

Archiv
für
pathologische Anatomie und Physiologie
und für
klinische Medicin.

Bd. LXXV. (Siebente Folge Bd. V.) Hft. 2.

XI.

Beobachtungen am lebenden Knorpel.

Mitgetheilt von

Dr. med. J. M. Prudden aus New Haven Ct. U. S. A.

(Hierzu Taf. IV.)

(Aus dem pathologischen Institut der Universität Heidelberg.)

Ueber die physiologischen Erscheinungsformen der thierischen Zellen und die Veränderungen, welche diese durch verschiedenartige äussere Einwirkung erleiden, sind gerade von der Beobachtung lebender Objecte die weitest gehenden Aufschlüsse zu erwarten. Solche Erwägungen sind die Veranlassung gewesen, dass in der neueren und neuesten Zeit diese Methode vielfache Verbesserungen und eine ausgedehntere Anwendung erfahren hat. Wenn trotzdem unsere Kenntnisse über diesen Gegenstand noch als lückenhafte bezeichnet werden müssen, so erklärt sich dies zum Theil aus der Schwierigkeit der Anwendung dieser Methode, insbesondere aber aus dem Umstand, dass an den meisten lebenden Geweben die Begrenzungen der Zellen nicht nachweisbar sind und im Verlauf der Untersuchung selbst die Zellkörper wegen eintretender Trübung des Gewebes undeutlich werden.

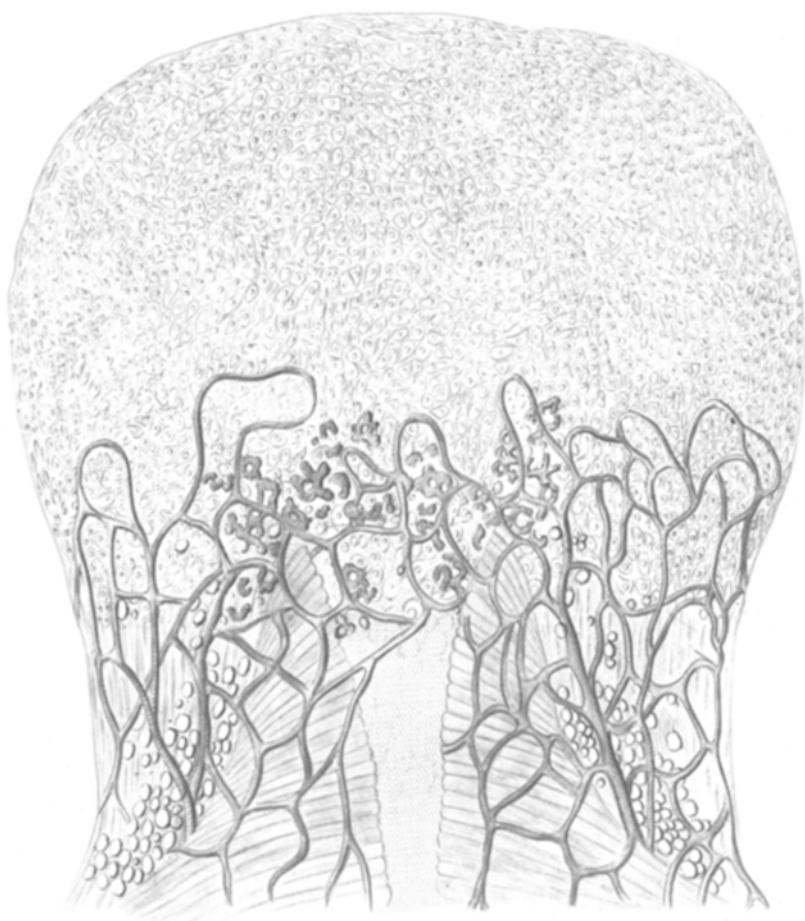
Eine Ausnahme machen in dieser Beziehung die Zellen der Flüssigkeiten des thierischen Körpers, vor Allem die weissen Blut-



3.



1.



körper. Allein die an ihnen gemachten Wahrnehmungen sind nicht ohne Weiteres auf die fixen Zellen übertragbar, welche unter sich und mit der Intercellularsubstanz in Wechselwirkung stehen. Eine weitere Schwierigkeit bieten die farblosen Blutkörper insofern, als es unmöglich ist, dieselben Tage und Wochen lang zu beobachten, selbst dann, wenn man sie unter die günstigsten Verhältnisse der Temperatur, des Wasser- und Salzgehaltes der umgebenden Medien, sowie unter die günstigsten Lebensbedingungen überhaupt bringt. Es scheitern deshalb alle Versuche, die Rückbildung der durch äussere Einflüsse gesetzten Störungen während längerer Perioden zu verfolgen.

Von den in die Gruppe der Bindesubstanzen gehörigen Geweben sind wohl nur am hyalinen Knorpel in lebendem Zustande nicht nur die Körper sondern auch die Contouren der Zellen wahrnehmbar. Seine Intercellularsubstanz ist durchscheinend und trübt sich nicht so leicht, so dass die Veränderungen der Zellen jederzeit und ohne Zuhilfenahme von Reagentien verfolgt werden können. Dazu kommt, dass die Spaltsysteme nur Saft keine von aussen eingewanderten zelligen Elementen enthalten, durch welche die Beobachtung und Deutung der an den Knorpelzellen sich vollziehenden Veränderungen erschwert werden könnte. Unter solchen Verbältissen musste es in hohem Maasse erwünscht erscheinen, wenn es gelingen würde, den Knorpel denjenigen Gewebsarten anzureihen, deren Untersuchung im lebenden Zustand ausführbar ist. Es ist zunächst der Zweck der nachfolgenden Zeilen den Leser mit einer Methode bekannt zu machen, mittelst deren dieses Ziel sich erreichen lässt. Ich erlaube mir nur noch zu erwähnen, dass mir dieselbe von Prof. J. Arnold mit der Aufforderung mitgetheilt wurde, ihre Brauchbarkeit zu prüfen und dann mit ihrer Hülfe einige Versuchsreihen über den Einfluss verschiedener Reagentien auf die Knorpelzellen anzustellen.

Wie eine grosse Zahl von Versuchen mich gelehrt hat, eignet sich das Episternum des Frosches in trefflicher Weise zur Untersuchung in lebendem Zustand. Es kann zur Beobachtung unter dem Mikroskope hergerichtet werden, ohne dass es aus dem Zusammenhang mit dem Sternum gelöst zu werden braucht und ohne dass die Ernährungsvorgänge in ihm wesentlich alterirt werden. Daselbe erhält sein Blut von zwei kleinen Arterienstämmchen, welche an

seiner Basis rechts und links von der Mittellinie herantreten und in dem feinen Perichondrium gelegen sind. In derselben Richtung verlaufen die Venen; es gelingt deshalb nach Anlegung des noch näher zu beschreibenden Haut- und Muskelschnittes die Flächen des Episternum allseitig aus dem lockeren Bindegewebe loszulösen, ohne dass Gefäße verletzt werden und der Kreislauf zerstört wird. Biegt man jetzt den Kopf des Thieres in der Halswirbelsäule rechtwinklig nach hinten um, so steht das Episternum über die Fläche des Halses in einer Richtung vor, welche der Körperaxe nahezu parallel ist. Es erscheint jetzt als eine dünne durchsichtige Knorpelplatte, welche mit einer ausserordentlich feinen Bindegewebsslamelle, dem Perichondrium, überzogen ist. Das Thier wird sodann mit dem Rücken nach unten auf einen kleinen Holzklotz gelegt, dessen Höhe der Länge des umgebogenen Kopfes entspricht. Das vorstehende Episternum aber lagert man auf einen nahezu ebenso hohen Glaswürfel. Die ganze Herrichtung endlich setzt man auf einen mit Irrigationsvorrichtung versehenen Objectenträger [nach Thoma¹⁾]. Will man stärker vergrößernde Objective in Gebrauch ziehen, so muss die Oberfläche des Glaswürfels so weit geneigt sein, dass die obere Fläche der keilförmig gestalteten Platte des Episternum der optischen Ebene des Mikroskopes parallel liegt. Die Irrigation des Objectes kann in verschiedener Weise ausgeführt werden, entweder durch directes Aufträufeln von Kochsalzlösung oder aber indem man letztere auf den Musculus sternoradialis leitet, von wo sie auf das Object gelangt. In diesen Fällen kann man stärkere Objective²⁾ in die Flüssigkeit eintauchen, während schwächere eine Immersion nicht verlangen. Legt man ein Deckglas auf, so ist die Irrigation entbehrlich; will man dieselbe aber doch anwenden, so führt man unter das eine Ende des Deckglases einen Streifen Filtrerpapier, der mit seinem anderen Ende in ein kurzes, in einem der Canülenträger befestigtes, konisches Glasrohr eingeschoben ist. In diese leitet man aus einer Mariott'schen Flasche die Irrigationsflüssigkeit tropfenweise über. Die Ableitung dieser wird durch einen Streifen Filtrerpapiers vermittelt, der unter den entgegengesetzten Rand des Deckglases eingeschoben ist und auf den Objectenträger herabhängt. In dieser

¹⁾ Thoma, Beitr. zur mikroskop. Technik. Dieses Archiv Bd. 65.

²⁾ Die Messingfassung dieses muss wegen der geringen Kürze des Episternum schlank gebaut sein, wie bei den Hartnack'schen Linsen ältester Construction.

Weise zubereitet kann das Präparat nicht nur viele Stunden, sondern einen ganzen Tag lang beobachtet werden.

Ehe ich mich zur Mittheilung der von mir angestellten Versuche wende, sind einige Bemerkungen über die anatomischen Verhältnisse des Episternum erforderlich, weil sie bestimmend sind nicht nur für die Anordnung sondern auch für den Erfolg der Versuche.

Das Episternum besteht aus einer nahezu herzförmigen Knorpelplatte, welche durch ihr breiteres, etwa 1 Mm. dickes Ende mit dem Sternum verbunden ist. Der vordere Abschnitt dagegen ist dünn und flach. Der an das Sternum angrenzende Theil ist regelmässig verkakt und von einem zarten Gefässe führenden Perichondrium überkleidet, welches nach vorne gleichfalls an Dicke abnimmt. Die Zellen des Knorpels sind meist rund oder leicht abgeplattet, dabei sehr zahlreich und nur durch schmale Züge von Intercellularsubstanz getrennt. An der Basis der Platte liegen die Zellen in mehreren Schichten übereinander, während sie an der Spitze und den beiden Seitenrändern nur eine einfache Lage bilden. Ausserdem sind die Zellen längs den Rändern abgeplattet, oval oder selbst spindelförmig. In dem hinteren Abschnitt des Perichondrium findet man zahlreiche grosse Fettropfen, vermutlich Gruppen von Fettzellen entsprechend; ausserdem sind daselbst pigmentirte Zellen zu treffen, welche sehr brauchbare Orientierungsmarken zur wiederholten Aufsuchung einzelner Knorpelzellen und Gruppen solcher abgeben.

Die Blutgefässe des perichondralen Ueberzuges des Episternum stammen aus einem oder zwei kleinen Zweigen, welche vorzugsweise aus der Arteria lingualis entspringen und direct an die vordere Fläche des basalen Abschnittes der Platte treten. Ausserdem bestehen capillare Anastomosen der Gefässe des vorderen Bauches des Musculus sternoradialis mit den Capillaren des Perichondrium. Endlich finden sich zuweilen an der Basis des Knorpelplättchens einzelne capillare Gefässe, welche die Gefässnetze des Perichondrium mit denjenigen des angrenzenden Zellgewebes in Verbindung setzen. — Das Capillarnetz selbst bietet bezüglich der Ausdehnung und Zahl der Verzweigungen einige Verschiedenheiten bei einzelnen Individuen. Häufig ist es weitmaschig und sendet zahlreiche Schlingen der Knorpeloberfläche entlang nach vorne; zuweilen finden sich nur sparsame kurze Röhren an der Wurzel des Organes zwischen die Enden der Arterien und Venen eingeschaltet. An der äusseren

Fläche des Episternum pflegt das Capillargefäßnetz im Allgemeinen reichlicher und ausgedehnter zu sein als an der inneren. In Fig. 1 ist eine Skizze von der Gefässverzweigung im Episternum gegeben. Schliesslich sei noch bemerkt, dass Form und Grösse der Knorpelplatte bei verschiedenen Individuen vielfach wechselt. Bei *Rana temporaria* ist dieselbe in der Regel grösser als bei *esculenta*, so dass die erstere sich vorzugsweise zu den folgenden Versuchen eignet.

Aus den mitgetheilten anatomischen Einzelheiten geht hervor, dass der Blutkreislauf in dem Episternum nach der Vorlagerung dieses im Allgemeinen unter wenig günstigen Bedingungen steht. Das Capillarnetz wird aus keinen grösseren arteriellen Zweigen gespeist, während doch zahlreiche lange Capillarschlingen an der Fläche des Knorpels sich verbreiten. Ferner befinden sich die Ge- webe an der Basis der Platte in ziemlicher Spannung. Es empfiehlt sich deshalb, möglichst geringe Dosen von Curare in Anwendung zu bringen und jeden Blutverlust so weit dies möglich zu vermeiden. Insbesondere dürfen die Fettmassen an dem oberen Ende des Sternum nicht gezerrt oder zerschnitten werden, da das reiche Capillarnetz derselben häufig mit demjenigen des Episternum anastomosirt.

Bei der Herstellung des Präparates geht man nach meiner Erfahrung am besten in der Weise vor, dass die Haut durch einen vom Unterkiefer bis zur Mitte des Sternum sich erstreckenden Längsschnitt trennt. An ihn schliessen sich oben und unten Querschnitte an, wodurch Hautlappen gebildet werden, welche sich nach Trennung einiger Bindegewebsmembranen ohne Schwierigkeit zurückklappen lassen. Dadurch werden die *Musculi submaxillares* und die vorderen Bündel des *Musculus sternoradialis* blossgelegt. So dann trennt man auch die *Musculi submaxillares* nahe der Mittellinie, wobei aber die grosse Vene, welche sich um die Spitze des Episternum herumschlingt und nach innen zieht, vermieden werden muss. Durch Retraction der getrennten Muskeln klafft die Wunde, in deren Grund das Episternum bedeckt von etwaslosem Bindegewebe wahrnehmbar wird. Mit der Pincettenspitze erhebt man das obere Ende des Episternum und trennt mit der Scheere die zarten Bindegewebslamellen, welche sich zwischen jenem und dem Zungenbein, sowie den angrenzenden Theilen anspannen. Jetzt

wird der Kopf, wie oben beschrieben, zurückgebogen und an dem Holzklötzchen mittelst einer Stecknadel, welche durch den Oberkiefer getrieben wird, befestigt. Das Episternum steht nun nach vorne ab, wird auf die Oberfläche des genannten Glaswürfels gelegt und ist damit der mikroskopischen Untersuchung und der weiteren Behandlung mit verschiedenen Agentien nach den früher erwähnten Methoden zugängig.

Zunächst war ich nun bestrebt eine Irrigationsflüssigkeit ausfindig zu machen, welche die Verdunstung verhindern und zugleich möglichst indifferent gegenüber dem Blutumlauf und den Geweben des vorgelagerten Theiles sich verhalten sollte. Ich irrigirte zu diesem Zweck die Präparate mit frischer Amniosflüssigkeit während 8—10 Stunden, ohne dass der Blutlauf eine Störung und das Knorpelgewebe ausser leichter Trübung des Protoplasma der Zellen eine nennenswerthe Veränderung erfuhren. Legt man das Episternum nach dieser Frist wiederum zurück, so ist dasselbe selbst noch an den folgenden Tagen zur Untersuchung zu verwenden. Es ergiebt sich somit die Amniosflüssigkeit als sehr brauchbar; allein die etwas schwierige Beschaffung derselben und insbesondere ihre Neigung zur Fäulniss und Bakterienentwicklung veranlassten mich noch andere Irrigationsflüssigkeiten zu versuchen. Halbprozentige Koehsalzlösungen, die ich zunächst anwandte, erwiesen sich als noch brauchbarer. Bei der Irrigation des Episternum mit derselben erhielten sich die Knorpelzellen 12—48 Stunden lang völlig unverändert. Es beziehen sich diese Angaben allerdings nur auf die grosse Mehrzahl derselben, da unter allen Umständen bei jeder Flüssigkeit in einzelnen Zellen Schrumpfung und Vacuolenbildung eintritt, wenn auch die Mehrzahl unverändert bleibt. Bei dieser Gelegenheit will ich hervorheben, dass überhaupt nicht alle Zellen in gleicher Weise reagiren.

Irrigirt man das Episternum mit $\frac{1}{2}$ prozentiger Kochsalzlösung, so sind die Umrisse der Zellen sehr deutlich. Das feingranulirte Protoplasma derselben hebt sich scharf von der homogenen Inter-cellularsubstanz ab. Im Protoplasma liegen nicht selten glänzende Tröpfchen, vorzugsweise in der Nähe des Kerns. Letzterer ist durch einen doppelten Contour begrenzt. In seinem Inneren nimmt man eine Anzahl feiner Linien wahr, welche mit verbreiterten Internodien zusammenstoßen und so bald das Bild eines Netzwerkes liefern,

bald einzeln stehende wenig verzweigte Figuren bilden. Wie bekannt, sind von Frommann¹⁾, Heitzmann²⁾ und Flemming³⁾ ähnliche Figuren und Zeichnungen im Kern beobachtet, aber von verschiedenen Seiten als Gerinnungen der Kernsubstanzen aufgefasst worden. Ich glaube deshalb hervorheben zu sollen, dass diese Zeichnungen und Linien im Kern sofort nach Vorlagerung des Episternum zu einer Zeit, wo noch keine Veränderungen in den Zellen Platz greifen konnten, wahrnehmbar sind. Dieselben bewahren sogar unverändert ihren Charakter während mehrstündiger Beobachtung. Ausserdem glaube ich geringe Bewegungerscheinungen, wenigstens in der ersten Zeit nach Herrichtung des Präparates, an den genannten Figuren erkannt zu haben. Einzelne Knotenpunkte und Fäden verschwinden, erscheinen dann wieder und führen zugleich Ortsveränderungen im Inneren des Kernes aus. Die letzteren sind allerdings sehr beschränkt, langsam und verschwinden nach kurzer Zeit. In Fig. 2 sind zwei solche Beobachtungsreihen bildlich dargestellt. In beiden Fällen wurden die Kerne in kurzen Zeitintervallen wiederholt gezeichnet. Einen Einfluss schwächerer chemischer Agentien, geringer Erwärmung und elektrischer Ströme auf diese Bewegungen bin ich nicht im Stande gewesen nachzuweisen.

Die bei Anwendung mässig concentrirter Salz- und Zuckerlösungen oder reinen Wassers eintretende Veränderung der Knorpelzellen stellt sich am lebenden Thier ähnlich dar, wie sie von Lachmann⁴⁾, Heidenhain⁵⁾, Rollett⁶⁾ u. A. vielfach an Knorpeln, die vom lebenden Körper getrennt waren, beobachtet worden ist. Unter dem Einfluss von Kochsalzlösungen von 1—3 procentigem Gehalt werden die Zellen in kurzer Zeit trüber; der Zellkörper zieht sich mit unregelmässig körniger Oberfläche von der Kapsel zurück, während im Inneren desselben grössere und kleinere klare Vaeuolen sich bilden, welche allmählich an Grösse zunehmen. Der Kern verschwindet oder erscheint in dem grobkörnigen Protoplasma nur

¹⁾ Frommann, Unters. über d. normale u. pathologische Anatomie des Rückenmarkes. II. Th. 1867.

²⁾ Heitzmann, Wiener med. Jahrbücher. 1872.

³⁾ Flemming, Arch. f. mikr. Anatomie. Bd. 13. 1876.

⁴⁾ Lachmann, Ueber Knorpelzellen. Müller's Arch. 1857.

⁵⁾ Heidenhain, Stud. d. physiol. Instituts. H. 2.

⁶⁾ Rollett, Stricker's Handb. d. Histologie.

als ein sehr schwach glänzendes Klümpchen. Schliesslich gelangt der Schrumpfungs vorgang zum Stillstand; die Zellen erscheinen jetzt als körnige Massen, die sich in der Mitte der Kapsel angehäuft haben und von denen Fäden nach den Wänden der Höhlen ausstrahlen. Nicht selten sind die Umrisse ausserordentlich zackig, während die geschrumpften Zellen zahlreiche Vacuolen, allerdings in wechselnder Menge enthalten. Zuweilen stellen sich die Zellen als verzweigte granulirte Fäden dar, welche innerhalb der Kapsel ausgespannt den Innenraum der letzteren von Wand zu Wand durchziehen.

Geht der Schrumpfungsprozess nicht mit allzureichlicher Vacuolenbildung einher, so bemerkt man an den Rändern der Zellen feine cilienähnliche Fortsätze, welche auf der gegen den Beobachter gerichteten Oberfläche ihren Ausdruck in feinen dunklen Punkten finden. Diese cilienähnlichen Hervorragungen gleichen den kurzen haarförmigen Fortsätzen, welche Thoma¹⁾ an farblosen Blutkörpern unter dem Einfluss von wasserarmen Medien beobachtet hat. In Fig. 3 ist eine Anzahl solcher durch Kochsalzlösungen geschrumpften Knorpelzellen wiedergegeben.

Die Formveränderungen der Knorpelzellen werden allgemein als Folgen eines auf dem Wege der Diffusion eingeleiteten Wasserverlustes derselben angesehen. Dafür spricht insbesondere die von Lachmann²⁾ an ausgeschnittenen Knorpelstücken angestellte Beobachtung, dass die geschrumpften Zellen ihre ursprüngliche Form und ihr ursprüngliches Aussehen wieder gewinnen, wenn man dem Präparat von Neuem Wasser zuführt. Wie am ausgeschnittenen, so kann auch am lebenden Knorpel die Schrumpfung und Aufquellung durch wiederholte Vertauschung der Irrigationsflüssigkeit mehrmals eingeleitet werden. Unter solchen wechselnden Bedingungen bieten die cilienähnlichen Hervorragungen gleichfalls Verschiedenheiten dar. Dieselben stehen bald auf der einen bald auf der anderen Seite der Zelle. Auch die gröberen Fortsätze und die Vacuolen zeigen bei wiederholter Schrumpfung wenig Uebereinstimmung nach Form und Lage. Im Allgemeinen sind die Vacuolen um so grösser und die Fortsätze um so massiger, je stärker die angewendeten Salz-

¹⁾ Thoma, Dieses Archiv Bd. 62.

²⁾ Lachmann, l. c.

lösungen waren. Dieselben Veränderungen treten aber auch ein bei wiederholter Anwendung schwächerer Lösungen. Dass diese in Folge der Schrumpfung auftretenden Fortsätze mit den von Heitzmann¹⁾ u. A. beschriebenen identisch seien, ist mir in Anbetracht der wechselnden Stellung derselben nicht wahrscheinlich.

Die Bedeutung der unter pathologischen Bedingungen in den Zellen auftretenden Vacuolen ist in sehr verschiedener Weise aufgefasst worden. Während die Einen ausgedehnte Vacuolenbildung als ein Zeichen des Absterbens der Zellen betrachten, wird dieselbe von den Anderen als eine vorübergehende und weniger wichtige Erscheinung angesehen. Gerade für die Knorpel ist Ewetzky²⁾ der Meinung, dass wenigstens ein Theil der Vacuolen enthaltenden Zellen, welche nach Einwirkung entzündlicher Reize in der sog. Vacuolenzone getroffen werden, wieder in ihren ursprünglichen Zustand übergeführt werden können. Derselbe stützt diese Meinung auf den Nachweis, dass die Vacuolenzone im Entzündungshof an Ausdehnung abnimmt, ehe in der Umgebung irgend welche Vorgänge der Zellvermehrung nachweisbar werden. Es ist zwar der Zeit nicht möglich festzustellen, in wie weit die Vacuolenbildung bei Einwirkung stärkerer Kochsalzlösungen und ähnlicher Flüssigkeiten und die im Gefolge traumatischer Reizung auftretende als analoge Vorgänge zu betrachten sind. Doch ist es sehr wahrscheinlich, dass auch die letztere auf eine Eindickung der Gewebsflüssigkeiten sich zurückführen lässt. Die Entblössung des Episternum, die Entfernung seiner natürlichen schützenden Bedeckungen genügt, um dieselben Erscheinungen an den Knorpelzellen hervorzurufen, welche bei Irrigation mit 2prozentigen Kochsalzlösungen auftreten.

In Anbetracht der Ähnlichkeit der genannten Vorgänge schien es mir von Werth zu untersuchen, ob die unter dem Einfluss starker Kochsalzlösungen stark geschrumpften Zellen als abgestorben oder doch als so stark verändert zu betrachten sind, dass sie nicht mehr in ihren normalen Zustand zurückzukehren vermögen. Dass sie bei Bespülen mit Wasser oder nach Zurücklagerung des Knorpelstückes wieder aufschwellen und ein normales Aussehen annehmen, durfte nicht als in diesem Sinne entscheidend angesehen werden,

¹⁾ Heitzmann, l. c.

²⁾ Ewetzky, Entzündungsvers. am Knorpel. Unters. aus d. pathol. Institut in Zürich. H. 3. 1875.

da dies möglicherweise die Folge einfach passiver Vorgänge, wie die Schrumpfung selbst, sein könnte.

Die Möglichkeit, die lebenden Knorpelzellen während längerer Zeitsperioden in lebendem Zustande zu beobachten, giebt meines Erachtens die Mittel an die Hand, das Schicksal der Zellen auch nach der Einwirkung stärkerer Agentien zu verfolgen. Ich irrigirte zu diesem Zweck solche Präparate zunächst mit indifferenten Flüssigkeiten, lagerte die Knorpelplatte zurück und verschloss die Wunde. Als ich nach Wochen dièse wieder öffnete, war das Episternum in eine Exsudat- und gefässreiche Bindegewebsmasse eingebettet. Nach deren Entfernung erschien die Intercellularsubstanz des Knorpels etwas geschwollen, die Knorpelzellen dagegen waren in der ganzen Ausdehnung des Präparates deutlich sichtbar und unverändert. Ich habe diese Versuche nicht länger als vier Wochen fortgesetzt, aber innerhalb dieser Frist zeigten die Zellen der untersuchten Knorpelplättchen keine Veränderungen.

Es war von vornherein sehr wahrscheinlich, dass abgetödtete Knorpelzellen irgend welche degenerative, mikroskopisch nachweisbare Veränderungen erkennen lassen würden, weon sie für mehrere Tage in den Organismus zurückgelagert oder in indifference Flüssigkeit von nicht gerade conservirenden Eigenschaften gebracht wurden. Es wurden mehrere Episterna excidirt und sofort in die Lymphsäcke anderer unversehrter Frösche eingeführt. Hier verblieben sie verschieden lang drei Tage bis drei Wochen. Schon nach fünf Tagen zeigte sich das Protoplasma der so behandelten Knorpelzellen erfüllt mit feinen Körnchen sowie mit grösseren und kleineren gelben Tröpfchen, welche bei Zusatz von Jodlösungen keine Reaction ergaben und sich leicht in Aether lösten. Die Zellkerne liessen sich leicht und stark mit neutralen Carminlösungen färben. Dieses Verhalten scheint mir deshalb bedeutungsvoll, weil, wie später gezeigt werden soll, die Kerne lebender Zellen durch Carmin sich nicht tingiren lassen.

In einer zweiten Reihe von Versuchen tödte ich die Zellen des Episternum am lebenden Thiere durch starke elektrische Ströme, Hitze und starke chemische Agentien; dann wurde dasselbe wieder unter die Haut zurückgelagert und die Wunde durch Nähte vereinigt. Nach fünf Tagen bot das Zellprotoplasma dieselben degenerativen Erscheinungen und dasselbe Verhalten gegen Carmin dar, wie im vorigen Falle.

Dieselben Resultate erhielt ich, wenn ich den Kreislauf im Episternum unterbrach oder abgelöste Knorpelstücke in dünnen Kochsalzlösungen aufbewahrte.

Durch diese Versuche glaube ich den Beweis geliefert zu haben, dass abgetötete Knorpelzellen und solche welche sich unter sehr ungünstigen Ernährungsbedingungen befinden, schon nach wenigen Tagen degenerative Vorgänge erkennen lassen und gegen Farbstoffe sich anders verhalten als normale. Nun führte ich bei einer grösseren Zahl von Episterna durch Irrigation mit 2 prozentiger Kochsalzlösungen eine starke Schrumpfung der Zellen herbei (cf. Fig. 3), reponirte dieselben und vernähte sorgfältig die Hautwunden. Nach Ablauf von zwei bis vier Wochen wurden die so behandelten Episterna wieder vorgelagert. In den meisten Fällen war die Circulation gut erhalten, der Knorpel etwas gequollen, die Zellen aber normal. Dieselben füllten die Kapselräume wieder vollständig aus; eine Färbung durch Carmin trat an ihnen nicht ein.

Dieses eben erwähnte Verhalten der lebenden und abgetöteten Knorpelzellen gegen Carmin schien mir einer eingehenderen Prüfung werth. Ich stellte deshalb eine grössere Zahl von Versuchen in der Weise an, dass ich die Episterna der lebenden Thiere mit einer starken neutralen Lösung von carminsaurem Ammoniak, welche 0,5 pCt. Kochsalz enthielt, ein bis zwei Stunden lang irrigirte. Nach Ablauf dieser Frist war eine nur schwache Färbung der Inter-cellularsubstanz vorhanden, die in kurzer Zeit vollkommen schwand, die Zellen dagegen blieben unverändert. Bei anderen Thieren führte ich zuerst durch starke Salzlösungen eine Schrumpfung der Zellen herbei; auch in diesen Fällen erwies sich die Irrigation mit der genannten Carminlösung als wirkungslos. Dasselbe Resultat erhielt ich, wenn die Zellen wieder zur Quellung gebracht worden waren. Selbst bei wiederholter Schrumpfung und Quellung konnte durch Carmin eine Färbung nicht erzielt werden. Nur vereinzelte Zellen des Perichondrium und Knorpels, namentlich solche, welche an den Rändern des Episternum lagen, liessen eine Kernfärbung erkennen; es schien mir aber unzweifelhaft, dass dieselben bei der Präparation irgend wie verletzt worden waren. — Bringt man dagegen in irgend einem Theile des Episternum eine Gruppe von Zellen durch mechanische und chemische Einwirkungen oder durch

elektrische Reize zur Schrumpfung, so werden die Zellen durch Carmin sofort intensiv gefärbt.

Bei sehr häufigem Wechsel der bei den früheren Versuchsreihen zur Irrigation verwendeten wässrigen und salzreichen Lösungen oder wenn die Zellen sehr lange Zeit im Zustande der Schrumpfung erhalten wurden, ist die Vacuolenbildung weniger reichlich, indem die Protoplasmamassen zu glänzenden unregelmässigen Klumpen sich zusammenziehen, deren Kerne sich leicht mit Carmin färben. Aehnliche Versuche, wie mit Carmin, habe ich auch mit Hämatoxylin und Methylanilingrün angestellt, von denen das letztere bekanntlich frische Gewebe sehr leicht färbt; ich war aber nicht im Stande beim lebenden Thiere an den unveränderten Zellen des Episternum eine Tinction hervorzurufen.

Was das weitere Geschick der durch Carmin gefärbten Zellen und die Art der Färbung anbelangt, so will ich noch erwähnen, dass die Tinction der Kerne, so stark sie gewesen sein mag, immer eine gleichmässige, niemals körnige war. Die benachbarten Theile erschienen ungefärbt. Hatte man die Episterna zurückgelagert, so blieb die Färbung noch im Verlaufe mehrerer Wochen nachweisbar.

Wie bekannt sind von verschiedenen Autoren die Einwirkungen chemischer Agentien, elektrischer Ströme, verschiedener Temperaturen auf den ausgeschnittenen Knorpel untersucht worden. Es schien mir von Interesse solche Versuche am lebenden Knorpel, in dem die Kreislaufsverhältnisse und Ernährungsvorgänge nicht wesentlich alterirt waren, anzustellen. Ich prüfte zunächst den Einfluss der Lösungen von Chlorzink, Silbersalpeter, Jod und Carbolsäure. In allen Fällen zogen sich die Zellen zusammen zu unregelmässigen glänzenden, mehr oder weniger zackigen Massen; nur in der Schnelligkeit des zeitlichen Ablaufes der Erscheinungen zeigten sich Verschiedenheiten. Immer färbten sich die Zellkerne lebhaft mit Carmin, nachdem die Schrumpfung eingetreten, selbst wenn diese keine sehr hochgradige war. Durch Wasserzusatz konnten die Zellen nicht wieder zum Quellen gebracht werden. Hatte man die Präparate wieder für längere Zeit unter die Haut der Versuchstiere zurückgelagert, so liessen sich im Umkreis der Zellen innerhalb der Kapseln grössere und kleinere Tröpfchen, welche sich leicht in Aether lösten und keine Jodreaction gaben, nachweisen. Man wird aus dem Mitgetheilten schliessen dürfen,

dass Knorpelzellen, welche durch die genannten Agentien zur Schrumpfung gebracht wurden, nicht wieder in ihre normalen Verhältnisse zurückkehren können, sondern in kurzer Zeit hochgradigen degenerativen Vorgängen unterliegen. Die Wirkung der Jod- und Carbolsäurelösungen habe ich vorzugsweise deshalb am lebenden Knorpel verfolgt, weil dieselben bei Gelenkleiden sehr häufig auf die Oberfläche der Knorpel zur Anwendung gelangen. Jod in sehr schwacher, lichtweingelber Lösung und Carbolsäure von mehr als $\frac{1}{4}$ pCt. bedingen rasche Schrumpfung und sofortiges Absterben der Zellen. Schon eine halbe Stunde nach Anwendung einer einprozentigen Carbolsäurelösung kann man unmittelbar unter dem Mikroskop den Austritt feiner Feitkörnchen aus den Zellen wahrnehmen.

Betreffs des Einflusses der Wärme will ich bemerken, dass die Zellen des lebenden Knorpels gewöhnlich bei circa 53° C. schrumpfen, während an abgetrennten Knorpelstücken die Schrumpfung schon bei 50° C. erfolgt, wie dies Hosch¹⁾ gleichfalls berichtet, während allerdings Rollett²⁾ eine solche erst bei 73 bis 78° C. beobachtet hat.

In der Einleitung ist auf die Bedeutung der Beobachtungen am lebenden Object hingewiesen und dargethan worden, dass die Zahl der dieser Untersuchungsmethode zugängigen Objecte bis jetzt noch eine beschränkte ist. Schon von diesem Gesichtspunkt darf es als erfreulich bezeichnet werden, dass durch die Anwendung der oben beschriebenen Methoden auch das Knorpelgewebe der unmittelbaren Wahrnehmung erschlossen ist. Der Werth derselben ergiebt sich aus den berichteten Beobachtungen. Es haben sich zunächst am normalen Knorpel eigenartige Structurverhältnisse nachweisen lassen, die zwar zum Theil auch von Anderen beschrieben sind, von denen es aber bisher unentschieden geblieben war, ob sie nur an todtten Zellen vorkommen oder auch an lebenden getroffen werden.

Besonders bedeutungsvoll will es mir aber dünken, dass man an dem lebenden Knorpelgewebe die Vorgänge der Schrumpfung und Vacuolenbildung unmittelbar unter dem Mikroskop sich voll-

¹⁾ Hosch, Ueber d. angebL Contractilität der Knorpelzellen u. Hornhautkörperchen. Pflüger's Arch. f. Physiolog.

²⁾ Rollett, l. c.

ziehen sehen und deren weiteres Geschick verfolgen kann, dass man ferner zu entscheiden vermag, ob und unter welchen Bedingungen solche veränderte Zellen wieder zur Norm zurückkehren oder aber degenerative Umwandlungen eingehen und absterben. Auch die über das Verhalten der lebenden und abgetöteten Knorpelzellen gegen Farbstoffe berichteten Beobachtungen scheinen mir beachtenswerth, weil sie uns lehren, dass nur die letzteren homogene Färbungen der Kerne annehmen. Man wird somit im Stande sein, bei verschiedenen Versuchen zu entscheiden, ob die Zellen leben oder todt sind und je nachdem deren Beteiligung bei regeneratorischen Vorgängen auszuschliessen.

Das berichtete Verhalten der Zellen gegen gelöste Farbstoffe verdient um so mehr Beachtung, als in der neuesten Zeit solche Farbstoffe nach dem Vorgang von Lieberkühn¹⁾ in die lebenden Gewebe eingespritzt worden sind, um eine längere Zeit anhaltende Färbung dieser zu erzeugen und an dem so tingirten Gewebe den Ablauf entzündlicher und regeneratorischer Vorgänge zu prüfen [Walb²⁾, Senftleben³⁾]. Gerade bei der Anstellung solcher Versuche wird in erster Linie die oben angeführte Thatsache zu berücksichtigen sein, dass nur abgestorbene Zellen den Farbstoff in gelöster Form aufnehmen und längere Zeit zurückhalten. Anders verhält es sich mit Farbstoffen, welche in körniger Form in die Gewebe eingeführt wurden oder nachträglich körnig sich in denselben abgeschieden haben. Aus zahlreichen Untersuchungen ist uns ja bekannt, dass diese sowohl in den Wanderzellen als in und neben den fixen Bindegewebzellen getroffen werden. Ob man aber berechtigt ist, aus der Anwesenheit körniger Farbstoffe in solchen Zellen auf deren Abkommenschaft aus den ersteren oder letzteren einen Schluss zu ziehen, muss fraglich erscheinen.

¹⁾ Lieberkühn, Naturforsch.-Vers. in Wiesbaden.

²⁾ Walb, Ueber traumatische Hornhautentzündung. Dieses Archiv Bd. 64.

³⁾ Senftleben, Beitr. zur Lehre von d. Entzündg. Dieses Archiv Bd. 72.