

**XXII.****Zur Theorie der Kerntheilung.**

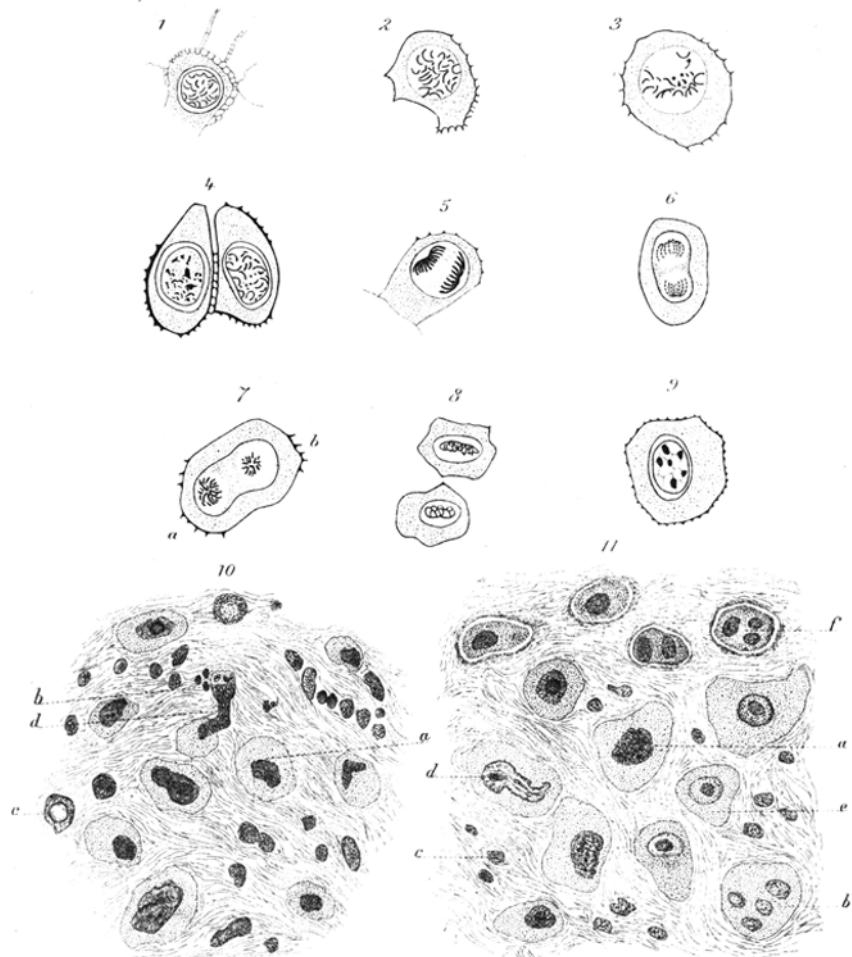
(Aus dem pathologisch-histologischen Institut in Wien.)

Von Dr. Emil Schwarz.

(Hierzu Taf. VIII. Fig. 1—9.)

Die Lehre von der indirekten Zelltheilung, welche für die Morphologie der Zelle von so weittragender Bedeutung geworden ist, war merkwürdiger Weise nicht im Stande etwas zur Klärung der biologischen Beziehungen zwischen Kern und Zellsubstanz beizutragen, sondern im Gegentheile complicirten sich unsere Vorstellungen in dem Maasse, als die Vorgänge der Theilung des Genauerens bekannt wurden. Während man früher sich auf Beziehungen zwischen Kern- und Zellsubstanz beschränken konnte, indem alles was Kern war und was Zellsubstanz war als gesondert betrachtet werden konnte, wurde gerade durch die Beobachtungen während der Theilung die Selbständigkeit der beiden als Organe der Zelle derart verwischt, dass von einer beigeordneten oder gar untergeordneten Function dieser beiden Theile kaum mehr gesprochen werden kann. Da nehmlich während der Zelltheilung, d. h. während der Entwicklung einer jungen Zellsubstanz und eines jungen Kernes Elemente des einen zum Aufbaue des anderen verwendet werden, so ist wohl von einer strengen Scheidung der beiderseitigen Functionen kaum mehr zu sprechen. Wenn Strasburger<sup>1)</sup> und seine Schule angeben, dass die achromatische Figur des Kernes aus der Zellsubstanz stamme, so haben wir hier den Uebergang von Zellsubstanz (Filarmasse?) in den Kern. Aeussert sich dagegen die andere Schule dahin, dass das Achromatin wohl aus dem Kerne stamme, bei der Theilung aber aus demselben ausgeschaltet wird, so ist dies das Gegentheil des früheren. Wie Stras-

<sup>1)</sup> Strasburger, Zellbildung und Zelltheilung. Jena 1878. — Die Controversen der indirekten Kerntheilung. Arch. f. mikrosk. Anat. XXIII.



burger bei Pflanzenzellen, so lässt Henneguy<sup>1)</sup> bei den Zellen des Fischkeimes das Achromatin aus der Zellsubstanz stammen und wie Flemming<sup>2)</sup> bei den Hodenzellen von Salamandra, zeigt Platner<sup>3)</sup> bei Pulmonaten den Uebergang von Kernsubstanz in die Zellsubstanz. Die morphologische Selbständigkeit des Kernes leidet bei ersterer, die der Zellsubstanz bei letzterer Auffassung. Ich bin deshalb durchaus nicht der Meinung, dass etwa Kern ohne Zellsubstanz eine selbständige Existenzfähigkeit besitze, obwohl auch dafür schon Ansichten eingetreten sind unter dem Hinweise auf die Bakterien, deren Tinctionsverhältnisse so auffallend an die Kerne erinnern, dass für diese Objecte schon einmal die Auffassung als selbständige chromatische Kernsubstanz promulgirt worden ist. Allein da diese Objecte in ihrem Aufbau unseren Forschungsmethoden noch nicht zugänglich sind, so wäre eine auf solche Hypothesen gestützte biologische Anschauung mehr als gewagt. Es bleibt also nur das immer und überall bewiesene Zusammensein zweier Substanzen in verschiedener Organisation als Zellsubstanz und Zellkern als fester Untergrund für jedwede biologische Betrachtung. Und gerade hier hat die Zellheilungslehre mehr verwischt als begrenzt, indem bald die Eigenart der Zellsubstanz, bald der Kernsubstanz durch Aufnahme neuer Elemente modifizirt und in einander übergeleitet wurde.

Wo aber liegt der Punkt, von dem aus sich diese Ansichten ihre Bahn gebrochen, welcher daher auch der Angelpunkt sein muss, um den sich eine gegentheilige Beweisführung zu drehen hat. Die Antwort darauf ist folgende: Ich habe Eingangs hervorgehoben, dass die verschiedenartigen Schicksale der einzelnen Substanzen die Einsicht so sehr complicirt haben. Hinzufüge ich nun, dass es speciell eine bestimmte Beobachtung war, die zu Eingangs citirten Anschauungen allein die thatsächliche Basis abgeben konnte. Es ist dies die Auflösung der Kern-

<sup>1)</sup> Henneguy, Division des cellules embryonnaires chez les vertebrés. Comptes rendus. 1882.

<sup>2)</sup> W. Flemming, Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle u. s. w. Arch. f. mikr. Anat. XXIX.

<sup>3)</sup> Platner, Zur Bildung der Geschlechtsproducte bei den Pulmonaten. Arch. f. mikr. Anat. XXVI. 343 u. 599.

membran oder, da die Existenz einer solchen noch nicht mit Sicherheit bewiesen ist, die Verwischung der Kerngrenze und die dadurch bedingte Vermischung von Kern- und Zellsubstanz. Offenbar ist es nur bei diesem Vorgange möglich, dass entweder wie die botanische Schule behauptet, Zellsubstanz in den Kern dringe, oder wie die Zoologen lehren, Theile des Kernes bei der Theilung ausgeschaltet und in die Zellsubstanz aufgenommen werden. So lange der Kern während der Theilung seine Grenzen bewahrt, bewahrt er auch seine Selbständigkeit, und die beifällige Aeusserung Waldeyer's<sup>1)</sup> über Pfitzner's<sup>2)</sup> ersten Versuch gegen die Auflösung des Kernes Stellung zu nehmen, ist zugleich eine Anerkennung der biologischen Bedeutung dieses Momentes.

Leider hat Pfitzner in seiner schönen Arbeit seinen Gegnern zugleich die Waffe in die Hand gedrückt, welche seine Beobachtungen für den Moment unter ihren Werth sinken machte, und Flemming, dessen Warnungstafel vor chromsauren Salzen zugleich eine strenge und abfällige Kritik für durch ähnliche Mittel erhaltene Resultate ist, hat sich auch dahin ausgesprochen, dass aus diesem Grunde den Pfitzner'schen Untersuchungen kein entscheidender Werth beigemessen werden könne. Und unter seiner Leitung sind auch von Tangl<sup>3)</sup> Beobachtungen angestellt worden, welche tatsächlich geeignet erscheinen, die Pfitzner'schen Untersuchungen zu entkräften.

Auf diesen strittigen Punkt beziehen sich die folgenden Beobachtungen, und ich musste versuchen die Wichtigkeit desselben in gehöriges Licht zu setzen, um die Veröffentlichung gleichsam zu rechtfertigen. Denn sie entstammen keineswegs einer methodisch auf Lösung berührter Fragen hin unternommene Untersuchungsreihe, sondern sind das zufällige Resultat auf ganz andere Punkte gerichteter Arbeiten. In der Absicht nehmlich, die Zelltheilung in Geschwülsten des Näheren zu verfolgen, schien es mir nothwendig, mich vorerst über den Theilungs-

<sup>1)</sup> Waldeyer, Ueber Karyokinese. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1886.

<sup>2)</sup> Pfitzner, Zur morphologischen Bedeutung des Zellkerns. Morpholog. Jahrb. X.

<sup>3)</sup> Tangl, Ueber das Verhältniss zwischen Zellkörper und Kern während der mitotischen Theilung. Arch. f. mikr. Anat. XXX.

vorgang normaler menschlicher Zellen, namentlich Epithelzellen zu orientiren, besonders da die nähere Beschreibung des Prozesses, soweit ich mich in der Literatur orientiren konnte, zu fehlen scheint. Die Objecte sind nicht gerade einladend zu solchen Untersuchungen, theils wegen der Beschaffung des Materials, theils wegen der Kleinheit der Zellen und der Empfindlichkeit des Gewebes, und so beschränken sich die mir bekannten Untersuchungen auf Angaben über Vorkommen und Lage der Theilungen. Diese Genese vorliegender Arbeit mag zugleich den Mangel an Vielseitigkeit der Methodik entschuldigen und diene mir zugleich als Schutz gegen den Arnold'schen Vorwurf, welcher Mangel an Methodik mit Mangel an Erfahrung identifizirt. Ist es ja auf keinem Gebiete so schwer, Wirklichkeit von Kunstproduct zu trennen, wie gerade auf dem Gebiete der Zelltheilung, und nirgends eine genauere Controle alles Gesehenen nothwendig. Als ich trotz der bekannten und erprobten Wirkung des Flemming'schen Reagens den herrschenden Anschauungen entgegengesetzte Bilder erhielt, lag mir der Gedanke an ein Kunstproduct wohl zunächst, allein nachdem ich in meinen Präparaten weit mehr als zweihundert Theilungen beobachtet und jede Einzelheit mit streng objectiver Kritik abgewogen hatte, war die Annahme meiner Bilder als natürliche eine so unabsehbare geworden, dass ich mich veranlasst sah, diese Zufallskinder der öffentlichen Beurtheilung preiszugeben, in der Ueberzeugung, dass sie sich, obwohl sie gegen den Strom schwimmen, dennoch werden behaupten können.

Die zu beschreibenden Präparate entstammen männlichen Präputien, welche mir durch die Güte meines verehrten Chefs, Herrn Primararzt Docent Dr. Mracek, in mehrfacher Zahl zur Verfügung gestellt wurden.

Die Objecte, welche theils wegen Sklerosen, theils anderer Erkrankungsprozesse phimotisch wurden und circumcidirt werden mussten, wurden direct vom Messer des Operateurs in die Fixationsflüssigkeit (stärkeres Flemming'sches Gemisch) übertragen, so dass, da auch genügend kleine Stücke genommen wurden, postmortale Veränderungen als absolut ausgeschlossen erscheinen. Etwas anderes war der Umstand, dass ich es mit pathologischen Objecten zu thun hatte, so dass die Berechtigung,

aus denselben auf physiologische Vorgänge zu schliessen, erst bewiesen werden musste. Ich wählte daher zur Untersuchung zweierlei Stellen der Objecte, nehmlich dem Krankheitsheerde benachbarte und weiter davon entfernte, so dass an diesen ausser entzündlichem Oedem des subcutanen Bindegewebes und einzelnen hie und da zwischen die Epithelien eingestreuten Leukozyten keine pathologischen Veränderungen unter dem Mikroskop zu erkennen waren.

Beide Stellen ergaben dieselben Resultate, so dass die schon von vornherein anzunehmende Hypothese, dass auf den morphologischen Prozess der Zelltheilung die Erkrankung keinen Einfluss geübt habe, hierdurch zur Thatsache gestempelt wurde. Um vollends sicher zu gehen, wurden Controlpräparate aus der normalen Haut des Oberschenkels entnommen, welche genau dieselben Verhältnisse erkennen liessen. Wenn ich mich in meiner Darstellung auf ersteres Object beschränke, so geschieht dies aus praktischen Rücksichten. Die Zellkerne des Präputiums, namentlich der Lamina interna sind um bedeutendes, wenigstens das Doppelte bis Dreifache grösser, als die des Controlobjectes, und ferner waren die Theilungen, möglicher Weise durch den nutritiven Reiz der Entzündung, um so vieles häufiger in ersterem anzutreffen, dass ich bis zwanzig evidente Theilungen in einem Schnitte des ersten Präparates beobachten konnte, während auf derselben Schnittgrösse im zweiten eine oder zwei Mitosen angetroffen wurden. Die Untersuchung des ersteren Objectes gewinnt hierdurch wesentliche Vortheile, ohne dass die Dignität der Resultate durch die obwaltenden Verhältnisse eine Einbusse erlitten hätte.

Meine Beobachtungen beziehen sich im Wesentlichen auf zwei Punkte:

### I. Chromatin.

Das Chromatin erscheint nach Flemming<sup>1)</sup> in zwei wohl zu sondernden Formen, dem Kerngerüste und dem Kernkörperchen. Die Definition Flemming's für den Nucleolus lautet, dass derselbe ein vollkommen abgeschlossenes, rundes, mit dem

<sup>1)</sup> W. Flemming, Zellsubstanz, Zellkern und Zelltheilung. 1887.

Netze nicht weiter zusammenhängendes Körperchen in dem Zellkerne erscheint, und sich durch diese Charaktere und seine Grösse von den Knotenpunkten des Chromatingerüstes sondern lasse. Wende ich dieses Kriterium des Nucleolus auf meine Objecte an, so finden sich thatsächlich Nucleolen von dieser Eigenschaft, aber dann fehlt das Kerngerüst vollkommen. Es giebt zahlreiche Zellen in meinen Präparaten, welche in den Kernen nichts unterscheiden lassen, als ein oder zwei solche runde, scharf begrenzte, dunkle Körperchen. Mit Hämatoxylin erhält man eine leichte diffuse Färbung solcher Kerne, ohne aber eine Spur von Kerngerüste unterscheiden zu lassen. Untersucht man nach Weigert's Methode (Gentiana — Jodjodkali — Anilin — Xylol) behandelte Schnitte, so zeigen sich solche Nucleolen enthaltende Kerne vollkommen ungefärbt bis auf den intensiv violetten Nucleolus. Die diffuse Kernfärbung durch Hämatoxylin kann man wohl nicht auf Chromatin beziehen, da ja in diesem Falle auch vom Gentianaviolett dasselbe gefärbt worden wäre. Im Gegentheil muss man annehmen, dass ebenso wie die Zellsubstanz vom Hämatoxylin leicht graublau gefärbt wird, während sie bei Weigert's Methode vollkommen farblos bleibt, dasselbe auch auf die Kerngrundsubstanz übertragen werden darf. Wir stehen also vor Kernen, in welchen das Chromatin blos in den Nucleolen erscheint. Hier treffen alle von Flemming geforderten Charaktere des Nucleolus vollkommen zu, die Zweifel beginnen erst später.

Eine andere Gruppe von Kernen zeigt folgendes Verhalten. Die in den früher beschriebenen Kernen in der Zahl von 1—2 aufgetretenen Nucleolen erfahren eine scheinbare Vermehrung. Man sieht Kerne, welche bis acht von einander unabhängige, scharf umschriebene und intensiv gefärbte Gebilde aufweisen. Die Grösse derselben schwankt so sehr, dass es unmöglich wird, anzugeben, welches von den Körperchen den in der ersten Gruppe beschriebenen entspricht, und welche als secundäre, nicht eine organologische Sonderstellung erheischende Chromatinanhäufungen zu bezeichnen wären. Wenn uns hier die Grösse der Gebilde nicht mehr maassgebend genug erscheinen kann, um dieselben in ihrem organischen Werthe zu bestimmen, vielleicht gelingt es mit dem zweiten Charakteristikum, der scharfen Abgrenzung

vom übrigen Chromatin. Hier sind wieder die mittelst Weigert's Methode erhaltenen Bilder äusserst lehrreich. Man sieht nehmlich zart gefärbte Fäden zwischen den einzelnen Körperchen sich ausspannen (Fig. 9), welche eher mehr durch die verschie-dene Lichtbrechung, als durch die Farbe von der umgebenden Kerngrundsubstanz abstechen. Hier tritt zuerst die zweite Erscheinungsform des Chromatins zu Tage, das Kerngerüst. Da alle diese Körperchen mit solchen Fäden in Zusammenhang steh-en, so wäre es auch hiernach schwer zu entscheiden, was man als Gerüstknoten, was man als Nucleolus zu betrachten hätte, besonders da dieses Gerüste um so vieles zarter ist als die Kno-ten, so dass nur die allerkleinsten so aufgefasst werden dürften, und es ohne vorgefasste Meinung kaum möglich ist, durch die Grösse allein Nucleolen und Gerüstknoten von einander zu unter-scheiden.

Der Kern wächst durch Zunahme der ihn aufbauenden Sub-stanzen. Das Chromatin im Kerne nimmt zu, das zarte Gerüste wird immer deutlicher, das Chromatin in demselben immer mächtiger und die Gerüstfäden werden unregelmässiger, indem die-selben einen gezackten, ungleichen Rand und eine im Verlauf des Fadens selbst wechselnde Stärke zeigen. Zu gleicher Zeit bieten die Nucleolen folgendes merkwürdige Verhalten. Ihre früher runde Form geht verloren, an deren Stelle tritt eine polygone, wobei die in Fortsätze auslaufenden Ecken der Nucleo-len direct in die Fäden des Gerüstwerks übergehen. Und dies gilt ohne Ausnahme. Man ist in diesem Stadium nicht mehr im Stande die Nucleolen von dem Gerüste zu isoliren, es sei denn, dass man jede einzelne Chromatinanhäufung an den Kreuzungen des Fadenwerkes, alle insgesamt, unter die Bezeich-nung Nucleolus subsummire. So wenig also früher die Grösse der Nucleolen als entscheidendes Merkmal zu ihrer Diagnose benutzt werden konnte, ebenso wenig kann man jetzt über ihre Abgrenzung und Selbständigkeit ein Urtheil abgeben.

In späteren Stadien, nachdem sich die Gerüstfäden geglättet und die Schleifen ausgebildet haben, ist der Nucleolus spurlos verschwunden. Wir sehen also drei Gruppen von Kernen: solche mit deutlichen Nucleolen ohne Chromatingerüst, solche mit deut-lichem Chromatingerüst und undeutlichen Nucleolen, drittens

Kerne mit Chromatinfäden ohne Nucleolen. Da man diese Unterschiede nicht auf die Tinctionsverhältnisse beziehen kann, indem sich zuerst wohl der Nucleolus färbe, das Gerüst aber nicht, später letzteres, aber dagegen nicht der Nucleolus, so ergiebt die Färbung eine vollkommene Identität der Reaction der beiden Erscheinungsformen des Chromatins. Aus diesem Verhalten, sowie aus dem morphologischen Befund folgere ich, dass in dem ruhenden Kerne alles Chromatin in den isolirten Körperchen, den Nucleolen angehäuft sei, welchen eine selbständige Bedeutung innerhalb des Kernes als ein vom späteren Chromatin gesondertes Formelement nicht zukomme. So lange kein Chromatingerüst im Kerne vorhanden ist, existiren die Nucleolen, und so wie ersteres auftritt, sind sie innig mit demselben verbunden. Da man aber für das Chromatin ebenso wenig, wie für die ganze Zelle eine Generatio spontanea, sei es auch innerhalb eines Organismus, wie hier innerhalb des Zellkernes, annehmen kann — die ganzen biologischen Vorgänge in der Zelle, wie namentlich die bei der Befruchtung, weisen ja darauf hin, dass im Chromatin die eigentliche Individualität der Zelle, das Idioplasma, gelegen sei — sondern dass dessen Vermehrung nur durch die assimilatorische Thätigkeit des schon vorhandenen Chromatins erklärt werden darf, so folgt daraus, dass die Gesammtmenge der chromatischen Substanzen des chromatinreichen Kernes als von den wenigen Chromatinkörpern des chromatinarmen ruhenden Kernes abstammend angesehen werden muss, dass also ein principieller organologischer Unterschied zwischen denselben nicht bestehe. Den autoptischen Beweis für diese Behauptung giebt die Zelltheilung selbst, wo wir in keiner Weise und in keiner Phase eine gesonderte active Beteiligung des Nucleolus constatiren können, sondern derselbe, wie alle Beobachter übereinstimmend angeben, sich am Aufbaue, der von ihm verschieden sein sollenden chromatischen Schleifen betheiligt und beim Uebergang zur Ruhe wieder aus denselben hervorbildet. Ich habe unter hunderten von Theilungen in meinem Objecte vielleicht mehr als ein Viertel davon im Stadium des Mutterknäuels beobachten können, und nur ein einziges Mal gelang es mir ausser den regelmässig fädigen Bildungen der Chromatinschleifen ein compactes Chromatingebilde wahrzunehmen,

welches an ein Fortbestehen und eine erst spätere Theilnahme des Nucleolus an der Theilung hätte mahnen können. Ich glaube hier mit ebenso vielem Rechte diese Masse als coagulirte Schleife, als wie als heterogenes Gebilde auffassen zu dürfen, abgesehen davon, dass nach den ganzen genetischen Beziehungen des Nucleolus dieser Einwand meine Beweisgründe nicht abzuschwächen im Stande ist.

Die Vorbereitung zur Theilung würde sich meiner Auffassung nach dann in folgende Stadien gliedern:

a) Der Kern enthält das Chromatin nur in isolirten Körperchen. Das Kerngerüste besteht zur Zeit nur in seiner achromatischen Grundlage und bleibt der Beobachtung entzogen.

b) Das Kerngerüste tritt mehr hervor. Es hängt mit den Chromatinkörpern zusammen (Wachsthum der chromatischen Grundlage des Kerngerüstes). Die Chromatinkörperchen treten zahlreicher auf (Wachsthum des Chromatins).

c) Die weitere Zunahme des Chromatins geht ebenfalls von diesen Körperchen aus, indem dieselben sich vergrössern und das Gerüste mit ihrem Chromatin betheilen, so dass sie nunmehr als Knotenpunkte eines chromatischen Gerüstes erscheinen.

Ich muss hier hinzusetzen, dass ich auch auf Kerne gestossen bin, die sowohl isolirte, als mit dem chromatischen Gerüste verbundene Körperchen zeigen. Allein da sich an diesen sowohl die feinen fast farblosen Fäden des Stadiums b erkennen lassen, als auch chromatinreichere, — also offenbar ältere Kerne keine solchen isolirten Körperchen unterscheiden lassen, kann man jene sehr wohl als Uebergangsstadien zwischen b und c auffassen unter der Voraussetzung, dass die Umformung nicht in allen Chromatinkörpern gleichzeitig beginnt.

d) Die unregelmässigen Fäden des Gerüstes glätten sich und es folgt die Ausbildung des Fadenknäuels und der Schleifen nach bekanntem Schema.

## II. Achromatin.

Der zweite, bei weitem interessantere und wichtigere Befund bezieht sich auf die Vorgänge in den Theilungsphasen selbst. Betrachte ich die Zellen des Rete Malpighii, so ergiebt sich durchweg bei allen ruhenden Zellen, dass zwischen Zellkern und

Zellsubstanz eine leere Zone sich befindet (Fig. 1, 4 und 9), die also zwischen innerer Zellmembran und Kernmembran, falls man diese Gebilde überhaupt als vorhanden annehmen sollte, befindet. Dies entspricht vollkommen dem, was Pfitzner a. a. O. bereits an Amphibienepithelien beschrieben, und ich muss ihm auch in seiner Deutung dieses Raumes als Resultat einer Schrumpfung, sei es des Kernes, sei es der Zellsubstanz, vollkommen beipflichten. Besonders mit Alauncarmine behandelte Präparate lassen darüber keinen Zweifel aufkommen, indem der Kern daselbst zu ganz unregelmässigen Formen mit Buchten und Fortsätzen verschrumpft und dem entsprechend auch die leere Zone sich verbreitert, wobei aber wohl zu bemerken ist, dass deren äusserer, der inneren Zellgrenze entsprechender Contour stets regelmässig, der ursprünglichen Kernform entsprechend geformt ist, so dass man wohl die Schrumpfung auf den Zellkern allein zu beziehen berechtigt ist.

Je weiter nun die Kerne in ihrer Entwicklung fortschreiten, desto kleiner wird dieser Schrumpfungshof, d. h. in anderen Worten, die Kerne ändern mit ihrem Wachsthum nicht nur ihr Volum, sondern auch ihr physikalisches Verhalten den Reagentien gegenüber, indem sie weniger schrumpfen als früher. Die Erklärung liegt meiner Ansicht nach darin, dass die wasserreicheren jungen Kerne durch Contraction ihres Protoplasmas unter Einwirkung des Reagens und Ausstossung der Flüssigkeit mehr an Volum verlieren, als die substanzreicheren älteren Kerne, so dass durch die bis zur Segmentation andauernde Substanzzunahme des Kernes allmählich ein solcher Ausgleich zu Stande kommt, dass von dieser Phase an sich kein Zwischenraum zwischen Zellkern und Zellsubstanz ausbilden kann. Da ich dieser Vorgänge später zur Widerlegung eines Einwandes bedarf, betone ich diese Auffassung ausdrücklich nochmals.

Von einer wirklichen chromatischen oder achromatischen Kernmembran oder von dem thatsächlichen Vorhandensein einer inneren Zellmembran haben mich weder die verschiedenen angewandten Methoden noch die genaue Beobachtung, weder bei früheren Studien noch jetzt überzeugen können. Die Weigert'sche Färbung, die mir so vortreffliche Dienste geleistet hat, lässt auch nicht eine Andeutung einer Kernmembran erkennen, so

dass ich in Folgendem blos von Kerngrenzen und Zellgrenzen spreche, ohne mich weiter in die Controverse der Existenz solcher Membranen einzulassen.

Von dem Momente an, wo die Schrumpfungsprozesse nicht mehr zur Ausbildung gelangen, berühren sich also Zellkern und Zellsubstanz innig (Fig. 2); von einer Kernmembran ist hier ebenso wenig wahrzunehmen als in den früheren Formen, aber der Kern hebt sich als ein ovales stark lichtbrechendes Gebilde äusserst scharf, mit linearem Contour von der umgebenden Zellsubstanz ab, ja mitunter ist das Bild ein so plastisches, als würde der Kern sich gleichsam aus der Zellsubstanz heraus schälen. Es ist absolut nicht nothwendig zur Erklärung dieses Contours auf die Existenz einer Membran zurückzugreifen, da auch zwei zähflüssige mit einander nicht mischbare Medien ohne eine solche von einander getrennt bleiben und die totale Reflexion des Lichtes beim Uebertritt aus dem stärker lichtbrechenden Kerne in die schwächer brechende Zellsubstanz nothwendig diese Abgrenzung auch dem Auge erkennbar machen muss. Wie nun die herrschende Lehre lautet, soll um diese Zeit bereits eine Auflösung der Kerngrenze erfolgen, ein inniges Berühren nicht blos, sondern ein Vermischen des Zellplasmas mit den nicht zu Spindelfasern werdenden achromatischen Kernsubstanzen vor sich gehen. In meinem Objecte finden sich also ganz entgegengesetzte Verhältnisse, der Kern ist zu dieser Zeit völlig von der Zellsubstanz geschieden.

Betrachte ich die Zelle Fig. 3, so zeigen sich die Schleifen in einer Lagerung, die wohl nicht anders zu deuten ist, denn als Monaster in Seitenansicht, die beiden abseits liegenden Schleifen sind offenbar nur aberrirte Schleifen, wie sie oft zu beobachten sind, und wären im Weiterverlauf wieder an ihren gehörigen Platz zurückgekehrt. Das Auffallende an dem Bilde besteht darin, dass obwohl wir in diesem Stadium doch längst schon keine Kerngrenze finden sollten, dieselbe dennoch scharf erhalten ist, es existirt also der Zellkern noch immer in toto fort, wie zu Beginn der kinetischen Vorgänge.

Die Metakinese tritt ein, die Schleifengruppen entfernen sich von einander, der Kern wird oval. Die Zelle Fig. 5 zeigt einen Kern nach Vollendung der Metakinese, die Schleifen sind bereits

an die Pole gerückt und zwischen ihnen Andeutungen des intermediären Bündels zu sehen. Dennoch trotz dieses vorgerückten Stadiums zeigt sich dieselbe scharfe Absetzung zwischen Kern und Zellsubstanz, wie vorher. Die Kerngrenze ist noch immer vorhanden, die Auflösung des Kernes im Zellprotoplasma hat noch immer nicht stattgefunden.

Die Zelle Fig. 6 zeigt ein noch weiter vorgerücktes Stadium in Seitenansicht. Die schon vollkommen polar centrirten Schleifen lassen deutlich den Aufbau aus Chromatinmikrosomen erkennen, was mir an wenigen Exemplaren der Retezellen gelang. Der Zellkern als solcher ist noch immer erhalten, er ist nur bedeutend verlängert und zeigt an einer Seite eine Einbuchtung, es beginnt hier, ohne dass also die Kerngrenze aufgehoben worden wäre, die Kerntheilung durch eine einseitige Einschnürung des Zellkerns als organisches Ganzes.

Die Zelle Fig. 7 zeigt dies Verhalten besonders schön. Wir sehen hier auf den zugewendeten Pol bei a, auf die Gegenpolseite der Chromatinhälfte b, die Kernaxe steht zur Ebene des Gesichtsfeldes geneigt. Der Kerncontour präsentirt sich noch immer als ununterbrochen, die Einschnürung ist hier schon eine ringförmige, die seitlichen Buchten sind hierfür der directe Ausdruck, während die quer über die Kernmitte ziehende dunklere Zone wahrscheinlich durch die in Folge der Einschnürung hier dickere überlagernde Zellsubstanzschicht hervorgebracht ist. Die Zellsubstanz selbst zeigt hier bereits ebenfalls die beginnende Einschnürung.

Die Kerneinschnürung wird immer tiefer, der Kern durchschnürt sich endlich und ebenso die Zellsubstanz, und wir erhalten zwei Tochterkerne, deren Chromatinschleifen in einem von der Tochterzellsubstanz ebenso scharf gesonderten Achromatinkörper — wie ich wohl sagen darf — central gelegen sind (Fig. 8).

Es lässt sich also im ganzen Verlaufe der Theilung die Kerngrenze als eine räumlich und zeitlich continuirliche nachweisen, so dass behauptet werden kann, dass Kernsubstanz und Zellsubstanz während des ganzen Theilungsvorganges unabhängig von einander bleiben.

Pfitzner (a. a. O.) erhält durch die Behandlung mit Müller'scher Flüssigkeit und speciell  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  Bilder, die den Kern

niemals in den bekannten offenen Formen zeigen, sondern als ein während sämmtlicher Phasen abgeschlossenes, als Ganzes persistirendes Gebilde. Der Kern zeigt sich nach solcher Behandlung als eine klumpige Masse von bräunlicher Farbe, welche im Ganzen den imaginären Contour der bekannten offenen Theilungsformen des Kernes erkennen lässt, die Schleifen jedoch nicht zeigt. Durch Einwirkung von Hämatoxylin auf die so behandelten Objecte treten dann die Schleifen ebenso schön zu Tage, als ob der Kern direct, ohne Vermittelung des schwefelsauren Natrons in Hämatoxylin gefärbt worden wäre, ohne dann aber die früher erwähnte Begrenzung und Form zu zeigen. Daraus schloss Pfitzner, dass durch schwefelsaures Natron das Achromatin in der beschriebenen Weise gefärbt und getrübt wird, durch Hämatoxylin jedoch die  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Wirkung vollkommen aufgehoben werde und so das Achromatin seine farblose, rein durchsichtige Beschaffenheit wiedererlange. Die weitere Folgerung daraus ist dann, dass Achromatin und Zellsubstanz tatsächlich während der Theilung von einander geschieden bleiben, der Kern als Ganzes persistire und für gewöhnlich unsichtbar, durch bestimmte Reactionen immer nachgewiesen werden könne.

Was nun diese Auseinandersetzungen Pfitzner's betrifft, so muss ich der theoretischen Seite derselben ganz und gar zustimmen, indem auch ich sehe, dass das Achromatin seine Selbständigkeit der Zellsubstanz gegenüber immer bewahrt. Was aber die die Pfitzner'sche Hypothese tragenden thatsächlichen Befunde betrifft, so scheinen sie nach den Untersuchungen Tangl's (a. a. O.) nicht mehr geeignet, vorgehende Sätze zu stützen. Tangl konnte durch continuirliche Beobachtung der beiden auf einander folgenden Reagenswirkungen unter dem Mikroskopie direct entscheiden, dass die von Pfitzner angegebenen Achromatingrenzen nichts anderes, als die zu einem grossen Klumpen angeschwollenen Chromatinschleifen seien.

Die Schleifen quellen in  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  auf und formen so die als Achromatin gedeuteten groben Massen, durch Hämatoxylin schrumpfen dieselben wieder und erscheinen daher in ihrer früheren Gestalt, während der gesehene Kerncontour wieder verschwindet. Dieses Resultat ist an und für sich geeignet, die Pfitzner'schen Folgerungen als jeder Basis entbehrend hinzzu-

stellen und seine Behauptungen sind dann eine durch nichts bewiesene Hypothese. Der positive Nachweis, dass der Kern, d. h. die achromatische Kerngrundlage während der Theilung immer selbstständig, von der Zellsubstanz getrennt bleibe, ist nur dann als erbracht zu betrachten, wenn innerhalb des scharfen Achromatincontours auch ebenso scharf die Chromatinschleifen in ihrer natürlichen Lage gesehen werden und umgekehrt in allen den verschiedenen den einzelnen Phasen entsprechenden Lagerungen der Schleifen muss sich der Kerncontour in scharfer Weise zeigen, so dass dann thatsächlich die Folgerung gerechtfertigt ist, dass die Veränderungen des Kernes während der Theilung nur innerhalb des Kernes selbst ablaufen.

Diesen evidenten Beweis glaube ich im Vorhergehenden erbracht zu haben.

Die Pfitzner durch Tangl erfahrene Widerlegung passt offenbar nicht auf meine Beobachtung. Ich sehe thatsächlich nicht erst Achromatin und nach neuerlicher Reagenswirkung Chromatin, sondern ich sehe beide zugleich, zu einer irrthümlichen Auffassung, wie es Pfitzner geschehen, liegt hier absolut keine Veranlassung vor. Es bliebe nur noch eine Behauptung zu widerlegen übrig, die Tangl zur Stütze seiner Ansicht aufführt. Wenn Tangl nehmlich behauptet, dass das Aufhören des Kernschrumpfungshofes auf die innige durch die Auflösung der Kern- und Zellgrenzen bedingte Vermischung der beiderseitigen Substanzen zu beziehen sei, so könnte dies auch hier entgegen gehalten werden, indem auch in meinem Falle mit dem vollen Gange der Karyokinese die Schrumpfungsvorgänge nicht mehr beobachtet werden. Ich habe aber schon Eingangs gezeigt, dass dies allmählich geschieht, dass der Raum zwischen Zellkern und Zellsubstanz nur sehr langsam auf Null herabsinkt und da ferner niemals diesen Raum durchquerende Fäden oder in demselben liegende Protoplasmareste auf einen sich allmählich herausbildenden innigeren organischen Zusammenhang sich beziehen lassen, so bleibt eben nur die einzige, früher gegebene Erklärung übrig, dass durch das Wachsthum die physikalische Beschaffenheit sich ändert und nur von einem näheren Contact, nicht aber von einer gegenseitigen Durchdringung der Substanzen gesprochen werden könne.

Es kann also als fest bestehend betrachtet werden, dass

I. Der Zellkern während der Theilung keine Verbindung mit dem Zellplasma eingeht.

II. Die kinetischen Vorgänge sich innerhalb des Rahmens der Kerngrenze abspielen.

Dies giebt als erste und nothwendige Schlüsse:

a) Da die Kerntheilung sich so abspielt, dass während der ganzen Durchschnürung die Kerngrenze bestehen bleibt, also die Grenze des Tochterkernes unmittelbare Fortsetzung der Mutterkerngrenze ist, so ist die von Flemming und seiner Partei angenommene Ausschaltung des intermediären Achromatinbündels nicht möglich.

b) Da die Zellsubstanz niemals durch Auflösung der Kerngrenze geschaffene Eintrittspforten in den Kern eröffnet findet, so kann keine der bei der Theilung aufgetretenen geformten Kernsubstanzen aus dem Zellkörper stammen, Strasburger's und Anderer Auffassung der Genese der Kernspindel aus der Zellsubstanz ist also nicht anwendbar. Da wir also nirgends Kernmasse aus-, Zellmasse eingeschaltet sehen, so heisst das nichts anderes, als dass alles was Kern ist, aus dem Kerne stamme und wieder in einen Kern übergehe. Das alte *omnis cellula e cellula* wurde ergänzt durch ein „*omnis nucleus e nucleo*“, und dieses lässt sich noch weiter specialisiren, indem wir hinzusetzen: *totus nucleus e nucleo!*

Will man die in Vorhergehendem einfach an einander gereihten Darstellungen einzelner Zustände des Chromatins und Achromatins in zusammenhängender Reihe betrachten, so muss nothwendig der richtige Ausgangspunkt gefunden werden, von welchem aus das Bild des Theilungsvorganges in fortschreitender Entwicklung sich darstellt. Da Leben ohne Veränderung ein Widerspruch und somit die Bezeichnung „ruhender Kern“ uns eigentlich nur über die Unkenntniss der Vorgänge in diesem Stadium hinwegtäuscht, wäre es eigentlich mehr berechtigt vom Momente der Zweittheilung an mit der Betrachtung des von da an als solchen existirenden neuen Organismus zu beginnen und die später in demselben einsetzenden Vorbereitungen bis zur wieder sich vollziehenden Theilung als höchste Entwickelungsstufe desselben zu betrachten. Allein auch hier verwischt die

Natur das genaue Datum der Geburt — wenn ich mich so ausdrücken darf, indem die einzelnen Elementarorgane und Elementarsubstanzen nicht gleichzeitig vom Mutterboden sich trennen, so dass also der Moment der mechanischen vollkommenen Zwei-theilung ein ebenso willkürlich gewählter wäre, wie jeder andere. Da wir sehen, dass alle jungen Tochterkerne ihr Chromatin auf einzelne Körperchen concentriren und dieses von hier aus später wieder durch den Kern verbreitet wird, so muss wahrscheinlich diesem Kernbaue eine bestimmte physiologische Dignität zukommen, die sich auch in der Länge der Dauer dieses Stadiums ausspricht und wir dürfen dann mit voller Berechtigung alles Folgende als in gesetzmässiger Folge sich abspielende Vorgänge auffassen, um aus einem Organismus zwei diesem gleiche, möglichst identische Organismen entstehen zu lassen.

Von diesem Standpunkte ausgehend zeigt sich die Zelltheilung in einem eigenthümlichen Lichte: Das Chromatin entwickelt sich fortschreitend von den ihm identischen Nucleolen aus. Die achromatische Grundlage des Kerngerüstes — von den späteren Spindelfasern scharf aus einander zu halten — wird immer chromatinreicher. Diese Substanz also vermehrt sich immer mehr, bis das Kerngerüste durchwegs die Eigenschaften der späteren chromatischen Schleifen angenommen hat. Dann beginnt Segmentirung und Theilung in beschriebener Weise, indem innerhalb des Kernes, getrennt von allen Einflüssen und Beimischungen der Zellsubstanz — zuerst die Theilung des Chromatins, dann der Kerngrundsubstanz, dann der Zelle vor sich geht. Da aber, wie aus dem Entwicklungsvorgange bewiesen, Nucleolus und Chromatin identisch sind, indem ersterer blos als concentrirte Anhäufung desselben aufzufassen ist, so kann in obigem Schema der Theilung das Wort Chromatin durch Nucleolus ersetzt werden, wir erhalten dann eine Kerntheilung, welcher die Theilung des Nucleolus vorangeht und die der Zellsubstanz folgt, id est: Das Remak'sche Schema der Zelltheilung, welcher man als der directen die durch Umordnung der Kernsubstanzen und Auflösung eines Theiles derselben in der Zellsubstanz charakterisierte indirekte gegenüber zu stellen pflegt.

Nach Obigem besteht jedoch der wesentliche Unterschied zwischen den beiden Formen nicht darin, dass durch Auflösen

der Kerngrenze die beiden Organcomplexe der Zelle mit einander in Verbindung treten und aus sich heraus sich wechselseitig aufbauen, sondern einzig und allein darin, dass das Chromatin nicht durch einfache Zweittheilung des ganzen Complexes des Remak'schen Nucleolus, sondern erst nach Theilung in Segmente und deren elementare Chromatinnikrosomen in die Tochterhälften gespalten wird. Der Unterschied ist also keineswegs ein fundamentaler, indem wir blos die Theilung des Nucleolus nach Remak durch die ebenfalls innerhalb des Kernes, vor der Kerntheilung sich vollziehenden Phasen des Chromatins zu ersetzen brauchen, um die Analogie vollkommen herzustellen.

Auf die Frage, wie das Achromatin sich bei den eben beschriebenen Prozessen verhält, ist es mir leider nicht gegönnt, so ausführlich zu antworten. Wie erwähnt, konnte ich nur in einzelnen Fällen die Existenz der Intermediärfasern nachweisen, die Kernspindel konnte ich nicht zur Anschauung bringen. Manchmal konnte ich auch an Seitenansichten von Monasterformen an dem kugeligen Kern undeutliche meridionale Streifen unterscheiden. Allein die Frage bleibt offen, ob die Kernspindel innerhalb der beschriebenen Achromatinkugel sich befindet, oder ob vielleicht das ganze Achromatin des Kernes, also auch die Kerngrundsubstanz sich in der Weise unter polarisirenden Einflüssen gruppire, das wir den Kerncontour mit dem Spindelcontour identificiren dürfen. Eine solche Deutung müsste dann nothwendig zur Behauptung führen, dass dann ja eigentlich der ganze von mir beschriebene Prozess nichts von dem jetzt bekannten Theilungsmodus verschiedenes sei, indem auch hier sich Spindel und Zellsubstanz so innig berühren, wie allgemein angenommen wird, und dann de facto keine eigentliche Kerngrenze mehr existire.

Allein dieser Widerspruch ist nur ein scheinbarer. Wenn nehmlich der Nachweis gelingt, dass in keinem Augenblicke der vor Beginn der Theilungsscheinungen bestehende Contour des Kernes verloren geht, so folgt daraus, dass die Kerngrenze auch in späteren Formen noch zu einer Zeit existire, ehe die Kernspindel sich auszubilden begann. Denn nach allen Analogien fällt diese in die Phase zwischen engem Knäuel und Aster, sie ist in ersterem als bipolares Gebilde noch nicht vorhanden, in letzterem schon völlig ausgebildet. Ist aber die Spindel aus-

gebildet und die frühere Kerngrenze noch immer erhalten, so folgt daraus, dass innerhalb des Kernes die Polarisation des Achromatins vor sich gegangen, und es ist dann nur unter Voraussetzung, dass alles innerhalb dieser Grenze befindliche Achromatin zum Aufbaue der Spindel verwendet werde, möglich Kerngrenze und Spindelgrenze zu identificiren. Vergleicht man nun zahlreiche Theilungsbilder meines Objectes mit einander und versucht aus möglichst nahe an einander liegenden Phasen den ganzen Vorgang zu reconstruiren, so kann man daraus mit überzeugender Gewissheit entnehmen, dass thatsächlich eine Unterbrechung des Kerncontours nicht stattfindet, dass also, wenn die gesehene Grenze wirklich mit der späteren Spindelgrenze zusammenfalle, die Kernspindel als die bipolar orientirte gesammte achromatische Kernsubstanz aufzufassen wäre. Diese Consequenz steht aber ebenso sehr im Widerspruch mit allen Ansichten, steht so ganz ohne jede Analogie da, als ihr die Kraft fehlt, meine Schlussfolgerung der Selbständigkeit des Kernes umzustossen, da auch unter letzterer Auffassung die Kernsubstanz als solche von der Zellsubstanz geschieden bleibt.

Allein auch durch Thatsachen lässt sich die Unhaltbarkeit der Ansicht widerlegen. In meinen Bildern liegen nehmlich die chromatischen Schleifen innerhalb des gesehenen Contours, sie sind allseitig von dieser achromatischen Masse umflossen.

Dann sind eben nur zwei Schlüsse möglich. Entweder ist die bisherige Ansicht, dass die Kernspindel im Centrum der Chromatinschleife liege, eine unrichtige, oder der sichtbare Contour darf nicht als Spindelcontour aufgefasst werden. Da nun durch unzählige Beweise die Lage der Spindel als eine centrale, die des Chromatins als eine peripherische festgestellt ist, so fehlen ersterem Schlusse jedwede Analogien und selbe muss daher fallen gelassen werden. Die zweite Folgerung ist aber die auf directem Wege gewonnene Entscheidung für die Unmöglichkeit Spindelcontour und Kerncontour zu identificiren, was ich früher durch Verfolgung in seine Consequenzen als zu Widersprüchen führend bewiesen habe.

Es muss also die Kernspindel innerhalb des sichtbaren Kerncontours gelegen sein, innerhalb einer Zone von Achromatin von wesentlich verschiedener morphologischer Bedeutung.

Für diese Behauptung aber finden sich Analogien in den von Pfitzner beschriebenen Kernen der Infusorien<sup>1)</sup>), in welchen innerhalb eines Kerncontours die Kernspindel zu sehen ist.

Wenn nun, wie die meridionale Streifung an Asterstadien zeigt, die ganze achromatische Kernmasse bipolar orientirt wird, andererseits aber noch ein von diesen Substanzen verschiedenes bipolares System innerhalb des ersteren besteht, so ergiebt sich daraus, dass das Kernachromatin sich in zwei gesonderten Formationen zu den Polen orientire. Die Untersuchungen Flemming's haben nun, wie ich mich auch an anderen Zellarten überzeugt habe, ergeben, dass die Spindelfasern mit grosser Wahrscheinlichkeit einem schon im ruhenden Kerne vorhandenen achromatischen Fadenwerke homolog sind und in noch unpolarisirter Anordnung schon zur Zeit des ersten Knäuels sichtbar sind. Da nun nach meinen Untersuchungsergebnissen der Kern während der Theilung keinen Zuwachs an Substanz vom Zellplasma aus erhält, so folgt, dass es nur der nach Subtraction der Flemming'schen Fasern übrig bleibende Achromatinrest, dasjenige, was als Kernsaft, Kerngrundsubstanz beschrieben wird, sein kann, was den zwischen Spindel und Kerngrenze vorhandenen Raum ausfüllt. Wir haben es daher ausser der achromatischen Grundlage der chromatischen Schleifen und den Spindelfasern noch mit einem dritten geformten Achromatin zu thun, welches in Folge seiner faserigen Structur bei der Polarisation nicht als homogen angesehen werden kann, und daher eine Bezeichnung als Kernsaft, als ein gleichsam structurloses, wenn auch organisirtes, die Zwischenräume des Fasersystemes erfüllendes Medium nicht mehr verträgt.

Zum Schlusse fühle ich mich verpflichtet, Herrn Professor Dr. Weichselbaum für die mir in Rath und That zu Theil gewordene Unterstützung meinen innigsten Dank auszusprechen.

<sup>1)</sup> W. Pfitzner, Zur Kenntniß der Kerutheilung bei den Protozoen.  
Morphol. Jahrb. XI.