

Fig. 7. Epithelsprossen einer centralen abgeschlossenen Epithelinsel der Froschcornea nach Hemmung der peripheren Epithelneubildung. a Abgeschnürte Epithelzelle. b Rand der Epithelinsel. c Hornhautgewebe. System 5, Ocular 3 Hartnack.

Fig. 8. Aus dem gleichen Präparat wie Fig. 7. a Verschmelzung von Epithelsprossen. System 7 und Ocular 3 Hartnack.

## XVIII.

### Epithelneubildung auf der Cornea.

Von Dr. F. A. Hoffmann in Berlin.

(Hierzu Taf. V.)

Der Erforschung des vorderen Corneaepithels sind schon eine Reihe von Arbeiten gewidmet worden, doch kann es nicht überraschen dasselbe immer wieder zum Gegenstande einer Abhandlung gemacht zu sehen, so lange die Kenntniss von der Epithelbildung und Epithelentzündung noch lückenhaft ist. Ich hatte mir zur Aufgabe gestellt mit Zuhülfenahme möglichst vieler und verschiedener Methoden das Verhalten des Vorderepithels nach Verletzungen zu studiren. Die vielen theils älteren, theils neuerdings aufgetauchten Streitfragen auf diesem Gebiete habe ich damit nicht zu einem definitiven Austrage bringen können, da ich nur soviel von positiven Resultaten aufzuweisen habe, dass ich mich begnügen muss, für bestehende Ansichten einige neue Gründe in die Waagschale zu legen.

Wenn man die Möglichkeiten erwägt, welche bei der Epithelbildung, wie die Sachen jetzt liegen, in Frage kommen ohne zu sehr in's Hypothetische abzuschweifen, so stellen sich fünf heraus.

#### I.

Ich beginne mit der von Arnold neuerdings <sup>1)</sup> aufgestellten Theorie, weil ich selbst lange Zeit gehofft hatte, die mir gestellte Frage durch directe Beobachtungen entscheiden zu können.

<sup>1)</sup> Dieses Archiv Bd. XLVI. Hft. 2.

Da Arnold seine Theorie wesentlich auf die directe Beobachtung des Regenerationsvorganges an noch lebensthätigen Geweben stützt, so gewinnt sie schon deshalb Anspruch auf die grösste Beachtung. Meine Untersuchungen von Hornhäuten, welchen ein Theil des vorderen Epithels abgeschabt war, haben mir nicht selten sehr ähnliche Bilder ergeben, wie er sie beschreibt: er sah eine feinkörnige Substanz in den Epithellücken, welche am Rande glasig wurde, in dieser glasigen Masse traten allmählich Furchungslinien auf.

Ich habe nun allerdings die Versuche von Arnold nicht stricte nachgemacht, ich habe mich bei allen meinen Experimenten und Beobachtungen lediglich auf die Hornhaut beschränkt und habe da immer nur verhältnissmässig kleine Epitheldefecte erzeugt, um die Entzündungserscheinungen möglichst zu beschränken. Die Resultate, welche ich auf diesem Wege erhielt, ergeben einige Gründe eine andere Art von Epithelzellenbildung auf der Cornea anzunehmen als die aus Protoplasma; wenn letzterer Bildungsmodus nur für sehr grosse Defecte in Betracht kommen sollte, so kann ich auf Grund meiner Versuche nichts dagegen sagen, ich habe vorläufig Abstand davon nehmen müssen dieselben so weit auszudehnen.

Wenn man durch irgend ein Instrument auf der Oberfläche der Hornhaut eine Substanzlücke erzeugt, so gibt man dadurch Anstoss zu zweierlei Vorgängen, zu entzündlichen und zu regenerativen. Diese liefern auch histologisch zwei Reihen von differenten Producten und es bietet keine geringen Schwierigkeiten, diese beiden Reihen aus einander zu halten. Die Schwierigkeit steigert sich noch dadurch ganz erheblich, dass Mischformen zwischen beiden Reihen entstehen, sie sind es ganz besonders, denen der von freien Flächen secernirte Eiter seinen Reichthum an Formen verdankt, und sie sind meist so complicirt gebaut, dass ihre Herkunft und Bedeutung nur in besonders glücklichen Fällen durchschaut wird.

Ich muss nun Arnold den Vorwurf machen, dass er der „epithelialen Eiterzellen“ und dieser Mischformen gar keine Erwähnung thut, dass er bei der Beurtheilung seiner Corneabilder der Entzündung nur in so fern gedenkt, als sie ihm das Gesichtsfeld mit Wanderzellen erfüllte. Dieser Punkt ist es wesentlich auf welchem meine Zweifel und Einwände beruhen.

Erzeugt man auf der Vorderfläche einer Froschhornhaut einen Defect, so kann man oft schon nach Stunden an dessen Rande

glasige Massen gelagert finden, welche bald Körnchen eingebettet enthalten, bald völlig hyalin erscheinen. Beobachtet man nun weiter in der feuchten Kammer, so sieht man in einer Reihe von Fällen allerdings scharfe Linien in ihnen auftreten und so scheinbar neue Zellen sich bilden, in anderen Fällen aber werden benachbarte Epithelzellen eben so hyalin und verschmelzen mit jenen grossen Massen. Ich hatte schon früher <sup>1)</sup> Gelegenheit dieses Vorganges zu erwähnen. Ein solches Verschmelzen kann man ganz einwurfsfrei auch an hyalin gewordenen auf der Vorderfläche isolirt lagernden Zellen beobachten, wenn deren zwei sich nähern und sich unter sonst günstigen Verhältnissen befinden. So können sehr grosse Klumpen entstehen, an denen man meist durch Zusatz von Essigsäure sehr schnell, langsamer aber eben so sicher durch Zuwarten die Epithelgrenzen wieder sichtbar machen kann, denn sie werden sichtbar, wenn die vielen Schädlichkeiten der feuchten Kammer einzuwirken beginnen: ebenso wie auch das ganz frische, normale Epithel nach einigem Aufenthalte in der feuchten Kammer die Grenzlinien der einzelnen Zellen hervortreten lässt, während es doch stets bei Beginn der Beobachtung als eine ganz formlose glasige Decke über der Hornhaut ausgebreitet liegt. Auf diese Weise wäre also ein Theil der hyalinen Massen auf der Vorderfläche einer entzündeten Hornhaut zu erklären, nemlich diejenigen, an welchen man durch Zusatz verdünnter Säuren bald mehr bald weniger exquisit eine Zusammensetzung aus wohl begrenzten, Kerne haltenden Zellen demonstrieren kann. —

Es gibt aber auch unzweifelhaft hyaline Massen, an denen absolut keine Structur mehr nachweisbar ist. Zu ihrer Erklärung führe ich einen Befund an, dessen erste Kenntniss ich Herrn Professor Cohnheim verdanke. Derselbe machte mich schon vor längerer Zeit auf helle Räume aufmerksam, welche man im Epithel der Froshornhäute mit grosser Regelmässigkeit findet, wenn man sie 24 Stunden vorher mit gewöhnlicher Essigsäure betupft hat. Die Massen sind unzweifelhaft zwischen die Epithelzellen eingelagert, dies beweisen ebensowohl Flächenansichten als Querschnitte, ihre Durchsichtigkeit wird oft beeinträchtigt durch Wanderzellen, welche in ihr Inneres eindringen und sie zuweilen ganz und gar erfüllen. Ihre Grösse wechselt ungemein, sie können so klein sein, dass sie

<sup>1)</sup> Inaugural-Dissertation. Berlin 1868. p. 9.

von nur zwei Epithelzellen begrenzt sind: man sieht in Fig. 6 zwei etwas aufgequollene mit den Rändern einer Fläche noch seitlich zusammenhängende in der Mitte derselben von einander abgedrängte Zellen; durch verschiedene Einstellung und Umwälzen der beiden isolirten Zellen konnte man sich überzeugen, dass diese mittlere Höhlung nirgends mit einer sichtbaren Oeffnung mündete.

Solche Formen würde ich also für die kleinsten halten, man muss sich hüten sie nicht mit intracellulären Vacuolen zu verwechseln; sie können aber so gross werden, dass man sie mit Hartnack S. 4 bequem beobachten und mit Nadeln von den umliegenden Zellen befreien kann. Man kann sich dann leicht überzeugen, dass sie aus einer flüssigen Masse bestehen, welche mit Leichtigkeit in die verschiedensten Formen eingepresst werden kann, doch nicht ganz aus einander fließt, sondern die Cohärenz sehr weicher Gallerte besitzt.

Wenn man diese Massen ganz frei von Wanderzellen findet, und es gelingt das meist nur mit kleineren von ihnen, so kommt man zunächst auf den Gedanken, dass sie Transsudate sein mögen, zwischen die Epithelien ergossen; wenn sich zahlreiche Eiterzellen darin befinden, so glaubt man es mit mikroskopischen Abscessen zu thun zu haben. Dagegen finden wir keinen Anhaltspunkt dafür, hier an ein Protoplasma zu denken, aus welchem neue Zellen hervorgehen könnten: von Bewegungen, von Abschnürungs- oder Furchungsvorgängen wurde an ihnen nie etwas beobachtet, sie bilden sich gerade dann am schönsten, wenn man recht energische Entzündung erregt, denn nach solchen Essigsäurebepinselungen pflegt die Eiterung auf der Hornhaut der Frösche länger als vierzehn Tage anzuhalten. Ich glaube demnach nicht, dass man diesen Befund auf eine besondere Weise zu deuten hat, sondern mit denen in Parallele zu stellen, welche man bei anderen Entzündungen auch findet. So sieht man aus pleuritischen Ergüssen sich ebenfalls colossale Gallertklumpen abscheiden und findet unter Vesicatorblasen eine gallertige Flüssigkeit abgesondert.

Da die Gerinnungsphänomene in solchen Exsudatflüssigkeiten durch den Einfluss der Luft ganz besonders begünstigt werden, so kann es nicht Wunder nehmen, wenn uns auch an der Vorderfläche der Froschhornhaut diese Transsudate beim Zerzupfen mit Nadeln nicht mehr ganz flüssig, sondern schon leicht gallertig erscheinen:

gerade die grössten Anhäufungen derselben liegen so, dass nur noch eine Schicht ganz grosser, platter Zellen sie von der Oberfläche abschliesst und man muss oft erst zur Behandlung mit Arg. nitric. seine Zuflucht nehmen, um dies zu erkennen. So begreift man aber auch, wie diese Massen unter günstigen Umständen wirklich ganz frei bis zur Oberfläche reichen können, sie werden frei durch Abstossung der obersten Zellschicht, wie dies bei solchen Entzündungsvorgängen leicht stattfindet; wenn sie dann zwischen den tieferen Zellen noch fest genug sitzen um nicht gleich herauszufallen, so können sie als hyaline, in einen Epitheldefect abgesetzte Protoplasmamassen wohl imponiren.

Dieser beiden Täuschungsquellen thut nun Arnold gar keine Erwähnung, ich würde es aber doch nicht wagen, sie gegen seine positiven Beobachtungen vorzubringen, wenn ich nicht auch positive Beobachtungen gemacht hätte, und zwar solche, welche mit der Arnold'schen Theorie ganz und gar nicht in Einklang zu bringen sind, und von denen weiter unten die Rede sein wird.

Hier will ich nur noch eine dritte Modalität anführen, wie hyaline Massen auf die Vorderfläche der Hornhaut und in Epitheldefecte gelangen können, jedoch nur des Anschlusses wegen, denn sie sind von zu geringem Umfange, als dass auf sie die Schilderung Arnold's passen könnte. Bei einer etwas intensiven Entzündung der Cornea, wie man sie durch Betupfen mit Essigsäure hervorbringt, bekommt man bekanntlich in den Epithelzellen zahlreiche Vacuolen, deren Entstehung bis jetzt immer noch unklar ist. Am einfachsten erscheint die Erklärung, dass Flüssigkeit in das Innere der Zellen aufgenommen hier sich in Gestalt eines Tropfens ansammle. Vom Kern sind diese Vacuolen nicht gebildet, da man denselben oft daneben in der Zelle sieht. Es gelang mir einige Beobachtungen zu machen, welche dafür sprechen, dass unter Umständen der Inhalt von Zellen dieselben verlassen kann und es mögen manche der Vacuolen auch auf solche Weise sich bilden. Man sieht in Fig. 1 a eine grosse Rundzelle mit Andeutung eines Kernes und einer Vacuole. Bei der ganz frisch angestellten Beobachtung sprach die Bewegungslosigkeit und der Ort der Beobachtung für Epithelzelle. In der Vacuole, an der einen Seite aus derselben hervorragend, war eine hyaline Masse sichtbar, welche sich allmählich aus der Vacuole herausbewegte, nach einer Stunde nahm sie

die Lage ein, welche die punctirte Linie andeutet, ein weiterer Fortschritt wurde nicht beobachtet. Solche Massen fanden sich auch freiliegend und es liegt nahe, sie mit ähnlichen von Rindfleisch beschriebenen zu identificiren <sup>1)</sup>. Freilich fanden sich nicht Anhaltspunkte, die Entstehung von Eiterkörperchen von ihnen abzuleiten. Es können nun offenbar sehr kleine und sehr grosse Stücke des Zellinhalts auf solche Weise sich abspalten und Selbständigkeit gewinnen, unter Umständen gewiss auch der ganze Inhalt, denn man findet unter den Zellen von der Hornhautoberfläche grosse blasige Gebilde, welche beim Wälzen grosse Löcher in der Wandung zeigen und völlig den Eindruck leerer Schalen machen; diese halte ich für Reste von Epithelzellen, deren Inhalt vollständig ausgetreten ist.

Von Experimenten, welche die Entstehung von Epithelzellen aus einem formlosen Protoplasma stützen, sind offenbar auch die Zinnoberversuche Arnold's bedeutungsvoll, diese Versuche sind von verschiedenen Beobachtern mit dem gleichen Resultate angestellt worden. Diejenigen, welche P. Langerhans und ich veröffentlicht haben <sup>2)</sup>, sind genau in demselben Sinne ausgefallen. Ich habe später wieder durch die Sclera Zinnober in die vordere Augenkammer des Frosches gebracht und regelmässig nach 7—14 Tagen in den Zellen des Vorderepithels Körnchen davon wiedergefunden.

Diese Versuche sind sehr zu Gunsten von Arnold's Theorie: ein irgendwoher ergossenes Protoplasma kann leicht die freien Körnchen einschliessen, diese Erklärung ist so ungezwungen, dass sie für sich einnehmen muss. Zu verwerthen sind die Experimente doch aber auch für die Entstehung von Epithel aus den fixen Bindegewebskörperchen, denn in sie gelangt auch der Zinnober bei diesen Versuchen oft massenhaft, für die Entstehung aus Wanderzellen kommen sie deshalb nicht in Betracht, weil ja dasselbe Resultat sich auch nach Zinnoberinjection in's Blut constatiren lassen müsste, danach aber stets vermisst wird. Am aller entschiedensten scheint das Experiment gegen die Entstehung der Epithelzellen aus anderen Epithelzellen zu sprechen, doch wird es nöthig werden diesen Punkt weiter unten noch einmal zu berühren.

<sup>1)</sup> Dieses Archiv Bd. XXI. S. 494 unter No. 1.

<sup>2)</sup> Dieses Archiv Bd. XLVIII.

## II.

Nachdem ich auf Grund der obigen Versuche und Beobachtungen mancherlei Zweifel gegen Arnold's Auseinandersetzungen geschöpft hatte, kam ich auf den Gedanken, es möchte das Epithel sich durch Auswachsen von den Nerven her regeneriren, wie dies Pflüger für die Speicheldrüse aufgestellt hat. Ich kam darauf durch folgende Beobachtungen.

Bei den Vorstudien, welche ich über den Bau des normalen Epithels machte, zog ich Behufs der Herstellung von Isolationspräparaten Chromsäurelösung von  $\frac{1}{30}$  pCt. in Anwendung. Die eigenthümlichen Gerinnungen, welche dabei in den Zellen, besonders in den Kernen auftreten, beschreibe ich nicht, da sie mir keinerlei weitere Schlüsse gestatten. Unter den Zellen, welche man 24 Stunden nach Einwirken dieses Reagens isoliren kann, wird man fast immer einige erhalten, in welchen eine feine Faser, sei es von der äusseren Zellwand, sei es vom Zellkerne aus verläuft und der Zelle so fest angeklebt ist, dass man sie durch keine der gewöhnlichen Bewegungen oder Reagentien von der letzteren trennen kann. Diese Fasern waren zum Theil so fein, dass sie nur durch ihre trüb graue Farbe mit Hartnack S. 7 Oc. 3 noch sichtbar waren. Man konnte bei genauerer Verfolgung dieselben häufig mit anderen zusammenhängend finden, oft schienen sie von dickeren Stämmen abzugehen. Andere waren entschieden dicker und kürzer, zeigten auch oft einen mehr glänzenden Habitus, manche dieser letzteren waren doppelt so lang wie die Zelle und oft sehr plump gestaltet, manche wieder nur wie kurze der Zelle aufsitzende Stacheln. Mit Hülfe der 33procentigen Kalilauge waren ganz ähnliche Fasern zu finden, aber alle Versuche sie weiter zu verfolgen, misslangen.

Da mir nun die Möglichkeit nahe zu liegen schien, man könne es hier mit Nervenendigungen in Epithelzellen zu thun haben, so versuchte ich Färbungen mit Ueberosmiumsäure und Goldchlorid.

Besondere Hoffnungen setzte ich auf das Goldchlorid, welches ich ausschliesslich auf Kaninchenhornhäute anwandte. In gelungenen Präparaten konnte man die Nervenfasern an der Uebergangsstelle von Corneagewebe in das Epithel in so colossaler Menge verlaufen sehen, dass eine Endigung wenigstens eines Theiles derselben in Epithelzellen ein beruhigender Aufschluss über ihren Verbleib ge-

wesen wäre; die Zahl der Fädchen, welche die obersten Epithelschichten erreicht, beträgt höchstens den dritten Theil der Zahl, welche man dicht unter dem Epithel verlaufen sieht.

Da die untersten Epithelschichten sich mir bei der Vergoldung unter Essigsäureanwendung sehr häufig mit einem dichten körnigen Niederschlage erfüllten, welcher das Bild sehr trübte, so zog ich die Milchsäure vor. Wenn man eine Kaninchenhornhaut in Goldchlorid von  $\frac{1}{2}$  pCt. legt, so wird sie schnell undurchsichtig und zwar, weil das vordere Epithel sich trübt; dasselbe wird sehr langsam von der Goldlösung durchtränkt. Nach etwa 40 Minuten kommt aber ein Zeitpunkt, wo auch diese Schicht einen deutlichen Stich in's Gelbe angenommen hat und etwas durchscheinender geworden ist. Jetzt ist es Zeit, das Präparat in ein Gefäß mit Wasser zu legen, welchem man einen Tropfen reine Milchsäure zugesetzt hat, nach 48 Stunden ist eine schöne Nervenfärbung vorhanden, das Epithel ist durchsichtig und frei von Niederschlägen geblieben, nur die Färbung der fixen Hornhautkörperchen ist oft wenig befriedigend, ein Umstand, welcher für meine Zwecke nicht von Bedeutung war. Lässt man ein Präparat länger als angegeben im Goldchlorid liegen, so nimmt das Vorderepithel eine hellgelbe völlig undurchsichtige Farbe an, man kann dann stets eines schlechten Vergoldungsergebnisses sicher sein.

Weder feine Schnitte noch Zerpupungspräparate, welche letztere man nach mehrtägiger Maceration in  $\frac{1}{8}$  pCt. Chromsäure auch von Goldpräparaten mit Leichtigkeit herstellen kann, zeigten irgend eine gefärbte Faser in eine Zelle eintreten <sup>1)</sup>. Seitdem Lipmann in die Sternzellen der Hornhaut äusserst feine Fädchen verfolgte, welche er für nervöser Natur erklärt hat, ist es nöthig zur Erledigung der Frage von Nervenendigung in Zellen auf viel minutiösere Verhältnisse aufmerksam zu sein, als sie die Cohnheim'schen Nervenendigungen darbieten — diese sind mit Hartnack S. 7 sehr gut zu verfolgen, jene erheischen viel stärkere Vergrösserungen. Es stand

<sup>1)</sup> Um mich vor dem Einwande zu schützen, als habe ich eine unvollkommene Nervenfärbung in Folge einer schlechteren Methode erhalten, muss ich bemerken, dass ich dieselben reichlichen Nervenfäserchen unter dem Epithel wie bei Anwendung von Essigsäure fand, dass ich die Milchsäure erst gegen Ende der Untersuchung anwandte und sie nur für Epithelien aus dem angeführten Grunde der Essigsäure vorziehe.



mir zu dem Behufe ein grosses Gundlach'sches Mikroskop mit dem Immersionssystem 6 zu Gebote. Dass die Kernkörperchen der Epithelzellen sich meist auffallend dunkel färbten, war leicht zu sehen, in seltenen Fällen schien auch eine feine Faser von einem solchen oder doch sicher vom Kerne aus durch die Zelle sich hinzuziehen, ja sie war zuweilen bis an den Rand zu verfolgen, dann hörte aber die Möglichkeit jeder weiteren sicheren Unterscheidung in dem Gewirre von Nervenfasern und Zellgrenzen auf. Für eine nervöse Natur der Fasern konnten jedoch keine weiteren Gründe gefunden werden. Meist endeten dieselben noch in der Zelle, constant an allen Zellen auch nur einer Schicht waren sie nie zu finden, ihre Färbung war in Goldpräparaten nie eine so exquisit blauschwarze, wie sie die sicheren Nervenfasern zeigen, sondern mehr eine weinrothe. Die Isolationspräparate zeigten nie eine bemerkenswerthe Beziehung zwischen ihr und den nächsten Nervenfädchen: kurz ich muss sie für nicht nervöser Natur erklären. Viele der feinen durch Chromsäure erhaltenen Fädchen gehörten wohl nur den bekannten Gerinnungsbildern an; für die dickeren Zellausläufer, sowie für die im Innern der Zellen verbleibenden Fädchen wird sich weiterhin eine andere Deutung ergeben. Mit Ueberosmiumsäure habe ich sehr schöne Härtungen aber nie Nervenfärbungen in der Hornhaut erhalten.

In Folge dieser, sämmtlich an normalen Hornhäuten gewonnenen Resultate hegte ich zuerst die Hoffnung, dass unter den günstigeren Verhältnissen, welche eine sehr reichliche pathologische Zellproliferation liefern, der Zusammenhang von Nerven mit Epithelzellen gefunden werden könne. Es wurde das Epithel auf verschiedene Weise, meist durch Schaben mit dem Messer entfernt und so ein mit blossen Auge eben sichtbarer flacher Substanzverlust gesetzt. Die oben angegebenen Methoden wurden wieder angewendet, aber sie liessen auch an den entzündeten Hornhäuten im Stich. Zwei Schwierigkeiten stellten sich dabei ihrer Anwendung entgegen. Die eine: die ungemeine Hinfälligkeit eines entzündeten Epithels, fast nur an absolut frischen und in Humor aqueus beobachteten Präparaten kann man die Zellen so sehen wie sie sind, jede Aufbewahrungsflüssigkeit verdirbt das Bild und vermehrt nur die zahlreichen Täuschungsquellen. Die andere Schwierigkeit ist die, dass man im entzündeten Epithel meist gar keine Nervenfärbung

erhält, ich musste mich daher begnügen, die Goldmethode nur auf Hornhäute anzuwenden bei denen das Stadium der acuten Entzündung, welches dem Abtragen des Epithels folgte, schon vorübergegangen war, ein Zeitpunkt, welcher sich natürlich je nach der Stärke des Eingriffs sehr verschieden stellt. Dagegen zeigte sich bald, dass ein entzündetes Epithel ausgezeichnet geeignet sei, um Isolationspräparate herzustellen und jene Ausläufer, welche ich mit Chromsäure nur mühsam hatte finden können, zeigten sich mir jetzt in zahlreichen nur mit Humor aqueus angefertigten Präparaten. Während ich nun immer noch suchte, vielleicht an solchen Zupfpräparaten einen Zusammenhang der Zellausläufer mit deutlichen Nervenfasern zu demonstrieren, zeigte sich etwas mich zunächst sehr Ueberraschendes, nemlich ein Zusammenhang dieser Ausläufer mit anderen Zellen. Da ich damit jeden positiven Anhalt verloren hatte, die Pflüger'schen Ideen auf das Corneaepithel zu übertragen, so wandte ich mich den Theorien zu, welche Zelle aus Zelle entstehen lassen.

### III.

Sobald man sich zu dem Grundsatz *omnis cellula e cellula* bekennt, ergeben sich ohne Weiteres drei Möglichkeiten: es entsteht die neue Epithelzelle aus der Wanderzelle, aus der fixen Bindegewebszelle oder aus der alten Epithelzelle selbst. Ehe ich diese nun genauer gegen einander halte, will ich den eben angedeuteten Befund von zusammenhängenden Zellen näher beschreiben.

Da es mir vor allen Dingen wünschenswerth schien, möglichst wenig Wanderzellen in meinen Präparaten zu erhalten, so schabte ich nur im Centrum einer Frosch- oder Kaninchenhornhaut das Epithel ab, so dass eben mit blossen Auge der Defect sichtbar war. In den folgenden Tagen entstand nur eine sehr geringe Trübung der Stelle, und man konnte sehr leicht aus dem gelockerten Epithel Zellen isolirt erhalten und frisch in Humor aqueus untersuchen, es fanden sich dabei Formen mit Ausläufern, bald feineren bald dickeren, die Zellen selbst bald ganz rund bald mehr eckig, selbst noch deutlich platte darunter. Fig. 7 zeigt solche Ausläufer an Zellen, welche noch in ganz charakteristischem Zusammenhange mit anderen Epithelzellen stehen. Bald zeigte sich bei genauerem Nachsuchen, dass in einzelnen der Ausläufer ein kernartiges Gebilde sass.

Diese Art von Zellen war zufällig einmal in einem Präparat so zahlreich vertreten, dass ich Carmin hinzusetzte, wobei einzelne der Kerne in den Ausläufern sich dunkler färbten als die Zellsubstanz, die meisten aber nicht. In Fig. 2 a ist eine solche Zelle abgebildet, in welcher der Kern im Ausläufer schon deutlich hervortritt. Von dieser Form nun bis zu der, welche ich in Fig. 2 c abgebildet habe, gab es verschiedene Uebergänge. 2 c zeigt den sehr seltenen Fall, dass beide zusammenhängende Zellen noch ganz charakteristisch eckig gestaltet sind, oft war die eine, meist beide mehr abgerundet, wie dies Epithelzellen unter solchen Umständen gewöhnlich sind. Fig. 2 b zeigt eine zweikernige Epithelzelle, welche jedoch nicht sehr häufig zu finden ist, wie dies schon andere Beobachter hervorgehoben haben. Das hier dargestellte Exemplar ist etwas in die Länge gezogen und genetisch offenbar mit 2 c nahe verwandt. Wenn nun auch zweikernige Epithelzellen meist etwas anders gestaltet sind, so scheint mir doch diese Uebergangsform darauf hinzudeuten, dass auch deren Entstehung entsprechend aufzufassen sei. — Es kann Niemand Wunder nehmen, dass ich beim Vergleichen der drei Figuren 2 mich der alten Theorie von der Epithelzellentstehung aus präexistirenden Zellen zuwandte, um mit Rücksicht darauf weiter zu experimentiren. Ich wusste mir nun nicht besser zu helfen, als die Methode des Ausschliessens einzuschlagen. Wenn hier Gründe vorlagen, an eine Entstehung von Zellen aus Zellen zu denken, so konnte dies eben aus Wanderzellen, aus fixen Bindegewebskörperchen und aus Epithelzellen stattfinden.

Ich wende mich zuerst der Frage zu, ob die Epithelzellen wohl aus den fixen Bindegewebszellen entstehen möchten.

Es lag nicht fern, die Möglichkeit in's Auge zu fassen, ob die von mir beschriebenen Zellausläufer mit denen von fixen Bindegewebskörperchen zusammenhängen. Ein Bild, welches diesen Gedanken wohl unterstützen kann, zeigt Fig. 5. Man sieht, wie von einer in der vorletzten Zellschicht gelagerten Epithelzelle ein Ausläufer zwischen die unterste Schicht hineinragt, es könnten solche Ausläufer mit denen von Bindegewebszellen zusammenhängen und damit wäre jede Schwierigkeit gehoben. Etwas Aehnliches hat C. O. Weber abgebildet, man vergleiche dieses Archiv Bd. XV. Taf. X. Fig. 2. Man sieht wohl charakterisirte Epithelzellen mit sternförmigen Körperchen im Zusammenhange. Leider ist es mir

nie gelungen ein solches Bild zu Gesicht zu bekommen, es würde wenig Schwierigkeiten haben, meine sonstigen Befunde damit in Einklang zu setzen <sup>1)</sup>.

Da der negative Befund jedoch wenig befriedigen kann, so betrat ich noch einen anderen Weg, freilich mit ebenso geringem Resultate, aber doch als Controle nicht werthlos. Langerhans und ich haben gezeigt, dass wenn man Thieren Zinnober in's Blut spritzt, derselbe 21—25 Tage später in den fixen Zellen der unverletzten Hornhaut gefunden werden kann, entstanden nun Epithelzellen aus diesen, so durfte man hoffen, später (30—50 Tage) nach der Injection denselben Zinnober in Epithelzellen zu finden: die darauf speciell hingerichteten Experimente sind völlig negativ ausgefallen, wie auch schon aus der oben citirten Arbeit selbst hervorgeht.

#### IV.

Es hat verhältnissmässig geringe Schwierigkeiten alle Zweifel wegen der Wanderzellen zu beseitigen, Arnold hat ausserdem die einschlägigen Gründe so discutirt, dass ich auf seine Arbeit einfach verweisen kann.

Jedoch bringen die Wanderzellen im Epithel eine Reihe von auffallenden Zellcombinationen hervor, welche besprochen zu werden verdienen, theils weil sie noch wenig bekannt zu sein scheinen, theils weil sie Gelegenheit zu Raisonnements gegeben haben, welche von grossem theoretischem Interesse sind <sup>2)</sup>.

Nicht selten kann man beobachten, wie eine Wanderzelle ein rothes Blutkörperchen aufnimmt, es ergeht demselben meist schlimm in der Umarmung. Die gelben Scheiben wurden gewöhnlich in einige kleinere Theile getheilt, hierhin und dahin gewälzt und sahen als tief rothbraune Kügelchen bis zur Grösse eines rothen Blutkörperchen des Menschen den ursprünglichen ovalen Körpern gar nicht mehr ähnlich, obwohl sie unzweifelhaft von ihnen herstammten. Mit den Epithelzellen können die Wanderzellen offenbar nicht so umspringen. Sie umgeben allerdings eine ziemlich grosse noch

<sup>1)</sup> Nach neueren Untersuchungen scheint es möglich, dass die Bilder Weber's auf einer Täuschungsquelle beruhen, vergl. P. Langerhans: Ueber die Nerven der menschlichen Haut, dieses Archiv Bd. XLIV. S. 325.

<sup>2)</sup> Die folgenden Beobachtungen beziehen sich nur auf den Frosch.

eckige und platte Zelle und schleppen sie mit sich umher, öfters haben sie dabei merkwürdigerweise eine vollkommene Ringgestalt, obwohl diese doch zur Gestalt der Epithelzelle gar nicht passt. Allmählich wird die Epithelzelle im Innern des Ringes rund (wie dies auch den freiliegenden geschieht), füllt denselben völlig aus, und so erhält man eine eigenthümliche Form von Doppelzelle, welche leicht falschen Hypothesen einen Anknüpfungspunkt bieten könnte. Fig. 1 b stellt die erstere Form dar, welche sich bei einstündiger Beobachtung in 1 c verwandelt hatte und noch später als 1 d erschien. Bald ist die Wanderzelle im Stande die Epithelzelle ganz einzuhüllen, bald bleibt ein Theil der letzteren frei und so entstehen die verschiedensten Grade von Invagination. Es mag ebenso häufig sein, dass sich die Ringe erst um die rund gewordene Epithelzelle bilden: einmal habe ich die Bildung der beschriebenen Doppelzelle unzweifelhaft auf diesem Wege geschehen sehen.

Noch seltsamer fallen natürlich die Bilder aus, wenn eine Wanderzelle eine Zelle mit Ausläufer umgibt, der letztere ragt dann hervor und man bekommt Figuren, welche ganz für eine endogene Zellbildung zu sprechen scheinen, wo die Tochterzelle im Begriffe ist aus der Mutterzelle hervorzubrechen.

Eine weitere Complication wird nun dadurch herbeigeführt, dass ebenso gut Wanderzellen in Epithelzellen hineingelangen können als umgekehrt.

Sehr häufig bekommt man nach dem Betupfen mit Essigsäure am zweiten und dritten Tage in den Vacuolen der Epithelien bewegliche Körperchen ganz den Eiterkörperchen gleich, welche für eine endogene Eiterbildung in Epithelzellen zu sprechen scheinen <sup>1)</sup>. Diese Gebilde sind jüngst von Oser <sup>2)</sup> zum Gegenstande der Discussion gemacht worden. Auch mir ist es, so wie jenem gelungen, das Ausschlüpfen der beweglichen Zellen aus der scheinbar geschlossenen Vacuole zu beobachten <sup>3)</sup>, aber wenn ich den Thieren vorher Zinnober in's Blut injicirt hatte, so enthielten öfters auch diese Zellen in den Hohlräumen Körnchen des Farbstoffs und end-

<sup>1)</sup> Rothe Blutkörperchen kamen bei diesen Experimenten nicht in den Vacuolen vor. Vgl. aber E. Wagner, Arch. d. Heilkunde 1869. H. 4.

<sup>2)</sup> Stricker, Studien. Wien 1869.

<sup>3)</sup> Es verdient wohl erinnert zu werden, dass Sick zuerst diese Beobachtung gemacht hat.

lich hatte ich auch das Glück eine solche Farbstoff haltende Zelle ausschlüpfen zu sehen. Da diese Beobachtung an einem völlig isolirten Exemplare gemacht worden ist, welches ich vorher mannigfach hatte drehen und wenden können, so ist an keine Täuschung durch Anliegen zu denken. Oser gibt nun zu, dass solche scheinbar endogene Zellbildung vorkommen könne, nimmt aber auch eine wirkliche an, weil er aus der Substanz der Epithelzelle Theile sich habe abgrenzen sehen. Ich habe schon oben Gelegenheit gehabt, von diesen abgegrenzten Theilen zu handeln <sup>1)</sup>: dieselben sehen eben hyalin aus, sind sehr wenig beweglich, ändern Ort und Form nur höchst träge, auch scheint es nach der mitgetheilten Beobachtung als könnten sie die Epithelzelle verlassen ohne eine Spur von den Eigenschaften der ächten Wanderzellen zu haben und so liegt in den Schlüssen Oser's immer noch ein Sprung: wie gewinnt ein abgegrenztes Stück Epithelprotoplasma die Eigenschaften einer ächten Wanderzelle? Wenn diese Lücke durch directe Beobachtungen ausgefüllt werden kann, dann ist die endogene Zellbildung bewiesen.

Doch um von dieser Abschweifung wieder auf die Epithelbildung zurück zu kommen, so glaube ich, wie schon bemerkt, nichts Wesentliches den Ausführungen Arnold's hinzufügen zu können, welche die Entstehung aus Wanderzellen abweisen.

## V.

So ist denn endlich die Theorie von der Epithelzellenbildung aus präexistirenden Epithelzellen übrig geblieben und für sie sprechen die von mir beigebrachten positiven Facta am meisten, so dass ich nicht nöthig habe, eine neue Hypothese zu schaffen, höchstens die alte in einigen unbedeutenden Punkten zu modificiren.

Reizt man das Epithel einer Hornhaut in geringem Grade und betrachtet es nach 1 bis 3 Tagen in continuo (von frischen Kaninchenhornhäuten sind ausreichende Flachschnitte leicht anzufertigen), so sieht man überall zwischen den Epithelzellen verbreitet sehr hellglänzende Körperchen, welche meist eine sehr verzogene scharf eckige Gestalt haben. Es sind dies zwischen die Epithelzellen eingepresste Wanderzellen. Ihr sehr charakteristisches hellglänzendes

<sup>1)</sup> cf. Fig. 1 a.

vieleckiges Aussehen haben sie aber nur an ganz frischen Präparaten. Lässt man sie etwas länger liegen, so werden sie granuliert und ihre Gestalt nähert sich der kugligen an, ihre Lage ist nicht mehr rings von Epithelzellgrenzen bestimmt, und sie erscheinen gar nicht so scharf zwischen deren Mosaik eingekeilt, wie im Anfange: offenbar lockert sich das Gefüge der Epithelien, die beweglichen Körperchen bekommen mehr Luft und können sich ungezwungener ausbreiten. So haben also die Wanderzellen zwischen den Epithelien einen sehr charakteristischen Habitus, welcher gestattet sie an frischen Präparaten jederzeit leicht zu erkennen.

Wenn man nun aber die erwähnten Flächenansichten noch etwas genauer durchmustert, so wird man zwischen den grossen eckigen Zellen eingeschaltet kleine Polygone erblicken, schwer am ersten und zweiten Tage, häufiger schon am dritten und vierten. In diesen kleinen Polygonen tritt meist auch bei längerem Zuwarten, wenn Epithelzellen und Wanderzellen schon Kerne deutlich sichtbar werden lassen, kein Kern hervor, ihre Substanz bleibt aber ganz so hyalin, wie die der Epithelien und wird in keiner Weise granuliert, ihre Begrenzung bleibt stets scharf und eckig. Sie können also mit Wanderzellen durchaus nicht verwechselt werden. Dabei treten sie in immer grösserer Zahl hervor, wenn die Entzündungserscheinungen sich zurückbilden und die Zahl der Wanderzellen spärlicher wird, am zehnten, zwölften, vierzehnten Tage begegnet man ihnen oft in überraschender Anzahl, so dass die grossen Epithelzellen durch sie weit aus einander gedrängt erscheinen. Fig. 3 stellt ein solches Bild dar, welches man sich in continuo über die ganze Vorderfläche der Cornea fortgesetzt denken darf. Es fragte sich nun, ob dies junge Epithelzellen seien, und meine Isolationspräparate brachten mich auf den Gedanken an Ausläufer von Epithelzellen tieferer Schichten. Ueber diese Ansicht mussten Querschnitte entscheiden. Ich darf wohl gestehen, dass es mir die schwerste Aufgabe gewesen ist, hierfür beweisende Bilder zu gewinnen. Es stellte sich heraus, dass genaue Querschnitte für diesen Zweck so gut wie gar nichts leisten, am besten sind Schrägschnitte; auch habe ich nur ein ganz befriedigendes Härtungsmittel aufgefunden: die Ueberosmiumsäure. Die Hornhäute von Kaninchen eigneten sich am besten, wenn sie 24 Stunden in  $\frac{1}{4}$  pCt. Ueberosmiumsäure gelegen hatten. Es zeigte sich an diesen mit Sicherheit, dass Fortsätze und Ausläufer

von Zellen tieferer Schichten zwischen diejenigen höherer hinaufzugen. Fig. 4 und 7 zeigen solche Bilder, die letztere Figur zeigt eine solche Zelle mit zwei Aesten und mehreren Kernen, ein ebenso seltener als überraschender Befund.

Alle diese Resultate sind an Hornhäuten gewonnen, welchen 10 bis 20 Tage früher ein Theil des Epithels durch Schaben abgestreift worden war, ich habe es nur beiläufig versucht, an normalen Hornhäuten Aehnliches zu finden, und ich glaube dass dies nicht viel mehr Schwierigkeiten hat. Da ich aber aus normalen Hornhäuten niemals Zellausläufer mit Kernen bis jetzt isoliren konnte, so glaube ich diese Untersuchungen verbesserten Methoden und einer vollendeteren Technik überlassen zu müssen und beschränke mich in dieser Arbeit lediglich auf die Erscheinungen an gereizten Hornhäuten.

Was aber die Neubildung von Epithelzellen der Hornhaut nach Traumen anlangt, so glaube ich an diesen Resultaten eine hinreichende Basis zu folgender Anschauungsweise gewonnen zu haben: Das neue Epithel einer verletzten Cornea entsteht durch eine Proliferation von den noch vorhandenen Epithelzellen aus. Die Zellen treiben Fortsätze und je nachdem dieselben Raum finden, entwickeln sie sich dicht neben der Mutterzelle weiter oder drängen sich zwischen benachbarte Epithelzellen nach der Seite des geringsten Widerstandes durch, so kommt es, dass man gewöhnliche zweikernige Zellen findet und dann wieder Zellen wie Fig. 2 c und so beweist also auch die oft hervorgehobene Seltenheit der zweikernigen Zellen nichts gegen eine Neubildung durch Theilung, es bestehen wahrscheinlich die mannichfachsten Uebergänge zwischen der Theilung im gewöhnlichen Sinne und der Abschnürung nach Sprossung, beides ist hier dem Wesen nach nicht zu unterscheiden. Um auch die Entstehung des Kernes zu erklären, würde ich ebenfalls eine Proliferation vom alten Kern her annehmen, die erste Andeutung davon würde der Kernaussläufer sein, von dem ich oben gehandelt habe und welcher zuerst mich auf den Gedanken einer Entstehung vom Nerven aus brachte. Die Verbindung zwischen dem alten und neuen Kern muss sich aber sehr bald verlieren, ich habe nie eine solche mit Sicherheit beobachtet. An den Zellen der untersten Schicht habe ich niemals Ausläufer gesehen, dieselben entstehen vielleicht von denen der darüber liegenden, (wofür



Fig. 5 zu vergleichen); Cleland <sup>1)</sup> und neuerdings Krause <sup>2)</sup> haben sich über diesen Punkt ausgesprochen, des Letzteren Ansicht, dass die unterste Epithelschicht der Hornhaut eine „perennirende“ sei, muss vorläufig etwas paradox erscheinen. —

Bei dieser Ansicht von der Epithelneubildung wird also nicht die Lücke ganz durch neue Zellen geschlossen, sondern die jungen Ausläufer, welche sich im weiteren Umkreise bilden, drängen auch alte Zellen dahin, so dass man in einem gewissen Stadium ein wunderliches Mosaik von alten und jungen Zellen über die ganze Hornhaut verbreitet findet, ohne dass man doch die Stelle des ursprünglichen Defectes bestimmen könnte. Gleichsam vorbereitend und diesen Prozess sehr unterstützend wirken offenbar die Wanderzellen, welche im ersten Stadium der Reaction in das Epithel gelangen, sie lockern dasselbe, machen es verschieblicher, ja können ohne Zweifel sehr kleine Lücken zum Schlusse bringen, man kann sich dann vorstellen, dass an die Stelle der einen Lücke unzählige mikroskopische getreten seien, welche im ersten Stadium von Wanderzellen, in den späteren von Epithelzellausläufern respective jungen Epithelzellen erfüllt werden. —

Zum Schlusse muss ich noch einmal auf das schon oben erzählte Zinnoberexperiment zurückkommen. Wenn man Zinnober in die vordere Augenkammer einspritzt und alle erdenkliche Vorsicht anwendet ihn bei dieser Procedur nicht in Berührung mit dem vorderen Corneaepithel treten zu lassen, so findet man doch nach 7 bis 11 Tagen in den Zellen dieses Epithels Zinnoberkörnchen. Dies ist derjenige Versuch, welcher am meisten für die Entstehung des Epithels aus den fixen Bindegewebskörperchen spricht, denn in diejenigen der hintersten Corneaschicht gelangt der Zinnober sehr leicht bei der Injectionsprocedur oder bei der folgenden Entzündung und von da aus könnte man einen Transport nach vorn einfach durch Wachsthumsvorgänge annehmen. Da jedoch diese Hypothese der Epithelentstehung aus einigen anderen Gründen nicht acceptirt werden konnte, so bleibt die Schwierigkeit der Erklärung, wie der Zinnober auf die Vorderfläche der Hornhaut gelangt, für die Protoplasma-Theorie eben so gross wie für irgend eine andere. Wenn man aber geneigt ist anzunehmen, dass irgend ein anderes wirk-

<sup>1)</sup> Journal of Anat. and Physiol. II. 361.

<sup>2)</sup> Göttinger Nachrichten vom 6. April 1870.

sames Moment, vielleicht Transsudation und erhöhter intraocularer Druck die Körnchen auf die Vorderfläche der Cornea transportirt, so spricht das Experiment auch nicht mehr gegen die Annahme, dass Epithelzelle aus Epithelzelle hervorwächst: kein Umstand zwingt uns, die jungen Ausläufer von einer festen Hülle umschlossen zu denken, vielmehr können sie leicht zwischen den anderen Zellen vorwärts dringend dort lagernde Körnchen umgeben.

Ein Jeder wird ohne Zaudern den Zellen der obersten Schicht eine sehr resistente Hülle zusprechen, in den tieferen Schichten aber ist dieselbe jedenfalls, wenn man an ihrer Existenz festhalten will, als eine äusserst leicht permeable aufzufassen, wie die fast momentan eintretenden Gestaltveränderungen dieser Schichten bei Einwirken zu verdünnter Reagentien und namentlich von Wasser beweisen.

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel V.

- Fig. 1. a Epithelzelle, ein Theil ihres Inhalts hat sich abgegrenzt und scheint sich nach aussen zu begeben. Hartnack  $\frac{3}{4}$ . b c d Epithelzellen von Wanderzellen eingeschlossen. Hartnack  $\frac{3}{4}$ .
- Fig. 2. a Epithelzelle mit einem kernhaltigen Ausläufer, 20 Stunden nach der Verletzung isolirt. H.  $\frac{3}{8}$ . b Doppelkernige Epithelzelle aus einem älteren und einem jüngeren Abschnitte bestehend. H.  $\frac{3}{8}$ . c Zwei Epithelzellen deutlich zusammenhängend, die eine ist deutlich jünger als die andere. H.  $\frac{3}{8}$ .
- Fig. 3. Silberpräparat, 12 Tage nach einer oberflächlichen Epithelabschürfung von der Froschcornea. Zwischen die alten Zellen drängen sich zahlreiche junge hervor. H.  $\frac{2}{7}$ .
- Fig. 4. Schrägschnitt aus dem Epithel einer Kaninchencornea. Härtung mit Ueberosmiumsäure. Dritter Tag nach oberflächlicher Verletzung. H.  $\frac{3}{8}$ .
- Fig. 5. Aus dem Epithel einer Kaninchenhornhaut durch Zerpupfen dargestellt, Härtung in Chromsäure. H.  $\frac{3}{7}$ .
- Fig. 6. Zwei Epithelzellen etwas gequollen, mit einer Fläche zusammenhängend und hier eine Vacuole einschliessend. H.  $\frac{3}{8}$ .
- Fig. 7. Ausläufer an frischen noch im Zusammenhange befindlichen Epithelzellen. Härtn.  $\frac{3}{8}$ .
- Fig. 8. Wie 4.
- Fig. 9. Flächenschnitt, Kaninchenhornhaut 5 Tage nach oberflächlicher Epithelabschürfung. Man sieht einige Wanderzellen und junge Epithelzellen zwischen den alten. Hartnack  $\frac{3}{4}$ .

