

des Zelleibes und der aus ihm entspringenden Fortsätze führten. Diese Untersuchungen sind aber sehr spärlich und meistens nicht mit genügender Sorgfalt ausgeführt. Es fällt besonders auf der Mangel an topographischen Angaben der Veränderungen in der Hirnrinde. Auch das was die Autoren als pathologisch bezeichnen, scheint nicht ganz einwandfrei zu sein. Besonders was die varicösen Anschwellungen betrifft, so muss ich bemerken, dass ich dieselben oft an meinen normalen Präparaten gesehen habe; allerdings wenn man die Varicositäten mit starken Vergrösserungen betrachtete, so erwiesen sich dieselben als aus einem feinkörnigen Niederschlag bestehend, welcher an einer Stelle den Fortsatz bedeckt hat. Dies habe ich auch an solchen Neuronen gesehen, deren Umgebung von Niederschlag ganz frei war.

Um zu sicheren Resultaten zu kommen, muss man an die Möglichkeit der Kunstprodukte immerfort denken, die cadaverösen Veränderungen ausschliessen und die gewonnenen Präparate nicht nur mit normalen vergleichen, sondern auch (was für die Pathologie von besonderem Werthe ist) die Präparate aus ganz verschiedenen Stellen einer und derselben Hemisphäre und aus symmetrischen Gebieten beider Hemisphären mit einander in Vergleich ziehen.

Ueber die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne.

Von

Prof. **W. Flemming** in Kiel.

(Die römischen Ziffern im Text beziehen sich auf die Citate in Anm. 3.)

In seiner soeben in diesem Archiv erschienenen Arbeit¹⁾ hat B. R a w i t z in einem besonderen Nachtrag einer Erscheinung gedacht, die wohl Jedem auffallen muss, der mit Chromosmiumessigsäure behandelte Präparate genauer untersucht, und die mir deshalb bekannt gewesen ist, seit ich dieses Reagens einführte²⁾:

1) B e r n h a r d R a w i t z, Centrosoma und Attractionssphäre in der ruhenden Zelle des Salamanderhodens. Dies Arch. Bd. 44, 1895, H. 4 S. 555.

2) Seit 1892 zeige ich in der Histologie alljährlich Präparate vom Salamanderhoden, wie die in Rede stehenden, um durch Ver-

dass nämlich an damit fixirten Stücken die Kerne in der Peripherie ein ganz anderes Aussehen haben als im Inneren, indem sie an ersterer Stelle nur die Nucleolen, an letzterer nur die Chromatingerüste deutlich zeigen. Eine specielle Beschreibung dieses Verhaltens habe ich deswegen für unnöthig gehalten, weil von vornherein klar war — was ja auch Rawitz annimmt — dass es sich dabei in der Peripherie um eine reine oder fast reine Osmiumsäurewirkung handelt, und weil ich das dafür in Betracht kommende Verhalten dieser Säure (und anderer ähnlich wirkender Reagentien) gegen den Zellkern schon vor längerer Zeit an mehreren Orten³⁾ ausführlich besprochen hatte. Da aber Rawitz jetzt die Osmiumwirkung auf die Kerne als eine „Zerstörung und Zertrümmerung des Kerngerüstes“ durch Osmiumsäure auffasst, möchte ich hier kurz darlegen, weshalb eine solche Deutung ausgeschlossen werden muss, und damit zugleich die Chromosmiumessigsäure gegen einen Vorwurf in Schutz nehmen, den sie nicht verdient.

Reine Osmiumsäurelösung macht, wie ich an den citirten Stellen gezeigt habe und wie es seitdem wohl allgemeiner bekannt sein wird, in den Kernen der meisten Zellenarten⁴⁾ ledig-

gleich der peripher und central gelegenen Kerne zu demonstrieren, dass im Kern durch die eine Reagentienwirkung nur die Nucleolen, durch die andere nur die Gerüste deutlich gemacht werden, während doch in beiden Fällen beide zugleich vorhanden sind. Denn dies ist der Sachverhalt.

- 3) I. Dies Archiv Bd. 16, 1879, S. 328—334, s. Abbildungen.
- II. Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung, 1882, S. 141, 100 und 176, Fig. C im Text, Fig. 29 Taf. II b.
- III. Dies Archiv Bd. 31, 1887, S. 84, Fig. 9.
- IV. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte von Merkel und Bonnet, 1894, Bericht üb. Lit. 1892—94, Zelle, S. 87.
- V. Mittheilungen zur Färbetechnik, Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie, 1884, S. 349, in welcher Arbeit die Wirkungen des stärkeren Osmiumgemisches zuerst näher mitgetheilt sind; mit Bezug auf die „Nucleolenwirkung“ besonders S. 352—353.

4) Es giebt Kernarten, bei denen es anders ist: als eine dieser Ausnahmen erwähne ich hier nur die Kerne der Säugethier-Ovarialeier, bei denen Osmiumsäure ausser den Nucleolen auch die Kerngerüste sichtbar lässt, und bei denen auch das Kalibichromat diese nicht so wie gewöhnlich schädigt. Für Beides siehe in Nr. II (Anm. 3 hier), S. 34 und 108.

lich die Nucleolen deutlich und zwar in grosser Schärfe, während die Kerngerüste nach ihrer Einwirkung ganz unkenntlich oder doch äusserst blass erscheinen und den meisten Chromatinfärbungen Widerstand leisten. Dass es sich aber hierbei keinesweges um eine Lösung, oder um irgendwelche sonstige Zerstörung der Kerngerüste handelt, habe ich schon 1882 bewiesen⁵⁾; es wurde dort ausführlich gezeigt, dass man durch Farbstoffe wie Hämatoxylin auch an solchen osmirten Kernen, die ohne Färbung nichts als die Nucleolen darbieten, zugleich auch noch grossentheils die Gerüste in blassem Ton sichtbar machen kann, welche sich bei anderer Fixirung wiederum in den gleichen Kernen ganz scharf darstellen. Alle Uebergänge zwischen den Bildern letzterer Art und den reinen Osmiumbildern findet man nun auch auf das Schönste, schichtweise geordnet, an Querschnitten der Peripherie von Salamanderhoden, die mit meinem starken Osmium-Gemisch behandelt und mit Kernfarbstoffen tingirt sind, und deshalb sind solche Präparate, wie ich hier im Anfang anmerkte, so instructiv dafür, dass Nucleolen und Gerüste im Kern coexistiren, auch wo einer oder der andere dieser beiden Bestandtheile durch die Behandlung unsichtbar gemacht worden ist. An einigen Objecten kann man den Beweis auch ohne Färbung führen, so z. B. bei den eigenthümlichen zeitweiligen Structuren der reifenden Eier von Amphibien, die ich in Nr. II, S. 133 ff. Fig. G, S. 134, beschrieb und die neuerdings mehrfach, von Rückert, Born u. A. näher untersucht sind; bei Osmiumfixirung oder solcher mit Osmiumgemisch stärkeren Grades sehen die Kerne auf den ersten Anschein hin ganz homogen aus, aber bei sehr gutem Licht und sorgfältigster Ausnutzung der Blende kann ein geübter Mikroskopiker darin, in zartester Zeichnung, noch wohl das Bild der quergebauten Chromosomenstränge erkennen.

Von einer Zerstörung des Kerngerüsts durch die Osmiumsäure haben wir also ganz abzusehen⁶⁾. Die Frage, wes-

5) Nr. II, S. 141—142, Fig. 29 *a, b, c*, Taf. II b. Es ist dort an drei nebeneinandergestellten Bildern von Kernen ganz gleicher Art, bei verschiedener Behandlung, einerseits die reine „Gerüstwirkung“, andererseits die reine „Nucleolenwirkung“ (Osmiumsäure), und drittens zwischen beiden die zarte aber ganz deutliche Darstellung der Kerngerüste gezeigt, die man an Präparaten letzterer Art noch durch Hämatoxylin (und auch andere Färbungen) erzielen kann.

6) Rawitz bezieht auf eine solche auch die Bilder der Spermato gonienkerne von Salamandra, die Meves gegeben hat und die

halb es durch diese Säure unkenntlich oder undeutlich gemacht wird, habe ich schon an einer der citirten Stellen näher erörtert ⁷⁾. Die Erscheinung wird danach zunächst darauf zu beziehen sein, dass der übrige Kerninhalt („Kernsaft, Kerngrundsubstanz“ ⁴⁾) durch diese Säure einen gleichen oder ähnlichen Brechungsindex bekommt, wie die Kerngerüste, und ich habe dort und später ⁸⁾ ja auch schon angegeben, dass diese Kerngrundsubstanz durch die Osmiumsäure (und auch durch manche andere Reagentien, so bei gewissen Chromsäurewirkungen) eine gleichmässig-feinkörnige Beschaffenheit erhält, habe kürzlich ⁸⁾ die Beziehungen dieser Körnung zu den später von Altmann angenommenen „Kerngranula“ erörtert, und darf für das Nähere wohl auf die angezogenen Stellen verweisen. Ob nun diese Körnung auf einer rein künstlichen Ausfällung, oder auf der Sichtbarmachung feinsten Granula und Netze in der Kerngrundsubstanz beruht, habe ich offen gelassen, und wie mir scheint muss man dies auch jetzt thun ⁹⁾, so sehr auch die Befunde Carnoy's, M. Heidenhain's, Reinke's und zum Theil auch diejenigen Altmann's ¹⁰⁾ es nahe legen können, eine Structur und die Präexistenz von Körnchen in der Grundmasse des Kerns anzunehmen; es ist trotzdem wohl noch nicht zu entscheiden, was in den Reagentien- und Färbungsbildern dieser Substanz in natura geformt war und was vielleicht erst durch die Behandlung erzeugt ist.

nichts von Kerngerüsten zeigen. Mit diesen verhält es sich jedoch ganz anders, wie ich aus eigener näherer Kenntniss dieser Objecte sagen kann: diese Kerne der Spermatogonien haben in der That, im Gegensatz zu denen der Spermatocyten, in der betreffenden Reifungsphase Gerüststructuren, welche zu zart sind, um bei Osmiumbehandlung erkennbar zu sein. Jeder Verdacht, dass es sich dabei um ein Artefact der Fixirung handeln könnte, wird dadurch beseitigt, dass an Präparaten, wie denen von Meves, die Kerne der Spermatocyten sowie auch die der Bindesubstanzzellen, die doch dicht an den Spermatogonien und mit ihnen bunt durcheinander liegen, also derselben Osmiumwirkung ausgesetzt waren, die deutlichsten Kerngerüste zeigen.

7) Nr. 1, S. 331 oben, s. auch S. 328—330; Nr. II, 176.

8) Nr. IV, S. 87 und die dort erwähnten Stellen.

9) Am eben citirten Orte. Es ist dort versehentlich in Anm. 1 auf S. 88 „erstere“ statt „letztere“ gedruckt.

Ich erinnere hierfür auch an die interessanten Versuche von Alfred Fischer (künstliche Ausfällung von Körnchen aus Eiweisslösungen durch Reagentien; Anatom. Anzeiger Bd. 9, 1894, S. 678).

10) Besprochen an den eben citirten Orten.

Die verschiedenartige Kernwirkung der Chromosmiumessigsäure an der Oberfläche und in der Tiefe eingelegter Stücke habe ich mir von jeher in folgender einfachen Weise erklärt ¹¹⁾: An der Peripherie giebt es reine Osmiumwirkung der oben gekennzeichneten Art; durch diese zuerst gehärtete Schicht geht von der Osmiumsäure, die ja bekanntlich überhaupt schwer eindringt, nur ein geringer Theil mit den beiden andern Säuren in's Innere weiter und diese Combination erzeugt dort die bekannten, schönen und scharfen Darstellungen der chromatinhaltigen Kernstructuren ¹²⁾. Will man diese letzteren möglichst durchweg haben, so wird man natürlich besser die schwächeren, schon in meinem Buch S. 381 angegebenen Gemische wählen, muss aber berücksichtigen, dass diese in grössere oder festere Stücke nicht hinreichend eindringen.

So sehr Recht Rawitz hat, wenn er das Kalibichromat ein „kernfeindliches“ Mittel nennt ¹³⁾, so wenig verdient nach dem Gesagten die Osmiumsäure diesen Namen; es müsste denn sein, dass jene durch sie bedingte feine Granulirung der Zwischenmasse im Kern, von der oben die Rede war, sich als eine künstliche Ausfällung nachweisen liesse. Auch dann aber würde die Osmiumsäure den übrigen Bestandtheilen des Kerns, den Gertisten und Nucleolen, nicht feindlich zu nennen sein, denn ihnen thut sie materiell kein Leid an ¹⁴⁾.

Kiel, 8. April 1895.

11) Vergl. dazu auch Nr. V S. 352—354. Ich habe hier natürlich die starken (stark osmiumhaltigen) Gemische im Auge.

12) Dass hierbei auch Osmiumsäure mit betheiligt sein muss, folgt daraus, dass ja diese Bilder nicht identisch mit denjenigen sind, welche man durch blosse Chromessigsäure erhält.

13) S. in No. I S. 334 ff. und das dort Citirte.

14) Auch für die Substanzen des Zellenleibes ist irgend ein formzerstörender Einfluss der Osmiumsäure wohl nicht erwiesen. Ich habe früher (Nr. II S. 24 ff., speciell S. 28) angenommen, dass bei den eigenthümlichen dort besprochenen, von v. Kupffer und mir beschriebenen Osmiumbildern der Leberzellen eine Contraction und Zusammenballung (keineswegs aber Zerstörung!) der Filarmasse im Spiel ist, und halte das auch jetzt nicht für ausgeschlossen, gebe aber Altman (Elementarorganismen I. Aufl. S. 56 ff.) völlig zu, dass es sich bei den stark „fadenleeren“ Bildern der Froschleberzellen nicht bloss hierum, sondern um besondere physiologische Zustände dieser Zellen handelt. — Dass durch Osmiumsäure Quellungen in der Interfilarmasse bewirkt werden könnten, soll hiermit nicht ausgeschlossen sein.
