

A r c h i v
für
pathologische Anatomie und Physiologie
und für
klinische Medicin.

Bd. 140. (Dreizehnte Folge Bd. X.) Hft. 3.

XVI.

**Zur Morphologie und Biologie der Zellen
des Knochenmarks.**

Von Prof. Dr. Julius Arnold in Heidelberg.

Es bedarf keiner Entschuldigung, wenn ich auf ein so schwieriges und interessantes Object, wie das Knochenmark, wiederholt und in so grossen Zwischenräumen zurückkomme. — Bei meinen früheren Untersuchungen hatte ich ausser der Form der Zellen namentlich der Gestalt und Struktur der Kerne, sowie der wechselnden Anordnung dieser in den verschiedenen Phasen der fort- und rückschreitenden Entwicklung meine Aufmerksamkeit zugewendet. Schon damals war ich zu der Ueberzeugung gelangt, dass auch über die feineren Strukturen des Zelleibes Aufschlüsse sich erreichen lassen. Ich verzichtete aber auf eine weitere Verfolgung dieser Ziele, weil es sich sehr bald herausstellte, dass die zum Studium der Kerne damals angewandten Methoden zur Conservirung des Protoplasmas nicht genügen. Altmann's in dieser Richtung geäusserten Vorwürfen kann meines Erachtens eine gewisse Berechtigung nicht abgesprochen werden. — Namentlich aber schien es mir wünschenswerth, die von Ehrlich und seinen Mitarbeitern mittelst der Trockenmethode gewonnenen Resultate zu prüfen und festzustellen, wie sich die verschiedenen Granula des Zelleibes an

feuchten Objecten bei Anwendung verschiedener Fixirungs- und Conservirungsmittel verhalten.

Die klinische Literatur über die Granulirung der verschiedenen Leukocytenformen des Blutes hat in den letzten Jahren einen stattlichen Umfang angenommen. Aus der Grösse der Körner, ihrem Vorkommen in den einzelnen Leukocytenarten, insbesondere aber aus ihrem Verhalten den Anilinfarbstoffen gegenüber hat man weittragende Schlüsse nicht nur auf ihre Herkunft, sondern auch auf das Wesen der betreffenden Bluterkrankung gezogen. — Um so auffallender ist es auf den ersten Blick, dass die anatomische Untersuchung der blutbildenden Organe, des Knochenmarks insbesondere, welche als unentbehrliche Vorbedingung für derartige Erörterungen angesehen werden muss, damit nicht gleichen Schritt gehalten hat. Viele darauf abzielenden Bestrebungen mögen an der Schwierigkeit derartiger Untersuchungen, namentlich der Conservirung des Zellleibes und seiner Granula, gescheitert sein. Bekanntlich verhalten sich die einzelnen Arten der Granula nicht nur dem Alkohol, sondern auch anderen Conservirungs- und Fixationsflüssigkeiten gegenüber sehr verschieden. Um Vergleiche anstellen zu können, ist es deshalb erforderlich, dasselbe Object nach den verschiedensten Methoden zu behandeln: eine sehr mühsame und zeitraubende Arbeit.

Mit den biologischen Untersuchungen, über welche in dem zweiten Theil berichtet werden soll, bin ich schon seit längerer Zeit beschäftigt. Die Frage, ob Knochenmarkzellen und welche Arten unter normalen und pathologischen Bedingungen in das Blut gelangen, hat ja wiederholt eine, allerdings nicht immer durch Thatsachen genügend begründete, Beantwortung erfahren. — Die Lagerung der Riesenzenellen des Knochenmarks zu den Gefässbahnen, namentlich diejenige innerhalb derselben, wie sie mir schon bei meinen ersten Untersuchungen aufgefallen war, sowie ihr Vorkommen im circulirenden Blute und in den Gefässen verschiedener Organe¹⁾ deuteten gerade für diese Formen auf die Möglichkeit eines präcisen Nachweises betreffs ihres Uebertrittes aus dem Knochenmark in's Blut und ihres weiteren

¹⁾ J. Arnold, Ueber die Geschicke der Leukocyten bei der Fremdkörperembolie. Dieses Archiv. Bd. 133. 1893.

Transportes hin. Damit drängten sich aber auch die Fragen auf, in welcher Weise sie in das Blut gelangen, ob sie in dasselbe passiv eingeschwemmt werden oder durch eigene Thätigkeit übertreten und unter welchen Bedingungen solche Vorgänge sich vollziehen. — Um Aufschlüsse über das Verhalten der Riesen-zellen nicht nur, sondern auch der anderen Knochenmarkzellen in den angedeuteten Richtungen zu erzielen, stellte ich Beob-achtungen an den überlebenden Zellformen an; ausserdem impste ich das Knochenmark mit verschiedenen corpuskulären Farb-stoffen und führte auch andere Fremdkörper in dasselbe ein. Endlich machte ich noch Versuche über den Einfluss der Be-schleunigung der Respiration auf diese Vorgänge.

Für denjenigen Leser, welcher in den nachfolgenden Dar-stellungen ausführlichere Literaturnachweise vermissen sollte, er-laube ich mir zu bemerken, dass ich den diesbezüglichen dringenden Mahnungen des Herausgebers um so mehr nachgeben durfte, als die Literatur der zu behandelnden Fragen in den Arbeiten F. A. Hoffmann's¹⁾, Klein's²⁾, Limbeck's³⁾, Loewit's⁴⁾, F. H. Müller's⁵⁾, Neusser's⁶⁾, Rieder's⁷⁾ u. A. eine sehr eingehende Berücksichtigung erfahren hat. Da ich mit diesen Mittheilungen die Untersuchungen über die Morphologie und Biologie des Knochenmarks auch für mich keineswegs als abgeschlossen, vielmehr als fortgesetzte und fortzusetzende be-

- ¹⁾ F. A. Hoffmann, Lehrbuch der Constitutionskrankheiten. Stuttgart, Enke, 1893.
- ²⁾ Stanislaus Klein, Die diagnostische Verwerthung der Leukocytose. Volkmann's Vorträge. No. 87. 1893.
- ³⁾ Limbeck, Grundriss einer klinischen Pathologie des Blutes. Jena, Fischer, 1892.
- ⁴⁾ Loewit, Studien zur Physiologie und Pathologie des Blutes und der Lymphe. Jena, Fischer, 1892. — Die Anordnung und Neubildung von Leukoblasten und Erythroblasten u. s. w. Archiv für mikroskop. Anatomie. Bd. 38. 1891.
- ⁵⁾ F. H. Müller, Die Morphologie des leukämischen Blutes und ihre Beziehung zur Lehre von der Leukämie. Centralbl. f. allg. Pathol. 1894.
- ⁶⁾ Neusser, Klinisch-hämatologische Mittheilungen. Wiener klinische Wochenschr. 1892.
- ⁷⁾ Rieder, Beiträge zur Kenntniss der Leukocytose und verwandter Zu-stände. Leipzig, Vogel, 1892.

trachte, so wird sich eine passendere Gelegenheit finden, das Versäumte nachzuholen. — Hoffentlich erhält der Leser dessen ungeachtet gleich mir den Eindruck, dass der Autor ein eingehendes Studium nicht nur der anatomischen, sondern auch der klinischen einschlägigen Literatur sich hat angelegen sein lassen.

I. Morphologische Mittheilungen.

Untersuchungsmethoden.

In der Einleitung wurde bereits angedeutet, dass und weshalb bei solchen Untersuchungen verschiedene Fixirungs- und Conservirungsmittel in Anwendung kommen müssen. — Ich habe das Verhalten der Granula geprüft an Objecten, von denen selbstverständlich ganz frische und kleine Stücke, die einen in Flemming'sche oder Hermann'sche Mischung, andere in Lösung von Sublimat oder in Müller-Sublimat (beide ohne Zusatz von Essigsäure), in Müller-Osmium (Altmann), in Formol (4 pCt.) oder in Alkohol eingelegt worden waren. Den letzteren Fall ausgenommen wurden die Präparate kurze Zeit in Wasser abgespült und dann in Alkohol von steigender Concentration eingelegt. Dass die Grösse der Stücke und die Menge der Conservirungslüssigkeit in einem umgekehrten Verhältniss stehen müssen, ist ja eine bekannte Sache.

Auch die Tinctionsmethoden wurden in der verschiedensten Weise variiert. Ausser Alauncarmine und Hämatoxylin verwendete ich Safranin¹⁾, Eosin, Orange, ferner Säurefuchsins-Anilinöl (Altmann) mit nachträglicher Differencirung in Pikrinsäure-Alkohol. Bei der letzteren Methode ist die Differencirung eine etwas unsichere; etwas bessere, aber auch nicht vollkommen befriedigende Resultate erhielt ich bei der Differencirung mit saurem Alkohol (Weiss)²⁾. Trotz dieser Mängel darf man nicht unterlassen, nach der Altmann'schen Methode zu färben, weil sie bezüglich des Verhaltens der Granula zu sehr be-

¹⁾ Sehr gute Färbungen mancher Granula, namentlich aber auch der rothen Blutkörper erhält man mit einem Gemisch von alkoholischer Eosinlösung, der einige Tropfen Safranin zugefügt wurden.

²⁾ Alt und Weiss, Anaemia infantilis pseudoleucaemica. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. (Vergleiche den Nachtrag.)

merkenswerthen Ergebnissen führt. Unentbehrlich ist selbstverständlich bei solchen Untersuchungen das neutrale Farbengemisch Ehrlich's. Ich legte die Schnitte 1 Minute in die Triacidlösung, spülte rasch in ganz verdünnter Essigsäure (1:3000) ab und behandelte dieselben dann weiter mit Alkohol u. s. w. Schliesslich habe ich noch des Methylenblau in seinen verschiedenen wässrigen und alkoholischen Lösungen, sowie des Thionin zu gedenken; combiniert mit der Differencirung in eosinhaltigem Alkohol leisten diese Farbstoffe sehr gute Dienste.

Bemerkenswerth ist das wechselnde Verhalten der einzelnen Granulaarten gegenüber den genannten Conservirungsmitteln. Die sogenannten eosinophilen Granula, insbesondere die grösseren, erwiesen sich resistent in allen Conservirungsflüssigkeiten; am besten waren sie in Formol, Müller-Sublimat und Sublimat erhalten, wenigstens traten an solchen Präparaten die Farbunterschiede viel deutlicher hervor, als bei Anwendung Flemming'scher und Hermann'scher Mischungen.

Was die feinen Granula anbelangt, welche vermutlich mit den sogenannten neutrophilen identisch sind, so treten sie am deutlichsten an Formolpräparaten, weniger deutlich an Müller-Sublimat- und Sublimatpräparaten hervor. An Objecten, die in Flemming'scher oder Hermann'scher Mischung fixirt wurden, sieht man die Körner; aber sie sind, wenigstens an den ersteren, nicht deutlich gefärbt; an Alkoholpräparaten erscheint das Protoplasma mehr gleichmässig roth tingirt.

Die mit basischen Farbstoffen sich tingirenden Granula, wenigstens manche derselben, sind sehr gut erhalten an Formol-, Sublimat- und Alkoholpräparaten, weniger an anderen. Nach meinen Erfahrungen leistet hinsichtlich der Conservirung der Granula der Knochenmarkzellen, sowie anderer zelliger Gebilde am meisten das Formol und nach diesem die genannten Sublimatlösungen. Wahrscheinlich gilt dies nicht für alle Granula in gleicher Weise.

Unentbehrlich ist die Herstellung von Trockenpräparaten nach den Ehrlich'schen Vorschriften. Da bei solchen das Fett sehr störend ist und ein rasches Trocknen verhindert, so empfiehlt es sich vorwiegend rothes Mark zu verwenden, namentlich wenn die nachträgliche Behandlung der Plättchen mit Alkohol und

Aether vermieden werden soll. Bei Trockenpräparaten habe ich mich ausser der oben bereits angeführten Methoden, insofern sie auf diese anwendbar sind, auch des von Weiss angegebenen Verfahrens bedient. Derselbe¹⁾ empfiehlt zur Darstellung der sogenannten neutrophilen Körner der Leukocyten des Blutes die fixirten Präparate 1 Stunde lang in Eosinalkohol einzulegen und dann mit Löffler'schem Methylenblau nachzufärben²⁾.

Um eine Isolirung der Zellen zu erreichen, verfuhr ich in der Weise, dass ich ganz dünne gefärbte Schnitte durch Nelkenöl von Celloidin befreite und in Canada einbettete; bei einem leichten Druck auf das Deckglas zerfallen die Schnitte und man findet zahlreiche isolirte, sehr gut in ihrer Form und Struktur erhaltene Zellen.

Knochenmark des Frosches.

Ausser Fett- und Pigmentzellen finden sich verästigte, offenbar fixe Zellen, zu deren Studium das Knochenmark des Frosches besonders empfohlen werden kann. Ihre grossen bläschenförmigen Kerne zeigen häufig eine scharf begrenzte, runde, helle Stelle, welche zuweilen $\frac{1}{2}$ des ganzen Kerns in Anspruch nimmt. Die sehr vielgestaltigen Zellkörper schmiegen sich mit ihren oft flügelförmigen Ausläufern der spärlichen zwischen den Fettzellen gelegenen Zwischensubstanz, sowie diesen selbst an. Manche Zellen, welche nach ihrer Lage, Gestalt und Beziehung zur Zwischensubstanz mit den sessilen vollkommen übereinstimmen, unterscheiden sich von diesen durch dunklere Kerne und grob-granulirte Beschaffenheit des Protoplasmas. Da gewöhnlich nur die mobilen Zellen des Knochenmarks eine solche Granulirung des Leibes darbieten, erhält man den Eindruck, es handle sich um Uebergänge von sessilen zu mobilen Zellen; dass solche Befunde nicht eindeutig sind, bedarf keiner Auseinandersetzung. Ich will übrigens nicht unterlassen, auf die analogen Befunde Ehrlich's³⁾ u. A. hinzuweisen.

¹⁾ Weiss, Die Wechselbeziehung des Blutes zu den Organen u. s. w. Jahrb. f. Kinderheilkunde. Bd. XXXV. 1893. S. 147.

²⁾ Bezüglich der von Aronson und Philipp angegebenen Methode vergleiche man Rieder, Atlas der klinischen Mikroskopie des Blutes. Leipzig 1893.

³⁾ Ehrlich, Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. Berlin 1891. Hirschwald.

Von zweifellosen Leukocyten lassen sich folgende Formen unterscheiden.

1. Kleinere und etwas grössere Zellen mit schmalen Protoplasmasäumen; die meistens einfachen runden Kerne sind gewöhnlich dunkel, zuweilen etwas heller gefärbt.

2. Zellen mit bald schmäleren, bald breiteren, aber immer deutlich nachweisbaren Protoplasmasäumen; die meistens hellen, zuweilen aber auch dunklen Kerne haben eine runde, eingebuchtete, ring- oder hufeisenförmige Gestalt.

3. Zellen mit breitem Protoplasmasaum; die gewöhnlich dunklen Kerne haben eine ring-, korbförmige oder verästigte Gestalt, kurz sie sind polymorph.

4. Sehr selten sind im Froschmark Riesenzellen; sie besitzen meistens dunkle, polymorphe Kerne und liegen ausschliesslich an der Peripherie.

Die Bedeutung und gegenseitige Beziehung dieser Zellformen soll später erörtert werden. An dieser Stelle will ich nur hervorheben, dass die oben aufgezählten Arten lediglich den Hauptrepräsentanten entsprechen. Wie ich schon in meinen früheren Arbeiten hervorhob, sind die morphologischen Eigenschaften der Knochenmarkzellen einem solchen Wechsel unterworfen, dass eine erschöpfende Beschreibung derselben ganz unmöglich ist.

Bei der Darstellung der Granula muss man deren Grösse und deren Verhalten zu Farbstoffen berücksichtigen; darnach lassen sich folgende Arten aufstellen:

I. Gröbere Granulirung.

a) Granula, sogenannte eosinophile, welche sich mit Eosin, Eosin-Safranin, Orange, Säurefuchsin färben und bei der Differenzierung mit Pikrinsäure den Farbstoff am längsten zurückhalten; bei der Anwendung des Triacidgemisches nehmen sie an feuchten Präparaten eine Orangefarbe an. Die Mehrzahl der Granula hat gleiche Grösse und gleiche Farbenintensität; sehr häufig kommen aber dazwischen kleinere Granula vor, welche theils dieselbe Farbe, theils eine mehr rothe Nuance besitzen. Auch in Bezug auf Zahl und Lage der Granula finden sich bemerkenswerthe Verschiedenheiten. Manche Zellen sind dicht mit Granula erfüllt, so dass der Kern kaum zu sehen ist, in anderen Zellen

bleibt die Stelle des Kerns frei oder die Granula zeigen eine mehr gruppenweise Anordnung; endlich giebt es Zellen, welche ganz vereinzelte Granula führen. Es sind namentlich die unter 2 und 3 beschriebenen Formen, welche diese gröberen Granula enthalten. Ihre Kerne zeigen bemerkenswerthe Verschiedenheiten, indem sie bald heller, bald dunkler gefärbt, rund, eingebuchtet, seltener polymorph sind.

b) Granula, sogenannte basophile, welche sich mit Methylenblau und Thionin färben. Fast in allen Präparaten findet man einzelne Zellen, zu deren Leib grosse blaue, zuweilen etwas eckige Körner gehören. Manche derselben scheinen im Protoplasma zu liegen, andere treten über dieses vor, durch Fäden mit dem Zellleibe in Zusammenhang bleibend.

II. Feinere Granulirung.

a) Granula, welche sich an nach der Altmann'schen Methode gehärteten und gefärbten Präparaten roth tingiren. Die Grösse der mässig zahlreichen Granula wechselt innerhalb gewisser beschränkter Grenzen, ebenso ihre Farbenintensität. Derselben scheinen mit Fäden in Verbindung zu stehen. Diese Granulirung kommt in Zellen mit einfachen und polymorphen Kernen vor.

b) Granula, welche sich mit Methylenblau und Thionin färben. Manche Zellen zeigen namentlich an Trockenpräparaten eine mehr oder weniger dichte Durchsetzung mit violetten Körnern;

c) einzelne blaue Körner (Thionin-Eosinpräparate) in grob-granulirten (eosinophilen) Zellen.

Knochenmark des Kaninchens.

Das Studium der fixen Zellen des Knochenmarks ist beim Kaninchen viel schwieriger, als beim Frosch; eine Ausnahme macht das Mark hungernder Thiere, welches schliesslich sehr arm an leukocytären Elementen wird. Die Kerne erscheinen auch hier gross, hell und bläschenförmig, zuweilen etwas dunkler. Der Zellleib ist bald plattenartig ausgebreitet, bald verzweigt und besteht aus einem feinkörnigen Protoplasma.

Wenn es schon beim Froschmark nur unter den oben an-

gedeuteten Einschränkungen zulässig war, Kategorien aufzustellen, so gilt dies noch viel mehr von dem Knochenmarke des Kaninchens, in welchem der Wechsel der Formen ein noch viel grösserer ist. Diese Bemerkungen vorausgeschickt, lassen sich folgende Arten unterscheiden:

- 1) Kleine Leukocyten mit rundem, dunklem, fast den ganzen Zellleib ausfüllendem Kern; sie sind zahlreicher nur im rothen Mark vorhanden;
- 2) grössere Zellen mit gleichfalls schmalem Protoplasma-saum; die runden, selten eingebuchten Kerne sind bald dunkler, bald heller gefärbt;
- 3) Zellen von wechselnder Grösse mit breitem Protoplasma-saum; die bald heller, bald dunkler gefärbten Kerne sind rund, eingebuchtet, hufeisen- oder korbförmig;
- 4) Zellen mit bald breiteren, bald schmäleren Protoplasma-säumen und polymorphen, seltener getheilten Kernen;
- 5) die verschiedenen Formen von Riesenzellen.

Von Granula habe ich folgende Arten gefunden:

I. Gröbere Granulirung.

a) Granula, sog. eosinophile, welche sich an Formolpräparaten mit Eosin, Eosin-Safranin und Orange hellroth färben. Bei der Tinction mit Triacid nehmen sie an Formol- und Sublimatpräparaten eine Orangefarbe an, während sie an Trocken-präparaten mehr braunroth tingirt sind. Bei der Färbung nach Altmann halten sie den Farbstoff am längsten zurück. — Auch beim Kaninchen finden sich an feucht conservirten und getrockneten Präparaten zwischen gleich grossen und intensiv gefärbten Körnern kleinere und schwächer tingirte. Die Zahl und Lage-rung dieser Körner zeigt dieselben Verschiedenheiten wie beim Frosch, indem die einen Zellen mit den Granula mehr oder weniger vollständig erfüllt sich zeigen, während die anderen solche gruppenweise oder gar nur vereinzelt enthalten. Am häufigsten findet man diese Art der Granula in den sub 3 und 4 aufgeführten Zellformen. Ausnahmsweise trifft man auch im Zellleib von Riesenzellen solche Granula, häufiger vollständig entwickelte eosinophile Zellen.

b) Granula, welche durch Methylenblau und Thionin violett

tingirt werden und bald in grösserer Zahl, bald mehr gruppenweise die Zellen erfüllen.

c) Granula, welche sich mit Methylenblau und Thionin blau färben und mit den sub I b beim Frosch beschriebenen im Wesentlichen, namentlich auch betreffs der Beziehung zu Fäden, übereinstimmen.

II. Feinere Granulirung.

a) Granula, welche an Trockenpräparaten durch Triacid braunroth, an feuchten Objecten orange tingirt werden, ähnlich eosinophilen Zellen. Durch Eosin und Orange werden sie hellroth gefärbt, nach der Altmann'schen Methode roth, geben aber den Farbstoff leichter ab, als die sub I a beschriebenen grobkörnigen eosinophilen Zellen. — Während diese letzteren nicht nur an Formol- und Sublimatpräparaten, sondern auch an Alkohol- und Chrompräparaten nachzuweisen sind, gelingt dies für diese feineren Granula nur an den beiden erstgenannten. Die mässig feinen Granula haben etwas verschiedene Grösse und Farbenintensität. Ihre Vertheilung im Zellkörper ist eine bald mehr gleichmässige, bald gruppenweise. Sie kommen hauptsächlich in den sub 3 und 4 aufgeführten Zellformen vor.

b) Etwas grössere, rothe, zuweilen etwas eckige Körner trifft man an nach der Altmann'schen Methode conservirten und tingirten Präparaten; sie sind ausgezeichnet durch ihre Beziehung zu Fäden, welche namentlich an manchen Riesenzellen leicht zu sehen sind.

c) Feine Granula, welche sich mit Methylenblau und Thionin violett färben und in den verschiedensten Zellformen vorkommen.

d) Einzelne blaue Körner in grobgranulirten Zellen (Thionin-Eosinpräparate).

Knochenmark des Menschen.

Die folgenden Mittheilungen beziehen sich vorwiegend auf rothes Knochenmark vom Erwachsenen und Kind. Die Stücke wurden wenige Stunden nach dem Tode dem Oberschenkel entnommen und in die verschiedenen oben genannten Conservirungsflüssigkeiten eingelegt, sowie Trockenpräparate angefertigt, um Vergleiche zwischen den einzelnen Methoden und den durch sie

bedingten Einwirkungen insbesondere auf die Granula anstellen zu können. Ich muss mich auch hier darauf beschränken, die Haupttypen zu schildern; denn auch im menschlichen Knochenmark ist der Formenwechsel ein sehr grosser.

1) Kleine Zellen mit schmalen, oft kaum nachweisbaren Protoplasmasäumen und dunklen Kernen; sie schienen mir namentlich im rothen Mark zahlreicher vertreten zu sein, als im Kaninchenmark.

2) Grössere Zellen mit schmalen Protoplasmasäumen, theils hellen, theils dunkleren Kernen kommen gleichfalls in grosser Zahl vor.

3) Zellen mit breitem Zellleib, die Kerne gewöhnlich hell, zuweilen dunkler gefärbt, eingebuchtet, korb- oder hufeisenförmig.

4) Zellen mit etwas weniger entwickeltem Zellleib mit polymorphen oder vollständig getrennten Kernen. Die letzteren sind nach meinen Erfahrungen im menschlichen Knochenmark häufiger als beim Kaninchen.

5) Was die Riesenzellen anbelangt, so werden sie im rothen Knochenmark niemals vermisst, dagegen sehr häufig in beträchtlicher Zahl angetroffen. Neben solchen mit polymorphen Kernen, welche in ihrem Verhalten weitgehende Uebereinstimmung mit denjenigen im Kaninchenmark bezüglich Architektur und Struktur darbieten, findet man viel häufiger, wie beim Kaninchen, mehrere Kerne in einer Zelle, welche nur durch ganz feine Fäden verbunden oder vollständig von einander getrennt sind, sowie vollkommen entwickelte Zellen¹⁾. — Ich hatte in der Einleitung erwähnt, dass beim Kaninchen die Riesenzellen sehr oft an der äusseren Wand der Gefässe und innerhalb der Gefässräume gelegen sind. Dasselbe gilt vom menschlichen Knochenmark, dessen Gefässlacunen oft ganz mit Riesenzellen vollgestopft sind.

I. Gröbere Granulirung.

a) Granula, sog. eosinophile; dieselben stimmen in ihrem Verhalten an Trockenpräparaten und feucht conservirten Objecten

¹⁾ Man vergleiche ausser meinen früheren Mittheilungen die Arbeit von Werner, Ueber Theilungsvorgänge in den Riesenzellen des Knochenmarks. Dieses Archiv. Bd. 106. 1886.

gegenüber Eosin, Eosin-Safranin, Orange, Säurefuchsin-Anilinöl, Triacid mit den entsprechenden Formen beim Kaninchen (I a) vollständig überein. Hervorheben muss ich, dass auch beim Menschen zwischen grösseren und intensiv gefärbten Körnern kleinere und schwächer tingirte, meistens in vereinzelter Zahl, sich finden, dass manche Zellen vorwiegend kleinere Körner enthalten und dass die Zellen von den Körnern bald vollständig erfüllt werden, bald solche in gruppenweiser Anordnung oder vereinzelter Zahl führen. Es sind die sub 3 und 4 aufgezählten Zellformen, welche diese Art der Granulirung aufweisen; doch kommen auch kleinere eosinophile Zellen vor. Der Gehalt des menschlichen Knochenmarks an eosinophilen Zellen ist einem sehr grossen Wechsel unterworfen.

b) Granula, welche durch Methylenblau und Thionin violett gefärbt werden und auch beim Menschen oft nur vereinzelt in den Zellen vorkommen, oft mehr gruppenweise in ihnen auftreten.

c) Granula, welche sich mit Methylenblau und Thionin blau färben, zu Fäden in Beziehung stehen, theils in den Zelleib eingebettet sind, theils über denselben hervortreten.

II. Feinere Granulirung.

a) Granula, welche an Trockenpräparaten rothbraun, an feuchten, in Formol conservirten Objecten durch Triacid hellroth gefärbt werden. An nach der Altmann'schen Methode tingirten Präparaten erscheinen die Körner theils roth, theils nicht gefärbt, weil sie den Farbstoff sehr leicht abgeben. Die Granulirung ist eine sehr feine, bald mehr, bald weniger dichte, gleichmässig oder gruppenweise vertheilte; sie ist hauptsächlich in den sub 3 und 4, zuweilen aber auch in kleineren Zellformen enthalten.

b) Grössere rothe Körner finden sich in den nach Altmann conservirten und tingirten Objecten; sie kommen in allen grösseren, namentlich auch in Riesenzellen vor und sind durch ihre Beziehung zu Fäden gekennzeichnet.

c) Feinere Granula, welche mit Methylenblau und Thionin eine violette Farbe annehmen und in wechselnder Menge die Zellen erfüllen.

d) Einzelne blaue Körner von eckiger Form, welche mit Fäden zusammenhängen.

e) Einzelne blaue Körner in eosinophilen Zellen (Thionin-Eosinpräparate).

Schliesslich will ich noch erwähnen, dass ich sowohl beim Kaninchen als im kindlichen Knochenmark an nach Altmann gefärbten Formolpräparaten zahlreiche rothe Blutkörper beobachtete, welche mehr oder weniger intensiv roth gefärbt waren und in ihrem zuweilen ganz fein granulirten Leib ein grösseres rundliches, sowie mehrere kleinere Gebilde umschlossen. Andere solcher Körper enthielten ausserdem ein kernähnliches Gebilde, dessen Grösse und Farbenintensität sehr wechselte und häufig eine peripherische Lagerung darbot. Ueber ganz ähnliche Befunde berichten M. Heidenhain¹⁾ und Lavdowsky²⁾. Auf eine Deutung möchte ich mich an dieser Stelle nicht einlassen, weil ich bei einer passenderen Gelegenheit auf diese wichtigen Thatsachen zurückzukommen gedenke.

Die Formen der Knochenmarkzellen.

Gleich der Mehrzahl der Autoren auf diesem Gebiete habe auch ich früher und jetzt den Versuch gemacht, die Haupttypen der in dem Knochenmark vorkommenden Zellen zu schildern. Abgesehen von den oben gemachten Andeutungen weist schon diese Thatsache auf die Schwierigkeit einer solchen Classificirung hin. Dieselbe ist nicht nur in dem grossen Wechsel der Formen, sondern auch darin begründet, dass über ihre gegenseitigen Beziehungen, insbesondere aber über ihre Herkunft so wenige sichere Anhaltspunkte beigebracht sind. — Man kann Ehrlich nur beipflichten, wenn er bestrebt war, die Leukocyten nach dem Orte ihrer Entstehung einzutheilen; eine derartige Unterscheidung wäre für das Verständniss der physiologischen und pathologischen Vorgänge zweifellos die bedeutungsvollste. — Früher hat man als die alleinige Bildungsstätte der Leukocyten des Blutes die Milz und die Lymphdrüsen angesehen. Seit den bahnbrechenden Arbeiten Neumann's und den Untersuchungen Bizzozero's, Flemming's, Ehrlich's, Loewit's, Denys',

¹⁾ M. Heidenhain, Neue Untersuchungen über die Centralkörper u. s. w. Archiv f. mikrosk. Anatomie. Bd. 43. 1894. S. 442 u. 516.

²⁾ Lavdowsky, Blut und Jodsäure und der sogen. Chemotropismus. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. X. 1893.

Cornil's, H. F. Müller's, M. Heidenhain's, van der Stricht's u. v. A., zu denen ich die meinigen vielleicht auch rechnen darf, muss den genannten Organen noch das Knochenmark hinzugefügt werden. Vorausgesetzt, dass in allen diesen Organen eine wirkliche Neubildung von Leukocyten und nicht etwa in dem einen oder anderen nur eine weitere Umwandlung aus eingeschleppten Formen sich vollzöge, könnte man lymphogene, splenogene und myelogene Arten — Lymphocyten, Splenocytes und Myelocytes — unterscheiden. Für den Fall, dass auch in den lymphatischen Bestandtheilen anderer Organe Leukocyten entstanden, liessen sich diese den Lymphocyten anreihen. — Bei dem Versuche, die nach ihrer Herkunft eingetheilten Formen, namentlich auch im Blute wieder zu erkennen, hat man die Form und Struktur der Kerne, sowie das Verhalten des Protoplasmas, namentlich seiner Granula, Farbstoffen gegenüber verwerthet. Diese Anfangs so aussichtsvollen Bestrebungen erfuhren später dadurch eine wesentliche Einschränkung, dass z. B. aus dem Knochenmarke sehr verschiedene Zellformen dem Blut zugeführt werden, von denen einzelne den aus anderen Organen stammenden Leukozyten mehr oder weniger gleichen. Aus diesem Grunde hat man beispielsweise eine Unterscheidung der Splenocytes aufgeben müssen.

Man pflegt jetzt die sub 1 und 2 (bei Menschen und Kaninchen) aufgeföhrten, mit mehr oder weniger grossen dunklen oder helleren Kernen und schmalen Protoplasmasäumen ausgestatteten Zellen als Lymphocyten zu bezeichnen, die sub 3 eingeordneten, durch entwickelten Zelleib charakterisirten und grosse runde, eingebuchtete, korb- oder hufeisenförmige Kerne einschliessenden Zellen als Myelocytes in dem eben ausgeführten Sinne zu bezeichnen, während Loewit die kleinen Leukocyten in allen hämatopoetischen Organen ihren Ursprung nehmen lässt. — Wie aus dem obigen Berichte hervorgeht, kommen in der That beide Formen der sog. Lymphocyten im Knochenmark vor; ein Befund, der eine doppelte Deutung zulässt. Es könnten namentlich die kleinen Formen in den Lymphdrüsen entstanden und mit dem Blut in das Knochenmark abgeführt worden sein, um dort weitere Umwandlungen zu erfahren. Dieselben könnten aber auch im Knochenmarke selbst ihren Ursprung genommen haben: eine

Möglichkeit, die zur Zeit nicht von der Hand gewiesen werden kann. Die Bezeichnung Lymphocyten, insofern diese ihre ausschliessliche Abstammung aus den Lymphdrüsen anzeigen soll, wäre in diesem Fall nicht berechtigt. Vorausgesetzt, dass dieselben in das Blut gelangten, wären wir nach der Form der Zellen und Anordnung der Kerne zur Zeit nicht im Stande, die aus dem Knochenmarke und aus den Lymphdrüsen stammenden sog. Lymphocyten im Blute zu unterscheiden.

Die sub 3 eingereichten Formen sind durch ihren entwickelten Zellleib, sowie die grossen runden, eingebuchteten oder hufeisenförmigen Kerne, die mitotischen Kerntheilungsfiguren, so glaubt man, zur Genüge als „Knochenmarkzellen“, „Myelocyten“ gekennzeichnet. — In den normalen Lymphdrüsen kommen allerdings solche Zellen nur vereinzelt vor, dagegen sehr häufig unter pathologischen Bedingungen; pflegen wir doch mit Rücksicht auf diese Verhältnisse eine grosszellige Art der Lymphdrüsenhyperplasie aufzustellen¹⁾. Dass grössere solche Zellformen auch in der Milz zu treffen sind, ist bekannt.

Die Knochenmarkzellen mit polymorphen Kernen (sub 4) sind, wie oben angeführt wurde, im menschlichen Knochenmarke etwas seltener, wie beim Kaninchen. Der Behauptung, dass sie im ersteren vollständig fehlen, kann ich nicht beipflichten. Ihr Vorkommen scheint einem gewissen Wechsel unterworfen zu sein; im rothen Knochenmark habe ich sie niemals vermisst, dagegen häufig in sehr grosser Zahl beobachtet. Dass auch in der Milz und in den Lymphdrüsen solche Formen zu finden sind, will ich nicht unterlassen zu erwähnen.

Bezüglich der Riesenzellen soll unten nachgewiesen werden, dass sie aus dem Knochenmarke in das Blut überreten können. Ob die in der Milz vorkommenden Zellformen ausschliesslich als eingeschwemmte oder auch als an Ort und Stelle entstandene zu betrachten sind, darauf muss ich später gleichfalls zurückkommen. Auch in einfach hyperplastischen Lymphdrüsen, nicht nur in tuberculösen, sind dieselben ein häufiger Befund.

Aus diesen Erörterungen geht wohl zur Genüge hervor, mit

¹⁾ Vergl. meine Untersuchungen über Hyperplasie der Lymphdrüsen und Milz. Dieses Archiv. Bd. 95. 1884 und Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. 30.

welchen Schwierigkeiten eine Classification der Leukocyten nach ihrer Provenienz zu kämpfen hat. Diese werden noch dadurch vermehrt, dass mit der Möglichkeit einer Umwandlung der einen Form in die andere gerechnet werden muss. Ich will nicht auf die Frage eingehen, ob die weissen und rothen Blutkörper getrennte Vorstufen haben (Loewit) oder ob beiden eine frühere Phase der Entwicklung gemeinsam ist (theilungsreife Zelle H. F. Müller's und Sanfelice's). — Es soll an dieser Stelle auch nicht erörtert werden, ob zwischen den sog. „Lymphocytē“ und den „Myelocytē“ Uebergänge bestehen, ob letztere ausschliesslich Theilungsprodukte derselben Form oder der fixen Knochenmarkzellen sind, ob letztere mobil werden können oder nicht. Nur auf die Beziehung zwischen den sog. „Knochenmarkzellen“ und denjenigen mit polymorphen Kernen möchte ich noch mit einigen Worten hinweisen. — Die meisten Untersucher (Ehrlich, Loewit, Flemming, Arnold, Heidenhain, Biondi und Engel) stimmen darin überein, dass die letzteren aus den einkernigen mittelst gewisser Metamorphosen entstehen. Der Ansicht Ehrlich's, dass diese ausschliesslich innerhalb des circulirenden Blutes sich vollziehen, kann ich mit Rücksicht auf den Befund solcher Formen im Knochenmarke nicht beipflichten. — Während Loewit u. A. die Zellen mit polymorphen Kernen als degenerirende betrachten, habe ich dieselben als lebensfähige angesehen und den Polymorphismus theils auf ihre activen Bewegungen bezogen, theils habe ich sie als in der Vorbereitung zur Theilung befindlich aufgefasst. Heidenhain¹⁾ hebt hervor, dass die Polymorphie des Kerns nur zu Stande komme, wenn das Volumen des protoplasmatischen Zelleibes gegenüber dem Volumen des Kerns relativ gering ist. Er bezeichnet diese Formen als exquisit lebenskräftige und actionsfähige.

Das Ergebniss dieser Erörterungen lässt sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Es kommen im Knochenmarke ausser Riesenzellen und den sog. „Markzellen“ kleinere und grössere, den sog. Lymphocytē gleichende, sowie polymorphkernige Zellformen vor.

¹⁾ Heidenhain, Neue Untersuchungen über die Centralkörper. Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 43. 1894.

2) Zwischen mehreren Zellarten des Knochenmarks bestehen so zahlreiche Zwischenformen, dass eine Umwandlung der einen Form in die andere angenommen werden darf.

3) Eine Unterscheidung der sog. Lymphocyten, sowie der polymorphkernigen Leukocyten nach ihrer Provenienz ist auf Grund der Form der Zellen und des Verhaltens der Kerne zur Zeit nicht möglich.

Die Granulirung der Knochenmarkzellen.

Wie oben ausgeführt wurde, kann unter ausschliesslicher Berücksichtigung der Form der Zellen und ihrer Kerne eine Eintheilung der Leukocyten nach ihrer Herkunft nicht gewonnen werden. — Um dieses Ziel zu erreichen, hat Ehrlich einen anderen Weg eingeschlagen und damit den Blutuntersuchungen eine neue Richtung angewiesen, ich meine die Untersuchung der Granula der Leukocyten und deren Verhalten Farbstoffen gegenüber. —

Die Granulaarten, welche Ehrlich unterscheidet, sind folgende:

α) Granulationen (eosinophile); grobgranulirte Zellen (Max Schultze), deren Körner aus einem Gemisch saurer, neutraler und basischer Stoffe im Sinne Ehrlich's die sauren aufnehmen (acidophile);

β) Granulationen, die mit sauren und basischen Farbstoffen tingibel sind (amphophile);

γ) Granulationen; Zellen, deren feine Granula aus einem Gemisch von Anilinfarbstoffen nur die basischen aufnehmen; Mastzellen;

δ) Granulationen; basophile Zellen, welche meist mononuklear sind;

ε) Granulationen (neutrophile Körnelung), welche aus einem Farbengemisch nur die neutrale Farbe aufnehmen; ihre Kerne sind gewöhnlich polymorph.

Ehrlich hat eosinophile Zellen und Mastzellen bei allen untersuchten Thieren, neutrophile Körnelung nur beim Menschen, zwei andere nur beim Kaninchen und Meerschweinchen, zwei weitere (5—7) nur bei Vögeln gefunden. Die Beobachtungen Ehrlich's beziehen sich vorwiegend, wenn nicht ausschliesslich,

auf Trockenpräparate. Es ist nun meine Aufgabe, zu erörtern, inwieweit die oben berichteten Erfahrungen, welche an Trockenpräparaten und feucht conservirten Stücken des Knochenmarks gewonnen wurden, mit denjenigen Ehrlich's in Einklang zu bringen sind.

Die sogenannten eosinophilen Zellen, welche α Granulationen enthalten, sind beim Frosch so zahlreich vertreten, dass sie zuweilen alle anderen Formen zusammengenommen an Zahl überwiegen; auch das Knochenmark des Kaninchens ist sehr reich an eosinophilen Zellen. Spärlicher finden sie sich beim Menschen; doch ist ihr Vorkommen, so weit meine Erfahrungen reichen, einem sehr grossen Wechsel unterworfen. Wenn ich nicht irre, es kann sich ja nur um eine annähernde Schätzung handeln, bestehen Grössenverschiedenheiten der Art, dass die grössten α Granula beim Frosch getroffen werden. Bei Tinction mit Eosin, Eosin-Safranin und Orange nehmen sie an feuchten und trockenen Präparaten die charakteristische, bei derjenigen nach der Altmann'schen Methode eine intensiv rothe Farbe an, welche sie der Pikrinsäure gegenüber am längsten zurückzuhalten vermögen. Durch Triacid werden diese Granula an Trockenpräparaten dunkelbraunroth, an Formol- und Sublimat-präparaten orange tingirt. — Besonders bemerkenswerth ist der Wechsel in der Zahl und Lagerung der Körner im Zellleib, indem dieser bald mehr gleichmässig von solchen durchsetzt wird, bald eine mehr gruppenweise Vertheilung der Körner vorhanden ist oder diese überhaupt nur in vereinzelter Zahl im Zellleib zu finden sind. Ferner wurde oben hervorgehoben, dass auch die Grösse und die Farbenintensität der Granula und zwar nicht nur an verschiedenen Zellen, sondern auch bei den in einer Zelle enthaltenen Körnern innerhalb gewisser Grenzen Differenzen aufweisen. Unterschiede, welche namentlich an feucht conservirten Objecten deutlich hervortreten. Inwieweit solche Vorkommnisse mit der sogenannten Reifung der Körner in Zusammenhang zu bringen sind, soll weiter unten erörtert werden. Ueber ähnliche Befunde an den Leukocyten des Blutes berichten neuerdings auch Rieder, Weiss, Engel u. A.

Was die Form und Grösse dieser eosinophilen Zellen, sowie das Verhalten ihrer Kerne anbelangt, so ist zunächst hervorzu-

heben, dass neben grösseren sehr häufig kleinere und zwar sehr viel kleinere vorkommen, welche bald zahlreiche, bald ver einzelte solche Granula enthalten. Die Kerne selbst zeigen viel grössere Verschiedenheiten, als die eosinophilen Zellen des Blutes, vorausgesetzt, dass diese Angaben zutreffend sind. Sie zeigen eine sehr wechselnde, helle oder dunkle Färbung und sehr verschiedengestaltete — runde, korb-, hufeisenförmige oder polymorphe — Kerne. Ich verweise auf die gleichlautenden Angaben Heidenhain's (a. a. O.).

Die beim Kaninchen vorkommenden feineren Granula haben mit den eosinophilen, von denen sie sich durch die Grösse, sowie durch die geringere Resistenz Alkohol und Flemming'scher Mischung gegenüber unterscheiden, das Verhalten gegen Eosin, Eosin-Safranin und Orange gemeinsam. Bei Anwendung von Triacid tingiren sie sich an Trockenpräparaten etwas heller, vielleicht ihrer geringeren Grösse entsprechend, an feuchten Präparaten orangefarben; ferner geben sie ihren Farbstoff viel früher ab, wenn man bei nach Altmann gefärbten Objecten mit Pikrinsäure differencirt (s. o.). Trotz dieser Verschiedenheiten dürfen diese Körner den eosinophilen als nahe verwandt bezeichnet werden.

Bezüglich der ε oder sogenannten neutrophilen Granulation, welche nach Ehrlich nur beim Menschen vorkommt, bin ich an Trockenpräparaten im Wesentlichen zu denselben Resultaten wie der eben genannte Forscher gelangt; nur begegnete ich an rothem Femurmark entnommenen Objecten einem beträchtlicheren Wechsel, was die Grösse, Zahl und Farbenintensität der Granula anbetrifft. — Während an den in Alkohol conservirten Objecten der Zellleib bei Triacidfärbung eine mehr gleichmässig rothe Farbe annimmt, kann man bei in Sublimat und in Hermann'scher Flüssigkeit conservirten Präparaten rothe Körner nachweisen. Am deutlichsten treten diese an Formolpräparaten hervor. — Ihre Farbenintensität, Grösse und Zahl, sowie ihre Vertheilung über den Zellkörper ist eine sehr verschiedene. — Ob diese Granula mit den an Trockenpräparaten beobachteten, den sogenannten neutrophilen, identisch sind, wird nicht leicht zu entscheiden sein. Dass sie an feuchten Objecten einen etwas anderen Farbenton, dessen Intensität einem gewissen

Wechsel unterworfen ist, darbieten, kann allerdings gegen eine solche Annahme nicht geltend gemacht werden, weil entsprechende Verschiedenheiten auch an den eosinophilen und anderen Körnern zu beobachten sind. Auch die Verschiedenheit in der Gruppierung ist in dieser Hinsicht nicht maassgebend.

Ich traf diese Granulirung hauptsächlich an den grossen Knochenmarkzellen mit ausgebildetem Protoplasmaleib und runden, eingebuchteten, hufeisen- oder ringförmigen Kernen, ferner in polymorphkernigen Zellen. Vereinzelte solche Körner enthalten aber auch, wie mir scheint, Zellen mit schmalem Protoplasmaleib, welche den sogenannten Lymphocyten gleichen. — Bei der Beurtheilung dieser Verhältnisse darf man die That-sache nicht ausser Acht lassen, dass bei der Trockenmethode durch Wasserentziehung und sonstige Einwirkungen auf das Eiweiss wesentlich andere Veränderungen an dem Protoplasma und dessen Granula gesetzt werden, als bei der Anwendung feuchter Fixations- und Conservirungsmittel, welche ja ihrerseits wieder so verschiedene Einwirkungen auf diese Gebilde ausüben.

Noch schwieriger ist die Einreihung der feinen Körner, welche an Formolpräparaten, wenn sie nach der Altmann'schen Methode tingirt wurden, ein so verschiedenes Verhalten darboten, indem sie je nach der Einwirkung der Differencirungsflüssigkeit bald mehr, bald weniger gefärbt erschienen und ihre Beziehung zu Fäden verschieden deutlich wahrnehmbar war. Dass sie mit den eben beschriebenen, vermutlich sogenannten neutrophilen, identisch seien, ist mir mit Rücksicht auf ihre bedeutendere Grösse, zuweilen etwas eckige Form und ihre Beziehung zu Fäden fraglich.

Die sogenannten basophilen Granula, welche durch basische Farbstoffe (Methylenblau und Thionin) gefärbt werden, zeigen gleichfalls wesentliche Verschiedenheiten. An Trockenpräparaten trifft man in den verschiedensten Zellformen grössere und kleinere violette Körner in sehr wechselnder Zahl und Vertheilung; auch an feuchten Objecten habe ich solche Granula beobachtet, nur schienen namentlich die feineren Körner seltener. Ob und inwieweit sie als Mastzellen anzusprechen sind, wage ich nicht zu sagen; sie boten in der Anordnung und Grösse der

Gränula wesentliche Verschiedenheiten dar von den bei gelben Fröschen vorkommenden typischen Mastzellen.

Die grösseren blauen Körner, welche gleichfalls in verschiedenen Zellformen getroffen werden, haben eine mehr eckige Gestalt, scheinen theils im Zellleib, theils an seiner Peripherie zu liegen, bezw. über diese hervorzutreten und mit Fäden zusammenzuhängen. Ob sie mit den Körnern, welche an den nach Altmann tingirten Präparaten nachgewiesen wurden, übereinstimmen, kann ich nicht entscheiden. Jedenfalls haben sie mit denselben die Grösse, die eckige Form und die Beziehung zu Fäden gemein.

Schliesslich muss ich noch hervorheben, dass basophile Körner auch in kleinen, den sogenannten Lymphocyten gleichen, andererseits in typischen eosinophilen Zellen vorkommen.

Die eben dargestellten Verhältnisse der Granulirung der Knochenmarkzellen fordern zu einer Erörterung ihrer Bedeutung und ihrer Verwerthung für die Classificirung der Leukocyten auf. Bei einer solchen darf allerdings nicht ausser Acht gelassen werden, dass die an trockenen und feuchten Präparaten gewonnenen Resultate nur theilweise vergleichbar sind und dass die an den Knochenmarkzellen betreffs der Granulirung gemachten Erfahrungen auf die Leukocyten des Blutes nicht ohne Weiteres übertragen werden dürfen. — Die grösste Uebereinstimmung ergiebt sich noch betreffs der eosinophilen Zellen, obgleich auch bei diesen bezüglich der Grösse der Zellen, sowie der Grösse, Zahl, Gruppierung, des Farbenton und der Farbenintensität der Körner an feuchten Präparaten viel deutlichere Verschiedenheiten sich herausstellten, als an Trockenpräparaten des Knochenmarks und Blutes.

Die an Formolpräparaten mittelst Triacid nachweisbare feine Körnelung ist wahrscheinlich mit der neutrophilen Körnelung an Trockenpräparaten identisch. Eine Umwandlung der feineren Körnchen beim Kaninchen und Menschen, von denen die ersteren mehr acidophile die letzteren neutrophile Eigenschaften zu besitzen scheinen, zu grösseren, sogenannten eosinophilen Granula darf mindestens als möglich angenommen werden. Der Befund von kleineren Körnern mit wechselndem Farbenton, sowie derjenige von grösseren eosinophilen Granula in neutrophilen Zellen

ist wohl in diesem Sinne zu verwerthen. Wie bekannt, hat schon Ehrlich auf derartige Vorgänge hingewiesen, indem er hervorhebt, dass während der sogenannten Reifung das Protoplasma in allen Zellen seine Verwandtschaft für basische Stoffe einbüsse und eine solche für saure gewinne. Auch Andere — H. F. Müller, Rieder, Zappert und Engel — haben derartige Umwandlungen für die Granula erörtert.

Dieser Uebergang von kleineren acidophilen und neutrophilen Körnern in grössere acidophile Granula weist schon auf die Möglichkeit hin, dass Granula von verschiedener Affinität für die Farbstoffe in derselben Zelle getroffen werden. Noch viel bedeutungsvoller dünkt mir die Anwesenheit von basophilen Körnern in eosinophilen Zellen an Thionin-Eosinpräparaten. Derartige Befunde verstossen allerdings gegen ein wichtiges Axiom Ehrlich's, dass in einer Zelle nur Granula gleicher chemischer Affinität vorkommen. Ich will deshalb nicht unterlassen hervorzuheben, dass auch Rieder zweierlei durch verschiedene Färbung charakterisierte Granula in manchen Zellen unterscheiden konnte. Ebenso berichtet Engel, er habe in einem Fall von perniciöser Anämie bei der Blutuntersuchung mittelst des neutralen Farbgemisches in einzelnen Mastzellen ausser der weissen negativen Granulation einige neutrophile Granula, ja selbst eosinophile Körnelung beobachtet. Ich will ferner nicht unterlassen, auf die Erfahrungen der normalen Histologen hinzuweisen, dass im Protoplasma auch anderer Zellen Granula von verschiedener Affinität für Farbstoffe getroffen werden¹⁾.

In Ehrlich's Arbeiten findet sich die Angabe, dass manche Körner amphophil seien, d. h. durch saure sowohl als basische Farbstoffe tingirt werden. Mit Rücksicht auf den Nachweis chemisch differenter Granula in derselben Zelle mag es fraglich erscheinen, ob es eine solche Amphophilie giebt, weil es sich in einem solchen Falle um die Anwesenheit verschiedener Körner handeln könnte, von denen die einen die sauren, die anderen die basischen Stoffe aufnehmen. Andererseits habe ich

¹⁾ Man vergleiche die neuesten Mittheilungen von Schloter, Zur Morphologie der Zelle. Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. 44. 1894. Dasselbst Literatur.

oben darauf hingewiesen, dass Körner, welche nicht nur dieselbe Grösse und Form, sondern auch dieselbe Beziehung zu Fäden darbieten, sowohl mittelst der Säurefuchsinfartheilung als der Färbung durch Methylenblau und Thionin darzustellen sind. Ob es sich dabei um verschiedene Granula oder um die gleichen Körner von sogenannten amphophilen Eigenschaften handelt, diese Frage wird vorerst als eine offene zu betrachten sein. — Ueberhaupt wird man sehr vorsichtig in der Beurtheilung solcher tinctoriellen Ergebnisse und ihrer Verwerthung für die Annahme einer chemischen Affinität sein müssen. Wir haben oben gesehen, von welchem Einfluss der Wassergehalt bezw. die Wasserentziehung bei dem Verhalten der Granula den Farbstoffen gegenüber ist. Manchmal scheint es sich bei diesen Wechselbeziehungen zwischen den Farbstoffen und den Körnern nicht um einen qualitativen, sondern mehr um einen quantitativen Unterschied, wie bei den Bakterien zu handeln; d. h. die einen Körner vermögen den Differencirungsfüssigkeiten gegenüber den Farbstoff länger zurückzuhalten als die anderen.

Die functionelle Bedeutung dieser Granula der Knochenmarkzellen betreffend nur noch die kurze Bemerkung, dass sie wahrscheinlich als Ausdruck von Stoffwechselvorgängen anzusehen sind und mit der Aufnahme, dem Umsatz und der Abgabe gewisser Stoffe in Zusammenhang stehen¹⁾. Möglicherweise kommt aber nicht allen Granula dieselbe Function oder manchen ausser dieser noch eine andere zu; es ist denkbar, dass namentlich die mit Fäden in Verbindung befindlichen Granula, indem sie durch diese zum Centralkörper in Beziehung stehen, formativen Vorgängen dienlich sind und Phasen einer fortschreitenden Entwicklung darstellen. Die diesbezüglichen Beobachtungen van Beneden's, Boveri's, Schultze's, Heidenhain's und Reinke's²⁾ eröffnen

¹⁾ Sehr interessant sind in dieser Hinsicht die mit Methylenblaufärbung an lebenden Zellen angestellten Untersuchungen (Schultze, Kowalewsky, Mitrophanow, Hausman u. A.). Der letztgenannte Autor verlegt in die Granula nicht nur die Fettresorption, sondern auch die Eiweissbildung. Dass die Granula aus Eiweiss bestehen, darin stimmen die Meisten überein. Bei hämatogener Siderosis geben manche Körner Eisenreaction; andere scheinen eisenfreies Pigment zu führen.

²⁾ Reinke, Zellstudien. Archiv f. mikroskop. Anatomie, Bd. 44. Dasselbst Literatur.

für die Granulalehre neue Gesichtspunkte und berechtigen zur Erwartung neuer Aufschlüsse.

Bezüglich der Granulirung der Knochenmarkzellen, sei es gestattet, folgende Schlussätze aufzustellen.

1. Die Granula der sogenannten eosinophilen Zellen sind bezüglich ihrer Grösse, Zahl, Gruppierung, sowie betreffs des Farbenton und der Farbenintensität innerhalb gewisser Grenzen einem Wechsel unterworfen, welcher wahrscheinlich mit der Entstehung dieser Granula aus anderen zusammenhängt. Die eosinophile Körnelung kommt in grösseren und kleineren Zellen, sowie in den verschiedensten Zellformen vor.

2. Die im menschlichen Knochenmark an Formolpräparaten bei Anwendung von Triacid nachweisbaren feinen Granula sind wahrscheinlich mit der sogenannten neutrophilen Körnelung der Trockenpräparate identisch. Auch sie wird in den verschiedensten Zellformen, grossen mononucleären und polymorphkernigen Zellen, sowie vereinzelt in sogenannten Lymphocyten getroffen.

3. Die mit Methylenblau und Thionin sich färbenden Granula sind verschieden betreffs der Form und Farbe (violett und blau), sowie der Beziehung zu Fäden.

4. In derselben Zelle kommen Granula von verschiedener Affinität zu Farbstoffen vor. Ob es amphophile Granula giebt, ist zur Zeit noch nicht entschieden.

5. Möglicherweise kommt den Granula eine verschiedene funktionelle Bedeutung in dem Sinne zu, dass die einen der Ausdruck nutritiver bzw. secretorischer Vorgänge sind, während die anderen Phasen einer fortschreitenden Entwicklung, einer formativen Thätigkeit anzeigen.

6. Eine Eintheilung der Knochenmarkzellen auf Grund des Verhaltens der Granula ist zur Zeit unmöglich, weil dieselben Granula in verschiedenen Zellformen und verschiedene Granula in derselben Zelle vorkommen.

Die in den vorstehenden Zeilen erörterten Verhältnisse sind von grossem Belang nicht nur für die Physiologie, sondern auch für die Pathologie, namentlich die klinische Blutuntersuchung. Es sei mir gestattet, dies an einigen Beispielen zu erörtern. — Die grösste Rolle haben in dieser Beziehung die eosinophilen

Zellen gespielt. Seitdem Ehrlich den Satz aufgestellt hatte, dass eine Vermehrung der eosinophilen Zellen im Blute eine chronische Veränderung der blutbereitenden Organe anzeigen, ist dem Vorkommen derselben bei allen möglichen Erkrankungen Aufmerksamkeit zugewendet worden. Sehr bald hat man aber die Erfahrung gemacht, dass nicht nur bei verschiedenen chronischen, sondern auch bei acuten Krankheiten eine Zunahme eosinophiler Zellen sich einstellen könne. Die Behauptung von Jaksch, Klein u. A., dass eine beginnende Leukämie an der Vermehrung der eosinophilen Zellen im Blute zu diagnosticiren sei, haben H. F. Müller und Rieder als unhaltbar bezeichnet. Auch bei Berücksichtigung der verschiedenen Grösse der Granula haben sich keine besseren Resultate ergeben. Später wurde ein besonderes Gewicht auf das Auftreten der grossen mononucleären „Myelocyten“ bei gewissen Formen der Leukämie im Blut gelegt. Während bei der Leukocytose nur eine Vermehrung der polynucleären neutrophilen Formen statt habe, bei den reinen Formen der lymphatischen Leukämie nur der Zustand einer so-genannten Lymphämie vorhanden sei, sollen bei den mit Erkrankung des Knochenmarks verbündeten Arten der Leukämie, der Myelämie, grosse Zellen auftreten, welche durch ihre morphologischen Eigenschaften, das Vorkommen mitotischer Kerntheilungsfiguren und die weniger lebhaften amöboiden Bewegungen jeder Zeit als „Myelocyten“ zu erkennen seien (H. F. Müller, Rieder, Limbeck, Lenhartz, Leube u. A.), was von Loewit, Troje, Weiss u. A. bestritten wird. Neueren Beobachtungen zu Folge (Hayem, Jaksch, Weiss, Neusser, Rille, Lenhartz, Loos, Engel u. A.) sollen „Myelocyten“ auch bei anderen Erkrankungen, insbesondere bei perniciöser Anämie vorkommen. — Es sind aber diese Verhältnisse nicht nur für die Diagnose der Leukämie, sondern auch für die Deutung ihres Wesens nutzbar gemacht worden, namentlich für die Frage, ob die Leukämie als eine primäre und selbständige Erkrankung des Blutes (Loewit) oder die Folge einer primären Affection der blutbildenden Organe (Virchow-Neumann) zu betrachten sei. Es kann nicht meine Aufgabe sein, in derartige Erörterungen hier einzutreten; ich verweise in dieser Hinsicht auf das ebenso sachliche als ausführliche Referat

H. F. Müller's¹⁾ und die auf dieses sich beziehenden Bemerkungen Loewit's²⁾). — Nur darauf möchte ich hinweisen, dass die Aenderung der Blutmischung, wie sie in manchen Fällen beobachtet wird, nicht allein auf eine wechselnde Beteiligung der einzelnen hämatopoetischen Organe, sondern auch aus einer wechselnden Zufuhr verschiedener Leukocytenformen, z. B. aus dem Knochenmark, in welchem, wie oben nachgewiesen wurde, die verschiedensten Zellarten getroffen werden, sich erklären liesse. Ob es auf Grund der Granulirungen gelingen wird, die aus dem Knochenmark stammenden kleinen Zellformen, von den aus den Lymphdrüsen eingeschwemmten zu unterscheiden, müssen weitere Untersuchungen lehren; zur Zeit liegen jedenfalls die erforderlichen Anhaltspunkte nicht vor. — Selbstverständlich bin ich weit davon entfernt, die Berechtigung zu bezweifeln, verschiedene Formen der Leukämie nach dem Blutbefunde und der vorwiegenden Beteiligung des einen oder anderen der hämatopoetischen Organe zu unterscheiden. Vielmehr wollte ich nur darauf hinweisen, dass in Fällen von reiner Lymphämie auch das Knochenmark (Neumann), in hervorragender Weise verändert und vielleicht an der Lieferung von sogenannten Lymphocyten beteiligt sein kann, weil, wie oben ausgeführt wurde, auch diese Formen im Knochenmark zu treffen sind³⁾.

Noch auf einem anderen, dem eben gestreiften sehr fern liegenden Gebiete, in der Lehre von den Hautkrankheiten, hat die Granulirung der Leukocyten eine Rolle gespielt. Ich meine damit nicht die Vermehrung der eosinophilen Zellen bei verschiedenen Hautkrankheiten, sondern den Versuch Unna's, die von ihm als „Plasmazellen“ bezeichneten Formen, welche durch stark tingibles, feinkörniges Protoplasma charakterisiert und von den

¹⁾ H. F. Müller, Die Morphologie des leukämischen Blutes. Centralbl. f. allg. Pathologie u. s. w. 1894.

²⁾ Loewit, daselbst.

³⁾ Sehr lehrreich war mir in dieser Hinsicht ein Fall von Leukämie, den ich neulich zu obduciren Gelegenheit hatte, bei welchem das Bild der Lymphämie vorhanden gewesen war. Es fand sich ausser grossen lymphatischen Tumoren an verschiedenen Körperstellen eine Veränderung des Knochenmarks, welches das Bild des lymphatischen (Neumann) darbot. Ausführlichere Mittheilungen folgen an einer anderen Stelle.

Wanderzellen unterschieden sein sollen, so dass ihre Herkunft von den fixen Zellen für Unna ausser Frage steht. Während die Körnelung dieser Zellen von Jadassohn und Marschalko bestätigt wird, haben beide darauf aufmerksam gemacht, dass die von Unna angenommene Identität seiner Zellen mit den Waldeyer'schen Plasmazellen nicht existire. Insbesondere aber haben Neisser und Marschalko¹⁾ durch eingehende Untersuchungen nachgewiesen, dass auch in leukocytären Wanderzellen der Haut derartige Körner enthalten sind. Die genannten Autoren heben hervor, dass damit die Hauptstütze der Unna'schen Hypothese gefallen ist. Die oben geschilderten Befunde lassen keinen Zweifel darüber zu, dass zahlreiche Leukocyten basophile Körner enthalten und dass man somit nicht berechtigt ist, aus dem Befund von basophilen Körnern in einer Zelle zu schliessen, dieselbe könne nicht ein Leukocyt sein. Man muss Neisser und Marschalko zugeben, dass mit dieser als falsch erwiesenen Voraussetzung die Unna'sche Hypothese, so verlockend sie erscheinen mag, fällt.

II. Biologische Mittheilungen.

Beobachtungen an den überlebenden Knochenmarkzellen.

Es wurde oben bereits darauf hingewiesen, dass bei der Definition der sogenannten Myelocyten des Blutes neben den morphologischen Eigenschaften und dem Befunde mitotischer Kerntheilungsfiguren ihre activen Aeusserungen verwerthet worden sind. Die Mehrzahl der Beobachter (Biesiadecki, Renaut, Loewit, Mayet, Roux, Hayem, H. F. Müller, Gilbert und Rieder) kam bei der Beobachtung des leukämischen Blutes zu dem Ergebniss, dass hauptsächlich die grossen einkernigen Zellen der Bewegung entbehren, während Neumann und Cavafy bei allen Leukocyten des leukämischen Blutes eine geringere Motilität wahrgenommen haben. Weiss bestreitet, dass ein Unterschied in der Beweglichkeit der Leukocyten bei einfacher Leukocytose und Leukämie bestehe. Am normalen Knochen-

¹⁾ Marschalko, Ueber die sog. Plasmazellen u. s. w. Archiv f. Dermatologie u. Syphilis. 1895.

mark sind nur vereinzelte Beobachtungen (Bizzozero und H. F. Müller) angestellt worden, während es doch wünschenswerth scheint, diese Erfahrung mit denjenigen an pathologischen Objecten zu vergleichen.

Knochenmark des Frosches. Die bei solchen Versuchen anzuwendende Technik ist eine ziemlich einfache. An dem exarticulirten Oberschenkel trägt man das obere oder untere Gelenkende ab, führt die Spitze einer Scheere in den feinen Markraum ein und sprengt denselben so weit auf, dass ein kleines Stückchen des Markzylinders unter möglichster Vermeidung von Zerrung herausgehoben werden kann. Dasselbe wird auf das sorgfältig gereinigte Deckglas aufgelegt und mit Serum oder physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet. Am sichersten gelingt der Verschluss der feuchten Kammer mittelst Vaselin. Da nach einiger Zeit die Ränder des Markzylinders so dicht mit Wanderzellen besetzt waren, dass die Beobachtung weiterer Auswanderungsvorgänge erschwert wurde, brachte ich eine Irrigationsvorrichtung an. Ich liess an dem oberen Rand der vorderen Wand einer Hartgummikammer eine verschiebbare, mit feiner Oeffnung versehene Canüle anbringen. Dieselbe war so gekrümmmt, dass ihre Mündung das Deckglas nicht ganz berührte. Zwischen beide schob ich einen Streifen Filtrerpapier in der Art ein, dass in seinem hufeisenförmigen, nach unten offenen, Ausschnitt der Markzylinder zu liegen kam. Die Ableitung wurde durch eine am Boden der Kammer dem Zuleitungsrohr gegenüber gelegene Canüle vermittelt. Will man prüfen, ob die aus dem Markzylinder ausgewanderten Zellen noch einer Ortsveränderung fähig sind, so kann man auf das Präparat ein Hollundermarkplättchen legen, in dessen Maschen dann die Zellen einzwandern.

Wie aus den obigen Bemerkungen schon hervorgeht, hat in der That eine sehr lebhafte Bewegung und Auswanderung statt. So lange die Zellen innerhalb des Knochenmarkzylinders sich befinden, ist das oft schwer festzustellen. Nur bei sehr genauer Beobachtung sieht man, wie die Zellen ihre Form und gegenseitige Lagerung ändern oder einzelne unter meistens recht langsamem Formveränderungen zwischen anderen sich durchschoben. Um so lebhafter werden die Bewegungen bei dem Austritt aus

dem Markeylinder und nachdem sie denselben verlassen haben. Man findet dann, wie oben bereits erwähnt wurde, die Ränder des Markeylinders dicht mit Zellen besetzt, welche mehr oder weniger lebhafte Bewegungen ausführen. Die meisten der ausgewanderten Zellen hatten polymorphe Kerne und einen mässig breiten Protoplasmasaum. Andere enthielten aber, nachdem sie zur Ruhe gekommen waren, runde oder eingebuchtete Kerne. Dass es bestimmte Leukocytenarten giebt, welche keine oder auffallend langsame Formveränderungen vornehmen, davon konnte ich mich beim Frosch nicht überzeugen. —

Die Beurtheilung dieser Verhältnisse wird namentlich dadurch erschwert, dass die Lebhaftigkeit dieser Erscheinungen überhaupt einem sehr grossen Wechsel unterworfen ist, ohne dass man in jedem einzelnen Falle eine bestimmte Ursache dafür aufzufinden vermöchte. — Einen ungünstigen Einfluss übt der Gehalt des Objectes an freiem Fett aus, namentlich wenn sich das Deckglas damit beschlägt oder die Maschen des Hollunderplättchens mit solchem füllen. Es müssen aber auch noch andere Factoren eine Rolle spielen, über welche ich mir einen Aufschluss nicht zu verschaffen vermochte. —

Auch an den Pigmentzellen kann man allerdings sehr langsame Formveränderungen nachweisen. Ihre Ausläufer werden kürzer und dicker oder länger und schmäler; ferner bilden sich zwischen den einzelnen Zellen ganz neue Verbindungen. Ob es sich dabei nur um Verschiebungen der Körnchen oder um wirkliche Gestaltsveränderungen der Zellen handelt, ist an einem solchen Object nicht zu entscheiden und lag auch nicht in in meiner Absicht, weiter zu verfolgen¹⁾). Erwähnen will ich noch, dass auch Abschnürungen und Ortsveränderungen grösserer und kleinerer Pigmentklümpchen von mir wahrgenommen wurden.

Knochenmark des Kaninchens. — Ich habe zur Beobachtung dieses Objectes verschiedene Wege eingeschlagen. Am schnellsten und sichersten kommt man zum Ziele, wenn man bei dem lebenden Thiere den Femur quer durchsägt und mit einer ausgeglühten Nadel rasch ein kleines Stück Knochenmark heraushebt. Nachdem die feuchte Kammer und das Deckglas

¹⁾ Ballowitz, Ueber Bewegungserscheinungen der Pigmentzellen. Biolog. Centralbl. 1893.

auf dem Wasserbad vorgewärmt wurden, bringt man das Object, ohne dasselbe zu zerzupfen, unter Zusatz von Serum oder physiologischer Kochsalzlösung auf das Deckglas, dessen Ränder mittelst Vaseline eingedeckt werden. — Auch die verschiedenen heizbaren Objecttentische habe ich verwendet, aber nicht mit wesentlich besserem Resultate. — Ferner habe ich Irrigationen mit Kochsalzlösungen ausgeführt; dabei bediente ich mich der oben beschriebenen Vorrichtung.

Vor Allem muss ich hervorheben, dass unter vermeintlich vollständig gleichen Bedingungen an den verschiedenen Objecten ein sehr wechselnder Befund sich ergab. An den einen Präparaten war die Auswanderung aus den Knochenmarkstückchen eine sehr lebhafte, an den anderen eine sehr träge, ohne dass ich bestimmte Gründe aufzufinden vermöchte. Ich versuchte, die Stückchen in kleinere zu zerzupfen, aber ohne besseren Erfolg; im Gegentheil, die Zellen schienen früher abzusterben. Da wahrscheinlich auch bei diesem Object der Fettgehalt eine Rolle spielt, wählt man am besten rothes Mark zu solchen Versuchen aus. —

Ich habe Formveränderungen an grösseren und kleineren Zellen beobachtet, an solchen mit rundlichen und polymorphen Kernen. Dass es Formen giebt, welche keine Formveränderungen darbieten, wage ich nicht einmal für die Riesenzellen zu behaupten, vielmehr glaube ich auch an ihnen, allerdings sehr langsame Veränderungen wahrgenommen zu haben; doch ist es sehr schwierig zu einem ganz sicheren Resultate zu gelangen. Bemerken will ich noch, dass ich bei längerer Beobachtung Riesenzellen an Stellen auftauchen sah, an welchen früher solche nicht vorhanden waren. Ob daraus auf eine Ortsveränderung der Riesenzellen geschlossen werden darf, will ich vorerst als eine offene Frage betrachten.

Das Ergebniss dieser Versuche, dass die mobilen Zellen des normalen Knochenmarks eine offenbar von äusseren Bedingungen abhängige Unbeständigkeit in den Bewegungen darbieten, wird wohl niemand überraschen, welcher mit derartigen Beobachtungen vertraut ist. Die Versuchsanordnung, namentlich die Einrichtung der heizbaren Objectttische ist für diese Zwecke eine zu mangelhafte. Besonders will ich mit Rücksicht auf die oben

erwähnte Verwerthung der Bewegungserscheinungen für die differentielle Diagnose zwischen Myelocyten und anderen Leukocytenarten hervorheben, dass eine gesetzmässige Verschiedenheit in der Beweglichkeit der einzelnen Leukocytarten sich nicht feststellen liess. Andererseits bin ich weit davon entfernt, eine solche Möglichkeit zu leugnen; immerhin wird man mit einer solchen Annahme in Anbetracht der oben berichteten Erfahrungen sehr vorsichtig sein müssen¹⁾). Nur die Riesenzellen scheinen, vorausgesetzt, dass die mitgetheilten Beobachtungen richtig sind, immer sehr langsame Form- und Ortsveränderungen zu vollziehen. Es wurde oben betont, dass die Riesenzellen sehr häufig nicht nur in der unmittelbaren Umgebung der Gefässe, sondern auch innerhalb der Gefässwand angetroffen werden. Vollziehen sie wirklich Eigenbewegungen, dann würden wohl die eben erwähnten Befunde mit diesen in Zusammenhang zu bringen sein und man müsste von einer Einwanderung, nicht von einer Einschwemmung der Riesenzellen in das Blut sprechen.

Impfungsversuche am Knochenmark mit corpuskulären Farbstoffen.

Nach den gemachten Erfahrungen war es für viele Formen der Knochenmarkzellen zwar sehr wahrscheinlich, dass sie in das Blut überzutreten vermögen, aber eigentliche Beweise für ein solches Vorkommen waren nicht beigebracht. Ich schlug deshalb noch andere Wege ein, indem ich das Knochenmark mit verschiedenen corpuskulären Stoffen impfte, ihre weiteren Geschicke im Knochenmarke verfolgte und ihrer Verbreitung in anderen Organen nachging.

Zunächst machte ich eine Reihe von Versuchen, bei denen ich die in physiologischer Kochsalzlösung suspendirten unlöslichen Farbstoffe (Zinnober und Tusche) in das Knochenmark einspritzte.

¹⁾ Bei der Beurtheilung dieser Verhältnisse wäre noch zu berücksichtigen, dass die Knochenmarkzellen, wenn sie mobil werden und aus dem Knochenmark in das Blut überreten, wenigstens unter normalen Verhältnissen wahrscheinlich in sog. polymorphe kernige Zellen sich umwandeln (s. o.). Ob aus dem Befund von grossen „Knochenmarkzellen“ bei Myelämie auf eine mehr passive Einschwemmung geschlossen werden darf, ist zur Zeit nicht zu entscheiden.

Zu diesem Behufe eröffnete ich das Kniegelenk, schob die gemeinsame Strecksehne zur Seite und bohrte den Femur von seiner unteren Gelenkfläche her an, so dass sich eine mässig dünne Canüle bis in die Knochenmarkhöhle vorschieben liess. Hat diese eine konische Form, so sitzt sie so fest, dass man sie Stunden lang ohne weitere Fixation liegen lassen kann. — Ich infundirte dann bei Blutdruck 6—20 ccm der genannten Farbstofflösungen innerhalb mehrerer (5—10) Stunden in das Knochenmark. Die Thiere wurden theils wenige Stunden, theils mehrere Tage nach beendeter Infusion getötet. — In allen diesen Versuchen fanden sich im Knochenmark und zwar nicht nur an der Infusionsstelle, sondern auch bei längerer Versuchsdauer in sehr grosser Entfernung von dieser, abgesehen von freiem Farbstoff, kleinere und grössere, Tusche führende Knochenmarkzellen mit runden, eingebuchteten und polymorphen Kernen. Die Riesenzellen enthielten gleichfalls vereinzelte Farbstoffkörper, doch liess sich nicht mit Sicherheit entscheiden, ob sie wirklich in den Zellleib eingebettet waren oder nur auf demselben lagen; wohl aber schlossen die Riesenzellen vollständig entwickelte, Farbstoff führende Zellen ein. Lunge, Leber, Milz und Nieren enthielten namentlich intravasculär, zum Theil aber auch extravasculär gelagerte farbstoffhaltige Zellen in bald grösserer, bald kleinerer, einige Mal in so grosser Zahl, dass die Befunde namentlich an der Leber an diejenigen bei Leukämie erinnerten. Auch die Milz enthielt, insbesondere in der Pulpa, viele mit Farbstoff gefüllte kleinere Zellen, sowie auch Riesenzellen, welche zuweilen zweifellose Degenerationserscheinungen darboten; auch in den Lungengefässen traf man ausser kleineren Zellen Riesenzellen, ebenso in der Leber.

So interessant diese Versuche für die Kenntniss der Verbreitung der in das Knochenmark infundirten Farbstoffe sind, einen sicheren Rückschluss auf das Verhalten der Zellen und die Bedingungen ihres Uebertritts in das Blut liessen sie nicht zu, wenn auch die grosse Menge der Zellen und insbesondere der Befund von Riesenzellen auf eine Beteiligung dieser Zellformen, namentlich in Anbetracht der Kürze der Lebendauer mancher Versuchsthiere, hinwies. — Gegen die geschilderte Versuchsanordnung liess sich insbesondere geltend machen, dass

ähnliche Verhältnisse weder unter normalen, noch unter pathologischen Bedingungen vorkommen und dass die Zellen einfach mechanisch in die Bluträume eingeschwemmt worden seien. — Obgleich sich gegen diese Einwürfe und Vorwürfe verschiedenartige Einwendungen geltend machen liessen, hielt ich es doch für geboten, noch andere Wege einzuschlagen. Ich modifizierte die Versuche in der Weise, dass ich aus Gummi, Glycerin und Tusche hergestellte feine Stäbchen oder mit Tusche gefüllte feine Binsenrörhrchen vorsichtig in das Knochenmark von dem unteren angebohrten Gelenkende aus vorschob. Auf diese Weise war eine Druckwirkung so gut wie vollständig eliminiert; entsprechend der präziseren Localisation der Impfung liessen sich die Vorgänge nicht nur an der Impfstelle und in deren Umgebung, sondern auch deren Ausbreitung über den ganzen Knochenmarkcylinder besser verfolgen. Die Versuchstiere wurden nach Ablauf verschiedener Zeit (2—37 Tage) getötet. — In der Umgebung dieser Stäbchen fanden sich massenhafte, mit Farbstoff mehr oder weniger angefüllte Zellen, manche derselben (namentlich bei längerer Versuchsdauer) von spindelförmiger Gestalt; etwas entfernt von den Stäbchen wurden die farbstoffhaltigen Zellen spärlicher; vereinzelt fanden sie sich aber über den ganzen Querschnitt des Knochenmarkcylinders. Die Riesenzellen, welche bei den vorigen Versuchen so spärliche Farbstoffkörner enthielten, dass ihre Zugehörigkeit zu den Zellen fraglich gelassen werden musste, waren wenigstens theilweise mit Farbstoff mehr oder weniger überladen. Da manche derselben bezüglich der Anordnung der Kerne mehr eine Uebereinstimmung mit den sog. Fremdkörperriesenzellen darboten, lag die Vermuthung nahe, dass sie vielleicht in Folge der Einführung der Stäbchen erst neugebildet worden seien. Ohne eine solche Möglichkeit in Abrede zu stellen, muss ich andererseits betonen, dass auch in charakteristischen Knochenmarkriesenzellen Farbstoffanhäufungen getroffen werden, so dass an eine Umwandlung dieser in die andere Form gedacht werden muss. — Die Befunde in den anderen Organen waren im Wesentlichen dieselben, wie bei den vorigen Versuchen, nur schienen die farbstoffhaltigen Zellen, die kleinen wie die grossen, etwas spärlicher zu sein.

Endlich muss ich noch in Kürze über eine Versuchsreihe berichten, bei welcher feiner Eisendraht in das Knochenmark und zwar in derselben Weise, wie die Tuschestäbchen, eingeführt wurde. Die Thiere tödtete ich nach 7 und 14 Tagen, 2 und 3 Monaten. Nach vorsichtiger Entfernung des mehr oder weniger stark verrosteten Drahtes wurde das Knochenmark in Alkohol gehärtet. Bei allen Versuchen fanden sich an den Stellen, an welchen die Drähte gelegen hatten, theils freie, theils in Zellen eingeschlossene gelbe bis braune Körner von wechselnder Grösse; ausserdem waren aber viele Zellen, auch das Protoplasma der Riesenzellen, gelblich imbibirt. Sowohl die Körner, sowie der diffuse Farbstoff zeigten deutliche Eisenreaction. Auch in anderen Organen, namentlich in der Leber und Milz, fanden sich eisenhaltige grössere und kleinere Zellen, sowie Riesenzellen, welche zuweilen, namentlich an der letztgenannten Stelle, unverkennbare Zerfallserscheinungen darboten¹⁾.

Aus diesen Versuchen darf meines Erachtens geschlossen werden, dass grössere und kleinere Knochenmarkzellen, sowie Riesenzellen in das Blut übertreten. In Anbetracht der Anordnung bei den Versuchen mit Tuschestäbchen und Eisendrähten darf die Annahme als unwahrscheinlich bezeichnet werden, dass die Zellen die Farbstoffe erst innerhalb des circulirenden Blutes oder der genannten Organe aufgenommen hätten. Die grössere Menge der Farbstoffe war schon im Knochenmarke an Zellen gebunden; selbstverständlich soll damit die Möglichkeit, dass auch an Zellen nicht gebundener Farbstoff in das Blut übertreten kann, nicht geleugnet werden; ich selbst habe ja wiederholt auf eine solche hingewiesen. Das oben betonte Verhalten der Knochenmarkzellen zu den Farbstoffen dünkt mir in dieser Hinsicht entscheidend. — Diese Versuche sprechen aber ferner dafür, dass die Zellen nicht passiv eingeschwemmt werden

¹⁾ Ich verzichte auf eine eingehende Darstellung der Befunde bei dieser Versuchsreihe, weil sie mit den von Leber, Hippel u. A. bei experimenteller exogener Siderosis erhobenen völlig übereinstimmen. Ich verweise auf v. Hippel, Siderosis bulbi (Graefe's Arch. f. Ophthalmol. No. 40. 1894), sowie auf meine Mittheilung über Pseudomelanose (dieses Archiv. Bd. 139. 1895). Ueber den Befund bei hämatogener Siderosis vgl. Anmerk. 1 S. 433.

müssen, sondern durch eigene Activityt in das Blut gelangen können. Vermuthlich gilt dies sogar von den Riesenzellen. — Bei diesen Einwanderungsvorgängen von Knochenmarkzellen mag es sich in den oben berichteten, sowie in meinen früheren Versuchen¹⁾ um Fremdkörpereinwirkung, um tactile Einflüsse handeln. Häufiger sind wohl chemische Veränderungen des Blutes die Ursachen einer vermehrten, bezw. einer verminderten Einwanderung. Ich denke dabei nicht nur an die interessanten Ergebnisse, welche man bei der Einfuhr verschiedener chemischer Substanzen erhalten hat, sondern auch an die Veränderung des Leukocytengehaltes des Blutes, wie sie einerseits bei verschiedenen Infectionskrankheiten, andererseits bei schweren Anämien und anderen Krankheiten des Blutes beobachtet ist. Endlich muss ich noch auf die Möglichkeit hinweisen, dass bei reflectorischen Einwirkungen auf die Gefässbahnen des Knochenmarks ein vermehrter, bezw. verminderter Uebertritt von Zellen in das Blut stattfinden kann. Ob es sich in diesen Fällen um einen activen Vorgang oder um eine mehr passive Einschwemmung der Zellen in das Blut handelt, ist nicht zu entscheiden.

Besonders lehrreich sind die in Bezug auf die Riesenzellen gemachten Erfahrungen. Auf meine früheren Beobachtungen habe ich bereits an anderen Stellen hingewiesen²⁾. Seit der Zeit haben Aschoff³⁾ und Scheven⁴⁾ über ähnliche Befunde berichtet. Der erstgenannte Autor hat diese Vorgänge genauer geprüft und verschiedene Bedingungen aufgedeckt, unter welchen Knochenmarkriesenzellen in das Blut übertreten. Auch ich habe derartige Versuche wieder aufgenommen und konnte nachweisen, dass z. B. bei künstlicher, durch Einführung enger Canülen erzeugter Respirationsnoth Riesenzellen in das Blut übertreten, die ich schon in der unteren Hohlvene im Blut aufzufinden vermochte. In grösserer Zahl traf ich dieselben im Blut und in

¹⁾ Einbringen von Weizengriesstäbchen in die Blutbahn. J. Arnold, Ueber die Geschicke der Leukocyten bei der Fremdkörperembolie. Dieses Archiv. Bd. 133. 1893.

²⁾ J. Arnold, Ueber Fremdkörperembolie, a. a. O.

³⁾ Aschoff, Ueber capilläre Embolie von riesenkernhaltigen Zellen. Dieses Archiv. Bd. 134.

⁴⁾ Scheven, Zur Lehre der atypischen Embolie. Inaug.-Diss. Rostock 1894.

den Organen bei arteficieller Zertrümmerung des Knochenmarks durch eine vom unteren Gelenkende aus eingeführte Nadel an. Bekanntlich hat Lubarsch¹⁾ in einem Fall von Hüftgelenks-resection und bei tuberculöser Osteomyelitis Riesenzellen innerhalb der Gefäße gefunden, welche er als Knochenmarkriesenzellen auffasst. Aschoff hat in seiner vorhin erwähnten Arbeit darauf aufmerksam gemacht, dass Riesenzellen bei den verschiedensten Infectionskrankheiten und anderen Erkrankungen in den Luengen-gefässen getroffen werden, deren Herkunft er in das Knochen-mark verlegt, eine Deutung, deren Richtigkeit Lubarsch allerdings in Zweifel zieht.

Die oben über phagocytäre Eigenschaften der Riesenzellen berichteten Beobachtungen stehen im Widerspruch mit der vielfach verbreiteten Annahme, dass den Knochenmarkriesenzellen solche Fähigkeiten nicht zukommen. Recklinghausen, Hoffmann und Langerhans, sowie Ponfick kamen bei ihren bedeutungsvollen Untersuchungen über den Verbleib der in das Blut eingeführten corpuskulären Farbstoffe zu dem Ergebniss, dass die Knochenmarkriesenzellen solche nicht enthalten. Ich habe diese Versuche wiederholt und erhielt dieselben Befunde bei ein- oder zweimaliger Injection geringer Mengen oder auch bei der einmaligen Einfuhr grösserer Quantitäten. Injicirt man dagegen mehrere Tage (6—8) hinter einander 5 ccm in die Ohrvene, dann erscheint das Knochenmark schon dem unbewaffneten Auge schwarz und die Knochenmarkriesenzellen enthalten reichliche Farbstoffkörnchen in derselben Anordnung wie bei den oben geschilderten Impfversuchen. Die Vorstellung, dass die Zellen abgestorben gewesen seien und ihnen der Farbstoff durch andere Zellen zugeführt wurde, ist deshalb nicht zutreffend; weil in den Riesenzellen fast niemals solche Zellen enthalten waren, welche den Transport besorgt haben könnten. Die eben geschilderten Befunde, sowie diejenigen bei den Impfversuchen berechtigen meines Erachtens zu der Annahme, dass die Knochen-markriesenzellen die Rolle von Phagocyten übernehmen können. Metschnikoff, van der Stricht, Denys, Loewit, Frei-

¹⁾ Lubarsch, Zur Lehre von der Parenchymzellenembolie. Fortschritte der Medicin. Bd. 11. 1893.

berg, H. F. Müller, Eliasberg u. A. rechnen gleichfalls mit einer solchen Vorstellung.

Heidenhain, welcher den Knochenmarkriesenzellen die phagocytären Eigenschaften abspricht, sowie das Vorkommen einer Abgliederung von Leukocyten bei ihnen in Abrede stellt, will ihnen ausschliesslich chemische Functionen beilegen; die Aufnahme und Umarbeitung von Eiweisskörpern, welche aus dem Lymph- und Blutstrom entnommen werden und wieder dahin zurückkehren, sollen ihre einzige Aufgabe sein. Ich bin selbstverständlich weit davon entfernt, das Vorkommen solcher Stoffwechselvorgänge in den Riesenzellen zu leugnen; die diffuse Färbung des Protoplasmas derselben durch Eisen bei der Einführung von Eisendraht in das Knochenmark liesse sich in diesem Sinne verwerthen. Auf der anderen Seite muss ich hervorheben, dass Granulirungen, deren Auftreten, wie oben erörtert wurde, vermutlich auf eine Umsetzung von Eiweisskörpern bezogen werden darf, nur ausnahmsweise in den Riesenzellen aufzufinden sind. Vermuthlich dienen die Knochenmarkriesenzellen, wie andere Knochenmarkzellen auch, nicht nur dem Stoffumsatz, sondern auch der Fortentwickelung, sowie den durch die Phagocytose und Auswanderung angezeigten Aufgaben.

Ich schliesse diese biologischen Mittheilungen mit folgenden Sätzen:

1. Die normalen Knochenmarkzellen zeigen bei der Beobachtung in der feuchten Kammer in Bezug auf ihre Aktivität eine gewisse, wahrscheinlich von äusseren Bedingungen abhängige Unbeständigkeit.

2. Dass gewisse Formen gesetzmässig weniger beweglich seien als andere, liess sich nicht feststellen; nur die Riesenzellen des Knochenmarks führen vermutlich immer sehr langsame Form- und Ortsveränderungen aus.

3. Bei der Impfung des Knochenmarks mit corpuskulären unlöslichen Farbstoffen treten diese hauptsächlich an Zellen gebunden auch dann in das Blut über, wenn jeder Druck ausgeschaltet ist.

4. In Lungen, Leber, Milz und Nieren kommt es unter derartigen Verhältnissen zu einer ausgiebigen Anhäufung von Zellen, ähnlich denjenigen bei Leukocytose und Leukämie.

5. Bei solchen Versuchen, sowie bei Zertrümmerung des Knochenmarks, ferner bei artificieller Dyspnoe, sowie unter anderen Bedingungen treten Knochenmarkriesenzellen in das Blut über.

6. Da bei der Impfung des Knochenmarks mit corpuskulären Farbstoffen, sowie bei der Zufuhr solcher vom Blute aus die Knochenmarkriesenzellen diese in sich aufnehmen, können ihnen phagocytäre Eigenschaften nicht abgesprochen werden. Damit ist nicht ausgeschlossen, dass sie auch noch anderen Aufgaben dienen.

Nachtrag. Zum Studium gewisser Granulaarten des Knochenmarks kann ich folgende Methode angelegentlich empfehlen. — Auf feine Schnitte (Formolpräparate) lässt man 12 Stunden lang im Brütschrank eine Lösung von Säurefuchsin-Anilinölwasser (10 : 50) einwirken. Nachdem man dieselben mit Wasser abgespült hat, werden sie mit Hämatoxylinlösung (Delafield) gefärbt und schliesslich mit Salpetersäurealkohol (3 : 100) kurze Zeit differencirt. — Im Kaninchenknochenmark enthält dann die Mehrzahl der Zellen neben blau gefärbten Kernen intensiv roth tingirte Granula. Sehr leicht kann man sich an solchen Präparaten von dem oben beschriebenen Wechsel in der Anordnung der Körner, was Zahl, Grösse und Farbenintensität anbelangt, überzeugen. Sehr bemerkenswerth ist die Gruppierung der Granula, wenn sie in grösserer Zahl vorhanden sind, um ein helles Feld — das Mikrozentrum. Man vergleiche in dieser Hinsicht die oben mitgetheilten Andeutungen, die ich hoffentlich bald vervollständigen und durch Abbildungen erläutern kann. — Im menschlichen Knochenmark färben sich ausser den sogenannten eosinophilen Granula solche, welche ihrer Grösse und sonstigen Anordnung nach mit den sogenannten neutrophilen mehr übereinstimmen. Ob sie mit diesen identisch oder als Uebergänge von den neutrophilen zu den acidophilen aufzufassen sind, will ich an dieser Stelle nicht erörtern. Auch über das Verhalten der kernhaltigen und gefleckten rothen Blutkörper erhält man an solchen Präparaten sehr bemerkenswerthe Aufschlüsse.