

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

Bd. 143. (Vierzehnte Folge Bd. III.) Hft. 3.

XVII.

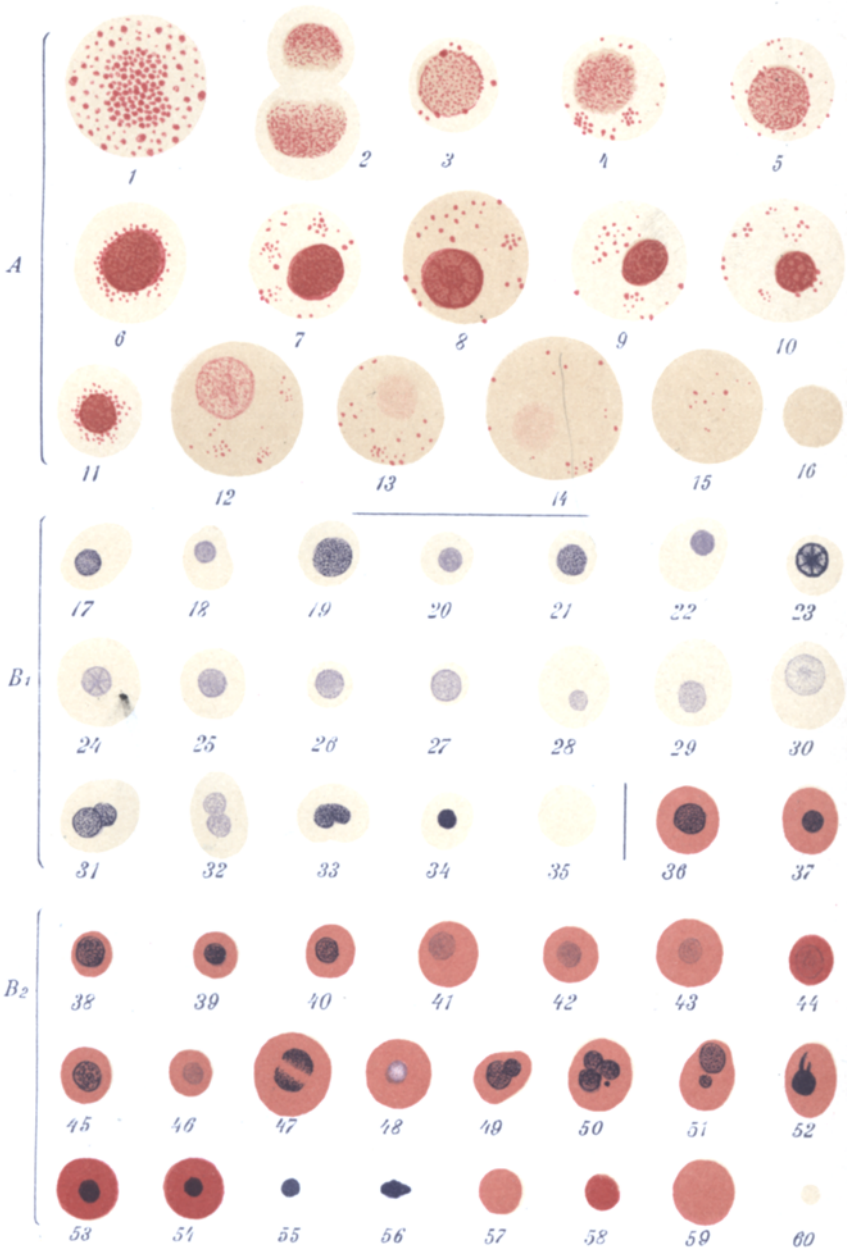
**Ueber die Entkernung der Säugethiererythro-
blasten.**

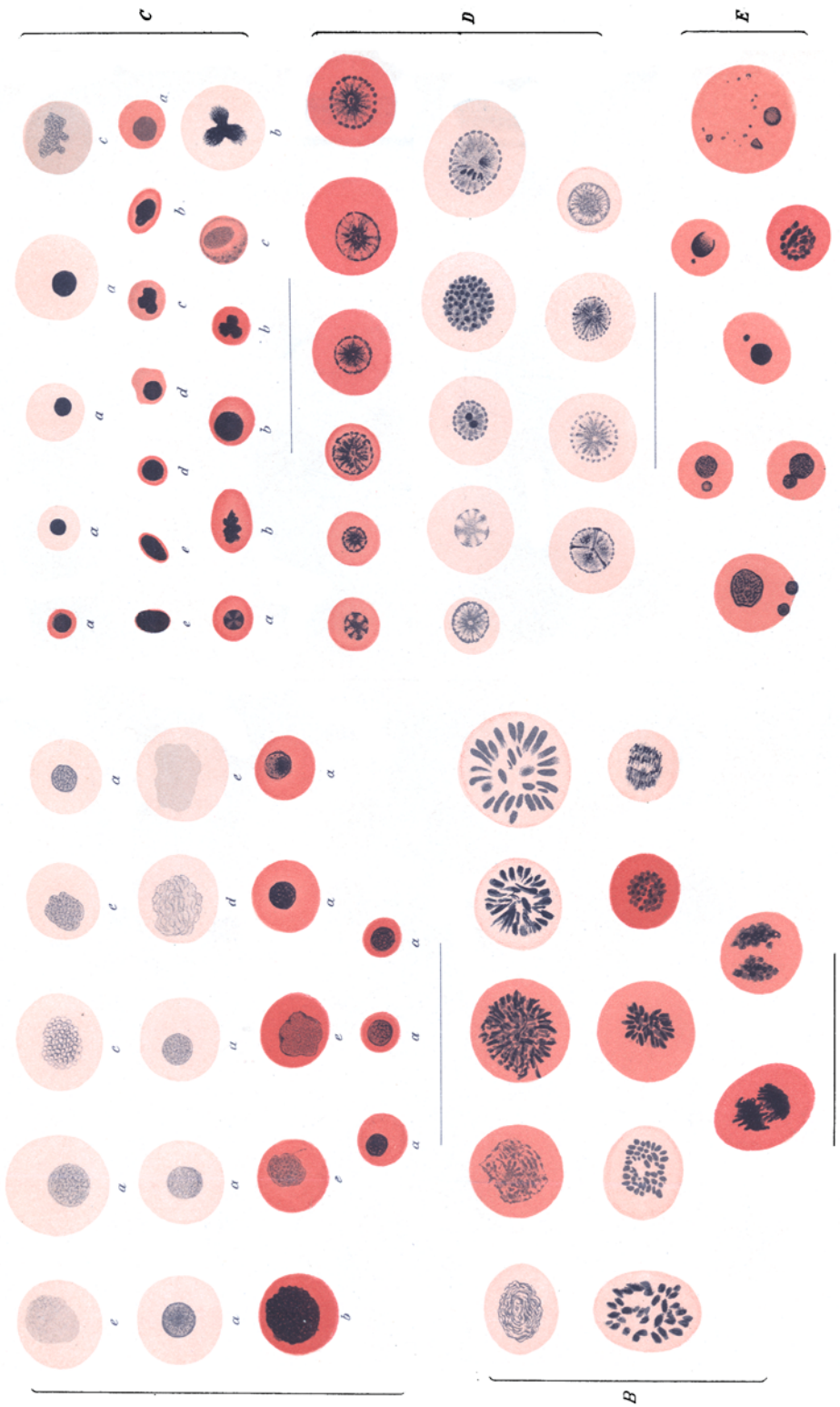
Von Prof. Dr. O. Israel und Dr. Artur Pappenheim.

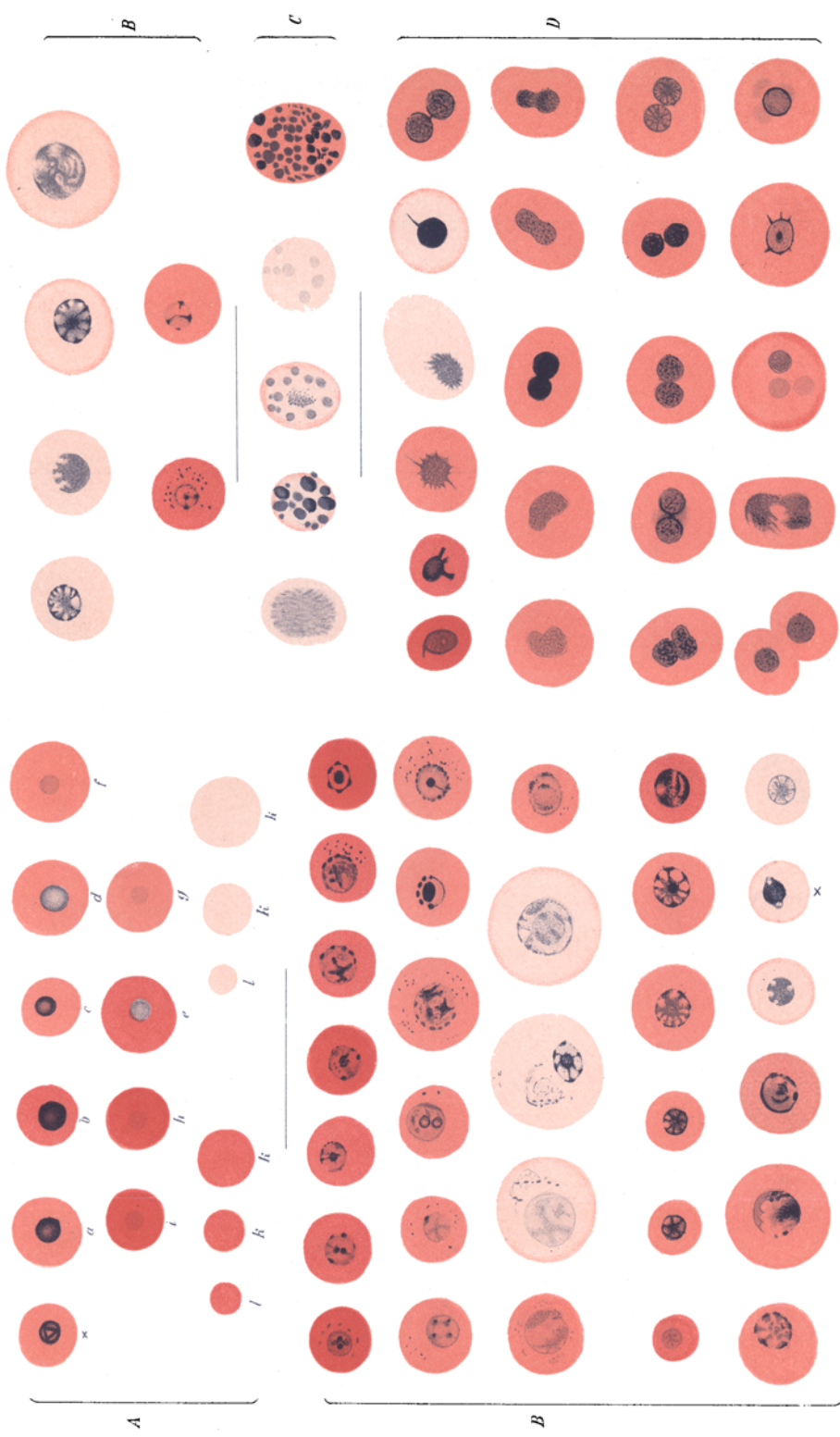
(Hierzu Taf. IX—XI.)

Unter den vielfachen allgemeinen Feststellungen Virchow's, die zu Leitgedanken geworden sind und der modernen Pathologie ihre Signatur gegeben haben, ist eine der hervorstechendsten die in allen seinen Werken zum Ausdruck kommende Erfahrung, „dass die pathologischen Prozesse keine specifischen sind, dass vielmehr für sie Analogien in dem normalen Leben bestehen“¹⁾. Gewiss ist manchem, selbst von denen, die aus vollster Ueberzeugung auf cellularpathologischem Boden stehen, diese Auffassung der Krankheitsvorgänge und der pathologischen Erscheinungen dennoch nicht als die Errungenschaft mühseligster, ausdauernder Forschung ihres Autors zum Bewusstsein gekommen, sondern sie wird, da die Zeit ihres Entstehens etwa ein halbes Jahrhundert zurückliegt, als etwas Selbstverständliches hingenommen. Alle jedoch, welche ihre *allgemeinpathologischen Vorstellungen* auf eine breitere Basis gestellt haben, die sich nach mehr als einer Richtung ausdehnt, erkennen trotz der nicht ausgebliebenen heftigen Angriffe in dem angeführten Satze den Ausdruck eines

¹⁾ Cellularpathologie. IV. Aufl. 1871. S. 405.







Naturgesetzes von weitester Gültigkeit. Nur bei zweien von allen bisher bekannten pathologischen Vorgängen ist es noch nicht möglich gewesen, für sie in Betracht kommende physiologische Paradigmata aufzufinden: bei der amyloiden Entartung und dem Sterben der organisirten Substanz.

Unsere Kenntniss der Amyloidentartung ist nicht soweit gediehen, dass wir ein Urtheil darüber abgeben könnten, wie sich an den veränderten Stellen die ursprünglich dort vorhandene Substanz verhielte. Nirgend ist in den amyloiden Theilen der Organe etwas von der früheren lebenden Masse, in Form eines Gerüstes oder sonst wie, nachzuweisen; dass sie durch die aufgetretene fremdartige Substanz, welche sie räumlich substituirt, mehr oder weniger vollständig zum Schwunde gebracht sei, nachdem sie vorher ihr Leben eingebüsst, ist keine unwahrscheinliche Annahme. Der Grund, weshalb sich für die Amyloidentartung kein physiologisches Paradigma gefunden hat, wäre also möglicher Weise in dem Umstande zu suchen, dass sie, nur an todtten Theilen sichtbar, ausserhalb der Lebenserscheinungen liegt, wie die Vorgänge der Nekrose, mit der sie bezüglich des Mangels eines physiologischen Vorbildes auf gleicher Stufe steht.

Die Untersuchungen der letzten zwei Jahrzehnte legen es nahe, die auf das Aufhören der Lebensvorgänge, welches nirgends mit einem Schlage eintritt, bezüglich, von Virchow festgelegten Begriffe der Nekrose und Nekrobiose ein wenig zu modificiren, den Begriff der Nekrose (nach Virchow: Absterben mit ungefährer Erhaltung der äusseren Form) für diejenigen Vorgänge zu reserviren, bei welchen der Tod des Gewebes für unser Wahrnehmungsvermögen unvermittelt erfolgt, während die Nekrobiose durch voraufgehende wahrnehmbare Störungen eingeleitet wird. Sie hat gewisse Folgen, die, den cadaverösen Vorgängen vergleichbar, an den Zellen und den anderen Gewebstheilen eine weitere Veränderung der Erscheinung hervorrufen — nach Virchow: Mortification mit schliesslicher Erweichung¹⁾.

Wenn diese Begriffsbestimmung der heutigen Lage des Problems wohl etwas mehr entspricht als die frühere, so kann

¹⁾ Vergl. O. Israel, Ueber den Tod der Gewebe. Berl. klin. Wochenschr. 1894. No. 11. — Ueber die anämische Nekrose der Nierenepithelien. Dieses Archiv. Bd. 123. S. 310 ff.

auch sie, — wie alle naturwissenschaftlichen Classificationsbestrebungen ein Nothbehelf des Denkens — nur eine provisorische Bedeutung haben, so lange bis wir etwa im Stande sind, auch für die oben als Nekrose gesonderten Formen einen nekrobiotischen *Modus* nachzuweisen.

Wie nun der Eintritt des Todes als Consequenz der Lebensvorgänge von denselben Gesichtspunkten aus und immer bis zu dem gleichen Grade erklärbar ist, wie das Leben, so ist ein physiologisches Paradigma für Erscheinungen des Sterbens demnach nur unter gewissen, verhältnissmässig begrenzten Bedingungen denkbar, nemlich nur bei zusammengesetzten Organismen, deren Entwicklung und Bau den Verlust bestimmter Theile ohne Aufhebung der Lebensthätigkeit der anderen Theile des Individuum zulassen. Daher konnte Virchow für die hervorragendste Form von Nekrobiose, die Fettmetamorphose, physiologische Paradigmata in Fülle anführen. Dagegen entbehrt der unvermittelte Eintritt des Todes, die Nekrose, erst an ihren ausserhalb des Lebensgebietes liegenden Folgeerscheinungen erkennbar, bis heute noch der physiologischen Parallelen. Dennoch giebt es eine physiologische Nekrose; sie muss nur nicht gerade in der gleichen Ausdehnung erwartet werden, wie die pathologische, nicht gleich an ganzen Gewebstheilen oder ganzen Zellen: ihr am meisten hervortretendes cellulares Symptom, der Kernschwund, kommt im regulären Ablauf des Lebens oft genug vor und lässt einen sicheren Rückschluss zu auf den vorausgegangenen Tod, wenn nicht auch anderer Zellenbestandtheile, so doch auf den des Kernes selbst.

Es ist nicht schwer, eine Reihe von Stellen namhaft zu machen, an denen Kernschwund normaler Weise gefunden wird, beispielsweise an der verhornenden Epidermis, an den centralen Linsenfäsern und an einem Theile der Alveolarepithelien in der Lunge. Welche biologische Bedeutung demselben zukommt, muss im einzelnen Falle einer besonderen Erwägung vorbehalten bleiben. Dass Kernschwund und Verlust anderer Zellbestandtheile in einer gewissen Periode des Fötallebens und in nachfötaler Zeit auch den Erythroblasten eigen ist, soll in Folgendem nachgewiesen werden, wie es uns auch gestattet sein möge, den biologischen

Werth dieser Erscheinung zu erörtern. Bisher ist es uns nicht gelungen, Veränderungen wahrzunehmen, die ihm etwa vorhergingen, und die demnach einen Anlass böten, den Vorgang zu den nekrobiotischen zu stellen. Wir müssen ihn vielmehr der Nekrose in dem oben aufgestellten Sinne parallelisiren mit deren pathologischem Vorkommen, wie sich zeigen wird, eine weitgehende Uebereinstimmung in den Einzelheiten besteht.

Bei der Untersuchung fötalen Blutes oder des Knochenmarks in nachfötaler Periode, namentlich auch von Individuen, bei denen eine gesteigerte Regeneration rother Blutzellen durch eine Krankheit hervorgerufen ist, zeigen sich demjenigen, der die Theile unter möglichster Vermeidung fremdartiger Einwirkungen, d. h. in möglichst frühem Zustande, ohne differente Zusatzflüssigkeiten und ohne tinctorielle Behandlung betrachtet, zwei auffällige Erscheinungen an den Erythoblasten: Einmal das Heraustrreten der Kerne und eine eigenartige Configuration des farbigen Zellrestes und dann eine weitgehende Differenz in der Beschaffenheit der Kerne selbst. Letztere sind vielfach so deutlich, dass sie ohne Weiteres leicht gesehen werden, vielfach aber, besonders im fötalen Blute so blass, dass es schwer hält, auch nur eine Andeutung derselben zu erkennen, obwohl es, wie wir später zeigen werden, noch möglich ist, ihr Vorhandensein festzustellen. Diese Wahrnehmung und der Umstand, dass der Kernaustritt in grossem Umfange sich durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung künstlich hervorrufen lässt (am pathologischen rothen Knochenmark erwachsener Menschen, wenn dieses unter günstigen Bedingungen aufgehoben war, selbst noch 24 bis 48 Stunden nach dem Tode des Individuum), rufen berechnete Zweifel hervor, ob der Austritt des Kerns wirklich eine physiologische Erscheinung sei und nicht lediglich ein Artefact, das zu einem, thatsächlich nicht begründeten, sehr grossen Gewicht für die Erklärung der Kernlosigkeit der rothen Blutscheiben gelangt ist.

Wir unterlassen es hier, die geschichtliche Entwicklung des vorliegenden hämatologischen Problems zu geben, und verweisen in dieser Hinsicht auf die Dissertation von A. Pappen-

heim, Berlin 1895. Es genügt, wenn hier auf die beiden hauptsächlichsten Meinungen hingewiesen wird, welche sich gegenüberstehen: die ältere von Koelliker¹⁾ aufgestellte von der Resorption des Kerns, die später von E. Neumann²⁾ mit allem Nachdruck aufrecht erhalten wurde, und die jüngere ihr entgegengestellte von Rindfleisch³⁾, der zuerst den Austritt des Kerns aus der fötalen Blutzelle direct beobachtete. Einen Mittelweg, beide Arten der Umwandlung (Kernausstossung bei den Normoblasten, Degeneration des Kerns bei den Gigantoblasten) lässt Ehrlich⁴⁾ zu. Allen drei Ansichten hat sich eine Reihe von Autoren angeschlossen, welche, bei der Complicirtheit der Hämatogenese in der Beobachtung wie der Auffassung der Einzelheiten wiederum vielfach unter einander abweichen. Das Heraustreten des Kerns theils auf Grund directer Beobachtung, theils in Anbetracht der „freien Kerne“, welche sich in gefärbten Präparaten finden, hat die Mehrzahl angenommen, die demnach Rindfleisch gefolgt ist, wir nennen hier nur Bizzozero⁵⁾, Cohnheim⁶⁾, Rollet⁷⁾, und bedingungsweise Engel⁸⁾, Wertheim⁹⁾, Geelmuyden¹⁰⁾ und Martin B. Schmidt¹¹⁾, der, wie Ehrlich, eine Mittelstellung einnimmt, während sich der Auffassung Kölliker's, ausser Neumann, mit guten Gründen nur noch Spuler¹²⁾ an-

¹⁾ Zeitschr. f. rat. Med. IV. 1846. — Würzburger Verhandlungen. VII. 1857. — Mikroskop. Anatomie. Bd. II. 1854. — Handbuch d. Gewebelehre. V. Aufl. 1867. — Fahrner, De globorum sanguinis in mammalium embryonibus atque adultis origine. Inaug.-Diss. Turici 1845.

²⁾ Arch. d. Heilkunde. X. 1869. XI. 1870. XII. 1871. XV. 1874. — Zeitschr. f. klin. Med. III. 1881. — Dieses Archiv. Bd. 119. 1890.

³⁾ Arch. f. mikrosk. Anatomie. XVII. 1880. — Dieses Archiv. Bd. 121. 1890. — Lehrbuch d. patholog. Gewebelehre. 1886. S. 197.

⁴⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1880. No. 28. 1881. S. 43. — Charité-Annalen. 1880. — Gesellsch. d. Charité-Aerzte. 1880. Sitzung vom 10. Juni.

⁵⁾ Dieses Archiv. Bd. 95. 1884.

⁶⁾ Vorlesungen über allg. Pathologie. 2. Aufl. Bd. I. S. 415. 1882.

⁷⁾ Hermann's Handb. d. Physiologie. T. XIV. Theil I.

⁸⁾ Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. 42. 1893. Bd. 44. 1894. — Dieses Archiv. Bd. 135. 1894.

⁹⁾ Zeitschr. f. Heilkunde. XII. 1890.

¹⁰⁾ Dieses Archiv. Bd. 105.

¹¹⁾ Ziegler's Beiträge. Bd. XI.

¹²⁾ Arch. f. mikrosk. Anatomie. Bd. 40. 1892.

geschlossen hat. Löwit's¹⁾ Beobachtungen an ausgebildeten rothen Blutkörperchen, die ihr Autor in gleicher Weise gedeutet hat, dürften, wie dies bereits Neumann und Ehrlich nachgewiesen haben, nicht im Sinne eines Kernschwundes verwerthbar sein.

Die beiden oben angeführten Wahrnehmungen der künstlichen Entkernung an zweifellos längst abgestorbenen Erythroblasten und der auffälligen Verschiedenheit der Kerne unter einander bedingten, dass wir für die Auffassung Kölliker's voreingenommen sein mussten, und deshalb hielten wir es für nöthig, durch gleichzeitige Anwendung der verschiedensten Untersuchungsmethoden uns davor zu schützen, dass wir fanden, was wir wünschen mochten. Von den früheren Untersuchern haben die älteren frische ungefärbte Präparate untersucht, während die neueren entweder nur Deckglastrockenpräparate oder Schnitte, selten daneben auch noch frische Objecte beobachtet haben.

Bei der ausreichend sicher gestellten Uebereinstimmung der fötalen Erythroblasten mit den nachfötalen beschränkten wir uns, um stets einwandsfreies Material zur Hand zu haben, für die vorliegende Arbeit auf die Benutzung von Früchten weisser Mäuse. Es erwies sich durch vielfache Proben die Zeit kurz vor dem 14. Tage der Gravidität und dieser selbst als das geeignetste Moment für die Fixirung der Objecte, weil sich zu dieser Zeit mit Sicherheit die verschiedenen kernhaltigen Formen neben bereits gänzlich kernlosen in reicher Auswahl vorfinden.

I. Untersuchung frischen Blutes.

Unter Berücksichtigung der von Neumann gemachten Erfahrungen mussten jede Quetschung und Druck der Blutzellen möglichst vermieden werden. Die bei der Decapitation der Föten und Uebertragung des Blutes gesetzten etwaigen Läsionen sind zwar unvermeidbar, aber auch so geringfügig, dass sie theils gar keine Erscheinungen machen, theils sich leicht und bald ausgleichen, zumal wenn man nur aus der Kuppe des am Halse hervorquellenden Blutropfens eine Probe entnimmt und im Präparat die äussersten Randpartien unberücksichtigt lässt. Sollte

¹⁾ Sitzungsber. der Wiener Akad. LXXXVIII. 1883—1884. XCII. 1885. XCV. 3. Abth. 1887.

sich trotz dieser Vorsichtsmaassregel einmal neben unversehrten Blutkörperchen ein deformirtes finden, so wird, wenn und da es nur als vereinzelte Ausnahme auftritt, seine Erkennung als Kunstprodukt leicht fallen und seine Vernachlässigung für die Deutung geboten sein. Um den Druck des Deckglases zu eliminiren, wurde zuerst versucht, im hängenden Tropfen zu beobachten; um jedoch die Zellen möglichst nur in zwei Dimensionen des Raumes, ohne dass sie sich gegenseitig zum Theil deckten, frei neben einander zur Anschauung zu bekommen, zogen wir bald die Untersuchung auf plangeschliffenem Objectträger vor. Es wurden nur extrafeine und dünne Deckgläschen benutzt, wie Ehrlich sie bei Blutuntersuchungen jeder Art verwendet, und dieselben nicht unmittelbar auf den Objectträger gebracht, sondern auf drei an diesem angebrachte Unterstützungshügel oder Leisten. Dieselben bestanden aus einer Spur angetrockneten Krystallpalastkittes und befanden sich je zwei entsprechend den an einer Kante des Deckgläschens liegenden Ecken, das dritte entsprechend dem Mittelpunkt der gegenüberliegenden Kante. Auch Umrandung mit Vaseline allein leistete denselben Dienst und wirkte durch Verhinderung der Verdunstung noch besonders nützlich.

Wurde auf diese Weise das Blut betrachtet, so waren, bei Beginn der Beobachtung wenigstens, alle Zellen wohl erhalten und ohne jegliche Deformation, entsprechend ihrem natürlichen physiologischen Zustand. Erst nach längerer Dauer traten die bekannten Stechapfelformen auf, und Austrocknungs- und andere Leichenerscheinungen an Kernen und Zellplasma gaben sich zu erkennen. Was übrigens die Kerne anbetrifft, so sind dieselben nur in spärlicher Anzahl und meistens schwierig wahrzunehmen; erst bei Zusatz von verdünnter Essigsäure und Lugol'scher Lösung traten dieselben, auch wo sie vorher nicht sichtbar gewesen, deutlich und mit einem Schlage hervor. Gleichzeitig aber waren durch diese Reagentien die Zellen nicht nur getödtet, sondern auch in Folge der sich bildenden chemischen Verbindungen theils durch Aufhellung, theils durch Coagulation in ihrer äusseren Form und inneren Struktur alterirt worden. Da es uns aber darauf ankam, lebendes Blut zu untersuchen, um an ihm etwaige Kernausstossung zu beobachten, mussten wir ein Mittel ausfindig zu machen trachten, welches, ohne die natür-

liche Gestalt und den Bau der einzelnen Zelltheile anzugreifen, doch die Kerne recht deutlich hervorhob. Als geeignet hierfür fanden wir die Färbung des frischen, unfixirten Blutes mittelst chemisch reinen, krystallisirten Methylenblaus oder, was sich noch vorzüglicher erwies, mittelst des ebenfalls von Ehrlich zu vitalen Injectionen angegebenen Neutralroths¹⁾. Wenn man auch zugeben muss, dass die rothen Blutkörperchen nicht, wie man glauben könnte, im lebenden Zustande sich färben lassen, etwa wie die weissen Blutkörperchen, wenn sie gezählt werden sollen, mit Methylviolett — auch um Phagocytose handelt es sich hier bei einem gelösten Farbstoff nicht, — sondern erst im Augenblick des Absterbens sich zu färben beginnen, so bewahren doch bei diesen ohne Zusatzflüssigkeit hergestellten Präparaten die Zellen ihre natürliche Form, die sie *intra vitam et intra vasa* aufweisen. Denn auch der Farbstoff darf nicht in irgend einem differenten Medium gelöst zugefügt werden, sondern muss sich im Blutplasma selbst auflösen. Man bringe eine minimale Spur trockenen Neutralroths mit Hülfe eines feinen, spitzen Pinsels auf den Objectträger und lege das mit Blut beschickte Deckgläschen darüber. Die Entnahme des Blutes hat unter den von Ehrlich angegebenen Cautelen zu geschehen: das Deckgläschen muss durch Alkohol und Aether gereinigt und absolut trocken sein, und Deckgläschen sowohl wie nöthigenfalls der decapitirte Embryo dürfen nie mit den Fingern, nur mit Pinnetten gefasst und müssen von jedem versehentlichen Anhauchen bewahrt auf den mit einem Vaselinerand versehenen Objectträger gebracht werden. So nun stirbt das Blut zwar ab und färbt sich, ohne fixirt zu sein, es bewahrt aber Zelle für Zelle die Form, die sie vor dem Tode gezeigt hatte. Unter diesen Umständen konnte auf die Anwendung eines heizbaren Objecttisches verzichtet werden.

Beobachtet man nun ein so hergestelltes Präparat unter Oelimmersion, so bemerkt man nach kurzer Zeit, wie die Blutkörperchen beginnen, sich mit dem im Serum sich lösenden Farbstoff zu imbibiren, und zwar färbt sich zuerst das Cytoplasma, bei den Leukocyten rosaroth, bei den Erythroblasten

¹⁾ Die Substanz gehört zur Farbgruppe der Eurhodine.

röthlich-graugelb; allmählich werden aber auch die Kerne sichtbar, und zwar selbst da, wo man sie früher ungefärbt ohne Zusatz von Reagentien absolut nicht erkennen konnte. Während nun im ungefärbten Blut nur bei einer Minderzahl Kerne wahrgenommen wurden, bei einer grösseren Anzahl nur helle Partien, den Kernstellen entsprechend, zur Beobachtung kamen, die Mehrzahl jedoch gar nichts von einem Kern erkennen liess und sich von den wirklich kernlosen Blutkörperchen nur durch die runde Form, bezw. Fehlen der Delle, unterschied, so kam jetzt mit Einwirkung der Farbwirkung alles, was Kern war, zum Vorschein.

Es muss hier auf einen Umstand aufmerksam gemacht werden, der zwar die Beobachtung durchaus nicht stört, der aber doch Anlass zu Missdeutung geben und die hier angewandte Methode in Misseredit bringen könnte. Durch Gerinnung scheiden sich nemlich aus dem Plasma intensiv rothgelbe Fibrinfasern, Blutplättchen und bräunliche Krystalle aus, welche das Gesichtsfeld hier und da erfüllen. Da es nicht darauf ankam, schöne Präparate herzustellen, die sich auf die Dauer doch nicht hielten, so suchten wir nicht nach Verbesserungen; was an Blutkörperchen und Kernen zu sehen ist, wird durch dererlei Dinge dem Auge des Beschauers nicht verdeckt. Ausserdem frappirt es, dass das sonst stets homogen und glatt erscheinende Cytoplasma der rothen Blutkörperchen von kleinen Körnchen bedeckt ist, welche im Gegensatz zu der gelblich-rothen Farbe des Kerns einen himbeer- bis carmoisinrothen Farbenton aufweisen. Zwar ist das Neutralroth speciell zur Färbung von Granulationen empfohlen, an rothen Blutzellen hat jedoch bis jetzt, unseres Wissens, nur M. B. Schmidt bei den hämoglobinarmeren Formen eine leichte Körnelung beschrieben; hier aber erweisen sich sogar kleine dunkelgefärbte Blutzellen granulirt. Die Vermuthung, dass es sich nicht um präformirte Gebilde, sondern um Niederschläge aus dem Farbstoff handeln könnte, liegt nahe, weil die Körnchen durchaus unregelmässig, bei einzelnen Zellen mehr, bei anderen weniger oder gar nicht angetroffen werden; bei manchen Zellen finden sie sich nur an einer beliebigen Stelle und lassen den übrigen Theil frei, bei den kernlosen Blutzellen besonders auf der Delle, durch ihre dichte Zusammenballung

einen Kern vortäuschend (Taf. IX. A 1). Dem ist aber entgegen zu halten die Lage der Körnchen auch im Innern der Zelle und dann besonders häufig um den Kern herum (Taf. IX. A 6 u. 11), sowie die besonders lichte Farbe, welche Farbstoffniederschlägen durchaus nicht entspricht, und mit der Farbe der sonstigen Granulationen übereinstimmt. Im Gegensatz zu ihr steht das Gelbroth der Kerne¹⁾. Während nun diejenigen Kerne, welche uns von der Blutuntersuchung aus früheren embryonalen Stadien her als junge bekannt waren, eine hellere röthlich-gelbe Färbung aufwiesen, waren die Kerne gealterter Zellen dunkelorangeroth tingirt. Da der Prozess der Färbung eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt, wartet man am besten so lange, bis die Kerne mit Farbstoff gesättigt sind; da ferner in den von dem eingebrachten Neutralrothpartikel entfernteren Partien die Imbibition etwas längere Zeit in Anspruch nimmt, kann es vorkommen, dass in jenen Gegenden die Kerne alle im Ganzen noch heller aussehen, während sie in der Umgebung des Farbstoffkörnchens bereits mit Farbstoff gesättigt sind. Wenn aber dicht neben einander in einem Gesichtsfeld dunkel und heller gefärbte Kerne sich finden, von denen auch während längerer Betrachtung die helleren nie die Sättigung der dunklen erreichen, so erscheint der Schluss nicht unberechtigt, dass dieses mit der geringeren oder grösseren Fähigkeit der Kerne, Farbstoff aufzunehmen, zusammenhängt, durch welche sich unter anderem jüngere Kerne von den alten unterscheiden. Was nun die Struktur der Kerne anbetrifft, so war bei dieser Methode ein distinct gefärbtes Kerngerüst auch bei den jüngeren Zellen nicht zu erkennen; nur ein undeutliches Convolut von unscharf begrenzten Körnchen zeigte sich. Dies hängt jedenfalls wohl damit zusammen, dass nicht nur das Nuclein Farbstoff aufgenommen hatte, sondern auch die achromatischen Substanzen und das Karyolinin, wenn auch bedeutend schwächer, mitgefärbt waren. Daher konnte

¹⁾ Einer persönlichen Mittheilung des Herrn Ehrlich verdanken wir den Hinweis auf die Uebereinstimmung des metachromatischen Verhaltens der Zellen mit den Reactionen im Reagenzglas, indem der gelben Färbung durch Alkali die Farbe des Zelleibes, der rothen durch Säure die Farbe der Granula entspricht. Das Orange des Kerns dürfte auf dem neutralen Verhalten desselben beruhen.

das Kerngerüst nicht distinct wahrgenommen werden, ja nicht einmal die Chromosomen bei Mitosen. Trotzdem sind diese jüngeren Kerne recht gut von den gealterten zu unterscheiden, welche nicht nur bedeutend kleiner, und dunkler gefärbt sind, sondern auch in der Homogenität ihrer Färbung so gut wie nichts von Struktur erkennen lassen (Taf. IX. A, 3—5 und 9—11). Ausser diesen zwei Arten der Kernfärbung findet sich nun noch eine dritte, wo der Kern eben nur noch als ein diffuser, matt hellbräunlicher „Schatten“ wahrzunehmen ist, wo also nur achromatische Substanz und Kernsaft, von Nuclein aber keine Spur zu sehen ist. Solche Zellen leiten unmittelbar über zu den Erythrocyten, die auch nicht einmal mehr achromatische Substanzen besitzen (Taf. IX. A, 13—16) und sind andererseits mit den noch ihren ganzen Bestand an Nuclein aufweisenden Zellen durch gewisse Uebergangsstufen abnehmender Färbungsintensität verbunden, die in einem diffus gefärbten Kern noch hier und da ein, einen stärker gefärbten Nucleolus vortäuschendes, grösseres Körnchen erkennen lassen (Taf. IX. A, 12 und 8).

Es war nicht die Absicht, mit dieser Methode die feinsten Strukturelemente des Kerns sichtbar zu machen, sondern nur unter Bedingungen, welche den physiologischen Habitus der Zellen unberührt liessen, die Kerne überhaupt zur Erscheinung zu bringen, was in gleicher Weise durch ein anderes Mittel wohl kaum möglich sein dürfte. Nur für diesen einen Zweck ist die Methode angewandt worden und hier erfüllt sie auch durchaus alle Erwartungen. In keiner Weise kann und will sie in Concurrenz treten mit den zum Studium der feineren histologischen Verhältnisse des Blutes von Ehrlich ausgearbeiteten und zu so hoher Vollendung gebrachten Methoden, deren sie zu ihrer Ergänzung keinesfalls entbehren kann.

Wir nehmen keinen Anstand, die oben geschilderten Bilder der diffusen Kernschatten in ihrem allmählichen Uebergang zu kernlosen Erythrocyten als einen Ausdruck der Entkernung anzusehen. Dieser fand sich indess in gleicher Weise bei Gigantocyten (Taf. IX. A, 14) und Normocyten (Taf. IX. A, 13). Vielleicht war es Zufall, aber wir haben in diesen frischen Präparaten keinen freien Kern zu Gesicht bekommen, obwohl sich fast in

gleicher Zahl kernhaltige, wie kernlose Blutkörperchen vorhanden. Aber selbst wenn sich auch einmal ein freier Kern hätte finden lassen, würde er ausgereicht haben zur Erklärung der vielen vorhandenen kernlosen Blutscheiben? Resorbirt, oder alle an einem ganz bestimmten Orte abgelagert wird man sie doch kaum vermuthen wollen. Ausserdem handelt es sich hier ebenso, wie bei Rindfleisch, um frisches, unfixirtes Blut, bei dem sich sehr wohl, trotz Ausschliessung jeglichen mechanischen Druckes, entgegen der Angabe Neumann's, excentrische Kerne auffinden liessen (Taf. IX. A, 5, 8, 12, 14). Nie jedoch fanden sich derartige Verziehungen der Zellform, wie sie Rindfleisch beschreibt, und niemals konnten wir hier den Prozess der Kernausstossung zu Gesicht bekommen. Man könnte einwenden, Rindfleisch habe an noch lebendem Blute beobachtet, während wir abgestorbenes oder wenigstens in seinen vitalen Functionen vielleicht durch den Farbstoff gelähmtes vor uns hatten. Dann müssten doch aber, wenn der Prozess ein so häufiger und verbreiteter ist, wie Rindfleisch angiebt, sich einige Zellen finden lassen, die gerade in dem Augenblicke abgestorben wären, wo der Kern im Austreten begriffen war, oder nur noch mit einem „körnigen Faden“ mit seiner Zelle zusammenhing. Auch hierfür war es unmöglich, nur einen einzigen Beleg aufzufinden.

Nachdem nun Neumann die Methode Rindfleisch's in Hinsicht auf die dabei angewandten Untersuchungsbedingungen als eine unzweckmässige kritisirt hat, und nachdem wir ebenfalls an frischem Blute unter geeigneteren Bedingungen zu einem entgegengesetzten, eher für die Anschauung Neumann's sprechenden Resultate gelangt waren, erübrigte es nur noch, den Versuch Rindfleisch's zu wiederholen, um den dabei untergelaufenen Fehler aufzudecken. Wir verfahren dabei so, dass das Blut nicht sogleich in physiologischer Kochsalzlösung untersucht wurde, sondern die letztere erst während der Beobachtung vom Rande des Deckgläschens her, zimmerwarm temperirt, dem frischen Blute zugefügt wurde, natürlich lange bevor dasselbe — es war noch nicht umwacht — anfang, Stechapfelform zu zeigen. Während die in ihrem natürlichen Menstruum befindlichen Blutzellen ihre normale Form bewahrten, änderte sich mit einem

Schläge das Bild, als die Kochsalzlösung hinzutrat. Die Kernausstossung, wie sie von Rindfleisch so anschaulich beschrieben wurde, trat prompt ein. Es liegt demnach ein durch die Verdünnung des Blutplasmas hervorgerufener plasmolytischer Vorgang im Sinne der Botaniker¹⁾ vor. Selbst die Amniosflüssigkeit der Embryonen, als Zusatzmittel angewandt, vermochte nicht, auf längere Zeit die Zerstörung zu verhüten. Am empfindlichsten, weil am labilsten, zeigten sich die jungen chlorotischen (hämoglobinarmer) und grösseren (protoplasmareicher) Formen, sowohl der kernlosen, wie auch der kernhaltigen Blutkörperchen gegenüber den kleineren und intensiver gefärbten Elementen. Unter dem Einfluss der Kochsalzlösung wurde einmal auch ein noch diffus und schwach gefärbter, fast nucleinfreier Kern ausgetrieben, wie auch aus einer in Karyokinese befindlichen Zelle beide Tochterknäuel aus ihren Zellabschnitten austraten. Die ganze Erscheinung am gefärbten frischen Präparat steht mit der Eingangs erwähnten Beobachtung am längst abgestorbenen Leichenmaterial in vollem Einklang.

Um solche direct zu beobachtenden Vorkommnisse voll und ganz als Kunstprodukte zu würdigen, erscheint es zweckmässig, sich das Wichtigste unter dem zu vergegenwärtigen, was von derartigen Erscheinungen bereits bekannt und von den Autoren auch in diesem Sinne aufgefasst wurde.

Die älteste derartige Feststellung stammt wohl von Brücke²⁾, der an Amphibienblutzellen durch Borsäure oder Tannin die

¹⁾ In neuerer Zeit ist der in der Botanik längst eingebürgerte Ausdruck „Plasmolyse“ in ganz anderem Sinne von den Parenchymzellen der Niere durch Eug. Fränkel und F. Reiche gebraucht worden (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 25. S. 230 f.). So bequem eine solche Verwendung des Wortes auch sein mag, so sollte sie doch in Rücksicht auf die möglichen Missverständnisse so lange unterbleiben, als die botanische Forschung nicht darauf verzichtet hat, was wohl in Anbetracht ihres älteren Rechtes nicht zu verlangen ist. Uebrigens würde eine ausgiebigere Untersuchung der Objecte in frischem Zustande den Autoren wohl ergeben haben, dass die „plasmolytische“ Erscheinung des Rindenparenchyms der Niere zum grossen Theil auf Lösung von Zellbestandtheilen, vorzugsweise Fett, durch die angewandten Präparationsmittel beruht.

²⁾ Denkschr. d. Kaiserl. Akad. zu Wien. LXI. II. Abth. 1867.

Trennung des „Zooid“ vom „Oikoid“ bewirkte. Der Nachweis einer Membran, wie sie von von Kölliker und Anderen angenommen wird, so die jüngsten Befunde von Auerbach¹⁾ ergeben sich aus der plasmolytischen Einwirkung dünner Lösungen, unter denen die Kochsalzlösung eine bevorzugte Stelle einnimmt. Eingehend sind Quellungerscheinungen von Maragliano und Castellino²⁾ untersucht worden. Hierher gehört auch die Diffusion des Hämoglobins mit Zurückbleiben der „Blutschatten“ (C. H. Schultz), als Folge der Erythrolyse durch physikalische und chemische Schädlichkeiten angesehen von Rollet, Kollmann, Landois, auf „Plasmolyse“ zurückgeführt von Stricker. Geradezu zum Werthe eines sehr empfindlichen Reagens auf die isotonische Concentration des Plasma sind die rothen Blutscheiben durch Hamburger³⁾ gelangt, der bei der Uebertragung der Ergebnisse von Pfeffer, de Vries, Pringsheim auf die thierische Physiologie auch an ihnen die Gültigkeit des van t'Hoff'schen Gesetzes über Lösungen nachweisen konnte.

II. Untersuchung von Schnitten.

Die mit den Eihäuten vorsichtig aus dem Uterus herausgenommenen Früchte wurden in toto in die Fixationsflüssigkeit gebracht, was bei der Kleinheit und Zartheit der Objecte von Vortheil war, da die Flüssigkeit immerhin schnell genug einwirkte, um genügend zu fixiren, und andererseits die gleichzeitige Fixation der Placenta für den Vergleich mit den Zellen des mütterlichen Blutes von Vortheil ist.

Wie Bizzozero⁴⁾ schon hervorgehoben hatte, kommt es für die Untersuchung von Blutzellen darauf an, eine Fixationsflüssigkeit anzuwenden, welche nicht nur möglichst gut die natürlichen Formen und Grössenverhältnisse von Zelle und Kern,

¹⁾ Ueber die rothen Blutkörperchen der Batrachier. *Anatom. Anz.* V. 1890.

²⁾ Sulla necrobiosi lenta dei globuli rossi in condizioni normali e patologiche etc. *Rivista clin.* 1891. No. 4. — Beitrag zur Kenntniss der Krankheiten des Blutes. *Verhandl. des X. internat. Congr. Abth. V.* S. 148.

³⁾ *Arch. f. Anat. u. Physiol.* 1886. S. 476. 1887. S. 31. — *Zeitschr. f. Biol.* 1889. S. 414. — *Dieses Archiv.* Bd. 140. S. 503 ff.

⁴⁾ *Archiv für mikrosk. Anat.* XXXV. 1890.

sondern auch in gleicher Weise Hämoglobin und Nuclein conservirt. Solches leisten bekanntermaassen Combinationen von Kaliumbichromat und Sublimat. Von den verschiedenen angegebenen Recepten erwiesen sich besonders zwei äusserst brauchbar, welche ebenso schöne, wie instructive Bilder lieferten: dasjenige von Foà¹⁾ und das von Zenker, modificirt von Mercier²⁾. Sie waren namentlich den von Löwit und Spuler (bezw. vom Rath) für den gleichen Zweck angegebenen Flüssigkeiten überlegen. Die fixirten und gehärteten Embryonen wurden nach Durchtränkung mit Xylol in Paraffin eingebettet und mittelst Mikrotom 2,5 μ dicke Serienquerschnitte angefertigt. Diese wurden nach einer von Mann³⁾ angegebenen Methode faltenlos auf den Objectträger aufgeklebt und, nach den bekannten Manipulationen zur Entfernung des Paraffins, auf dem Objectträger gefärbt. Nach Versuchen mit den verschiedensten Farbstoffen erwies sich für die mit dem angegebenen Fixativ behandelten Blutkörperchen sehr zweckmässig folgende Auswahl und Zusammenstellung. Als Kernfarbe kam zur Anwendung Häkalaun, als Gegenfarbe für das Cytoplasma ein Gemisch von drei, im Sinne Ehrlich's, sauren Anilinfarben:

6 G.-Theile Rose bengale,

2 G.-Theile Orange G.,

1 G.-Theil Aurantia.

Hierzu wird unter kräftigem Umschütteln und gelindem Erwärmen hinzugefügt, bis die Lösung anfängt, durchsichtig zu werden, eine Mischung:

Aqu. dest. 10 Volumtheile,

Glycerin,

Alcohol absol. $\bar{a}\bar{a}$ 1 Volumtheil.

Es stellte sich für das Resultat als gleichwerthig heraus, ob zuerst Häkalaun oder die Gegenfarbe angewendet wurde; jedenfalls musste vor Application der zweiten Farbe die erste in reiner Aqu. dest. (nicht Alkohol- oder Säurezusatz) ausgewaschen worden sein, so lange, bis keine Farbstoffwolken mehr abgingen. Ob genügend gefärbt und entfärbt ist, wird besser, wie durch pein-

¹⁾ Internat. Beiträge zur wiss. Med., Festschr. R. Virchow gew. I. S. 496.

²⁾ Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. XI. 1895.

³⁾ Ebendasselbst.

lichste Befolgung von Vorschriften über die Concentration der Farben und Dauer der Färbung, durch Ausprobiren und Controliren bei schwachen Vergrösserungen herausgebracht. Das saure Farbgemisch lässt man am besten verdünnt kurze Zeit, aber mässig erwärmt, einwirken, und wäscht hernach kräftig aus.

Nachdem nun in bekannter Weise getrocknet und in Canada-balsam oder Damarlack eingebettet war, hoben sich schon bei schwacher Vergrösserung die blutenthaltenden Stellen der Gewebe, d. h. die Gefässlumina, als leuchtende, gelbe Flecken von der dunkleren, rothen Umgebung ab, da das Hämoglobin aus dem Gemisch hauptsächlich die gelben Farben an sich gezogen hatte, obwohl sie nur in geringer Menge vorhanden waren. Das Protoplasma der übrigen Gewebszellen hatte rothe Farbentöne angenommen. Bei Betrachtung mit Oelimmersion zeigte sich der Körper der Gewebszellen abgestuft vom zartesten Rosa bis zum gesättigten Weinroth; die Blutzellen dagegen wiesen eine merkwürdige Erscheinung auf: während einige deutlich gemischte Färbung zeigten zwischen rothen und gelben Farbentönen, so zwar, dass alle Schattirungen von Mattrothlich-Gelb bis zum gesättigten gelblichen Roth vorkamen — waren in etwa gleicher Anzahl andere rein gelb gefärbt mit nur geringen Schattirungen zwischen helleren und dunkleren Tönen. Ob es sich hier um eine Folge von grösserem oder geringeren Hämoglobinreichthum handelt, oder um ungleichmässige Fixation des Hämoglobins, ob ferner und warum die einen Zellen etwa nur Aurantia, die anderen nur Orange oder Orange+Rose bengale aufgenommen haben, muss unentschieden bleiben. Da trotz dieser Ungleichmässigkeit der Färbung die rothen Blutzellen nicht mit anderen Gewebszellen oder farblosen Blutkörperchen verwechselt werden konnten, und es uns ja hauptsächlich auf die Kernverhältnisse ankam, haben wir weitere Untersuchungen zur Aufklärung dieser Färbungseigenthümlichkeiten vorläufig unterlassen. Nur so viel sei gesagt, dass sowohl bei den blassgelben, wie bei den krebs- bis kupferrothen Zellen grosse und kleine Formen, alte und junge Exemplare in gleicher Weise sich fanden (Taf. IX. B), und beide Arten, die blassen wie die röthlich-gelben, nicht etwa in verschiedene Regionen getrennt, sondern mit einander gleichmässig vermengt, in ein und demselben Gefässquerschnitt anzu-

treffen waren. Die Kerne der verschiedenen Gewebe zeigten alle Nüancen von violetten Farbtönen, von fast schwarzem Pensée bis zu blassem Lila. Die dunkelsten fielen im Grossen und Ganzen bei den Blutzellen auf.

Was nun die äusseren Formen betrifft, so waren dieselben bei Kern und Protoplasma meist recht gut erhalten, doch waren in Folge der Fixation alle Grössenverhältnisse bedeutend geringer, als im frischen Präparat. Etwas störend für die Beobachtung war es, dass die Blutkörperchen in den Gefässen in Folge der allgemeinen Schrumpfung durch das Fixativ zusammengesintert waren und nicht nur dicht neben einander, sondern auch häufig trotz der geringen Schnittdicke zum Theil noch sich deckend, über einander lagen, so dass man nur immer bei bestimmten Einstellungen der Mikrometerschraube distincte Bilder zu Gesicht bekam. Am vortheilhaftesten beobachtet man deshalb im rechten Vorhof, wo die Zellen in grosser Menge das ganze Gesichtsfeld erfüllen und meist einschichtig und frei neben einander anzu-treffen sind.

Zur Frage der Entkernung ist Folgendes zu bemerken: Es fanden sich freie Kerne (Taf. IX. B, 55, 56); dieselben waren, wie wir Schmidt gegenüber Neumann bestätigen müssen, durchaus frei von Protoplasma und ihrem inneren Bau nach identisch mit denen, welche sich in den alten Zellen gewöhnlicher Grösse zeigen. Indessen waren solche freien Kerne nur hin und wieder einmal, in spärlicher Anzahl vorhanden, trotz der beträchtlichen Menge von kernlosen Blutscheiben, so dass sie schon deshalb nicht ausreichend erschienen, um auf Grund ihres Befundes Kernausstossung anzunehmen. Ferner zeigte sich niemals eine rothe Blutzelle in dem Augenblick fixirt, wo ihr Kern im Austritt begriffen war. (Durch den Schnitt des Messers verletzte Zellen sind als solche leicht zu erkennen.) Ausserdem fanden sich hin und wieder bei diesen Präparaten, wo das natürliche Nebeneinander der Dinge gewahrt war, freie Kerne in einer Umgebung, die durchaus keine kernlosen Blutscheiben aufwies. In Uebereinstimmung geben die Autoren an, dass diese freien Kerne homolog seien denen, welche sich in älteren hämoglobinreichen Blutzellen der kleineren Grösse (Normoblasten) fänden. Im Allgemeinen stimmt dieses nach unseren Erfahrungen; indessen fin-

den sich auch hämoglobinarne alte Normoblasten neben hämoglobinarmen Normocyten, so dass Hämoglobingehalt und Alter doch wohl nicht immer übereinstimmen. Ferner aber finden sich nur verschwindend selten alte Megalo- und Gigantoblasten, die übergrosse Mehrzahl zeigt junge Kerne. Da nun aber sich nie junge, freie Kerne, wohl aber in recht beträchtlicher Anzahl kernlose Megalo- und Gigantocyten finden, so nahm schon Ehrlich Kernausstossung nur noch für Normoblasten in Anspruch, während die Entkernung bei den grösseren Zellen durch eine eigenthümliche Art von Resorption zu Stande kommen sollte. Auf die Erklärung der freien Kerne soll erst bei der Besprechung der Deckglaspräparate eingegangen werden, welche die in Betracht kommenden Einzelheiten noch besser zeigen.

III. Untersuchung von Deckglaspräparaten.

Ehrlich's Methode, für klinische Zwecke vortrefflich brauchbar, ist nicht ebenso, wie sie Engel (a. a. O.) zur Untersuchung fötaler Blutzellen angewandt hat, für diesen Zweck geeignet, und hat daher auch zu den in jeder Hinsicht bestrittenen Ergebnissen des letztgenannten Autors geführt. Es muss die mechanische Verletzung durch Ausstreichen der Blutschicht oder Abziehen des Deckglases nach Möglichkeit vermieden werden, was am einfachsten geschieht, wenn man den Blutropfen schnell über das Deckglas laufen lässt und den überschüssigen Theil mittelst Fliesspapier absaugt.

Zur Fixirung des innerhalb des Thermostaten lufttrocken gewordenen Deckglases bewährte sich das Verfahren von Nikiforoff nicht so gut. Dagegen genügte 16—20maliges schnelles Durchziehen des Deckglases durch die Spitze der Bunsenflamme vollkommen. Gefärbt wurde in derselben Weise, wie bei den Schnittpräparaten. Es zeigten sich nun schon bei mittlerer Vergrösserung Form- und Grössenverhältnisse durchaus so erhalten, wie im frischen Präparat. Niemals fanden sich solche kreis- oder halbmondförmige Spalträume zwischen Kern und Zellkörper, wie sie Engel in Folge ungeeigneter Fixation erhalten hat, niemals die krausenförmige Anordnung des Hämoglobins um den Kern herum, wie sie uns einmal bei zu viel Aether enthaltender Nikiforoff-Fixation vorkam, niemals schliesslich derartig

poikiloblastische Deformationen, wie sie Engel zum Beweis für Kernausstossung hat abbilden lassen.

Die Kerne lagen meistens central, d. h. entsprechend ihrer Eintrocknung in einer Stellung, wo sie sich im tiefsten Theil der Blutkugel zunächst dem Deckglas befinden; bisweilen waren sie auch excentrisch in dem trockenen Schnitt fixirt. Hin und wieder bemerkt man auch längliche Gestalt des Zellkörpers oder unregelmässige Contouren des Zellkernes; dies alles erschien aber durchaus nur als geringe, innerhalb physiologischer Grenzen gelegene individuelle Verschiedenheiten, oder seltene, leicht verständliche Artefacte.

Auch hier fanden sich, wie zu erwarten, von kleinsten bis zu grössten rothen Blutkörperchen alle Uebergangsstufen; auch alle Uebergänge der Färbung, vom zartesten Gelblichrosa bis zum dunkelgesättigten Post- oder Ziegelroth fanden sich vor, und zwar, wie Schmidt richtig angiebt, unabhängig von der Grösse der Zellen, und wie wir hinzufügen können, auch unabhängig vom Alter des Kernes. Neben hellen, jungen Gigantoblasten fanden sich helle alte, dunkle alte und dunkle junge Gigantoblasten, und neben dunklen alten Normoblasten fanden sich dunkle junge, helle junge und helle alte Normoblasten. Ebenso fanden sich kernlose Blutscheiben jeglicher Grösse und Färbung. Vermisst wurden indess derartig mattgelbe, keine Spur röthlichen Tones enthaltende Blutkörperchen, wie sie bei unseren Schnittpräparaten beschrieben worden sind; auch zeigte sich durch Vergleichung, dass, obwohl doch mit derselben Farbmischung gefärbt war, im Schnitt die dunklen Blutkörperchen im Grossen und Ganzen ein mehr röthliches Gelb angenommen hatten, während hier, sowohl bei den hellen, wie bei den dunklen, die rothen Farbentöne vorwogen, denen nur mehr oder weniger Gelb beigemischt war. Im Anfang war eine Unterscheidung von grosskernigen, mattgefärbten Gigantoblasten und verschiedenen Arten farbloser Blutkörperchen häufig recht schwierig; ein näheres Studium der Kernformationen und Granulationen schützte indessen bald vor Verwechselung. Die Kerne zeigten, wie in den Schnittpräparaten, unabhängig von Grösse und Färbung der Zellkörper, aber abhängig vom Alter der Zellen, alle Uebergänge der Färbung, vom tiefsten Schwarzblau bis zum zartesten Bläulichgrau.

Auffällig war es nun schon bei dieser schwächeren Vergrößerung, dass sowohl am Rande, wie im Innern von tief dunkel gefärbten Kernen sich sehr häufig bei genauer Betrachtung hell gefärbte Partien, ja selbst farblose Lücken fanden, so dass sehr wohl, wenn man sich daran erinnerte, durch die wenigen zurückgebliebenen dunklen Partien ein Vergleich mit den von Neumann beschriebenen Kernresten nahe gelegt werden konnte. Man sah z. B. häufig innerhalb einer helleren bläulichen Kernstelle einzelne wenige, tiefschwarz gefärbte, unregelmässig angeordnete Körnchen.

Bei Anwendung von Oelimmersion fand sich nun, dass die sich darbietenden Bilder zwar nicht einen Kernzerfall erkennen liessen, wie man sich ihn nach Neumann's Beschreibung vorstellen musste, wohl aber, dass sie bis in die feinsten Einzelheiten den Schilderungen und Abbildungen entsprachen, die die jüngsten Forscher auf dem Gebiet der Kerndegeneration von Kernzerfall und Kernschwund gegeben haben.

Es ist oben bereits erörtert, dass, wenn Rindfleisch nicht an frischen Präparaten Kernausstossung sinnlich wahrgenommen und somit die Möglichkeit eines vorher gänzlich unbekannten biologischen Vorganges gewissermaassen ad oculus demonstrirt hätte, wohl kaum jemand ohne Voreingenommenheit und Zwang in geeignet hergestellten Trockenpräparaten irgend etwas gefunden hätte, was berechtigen könnte, eine Kernausstossung anzunehmen.

Der Umstand, dass sich Kerne „frei“ finden von derselben Art, wie die in den Blutzellen befindlichen, verleitete zu der Annahme, dass dieselben durch Ausstossung aus dem Zellinnern befreit seien, da man derartiges seit und in Folge Rindfleisch's Publication für möglich hielt und man daher auf den Befund von den Kern im Austritt zeigenden Uebergangsbildern im Trockenpräparat verzichten zu können glaubte. Und doch ist es eigentlich unzulässig, ohne sich auf eindeutige Uebergangsbilder stützen zu können, einen derartigen Schluss zu wagen. Für die Gigantoblasten mit ihren meist jugendlich gebauten, hellgefärbten Kernen nahm auch bald Ehrlich intraglobuläre Kernresorption an, da Gigantoblasten mit alten, strukturlosen Kernen zu den Ausnahmen gehören, sich aber junge, freie Gigantoblastenkerne nicht auffinden liessen, welche die Bildung von den sich zahlreich findenden

Gigantocyten wahrscheinlich machen konnten. Für Normoblasten behielt auch er Kernausstossung bei. Schon diese principielle Differenz zwischen doch nur graduell unterschiedenen Gebilden muss zu Zweifeln anregen. Es findet sich keine natürliche Grenze, wo Normoblasten aufhören, Gigantoblasten anfangen, und doch sollte die Natur zur Erreichung ein und desselben Zieles sich zweier, gänzlich entgegengesetzter Wege bedienen, der Entfernung des ganzen Kernes aus der Zelle und des molekularen Zerfalles und Resorption innerhalb der Zelle. Und wie wollte man sich die vielen Widersprüche erklären? Gigantoblasten mit senilem Kern sollen, wie Rindfleisch und Engel annehmen, nicht zu Gigantocyten werden, und doch berechtigt durchaus Nichts zu dieser gänzlich unbewiesenen Vermuthung. Die freien Kerne, die aus alten Normoblasten ausgestossen sein sollen, unterscheiden sich in nichts von senilen Gigantoblastenkernen, liegen häufig genug auch neben kernlosen Gigantocyten. Dennoch würde sogar bei Zellen ein und derselben Grösse zweierlei Art der Entkernung bestehen und selbst, wenn man wirklich annehmen wollte, dass nur junge Gigantoblasten, und zwar durch Kernausrorption, und nur alte Normoblasten, und zwar durch Kernausstossung, zu Erythrocyten werden sollen, so spricht schon die verhältnissmässig geringe Anzahl der sich findenden freien Kerne nicht zu Gunsten der Kernausstossung. Selbst, wenn man, wie Schmidt, annehmen wollte, dass sie ausserhalb der Zelle zu Grunde gingen, müssten sich unter tausenden von kernhaltigen und kernlosen Blutkörperchen doch immer noch mehr als zwei oder drei freie Kerne finden lassen. Rindfleisch und Engel lassen nun ihre freien, im Blut circulirenden Kerne sich mit neuen Protoplasmamassen umgeben und so wieder zu normalen Blutkörperchen werden. Engel bildet solche Normoblasten mit jugendlichen Kernen ab, Rindfleisch hat die Struktur seiner Kerne nicht beschrieben; aber Engel sowohl, wie Rindfleisch haben durch eine das physiologische Gehaben der Blutkörperchen schädigende Behandlung Kunstprodukte zu sehen bekommen. Erstens sind, worin wir mit Schmidt und Ehrlich übereinstimmen, nur senile freie Kerne zu finden; zweitens, wenn der klassische Versuch, auf den sich die Lehre von der Kernausstossung gründet, erwiesenermaassen nicht natürliche, sondern

künstliche, nicht physiologische, sondern pathologische, nicht vitale, sondern cadaveröse Verhältnisse zur Anschauung gebracht hat, wenn also überhaupt im Zelleben Kernausstossung nicht vorkommt, so fällt damit auch jede Berechtigung, die freien Kerne in Deckglaspräparaten auf physiologische Kernausstossung zurückzuführen.

Gänzlich unhaltbar ist auch die Behauptung, dass sich diese senilen freien Kerne durch Zunahme ihres geringen Protoplasma-restes zu ganzen Blutzellen ergänzen sollen; einmal ist es unwahrscheinlich, dass senile Kerne entwicklungsfähig sind, dann aber würden senile Normoblasten auf zweierlei Art, aus jungen Normoblasten und alten freien Kernen gebildet werden. Schliesslich würden Normoblasten überhaupt nicht nur im betreffenden hämatopoetischen Organ, sondern auch in der Circulation „von sich aus“ durch Karyokinese, und durch eine Art freier Zellbildung aus freien Kernen entstehen.

Gerade die continuirliche Reihe von Bildern, aus welchen man die Ergänzung der senilen freien Kerne zu ganzen Zellen schliessen zu können glaubt, kann dazu dienen, für die Herkunft der freien Kerne, nachdem sie nunmehr nicht aus Erythroblasten ausgestossen sein können, eine plausiblere Erklärung zu finden. Aus Zellen und wahrscheinlich vielleicht auch nur aus Normoblasten stammen sie allerdings her, aber nicht dadurch, dass sie sich von ihrem Zellplasma getrennt haben, welches als kernfreies Blutkörperchen weiter vegetirt, sondern dadurch, dass das Protoplasma durch eine Art von Schwund nach und nach verloren gegangen ist. Nicht einem allgemein verbreiteten physiologischen Vorgange verdanken sie ihre Existenz, sondern einem relativ seltenen pathologischen Vorgange, was auch ihr wenig zahlreiches Vorkommen erklären würde. Mit anderen Worten: von freien Kernen zu zelligen Gebilden, welche dieselbe Art Kerne enthalten, besteht eine continuirliche Reihe von Uebergangsstufen. Wegen der Altersdegeneration der Kerne ist aber eine Entstehung der Zellen aus diesen, eine aufsteigende Reihe, ausgeschlossen; es ist also nur noch eine absteigende Reihe möglich, eine allmähliche Involution der Zellen zu freien Kernen. Die freien Kerne sind demnach nicht der Ausgangspunkt einer Entwicklungsreihe, der Ursprung

neuen Lebens, sondern der schliesslich übrig bleibende Rest einer degenerirten Blutzelle. Wenn man die Bilder, welche die Entwicklung von freien Kernen zu Normoblasten veranschaulichen könnten, betrachtet, so fällt einem erstens die relative Grösse und Unregelmässigkeit des Kernes und zweitens eine eigenthümliche Färbung des relativ geringen und unregelmässig um den Kern angeordneten Protoplasma auf. Nie finden sich so kleine und gleichmässig runde Kerne frei vor, wie man sie innerhalb der gewöhnlichen Normoblasten antrifft, so dass eigentlich schon auf Grund dieser Thatsache allein der Schluss unzulässig ist, dass zur Entkernung ohne Weiteres die Kerne ausgestossen werden. Da aber, wie gesagt, kleine, runde, freie Kerne sich kaum finden lassen, wohl aber, ebenso selten, wie die grossen unregelmässigen, freien Kerne, gewisse unregelmässig gestaltete Zellen mit grossen, den freien homologen, unregelmässigen Kernen, so dürfen die freien Kerne mit diesen letzteren Zellen in Zusammenhang gebracht werden, und zwar nicht aus ihnen ausgestossen, sondern, wie die sich findenden Uebergangsstufen beweisen, durch Schwund des Protoplasma aus ihnen entstanden.

Uebrigens sind auch diese „freien Kerne“, so weit wie wir gesehen haben, nie gänzlich frei von einer geringen Spur ihnen an irgend einer Stelle noch anhaftenden Protoplasmas. Dass in den Schnittpräparaten, wie oben erwähnt, die Kerne absolut „frei“ waren, beruht jedenfalls auf der Schrumpfung durch das Fixationsmittel.

Wenn man solche, den freien Kernen vorausgehende Stadien betrachtet, wie sie in verschiedenen Typen auf Taf. X. C, b—d abgebildet sind, so drängt sich geradezu die Aehnlichkeit dieser verkümmerten Zellen mit den, unter dem Namen „Corps résiduels“ in der Literatur bekannten abortiven Zellrudimenten der Geschlechtsdrüsen auf. Wie Flemming und Hermann an Salamandra, O. Hertwig an Ascaris, Wasielewski experimentell auch an Säugethieren für die Geschlechtszellen festgestellt haben, so handelt es sich sicherlich auch hier beim Blut um Zellen, die, ohne ihre Umwandlung zu Erythrocyten durchmachen zu können, in Folge schädlicher Einflüsse von einem Involutionsprozesse ereilt wurden. Die Degeneration des Kernes zu einem homogenen,

strukturlosen, sich intensiv färbenden Nucleinklumpen ist für das Blut wenigstens an und für sich noch nicht pathologisch, sondern eine bloss physiologische Alterserscheinung; altern doch normaler Weise die meisten Normoblasten, bevor sie sich zu Normocyten umwandeln. Wir werden weiter unten noch von den Degenerationen der Kerne zu sprechen haben und zeigen, dass dieselben bei Erythroblasten unabhängig von Degeneration des Zellkörpers sich finden, dass Kerndegeneration nicht nothwendigerweise ein Ausdruck für einen pathologischen Zustand der Zelle ist. Wohl aber ist pathologisch jede Atrophie und Degeneration des Cytoplasma, wie es sich unter anderem durch progressive Massenabnahme im Verhältniss zum Kern, durch Schrumpfung und Schwund zu erkennen giebt¹⁾. In Folge von Substanzverlusten und molekularem Zerfall wird die Gestaltung des Zellenleibes sowohl im Grossen und Ganzen eine unregelmässige, als sich auch in seinem Innern kleine und kleinste, Vacuolen ähnliche, lichtere Stellen zeigen, so dass die vorher homogen erscheinende Zelle nunmehr ein höckriges Aussehen annimmt. Durch Einlagerung unzähliger, vielleicht von dem degenerirten Kern herstammender, abgesprengter und isolirt färbbarer Chromatinpartikelchen wird der Zellenleib nunmehr ganz feinkörnig und weist insofern ein abweichendes Tinctionsverhältniss auf, als er nun nicht mehr bloss zu sauren, sondern auch zu basischen Farbstoffen eine Affinität bezeigt, so dass bei gleichzeitiger Einwirkung von Hämalaun und unserem sauren Farbgemisch auf den an Hämoglobin verarmten Zellkörper eine diffuse, zarte Lilafärbung desselben zu Stande kommt (Taf. X. C). Es dürfte dieser Vorgang wohl ein ganz ähnlicher sein, wie er von Ehrlich am Diskoplasma der Erythrocyten beobachtet und in den Lehrbüchern als anämische Degeneration des Stroma, von Maragliano als chromatische Form der Blutnekrobiose beschrieben ist. Auch Ehrlich bringt den Vorgang mit einer Verarmung an Hämoglobin in Zusammenhang, wobei sich eine in Hämatoxylin oder Methylenblau färbare Substanz allmählich in dem Stroma ablagern soll, ein Prozess, den er als einer Art von Coagulationsnekrose verwandt erachtet

¹⁾ conf. O. Hertwig, Die Zelle und die Gewebe. S. 198. — Lukjanow, Grundzüge einer allgem. Patholog. der Zelle. S. 282.

und als Zeichen vorzeitiger Senescenz in Folge schlechter Ernährungsverhältnisse durch das Plasma betrachtet¹⁾.

Ein Blick auf die beigegebenen Tafeln zeigt besser, als eine noch so genaue Beschreibung es könnte, die mannichfachen Formen, welche die zu Grunde gehenden Kerne aufweisen. Es ist von A. Pappenheim in seiner Dissertation der Versuch gemacht, dieselben nach Art der von Schmaus²⁾ angestellten Classification zu ordnen und die verschiedenen Formen, in denen sich das Zugrundegehen vollzieht, von einander zu trennen. Schmaus selbst erkennt an, dass die von ihm geschaffene Nomenclatur nur einer äusserlichen und künstlichen Classification nach dem gerade sich darbietenden Bilde, aber nicht nach dem dasselbe verursachenden Prozesse, d. h. morphologischen und nicht genetischen Gesichtspunkten entspricht, insofern als es unmöglich ist, die verschiedenen Erscheinungsformen genau zu rubriciren, da die denselben zu Grunde liegenden Prozesse fast nie einzeln, sondern stets mit einander verbunden und in den verschiedenen

¹⁾ Dies alles gilt selbstverständlich nur für normales fötales Blut. Unter pathologischen Verhältnissen, z. B. bei Leukämie, wo die isotonische Concentration des Serums (Hamburger) gestört ist, stösst man auf eine grosse Zahl freier Kerne. Diese können allerdings auch durch chromatische Degeneration des Zellplasma in Folge der schlechten Ernährungsverhältnisse durch das dyskrasische Plasma frei geworden sein, aber es hindert auch nichts, anzunehmen, dass hier Quellungserscheinungen, Plasmolyse, morphologische Degeneration und Kernausstossung durch das verdickte Plasma stattgefunden hat; auch spricht Vieles dafür, dass die Masse freier Kerne in den nach Ehrlich's Methode hergestellten Präparaten aus den in Folge der Erkrankung sehr labilen Zellen herausgedrückt sei. Trotz der grossen Anzahl der Kerne aber verdanken die kernlosen Scheiben des leukämischen Blutes ihre normale Entstehung intracellulärem Kernschwund. Durch Degeneration des Cytoplasmas entstandene „freie Kerne“ kommen auch sonst unter physiologischen Verhältnissen in reducirten und rudimentären Organen vor, z. B. im Milchsaff der Thymus und in der gestielten Hydatide. Zu trennen ist diese Art „freier Kerne“, welche nur noch Reste ehemaliger Zellen repräsentiren, jedoch von denjenigen, die noch vollen Zellwerth besitzen, nur dass ihr Zellplasma auf einen kleinen Rest reducirt erscheint, was z. B. bei den Spermatozoen, in den Körnerschichten des Kleinhirns, wie der Retina, Lymphdrüsenzellen u. a. der Fall ist.

²⁾ Dieses Archiv. Bd. 138, Supplement. 1895.

Fällen nur quantitativ, der Intensität nach, verschieden auftreten. So ist auch bei unseren Befunden an Uebergangsformen kein Mangel, und die Classification hat nur den Zweck, die morphologische Uebereinstimmung dieses physiologischen Kernschwundes mit dem unter ganz anderen Verhältnissen auftretenden pathologischen Vorkommniss darzuthun. Es genügt, dies hier anzuführen, da die Abbildungen für sich selbst sprechen. Ein Vergleich derselben mit denjenigen von Schmaus¹⁾ ergibt eine auffällige Uebereinstimmung der Bilder, die den Schluss auf die Gleichartigkeit der unter physiologischen, wie pathologischen Verhältnissen übereinstimmenden inneren, passiven Vorgänge am Kern rechtfertigen. Der Uebertragung der Beobachtung an den Erythroblasten der Maus auf die des Menschen steht nach den vorliegenden Erfahrungen kein Hinderniss entgegen. Ebenso stimmen sie mit den Angaben und Abbildungen von Askanazy²⁾, der bei perniciöser Anämie karyolytische Kerne in Erythroblasten fand, und neuerdings von Timofejewsky³⁾, der an septikämisch gemachten Hunden die Regeneration der rothen Blutkörperchen eingehend studirte. Ihnen begegneten am erwachsenen Thier dieselben Formen, wie uns während der fötalen Entwicklung.

Um nun die Bedeutung des Kernschwundes der Erythroblasten seinem biologischen Werthe nach richtig zu würdigen, genügt es nicht, den Kern allein zu betrachten, sondern es sind dabei auch die sonstigen, an der Zelle auftretenden Veränderungen zu berücksichtigen, die Umformung des kernlosen Zellkörpers, zu deren Verständniss die Molekularphysik, unserer Meinung nach, noch zu früh herangezogen worden ist, und das spätere Verhalten der durch Neutralroth nachgewiesenen Körnung der Erythroblasten. Immer nur beschränkte sich diese Körnung auf einen Theil des Zellkörpers und war in den verschiedenen Zellen von sehr wechselnder Reichhaltigkeit. Nennenswerthe Körnungen werden auch noch in solchen Elementen gefunden, deren Kern selbst durch Neutralroth nur sehr wenig gefärbt wurde, bisweilen auch gar nicht mehr darstellbar war. Aus diesem Grunde lag ein dringender Anlass vor, auch bei erwachsenen Individuen nach

¹⁾ Schmaus und Albrecht, Ueber Karyorrhesis. a. a. O. Tafel I—III.

²⁾ Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXIII. Heft 1 u. 2.

³⁾ Centralbl. f. allg. Path. und patholog. Anat. 1895. No. 3/4.

den Körnchen zu sehen, und da zeigte es sich, bei Versuchen, die an weissen Mäusen, wie auch am Blute erwachsener Menschen angestellt wurden, übereinstimmend, dass sich Körner in den rothen Blutscheiden nur ganz vereinzelt und in sehr wenigen Exemplaren färbten (Taf. IX. A, 16), ein Beweis, dass nicht nur der Kern, sondern ausserdem noch ein bestimmt hervorzuhebender, protoplasmatischer Antheil der Erythroblasten verloren geht, im Einklang mit der beträchtlichen Grössenreduction, welche die rothe Blutscheibe gegenüber der fötalen rothen Blutzelle aufweist.

Es ist demnach ein Zellenrest, den wir in den Erythrocyten vor uns haben, er bestätigt diejenige Anschauung, welche noch jüngst von Waldeyer¹⁾ dahin präcisirt worden ist, dass die rothen Blutscheiben der Säugethiere „gleich den Spermatozoen reducirte Zellbildungen sind“. Auch Schiefferdecker²⁾ sieht das rothe Blutkörperchen als einen der respiratorischen Function angepassten Zellrest an, der nicht mehr Zellenwerth besitzt.

Eine wichtige Unterstützung findet die Parallelisirung des physiologischen Kernschwundes, dem wir bei den Erythrocyten begegnet sind, mit dem pathologischen, der sich in gleicher Form vollzieht, durch den Nachweis eines analogen senilen Vorganges durch Pfitzner³⁾. Derselbe ist für uns von um so grösserer Bedeutung, als gerade die rothen Blutkörperchen es sind, an denen die Erscheinung des Kernschwundes beim Landsalamander von Pfitzner beobachtet wurden und somit eine phylogenetisch sehr interessante Parallele zu dem Vorkommniss bei den Säugethieren vorliegt. Die Abbildungen Pfitzner's (a. a. O. Taf. V. Fig. 7 und 8) zeigen alle Kriterien des Kernschwundes und legen Zeugniss davon ab, dass auch bei niederen Wirbelthieren der Kern der rothen Blutkörperchen zu einer regressiven Weiterentwicklung neigt, die für Säugethiere als ein regelmässiger fötaler Vorgang anzusehen ist. Dass hierbei allein die

¹⁾ Die neueren Ansichten über den Bau und das Wesen der Zellen. Deutsche med. Wochenschr. 1895. No. 45.

²⁾ Schiefferdecker und Kossel, Gewebelehre. II. S. 357 und 367.

³⁾ Zur pathologischen Anatomie des Zellkerns. Dieses Archiv. Bd. 103. S. 275 f.

Auflösung des Kernes, nicht die Ausstossung desselben in Frage kommt, glauben wir im Vorhergehenden nachgewiesen zu haben, ebenso dass an dem Kernschwund, wie er als regulärer Entwicklungsvorgang bei den Erythroblasten gefunden ist und zweifellos in ähnlicher Weise auch an anderen Zellen auftritt, sich ein physiologisches Paradigma ergibt für den unter pathologischen Bedingungen den Tod der Zelle anzeigenden, bereits lange allgemein anerkannten Kernschwund bei der Nekrose.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Figuren sind mit Zeiss homog. Immers. $\frac{1}{2}$, Oc. 4 aufgenommen.

Tafel IX.

- A. 1—15 Blutzellen eines 14tägigen Mäusefötus, frisch mit Neutralroth gefärbt. 1 grosse kernlose Zelle mit vorwiegend centraler Anhäufung von Körnern. 2 Mitose oder Kunstprodukt? 3, 4, 5 Normoblasten mit verhältnissmässig chromatinarmen Kernen von zarter Struktur. 6 und 7 Normoblasten mit chromatinreichen Kernen von undeutlicher Struktur. 9, 10, 11 Normoblasten mit kleinen chromatinreichen Kernen (alte Zellen). 8 und 12 Gigantoblasten mit karyorrhektischen Radkernen. 13 Normoblast, 14 Gigantoblast mit schwach und homogen gefärbtem Kernrest. 15 kernloser fötaler Erythrocyt.
- A. 16 mütterlicher Erythrocyt aus der Placenta, in gleicher Weise behandelt.
- B₁ und B₂ Blutkörperchen aus Schnittpräparaten von Früchten vom 14. Tage, mit dem S. 433 angegebenen Farbgemisch behandelt. Die verschiedene Färbung dürfte auf ungleichmässige Einwirkung des Fixationsmittels zurückzuführen sein, die in den unter B₁ zusammengestellten Formen die Diffusion des Hämoglobins nicht verhindert hat.
- B₁ 17—22 und 36—40 Zellen mit normalen Kernen. 23, 24, 30, sowie 45 Radformen des Korns. 25—29, sowie 41—44, 46 und 48 zeigen verschiedene Formen der Karyolyse. 31—33 und 49—52 Formen, deren Deutung zweifelhaft ist, zum Theil von Doppelkernen ausgehend (32) und als Kunstprodukt verdächtig (z. B. 47 und 52). 34, 53, 54 Zellen mit pyknotischen Kernen. 55, 56 freie Kerne. 35, 57—59 embryonale kernlose Erythrocyten von verschiedener Grösse und wechselndem Hämoglobingehalt.
- B₂ 60 kleiner mütterlicher Erythrocyt aus einem Schnitt durch die Placenta.

Tafel X.

- A. Deckglastrockenpräparate; Herstellung s. S. 436, Färbung S. 433. a Zellen verschiedener Grösse und Farbe mit normalen Kernen von zarter deutlicher Struktur. b Zelle mit grossem, intensiv gefärbtem

und grobe Struktur zeigenden Kern (beginnende Pyknose?). c Zelle, deren Kern ein zartes Maschen-, bzw. Wabengerüst aufweist (beginnende Karyorrhesis?). d Zelle mit unregelmässig geformtem, weniger deutlich gebauten, matt gefärbten, grossen Kern. e Zellen mit mehr oder weniger homogen und blass gefärbten, grossen, unregelmässigen Kernen.

- B. Verschiedene Formen der Karyomitose vom Spirem bis zur Configuration der Tochterkerne.
- C. a normale Zellen mit kleinen runden, homogenen und pyknotischen Kernen. b mehr oder weniger noch normale Form aufweisende Zellen mit grossen, zum Theil unregelmässigen, pyknotischen Kernen. c beginnende Degeneration des Zellkörpers. d und e Typen allmählichen Ueberganges zu „freien“ Kernen.
- D. Zellen, deren Kerne reine, ausgebildete Karyorrhesis zeigen. (Finden sich recht selten.) „Radformen“. × Nur einmal beobachtet. (Zerfall des Kerns in Körnchen?)
- E. Freie Chromatinkörnchen im Zellplasma. An einzelnen Kernen Karyolyse sichtbar. (Kunstprodukt?)

Tafel XI.

- A. Typen des Uebergangs von pyknotischen Normoblasten durch Karyolyse zu Normocyten. a bis c Anfangsstadien. d Chromatin nur noch auf der Kernwand; aus dem Innern des Kerns das Nuclein völlig ausgewaschen. Kern ähnelt einer Vacuole oder Bläschen. e Kern nur noch ein diffuser Schatten. Auch die Kernwand frei von Chromatin. f bis i allmählicher Schwund auch der achromatischen Substanzen. k fötale Erythrocyten. l mütterlicher Erythrocyt.
- B. Typen verschiedener Combination von Karyorrhesis und Karyolyse. × Zwei Vacuolen am Kern. Nur einmal beobachtet (Kunstprodukt).
- C. Gestörte Mitosen. Vielkernigkeit durch versprengte und zusammengeballte Chromosomen. Uebergang in kernlose Blutscheiben durch Karyolyse.
- D. Zellen, deren Kern Knospung und directe Theilung zeigt. Mehrkernigkeit. Andere Kerne zeigen dorn- und büstenähnliche Fortsätze (Kunstprodukte in Folge der Eintrocknung?), bei manchen ist Karyolyse eingetreten.