

## II.

**Ueber die Bildung der rothen Blutkörperchen.**

Anhang zur vorhergehenden Arbeit.

Von Prof. J. Bizzozero in Turin.

Ich hätte zu der vorhergehenden, sowie zu meinen früheren Arbeiten über denselben Gegenstand nichts nachzutragen gehabt, wenn ich nicht gesehen hätte, dass selbst in den neuesten Lehrbüchern und Originalarbeiten, wo von der Entstehung rother Blutkörperchen beim erwachsenen Thiere die Rede ist, ihre Vermehrung durch Theilung vergessen oder kaum erwähnt wird, während ganze Seiten der Theorie gewidmet werden, welche diese Elemente von einer Umbildung weisser Blutkörperchen ableitet, oder jener anderen Lehre, die sie von den sogenannten „Hämatoblasten“ von Hayem abstammen lässt. Schon in einer anderen Schrift<sup>1)</sup> habe ich meine Ansicht über jene beiden Theorien ausgesprochen und die Gründe angegeben, weshalb ich sie für unzulässig halte. — Was die weissen Blutkörperchen anlangt, so kann man vor Allem diejenigen von ihnen, welche 2 oder 3 Kerne enthalten und mit reichlichem Protoplasma ausgestattet sind, so dass sie einen Durchmesser von 10—11  $\mu$  erreichen, gewiss nicht für die wahrscheinlichen Vorstufen der rothen Blutkörperchen halten, da sie von letzteren zu sehr durch ihre Grösse, Form und Constitution abweichen. Wohl könnte man aber solches von jenen weissen Blutkörperchen denken, welche die kleine Varietät bilden und aus einem einzigen Kerne und einer denselben umhüllenden Protoplasmaschicht bestehen; denn diese Elemente kommen durch ihre Dimensionen denjenigen Formen der rothen Blutkörperchen, die wir als die jugendlichen kennen gelernt haben, ziemlich gleich, oder weichen doch nur wenig von denselben ab. Zwischen solchen kleinen weissen Blutkörperchen und den wahren jugendlichen Formen der rothen besteht der einzige auffällige Unterschied in der bei ersteren

<sup>1)</sup> Bizzozero, Moleschott's Untersuchungen. Bd. XIII. Hft. 2.

fehlenden Hämoglobinfärbung des Protoplasma, weshalb sich fast von selbst die Annahme aufdrängt, dass die farblosen Elemente sich zu den farbigen umwandeln können. Indessen müssen wir gestehen, dass die Annahme einer solchen Verwandlung eine vollkommen willkürliche wäre, da nicht die geringste Thatsache vorliegt, die ihr als Stütze dienen könne. Die Aehnlichkeit der Form zwischen zwei Elementen erlaubt uns keineswegs zu schliessen, dass das eine sich in das andere verwandle. Um zu diesem Schlusse zu gelangen, müsste eine Methode ersonnen werden, welche die Verwandlung des farblosen Protoplasma zu dem Hämoglobinprotoplasma des rothen Blutkörperchens direct zu verfolgen gestattete. Solches hat aber Niemand bisher erreichen können. Dagegen liegen Thatsachen vor, die im entgegengesetzten Sinne sprechen. Wäre obige Annahme richtig, so fragt es sich, wo wir dann die jungen rothen Blutkörperchen vorfinden müssten? Aller Wahrscheinlichkeit nach müssten wir sie am zahlreichsten dort finden, wo die Elemente, von denen sie abstammen, d. h. die kleinen weissen Blutkörperchen, in grösster Menge vorhanden sind. Dagegen ist es wohl bekannt, dass diejenigen Blutdrüsen, die am reichsten sind an solchen kleinen weissen Blutkörperchen (Lymphfollikel und -Drüsen, Malpighi'sche Körperchen der Milz), nie in ihrem Parenchyme junge rothe Blutkörperchen führen.

Ebenso wenig ist die Umwandlung der Blutplättchen (Hämatoblasten nach Hayem) zu rothen Blutkörperchen als wahrscheinlich zu betrachten. Schon in der oben erwähnten und auch in einer späteren Arbeit<sup>1)</sup> habe ich die durchgreifenden Unterschiede namhaft gemacht, die zwischen beiderlei Elementen bestehen, und habe besonders den Umstand betont, dass durchaus keine Uebergangsformen zwischen beiden vorkommen. Die durch Hämoglobin leicht gelblich gefärbten Plättchen, welche Hayem gesehen zu haben angiebt, sind entweder als Ausnahmserscheinungen anzusehen, oder, was wahrscheinlicher ist, als Kunstproducte. Hayem sagt, dass er sie in grösserer Anzahl bei anämisch gemachten Thieren gesehen hat. Indessen kann die Unhaltbarkeit dieser Angabe durch einen sehr einfachen Versuch dargethan werden. Bei einem durch wiederholte Aderlässe

<sup>1)</sup> Bizzozero, Dieses Archiv. Bd. XC. Novemb. 1882.

anämisch gemachten Meerschweinchen oder Kaninchen veranlasse man, nach den von mir in einer anderen Arbeit<sup>1)</sup> angegebenen Methoden, die Bildung mikroskopischer Thromben. Da diese Thromben überwiegend aus Blutplättchen bestehen, so müsste, wenn Hayem's Behauptung richtig wäre, die Färbung des Thrombus gelblich oder gelbroth ausfallen und um so intensiver erscheinen, je massenhafter die Anhäufungen der Blutplättchen sind. Statt dessen ist und bleibt die Farbe des Thrombus weiss, wie sehr auch derselbe nach und nach an Grösse zunehmen mag. Sind doch gerade wegen dieser Eigenthümlichkeit ihrer Färbung die Thromben dieser Art von den pathologischen Anatomen mit dem Namen der weissen Thromben belegt worden.

Bevor wir die Frage über die Abstammung der rothen Blutkörperchen von farblosen Elementen verlassen, müssen wir zweier anderer Hypothesen gedenken, die in dieser Hinsicht in den letzten Jahren aufgestellt worden sind.

Die eine dieser Hypothesen beruht auf derselben Thatsache, auf welche sich Rindfleisch<sup>2)</sup> stützte, um die Abkunft der kernlosen rothen Blutkörperchen von den kernhaltigen rothen Zellen des Knochenmarkes der Säugethiere zu erklären. Bei den gekernten rothen Zellen kommt es oft vor, dass der Kern sich von der farbigen Substanz trennt. Nach Rindfleisch nimmt diese letztere die Gestalt eines vollkommenen rothen Blutkörperchens an, verlässt das Knochenmark auf dem Wege der Blutgefässe und gelangt in den allgemeinen Kreislauf, während der Kern, noch von einer kleinen Menge farblosen Protoplasmas umgeben, im Knochenmarke verbleibt. Nun wurde es mancherseits als wahrscheinlich ausgesprochen, dass dieser Kern in seiner productiven Thätigkeit nicht stehen bleibe, sondern neues hämoglobinhaltiges Protoplasma zu produciren fortfahre und auf solche Weise wieder ein neues rothes Blutkörperchen erzeuge. — Wie ich bereits in meiner oben erwähnten Arbeit ausgeführt, scheint mir diese Hypothese zur Erklärung des Ursprunges der kernlosen rothen Blutkörperchen am annehmbarsten: zugleich aber musste ich schon damals hervorheben, dass dieselbe als unerwiesen zu betrachten sein wird, so lange nicht

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

<sup>2)</sup> Rindfleisch, Archiv für mikr. Anatomie. Bd. 17, 1880.

festgestellt ist, dass eine derartige Trennung des Kernes vom farbigen Protoplasma das Product eines im lebenden Elemente verlaufenden Processes sei.

Eine nicht unähnliche Ansicht, wie Rindfleisch, hat Malassez<sup>1)</sup> in vorigen Jahren ausgesprochen. Er giebt an, dass die gekerntem rothen Körperchen des Knochenmarks an ihrer Peripherie Sprossen einer farbigen Substanz aussenden, welche weiter wachsen, und indem sie sich ablösen, ein rothes Blutkörperchen bilden. Wie man sieht, unterscheidet sich diese Hypothese von der von Rindfleisch nur darin, dass nach letzterem Autor nach Ablösung des Blutkörperchens nur der Kern mit farblosem Protoplasma zurückbleibt, während nach Malassez der Kern noch von einer Schicht hämoglobinhaltigen Protoplasmas eingehüllt bleiben soll. Zwar meint Malassez, dass das Wesen des Vorganges nach beiden Theorien ein durchaus verschiedenes sei. „Nach Rindfleisch“, sagt er, „spaltet sich die hämoglobinhaltige Zelle in ihre beiden Bestandtheile, das Protoplasma einerseits, den Kern andererseits; ihre Rolle ist beendet, und es sind so viele Zellen erforderlich als rothe Blutkörperchen geschaffen werden sollen. Nach meiner Theorie dagegen bleibt die rothe Zelle auch nach der Bildung des Blutkörperchens fortbestehen. Für sie war dieses Erzeugniss nur eine Art Secretion, und man begreift wohl, dass wenn der Protoplasma-vorrath genügend ist oder nachgebildet wird, die Zelle noch neue Blutkörperchen erzeugen kann<sup>2)</sup>.“ — Es scheint mir indessen, dass Malassez den Gedanken Rindfleisch's nicht richtig gedeutet hat; wenigstens fand ich an keiner Stelle der Arbeit dieses letzteren Autors eine Andeutung, dass er den von farblosem Protoplasma eingehüllten Kernen, die sich vom Hämoglobinprotoplasma befreit haben, die Fähigkeit abspreche, neues farbiges Protoplasma zu produciren. Er sagt nur: „Für jedes rothe Blutkörperchen, welches im Blut circulirt, ist nach unserer Auffassung ein farbloses Element frei geworden, dessen weiteres Schicksal discutirt werden kann<sup>3)</sup>.“ — Mein Urtheil

<sup>1)</sup> Malassez, Laboratoire d'Histologie du Collège de France. Travaux de 1882.

<sup>2)</sup> Malassez, l. c. p. 16.

<sup>3)</sup> Rindfleisch, a. a. O. S. 38 des Separat-Abdruckes.

über die Theorie von Malassez an und für sich kann nicht wesentlich anders lauten, als dasjenige, welches ich bereits über die Theorie von Rindfleisch ausgesprochen; ich muss nur bemerken, dass die Formen, auf welche sich Malassez stützt, um seine Ansicht zu begründen, mir niemals unter den in indifferenten Flüssigkeiten beobachteten lebenden Elementen vorgekommen sind. Andererseits aber ist das Verfahren, durch welches er sie erhalten (Fixiren durch Osmiumsäure und nachträgliche Färbung), keineswegs dazu angethan den Verdacht auszuschliessen, dass es sich vielleicht um Kunstproducte handle. — Wie man sieht, wo man es mit einem Beobachter wie Malassez zu thun hat, kann ich nur seine Deutung, nicht den objectiven Thatbestand seiner Beobachtung in Frage stellen. — In seiner Arbeit lässt weiter Malassez die jungen gekernten rothen Blutkörperchen von gewissen Zellen mit diffusum Kerne, die er Prothämatoblasten nennt, abstammen. Nach den Abbildungen zu urtheilen, glaube ich, dass es sich um Zellen, die in indirecter Theilung begriffen sind, handle und dass es an der Präparationsmethode liege, wenn an ihnen die cariokinetischen Formen nicht deutlich zu erkennen sind.

Die zweite erwähnenswerthe Hypothese lässt die gekernten rothen Zellen von gewissen Riesenzellen abstammen, die in einigen blutbildenden Organen vorkommen. Diese Zellen sind bereits vor längerer Zeit von Kölliker und Remak in der fötalen Leber und Milz beschrieben worden und wurden später von mir im Knochenmarke nachgewiesen<sup>1)</sup>. Hier muss ich bemerken, dass sie im Knochenmarke ja nicht zu verwechseln sind (wie dies noch neulich von manchen Seiten geschehen) mit jenen anderen Elementen, welche den Namen von Myéloplaques (Robin) oder Osteoklasten (Kölliker) erhalten haben. Schon in meiner eben erwähnten Schrift habe ich hervorgehoben, dass zwischen beiderlei Elementen eine Reihe von Unterschieden besteht, namentlich 1) in der Lagerung, indem die Riesenzellen in der ganzen Dicke des Knochenmarkes vertheilt sind, während die Myéloplaques immer dicht der Knochensubstanz anliegen, so dass sie in einem Querschnitte des Knochens nach aussen von

<sup>1)</sup> Bizzozero, Morgagni. 1869.

jenem scharfen Contour, welcher die Peripherie des Knochenmarks begrenzt, gelagert erscheinen; 2) in der Form, indem die Myéloplaques abgeflacht, von sehr unregelmässigen Contouren begrenzt und gewöhnlich mit Fortsätzen, die zuweilen verzweigt erscheinen, versehen sind; 3) in den Dimensionen, indem die Myéloplaques grösser zu sein pflegen, ja zuweilen um Vieles die Riesenzellen an Grösse übertreffen; 4) in der Beschaffenheit des Protoplasma, welches in den Myéloplaques gewöhnlich grössere Körnchen führt; 5) endlich in der Form und Anordnung der Kerne, die in den Myéloplaques zahlreich, regelmässig und im ganzen Zellenkörper zerstreut sind, während man in den Riesenzellen eine Art nucleären Körpers vor sich hat, der im Centrum der Zelle liegt und nicht etwa aus einem Haufen isolirter Kerne besteht, sondern einen mit vielen Sprossen besetzten Kern, oder, um mich objectiver auszudrücken, mehrere unvollständig und unregelmässig unter einander verschmolzene Kerne darstellt. Diese Eigenthümlichkeiten des Kernes sind es, die mich veranlassten, diese Elemente als Riesenzellen mit centralem, in Knospenbildung begriffenem Kerne zu bezeichnen.

Nun haben Foà und Salvioli<sup>1)</sup> die Ansicht ausgesprochen, dass diese Elemente (sowohl in der Leber und Milz des Embryo, als im Knochenmarke des erwachsenen Thieres) als Erzeuger der gekernten rothen Körperchen fungiren möchten. Aus ihrem nucleären Haufen soll sich eine Knospe erheben, welche, nachdem sie sich vergrössert und abgelöst hat, gegen die Peripherie der Zelle vordringe; hier werde sie von einer Schicht hyaliner Substanz umgeben, die vom Protoplasma geliefert wird; und indem sie ihren Weg nach aussen fortsetze, bilde sie eine an der Peripherie der Zelle vorragende Sprosse. Nachdem sich letztere endlich abgelöst, stelle sie eine kleine Tochterzelle dar, bestehend aus einem Kerne und einer denselben umhüllenden Schicht hyaliner Substanz. Diese würde sich nachträglich mit Hämoglobin färben, und so sei eine gekernte rothe Zelle fix und fertig.

Meine eigenen Beobachtungen haben mir keine sicheren Anhaltspunkte geliefert, um diese Hypothese sei es anzunehmen,

<sup>1)</sup> Foà e Salvioli, Archivio delle scienze mediche. Vol. IV.

sei es abzuweisen. Es ist gewiss, — wie bereits Foà und Salvioli bemerkt haben, — dass in den Organen, wo solche Riesenzellen gefunden werden, im Allgemeinen auch die gekernnten rothen Körperchen vorkommen; doch kann man dieses nur als Wahrscheinlichkeitsgrund gelten lassen. Es wäre ein viel mehr maassgebender Beweis gewesen, wenn man das Protoplasma der Riesenzellen durch Hämoglobin gefärbt oder die gekernnten Zellen schon gefärbt und doch noch z. Th. mit den Riesenzellen verschmolzen gesehen hätte; aber das habe ich nie gesehen und glaube auch nicht, dass es von Anderen gesehen worden sei. Foà und Salvioli glauben, dass die Färbung durch Hämoglobin später geschehe, wenn die Tochterzellen bereits frei geworden sind; allein auch hier würden wir denselben Beweis verlangen, den wir hinsichtlich der Theorie von der Umwandlung der weissen Blutkörperchen für erforderlich erklärten. Arnold, der sich neuerdings mit den Riesenzellen beschäftigt hat, liess ebenfalls die Frage ungelöst<sup>1)</sup>. — Sehr wesentlich ist es übrigens zu bemerken, dass die Frage nicht von allgemeinerem Interesse ist; sie betrifft nur die Säugethiere; denn es ergibt sich aus den gemeinsam von Torre und mir angestellten Untersuchungen, dass bei den anderen Wirbelthierklassen in den als Bildungsstätten der rothen Blutkörperchen fungirenden Organen die Riesenzellen fehlen.

All das bisher Besprochene lässt sich kurz dahin zusammenfassen, dass keine von den Ansichten, die über den Ursprung der rothen Blutkörperchen beim erwachsenen Thiere laut geworden sind, sich über das Niveau einfacher Hypothesen erhoben hat.

Ganz anders verhält es sich mit der Frage über die Vermehrung der Blutkörperchen beim erwachsenen Thiere auf dem Wege der Zellentheilung. Als ich zuerst davon im Jahre 1869 sprach, waren die Erscheinungen der Cariokynesis noch in der Wissenschaft unbekannt und hatten daher dieselben meine Aufmerksamkeit nicht auf sich gezogen. Indess waren die von mir beschriebenen Bilder genügend, um festzustellen, dass es sich um einen Theilungsvorgang handelte; zugleich hatte ich die

<sup>1)</sup> Arnold, Dieses Archiv. Bd. 93. S. 18 u. 19.

Möglichkeit ausgeschlossen, dass man es etwa mit accidentellen Formen zu thun hätte: dagegen sprach ihre grosse Anzahl sowohl, als ihre vollkommene Aehnlichkeit mit den embryonalen Formen rother Blutkörperchen.

Allein diese meine Ansicht über die Entstehungsweise der rothen Blutkörperchen bei Erwachsenen hatte keinen grossen Anklang gefunden, und glaube ich, dass die Ursache dieses Misserfolges in der Skepsis lag, die dazumal in der Wissenschaft gegen die Zellentheilung herrschte. Ich meinerseits konnte mich um so weniger von dieser allgemeinen Stimmung beeinflussen lassen, als ich seit zwei Jahren die Theilung weisser Blutkörperchen vor meinen Augen hatte, vor sich gehen sehen<sup>1)</sup> und daher keinen Grund hatte, das Vorkommen eines ähnlichen Processes bei den rothen Blutkörperchen in Zweifel zu ziehen. — Einige bestätigende Beobachtungen kamen mir allerdings, wie-wohl erst viel später, zu Hülfe, dieselben rührten namentlich von Foà und Salvioli<sup>2)</sup>, von Rindfleisch<sup>3)</sup> und von Tizzoni her.

<sup>1)</sup> Es wird gewöhnlich angegeben, dass die Theilung lebender weisser Körperchen (Wanderzellen entzündeter Gewebe, farblose Blutkörperchen u. s. w.) zuerst von Stricker, Klein und Ranvier gesehen worden sei, deren Beobachtungen im Jahre 1870 oder später veröffentlicht wurden. Dagegen erlaube ich mir zu bemerken, dass ich bereits im Jahre 1868 in meiner Arbeit „Sul processo di cicatrizzazione dei tendini tagliati“ (Annali univ. di medicina) auf p. 13 des Separatabdruckes diese Worte geschrieben hatte: „Ich habe mehrere Male, mit dem Auge am Oculare des Mikroskopes, die Theilung der Wanderzellen aus dem Knochenmarke des Frosches verfolgen und feststellen können, dass die so entstandenen Zellen sich hernach lebhaft zu bewegen fortfahren, — ein Beweis, dass es sich um einen Vorgang handelte, der im lebenden Elemente stattgefunden hatte, und dass die beiden neugebildeten Zellen eben wahre Zellen und keine Zellenfragmente darstellten.“ In meiner im Jahre 1869 erschienenen Arbeit über das Knochenmark beschrieb ich den Vorgang eingehender (p. 6 und 7 des Separatabdruckes). Es bedarf daher keiner weiteren Ausführungen, um festzustellen, dass meine Beobachtungen über die Theilung der weissen Blutkörperchen um 2 Jahre älter sind als die der genannten Autoren.

<sup>2)</sup> Foà e Salvioli, Archivio delle scienze mediche. Vol. IV.

<sup>3)</sup> Rindfleisch, Archiv für mikroskopische Anatomie. Bd. 17.



Ein entscheidender Schritt zur Lösung der Frage wurde, meines Erachtens, gethan, als ich nachwies, dass die Theilung der rothen Blutkörperchen beim Erwachsenen auf dem Wege der Cariokynesis erfolgt<sup>1)</sup>. Zu den charakteristischen Formveränderungen der Zelle treten hier die noch mehr bezeichnenden Veränderungen der Form und Constitution des Zellenskerns hinzu, welche, bis auf einige Einzelheiten, vollkommen den cariokinetischen Formen entsprechen, die uns die Theilung anderer zelliger Elemente des Körpers darbietet. Diese meine Beobachtungen über die indirecte Theilung der rothen Blutkörperchen wurden bald von anderen Autoren bestätigt, unter welchen ich, als den competentesten Beobachter auf diesem Gebiete, Prof. Flemming<sup>2)</sup> und aus der allerletzten Zeit J. Arnold<sup>3)</sup> nennen will. Ueberdies wurde, wie aus der vorhergehenden Arbeit (von Torre und mir) ersichtlich, die Cariokynesis der rothen Blutkörperchen in allen Klassen der Wirbelthiere nachgewiesen.

Wem aber vielleicht die 8-förmige Figur rother Blutkörperchen und die verschiedenen cariokinetischen Formen ihrer Kerne noch nicht überzeugend genug scheinen, um einen Theilungsprozess derselben darzuthun, dem kann ich einen Beweis liefern, der über alle Zweifel erhaben ist: es kann nemlich eines der wichtigsten Stadien des Theilungsprozesses direct unter dem Mikroskope an den lebenden Elementen beobachtet werden. Solches ist mir vor längerer Zeit in einigen seltenen Fällen bei Warmblütern gelungen<sup>4)</sup>; späterhin habe ich viel öfter derartige Beobachtungen an kaltblütigen Thieren (Eidechse, Frosch, Wassermolch, Erdmolch) angestellt. Die Beobachtung ist leicht zu wiederholen. Man nehme von einem lebenden Triton ein Stückchen Milz, zerzupfe es rasch in einem Tropfen 0,35—0,40procentiger Kochsalzlösung, lege ein Deckgläschen auf und verhindere die Verdunstung, indem man einen Tropfen Oel längs der Ränder des letzteren ausbreitet.

<sup>1)</sup> Bizzozero, Centralblatt f. d. med. Wissenschaften. No. 8. 1881. und Moleschott's Untersuchungen.

<sup>2)</sup> Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig. Vogel. 1882. S. 193 u. 289.

<sup>3)</sup> Arnold, Dieses Archiv. Bd. 93. Juli 1883. S. 2.

<sup>4)</sup> Bizzozero, Moleschott's Untersuchungen, a. a. O.

Alsdann beobachte man das Präparat bei 30—35° C. auf einem erwärmbaren Objectträger. Auch bei nur 400facher Vergrößerung wird man, wenn der Triton wohlgenährt war, oft Blutkörperchen bemerken, welche, trotzdem ihr Kern nicht sichtbar ist, an ihrem glänzenden Aussehen und ihrer Grösse als in Cariokinesis begriffen zu erkennen sind. Man wähle darunter eines, welches nur eine leicht längliche Form besitzt, und behalte es in Beobachtung; oft wird man dann sehen, dass nach einigen Minuten eine äquatoriale Einschnürung des Protoplasma sich einzustellen beginnt, welche immer tiefer wird, bis endlich das Blutkörperchen in zwei Hälften getheilt ist, die nur noch durch einen sehr kurzen Faden farbloser Substanz zusammenhängen. Auch wenn man mit der Beobachtung weiter fortfährt, gelingt es nicht, die völlige Trennung beider Hälften von einander wahrzunehmen. Solches gelingt nur zuweilen, wenn man im Präparate die Elemente plötzlich verschiebt und so gleichsam die Verhältnisse nachahmt, unter welchen sich die Elemente normaler Weise im Blutkreislaufe und in den blutbildenden Organen befinden. Fig. 2 zeigt die successiven Formveränderungen, welche ein in Theilung begriffenes Blutkörperchen von Triton im Laufe von 8 Minuten darbot. Man kann den Versuch vereinfachen, indem man das Präparat bei gewöhnlicher Temperatur (15—18° C.) hält und keinen Oelrahmen um die Ränder des Deckgläschens anbringt; unter solchen Umständen erfolgt die Theilung etwas langsamer. Setzt man zum Präparate während des Versuches einen Tropfen 0,5procentiger Essigsäure zu und behält dann ein in Theilung begriffenes Blutkörperchen im Auge, während es der Einwirkung der Essigsäure unterliegt, so sieht man wie gewöhnlich sein Protoplasma farblos und durchscheinend werden, und kann sich alsdann überzeugen, dass es sich wirklich um eine cariokinetische Theilung handle: denn man erblickt in jeder Hälfte der Zelle einen gewöhnlichen sternförmigen Tochterkern (wie in Fig. 3 a). Da diese Theilung lebender Blutkörperchen gleich nach der Darstellung der Präparate abläuft, so wird man in jedem Präparate nur die Theilung eines oder zweier Blutkörperchen verfolgen können; denn nach Ablauf der 15—20 Minuten, die zu dieser Beobachtung erforderlich sind, haben die theilungsfähigen Elemente schon sämmtlich ihre Theilung voll-

endet. Es ist indessen leicht die Beobachtung zu wiederholen, indem man von dem noch lebenden Thiere weitere Milzstückchen nimmt und in obiger Weise untersucht.

Aus dem Mitgetheilten geht hervor, dass man unter dem Mikroskope denjenigen Theil des Theilungsprozesses direct verfolgen kann, der den Zellenkörper betrifft. Was die Vorgänge am Zellkern anlangt, so können dieselben kein Gegenstand der Beobachtung am lebenden Elemente sein, weil die Undurchsichtigkeit des hämoglobinhaltigen Protoplasma Alles, was im Innern der Zelle vor sich geht, dem Auge entzieht. Damit man im lebenden Zustande die Veränderungen des Kernes verfolgen könnte, müsste man ein Thier mit durchsichtigerem Hämoglobinprotoplasma auffinden, als es der Fall ist bei all den Thierarten, die bisher zu solchen Studien benutzt worden sind.

Aus diesem Vorgange der indirecten Theilung gehen jene Elemente hervor, die wir mit dem Namen junger rother Körperchen bezeichnet haben und die sich, je nach den Thierklassen, im Knochenmarke, in der Milz, in der Niere oder im circulirenden Blute vorfinden. Diese Elemente können ein verschiedenes Schicksal haben. Einige unterliegen ihrerseits der indirecten Theilung und dienen so zur Vermehrung der Zahl der jungen Körperchen; andere dagegen flachen sich ab, vermehren ihr Hämoglobinprotoplasma, verlieren bei den Säugethiere ihren Kern und verwandeln sich auf solche Weise nach und nach in erwachsene und vollkommene rothe Blutkörperchen.

Bei den Kenntnissen, die wir nunmehr über das Leben der rothen Blutkörperchen erlangt haben, bedarf es keiner weitläufigen Auseinandersetzungen, um die Ansicht von Pouchet<sup>1)</sup> zu widerlegen, wonach diejenigen jungen rothen Körperchen, die sich im Knochenmarke vorfinden, nicht etwa bestimmt sind, sich zu gewöhnlichen rothen Blutkörperchen umzuwandeln, sondern Markzellen oder weisse Körperchen darstellen, welche einer eigenthümlichen Degeneration, einer Hämoglobinentartung, anheimfallen. Nach Pouchet also erzeugen z. B. die kernhaltigen rothen Körperchen der Säugethiere keine wahren rothen Blutkörperchen, gelangen überhaupt nicht in den Kreislauf, sondern

<sup>1)</sup> Pouchet, Gazette médicale. 1879. p. 184.

ihr Kern verkümmert nach und nach und schwindet, und was den Zellkörper anlangt, so verfällt auch dieser der endlichen Auflösung. — Diese Annahme, dass die jungen rothen Körperchen in Entartung begriffene Zellen seien, erweist sich aus mehreren Gründen unhaltbar: 1) zeigen die jungen Körperchen die charakteristischsten Merkmale wahrer rother Blutkörperchen, schrumpfen z. B. in concentrirten Lösungen ein und zerfallen zu kleinen Tröpfchen, wenn sie auf 52° C. erwärmt werden<sup>1)</sup>; 2) sind sie einer activen Vermehrung durch Theilung fähig, was sich in keiner Weise mit der Annahme vereinbaren lässt, dass sie sich im Zustande der Entartung befänden; 3) sind sie identisch mit den in den ersten Stadien des Embryonallebens im Blute circulirenden Elementen, welche zu jener Zeit die einzigen Vertreter der rothen Blutkörperchen darstellen; 4) finden sich diese Gebilde bei den niederen Wirbelthierklassen auch im circulirenden Blute des erwachsenen Thieres vor und zeigen eine Reihe von Uebergängen zu den wahren erwachsenen und vollkommenen rothen Blutkörperchen.

So lauten die Ergebnisse der directen Beobachtung, und sie scheinen mir den Schluss zu rechtfertigen, dass bisher keine andere Vermehrungsweise der rothen Blutkörperchen, als nur die durch indirecte Theilung, mit der in der Wissenschaft erforderlichen Strenge erwiesen worden ist. Was man sonst über andere Entstehungsweisen schreibt, sind blosse Hypothesen; zu solchen würde man nur dann seine Zuflucht nehmen müssen, wenn das Product der Theilung ungenügend erschiene, die täglichen Verluste zu decken, welche das Blut an rothen körperlichen Elementen erfährt. Indessen sind wir zur Zeit ausser Stande, dieses Verhältniss zwischen Production und Verbrauch der rothen Blutkörperchen zu prüfen, indem wir keine Mittel besitzen, die Zahl der täglich untergehenden und die der täglich producirten Blutkörperchen zu bestimmen. In dieser Hinsicht liegen jedoch einige Thatsachen vor, welche die Richtigkeit der indirecten Theilung beweisen.

Vor Allem gehört dahin die bedeutende Zahl, in welcher die cariokynetischen Formen auch unter normalen Bedingungen

<sup>1)</sup> Bizzozero, Midollo delle ossa. Morgagni 1869.

angetroffen werden. Wer sich davon aus eigener Anschauung eine Vorstellung machen will, dem empfehle ich, seine Untersuchungen an Objecten anzufangen, wo die Theilungsformen deutlicher zu erkennen sind, also etwa am Knochenmarke des Meerschweinchens, der Eidechse, des Frosches, oder besser noch an der Milz von Triton oder Salamandra, wo die Elemente sowohl durch die Schönheit der cariokinetischen Formen als durch ihre Grösse bei weitem die von anderen Thieren übertreffen.

Eine andere Thatsache liegt in der Geschwindigkeit, mit welcher die Theilung erfolgt. Wir sahen, dass die Theilung einer Zelle nur wenige Minuten erheischt; die des Kernes aber dürfte, so weit sich aus den Beobachtungen von Flemming über andere Zellenformen schliessen lässt, ebenfalls in kürzester Zeit vollbracht werden<sup>1)</sup>. Nun ist es aber klar, dass wenn die Zahl der in einem gegebenen Organe enthaltenen Theilungsformen gleichbleibend gedacht wird, die Zahl der darin producirten Körperchen um so grösser ausfallen muss, je rascher sich die Zellen theilen. Demnach wird das Organ innerhalb eines bestimmten Zeitraumes eine erhebliche Menge von Blutkörperchen liefern können, auch wenn die Zahl der in demselben jeweilig nachweisbaren Elemente eine relativ geringe ist.

Eine dritte Thatsache ist der constante Wechsel der Zahl der cariokinetischen Elemente je nach dem grösseren oder geringeren Bedarf des Organismus nach rothen Blutkörperchen. So sahen wir bei allen Wirbelthierklassen die Theilungsformen bei der Inanition schwinden, in Folge von Aderlässen dagegen ausserordentlich zunehmen.

Von sehr grossem Belange für die in Rede stehende Frage scheint mir endlich noch der Umstand, dass, von den ersten Phasen des Embryonallebens an, es keine Lebensperiode giebt, wo die Cariokinesis der rothen Blutkörperchen fehlt. — Es unterliegt keinem Zweifel, dass wenn die Cariokinesis für einen gewissen Zeitraum aufhörte und trotzdem während desselben eine continuirliche Production rother Blutkörperchen stattfände, letztere nur durch einen anderen Bildungsmodus dieser Elemente erklärt werden könnte. Dieses ist

<sup>1)</sup> Flemming, a. a. O. S. 270.

aber nicht der Fall, soweit die bisherigen Beobachtungen lehren; die Cariokinesis ist continuirlich, und nur die Stätte, wo sie sich vollzieht, wechselt im Laufe der individuellen Entwicklung.

Bei den Säugethieren ist dieses durch die Untersuchungen von Foà und Salvioli festgestellt. Indem sie die Untersuchungen von Kölliker, Neumann und Anderen über die hämatopoetische Thätigkeit der Milz und Leber im Embryonalleben wiederholten und weiter ausführten, fanden sie, dass in dem Maasse, als die kernhaltigen rothen Zellen und die Theilungsformen im circulirenden Blute abnehmen, sie dem entsprechend in der Leber zahlreicher werden; dass in einer späteren Periode diese Formen wieder in der Leber zurücktreten, während sie sich in der Milz mehren; dass aber zuletzt, gegen das Ende des Intrauterinlebens, ihre Zahl in der Milz spärlich wird, um dafür im Knochenmarke zu wachsen. Wir sehen also, dass bei den Säugethieren, im Embryonalleben, als Heerde der Cariokinesis der rothen Blutkörperchen, das circulirende Blut, die Leber, die Milz und endlich das Knochenmark auf einander folgen; an letztgenanntes Organ bleibt alsdann dieser Vorgang für das ganze Leben gebunden. Nur unter besonderen Umständen, z. B. nach profusen Blutungen, kann bei einigen Säugethieren die hämatopoetische Thätigkeit der Milz vorübergehend auch im Extrauterinleben wiedererwachen<sup>1)</sup>.

Angesichts dieser bei den Säugethieren gewonnenen Resultate hielt ich es für lohnend, die Untersuchungen auf andere Thierklassen auszudehnen, und wählte hierzu den Frosch, den Triton und das Huhn.

Was den Frosch anlangt, so bediente ich mich der Eier von *Rana agilis*, die ich im Monate April in meinem Laboratorium bei gewöhnlicher Temperatur sich entwickeln liess. Die Untersuchungen wurden jedesmal in 0,70—0,75 procentiger Kochsalzlösung angestellt.

Bei 8tägigen Froschlarven enthält das Blut (das man sich leicht verschafft, indem man der Kaulquappe in einem Tropfen der Kochsalzlösung mit einem Scheerenschlage den Schwanz abschneidet) rothe Blutkörperchen, die in solchem Maasse mit

<sup>1)</sup> Bizzozero und Salvioli, Moleschott's Untersuchungen. Bd. XII. Hft. 5.

Dotterkörnchen angefüllt sind, dass das Hämoglobinprotoplasma gar nicht zum Vorschein kommt und der Kern nur als ein in dem Körnchenhaufen eingeschlossener Raum erkennbar ist.

Bei 10- und 11tägigen Larven sind die Dotterkörner schon in entschiedener Abnahme begriffen; die Blutkörperchen erscheinen deutlich oval,  $28\mu$  lang,  $22\mu$  breit (hie und da sieht man jedoch kleinere), sie zeigen deutlich das Hämoglobinprotoplasma und lassen einen schönen ovalen Kern erblicken, in welchem, bei Zusatz von etwas Methylviolett zum Präparate, ein oder zwei intensiv gefärbte Kernkörperchen hervorstechen. Einige Blutkörperchen enthalten auch 2 Kerne. Schon in diesem ersten Lebensstadium erscheinen die rothen Blutkörperchen in reger Theilung begriffen. In Fig. 6 habe ich die Formveränderungen abgebildet, welche ein mit Dotterkörperchen angefülltes Blutkörperchen im Laufe von 15 Minuten darbot und welche mit der Bildung zweier, bloss durch einen dünnen und sehr kurzen farblosen Faden zusammengehaltener Körperchen endeten. Die carioskynetischen Formen des Zellkerns schimmerten nur als ein weniger gefärbter Fleck durch.

Am 14. Tage sind die rothen Blutkörperchen oval, abgeflacht, von wechselnder Grösse, aber immer noch im Allgemeinen grösser als beim erwachsenen Thiere. Ihr Protoplasma ist deutlich rothgelb und enthält noch einige Dotterkügelchen, worunter einige sehr grosse. Viele Blutkörperchen sind in Theilung begriffen, und an einigen derselben konnte ich die Spaltung des Zellkörpers unter meinen Augen erfolgen sehen. Dieselbe wurde in 10—15 Minuten vollbracht.

Bei 17tägigen Larven sind die Dotterkörnchen gänzlich aus den Blutkörperchen verschwunden, und wie gewöhnlich sind hier die Theilungsformen zahlreich, welche jene unregelmässige Form darbieten, die von mir und Torre in unserer vorhergehenden Arbeit als eine auch beim erwachsenen Frosche vorkommende beschrieben wurde (Fig. 1). Bei der Entwicklung, welche der Schwanz erlangt hat, ist es in dieser Lebensperiode leicht, sich am curarisirten Thiere zu überzeugen, dass, wie wir in der vorigen Arbeit hervorgehoben, diese unregelmässige Form der in Theilung begriffenen Blutkörperchen kein Kunstproduct, kein Erzeugniss der Präparationsmethode ist, sondern auch an den

beim lebenden Thiere circulirenden Elementen gesehen werden könne.

Die Theilung der rothen Blutkörperchen im circulirenden Blute des Frosches dauert während des ganzen Larvenlebens, nach den Beobachtungen von Peremeschko sogar, wiewohl in sehr beschränktem Maasse, beim erwachsenen Thiere an. — Ich habe nicht genau feststellen können, wann die Hauptstätte der Theilung sich in einem Organe zu localisiren anfängt. So lange die Larven einen Schwanz besitzen, geschieht dieses weder in der Milz noch in der Leber. Bei im August gefangenen jungen Fröschen, die erst seit ganz Kurzem den Schwanz verloren hatten, enthielt das Blut noch eine bedeutende Anzahl Theilungsformen, während die Milz, die Leber und das Knochenmark (das ich in kleiner Menge aus den Diaphysen der Tibia und des Femur habe gewinnen können) nicht mehr davon aufwiesen, als etwa die Menge, welche dem in ihren Gefässen enthaltenen Blute angehören mochte. Bei etwas grösseren Fröschen ergaben mir die Milz und die Leber denselben Befund; im Blute aber waren die Theilungsformen spärlicher, dafür zeigte jetzt das Knochenmark (das ich aus dem Femur, der Tibia und dem Humerus gewann) eine bedeutende Menge sowohl von jugendlichen Formen, als auch von Theilungen. Kaum brauche ich hinzuzufügen, dass diese letzteren die gewöhnliche unregelmässige geschrumpfte Form darboten, so dass man nach Färbung mit Methylviolett noch 0,5procentige Essigsäurelösung zusetzen musste, um sie gut sehen zu können.

Aus diesen meinen Beobachtungen würde sich also ergeben, dass beim Frosche der Prozess sich einfacher abwickelt, als bei den Säugethieren, und dass die Cariokynesis sich nur im Knochenmarke localisirt.

Das Gleiche können wir vom Triton und von der Salamandra sagen. Bei diesen Thieren habe ich keine so continuirlichen Untersuchungen angestellt als beim Frosche; doch konnte ich auch hier die Continuität des Vorganges der Cariokynesis feststellen. Denn bei relativ reifen Larven dieser Thiere kann man das Blut noch ziemlich reichlich mit cariokynetischen Formen ausgestattet sehen, während die Milz schon eine sehr grosse Menge davon enthält und also schon zu jener Bildungsstätte der



rothen Blutkörperchen geworden ist, als welche sie bei diesen Thieren lebenslang zu fungiren bestimmt ist.

Beim Hühnchen zeigt der Verlauf des Processes eine grössere Aehnlichkeit mit dem den Säugethieren eigenen Gange, wie ich mich davon an zahlreichen Eiern überzeugen konnte, die ich in einem Wisnegg'schen Brütofen bei einer constanten Temperatur von 37—38° C. aufzog.

Bei 60 Stunden alten Embryonen zeigt das Blut, in 0,75procentiger Kochsalzlösung untersucht, polyedrische, nicht abgeflachte rothe Blutkörperchen, welche etwas weniger gefärbt sind als beim erwachsenen Thiere. Ihre Kerne sind unsichtbar; es scheinen nur 1—2 grosse, eckige, unregelmässige Kernkörperchen durch. Auf Zusatz von Methylviolett werden auch die Kerne sichtbar und erscheinen gross, oval, mit dickem und regelmässigem Contour (Fig. 7a). Bewahrt man das Präparat eine Zeit lang auf, so ändern die Blutkörperchen ihre Form und es theilt sich ihr Protoplasma in 2 Portionen: eine körnige, durch Methylviolett gefärbte, welche den Kern umgiebt, und eine hyaline, welche die röthlich-gelbe Farbe des Hämoglobins bewahrt (Fig. 7b). Diese Körperchen enthalten also noch eine ziemliche Menge farblosen, körnigen, ursprünglichen Protoplasmas, welches später immer mehr abnimmt, bis es endlich in den erwachsenen und vollkommenen Blutkörperchen ganz schwindet. — Nun bemerkt man unter diesen Blutkörperchen, wie bereits E. Funke u. A. beobachtet haben, zahlreiche Theilungsformen, die sich sowohl durch die gewöhnlichen Merkmale des Kerns, als auch durch die Form des Zellkörpers und sein grösseres Volumen auszeichnen. Lässt man vorsichtig Essigsäure einwirken, so werden nach einer gewissen Dauer ihrer Einwirkung die cariokynetischen Formen sehr deutlich, und in den Zellen mit doppeltem Sterne kann man öfters die achromatischen Fäden erblicken (Fig. 7c), welche jedoch bei weiter gediegener Wirkung der Essigsäure sämmtlich unter den sich niederschlagenden Körnchen verschwinden.

Am 3.—4. Tage erlangen die rothen Blutkörperchen nach und nach ihre typische abgeflachte Form; doch ist ihr Durchmesser sehr schwankend. Die Theilungsformen sind immer sehr zahlreich,

Gegen den 6. Tag fangen die Theilungsformen im circulirenden Blute an Zahl abzunehmen an, und gegen den 8. oder 9. Tag werden sie immer spärlicher. Zu bemerken ist jedoch, dass sie oft nicht so bald gänzlich verschwinden, so dass man einige auch noch in der zweiten Hälfte der Brütungsperiode antreffen kann. So sah ich z. B. einige im Blute eines Hühnchens noch am 14. Tage der Bebrütung.

Die Abnahme in der Zahl der cariokinetischen Formen im circulirenden Blute lässt natürlich vermuthen, dass sie sich um diese Zeit in irgend einem der blutbildenden Organe anhäufen dürften, und richtete ich daher meine Aufmerksamkeit auf diese letzteren. Die Leber ergab mir inconstante Resultate; bei einigen Hühnchen zeigte sie vom 8. zum 11. Tage etwas mehr Theilungsformen als das Blut; in den meisten Fällen aber enthielt sie nur so viele, als dahin mit dem circulirenden Blute gelangt sein konnten. Anders verhielt es sich mit der Milz. Dieselbe kann bei 8—9tägigen Embryonen schon leicht isolirt werden, indem man den Magen nach rechts verschiebt; sie erscheint dann in Gestalt eines rosa-farbenen oder rothen Kügelchens von nahezu 1 mm Durchmesser; bei 10—11tägigen Embryonen ist sie bereits hirsekorngross. Stellt man daraus Zupfpräparate dar, so findet man darin, neben weissen Blutkörperchen und erwachsenen rothen, zahlreiche Theilungsformen der rothen Elemente. Diese letzteren finden sich hier auch dann vor, wenn sie im Blute spärlich sind, zum Beweise, dass sie wirklich in diesem Organe gebildet werden. Denselben Befund hatte ich auch an den folgenden Tagen, z. B. am 14. Aber um diese Zeit verliert er seine Bedeutung, indem nun das Knochenmark schon eine hämatopoetische Verrichtung übernommen hat. Bei 10—11tägigen Hühnerembryonen ist das Knochenmark, als blutbildendes Organ, so gut wie gar nicht vorhanden; aber schon am 14. Tage enthalten Femur, Tibia und die beiden Tarsalknochen ein dunkelrothes, sehr weiches Knochenmark, das an seiner Oberfläche zahlreiche Osteoklasten zeigt, in seinem Parenchyme aber, neben zahlreichen weissen Elementen, nur wenige erwachsene rothe Blutkörperchen und dafür sehr viele junge und in Theilung begriffene enthält. Ja, durch seinen grossen Reichtum an diesen Formen erinnert das Knochenmark solcher Em-

bryone an das der erwachsenen Vögel, die durch wiederholte Aderlässe anämisch gemacht worden sind.

Beim Hühnerembryo also geht die Cariokynesis erst im Blute vor sich, dann in der Milz und zuletzt im Knochenmarke, wo sie dann das ganze Leben hindurch fort dauert. Der einzige Unterschied von den Säugethieren betrifft die Leber, deren Betheiligung, wie oben erwähnt, ich bei Hühnerembryonen inconstant fand. Freilich bleibt unentschieden, ob dieser Befund dem wahren Sachverhalte entsprach, oder vielleicht nur darauf beruhte, dass die Betheiligung der Leber von sehr kurzer Dauer ist und ich bei der Untersuchung meiner Embryonen nicht immer den Augenblick traf, wo sie eben im Gange war.

Nachdem ich auf solche Weise die Intensität und Continuität des Theilungsprozesses der rothen Blutkörperchen beim erwachsenen Thiere festgestellt habe, kann und will ich — das mag hier wiederholt werden — keineswegs ausdrücklich die Möglichkeit ausschliessen, dass die genannten Elemente, den oben besprochenen Hypothesen gemäss, vielleicht auch noch auf anderen Wegen entstanden. Ich weiss nur zu gut, dass in den Beobachtungswissenschaften die strenge Begründung einer Negation unmöglich ist. Indessen glaube ich, dass es zu nichts führt, weiter von diesen Hypothesen zu reden, so lange ihre Vertreter nicht die Nothwendigkeit derselben erwiesen oder doch besser überzeugende Gründe zu deren Gunsten vorgebracht haben werden, als sie es bisher gethan haben.

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel I.

- Fig. 1. Verschiedene Formen in Theilung begriffener rother Blutkörperchen vom Frosche. In den Blutkörperchen aa geht die Theilung des Zellkörpers vor sich. Vergrösserung 600.
- Fig. 2. Successive Formen, welche ein rothes Körperchen vom Triton während der Theilung seines Zellkörpers darbietet (aus der Milz — Untersuchung in 0,35procentiger Kolchsalzlösung). Vergr. 430.
- Fig. 3. Einige cariokynetische Formen, die an den rothen Körperchen von Triton beobachtet werden (Zupfpräparat aus der frischen Milz in

0,35procentiger Kochsalzlösung mit Methylviolett, nachträglich mit 0,5procentiger Essigsäurelösung behandelt). Vergr. 600.

- Fig. 4. Rothe Blutkörperchen von eigenthümlicher Form, die zuweilen im Blute von *Carassius auratus* vorkommen. Vergr. 600.
- Fig. 5. Rothe Blutkörperchen von Fischen, in indirecter Theilung begriffen. Vergr. 600.
- Fig. 6. Blut einer 11tägigen Larve von *Rana agilis*, in 0,75procentiger Kochsalzlösung untersucht. a Rothcs Blutkörperchen, den Kern und mehrere Dotterkörnchen enthaltend. b b' Theilung des Zellkörpers eines rothen Blutkörperchens, die innerhalb 15 Minuten unter den Augen des Beobachters vollbracht wurde. Der in Cariokynesis begriffene Kern schimmert als ein hellerer Fleck durch. Nach Behandlung mit Essigsäure kommt jedoch sofort seine gewöhnliche Structur zum Vorschein. Vergr. 600.
- Fig. 7. Blut eines Hühnerembryo nach 60stündiger Brütung, untersucht in einer mit Methylviolett gefärbten 0,75procentigen Kochsalzlösung. a Rothe Blutkörperchen, wie sie sich gleich nach der Darstellung des Präparats darbieten. b Rothe Blutkörperchen, einige Zeit nach der Darstellung des Präparats. Das Protoplasma des Blutkörperchens hat sich in 2 Portionen geschieden: eine körnige, die um den Zellkern gehäuft ist, und eine hyaline (erstere erschien in der Wirklichkeit violett gefärbt durch das Methylviolett, letztere dagegen gelb durch Hämoglobin). c Rothcs Blutkörperchen, in Cariokynesis begriffen. Erst wurde dasselbe mit der obigen Lösung gefärbt, dann mit 0,5procentiger Essigsäurelösung behandelt. Man sieht die farblosen Fäden, die zwischen den beiden Sternen verlaufen. Vergr. 600.

