, wage ich vorläufig noch nicht zu entscheiden. Ueber Säugethiere, speciell Menschenblut, habe ich mit dieser Lösung noch keine Erfahrungen gesammelt. Interessant war es aber, dass diese Lösung besonders gut die gestreifte Musculatur der Amphibien, bei Pflanzen (*Protococcus viridis*) nach geeigneter Behandlung das Chlorophyll, im Regenwurmblood das intercellulare rothe Blutplasma färbt. Auch über das Wesen der sog. eosinophilen Granulationen glaube ich mittelst dieser Färbung zu nicht unwichtigen Aufschlüssen gelangt zu sein.

Es war nun unsere erste Aufgabe, die Unterschiede zwischen jungen und alten Zellen festzustellen. Dass wir dieselben vornehmlich in gewissen Eigenschaften der Kerne zu erwarten hätten, geht aus dem Eingangs Mitgetheilten hervor. Ohne vorläufig darüber schlüssig werden zu wollen, ob etwa die pyknotischen Kerne bereits physiologisch regressive oder etwa, wie die Samenkern und „Tochterkerne“, Gebilde von „concentrirter Lebenskraft“ vorstellen, jedenfalls erschien der Versuch gerechtfertigt, ob es nicht möglich sei, schon mittelst der Färbung augenfällige Unterschiede zwischen pyknotischen und nichtpyknotischen Kernen zu erzielen. Bestimmend bei diesen Versuchen waren gewisse Erfahrungen, die man mit karyokinetischen Kernen gemacht hat. Je deutlicher nemlich mit fortschreitender Mitose die Chromo-

somen ausgeprägt werden, um so stärker färben sie sich und um so energischer halten sie auch den Farbstoff fest, wie dies beim Gerüst des ruhenden Kernes nicht der Fall ist. Es schien demnach, dass das färberische Verhalten pyknotischer Kerne eine gewisse Aehnlichkeit mit dem karyokinetischer haben dürfte. Es soll sich nun nach Anwendung der Gram'schen [Graham? <sup>1)</sup>] Färbungsmethode erreichen lassen, dass die ruhenden Kerne allen Farbstoff abgeben, während die in Vorbereitung zur Theilung begriffenen und die sich theilenden Kerne allein durch ihre stärkere Färbung die Aufmerksamkeit des Beschauers auf sich ziehen <sup>2)</sup> <sup>3)</sup>. Ich muss bekennen, dass die Resultate wegen der Ungleichmässigkeit der Einwirkung bei dem Gram'schen Verfahren nicht ganz der Erwartung entsprachen. Eine andere Methode von Kosinsky <sup>4)</sup> und Flemming <sup>5)</sup> beruht auf Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Saffranin, bei der der ruhende Mutterkern, der sich zur Theilung anschickende Kern und der ruhende Tochterkern blauviolett, spätere Theilungsphasen dagegen und der eben entstandene Tochterkern roth werden sollen. Dass Versuche dieser Art für unseren Zweck zu keinem gewünschten Resultat führten, lag vielleicht einmal daran, dass Kerntheilung und Kernschumpfung, Chromosomen und Pyknose nicht ohne weiteres mit einander identificirt werden dürfen, ferner auch daran, dass die angegebenen Färbungen fundirt sind vor Allem auf das Verhalten der Nucleolen bei der Theilung, welche bei Einleitung derselben in die Chromosomen eintreten, so „dass in denjenigen Stadien, wo noch Nucleolen vorhanden oder eben erst verschwunden sind oder eben wieder auftreten, die Neigung der chromatischen Figur zur Blaufärbung vorliegt, während die Formen, in welchen sie völlig deconstituirt sind, sich rein safranophil verhalten, wie es ja die Nucleolen selbst sind“. Auch bei Anwendung einer Doppelfärbung mit zwei basischen Anilinfarben, Fuchsin, Jodgrün [Wendt <sup>6)</sup>] blieb der gewünschte Erfolg aus. Bei dieser

<sup>1)</sup> Cf. O. Hertwig, Zelle. S. 148.

<sup>2)</sup> Cf. Bizozzero und Vassale, Dieses Archiv. Bd. 110. 1887.

<sup>3)</sup> Cf. Demarbaix, Cellule. V. 1889.

<sup>4)</sup> A. Kosinsky, Wratsch. 1888. No. 6.

<sup>5)</sup> Flemming, Arch. für mikrosk. Anat. Bd. XXXVII. 1891.

<sup>6)</sup> s. b. Strasburger, Ueber Kern- und Zelltheilung. 1888.

Färbung soll sich das Nucleingerüst der Kerne blaugrün, die Nucleolen roth färben; auf den Theilstadien dagegen, in denen die Nucleolen aufgelöst sind, färben sich die Chromosomen violett, wenn später dann in den Tochterkernen die Nucleolen wieder erscheinen, nehmen die Kernfäden aber mals die blaugrüne Farbe an.

Bei allen nun mir vorliegenden Präparaten war ich ausser Stande, überhaupt deutliche, ächte Nucleolen aufzufinden, so dass über ihr etwaiges Verhalten beim Uebergang in die pyknotische Form keine Aussagen gemacht werden können. Allerdings hatte schon früher Ranvier in den Kernen der rothen Blutkörperchen bei Amphibien ein Kernkörperchen beschrieben, was auch Deckhuyzen<sup>1)</sup> mittelst Ranvier's Drittelalkohol sichtbar machen konnte und nach ihm  $1\frac{1}{2}\mu$  gross sein soll; auch neuerdings haben sowohl Pfitzner<sup>2)</sup> wie Auerbach<sup>3)</sup> daselbst dergleichen wahrgenommen. Auerbach nimmt für die Gattung „Rana“ etwa 8—16, bei den Urodelen noch mehr und im Besonderen bei Triton taeniatus bis über 40 solche „rundliche und scharf begrenzte, stärker lichtbrechende und stark tingirbare, verhältnissmässig grosse Innenkörper“ an, die in der Regel nicht mit einander durch Fäden verbunden, also nicht Knotenpunkte eines Netzwerks seien; dieselben könnten aber, meint er, vermöge einer ihnen zukommenden amöboiden Beweglichkeit unter Umständen sich spindelförmig strecken oder sternförmig werden, „Pseudopodien ausstrecken, welche mit denjenigen ihrer Nachbarn verschmelzen“ und so ein Kernnetz vortäuschen<sup>4)</sup>. Pfitzner seinerseits konnte das Chromatingerüst bei Salamandra auflösen in „Nucleolen von wechselnder Grösse und Zahl (3—8)“. Auch Griesbach (a. a. O.) lässt Nucleolen zu. Schon der Widerspruch in der Zahl zwischen den verschiedenen Autoren lässt vermuthen, dass sie unter ihren Nucleolen verschiedene Dinge gemeint haben könnten. Wichtig für unseren Fall ist die Frage eigentlich nur insofern, als Auerbach<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Deckhuyzen, a. a. O.

<sup>2)</sup> Pfitzner, a. a. O. S. 290.

<sup>3)</sup> Auerbach, Anat. Anzeiger. S. 576, 578.

<sup>4)</sup> Cf. Lukjanow, Arch. für mikrosk. Anat. Bd. XXXII. 1888.

<sup>5)</sup> Auerbach, Berl. Sitzungsber. vom 26. Juli 1890. S. 499. 1891. — Org. Stud. I. 1874.

in dem Färbungsverhalten seiner Nucleolen einen wichtigen Altersunterschied der Blutzellen hat aufstellen zu müssen geglaubt. Er sagt, bei ausgebildeten Batrachiern bestehen sämtliche Nucleoli der Blutscheiben aus kyanophiler Kernsubstanz. Im Larvenzustand der Frösche, von der dritten Woche an, finden sich neben einer Anzahl kyanophiler immer noch ein oder zwei erythrophile. In den ersten Tagen des Larvenlebens aber ist im Kern der Blutscheiben nur ein einziger grosser Nucleolus vorhanden, der aus beiderlei Substanzen zusammengesetzt ist. Wenn auch zugegeben werden muss, dass die ächten Nucleolen verschiedener Zellgattungen verschiedenwerthige Gebilde sein können, so ist doch zu beherzigen, dass M. Heidenhain<sup>1)</sup> betont, dass innerhalb einer Zellart und vor Allem innerhalb einer Zelle die Nucleolen auch da, wo sie in der Mehrzahl vorhanden sind, stets sich gleich verhalten, Nucleolen verschiedener Art also nicht anzuerkennen sind. (Die Auerbach'sche Lehre von der differenten Chromatophilie wurde ferner theils angegriffen, theils widerlegt von: Zacharias, Ber. d. bot. Ges. Berlin 1893 — Strassburger, Histol. Beiträge IV. 1892 — Rosen, F. Cohn's Beiträge V. 1892. — Schottländer, ebendasselbst VI — Zoja, Bollett. scientif. Pavia 1893, No. 2 — R. Hertwig, Verh. d. zool. Ges. 1892.) Nach Flemming sind die ächten Nucleolen Bildungen sui generis, die nach Frank Schwarz<sup>2)</sup> aus Pyrenin bestehen, was aber in den Kernen der Amphibienblutzellen als Nucleolen imponiren könnte, sind nach meiner Ueberzeugung wenigstens nichts weiter als sich sehr dunkel färbende E. Klein'sche Netzknoten, bezw. die von der Kernmembran ausgehenden Anfänge des Gerüstwerks, um die herum zwar eine dünne Schale sich schwächer färbender chromatischer Substanz gelegen ist, die aber selbst ebenfalls aus Nuclein bestehen. Ein solches Kernnetz hatten auch schon Flemming und Török<sup>3)</sup> angenommen. Dass die sich basisch färbende Substanz der Kerne nicht aus einer Mehrzahl von Nucleolen besteht, sondern aus einem distincten Fadenwerk, wird besonders deutlich, wenn man das

<sup>1)</sup> Heidenhain, Archiv für mikrosk. Anat. Bd. XLIII. 1894.

<sup>2)</sup> Schwarz, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. V. 1887. Breslau.

<sup>3)</sup> Török, Arch. für mikrosk. Anat. Bd. XXXII.

Blut etwa zwei Stunden post mortem, also im cadaverösen Zustande betrachtet. Dagegen misslangen verschiedene zur Auf-  
findung ächter Nucleolen angegebene Methoden. Während sich  
nehmlich nach Zacharias<sup>1)</sup> Nucleinkörper besonders scharf  
und intensiv in angesäuerten Farbstofflösungen (Essigcarmin,  
Methylgrün-Essigsäure) färben, färben sich die Paranucleinkörper  
besser in ammoniakalischen (s. oben Ammoniakdämpfe S. 606)  
Farbstofflösungen. Besondere Verwandtschaft haben zum Para-  
nuclein gewisse saure Anilinfarben (Eosin, Säure-Fuchsin). Mit  
Berücksichtigung dieses Umstandes soll es möglich sein, bei  
gleichzeitiger Anwendung zweier Farbstoffe (angesäuertes Chry-  
soidin, schwach basisch gemachtes Lichtgrün) Doppelfärbungen  
zu erzielen. Dieselben gelangen zwar, zeigten aber bei den  
Blutzellen der Amphibien keine ächten Nucleolen. Auch für  
die Classification von Carnoy<sup>2)</sup> in Nucléoles nucléiniens, plas-  
matiques, mixtes, sowie die von Gaule und Ogata<sup>3)</sup> nach  
Farbstoffen (Hämatoxylin, Saffranin, Nigrosin, Eosin) in häma-  
toxyphile Karyosomen, safranophile und eosinophile Plasm-  
somen, gemischt hämatoxyphile und safranophile Nucleolen und  
ungefärbt bleibende Hyalosomen konnte ich bei den Blutzellen  
der Amphibien keine Bestätigung finden. Dasjenige, was vor-  
züglich durch Färbung mit Säure-Fuchsin und Saffranin zur  
Anschauung gebracht werden konnte, war die sog. achromatische  
Substanz, der „Kernsaft“ („Karyochylem“) O. Hertwig's, die  
Kerngrundsubstanz, das „Karyolinin“ Waldeyer's<sup>4)</sup>. Für diese  
auch Paralinin genannte Substanz fand ich grösstentheils be-  
stätigt, was Hertwig<sup>5)</sup> über das Paranuclein angiebt. Es quillt  
im Gegensatz zum Nuclein in Essigsäure, welche deshalb bei  
der Kernfärbung, wenn man es scharf sichtbar machen will,  
zu vermeiden ist, leistet dagegen, im Gegensatz zu Nuclein,  
schwefelsaurer Magnesia und schwachen Alkalien (s. oben Am-  
moniakdämpfe S. 606) Widerstand. Ein sehr brauchbares Mittel,  
um es sichtbar zu machen, ist die Osmiumsäure (s. oben S. 605).

<sup>1)</sup> Zacharias, Botan. Zeitung. 1882. 1883. 1885. 1887.

<sup>2)</sup> Carnoy, Biol. cellulaire. 1884.

<sup>3)</sup> Gaule und Ogata, Arch. für Anat. und Physiol. 1883.

<sup>4)</sup> Waldeyer, Deutsche med. Wochenschr. 1895. S. 847.

<sup>5)</sup> O. Hertwig, a. a. O. S. 86.

Da es nicht meine Absicht war, dieses Karyolinin noch weiter aufzulösen in Lanthanin- und Oedematin-Granula, so unterblieben die diesbezüglichen Färbungsmethoden, auch Altmann's Chinolincyaninfärbung zur Darstellung des Negativs der Interfilargranula gelangte nicht zur Anwendung. Es erschien das „achromatische“ Karyolinin als ein zweites in engster Correlation zum Nucleingerüst stehendes „Paramitom“, welches ebenfalls, wie letzteres, von der Kernmembran seinen Ausgang nimmt, so dass zwei dreidimensionale Balkenwerke von annähernd gleicher Form, ohne irgendwo mit einander in Berührung zu treten, in demselben Raum untergebracht sich gegenseitig durchflechten. Wie erwähnt, färbt sich diese „achromatische“ Substanz mit Vorliebe in sauren Farben (Oxychromatin Heidenhain's im Gegensatz zum Basichromatin), nimmt bei unserer Färbung gewöhnlich Orange-G auf, so dass in dem Nucleingerüst des Kerns gelbe Lücken sichtbar sind, ähnlich wie bei karyorrhectischen Kernen, unterscheidbar aber von letzteren durch ihre regelmässiger Anordnung und gleichmässiger Form. Diese gelben Lücken sind nicht, wie Strasburger und Stricker<sup>1)</sup> wollen, in den Kern eingedrungene Cytoplasmastränge, auch nicht von der Gegenseite der Zelle her durchschimmernde Stellen des Zelleibes, sondern sind ächte Kernsubstanz, die mit dem Cytoplasma in keiner directen Beziehung steht. Erstens geht sie nicht, wie Flemming und Engel annehmen, unmittelbar in die Substanz des Zelleibes über, sondern ist, wie Reinke<sup>2)</sup> dies annimmt, von ihr durch eine Kernmembran getrennt, an welcher Grenze der Kern auch bei Schrumpfungen vom Zelleib abreisst. Dieselbe wird besonders deutlich bei cadaverösen Zellen (s. o. S. 616). Zweitens kann man auch durch Färbung Differenzierungen vom Zelleib erzielen, einmal substantiv durch Safranin und Säure-Rubin, wobei dann die Lücken roth werden im Gegensatz zum orange sich färbenden Zelleib, dann aber auch adjectiv mittelst der Tanin-Brechweinstein-Methode von Rawitz<sup>3)</sup>, nach der bei Anwendung von Methylgrün sich die

<sup>1)</sup> Stricker, Wiener Sitzungsber. Bd. LXXVI, 3. 1877.

<sup>2)</sup> s. b. Reinke, Arch. für mikrosk. Anat. Bd. XLIII, XLIV.

<sup>3)</sup> Rawitz, Leitfaden für histologische Untersuchungen. 2. Aufl. 1895. S. 76.

achromatische Substanz und die Kernmembran durch Inversion mit der basischen Farbe färbt, während nach Einwirkung des „Differenzirtanins“ der Zelleib ungefärbt bleibt. Dieses Karyolinin wechselt nun je nach dem Zustand des Kerns an Masse. Kerne mit deutlichem Nucleingerüst haben auch ein deutliches Karyoliningerüst; Kerne dagegen von blasser und pyknotischer Art färben sich dagegen beinahe gleichmässig (diffus, homogen) fast nur mit Kernfarbe, je nachdem Quellung oder Schrumpfung vorliegt, matt oder intensiv, während die oxychromatische Substanz bis auf nur zwei oder drei unregelmässige kleine Granula reducirt erscheint (s. Arnold a. a. O. Taf. II. No. 35—38). Es handelt sich indessen nur um scheinbare Granulation; der Oberfläche des basichromatischen Kerns sitzen nicht etwa oxychromatische Granula auf, wie dies am ungefärbten Präparat wegen der verschiedenen Lichtbrechung beider Substanzen scheint, sondern eher könnte man von basichromatischen Hervorragungen sprechen. Die Oberfläche des Kerns erscheint zerklüftet, ähnlich einer Wallnuss, wobei die tief liegenden Stellen oxychromatisch, aber nicht nur die Oberfläche furchend, sondern die ganze Kernsubstanz durchsetzend zu denken sind. Aus dem gleichen Verhalten der oxychromatischen Substanz bei Kernen conträrer Werthigkeit, blasigen und pyknotischen, ergibt sich, dass auf ihr Untersuchungen über Altersunterschiede nicht basiren können<sup>1)</sup>. Es wurde deshalb das Basichromatin hinsichtlich seines tinctoriellen Verhaltens bei verschiedenem Zellalter geprüft. Zuerst wurden Differenzirungen zu erzielen versucht durch Anwendung metachromatischer Farbstoffe, wie des Thionins, Toluidinblaues (Hoyer), des polychromen Methylenblaues (Unna). Die besten Resultate erzielte ich schliesslich durch Combination der Electionsmethode, bei der aus Mischungen die verschiedenen Substanzen die ihnen verwandten Farbstoffe an sich reissen, mit dem summativen Verfahren, wo ein dem ersten nachgeschickter zweiter Farbstoff den ersten entweder aus Positionen, zu denen er selbst grössere Affinität besitzt,

<sup>1)</sup> Ueber das Verhalten der „achromatischen“ Substanzen bei Kerndegenerationen conf. Drüner, Jen. Zeitschr. für Naturw. Bd. XXVIII. N. F. 21. 1894.

vertreibt, oder sich zu dem ersten hinzu addirt oder von dem ersten unbesetzte Stellen besetzt und schliesslich dem subtractiven Verfahren, wo zwei Farben auf einmal wirken, nachher aber durch Entfärbung der weniger haftende Farbstoff entfernt wird.

Als Kernfarbe kam vor Allem zur Anwendung das von Calberla eingeführte, schon früher empirisch von Carnoy<sup>1)</sup> empfohlene Methylgrün, für dessen Vorzüge jüngst von Posner, sowie von Kossel und Lilienfeld<sup>2)</sup> die theoretische Erklärung gegeben wurde und welches ja auch im Triacid vorhanden ist. Dieser Farbstoff, der zum Nuclein hervorragende Verwandtschaft besitzt, gehört zu den basischen Triphenylmethanen (Rosanilin-Gruppe), und ist osmiumsäurebeständig. Auch dieser Farbstoff ist etwas dichromatisch (s. o. S. 607), wird durch Säurezusatz einen Stich gelblicher, durch Basen etwas bläulicher. Es scheint, dass die verschiedenen Fixirungen ebenfalls von Einfluss auf die Färbung der Kerne mittelst Methylgrün sind, sei es dass der Farbstoff, sei es dass die Kernsubstanz dadurch alterirt wird. Beispielsweise werden in Trockenpräparaten, die durch Hitze fixirt sind, mit Triacid gefärbte Kerne grün, bei Nikiforoff-Fixationen blaugrün<sup>3)</sup>. Wendet man das Methylgrün einmal, nach Strasburger's Angabe, mit Essigsäure vermischt, dann nach Behandlung mit Kalilauge, wie Löffler dies für Methylenblau empfohlen hat, an, so sind durchgreifende Unterschiede eigentlich kaum zu constatiren; die angesäuerte Lösung schien matter, aber distincter zu färben, kam indess trotzdem in Rücksicht auf das Karyolinin (s. o. S. 616) nicht in Anwendung.

Als zweiten Kernfarbstoff verwandte ich gewisse Diphenylaminfarben, die Azine, Saffranin, Neutralroth und Magdalaroth, mit welchen schon Flemming und Hermann bei

<sup>1)</sup> Carnoy, l. c.

<sup>2)</sup> Kossel und Lilienfeld, Zeitschr. für phys. Chemie von Hoppe-Seyler. Bd. VII. 1882. — Verhandlungen der Berl. phys. Gesellsch. 1892. — Arch. für Anat. und Physiol. 1892. — Conf. ferner Rosen, 72. Jahresber. der schles. Gesellsch. für Vaterl. Cultur. 1894. Zool.-bot. Sect.

<sup>3)</sup> Cf. hierzu auch Rawitz, Anat. Anz. Bd. XI. 1895. S. 296 u. 299.

Osmiumsäurepräparaten so schöne Erfolge erzielt haben und die sich von den gewöhnlichen basischen Anilinfarben der histologischen Technik insofern in mancher Beziehung unterscheiden, als sie beispielsweise einmal keine Bacillen färben, dann aber auch wieder zu gewissen Dingen Affinität bezeigen (Paranuclein), die für gewöhnlich nur mit sauren Anilinfarben sich färben.

Wie auch Neumann<sup>1)</sup> jüngst einer Vorfärbung mit Biondischer Lösung eine Färbung mit Hämatoxylin folgen lässt, so verwandte auch ich diesen Kernfarbstoff κατ' ἐξοχήν an dritter Stelle in Form von Jodhämatoxylin<sup>2)</sup>. Ueberhaupt scheint eine Kernfärbung mit Hämatoxylin einen anderen Eindruck zu machen als eine solche mit Anilinfarben. Während die Chromatinfäden bei Anwendung der letzteren Farbstoffe wie aus einzelnen kleinen, scharf und gleichmässig gefärbten Stücken zusammengesetzt erscheinen, gewinnt es nach Färbung mit Hämatoxylin den Anschein, als ob das Kerngerüst aus einem Convolut längerer Bänder bestehe, deren Seitenränder sich etwas stärker färben als die zart abgetönte Mitte. Es scheint bei der Hämatoxylinfärbung der Farbstoff auf der chromatischen Substanz, auch wenn Ueberfärbung sicher ausgeschlossen ist, gleichsam wie eine Deckfarbe aufgetragen zu sein, während die Anilinfarbe wie eine gefärbte Lösung dieselbe durchtränkt. Die mit Hämatoxylin gefärbten Theile sind weniger durchscheinend als die mit Anilinfarben gefärbten, so dass bei letzteren mehr der optische Querschnitt gegenüber der körperlichen Ansicht hervortritt. Während durch Anilinfarben besonders ausgezeichnet die Bläschenform zur Anschauung gelangt, ist bei dieser Färbung wegen ihrer Transparenz der Contrast zwischen normalen und pyknotischen Kernen nicht so in die Augen fallend. Das Umgekehrte gilt vom Hämatoxylin; hier verlangen Bläschenform und ruhende Kernstruktur aufmerksamere Betrachtung zu ihrer Unterscheidung, während die Pyknose als solche gar nicht zu verkennen ist.

Eine concentrirte alkoholische Saffraninlösung und eine con-

<sup>1)</sup> Neumann, a. a. O.

<sup>2)</sup> Cf. Sanfelice, Bolet. della Soc. di Naturalisti. Napoli. III. 1889. p. 37, 38.

centrirte wässrige Methylgrünlösung, der eine Prise Borax zugesetzt ist werden zu gleichen Theilen (Violettfärbung) gemischt, filtrirt und das Filtrat zu Anilinwasser gefügt (auf Filtrirpapier darf ein Tropfen keinen deutlich grünen Rand zeigen). Hierin wird, um Ueberfärbung zu vermeiden, unter steter Controle nicht zu lange gefärbt (elective Färbung), dann in Aq. dest. abgespült, hierauf einen Augenblick in dem sauren Farbgemisch entfärbt (subtractive Färbung) und gegengefärbt, wiederum abgespült, und schliesslich in einer verdünnten, erwärmten, wässrigen Lösung von Hämatein, dem 1 Tropfen Ammoniak und Tinct. jodi zugesetzt wird, nachgefärbt (additive Färbung). Die hinreichend gefärbten Deckgläschen werden wieder in Aq. dest. abgespült, mittelst Gebläse ein trockener Luftstrom über ihre Kante geschickt, nochmals schnell zwischen Papier fibrelint abgetrocknet, im Luftbad über der Bunsenflamme kurz erwärmt und in Dammarlack eingebettet. Werden alle letztgenannten Manipulationen recht schnell vorgenommen, dann vermeidet sich fast mit absoluter Sicherheit das bekannte (s. Engel) Abreissen der Kerne. Zur Frage der verschiedenen Consistenz der verschiedenen Kerne dürfte die Thatsache interessant erscheinen, dass die abgerissenen Kerne fast ausschliesslich dunkel gefärbt sind; rührt nun die dunkle Farbe von der Contraction des Kerns beim Abreissen her, oder sind gerade die Kerne abgerissen, die wegen ihres eigenartigen Baues auch besonders viel Farbstoff aufnehmen? Es scheint letztere Annahme wahrscheinlicher, wonach Dunkelfärbung und Abreissen als Coeffecte einer gemeinsamen Ursache angesehen werden müssen, obschon nicht zu übersehen ist, dass nicht alle dunklen Kerne abgerissen sind und nicht alle abgerissenen Kerne dunkel gefärbt zu sein brauchen.

Untersucht wurde mit Oelimmersion,  $\frac{1}{12}$  Homogen, Ocular 2, Tubuslänge 160 mm = Vergrösserung 530. Nach Vergleichen am frischen Präparat und den Erfahrungen bezüglich Orange-G, darf alles, wo gelber Farbton vorhanden ist, als hämoglobinhaltig betrachtet werden. Allerdings haben die rothen Blutkörperchen auch rothe Töne aufgenommen und je nach dem Verhältniss zwischen Hämoglobin und eigentlichem farblosem, albuminösem, sich in Säure-Fuchsin färbendem Protoplasma zeigen ihre Zelleiber Orangefärbung in allen Abstufungen: zart thee-

rosenfarbig = wenig Hämoglobin, wenig Protoplasma; lachsfarbig = relativ wenig Hämoglobin, relativ viel Protoplasma; aprikosenfarbig = viel Hämoglobin, wenig Protoplasma.

Wohl war es durch plasmolytische Experimente öfters ge-  
glückt, an rothen Blutzellen den ganzen Innenkörper von der  
äusseren festen Grenzschicht loszutrennen, so dass letztere wie  
ein isolirter Reif zurückblieb, eine eigentliche Membran aber,  
wie jüngst Auerbach<sup>1)</sup> und Macallum<sup>2)</sup> solche wiederum an-  
nahmen, konnte weder plasmolytisch noch durch Färbung mit  
Anilinblau differenzirt werden<sup>3)</sup>. Für die rothen Blutzellen muss  
ich mich mit Dehler<sup>4)</sup> demnach durchaus den Ansichten von  
Ranvier<sup>5)</sup> und Renaut<sup>6)</sup> anschliessen, wie sie vor Kurzem von  
Waldeyer<sup>7)</sup> interpretirt und commentirt wurden. Sehr wohl  
aber lässt sich durch die Färbung ein Ektoplasma von einem  
Entoplasma differenziren, welch' letzteres wieder in eine mehr  
nach aussen gelegene intermediäre eigentliche Markschrift und eine  
dicht um den Kern gelegene Kernschicht zerfällt<sup>8)</sup> 9). Während  
nehmlich bei einzelnen Exemplaren das Hämoglobin den Zelleib  
gleichmässig durchzieht und demnach derselbe auch gleichmässig  
gefärbt ist, z. B. Taf. XIII. A. 19, erscheint bei anderen eine  
besonders starke Anhäufung von Hämoglobin um den Kern  
herum und eine noch stärkere und breitere in der äussersten  
Rinde, während die mittlere Markschrift in der Gegend der  
„Delle“ (S. 603) fast ungefärbt erscheint (Taf. XIII. A. 15), was  
recht gut mit den bezüglichen Angaben über die örtliche Ent-

<sup>1)</sup> Auerbach, a. a. O.

<sup>2)</sup> Macallum, *Publicat. from the biol. Laborat. of the University of Toronto*. II. 1892.

<sup>3)</sup> Cf. Schiefferdecker, a. a. O. S. 366. — Griesbach, a. a. O. S. 222 u. 224. — Bergonzini, a. a. O. S. 31. — Cuénot, a. a. O. S. 28.

<sup>4)</sup> Dehler, a. a. O.

<sup>5)</sup> Ranvier, *Traité technique d'histologie*.

<sup>6)</sup> Renaut, *Traité d'histologie pratique*.

<sup>7)</sup> Waldeyer, a. a. O. S. 801 u. 802.

<sup>8)</sup> Cf. v. Leydig, *Untersuchungen zur Anat. und Histologie der Thiere*. Bonn 1883. S. 60.

<sup>9)</sup> Cf. van der Stricht, *Bulletin de l'académie royale de Belg.* III. Ser. T. XXIX. No. 1. 1895.

stehung des Hämoglobin in den rothen Blutkörperchen stimmen dürfte<sup>1-5)</sup>.

Hinsichtlich der Kernfärbung muss allerdings bemerkt werden, dass aus dem Farbenton keine constanten Beziehungen innerhalb der Gruppe der rothen Blutkörperchen zu erschliessen waren; derselbe war im Grossen und Ganzen blau (durch den Contrast mit dem complementär gelben Cytoplasma leicht grünlich), schwankte aber etwas nach der grünen und violetten Seite, was wahrscheinlicher durch die ungleichmässige Dicke der Präparatschicht als durch irgend welche Unbeständigkeit in der quantitativen Zusammensetzung der Farblösung oder Dauer ihrer Einwirkung zu erklären sein dürfte. Dagegen waren die Kerne der farblosen Blutkörperchen durch den Farbenton deutlich von denen der rothen Blutkörperchen unterschieden; während dieselben bei den Urodelen meistens, wenn nemlich die Färbung richtig abgepasst war, leuchtend grasgrün erschienen, waren sie bei den Anuren unter günstigen Umständen alle röthlich violett. Hieraus folgt, dass nicht für alle Fälle der Satz von Fol<sup>6)</sup> gilt, dass ruhende Kerne alkalisch reagiren, d. h. das Nuclein sich dem an ihn gebundenen Farbstoff gegenüber, trotz seines Gehalts an Nucleinsäure, wie ein schwach alkalischer Körper verhält, der rothen Alauncarmin in Lila, violettes Hämatoxylin in Blau, rothes Ribesin in Blaugrünlich, Rothkohlfarbstoff in Grün umschlagen lässt. Der blaue Farbenton der Kerne der rothen Blutkörperchen erklärt sich vielleicht dadurch, dass dieselben im Gegensatz zu den Kernen der weissen Blutkörperchen zwei Farbstoffe aufgenommen haben, nemlich Methylgrün und Hämatoxylin — die mikroskopische Betrachtung während der einzelnen Phasen der Färbung ergibt, dass das Nuclein der rothen Blutkörperchen kein Saffranin aufnimmt, sondern Methylgrün bevorzugt —; von den Componenten der beiden zur Wirkung gelangenden Farbstoffe (blau + gelb = Methylgrün, blau + roth = Hämatoxylin)

1) Ehrlich, Charité-Annalen. Bd. X. 1885.

2) Foà, Ziegler's Beitr. Bd. V. — Journ. of the microsc. soc. II. p. 198.

3) Haliburton, Journ. of physiol. X. p. 532.

4) Meisels, Wien. med. Wochenschr. Bd. XXXIX. No. 15. S. 559.

5) Höggjes, Wien. med. Presse. Bd. XXX. No. 12. S. 489.

6) Fol, Lehrb. der vergl. mikrosk. Anatomie. 1884.

überwiegen vielleicht mit Hilfe eines Einflusses der Nucleinsäure auf dieselben die blauen Töne.

Wir kommen jetzt zu unserer eigentlichen Aufgabe, der Untersuchung über die beiden Arten rother Blutkörperchen und über die verschiedenen Zellalter. Gehen wir von der Betrachtung aus des Blutpräparates eines alten ausgewachsenen Winterfrosches (*Rana esculenta*). Betrachten wir einmal ein Präparat, hergestellt nach unserer Methode und dann zum Vergleich ein zweites, in dem die Kerne ebenfalls blau gefärbt sind, aber mit nur einem Farbstoff, etwa Methylenblau. Halten wir vorläufig an der alt-hergebrachten Meinung fest, dass, je grösser und weniger intensiv gefärbt ein Kern ist, als um so jünger er anzusehen sei. Wir werden dann in unserem Methylenblaupräparat finden, dass ein scheinbarer Uebergang im Sinne Askanazy's zwischen Zellen, die ausgesprochen Megaloblasten sind und solchen, die ausgesprochen Normoblasten sind, stattfindet. Es finden sich nemlich Gigantoblasten, deren Kerne kleiner und dunkler gefärbt sind, als die der meisten Gigantoblasten, und Normoblasten, deren Kerne grösser und weniger dunkel gefärbt sind, als die der meisten Normoblasten. Da es schliesslich auch noch Zellen mittlerer Grösse mit solchen mittelgrossen und mittelstark gefärbten Kernen giebt, könnte der directe Uebergang von Megaloblasten in Normoblasten selbst auf Grund von Kernverhältnissen (Grösse und Färbbarkeit) als erwiesen gelten, wenn nicht ein dritter Factor dagegen spräche, der allerdings bei der Färbung mit Methylenblau nicht so augenfällig entgenspringt, nemlich die Kernstruktur. Trotz der annähernd gleichen Grösse und annähernd gleichen Färbbarkeit dieser Kerne mittlerer Sorte erscheinen nemlich die einen bei den ausgesprochenen Normoblasten als deutliches regelmässiges Gerüstwerk, die anderen bei den ausgesprochenen Megaloblasten als undeutliche wie verschwommene Masse. Man müsste also annehmen, dass letztere in erstere überginge, obwohl erstere in ihrem Bau viel grössere Aehnlichkeit hat mit den ganz grossen und ganz hellgefärbten Kernen der Megaloblasten. Dazu kommt, dass diese mittlere Sorte Kerne unter einander aber auch nur annähernd gleich gross und gleich stark gefärbt erscheint. Zwar giebt es in Megaloblasten Kerne nur wenig heller und grösser als in gewissen ihnen zunächst stehenden Normoblasten, zwar giebt es auch in Megalo-

blästen und Normoblasten gleich grosse und gleich stark gefärbte Kerne; doch giebt es auch in Megaloblasten Kerne der mittleren Art, die dunkler und kleiner erscheinen, als die entsprechenden in Normoblasten. Ganz abgesehen davon, dass die verschwommene Struktur in die deutliche übergehen müsste, müsste auch der kleinere und dunklere Kern in den grösseren und helleren übergehen, was gegen die oben mitgetheilte hergebrachte Annahme über die Jugendmerkmale der Kerne verstiesse. Betrachten wir jetzt das nach unserer Methode hergestellte Präparat, so erscheinen Megaloblasten und Normoblasten derart durch den ganzen Eindruck und den Gesamtcharakter ihrer Kerne verschieden, dass eine Verwechslung kaum möglich erscheint. Einerseits, und das ist das Maassgeblichste, erscheinen die Strukturen beider Arten in Folge der vereinten Wirkung der Anilinfarbe und des Hämatoxylin deutlich verschieden, nicht sowohl in Form und Anordnung, als vielmehr durch gewisse gleich zu schildernde Eigenschaften der einzelnen Gerüstfäden. Zweitens kann man hier die einzelnen Grade der Färbungsintensität auflösen in solche der Helligkeit und Sättigung der Färbung. Es erscheinen nemlich die Kerne ausgesprochener Megaloblasten mehr hellblau, die der Normoblasten mehr dunkelblau; bei beiden Arten erscheinen die Kerne, bei denen Gerüstfäden im Einzelnen nicht mehr zu erkennen sind, mit Farbstoff viel gesättigter, als die Kerne mit deutlicher Struktur. Ist schon so ein undeutlich strukturirter, kräftig hellblau gefärbter Kern mit einem deutlich strukturirten, matt dunkelblau gefärbten, selbst bei mittlerer gleicher Grösse und Färbung der Zelleiber nicht zu verwechseln, so kommen noch hinzu die Eigenthümlichkeiten in den Strukturen beider Kernarten, die eine Verwechslung mit Sicherheit ausschliessen und die am besten bei unserer Doppelfärbung in die Augen fallen. Die Kerne der sicher zu den Normoblasten gehörigen Zellen (von jetzt ab werde ich auch alle grösseren Zellen mit gleichem Kerncharakter hierher rechnen) haben schmale und scharf contourirte Gerüstfäden, die relativ weite Lücken zwischen sich lassen. Die Kerne der sicheren Megaloblasten (von nun an rechnen auch kleinere Zellen mit entsprechenden Kernen hierher) haben den gleichen Bau, wie die ihrer Altersstufe entsprechenden Kerne der Normoblasten und die gleiche Anordnung ihres Fadenwerkes;

nur erscheinen die Fäden hier breit und weich und lassen nur relativ schmale Lücken zwischen sich frei. Am deutlichsten und überzeugendsten tritt der Unterschied beider Zellarten entgegen bei der Karyokinese, wo die Chromosomen die Charaktere der Färbung und den Unterschied der Struktur am deutlichsten wiedergeben (Taf. XIV. B. 1 u. 5, D. 5 u. 11).

Bis jetzt sind wir leider noch nicht genau darüber orientirt, in welcher Weise aus dem ruhenden Kerngerüst das Spirem und die Chromosomen entstehen. Wir wissen, dass die Kernmembran aufgelöst wird und der Kern im Ganzen an Grösse zunimmt; ob die Grössenzunahme des Kernes hierbei auf Flüssigkeitsaufnahme beruht, ist nicht bekannt, vielleicht handelt es sich nur um eine Lockerung, ein Auseinanderrücken der Fäden von einander. Hernach, wenn die Chromosomen entstehen, ist aus dem Linnin, auf dem die Nucleinmikrosomen vorher aufgereiht waren, die Spindelfigur geworden. Die starke Färbbarkeit karyokinetischer Figuren stammt also vielleicht daher, dass die Mikrosomen so dicht an einander herangerückt sind, dass sie nunmehr selbst Fäden, nemlich die Chromosomen, bilden können. Auch zur Erklärung der gesättigten Färbung jener Kerne mit dem dichten compacten, kaum mehr zu entwirrenden Gerüst (Pyknose) können wir kaum viel mehr als Vermuthungen anführen. Da diese Kerne kleiner sind als jene anderen mit dem zarten, zierlichen, deutlichen und regelmässigen Gerüstwerk und oxychromatische Substanz bei ihnen im Gegensatz zu jenen nur noch in Spuren zu erkennen ist, so scheint es, als ob sich die pyknotischen Kerne von den deutlich strukturirten nur durch den Mangel an Kernsaft unterscheiden, d. h. als ob jene flüssigkeitsreichere, diese mehr geschrumpfte Gebilde repräsentiren. Möglich also, dass der tincturielle Effekt der pyknotischen Kerne nur daher rührt, dass die chromatischen Substanzen näher an einander gerückt, „verklumpt“ sind, während dieselben bei den deutlich strukturirten Kernen durch Karyolinin aus einander gedrängt nach Einwirkung von Farbstoffen einen weniger gesättigten Eindruck hervorrufen. Ob die pyknotischen Kerne vielleicht auch nicht nur relativ im Verhältniss zum Kernsaft, sondern auch absolut mehr Nuclein (active Kernsubstanz) enthalten, als die deutlich strukturirten Kerne,

auf diese Frage werden wir weiter unten noch kurz zurückkommen, wenn wir entschieden haben, ob die pyknotischen Kerne jugendliche oder greisenhafte Gebilde vorstellen. Jedenfalls können, wie wir oben (S. 599 u. 620) erörtert haben, bei Anwendung nur eines Anilinfarbstoffes durch zu schwaches Färben Megaloblastenkerne bläschenförmig, bei Anwendung von nur Hämatoxylin durch zu starkes Färben deutlich strukturirte Normoblastenkerne pyknotisch erscheinen. Schon hieraus könnte man schliessen, dass deutlich strukturirte Kerne weniger Nucleinmikrosomen enthalten als pyknotische; da nemlich auch bei kurzer Einwirkung des Farbstoffes ächt pyknotische Kerne sehr intensiv und fast homogen gefärbt erscheinen, so scheint, vorausgesetzt gleichmässige Einwirkung des Farbstoffes auf zwei verschiedene Kerne, der pyknotische Kern mehr Absatzpunkte für Farbstoff (Chromatingranula) zu enthalten, als der strukturirte Kern. Dies Verhältniss von Pyknose zu deutlicher Struktur gilt sowohl für Normoblasten, wie für Megaloblasten. Es müsste aber noch erklärt werden, warum die Megaloblasten im Ganzen heller gefärbt erscheinen, als die Normoblasten. Auch hierfür kann man nicht viel mehr, als Hypothesen anführen. Man könnte annehmen, die Kerne der Normoblasten seien weniger dicht gefügt, so dass sie ein grösseres Imbibitionsvermögen für Farbstoffe aufweisen. Wenn man indess bedenkt, dass pyknotische Kerne von Megaloblasten ebenso undeutlich gebaut sind und diffus sich färben, wie pyknotische Normoblastenkerne, und wenn man in Betracht zieht, dass bei deutlich strukturirten Megaloblastenkernen das Gerüst in derselben Weise angeordnet ist, wie bei entsprechenden Normoblastenkernen, nur dass der Kern im Ganzen hier grösser als dort erscheint, so dürfte es vielleicht erlaubt sein anzunehmen, dass hier der Kern zwar absolut, aber nicht relativ wasserreicher als dort ist, d. h. die Megaloblasten nicht weniger, aber grössere Nucleinmikrosomen besitzen, als die entsprechenden Normoblasten, so dass bei gleichmässiger Einwirkung des Farbstoffes dieser sich in der Zeiteinheit bei Megaloblasten auf Absatzpunkten mit grösserer Oberfläche auszubreiten hat, als bei Normoblasten, welch' letztere dem Farbstoff also eine im Ganzen grössere tingible Oberfläche darbieten.

Die Kerne, die trotz hinreichend starker Färbung stets bläs-

chenförmig erscheinen, dürften nach den mitgetheilten Experimenten von Auerbach als Quellungsprodukte anzusehen sein, nur dass dieselben, wie unsere Controlbeobachtungen ergeben haben, nicht während der Zeit der Präparatenanfertigung entstanden zu denken sind, sondern als *intra vasa* präformirt gedacht werden müssen. Es sind also regressive Bildungen, die häufig mit Cytolyse des Zelleibes verbunden erscheinen. Auch dass dieselben häufiger und dann meist in Mehrzahl an den Randpartien des Präparates anzutreffen sind, ist eher geeignet gegen, als für die artificielle Herkunft dieser Gebilde zu sprechen; abgesehen davon, dass sie sich auch an einwandfreien Orten des Präparates finden, ist das Vorkommen zu Haufen und am Rande ähnlich zu erklären, wie gleiche Verhältnisse bei Leukoeyten (Wandstrom!), deren viscöse Oberfläche ebenso leicht eine Congregation und Agglutination begünstigt, wie die gequollenen Zelleiber der Erythroblasten. Wie bei ihnen der eigenthümliche färberische Effekt zu Stande kommt, ob bei ihnen das Nuclein verdünnt, die Nucleingranula gequollen sind und welche Rolle die Oedematinkörnchen bei diesem Prozess spielen, das anders als speculativ zu entscheiden, würde noch mehr That-sachenmaterial erfordern. Bei karyolytischen Kernen hat Arnheim nachgewiesen, dass das Nuclein ausgelaugt und ausgeschlemmt ist.

Um festzustellen, welche von den verschiedenen im Blute eines alten Winterfrosches sich findenden Zellformen der lebensfrischen, welche der katabiotischen Phase des Zellalters angehören, wurde an den Orten und zu Zeiten der Blutregeneration nachgeforscht nach den Zellformen, die da in überwiegender Mehrzahl vorhanden sind. Es wurde zu dem Zweck das Knochenmark, die Milz und das Blut ausgewachsener, wie noch jugendlicher, also noch wachsender, ferner Milz und Blut bei eben der Kiemen verlustigen, aber noch einen Schwanzstummel besitzenden, an der äussersten Grenze des Larvenlebens stehenden Individuen, sowie bei extremitätenlosen Kaulquabben untersucht.

Sowohl bei der Bildung aus farblosen Zellen (Spindelzellen), als auch bei Entstehung durch Theilung hämoglobinhaltiger Zellen, zeigt der junge Erythroblast einen runden und zwar deutlich und zart strukturirten Kern. Die Zellen der Larvenperiode, sowie die auch später durch Theilung entstehen-

den Zellen sind mehr oder weniger rundlich, die von Spindelzellen abstammenden Zellen sind gestreckt und bei ihnen ist auch der Kern relativ gross gegenüber dem Zellleib, d. h. der Radius des Kerns grösser als die Breite des Cytoplasmasaums. Wie aus diesen mehr dreidimensionalen protoplasmatischen Gebilden die hylaninen, platten, gewissermaassen typischen Amphibien-Blutscheiben entstehen, konnte nicht überall festgestellt werden. Jedenfalls scheint ersichtlich, dass die in die Fläche gestreckte Form die höher ausgebildete ist. Durch Zunahme des Cytoplasmaleibes und Kleinerwerden des Kerns, wie sich Saxer<sup>1)</sup> ausdrückt, wächst nun die aus Spindelzellen oder durch Theilung entstandene Zelle heran; indem die erstere auch noch mehr Hämoglobin bildet, wird sie zu einer Zelle, deren Kern zwar zum Protoplasmaleib relativ klein ist, der aber noch ein reguläres, deutliches, wenn auch nicht mehr ganz so zierliches Gerüstwerk aufweist. Man könnte dieses Stadium als das der Pubertät oder Maturität bezeichnen, indem die Zelle fortpflanzungsfähig und theilungsreif erscheint; nur in ihm kamen Mitosen zur Beobachtung, wie denn auch die Mehrzahl der Zellen in den letzten Epochen des Larvenlebens, in dem reichliche Mitosen noch im circulirenden Blut sich finden, diesen Charakter aufweist. Hieraus ist ersichtlich, was für unsere obige Erörterung über die stärkere Färbbarkeit älterer Zellkerne im Gegensatz zu jüngeren von Interesse ist, dass mit zunehmender Entwicklung der Nucleinreichthum des Zellkerns sich vermehren muss; von zwei aus einer Theilung hervorgegangenen, also jungen Tochterzellen enthält jede nur zur Hälfte so viel Nuclein, als die theilungsreife Mutterzelle, von der sie stammen, und jede von ihnen muss ihren Nucleinvorrath, bis sie selbst in fortpflanzungsfähige Stadien tritt, verdoppelt haben<sup>2)</sup>. Trotzdem erscheinen die

<sup>1)</sup> Saxer, a. a. O.

<sup>2)</sup> Dem Stadium der Fruchtbarkeit ist eine gewisse Ausdehnung zu vindiciren; mehr zu Anfang und mehr gegen Ende kann Theilung erfolgen. Da die Mutterzelle zu Anfang der Pubertät weniger Nuclein besitzt als gegen die Neige hin, so folgt daraus, dass nicht alle eben entstandenen „Tochterkerne“ gleich chromatinreich, also gleich dunkel gefärbt sein können (S. 592), die Färbung also selbst bei Zellen ganz gleicher Altersstufe zur Alterserkennung im Stich lässt. Wichtiger und stets zu berücksichtigen sind die Strukturverhältnisse,

eben aus der Theilung hervorgehenden Tochterkerne mit Farbstoff viel gesättigter, als der ruhende, doppelt so viel Chromatin enthaltende Mutterkern. Sie erscheinen fast pyknotisch, denn sie enthalten nur actives Nuclein im Sinne Hertwig's. Wenn allmählich durch Saftaufnahme die Configuration zum ruhenden Kerngerüst eintritt, dann erscheint die Färbung auch weniger gesättigt. Aehnlich scheinen die Verhältnisse in den einzelnen Stadien der Mitose zu liegen. Die Schleifen der beginnenden Mitose in den Spirems färben sich nicht so stark wie die Sternformen, vielleicht weil bei ersteren noch Lininbeimischungen in den Nucleinfäden sind und die Mikrosomen noch nicht so dicht zusammen rücken konnten (Taf. XIV. A. 5 und 6, B. 2 und 3).

Schliesslich, wenn die Fortpflanzungsfähigkeit erschöpft ist, wird der Kern (vielleicht auch nunmehr wieder durch Verlust von eigentlichem Protoplasma der Zelleib) kleiner, das Chromatingerüst plumper, die Fäden verklumpen. Ob bei dieser senilen Katabiose eine noch weitere Zunahme von Nuclein erfolgt (was, wenn man mit Rindfleisch das Nuclein neovitalistisch als Gehirn der Zelle, Sitz der Erbweisheit, ansehen wollte, wohl denkbar wäre) darüber lässt sich nichts Bestimmtes aussagen. Wir haben also bisher auf Grund der Kernstrukturen drei Altersstadien der Zelle, ein unreifes infantiles, ein matures und ein seniles zwanglos annehmen können, die natürlich in einzelnen durch Uebergänge mit einander verknüpft sind. — Wir haben ferner gesehen, dass die Mehrzahl der rothen Blutzellen nach dem Larvenleben gestreckte Kerne aufweist. Obgleich nun die Zellen der embryonalen und jungen Blutkörperchen grösstentheils runde Kerne haben, ist es doch unstatthaft, die gestreckten Kerne als Ausdruck des höheren Zellalters den runden des jungen Zellalters entgegen zu setzen. Anatomisches Merkmal des Zellalters bleibt, wie oben erörtert, die Struktur. Trotzdem ist in dieser Streckung der Form bei den Kernen ebenso wie bei den Zelleibern eine höhere Ausbildung und Entwicklungsstufe zu sehen. Dieselbe findet sich freilich am häufigsten bei theilungsreifen Kernen, bezw. bei ihrem Uebergang in's pyknotische Stadium entsprechend dem Umstande, dass sie die Mehrzahl im Blute eines ausgebildeten Frosches bilden, wo sich infantile, durch

Metamorphose oder Karyokinese entstandene Zellen doch nur äusserst selten finden. Man findet indess nicht nur auch pyknotische gestreckte Kerne, sondern es kommen auch gestreckte Kerne mit infantiler Struktur vor. Die Streckung an sich ist also kein Ausdruck des Alterns, denn es giebt pyknotische runde und infantile gestreckte Kerne. Letzterer Umstand könnte vielleicht dazu verleiten, anzunehmen, dass die gestreckte Form die ursprünglichere sei, aus der die runde durch Contraction hervorginge; hiergegen indess schützt der Umstand, dass die überwiegende Mehrzahl der embryonalen rothen Blutkörperchen runde, die des ausgewachsenen Thieres ovale Kerne hat, sowie dass man bei den durch Theilung entstandenen Blutkörperchen beobachten kann, dass sie erst selbst rund sind und runde Kerne haben, dann der Zelleib sich streckt, während der Kern noch rund bleibt, wie dies bei den aus Spindelzellen entstandenen rothen Blutkörperchen im Knochenmark der Fall ist, und sich erst zum Schluss auch der Kern streckt. Runde Zellen mit gestreckten Kernen kamen als physiologische Bildungen nicht zur Beobachtung. Wir sehen also, dass die ovale Form aus der runden hervorgeht, ähnlich wie der Samenfadens aus der runden Spermatide durch Streckung oder wie die fixe Stromazelle aus der runden Granulationszelle. Wenn wir bedenken, dass in jedem Zellalter runde und gestreckte Formen sich finden, so dürfte es berechtigt erscheinen, diesen Vorgang im Vergleich zu setzen mit der Entkernung der rothen Blutkörperchen der Säugethiere, die auch, wie wir<sup>1)</sup> gezeigt haben, in jedem Zellalter das Blutkörperchen ergreifen kann (s. o. S. 594, Anm.). Die Streckung vertritt hier gewissermaassen die Entkernung und kann, wenn man will, ebenfalls teleologisch erklärt werden durch eine damit verbundene Vergrösserung der respiratorischen Oberfläche. Allerdings kommt nun auch noch bei Amphibien, wie von Pfitzner zuerst nachgewiesen ist und von uns bestätigt werden kann, hin und wieder Entkernung rother Blutzellen durch ächten karyolytischen Kernschwund vor (Taf. XIII. A. 22, XIV. B. 11), welcher indess als phylogenetische Vorwegnahme angesehen werden muss, wenn man nicht lieber annehmen will, dass die Entkernung bei Säugethieren eine ihrer Tendenz schon phylo-

<sup>1)</sup> A. Pappenheim, a. a. O.

genetisch früher angelegte Einrichtung ist, die durch Vererbung in der Descendenz weiter ausgebildet wurde<sup>1)</sup>. Dass auch bei Säugethieren (Thylopoden) gestreckte Scheiben vorkommen, ist vielleicht eher als eine Art höherer Differenzirung und Anpassung als als atavistischer Rückschlag zu deuten, während die runden Blutzellen mit rundem Kern bei Cyclostomen in ihrer noch nicht differenzirten gleichsam embryonalen Form vielleicht auch als Beweis für die niedere Entwicklungsstufe dieser Thiere gelten könnten. Wir haben demnach:

- 1) bei Säugethieren Erythroblasten = Zellen mit rundem Kern,  
Erythrocytoden = kernlose Scheiben,
- 2) bei Amphibien Erythroblasten = Zellen mit rundem Kern,  
Erythrocyten = Zellen mit gestrecktem Kern.

Was die Entkernung bei Amphibien betrifft, so kommt sie, wie gesagt, nur recht selten vor, bei Megaloblasten und in embryonalen Stadien so gut wie gar nicht, hauptsächlich bei Normoblasten des ausgewachsenen Thieres. Aber auch hier gilt dasselbe, was wir<sup>2)</sup> bei Säugethiererythroblasten gezeigt haben; die karyorrhektischen Prozesse setzen zwar mit Vorliebe an gealterten Kernen an, sind aber nicht, wie Pfitzner<sup>3)</sup> mit Henle annimmt, Ausdruck der Senescenz, denn es finden sich regelmässige, runde, homogene, pyknotische Kerne neben infantilen, deren Contour eingekerbt, deren Rand angenagt und deren Inneres von unregelmässigen Lücken durchsetzt ist, während auch derbere neben helleren gefärbten Partien sich finden. Ferner ist die Karyorrhexis, wenn sie sich auch, wie die Streckung, in jedem Zellalter findet, durchaus keine Function der letzteren; Beweis ist, dass es normale gestreckte neben runden karyorrhektischen Kernen giebt.

Wir haben Eingangs dieser Arbeit erörtert, weshalb sich aus theoretischen Erwägungen ein Uebergang aus Megaloblasten in Normoblasten nicht annehmen lässt. Es war dies der Umstand, dass sich auch bei Megaloblasten Zellen mit senilen Kernen finden, welche zwar relativ selten angetroffen werden, aber doch nicht ohne Weiteres als Ausnahme vernachlässigt

<sup>1)</sup> cf. O. Israel und A. Pappenheim, a. a. O. S. 445.

<sup>2)</sup> Pappenheim, a. a. O.

<sup>3)</sup> Pfitzner, a. a. O.

werden dürfen. War es vorher schwer, im Präparat überall und stets die einzelnen Zellen mit Sicherheit einer der beiden theoretisch postulirten Zellgattungen einzuordnen, so darf auch dieser Uebelstand nunmehr vielleicht als beseitigt angesehen werden. Wir haben gesehen, dass nicht Färbung oder Grösse des Zelleibes, sondern eben so wie beim Zellalter gewisse Charaktere des Kerns das Maassgebende waren und werden demnach auch kleine, mittelgrosse und dunkle Zellen zu den Megaloblasten rechnen, wenn ihre Kerne die entsprechenden Merkmale aufzuweisen haben. Die Ausnahmen von der regelmässigen Grösse und Färbung erklären sich, wie erwähnt, durch die doppelte Entstehung der rothen Blutkörperchen, übermässiges Wachsthum oder individuelle Zwergenhaftigkeit. Jedenfalls ist der Name der Zellarten, der nur von der einen Eigenschaft der Grösse hergenommen ist, fallen zu lassen. Wir wollen vorläufig die eine Zellart (Megaloblasten) als amblychromatische, die andere Zellart (Normoblasten) trachychromatische Erythroblasten bezeichnen.

In meine Arbeit über die Bildung der rothen Blutscheiben hatte ich die Ansicht aufgenommen, als ob die amblychromatischen Zellen für die ersten embryonalen Lebensstadien charakteristisch wären, die trachychromatischen dagegen für die Zeit der Blutbildung aus dem Knochenmark und hatte es auch schon aus diesem Grunde abgelehnt, einen Uebergang der einen Zellart in die andere zuzulassen. Inzwischen habe ich gefunden, dass in jedem Knochenmark von Säugethieren und besonders im pernicios-anämischen neben kleinen, trachychromatischen grosse amblychromatische Zellen vorkommen, ein gleiches fand ich im Knochenmark und Blut erwachsener Anuren. Ferner fand ich bei Thieren, die aus der Milz<sup>1)</sup> ihr Blut beziehen (Urodelen), kleine trachychromatische neben grossen, amblychromatischen Zellen. Dasselbe war der Fall bei Fischen

<sup>1)</sup> cf. Bizzozero und Torre, Dieses Archiv. Bd. 95. — Bizzozero und Salvioli, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1879. Moleschott's Untersuchungen. XII. 1881. Foà und Salvioli, Arch. ital. de biol. I. 1882. — Lauenbach, Phys. Centralbl. 1895. — Köppe, Münch. med. Wochenschr. 1895. — Eliasberg, Inaug.-Diss. Dorpat 1893. — Gabbi, Ziegler's Beiträge. Bd. XIX. Heft III. 1896.

[Knorpelfischen, *Petromyzon* (*Amocoetes*form)], die auch aus dem lymphoiden Parenchym der Niere Blut bilden. Schliesslich fand ich in allen Stadien embryonaler Entwicklung (besonders eignen sich wegen ihrer Grösse und ihrer lang dauernden Entwicklung die Kaulquabben von *Pelobates fuscus*, *Pseudis paradoxa* und *Rana mugiens* zur Untersuchung) die beiden Zellarten neben einander; aber in den verschiedenen Stadien der embryonalen Entwicklung war die Form und die quantitative Vertheilung eine andere. Allerdings waren in den ersten Tagen des Larvenlebens die überwiegende Mehrzahl der Zellen gross, die Kerne gross und amblychromatisch („Metrocyten“, Engel) und nur hin und wieder fanden sich Individuen der anderen Art, aber sie fanden sich doch; umgekehrt ist in den letzten Stadien der embryonalen Entwicklung die Mehrzahl der Zellen klein und zur trachychromatischen Art gehörig. Ferner sind zwar durchschnittlich die amblychromatischen Zellen jedes Lebensalters grösser als die entsprechenden trachychromatischen, im Ganzen aber nehmen mit zunehmendem Lebensalter sämtliche Zellen an Grösse ab, so dass die Blutzellen einer späteren hämatogenetischen Periode kleiner sind, als die einer früheren. Da es sich also nicht so verhält, wie wir früher annahmen, dass Anfangs nur amblychromatische, später trachychromatische Zellen gebildet werden, können die Zellen der späteren Lebensstadien nicht aus denen der früheren entstanden sein. Es werden vielmehr in jedem Lebensstadium Blutzellen beider Arten gebildet; dass in den einzelnen Stadien die trachychromatischen Zellen nicht aus den amblychromatischen hervorgehen, dafür haben wir unsere Gründe des öfteren klargelegt. Denkbar, aber durch ähnliche Gründe leicht zu widerlegen, ist auch die Annahme, dass die kleineren Zellen der späteren Stadien allmählich aus denen der grösseren entstanden sind, zumal ja sich in früheren Stadien hauptsächlich infantile, in späteren mehr senile Zellen finden. Dann aber müssten auch umgekehrt amblychromatische aus trachychromatischen Zellen entstanden sein; es schliessen sich nemlich die wenigen amblychromatischen Zellen späterer Stadien in ihrer Grösse unmittelbar an an die wenigen trachychromatischen Zellen der ersten Stadien. Wieder ein Beweis, dass jede Classification,

die auf ein so äusserliches Merkmal wie die Grösse basirt ist, eine künstliche sein muss. Es könnten nun schliesslich die amblychromatischen Zellen späterer Stadien direct entstanden sein aus den amblychromatischen Zellen früherer Stadien, was eben so auch von den Zellen der anderen Art gelten könnte; dann aber müssten sich in den ersten Stadien trachychromatische Zellen mit nur infantilen Kernen und in den späteren Stadien amblychromatische Zellen mit nur senilen Kernen finden. Beides widerspricht den Thatsachen. Am aller einfachsten erscheint die Annahme, dass die Blutzellen beider Arten in der Circulation sich so lange fortpflanzen und in den hämatopoetischen Organen gebildet werden, bis die Fortpflanzungsfähigkeit erschöpft ist und die Zellen zu Grunde gehen, also nicht im Sinne Weismann's unsterblich sind, worauf dann ein anderes hämatopoetisches Organ mit längerer Thätigkeitsdauer, schliesslich das Knochenmark in Function tritt. Während die Zellen der ersten embryonalen Stadien kuglig bleiben, als solche zu Grunde gehen, nähern sich die späteren immer mehr ihrer definitiven Ausbildung. Die verschiedenen, amblychromatischen und trachychromatischen Zellen der verschiedenen Perioden sind also nicht gleichwerthig; in jeder Periode aber können aus amblychromatischen Zellen nur wieder amblychromatische Zellen der gleichen Art durch Theilung (Verjüngung) hervorgehen, die höchstens Altersveränderungen kenntlich am Kern erleiden; in jedem hämatopoetischen Organ aber werden Zellen beider Gattungen gebildet, in früheren Perioden vorwiegend amblyochromatische, in späteren mehr trachychromatische. Schon hieraus ist ersichtlich, dass die amblychromatische Form der Blutbildung die tiefer stehende sein muss. Während sich im Blut erwachsener Anuren amblyochromatische Zellen aber immer noch finden, sind sie im Blut von Säugethieren nur noch unter pathologischen Bedingungen anzutreffen. Nirgends scheint das biogenetische Grundgesetz, dass die Ontogenie eine abgekürzte Wiederholung der Phylogenie sei, so deutlich verkörpert zu sein wie gerade hier bei den Amphibien. Die Blutkörperchen der niedriger im System stehenden Urodelen sind grösser (Amphiuma und Proteus haben die grössten), als die der Anuren; die in frühen embryologischen Stadien des Frosches gebildeten

Blutkörperchen sind grösser, als die in später gebildeten, speciell die amblyochromatischen Zellen meist grösser als die trachyochromatischen selbst in den späteren Stadien. Die Urodelen sind bei der Blutbildung aus der Milz stehen geblieben, die Anuren haben bereits die Stufe der Blutbildung aus Knochenmark erreicht. Pfitzner<sup>1)</sup> hat folgende beide Gesetze aufgestellt, die ich im Grossen und Ganzen bestätigt finden konnte.

1. Je weiter wir in der Thierreihe abwärts steigen, desto chromatinärmere Kerne finden wir. In der Entwicklung des Chromatins haben wir einen Maassstab für die Entwicklungsstufe der Zelle.

2. Je jünger das Thier, desto chromatinärmer der Kern. Chromatinarmuth des Kerns ist Kennzeichen für den embryonalen Charakter der Zellen.

Wir können hinzufügen, dass dies auch für das embryonale Alter des Thieres gilt, und dass die Blutzellen früherer embryonaler Stadien grössere Kerne haben und sich weniger stark färben als die späterer Stadien, also auch die amblyochromatischen Zellen früherer Stadien mattere Kerne haben als die entsprechenden späterer Stadien. Auch hieraus lässt sich schliessen, dass die amblyochromatische Zelle jedes Lebensalters im Gegensatz zur trachyochromatischen ein unreiferes, unfertigeres Gebilde repräsentirt. Hierfür spricht auch, wie öfters erwähnt, abgesehen von den eben genannten Eigenschaften des Kernes, die gewöhnlich bedeutende Grösse, Hämoglobinararmuth und Labilität der Zelle, sowie die seltene und dann nur in mässigem Grade sich vollziehende Streckung von Zelleib und Kern, weshalb es durchaus verzeihlich ist, wenn man geneigt ist, diese Zellen überhaupt für die jungen Blutzellen zu halten, aus denen mit zunehmendem Alter die trachyochromatischen Zellen werden. Wir haben vorhin erwähnt, dass die erste Blutbildungsperiode aus den mesenchymatischen Blutinseln (Endothelien) vorwiegend amblyochromatischer Natur ist, dass dieselbe aber die kürzeste aller Blutbildungsperioden ist, dass aber in den späteren, immer länger dauernden und immer kleinere Zellen producirenden Perioden mehr und mehr der trachyochromatische Typus überwiegt. Dieser histogenetische Vorgang findet ebenfalls gewisser-

<sup>1)</sup> Pfitzner, a. a. O. S. 280.

maassen sein cytogenetisches Ebenbild darin, dass sich besonders in späteren Stadien viel häufiger trachychromatische Zellen mit senilen Kernen finden lassen, als amblychromatische mit solchen. In früheren Stadien ist die Reproduction junger Zellen viel lebhafter, daher finden sich hauptsächlich jugendliche Zellen und in den allerersten Stadien hauptsächlich solche der amblychromatischen Art. Vielleicht gerade wegen ihrer grossen Labilität erreichen dieselben nur selten ein physiologisches Senium, sondern gehen vorzeitig durch allerhand Degenerationen zu Grunde, weshalb recht bald ein neues hämatopoetisches Organ in Function tritt; je mehr dieses trachychromatische Zellen liefert, die resistenter gegen schädliche Einflüsse sind, um so länger wird es functioniren. Trotzdem sind auch die amblychromatischen Zellen später in Function tretender Organe gemäss ihres ganzen unfertigen Habitus recht labile Bildungen. Die gewöhnlichste Form der Degeneration, der sie anheim fallen, ist die häufig erwähnte Cytolyse mit Quellung (Hydrops des Kerns). Wir haben oben erwähnt, dass man von gewissem Standpunkte aus die bläschenförmigen Kerne für die allerjünglichsten halten könnte und haben diese Meinung als unbegründet zurückgewiesen. Freilich sind es gewöhnlich die im Ganzen unreifen Megaloblasten, die diese Erscheinung aufweisen und die überhaupt meist mit mehr oder weniger jugendlichen Kernen zur Beobachtung kommen; aber nicht jeder jugendliche Kern ist darum gequollen, und auch Zellen mit senilen Kernen, z. B. trachychromatische, können unter Umständen von dieser Degeneration ergriffen werden.

Ganz ähnlich verhält es sich mit der Polychromatophilie, die Askanazy<sup>1)</sup> mit Gabritschewsky sogar als Ausdruck der Jugendlichkeit anzusehen geneigt ist, was ebenfalls Grund für ihn ist, die amblyochromatischen Zellen, bei denen sie sich hauptsächlich findet, als die jugendlicheren Blutzellen anzusehen. Weder ist nun<sup>2)</sup> Polychromatophilie ein Ausdruck der Jugendlichkeit, weil sie sich bei amblyochromatischen Zellen findet, noch sind letztere Jugendformen, weil sich bei ihnen Polychromatophilie findet. Letztere ist vielmehr, wie Ehrlich will, eine eigen-

<sup>1)</sup> Askanazy, a. a. O.

<sup>2)</sup> s. o. S. 591.

thümliche Degeneration, der mit Vorliebe hämoglobinarne Elemente anheim fallen (anämische Degeneration). Hämoglobinarne sind nun allerdings die meisten amblychromatischen Zellen gemäss ihres unfertigen Habitus; hämoglobinarne sind aber auch die jugendlichen, aus farblosen Gebilden hervorgegangenen trachychromatischen Zellen, und auch bei diesen findet sich Polychromatophilie (Engel beschreibt sowohl bei gewissen Metrocyten als auch bei Normoblasten weinrothes bis mahagonibraunes Cytoplasma [Polychromatophilie?]). Schliesslich giebt es nicht nur viele jugendliche hämoglobinarne Zellen beider Typen ohne diese Degeneration, sondern auch hämoglobinreiche, jugendliche wie ältere Zellen beider Typen können diese Degeneration aufweisen.

Wir haben im Voranstehenden behauptet, dass zu jeder Zeit in jedem hämatopoetischen Organ Blutzellen beider Arten gebildet werden. Am überzeugendsten und bequemsten lässt sich dies im Blut und der Milz von Larven der Urodelen beobachten (Gymnophionen und Dipnoer hatte ich leider nicht zur Verfügung). Im Blut der aus dem Mutterleibe ausgeschnittenen Larve von *Salamandra atra* und *maculata*, sowie im Blut und in der Milz selbst schon erwachsener Individuen von *Siredon pisciformis* (die Verhältnisse bei *Proteus anguineus* sind genau die gleichen wie beim Axolotl) findet man mit Leichtigkeit Uebergänge von kleinen „Lymphocyten“ zu trachychromatischen und grossen „Lymphocyten“ zu amblychromatischen Zellen (Taf. XIV. D. 1, 7). (Bei Urodelen scheint nemlich im Gegensatz zu den Batrachiern die Neubildung von farblosen Zellen in der Circulation stärker zu sein als im hämatopoetischen Organ, während umgekehrt bei ihren Larven im Gegensatz zu denen der Anuren Mitosen häufiger im hämatopoetischen Organ als in der Circulation angetroffen werden können.) Obwohl sich auch bei Urodelen Spindelzellen finden, entstehen hier die rothen Blutkörperchen doch auch aus Rundzellen. Neben einander laufen zwei parallele Reihen von amblychromatischen und trachychromatischen Zellen: bei beiden infantile Formen mit relativ grossen, wohl struktuirten Kernen, aus denen, wie dies auch Minot<sup>1)</sup> beschreibt, durch Zunahme des Plasmasaums und Verkleinerung

<sup>1)</sup> Minot, Anat. Anz. 1890. s. Saxer, S. 629.

des Kerns die typische Form der Amphibienblutkörperchen hervorgeht. Die Annahme einer im Ganzen grösseren und einer im Ganzen kleineren Art rother Blutkörperchen erscheint nicht nur hierdurch bewiesen, sondern verliert auch durch diese Analogie mit grossen und kleinen Lymphocyten, von denen sie abstammen, sehr viel an Unwahrscheinlichkeit; ich darf hinzufügen, dass sich auch mit Leichtigkeit multinucleäre (polymorphkernige) Leukocyten von kleinerer und grösserer Gestalt, acidophilgranulirte Zellen, sowie sogar Spindelzellen beider Grössen unschwer finden liessen<sup>1)</sup>. Die Unterschiede zwischen den beiden Blutarten sind also zurück zu verfolgen bis zu den farblosen Zellen, von denen sie abstammen.

Dass sich in jedem lymphoiden, bezw. hämatopoetischen Organ Rundzellen der grösseren und kleineren Gattung finden, geht auch aus Arnold's<sup>2)</sup> Arbeiten über das Knochenmark sowie den jüngsten Untersuchungen Saxer's<sup>3)</sup> und Benda's<sup>4)</sup> hervor, aus denen auch die Erklärung für die bereits von Hayem und Howell hervorgehobene Thatsache abzuleiten ist, dass die kernhaltigen rothen Zellen des ersten Embryonallebens nicht identisch sind mit den kernhaltigen rothen Zellen des Knochenmarks, ferner warum die rothen Blutkörperchen späterer embryonaler Phasen kleiner sind als die früheren, so dass etwa spätere amblychromatische Zellen nur noch so gross sind wie frühere trachychromatische. Jedes lymphoide Organ, nicht nur die Lymphdrüsen, bildet, was schon Löwit betont hatte, „Lymphocyten“ im Sinne van der Stricht's, Sherrington's und A. Fränkel's, d. h. farblose Rundzellen mit rundem Kern; solche entstehen aber jedesmal in zwei, in den einzelnen Organen nicht identischen Grössen; die grossen eigentlichen Lymphocyten der Lymphknoten sind nicht eben so gross wie die grossen Myelocyten, sondern die „theilungsreifen Keimcentrumszellen“ eines Lymphknotens sind nur so gross etwa wie kleine Myelocyten.

<sup>1)</sup> Schon H. F. Müller beschreibt grössere und kleinere Leukocyten mit acidophiler Granulation. Siehe hierüber auch Grawitz (a. a. O. S. 124).

<sup>2)</sup> Arnold, Dieses Archiv. Bd. 140. 1895.

<sup>3)</sup> Saxer, a. a. O.

<sup>4)</sup> Benda, a. a. O.

Man muss mit Obrastzow<sup>1)</sup> und Howell<sup>2)</sup> nun annehmen, dass aus den farblosen einkernigen Hämatoblasten (Myeloblast, Splenoblast) entweder ein multinucleärer Leukocyt [Myelocyt, Splenocyt<sup>3)</sup>] oder ein Erythroblast hervorgeht<sup>4)</sup>, so dass also in der Stammzelle beide Anlagen bereits potentia im Keime vorhanden sein müssen. Was den unmittelbaren Anstoss zu der einen oder der anderen Entwicklung giebt, das ist noch ein „epigenetisches“ Problem ähnlicher Natur, wie die Erforschung der Ursachen masculiner und feminer Entwicklung des befruchteten Eies. Auch sonst finden sich Beispiele dafür, dass in einer Mutterzelle zwei Tendenzen vereinigt sind, die durch irgend welchen Anstoss in einer Richtung differenziert werden und sich dann nur in dieser durch Vererbung erhalten. Es sei erinnert, dass Spermatoblasten (Ebner) und Spermatogonien, Follikelzellen und Ei, Stützzellen und Sinnesepithelien, Neurogliazellen und Ganglienzellen aus nur einer Anlage hervorgehen, sowie dass aus der indifferenten Mesenchymzelle die verschiedensten Arten von Bindsbstanzzellen entstehen. Vielleicht hängt mit dieser in den farblosen Mutterzellen präformirten Tendenz der Hämoglobinbildung auch irgendwie die Entstehung acidophiler Granulationen in farblosen, multinucleären Leukocyten zusammen, so dass dabei gewissermaassen der Ausdruck eines rudimentären Bildungsvermögens zu Tage tritt.

Dass die amblyochromatischen Erythroblasten im Gegensatz zu den trachyochromatischen einen so unreifen Eindruck

1) Obrastzow, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. No. 24. Dieses Archiv. Bd. 84. S. 358.

2) Howell, W. H., New York med. record. XXXIV. 1888. Journal of morphol. IV. 1871.

3) Bei Amphibien konnte ich beobachten, dass die Kernzerschnürung auf zweierlei Weise zu Stande kommt, entweder durch Einbuchtungen von aussen und nachträgliche Abschnürung der Verbindungsbrücken oder von innen her nach dem Typus der Lochkernbildung (Göppert, Flemming, Kostanecki).

4) Der einkernige Hämatoblast besitzt einen Nucleolus; die aus ihm hervorgehenden farblosen und rothen Blutzellen (Hämatocyten) haben keine Nucleolen.

machen, wird erklärlich durch die Arbeiten von Wertheim<sup>1)</sup> und H. F. Müller<sup>2)</sup>, aus denen, im Gegensatz zu den Lehren Löwit's<sup>3)</sup>, hervorgeht, dass der normale Modus der Blutbildung ein derartiger sei, dass aus den grossen Leukoblasten (irgendwie) erst die kleinen Leukoblasten werden müssen, aus welchen dann erst entweder Leukocyten mit polymerisirten Kernen oder trachyochromatische Erythroblasten hervorgehen<sup>4)</sup>. Dass man auch von unreifen farblosen Rundzellen sprechen kann, findet sich in dem neuen Buch von Grawitz<sup>5)</sup>. Der soeben als der normale geschilderte Modus der Blutbildung bei dem aus den grossen Leukoblasten erst secundär auf Umwegen durch die aus jenen entstandenen kleinen Leukoblasten rothe Blutzellen werden, findet sich in den späteren hämatogenetischen Epochen; in den früheren dagegen entstehen noch direct aus den grossen Leukoblasten, ohne Reduction derselben zu kleinen, die amblychromatischen Erythroblasten. Nach der Entstehung könnte man daher bequemer die amblychromatischen Zellen mit „Protophyten“, die trachyochromatischen mit „Ennomophyten“ bezeichnen.

Sollte es sich herausstellen, dass die bei Amphibien geltenden Ergebnisse (Färbung, Entstehung, Auftreten der Protophyten) auch bei Säugethieren zutreffen, so dürfte vielleicht, wenn auch nicht ganz in seiner ursprünglichen Bedeutung, aber doch etwas modificirt, Ehrlich's Satz zu Recht bestehen, dass bei der perniciosösen Anämie die Blutbildung in den embryonalen Modus umgeschlagen ist, so zwar, dass die normale Blutbildung darniederliegt, aber doch compensatorisch auf directem Wege Protophyten von kurzer Lebensdauer und unzweckmässigem Bau gebildet werden.

1) Wertheim, Zeitschr. d. Heilkunde. 12.

2) Müller, H. F., Archiv f. klin. Med. 51. 1893. Wiener Sitzungsberichte. XCVIII. 3. 1889.

3) Löwit, Prager med. Wochenschr. VIII. 1883, 1887. No. 21. Wiener Sitzungsber. 1883. LXXXVIII.

4) Bei v. Limbeck (Grundriss einer klinischen Pathologie des Bluts. 1892. S. 132) ist auch eine Ansicht erwähnt, die die kleinen „Lymphocyten“ (Leukoblasten) Vorläufer der grossen Lymphocyten (Leukoblasten) sein lässt.

5) Grawitz, a. a. O. S. 123, sowie Taf. I. u. II.

Zum Schluss Herrn Geh.-Rath Virchow meinen ehrerbietigsten Dank für das rege Interesse und die mannichfachen Unterstützungen, die er mir bei meiner Arbeit in so reichem Maasse zu Theil werden liess, sowie auch Herrn Professor Israel für seinen bewährten Rath, den er mir so oft und gerne lieth.

### Erklärung der Abbildungen.

Herstellung und Färbung der Präparate s. Text S. 605, 612, 620. — Der Farbenton der Bilder deckt sich nur bei *Rana esculenta* (Tafel XIII. A.) durchaus mit dem der Präparate, ist aber aus äusseren, leicht einzusehenden Gründen auch bei den Blutkörperchen der anderen Thiere durchgehends beibehalten worden. Helligkeit und Sättigung der Farben sind indess bei allen Abbildungen getreu wiedergegeben.

Vergrösserung: Zeiss Objectiv  $\frac{1}{2}$  homogen achrom. Ocular Huyghens 2. Tubuslänge 160 mm auf 250 mm Bildldistanz.

Die Figuren sind entworfen mittelst Zeichenapparat Abbé.

Es bedeuten die in den mit a bezeichneten Reihen stehenden Blutkörperchen: Protophyten, die in den mit b bezeichneten: Ennomophyten.

#### Tafel XIII.

Zeichentisch parallel 85 mm unterhalb des Objecttisches. Vergrösserung = 763.

##### A.

1 jugendlicher Protophyt *κατ' ἐξοχήν*. Cytoplasma röthlich, rund; Kern rund, hell, relativ gross. 2 jugendlicher Protophyt mit karyorrhektischem Kern. 3 jugendlicher Protophyt, Kern mehr oval, bläschenförmig mit wolkigen Stellen. 4 jugendlicher Protophyt, Kern bläschenförmig. — 5 typischer reifer Protophyt. 6 dasselbe mit mehr gestrecktem Kern. 7 dasselbe in Zwergform. 8, 9 reife Protophyten mit karyorrhektischen Kernen. 10 dasselbe. Der karyorrhektische Kern ist gequollen. — 11 alter Protophyt. 12 dasselbe mit mehr gestrecktem Kern. 13 dasselbe. Der pyknotisch-karyorrhektische Kern ist gequollen. — 14 jugendlicher Ennomophyt. 15 dasselbe, Cytoplasma und Kern mehr gestreckt. 16 dasselbe; Kern fast stäbchenförmig, Cytoplasma röthlich. 17 dasselbe. Kern karyorrhektisch, Cytoplasma sehr hell. — 18 ausgebildeter Ennomophyt, 19 mit mehr gestrecktem Kern, 20, 21 mit karyorrhektischen Kernen. 22 Kern karyolytisch. — 23 seniler Ennomophyt. 24 Kern absolut homogen, pyknotisch, 25 dasselbe, aber Kern gestreckt. 26 Kern karyorrhektisch, Cytoplasma polychromatophil. 27 Kern karyorrhektisch.

##### B.

1, 2 infantile Protophyten. 3 entwickelter Protophyt, 4 mit bläschenförmigem Kern. 5 seniler Protophyt. 6, 7 infantile Ennomophyten. 8, 9 entwickelte Ennomophyten. 10 seniler Ennomophyt.

## C.

1—3 Protophyten infantil, 4 entwickelt, 5 senil. 6—8 Ennomophyten infantil, 9, 10 entwickelt, 11 senil.

## D.

1, 2 mehr oder weniger ausgebildete Protophyten. 3 seniler Protophyt. 4—9 Zwischenformen zwischen jugendlichen und senilen Ennomophyten. 10 seniler Ennomophyt.

## E.

1 infantiler Protophyt mit sehr dunklem Cytoplasma. 2 entwickelter Protophyt polychromatophil degenerirt. 3 entwickelter Protophyt. 4 seniler Protophyt. 5 Ennomophyt mit zierlich strukturirtem Kern. 6 jugendlicher Ennomophyt mit polychromatophilem Zelleib. 7—10 mehr oder weniger entwickelte Ennomophyten. 11 entwickelter Ennomophyt mit riesigem Zelleib, 12 Kern pyknotisch, Zelleib sehr hell.

## Tafel XIV.

Zeichentisch in gleicher Höhe mit Objecttisch. Vergrößerung = 530.

## A.

1—4, 9, 10 jugendliche Zellen. 5, 11 beginnende Mitosen. 6, 12 entwickelte Mitosen. 13 ablaufende Mitose. 7, 14 typische gereifte Zellen. 8, 15, 16 senile Zellen.

## B.

1, 5 entwickelte Mitose. 2, 6, 7 ablaufende Mitose, deutliche sichtbare Sphären, Seitenansicht. 3, 8 ablaufende Mitose, deutliche sichtbare Sphären mit Ausnahme bei 3, Polansicht. 4, 9, 10 entwickelte Zellen. 11 karyolytische Form. 12, 13 senile Ennomophyten.

## C.

1 infantiler Protophyt mit äusserst schmalem Plasmasaum, polychromatophil. 2, 3, 7—9 infantile, schon weiter fortgeschrittene Formen. 4 beginnende Mitose, polychromatophil. 5, 6, 12—14 entwickelte Zellen. 15, 16 dem Senium sich nähernde Ennomophyten.

## D.

1—3, 7—9 infantile Blutzellen. 10 beginnende Mitose. 4, 5, 11, 12 entwickelte Mitose, bei 12 Sphäre sichtbar. 6, 13 entwickelte Blutzellen. 14 seniler Ennomophyt.