

und da wir wissen, dass die Linse in Bezug auf ihre Ernährung ganz auf die Uvea angewiesen ist und ihre Ernährungsstoffe hauptsächlich durch den Ciliarkörper, Ciliarfortsatz und die Iris bekommt, so können wir die Trübung der Linse bei Erkrankung dieser Theile sehr leicht verstehen.

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Geheimrath Professor Virchow für die freundliche Ueberlassung eines Arbeitsplatzes und des Materials im Pathologischen Institut meinen innigsten Dank auszusprechen, desgleichen Herrn Professor Israel für die Anregung zu dieser Arbeit und seine freundliche und mannichfache Unterstützung, die er mir bei ihrer Anfertigung hat zu Theil werden lassen.

III.

Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Leukocyten.

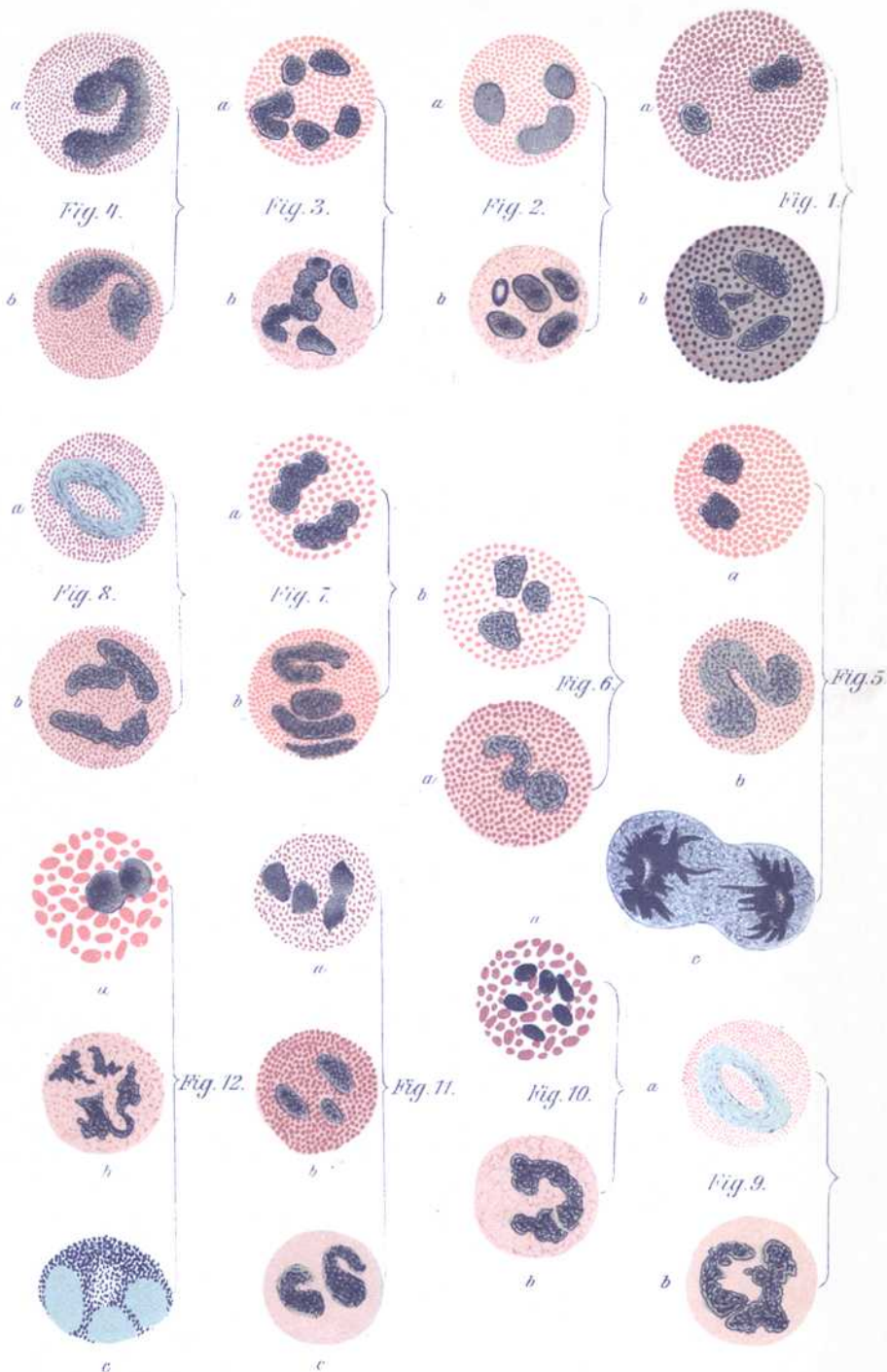
(Aus dem Pathologischen Institut zu Berlin.)

Von Dr. Hans Hirschfeld,
prakt. Arzt in Berlin.

(Hierzu Taf. I.)

Die von Ehrlich gefundene Thatsache, dass gewisse Granularten auf die Leukocyten nur ganz bestimmter Species beschränkt sind, hat nur wenige Forscher veranlasst, eingehendere vergleichende Untersuchungen über die Protoplasmastruktur der Leukocyten, insbesondere über die Verbreitung und die Eigenschaften der Granula bei einer grösseren Anzahl von Thieren anzustellen.

Um späteren Forschungen sowohl über die morphologische Stellung der Granula, als auch über ihre chemische Constitution, welche einen wichtigen Beitrag zur Lehre vom Chemismus der Zelle überhaupt liefert, eine breitere Grundlage zu



schaffen, erscheint es mir nothwendig, die Leukocyten der Thiere in weiterem Umfange, als es bisher geschehen, auf das Vorkommen und die Eigenschaften von Granulis zu untersuchen. Auch die blutbildenden Organe müssen zum vollständigen Verständniss des Blutbefundes genauer durchforscht werden, wie es bereits für einige Thiere von Arnold ausgeführt worden ist. Ferner sind Untersuchungen über das erste Auftreten und die Eigenschaften der Granula in den Zellen des embryonalen Blutes von grosser Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit habe ich mich darauf beschränkt, die Leukocyten des normalen Blutes mehrerer Säugethiere im Wesentlichen nach den von Ehrlich angegebenen Methoden zu untersuchen.

Auch in forensischer Beziehung sind derartige Feststellungen vielleicht von Interesse. Die Unterscheidung von Menschen- und Thierblut ist für den gerichtsärztlichen Sachverständigen noch immer eine Crux. Bei Thieren, welche erheblich kleinere Erythrocyten haben als der Mensch, wie Ziege und Schaf, ist es leicht, durch mikrometrische Messungen die Differentialdiagnose zu stellen. Wo aber nur geringe Grössenunterschiede zwischen Menschen- und Thierblut obwalten, wie beispielsweise beim Hund, sind mikrometrische Messungen dieser geringen Abweichungen höchst unzuverlässig. Hamburger, Kaiserling und Germer haben ja gezeigt, dass selbst bisher für indifferent gehaltene Zusatzflüssigkeiten die Grösse der rothen Blutkörperchen recht erheblich modificiren können. Wenn es daher möglich ist, zwischen den farblosen Elementen des menschlichen und denen des thierischen Blutes morphologische Differenzen nachzuweisen, so wäre es fortan für den gerichtlichen Mediciner leicht, die Zugehörigkeit einer ihm vorgelegten Blutart zu erweisen. Allerdings muss noch festgestellt werden, ob eingetrocknetes Blut diejenigen Eigenschaften der Leukocyten auch conservirt, welche eine Differentialdiagnose ermöglichen.

Experimentelle Untersuchungen zur normalen und pathologischen Physiologie und Histologie des Blutes an Thieren setzen natürlich auch eine genaue Kenntniss des normalen Blutes dieser Thiere voraus. Der Specialforscher sollte aber der Mühe überhoben sein, erst die schwierigen und zeitraubenden Untersuchun-

gen anzustellen, welche ihn über die feinere Histologie des Blutes seiner Versuchsthiere aufklären.

In der einschlägigen Literatur vermisst man vor Allem eine genaue Schilderung des Blutbefundes der einzelnen Species. Ehrlich theilt nur seine Ergebnisse über das Vorkommen der von ihm bisher aufgefundenen Granulaarten bei einzelnen Thieren mit.

Die eosinophilen α -Granula wurden bei allen untersuchten Thieren gefunden, bei Frosch, Triton, Schildkröte, Taube, Kaninchen, Meerschweinchen, Hund, Kalb, Pferd. Ihre Form und ihre Grösse ist eine sehr verschiedene. Welche Formen dieser, welche jener Thierspecies zukommen, ist von Ehrlich nicht angegeben. Ihre Form ist meist kuglig, ovoide α -Granula kommen stets mit kugligen zusammen in einer Zelle vor. Ausserdem giebt es ziemlich breite, an den Enden abgerundete Stäbchen, welche entweder allein oder zusammen mit Kugeln sich finden.

Die basophilen γ -Granulationen wurden ebenfalls im Blute aller untersuchten Thiere gesehen. Sie kommen bei Säugethieren und Vögeln nur spärlich vor, während sie im Blute niederer Wirbelthiere in grosser Menge sich finden.

Ueber das Vorkommen der basophilen δ -Granula im Thierreich finden sich in den Arbeiten Ehrlich's und seiner Schüler keine näheren Angaben. Sie sollen in vielen mononucleären Zellen des menschlichen Blutes vorkommen.

Die neutrophilen ϵ -Granula sollen für das menschliche Blut charakteristisch sein.

Ausserdem ist es Ehrlich noch gelungen, Granulaarten aufzufinden, die beim Menschen nicht vorkommen, sondern nur auf wenige Species beschränkt sind.

Zu ihnen gehört die β -Granulation, welche aus feinen Kugeln besteht, die sowohl in sauren, wie in basischen Farbstoffen tingibel sind. Man hat sie deshalb amphophil genannt. Sie sollen im Knochenmark und vielen Leukocyten des Kaninchens und Meerschweinchens vorkommen. Bei denselben beiden Thieren wird noch eine zweite Granulation erwähnt, über die aber nähere Angaben nicht gemacht werden.

Zwei weitere Körnungen sollen auf das Blut der Vögel beschränkt sein und werden auch nicht näher definirt.

Die späteren Arbeiten auf diesem Gebiete behandeln nur die Frage, ob die neutrophilen Granulationen wirklich, wie Ehrlich es behauptet, auf das menschliche Blut beschränkt sind. Corin¹⁾ stellte fest, dass beim Hund, Kaninchen, Katze, Pferd und Schaf keine neutrophilen Granula vorkämen, und er hält dieselben demgemäss für charakteristische Elemente des menschlichen Blutes.

Zu anderen Resultaten kam Tamassia²⁾. Er bediente sich folgender Farbmischung:

Gesättigte wässrige Säurefuchsinlösung	5 ccm
Gesättigte wässrige Methylenblaulösung	1 -
Aquae destillatae	5 -

Mit Hilfe dieser Lösung will er bei folgenden Thieren neutrophile Granula nachgewiesen haben: beim Rind, Schwein, Schaf, Hase, Katze, Affen. Er behauptet, dass zu starke Erhitzung die neutrophilen Granula schädige.

Ilberg³⁾ hat dann mit Triacid im Blute vom Kalb, Rind, Hund, Schaf, Kaninchen ϵ -Granula nachgewiesen.

Den Angaben von Ilberg und Tamassia, dass beim Kalb, Rind, Hund, Schaf, Kaninchen, Schwein, Katze und Affe neutrophile Granula vorkommen, steht die Ansicht Corin's gegenüber, der bei Hund, Kaninchen, Katze, Schaf, Pferd keine neutrophilen Granula nachweisen konnte.

Einen Beitrag zur Frage nach den Differenzen der Granula verschiedener Thiere lieferte auch Bergonzini⁴⁾. Seine Forschungen beziehen sich aber nur auf die im Bindegewebe vorkommenden granulirten Zellen. Vesuvin färbt die im Mesenterium der Frösche vorkommenden basophilen granulirten Zellen schwach braun, während es dieselben Zellen im Mesenterium der weissen Maus stark braun färbt. Ein Gemisch, welches ausser Methylgrün das schwach saure Säurefuchsin und das stark saure Goldorange

¹⁾ Corin, Annales de la société médico-chirurgicale de Liège. 1883.

²⁾ Tamassia, Valore delle granulazioni neutrofile dei globuli bianchi nella determinazione specifica del sangue. Gazzetta medica lombarda. 1894. p. 12.

³⁾ Ilberg, Inaug.-Diss. Berlin 1896.

⁴⁾ Bergonzini, Ueber das Vorkommen von granulirten basophilen und acidophilen Zellen im Bindegewebe. Anat. Anz. 1891.

enthält, färbt die acidophilen granulirten Zellen im Mesenterium des Frosches roth, die im Mesenterium des Meerschweinchens orangeleb.

Systematische Untersuchungen über die Eigenschaften der Granulationen bei verschiedenen Thieren fehlen also noch. Dass solche zur genaueren Kenntniss auch anderer morphologischer Eigenschaften der Leukocyten beitragen werden, wird aus den Ergebnissen meiner Arbeit hervorgehen.

Ich hielt mich streng an die von Ehrlich angegebenen Methoden. Die Kenntniss und Handhabung derselben verdanke ich Herrn Dr. C. S. Engel in Berlin, in dessen Laboratorium ich längere Zeit zu arbeiten Gelegenheit hatte.

Die Entnahme des Blutes macht bei den grossen, in Ställen gehaltenen Thieren Schwierigkeiten. Kommt man mit dem Deckglas in die Nähe des behufs der Blutentnahme angelegten Schnittes, so beschlägt sofort das Deckglas in Folge des reichlichen Wasserdampfes, welchen diese Thiere durch ihre Haut abgeben. Bei Schlachttieren war ich häufig gezwungen, das Blut in Glasgefässen aufzufangen und aus diesen erst die einzelnen Blutstropfen zu entnehmen. Bei diesen relativ viel Zeit in Anspruch nehmenden Proceduren ist es unvermeidlich, dass bisweilen das Hämoglobin diffundirt und in einige Leukocyten eindringt. Hierdurch können aber sowohl Granulationen vorgetäuscht, wie auch namentlich verdeckt werden. Aus derartigen Bildern darf man also keine Schlüsse ziehen.

Zur Fixirung der Deckglastrockenpräparate bediente ich mich fast ausschliesslich der Hitze. Ehrlich betont mit Recht, dass nur diese Methode die chemische Individualität der Granula unberührt lässt. Wo es sich darum handelte, gute Kernbilder zu bekommen, habe ich mich natürlich auch anderer Methoden bedient, die speciell für diese Zwecke angegeben sind.

Zur Färbung bediente ich mich sowohl der Lösungen einzelner Farbstoffe in verschiedenen unten näher bezeichneten Menstruen, wie auch der Farbengemische.

Zum Nachweis der acidophilen Granulationen bedarf man nach Ehrlich dreier Lösungen:

- 1) einer gesättigten glycerinigen Lösung von Eosin;
- 2) einer gesättigten glycerinigen Lösung von Indulin;

3) einer gesättigten wässerigen Lösung von Orange.

Um nachzuweisen, dass die betreffenden Granula eosinophil sind, färbt man in einer glycerinigen Lösung von Aurantia, Indulin, Eosin zu gleichen Theilen.

Zum Nachweis der basophilen δ -Granulationen färbt man mit gesättigten wässerigen Lösungen basischer Farbstoffe, von denen Methylenblau und Methylgrün am geeignetsten sind. Sehr zierliche Bilder erhält man in Präparaten, die in Methylenblau-Eosin nach Chenzinski 12—24 Stunden bei einer zwischen 30 und 40° C. liegenden Temperatur gefärbt sind.

Mastzellen weist man mit saurer Dahliälösung exact nach, obwohl man sie auch an Methylenblau- oder Methylgrünpräparaten durch ihre metachromatische Färbung erkennt. Selbst in Triacidpräparaten sind sie, wie Engel¹⁾ gezeigt hat, sichtbar, nemlich als vielkernige oder einkernige Zellen, in deren ungefärbtem Protoplasma man einzelne schwach lichtbrechende, ungefärbte Körnchen unterscheiden kann.

Zum Nachweis der neutrophilen Granulation dient Triacid, in welchem die Granula der polynucleären des Menschen eine violette Farbe annehmen. Doch genügt diese Färbung nicht, um die Verwandtschaft der Granula zu neutralen Farben nachzuweisen. Die Granula der Eiterzellen bei Gonorrhoe nehmen z. B. eine fast rothe Farbe an, wenn man sie mit Triacid behandelt, so dass man sie für eosinophil halten könnte. Erst der Nachweis, dass sie weder in sauren noch in basischen Farben tingirt werden, beweist, dass sie neutrophil sein müssen. Corin, Tamassia, Ilberg haben alle nur mit neutralen Farben gefärbt, daher können ihre Resultate nicht als einwandfrei angesehen werden. So ist es denn auch gekommen, dass Ilberg beim Kaninchen neutrophile Granula nachgewiesen haben will. In Wirklichkeit sind dieselben, wie bereits Ehrlich nachgewiesen, amphophil, und nehmen in Triacid den frei verfügbaren sauren Farbstoff auf.

Sehr wichtig ist es, dass man frisch gefärbte Präparate untersucht und nicht Schlüsse aus Bildern zieht, welche Monate lang oder auch nur Wochen hindurch liegenden Präparaten ent-

¹⁾ Engel, Blutbefund bei einem anämischen Kinde. Dieses Archiv, Bd. 135.

stammen. Mit der Zeit blassen nemlich die Farben nicht nur ab, sondern verändern sich auch im Ton.

Zur Erkennung der Granula bedarf man vor Allem vorzüglicher Linsen, da ich mich oft überführen konnte, wie wenig man mit minderwerthigen Systemen sieht.

Ich arbeitete mit dem Apochromaten von Zeiss, homogene Immersion 2 mm, Ap. 1,30, Tubuslänge 160 mm.

Bei den nun folgenden Beschreibungen des Blutbefundes der verschiedenen von mir untersuchten Thiere berücksichtige ich nicht die rothen Blutkörperchen und die Blutplättchen. Die rothen Blutkörperchen unterscheiden sich lediglich durch ihre Grösse. Ausserdem glaube ich, wie Knoll¹⁾ und Pappenheim²⁾, dass jedem Thiere eine besondere Art Hämoglobin zukomme. Die tinctoriellen Differenzen, welche die rothen Blutzellen darbieten, habe ich aber, weil meine Versuche hierüber noch nicht abgeschlossen, nicht mitgetheilt. Die Blutplättchen scheinen bei allen Thieren von gleicher Form und Grösse zu sein. Ein vorzügliches Mittel, letztere Gebilde sichtbar zu machen, ist der Zusatz von Neutralroth zu frischen Präparaten. Ich will noch bemerken, dass ich, soweit es mir möglich war, Blut auch frisch untersucht habe, und dass es möglich ist, auf diesem Wege zu entscheiden, ob eine Zelle Granula beherbergt oder nicht.

Schaf.

Triacidfärbung. Unter den mehrkernigen Zellen, die ungefähr im selben Verhältnisse wie im menschlichen Blut zu den einkernigen zu stehen scheinen, kann man drei Arten unterscheiden:

1. Grobkörnige, eosinroth gefärbte, kuglige, dicht gedrängte Granula enthaltende Zellen. Die Granula erscheinen gröber als die des Menschen (Fig. 2a). Diese Zellen machen nur einen kleinen Procentsatz der vielkernigen Zellen aus.

2. Etwas kleinere Zellen, mit rothviolett gefärbtem Protoplasma. An vielen derselben lässt sich deutlich erkennen, dass

¹⁾ Knoll, Ueber das Blut der Wirbellosen.

²⁾ Pappenheim, Ueber Entwicklung und Ausbildung der Erythroblasten. Dieses Archiv. Bd. 145.

ungemein feine und ganz dicht stehende Granula dasselbe zusammensetzen. Diese Körnchen sind weit kleiner, als die feinsten basophilen Granula des menschlichen Blutes (Fig. 2b). Ich bin ungewiss, ob wirklich alle dieser Zellen distincte Granula besitzen, ich halte es für möglich, dass das Protoplasma einiger Zellen nur eine granulirte Beschaffenheit hat, eine Bezeichnung, welche über den eigentlichen feineren Bau nichts weiter aussagt.

3. Zellen, welche ich anfänglich für gedrückte und abgeplattete Exemplare der 2. Art hielt. Ihre Kerne sind gross und blass. Das Protoplasma hat ein granulirtes Aussehen und ist schwach roth tingirt. Sehr häufig sind Theile desselben losgerissen, wodurch ich erst veranlasst wurde, Kunstprodukte in diesen Formen zu sehen. Denkt man sich aber die Zellen der Gruppe II abgeplattet, so muss ihr ohnehin schon relativ reichliches Protoplasma einen noch grösseren Raum in der Umgebung des Kernes einnehmen. Man sieht aber im Gegentheil, wie das granulirte Protoplasma dieser Zellen die Kerne mit einem nur schmalen Saume umgiebt.

Die Lymphocyten zeigen keine besonders auffallenden Eigenschaften. Das in blauröthem Tone tingirte Protoplasma derselben ist bei dieser Färbung frei von Granulis und erscheint homogen.

Färbung mit sauren Farben. Nur die bereits oben beschriebenen groben, runden, dicht gedrängten Granula nehmen saure Farbstoffe auf. Das Protoplasma der übrigen Zellen färbt sich homogen und ganz schwach.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula nehmen Eosin auf.

Färbung mit basischen Farben. Ausser den Kernen färbt sich das Protoplasma der Lymphocyten. In dem der meisten grösseren Elemente erkennt man zahlreiche feine, ziemlich weit von einander entfernte Granula. Die Mastzellea gleichen den menschlichen.

Man findet demnach im Blute des Schafes:

1) eosinophile Zellen mit runden, groben Granulis, welche denen des menschlichen Blutes gleichen;

2) Zellen mit neutrophilen Granulis oder neutrophilem granulirtem Protoplasma, welche von den entsprechenden Formen

des menschlichen Blutes durchaus verschieden sind. Die Granula sind, soweit sie überhaupt distinct erkennbar, viel kleiner als die menschlichen neutrophilen Körner. Dann stehen sie weit dichter an einander. Am wichtigsten erscheint mir aber, dass sie sich in einem durchaus rothen Farbenton tingiren, so dass ich zuerst glaubte, dass sie acidophil wären. Da sie sich aber weder in sauren, noch in basischen Farben tingiren, muss man annehmen, dass sie neutrophil sind.

Um zu erweisen, dass diese Farbennuance nicht auf verschiedenen Behandlungsmethoden beruht, bediente ich mich einer Methode, welche Herr Prof. O. Israel mir vorschlug. Auf der einen Hälfte eines Deckglases breitete ich menschliches Blut aus, auf der anderen Schafblut. Bei der weiteren Behandlung solcher Präparate unterliegen natürlich beide Blutarten genau denselben Einflüssen, so dass eine ganze Reihe von Fehlern ausgeschaltet sind. Nun muss man aber berücksichtigen, dass die Blutentnahme, wie bereits oben erwähnt, oft mit Schwierigkeiten verknüpft ist, und die bei dieser Gelegenheit entstehenden Fehlerquellen können auch durch die Ausbreitung zweier Blutarten auf einem Deckglas nicht vermieden werden. Ueber die Farbensaffinität jener dritten Art polynucleärer Zellen konnte ich bei der Spärlichkeit dieser Elemente nicht in's Klare kommen.

Ziege.

Triacidfärbung. Die mehrkernigen Leukocyten zerfallen in grobkörnige mit rothgefärbten Granulis und ganz feinkörnige. Die näheren Details sind wie beim Schaf. Die groben Granula liegen weit aus einander (Fig. 3).

Die einkernigen sind ebenfalls wie die des Schafes.

Bei der Färbung mit basischen und sauren Farben erhält man die gleichen Resultate wie beim Schaf.

Die Ziege hat also:

- 1) eosinophile Zellen, welche denen des Menschen- und Schafblutes gleichen, nur stehen die Granula weiter von einander;
- 2) neutrophile Zellen, welche denen des Schafes gleichen, also auch ganz feine, dicht gedrängte, röthlich gefärbte Granula besitzen;
- 3) Mastzellen;

4) basophilgranulirte grosse Lymphocyten und nicht granulirte kleine Lymphocyten.

Rind.

Triacidfärbung. Beim Rind sehe ich wieder drei Arten polynucleärer Zellen. Grobgranulirte eosinrothgefärbte, feingranulirte, rothviolettgefärbte, in welchen man aber deutlicher als bei Schaf und Ziege einzelne Granula erkennt. Dieselben erscheinen etwas grösser und stehen weniger dicht. Ihre Farbe ist wieder rothviolett (Fig. 4).

An den mononucleären ist nichts Besonderes.

Färbung mit sauren Farben. Die groben Granula nehmen die sauren Farben alle auf. Das Protoplasma der übrigen Zellen wird diffus gefärbt, ohne dass eine Struktur erkennbar wird.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula nehmen das Eosin auf. Färbung mit basischen Farben. Das Protoplasma der Mononucleären schwach tingirt; soweit es Granula enthält, haben diese viel Farbstoff aufgenommen. Ebenso sind Mastzellengranula zu sehen.

Also auch das Rind hat eosinophile Zellen, welche von denen des Menschen nicht zu unterscheiden sind. Seine neutrophilen Zellen gleichen abgesehen von der Farbennuance denen des Menschen mehr, als die der bisher besprochenen Thiere, indem sie grösser sind und weniger dicht stehen. Ueber die übrigen Zellformen ist nichts Besonderes zu bemerken.

Schwein.

Triacidfärbung. Die grobgranulirten rothgefärbten gleichen den entsprechenden der bisher besprochenen Thiere. Die Granula sind etwas gröber als die des Menschen (Fig. 5a). Die feingranulirten gleichen denen des Rindes (Fig. 5b). Die Mononucleären zeigen nichts Besonderes.

Färbung mit sauren Anilinfarben. Die groben Granula sind gefärbt. Das Protoplasma der anderen Zellen ist diffus gefärbt.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula haben Eosin aufgenommen.

Färbung mit basischen Farben. Das Protoplasma und die Granula der Mononucleären sind gefärbt.

Das Schwein besitzt also eosinophile Zellen; sehr häufig haben dieselben nur einen runden Kern. Die neutrophilen gleichen denen des Rindes. Mastzellen und Lymphocyten zeigen nichts Besonderes. Einen bisher noch nicht beschriebenen Fund konnte ich an einem mit Eosin-Hämatoxylin gefärbten Präparat machen. Ich habe das Blut sämtlicher Thiere mit dieser Farbmischung untersucht, die betreffenden Präparate aber nicht beschrieben, weil sie nichts Besonderes bieten. In einem solchen Präparat vom Schweineblut habe ich eine deutliche, wohl erhaltene Mitose gefunden (Fig. 5c). Es handelt sich um eine einkernige Zelle, welche bereits in die Länge gestreckt sich einzuschnüren beginnt. Die chromatische Substanz ist beiderseits in der Form eines Sternes um ein sehr deutliches Polfeld angeordnet. Beide Tochtersterne sind durch Fäden verbunden, die ebenso wie die chromatische Substanz tief schwarzblau gefärbt sind, aber nicht der Kernspindel anzugehören scheinen. Polkörperchen und Protoplasmastrahlung sind nicht wahrzunehmen (Fig. 5 c).

Das Blut des betreffenden Thieres zeigte sonst keine abweichenden Eigenschaften. Ob dieser Befund ein zufälliger ist oder ob im Schweineblut sich häufiger Mitosen finden, vermag ich nicht anzugeben, da ich nur vier Schweine im Ganzen untersuchen konnte. Bemerkenswerth ist jedenfalls, dass Bizzozero angiebt, im Schweineblut häufiger kernhaltige rothe Blutkörperchen gesehen zu haben. Im normalen Menschenblute ist meines Wissens noch keine Mitose farbloser Elemente gesehen worden¹⁾.

Kaninchen.

Triacidfärbung. Die vielkernigen Leukocyten sind sämtlich deutlich granulirt. Alle Granula sind roth gefärbt. Doch man kann unterscheiden:

1. Grössere Zellen mit meist blasseren Kernen und recht groben, tief dunkelroth gefärbten Granulis. Bei intensiver Beleuchtung und namentlich an zerfallenen Zellen kann man er-

¹⁾ Doch vergl. Spronck, Niederländische Zeitschrift für Entwicklungsgeschichte.

kennen, dass diese Granula keine Kugeln sind, sondern dass sie an den Enden zugespitzt sind (Fig. 6a). Das Protoplasma hat einen rothen Grundton.

2. Kleinere Zellen mit hellroth gefärbten, deutlich kugligen Granulis, die grösser sind als die neutrophilen des Menschen (Fig. 6b). Die mononucleären sind wieder so wie die übrigen Thiere.

Färbung mit sauren Farben. In fast allen mehrkernigen haben sich die Granula gefärbt. Man unterscheidet kleine kugelförmige Granula und viel seltener zugespitzte grössere Granula.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. In fast allen mehrkernigen sind die Granula gefärbt. Die kleinen runden haben Indulin, die grossen Eosin aufgenommen.

Färbung mit basischen Farben. In sämmtlichen Zellen haben sich Granula gefärbt, nur nicht in einigen polynucleären, deren grobe, stark lichtbrechende Granulation aber dennoch sichtbar ist. In den übrigen mehrkernigen sind ganz feine runde Granula sichtbar. In den grösseren Lymphocyten sind noch feinere Körnchen vorhanden, die Mastzellengranula haben sich metachromatisch gefärbt.

Im Kaninchenblute finden sich also:

1) eosinophile Zellen mit spitzen Granulis;

2) amphophile Zellen, deren Granula sowohl in sauren wie in basischen Farblösungen tingibel sind. Arnold hält es für möglich, dass es vielleicht gar keine amphophilen Granula giebt, sondern dass acidophile und basophile Granula neben einander in einer Zelle vorkommen. Mir ist es nie gelungen, wenn ich Präparate des Kaninchenblutes erst mit sauren und dann mit basischen Farben behandelte oder umgekehrt, verschiedenegefärbte Granula in einer Zelle nachzuweisen. In einem Gemisch saurer Farben sind die amphophilen Granula indulinophil. In Gemischen basischer Farben zeigen weder diese Granula, noch andere basophile eine ausgesprochene Affinität zu irgend einem Farbstoff. Nach Nikiforoff behandelte Präparate oder in Alkohol fixirte lassen die Granula häufig nicht erkennen. Die neutrophilen Granula bleiben bekanntlich gut bei diesen Fixationsmethoden erhalten. Aufgefallen ist mir auch, dass diese Granula durch Methylgrün viel schwerer und blässer gefärbt werden, als

durch Methylenblau. Die basophilen Granula der Lymphocyten sind sehr deutlich und färben sich auch mit Methylgrün recht intensiv. Mastzellen fand ich im Blute aller von mir untersuchter Kaninchen recht zahlreich.

Meerschweinchen.

Triacidpräparat. Unter den mehrkernigen sind zwar in der Minderzahl, aber dennoch recht reichlich vertreten Zellen mit ausserordentlich grossen, runden, rothgefärbten Granulis, die dicht an einander liegen, so dass die Zellen wie Maulbeeren aussehen. Ihre Kerne sind meist zart strukturirt und nur sehr wenig eingebuchtet (Fig. 7a).

Die Mehrzahl der vielkernigen hat dagegen sehr feine kuglige, roth gefärbte, nur spärlich im Protoplasma vertheilte Granula, deren Grösse etwa den neutrophilen des Menschen entspricht (Fig. 7b).

Auch mehrkernige Leukocyten ohne Granula kommen, wenn auch selten, beim Meerschweinchen vor.

Die grossen und die kleinen Lymphocyten zeigen nichts Bemerkenswerthes.

Färbung mit sauren Farben. Sowohl die eben beschriebenen feinen wie die groben Granula haben sich gefärbt. Einige mehrkernige haben keine Granula.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die feinen Granula haben das Indulin aufgenommen, die groben das Eosin.

Färbung mit basischen Farben. Die groben und feinen Granula der vielkernigen Leukocyten haben sich nicht gefärbt. Dagegen findet man einige Mastzellen und zahlreiche sehr feine, aber sehr distincte Granula im Protoplasma der grösseren Lymphocyten.

Das Meerschweinchen hat also:

- 1) eosinophile Zellen mit grossen kugligen Körnern;
- 2) indulinophile Zellen mit kleinen kugligen Körnern;
- 3) mehrkernige Zellen ohne Granulation;
- 4) Mastzellen;
- 5) grosse granulirte Lymphocyten und kleine nicht granulirte Lymphocyten.

Pferd.

Triacidpräparat. Unter den mehrkernigen Leukocyten fallen zunächst solche auf, die in ihrem Leib Granula von geradezu immenser Grösse haben. Ich habe zwischen 20 und 40 gewählt. Sie sind verschieden gross; die grössten mögen die Grösse der Erythrocyten der Ziege erreichen. Einige von ihnen sind rund, andere aber elliptisch. Diese Zellen haben entweder einen grossen runden Kern, der in der Mitte der Granula liegt, oder einen fragmentirten, schmalen, chromatinreichen Kern, dessen Segmente sich zwischen die Granula drängen. Man hat den Eindruck, als ob der Kern von den Granulis zusammengequetscht würde. Dieselben sind roth gefärbt, aber nicht alle mit der gleichen Intensität (Fig. 12a).

Die anderen, weit kleineren, polymorphkernigen Zellen haben einen Kern, der in der Mehrzahl der Elemente so stark fragmentirt ist, wie ich es bei keinem anderen Thiere gesehen. Ich glaube, dass man aus diesen Kernen allein das Pferdeblut diagnosticiren könnte. Das Protoplasma derselben ist violett gefärbt, es ist nicht homogen, sondern erscheint undeutlich structurirt. In vielen Zellen glaube ich distincte, aber ganz spärliche Granula wahrnehmen zu können, doch bin ich nicht im Stande, über ihre Form etwas Bestimmtes auszusagen. Ich halte sie aber nicht für kuglig, vielleicht sind sie nadelförmig (Fig. 12 b).

Die mononucleären Zellen zeigen nichts Besonderes.

Färbung mit sauren Farben. Ausser der bereits bei den anderen Thieren erwähnten diffusen Protoplasmafärbung haben die groben Granula sich gefärbt.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula haben sich tief dunkelroth gefärbt.

Färbung mit Indulin-Eosin. Auch hier haben sich die Granula dunkelroth gefärbt. Einige mehr schwarz, andere mehr roth.

Wenn man Meerschweinchenblut und Pferdeblut auf einem Deckglas ausbreitet, wie es oben näher beschrieben, so nehmen die groben Granula des Meerchweinchens nur Eosin auf, die des Pferdes Eosin und Indulin.

Färbung mit basischen Farben. Ausser sämmtlichen

Kernen färben sich die Granula der grossen Lymphocyten. Besonders auffallend sind die Mastzellen. Sie sind weit grösser als bei anderen Thieren und viel reichlicher mit Granula erfüllt. Ich habe einige Zellen gesehen, die fast das Aussehen der bekannten Morulaformen aus dem Froschblute hatten (Fig. 12 c).

Im Pferdeblut kommen also vor:

1. Grobgranulirte Zellen, welche nicht eine Affinität zu einem einzigen sauren Farbkörper haben, sondern aus einem Gemisch saurer Farben Indulin und Eosin aufnehmen. Ihre Granula sind die grössten bisher bekannten. Diese Zellen sind als Semmer'sche Leukocyten schon lange bekannt. Schwarze rechnet sie zu den eosinophilen.

2. Zellen mit undeutlich structurirtem neutrophilem Protoplasma, das hin und wieder ein Granulum zeigt. Der Kern ist ungemein stark fragmentirt.

3. Mastzellen von einer Grösse und einem Reichthum an Granulis, wie es bei anderen Säugethieren nicht vorkommt. Die Granula sind nadelförmig.

4. Feingranulirte basophile grosse Lymphocyten und kleine Lymphocyten.

Weisse Maus.

Triacidfärbung. Auffällig ist die grosse Zahl einkerniger Zellen. Man muss nach den multinucleären suchen. Unter diesen sind erstens feingranulirte Zellen, an welchen ich häufig einen Ringkern gesehen habe. Die Granula liegen dicht und sind roth gefärbt (Fig. 9 a). Zweitens findet man Zellen mit violettem, vollkommen homogenem, violett gefärbtem Protoplasma ohne Spuren einer Granulation oder sonstiger Struktur (Fig. 9 b). An den zahlreichen mononucleären fällt es auf, dass man so viel freie grosse Kerne sieht. Andererseits findet man colossal grosse Elemente, deren Protoplasma die Masse des in der Mitte liegenden Kernes vielmal übertrifft. Das Protoplasma erscheint nicht homogen mit blauem Farbenton, wie gewöhnlich, sondern granulirt und röthlich tingirt. Ich glaube diese Bilder auf leukocytolytische Vorgänge zurückführen zu müssen, wie sie Botkin beschrieben hat. Die Zellen des Mäuseblutes haben wahrscheinlich eine besondere Disposition zu diesem Vorgang, der sich immer erst

eine gewisse Zeit, nachdem das Blut den Körper verlassen, einstellt. Bei der Entnahme des Blutes verfuhr ich so, dass ich dem schnell getödteten Thiere das Herz herauschnitt. Hierbei verstreicht zwar eine gewisse Zeit, aber jedenfalls nicht mehr, als wenn ich das beim Schlachten herausströmende Carotidenblut in einem Gefäss auffange und dann die Präparate anfertige. Ich habe aber bei keinem Thiere so zahlreiche, wahrscheinlich auf Leukocytolyse beruhende Bilder zu Gesicht bekommen, als bei der weissen Maus.

Färbung mit sauren Farben und Farbgemischen. Die Granula der Polynucleären sind roth.

Färbung mit basischen Farben. Die basophilen Granula der grösseren Lymphocyten und die γ -Granula sind gefärbt.

Im Blute der weissen Maus giebt es also:

1) polynucleäre eosinophile Zellen. Dieselben haben von den eosinophilen Zellen der bisher von mir untersuchten Thiere die feinsten Granula, etwa von der Grösse der menschlichen neutrophilen. Häufig haben sie einen Ringkern.

2) polynucleäre neutrophile Zellen ohne Granula mit völlig homogenem Protoplasma;

3) Lymphocyten und Mastzellen.

Gescheckte Ratte.

Triacidfärbung. Man unterscheidet unter den Leucocyten: 1) Zellen mit gröberen, roth gefärbten Körnern. Dieselben werden an Kleinheit nur von den entsprechenden Granulis im Blute der weissen Maus übertroffen. Ein grosser Theil dieser Zellen hat geschlossene Ringkerne (Fig. 8 a). 2) Feingranulirte mehrkernige Zellen. Die Farbe der Granula ist rothviolett. Ihre Grösse etwa 10mal kleiner als sie in Fig. 8 b gezeichnet. 3) Mononucleäre Zellen von gewöhnlichem Habitus. Das Procentverhältniss der einkernigen zu den mehrkernigen ist nicht wie bei der weissen Maus zu Gunsten der ersteren verschoben.

Färbung mit sauren Farben. Nur die gröberen Granula werden gefärbt.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula nehmen Eosin auf.

Färbung mit basischen Farben. Nur die Granula der Mastzellen und der einkernigen Leukocyten werden tingirt.

Im Blute der weissen Ratte giebt es also:

- 1) eosinophile Zellen;
- 2) neutrophile Zellen;
- 3) Mastzellen;
- 4) Lymphocyten.

Hund.

Triacidfärbung. Die grobgranulirten Leukocyten haben sehr spärliche, blauröth gefärbte Granula. Ihr Farbenton ist ein ganz anderer als der der eosinophilen Zellen anderer Thiere, weshalb ich gleich von vornherein vermuthete, dass sie ganz besondere tinctorielle Affinitäten hätten. Ihre Grösse ist recht beträchtlich und ebenso wie ihre Form verschieden. Die meisten sind an den Enden abgerundete kurze Stäbchen, ausserdem sieht man Kugeln, die bisweilen, wenn auch sehr selten, beinahe die Grösse der α -Granula des Pferdes erreichen. Auch dreieckige Formen sieht man (Fig. 10 a). Die Mehrzahl der übrigen kleineren vielkernigen Zellen hat ein violett gefärbtes Protoplasma, das aus ungemein kleinen, ganz dicht stehenden Granulis besteht, welche den gleichen Farbenton haben, wie die neutrophilen des Menschen. Diese Granula sind sehr schwer zu erkennen (Fig. 10 b). Es giebt Zellen, bei welchen ich nicht im Stande bin zu sagen, ob wirklich distincte Granula im Protoplasma lagen. Ausserdem findet man auch in jedem Hundebloodpräparat polynucleäre Leukocyten, deren Protoplasma vollkommen homogen erscheint. Zwischen Mononucleären und Polynucleären sieht man zahlreiche Uebergangsformen mit mehr oder minder eingebuchteten Kernen. In diesen Uebergangsformen hat das Protoplasma bisweilen einen blauen, bisweilen einen violetten Farbenton.

Färbung mit sauren Farben. Die groben Granula werden tingirt.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula sind nicht roth, sondern rothbraun gefärbt.

Färbung mit Aurantia-Indulin. Die Granula sind rothbraun.

Färbung mit Aurantia-Eosin. Die Granula sind rothbraun.

Um diese den Angaben Schwarze's und Ehrlich's widersprechenden Befunde zu erhärten, habe ich Hundeblut und das Blut vieler anderen Thiere, Kaninchen, Maus, Meerschweinchen, auf einem Deckglas ausgebreitet und dann mit den eben erwähnten sauren Farbmischungen behandelt. Die grobgranulirten der anderen Thiere färben sich leuchtend roth, die des Hundes braungelb, der Mischfarbe der Aurantia und des Eosins entsprechend.

Färbung mit basischen Farben. Mastzellengranula und Granula der grossen Lymphocyten werden gefärbt.

Im Hundeblut giebt es also:

- 1) grobgranulirte aurantiophile Zellen;
- 2) neutrophile Zellen mit homogenem Protoplasma, mit feinen Granulis oder nicht deutlicher Struktur;
- 3) Mastzellen;
- 4) Lymphocyten wie bei anderen Thieren.

Katze.

Triacidfärbung. Die grobgranulirten des Katzenblutes zeichnen sich durch eine ganz bedeutende Grösse aus. Nach der Form und Vertheilung der Granula kann man zwei Arten unterscheiden. In der einen Zellform sind nur dunkel rothviolette grobe Granula, meist in Form von an den Enden abgerundeten Stäbchen. Ihre Farbe entspricht der der neutrophilen des Menschen. Die Granula liegen weit auseinander. Diese Zellform ist selten (Fig. 11 a). Ausserdem giebt es noch grobgranulirte, rothviolett gefärbte Zellen, die häufiger sind. Einige haben nur einen fragmentirten Kern. Andere haben zwei kleine Kerne, die an den entgegengesetzten Polen der Zelle liegen. Häufig sind beide durch einen ganz schmalen dünnen Kernrest verbunden (Fig. 11 b).

Die Mehrzahl der vielkernigen gleicht in Bezug auf die Grösse denen des Hundes. Das Protoplasma ist violett tingirt und ohne jede Andeutung einer Struktur (Fig. 11 c).

Die Lymphocyten zeigen nichts Bemerkenswerthes. Von ihnen zu den nichtgranulirten mehrkernigen neutrophilen scheinen viele Uebergangsformen hinzuleiten.

Färbung mit sauren Farben. Die groben Granula nehmen die sauren Farben an.

Färbung mit Aurantia-Indulin-Eosin. Die groben Granula tingiren sich braunroth.

Färbung mit Aurantia-Eosin und Aurantia-Indulin. Die groben Granula färben sich braunroth.

Zur Controle werden wieder Deckgläschen mit Katzenblut und dem anderer Thiere beschickt. Die groben Granula der anderen Thiere nehmen Eosin, die des Katzenblutes Aurantia und Eosin auf.

Färbung mit basischen Farben. Mastzellen und Lymphocyten zeigen dieselben Eigenschaften wie die der anderen Thiere. Sonst ist ausser den Kernen nichts gefärbt.

Die Katze hat also:

- 1) zwei Arten grobgranulirter aurantiophiler Zellen, von denen die nur spärlich im Protoplasma vertheilten zugleich neutrophil sind, wie ich aus ihrer violetten Färbung in Triacid schliesse;
- 2) nicht granulirte neutrophile Zellen;
- 3) Mastzellen;
- 4) Lymphocyten.

Obwohl ich nur relativ wenige Thiere bisher untersucht habe, so tritt uns doch eine kaum erwartete Mannichfaltigkeit in der Struktur der Leukocyten entgegen. Nur die einkernigen Elemente zeigen bei allen Thieren constante Eigenschaften. Die Kerne zeigen stets denselben Bau, das basophile Protoplasma ist in der Minderzahl der Elemente körnchenfrei; meist hat es basophile, sehr feine, weit auseinander stehende Granula. Das Protoplasma der kleinen Lymphocyten ist von grobkörniger Beschaffenheit, was man aber nur bei Färbung mit basischen Farbstoffen sehen kann; an Triacidpräparaten erscheint es, soweit es erhalten ist, vollkommen homogen.

Die gleiche histologische Beschaffenheit der Lymphocyten bei allen Thieren erscheint um so auffallender, als die übrigen Zellformen, die man ja gewöhnlich aus den Mononucleären abzuleiten pflegt, um so mannichfaltiger entwickelt sind. Das spricht mehr für einen getrennten Ursprung der verschiedenen Zellformen des Blutes.

Wenn wir uns zunächst zu den granulirten Leukocyten wenden, so ist es uns gelungen, einige neue Arten von Granulis und Modificationen bereits bekannter aufzufinden.

Ehrlich erklärte die neutrophilen Granula für spezifische Gebilde des menschlichen Blutes, und Corin schloss sich, wie wir oben erwähnten, dieser Ansicht an. Im Widerspruch mit diesen beiden Autoren wollen dann Tamassia und Ilberg im Blute folgender Thiere — Kalb, Rind, Hund, Schwein, Schaf, Kaninchen, Katze — neutrophile Granula nachgewiesen haben.

Meine Ergebnisse hinsichtlich des Vorkommens dieser Gebilde sind nun folgende:

Neutrophile Granula von der Grösse, Anordnung und tinctoriellen Beschaffenheit der menschlichen kommen bei keinem der bis jetzt untersuchten Thiere vor.

Die neutrophilen Granula des Rindes und Schweines sind nächst den menschlichen die grössten und am leichtesten wahrzunehmen. Beim Schaf und der Ziege ist es dagegen nicht immer möglich, einzelne Körner in jeder Zelle zu unterscheiden, so dass man oft nur von einem körnigen Protoplasma sprechen kann, im Gegensatz zu einem gekörnten, welches deutliche Granula besitzt.

Was aber tinctoriell diese Granula von den neutrophilen des Menschen unterscheidet, ist der Farbenton, welchen sie im Triacid annehmen. Sie sind so roth, dass ich sie anfänglich für acidophil, bzw. amphophil hielt, was aber die differentielle Färbung widerlegt. Ich glaubte anfänglich, dass die Methode der Entnahme des Blutes Schuld an dieser Farbendifferenz trüge. Indessen hatte ich Gelegenheit, von Schafen das Blut unter allen Cautelen zu entnehmen, und erhielt doch dieselbe Farbennuance, andererseits habe ich auf dem Schlachthof häufig Pferdeblut erst in Gefässen auffangen müssen, und doch nahm das Protoplasma der vielkernigen eine violette Farbe an. Uebrigens begegnet man, wenn auch seltener, Zellen, welche in demselben Farbenton wie die des Menschen gefärbt sind.

Zur Erklärung dieser Färbung der neutrophilen Granula bei Rind, Schwein, Schaf, Ratte und Ziege möge folgender Versuch dienen: Stellt man sich eine gesättigte wässrige Lösung von Methylenblau, von Orange und Säurefuchsin her und mischt Säurefuchsin und Methylenblau, andererseits Orange und Methylen-

blau zusammen, so erhält man, wenn man in beiden Fällen einen geringen Ueberschuss des sauren Farbkörpers hinzufügt, klare Lösungen. Nach Ehrlich sind nemlich neutrale Farben nur in einem Ueberschuss der sauren Farbe löslich. Auf Fliesspapier überzeugt man sich, dass das Gemisch von Methylgrün-Orange braun färbt, das von Säurefuchsin-Methylgrün violett in demselben Tone, in welchem die neutrophilen Granula des Menschen tingirt werden, wenn man sie in Triacid färbt. Mischt man nun jene oben erwähnten Gemische neutraler Farben, so überzeugt man sich, dass ein Tropfen dieses Gemisches einen rothen Ton auf Fliesspapier hervorbringt. Auf diesen Versuch gestützt, möchte ich die Hypothese aufzustellen wagen, dass die neutrophilen Granula des menschlichen Blutes aus dem triaciden Gemisch nur die durch Zusammentreten von Methylgrün und Säurefuchsin entstehende neutrale Farbe aufnehmen, die neutrophilen Granula der anderen oben erwähnten Thiere aber sowohl diese wie auch die durch Zusammentreten von Methylgrün und Orange gebildete. Auf die gleiche Weise möchte ich erklären, dass die Granula der gonorrhoeischen Eiterzellen des Menschen sich bisweilen und zum Theil roth färben. Demnach scheint es, dass auch die neutrophilen Granula spezifische Affinitäten zu gewissen Farbkörpern haben.

Die bisher geltende Anschauung, dass eosinophile Granula bei allen Thieren vorkommen, muss ich nach meinen Befunden dahin modificiren, dass acidophile Granula bei allen bisher untersuchten Thieren zu finden sind. Was die wechselnde Form und Vertheilung der eosinophilen Granula anbetrifft, so verweise ich auf die oben mitgetheilten Blutbefunde. Eine andere Gruppe, die indulinophilen, kommen nur beim Meerschweinchen vor; sie entsprechen aber nicht den acidophilen Zellen der anderen Thiere, sondern den anderen vielkernigen. Amphophile Zellen, die nach Ehrlich auch beim Meerschweinchen vorkommen sollen, habe ich bei diesem Thiere nie gesehen. Eine Uebergangsform von den eosinophilen zu den indulinophilen in tinctorieller Hinsicht bilden die acidophilen Granula des Pferdeblutes. In ihnen haben wir also Gebilde, die keine besondere Affinität zu einem einzigen Farbstoff besitzen, sondern zu zweien. Die principiell wichtige Frage, ob sich unter den übrigen Farbstoffen nicht doch noch

einer findet, den diese Granula aus einem Gemisch saurer Farben attrahiren würden, kann nur entschieden werden, wenn man sich der mühsamen Aufgabe unterzieht, alle diese Farbstoffe anzuwenden.

Eine weitere neue, von mir aufgefundene Gruppe sind die aurantiophilen Granula, die aber nicht rein aurantiophil sind. Sie nehmen nemlich aus einem Gemisch saurer Farben Eosin und Aurantia zu gleicher Zeit auf, indem sie braunroth werden.

In diese Gruppe gehören die grobgranulirten Zellen des Hundebutes und die 2 Arten grobgranulirter Zellen des Katzenbutes. Während erstere und die Fig. 11 mit b bezeichnete Zellform der Katze rein acidophile Granula haben, färben sich die groben Granula der Fig. 11 mit a bezeichneten Zellform des Katzenbutes sowohl in sauren wie in neutralen Farbstoffen, wie ich daraus schliesse, dass sie im Triacid violette Farbe annehmen (Fig. 11a), andererseits aber auch in sauren Farbgemischen sich tingiren. Man kann aber auch diese Granula amphophil nennen und muss demnach 2 Arten amphophiler Granula unterscheiden, solche die sich in sauren und neutralen Farben tingiren und solche, die sich in sauren und basischen Farben tingiren. Letztere, von Ehrlich amphophil genannte Granula, kommen nur beim Kaninchen vor; aus einem Gemisch saurer Farben nehmen diese Indulin auf. Basophile Granula finden sich, abgesehen von den Mastzellen, in den grossen Lymphocyten sämmtlicher untersuchter Thiere.

Die Untersuchung des Butes nur weniger Thiere hat uns bereits in den Stand gesetzt, die schon bekannten Granulaarten um einige neue zu vermehren.

Nach meinen bisherigen Ergebnissen würde folgendes Schema aufzustellen sein:

I. Acidophile Granula.

- a) Eosinophile,
 - b) indulinophile,
 - c) Aurantia und Eosin aufnehmende
 - d) Eosin und Indulin aufnehmende
- } Mischformen.

II. Basophile Granula.

- a) δ -Granula. Sie geben bei Einwirkung starker Extrahentien ihre Farbe ab.

- b) γ -Granula. Sie behalten den Farbstoff auch bei Einwirkung starker Extrahentien.

III. Neutrophile Granula.

- a) Solche, die Methylgrün-Säurefuchsin aufnehmen.
- b) Solche, die Methylgrün-Säurefuchsin und Methylgrün-Orange zugleich aufnehmen.

IV. Mischformen.

- a) Von Ehrlich amphophile genannte. Sie färben sich in sauren und basischen Farbstoffen. Von einem Gemisch saurer Farben nehmen sie Indulin auf.
- b) Solche, die sich in neutralen und sauren Farben tingiren. Von einem Gemisch saurer Farben nehmen sie Aurantia und Eosin auf.

Die folgende Tabelle giebt eine Uebersicht über das Vorkommen der verschiedenen Granulaarten bei den einzelnen Thieren.

Bei einigen Thieren hat die Mehrzahl der multinucleären Leukocyten keine Granula, eine so auffallende Erscheinung, dass man auf den ersten Blick das Blut dieser Thiere von dem der anderen unterscheiden kann. Selbst am frischen Präparate ist dies mit Hülfe guter Linsen möglich. Sowohl in diesem, wie an Deckglastrockenpräparaten kann man am Protoplasma dieser Zellen keine Struktur wahrnehmen, vielmehr erscheint es vollkommen homogen. Dagegen hat es seine Affinität zu neutralen Farbstoffen bewahrt. Sonst haben die Blutelemente dieser Thiere — es ist die weisse Maus, ein Nagethier, und zwei Raubthiere, Katze und Hund — nichts Verwandtes. Man darf aus diesen Befunden wohl den Schluss ziehen, dass die Granula kein integrierender Bestandtheil des Cytoplasmas der Leukocyten sind und dass ihr Fehlen die Functionen der betreffenden Leukocyten nicht in erheblichem Maasse modificirt.

Wie entstehen diese granulationslosen Zellen? Stammen sie von granulirten Zellen ab oder sind auch ihre Mutterzellen körnchenfrei? Nach Ehrlich muss man das Auftreten von Granulis im Protoplasma als einen Reifungsprozess betrachten, als eine Alterserscheinung. Demnach erscheint es wenig angebracht, die körnchenfreien mehrkernigen Leukocyten der oben

Übersicht über das Vorkommen und die Farbenaffinitäten der Granula in den Leukocyten.

	Mehrkernige Leukocyten							Einkernige Leukocyten			
	ohne Granula	eosinophile	indulinophile	Mischformen		basophile (Mastzellen)	neutrophile	amphophile	ohne Granula	basophile	acidophile
				Aurantia und Eosin aufnehmend	Indulin und Eosin aufnehmend						
Mensch	+	+	+			+	+		+	+	+
Schaf	+	+	+			+	+		+	+	+
Ziege	+	+	+			+	+		+	+	+
Rind	+	+	+			+	+		+	+	+
Schwein	+	+	+			+	+		+	+	+
Pferd	+	+	+			+	+		+	+	+
Weisse Maus	+	+	+			+	+		+	+	+
Kaninchen	+	+	+			+	+		+	+	+
Meerschweinchen	+	+	+			+	+		+	+	+
Hund	+	+	+			+	+		+	+	+
Katze	+	+	+			+	+		+	+	+
Ratte	+	+	+			+	+		+	+	+

Erläuterung: Ein + Zeichen bedeutet, dass die betreffende Granulaart bei dem betreffenden, in der ersten Rubrik stehenden Thiere vorkommt. In der zweiten Rubrik der amphophilen sind diejenigen Granulaarten untergebracht, welche sich mit sauren und neutralen Farben tingiren, in der ersten diejenigen, welche saure und basische Farben annehmen. Die zwei Rubriken der neutrophilen erklären sich aus dem im Text Gesagten.

erwähnten Thiere aus granulirten Vorstufen abzuleiten. Aber bereits Virchow sprach vor vielen Jahren die Ansicht aus, dass die mehrkernigen Elemente des Blutes sich aus den einkernigen entwickeln. Ehrlich äusserte sich später in gleichem Sinne. Er beschreibt Uebergangsformen von den Lymphocyten zu den multinucleären neutrophilen Blutkörperchen, Zellen mit einem Kerne, der nicht mehr rund ist, sondern sich eingebuchtet hat, und in deren Protoplasma ganz spärliche neutrophile Körner sichtbar sind. Bedenkt man, dass die mononucleären Leukocyten basophile Granula haben und dass basophile und neutrophile Granula in einer Zelle noch nie gesehen worden sind, so muss man nothwendiger Weise zugeben, dass noch wichtige Zwischenglieder, welche den Uebergang von mononucleären zu polynucleären Zellen vermitteln, fehlen. Ein solcher Uebergang kann nach den bisherigen Befunden nur gedacht werden durch ein körnchenfreies Stadium hindurch. Nachdem die basophilen Granula verschwunden sind, treten dann einzelne neutrophile auf. Dieses körnchenfreie Stadium ist bisher noch nicht beschrieben worden. Ich habe sowohl im menschlichen Blute wie in dem der meisten von mir untersuchten Thiere häufig solche körnchenfreie Zellen gesehen, welche sich, da sie einen eingebuchteten Kern hatten, als Uebergangsformen erwiesen. Da nun im normalen Blute Uebergangsformen mit neutrophilen Granulationen selten sind, während man ihrer viele im leukämischen Blute findet, so ist man wohl berechtigt, wenigstens einen Theil derjenigen Formen, die bei Färbung mit basischen Farben keine Granula zeigen, als wirklich körnchenfrei anzusehen. Viel einfacher gestalten sich diese Verhältnisse bei den Thieren mit homogenen vielkernigen Leukocyten. Diejenigen Elemente mit eingebuchtetem Kern, welche hier bei Färbung mit basischen Farbstoffen keine Granula zeigen, sind sicher körnchenfrei. Auch beim Kaninchenblut, welches amphophile multinucleäre Leukocyten hat, genügt die Färbung mit basischen Farbstoffen, um das Freisein mancher Uebergangsformen von Granulis zu erweisen. Von ihnen bis zu den Zellen mit stark fragmentirten Kernen findet man alle Uebergangsstufen. Während, wie Färbungen mit Saffranin, Methylenblau, Methylenblau-Eosin beweisen, die grossen Lymphocyten eine zarte, zierliche Kernstruktur be-

sitzen, zeigen die Zellen mit stark fragmentirten Kernen ein chromatinreiches, plumpes Kerngerüst. Von diesen Kernen zu den eingebuchteten der Uebergangsformen führen wieder Zwischenstufen, nemlich stark fragmentirte Kerne, die aber ein zartes Gerüst besitzen und breiter sind als die viel schmäleren Kerne mit plumpem Chromatingerüst. Wenn man die von Israel und Pappenheim für die Kerne der rothen angegebenen Altersmerkmale auch auf die Kerne der farblosen Blutkörperchen anwenden darf, so hat man die Kerne mit plumpem Chromatingerüst als die ältesten aufzufassen, eine Anschauung, die mit unseren Anschauungen von der Histogenese der Leukocyten in gutem Einklang steht. Uebrigens erscheinen bei der Leukocytose eine grosse Zahl von vielkernigen Zellen mit grösseren blassen Kernen im Blut, und im Knochenmark findet man fast nur solche Gebilde, äusserst selten die chromatinreichen Kerne.

Wenn wirklich die Thatsache zu Recht besteht, dass die vielkernigen aus den einkernigen durch allmähliche Metamorphose entstehen, so wandelt sich bei Hund, Katze und weisser Maus ein granulirtes Protoplasma — das der einkernigen basophilen Elemente — in ein homogenes — das der mehrkernigen Leukocyten — um.

Dieser Vorgang widerspricht den Theorien, welche Ehrlich über die Granula aufgestellt hat. Das Auftreten derselben bezeichnet er als einen Reifungsprozess des Protoplasmas. Ein Verschwinden von Granulis und ein wieder Homogenwerden des Protoplasmas ist bisher noch nicht beschrieben worden. Ein physiologisches Paradigma hat dieser Prozess in der Verdauung durch Phagocytose aufgenommener Partikelchen und vielleicht in gewissen reparativen Prozessen, etwa dem Verschwinden der bei der trüben Schwellung entstandenen Eiweisskörnchen, einem Vorgange, über welchen die näheren Einzelheiten noch nicht festgestellt sind.

Leitet man aber die einzelnen Leukocytenformen, wie Zenoni¹⁾, von verschiedenen Stammformen ab, also die neutrophilen polymorphkernigen von neutrophilen mononucleären des Knochenmarkes, so wären diese Betrachtungen belanglos. Denn

¹⁾ Zenoni, Ueber die Abstammung der Leukocyten. Ziegler's Beiträge. Bd. XVI.

aus was für Zellen die neutrophilen einkernigen, seien sie mit Granulation wie beim Menschen, oder ohne Granulation wie beim Hund, abzuleiten sind, ist nicht bekannt. Einige neue Gesichtspunkte lassen sich aus unseren vergleichenden Untersuchungen auch für die eosinophilen Zellen aufstellen. Während Ehrlich das Knochenmark und in gewissem Grade auch die Milz als ihre Bildungsstätte ansieht, haben neuere Forscher, Müller¹⁾, Rieder²⁾, Zappert³⁾ die Ansicht aufgestellt, dass sie sich aus den neutrophilen polynucleären durch fortschreitende Metamorphose — Reifung — entwickeln. Die eosinophilen Zellen des Knochenmarkes sollen ganz anderer Natur sein, als die des Blutes. Jedoch ist nicht einzusehen, warum nicht durch allmähliche Metamorphose aus den eosinophilen Knochenmarkszellen eosinophile Blutzellen entstehen sollen. Von einigen Forschern sind neuerdings zwei Arten von Granulis in einer Zelle beschrieben worden. Engel und Rieder beschreiben derartige übrigens ganz vereinzelte Befunde. Dagegen hat Arnold im Knochenmarke eosinophile und neutrophile Granula in denselben Zellen nachgewiesen, ein Befund, der dafür spricht, dass wir im Marke den Bildungsort der eosinophilen Zellen zu suchen haben. Die Kerne der eosinophilen Zellen sind im Blute des Menschen häufig denen der vielkernigen neutrophilen ähnlich, wenn man auch recht oft unter ihnen blasse, zart strukturirte, wenig fragmentirte, also wohl jüngere Formen antrifft. Bei vielen Thieren haben indessen die eosinophilen Zellen Kerne, die mit denen der übrigen mehrkernigen absolut keine Aehnlichkeit haben, so dass es ungereimt erscheint, aus letzteren die eosinophilen durch einen Reifungsprozess ableiten zu wollen.

Diese erscheinen vermöge der Eigenschaften ihrer Kerne als die jüngeren Zellen. So findet man beim Meerschweinchen in den hier sehr zahlreichen eosinophilen Zellen durchgehends grosse, blasse, häufig nur ganz wenig eingebuchtete Kerne. Hoch interessant ist aber das Verhalten der Kerne dieser Zellen beim

¹⁾ Müller, Ueber Mitosen an eosinophilen Zellen. Archiv für experimentelle Pathologie. 1892.

²⁾ Rieder, Vorkommen und klinische Bedeutung der eosinophilen Zellen im circulirenden Blute des Menschen. Münch. med. Wochenschr. 1891.

³⁾ Zappert, Ueber eosinophile Zellen. Zeitschr. für klin. Med. Bd. 23.

Pferd. Während die multinucleären dieses Thieres sich durch eine ganz ungemein stark ausgeprägte Fragmentirung der Kerne auszeichnen, findet man in den eosinophilen Zellen dieses Thieres häufig nur einen einzigen, runden Kern. Den gleichen Befund machte ich, wenn auch nicht so häufig, beim Schwein. Diese Thatsachen sprechen entschieden gegen eine Entstehung der eosinophilen Leukocyten aus den anderen mehrkernigen in der Blutbahn, und weisen auf das Knochenmark als ihre Bildungsstätte hin. Während also das Erscheinen mononucleärer Eosinophiler im strömenden Blute des Menschen als pathologisch betrachtet wird, gehört bei Pferd und Schwein dieser Vorgang zu den physiologischen. Wie so viele pathologischen Prozesse, hat auch dieser, wenn auch bei einer anderen Species, sein physiologisches Paradigma.

Am Schlusse meiner Ausführungen angelangt, möchte ich noch bemerken, dass das Verhältniss der einzelnen Leukocytenarten zu einander bei den einzelnen Species grossen Schwankungen unterworfen ist, die ich leider nicht zahlenmässig feststellen konnte. Bei sämmtlichen untersuchten Meerschweinchen fiel mir der hohe Gehalt an eosinophilen Zellen auf. Beim Kaninchen, bei welchem ich an 5 Individuen genaue Zählungen einige Wochen hindurch veranstaltete, fand ich constant einen Lymphocytengehalt, welcher dem an vielkernigen Elementen gleichkam oder ihn sogar überstieg. Bei der weissen Maus war in allen Präparaten von vielleicht 30 Individuen der Gehalt an Lymphocyten ein so auffallend grosser, dass Zählungen nicht nöthig sind, um diesen Befund zu erhärten.

Man hat neuerdings versucht, die Immunität, welche manche Thiere gegen gewisse Bakterien besitzen, auf Alexine zurückzuführen, die ihrerseits aus dem Zerfall der Leukocyten hervorgehen, bzw. ihren Stoffwechselprodukten angehören. Bei dem wechselnden Verhalten der einzelnen Species gegenüber der bakteriellen Infection muss man annehmen, dass die Leukocytenstoffe sehr verschiedener chemischer Constitution sind. In den tinctoriellen Differenzen des Protoplasmas und der Granula besitzen wir einen Ausdruck dieser chemischen Verschiedenheiten, welche wir noch nicht qualitativ und quantitativ nachzuweisen vermögen.

Die Frage, ob die Elemente des Blutes gewisse Ordnungs- und Gattungsscharaktere aufweisen, kann ich nach meinen bisherigen Erfahrungen noch nicht entscheiden. Das Blut der vier von mir untersuchten Nagethiere — Maus, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte — zeigt gar keine verwandten Eigenschaften. Eben so wenig das der anderen Thiere. Auffällig ist die Affinität zur Aurantia bei zwei Raubthieren, Hund und Katze.

Meine Befunde zur Diagnose des thierischen Blutes aus Flecken zu verwerthen, ist mir bisher noch nicht gelungen. Ich habe noch nicht feststellen können, in welchem Umfange und unter welchen Bedingungen die Granula überhaupt erhalten bleiben. Ausserdem bereitet es auch einige Schwierigkeiten, aus Blutflecken Leukocyten in genügender Zahl zu isoliren. Die physiologische Kochsalzlösung scheint kein sehr geeignetes Auflösungsmittel für diese Zwecke zu sein. Meine Untersuchungen in dieser Richtung setze ich augenblicklich noch fort.

Herrn Geheimrath Virchow spreche ich für die Ueberlassung eines Arbeitsplatzes im Pathologischen Institut meinen verbindlichsten Dank aus. Desgleichen Herrn Prof. O. Israel für seine freundliche und stets bereitwillige Unterstützung bei dieser Arbeit.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Die Bilder entstammen, mit Ausnahme der zwei Mastzellen, Triacidpräparaten ¹⁾.

- Fig. 1. Mensch. a eosinophile Zelle. b neutrophile Zelle.
- Fig. 2. Schaf. a eosinophile Zelle. b neutrophile Zelle.
- Fig. 3. Ziege. a eosinophile Zelle. Die Granula stehen in Wirklichkeit weiter auseinander, als die Figur es zeigt. b neutrophile Zelle.
- Fig. 4. Rind. a eosinophile Zelle. b neutrophile Zelle.
- Fig. 5. Schwein. a eosinophile Zelle. b neutrophile Zelle. c einkerniger Leukocyt in Mitose.
- Fig. 6. Kaninchen. a eosinophile Zelle. b neutrophile Zelle.
- Fig. 7. Meerschweinchen. a eosinophile Zelle. Die Granula sollten in der Zeichnung dichter liegen. b indulinophile Zelle.
- Fig. 8. Ratte. a eosinophile Zelle mit Ringkern. b neutrophile Zelle. Die Granula sind viel zu gross.

¹⁾ Das Triacid bezog ich von der Firma Grüber in Leipzig.

- Fig. 9. Weisse Maus. a eosinophile Zelle mit Ringkern. b neutrophile Zelle mit homogenem Zellkörper.
- Fig. 10. Hund. a aurantiophile Zelle. Die Granula sind etwas zu gross. b neutrophile Zelle mit undeutlicher Protoplasmastruktur.
- Fig. 11. Katze. a amphophile Zelle. Die Granula sollten etwas grösser sein. b aurantiophile Zelle. c neutrophile Zelle mit homogenem Zellkörper.
- Fig. 12. Pferd. a eosinophile Zelle. b Zelle mit nadelförmigen Granulis. Der Grundton dieser Zelle sollte violett sein. Die Granula sind nicht mit der in der Zeichnung wiedergegebenen Deutlichkeit erkennbar. c Mastzelle.

NB. Sämmtliche Zellen sind nicht mit dem Zeichenapparat gezeichnet, sondern aus freier Hand; in Folge dessen können die Grössenverhältnisse der Leukocyten nicht als typische gelten. Die Zellen aus dem menschlichen Blute sind etwas zu gross gerathen, in Wirklichkeit aber doch grösser als die aller von mir untersuchten Thiere zu denken.

IV.

Ueber die Löslichkeitsverhältnisse des Paracaseins im künstlichen Magensaft.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

Von Dr. med. W. Lindemann,

Assistenten des Instituts für Allgem. Path. der Kais. Universität Moskau.

Die Milch stellt ein so wichtiges Nahrungsmittel dar, dass es leicht begreiflich ist, wenn die Frage über die Verdaulichkeit derselben als eine hochinteressante, sowohl in praktischer, als auch in theoretischer Hinsicht aufgefasst wird.

Diese Frage bezieht sich vor Allem auf die Verdauung der Eiweissstoffe der Milch und speciell des Caseins, weil die anderen Bestandtheile — das Fett und der Milchzucker — wenige Besonderheiten in dieser Hinsicht darbieten, von der etwas schlechteren Resorbirbarkeit des Milchzuckers im Vergleiche mit der der Glucose abgesehen.

Nun ist zwar die Frage der Caseinverdauung ziemlich durchgearbeitet, aber fast alle Forscher haben das Casein sensu