

doch auch auf directer Beobachtung fusst, während ihre Einschränkung vielleicht etwas zu einseitig bloss den einen Vorgang in's Auge fasst, der allerdings durch Ribbert's neue und sinnreiche Versuche noch einleuchtender und anschaulicher begründet wurde.

VII.

Abstammung und Entstehung der rothen Blutzelle.

(Aus dem Pathologischen Institut zu Berlin.)

Eine cytologisch-mikroskopische Studie
von Dr. A. Pappenheim

(Hierzu Taf. II und 2 Textabbildungen.)

Zweck der vorliegenden Untersuchung ist es nicht, einen weiteren Beitrag für unsere immer noch recht ungenügende Kenntniss von dem ersten Auftreten Hb-haltiger Zellen im Embryo, ihrem Verhältniss zu den vasoformativen Zellen, den Endothelien und Blutinseln zu liefern; trotz der bahnbrechenden Arbeiten von Uskoff¹⁴¹, Rückert¹¹⁴, Ziegler¹⁵⁶ und neuerdings von van der Stricht^{134b} und Dolschansky¹⁶ differiren die Meinungen im Einzelnen noch derart, dass fast in keinem Punkte volle Einstimmigkeit herrscht, und es wäre verfrüht, eine definitive Entscheidung treffen zu wollen.

Auch ist es nicht unsere Absicht, den längst ersehnten unanfechtbaren Beweis für die Abstammung der rothen Blutzellen aus farblosen zu erbringen; ein solcher könnte doch wohl nur darin bestehen, dass es gelänge, unter dem Mikroskop sinnfällig den Ablauf der Metamorphose zu verfolgen, beziehungsweise künstlich einzuleiten, ein Experiment, welches, so lange man die für die Umwandlung nöthigen natürlichen Bedingungen so gut wie gar nicht kennt, einstweilen noch unausführbar sein dürfte.

Unsere Aufgabe soll vielmehr bloss darin bestehen, rein morphologisch die farblosen und gefärbten Blutzellen rücksicht-

lich ihrer bei der Transformation etwa in Betracht kommenden Formbestandtheile zu beschreiben und zu vergleichen, Aehnlichkeiten und Unterschiede hervorzuheben, und so umgekehrt zu schliessen, was bei der Umbildung wohl verloren gegangen, was andererseits neugebildet sein möchte.

Die Lösung dieser Aufgabe hat zugleich den praktischen Werth, ein Kriterium zu finden, mittelst dessen es in jedem Einzelfalle möglich sein muss, mit Sicherheit festzustellen, ob gewisse blasse Zellen, was bis jetzt sehr häufig nicht möglich war, der einen oder der anderen Art zuzurechnen seien, da ein etwaiger geringer Hb-Vorrath der Beobachtung sich äusserst leicht entzieht, beziehungsweise durch Diffusion bei der Untersuchung leicht verloren geht, so dass „ursprünglich gefärbte Zellen leicht für farblose gehalten werden können“ (Bizzozero, Freiberg).

Schon letzterer Umstand, die Schwierigkeit der Unterscheidung, könnte dafür sprechen, dass ein Uebergang von farblosen zu gefärbten Zellen stattfindet, und wenn er auch nicht als strenger Beweis angesehen werden kann, so dürfte es doch immerhin als ein nicht unwichtiges Moment mehr zu Gunsten der von Bischoff⁸, Reichert, Remak, v. Kölliker, Neumann, Arnold und vor Allem von Virchow aufgestellten Lehre sprechen, dass die Hb führenden Blutzellen aus Hb freien Elementen hervorgehen, abgesehen natürlich davon, dass sie auch „von sich aus“ durch indirecte Theilung sich neubilden und vermehren können, wie solches von v. Gerlach³⁴, Remak¹¹⁰, Bizzozero, Peremeschko⁹⁸, Funke²⁹, Flemming²⁴ und Pfitzner⁹⁹, Foà und Luzet beschrieben worden ist.

Aber auch sonst sollte man von vornherein erwarten, dass die rothen Blutkörperchen von farblosen Gebilden sich ableiten lassen müssten, analog den Chloroplasten der Pflanzen, wenn man in Erwägung zieht, dass phylogenetisch bis zum Amphioxus herauf die Blutkörperchen aller Thiere durch Rundzellen des cytogenen Gewebes repräsentirt werden, also durch farblose Gebilde, die nur bei ganz wenigen Arten gelöstes Hb in ihrem Zellleib aufgespeichert haben, dabei aber im Uebrigen völlig den Habitus von Leukocyten bewahren, keineswegs den eigentlichen Erythrocyten homolog erachtet werden können, wie dieses Cuénot¹²,

Klein⁶⁰, H. F. Müller⁸⁷, Griesbach³⁹ und Knoll⁶¹ auseinandergesetzt haben.

Für einen genetischen Zusammenhang der rothen mit den weissen Blutkörperchen spricht ferner die ontogenetische Beobachtung, welche lehrt, dass sämtliche Zellen des Organismus aus den farblosen Blastomeren des Ovulum hervorgehen, sowie die experimentell-pathologische und klinische Beobachtung, dass nach Blutverlusten und intravasaler Zerstörung rother Blutkörperchen eine Incongruenz zwischen Zahl und Hb-Gehalt sich bemerkbar macht (Laache⁶⁸, Otto⁹⁶, Menicanti⁸³) derart, dass letzterer langsamer ersetzt wird, als die Zahl der rothen Blutkörperchen, d. h. dass Anfangs nur oligochrome Körperchen in der Blutbahn erscheinen, während gleichzeitig damit eine lebhafte Vermehrung von Leukocyten Hand in Hand geht (Rieder^{111a}, Nasse⁸⁹, Hünerfauth⁵³, Lyon⁷⁶, Sanfelice¹¹⁷). Nicht zum wenigsten waren es solche Thatsachen auch, welche eine ganze Reihe von Forschern, unter ihnen M. B. Schmidt¹²², veranlassten, in der Hb-Armuth schlechthin ein allgemeines Kennzeichen der Jugendlichkeit rother Blutkörperchen zu erblicken, und andere, wie Feuerstack²³, Korn⁶⁴, Eberth¹⁷, bewogen, auch für eine nicht bewiesene Umbildung der farblosen in Hb-haltige Zellen mit Entschiedenheit einzutreten.

Es ist nicht unsere Anfgabe und würde zu weit führen, die gesammte Literatur über diesen Gegenstand hier durchzugehen; dieselbe ist vollständig in den diesbezüglichen Arbeiten Wertheim's¹⁵⁰, H. F. Müller's^{87a} und Oppel's⁹⁴ enthalten. Dagegen soll kurz dasjenige erwähnt werden, was als Beleg für eine Entstehung und Bildung des Hb in farblosen Zellen beigebracht worden ist und gedeutet werden kann.

Während das von v. Recklinghausen¹⁰⁹ und Ponfick¹⁰¹ gelieferte Material heute wohl nur noch historisches Interesse beanspruchen dürfte, scheint mir eine Notiz höchst wichtig zu sein, welche ich Gad-Heymans entnehme. Hier³² findet sich Seite 458 der Passus, dass Milzzellen im Stande sind, nicht nur eine Hb-Lösung zu zerstören, was ja bei der unangefochtenen hämolytischen Function der Milz, (die nach Gabbi durch einen Zusatz von Nuclein noch gesteigert werden soll), nicht unwahrscheinlich ist, sondern dass sie auch im Stande sind, zersetzes-

Hb wieder zu restituiren und zwar in dem Maasse, dass sich auf der Höhe des Prozesses eine grössere Hb-Menge in Lösung befindet, als ursprünglich vorhanden war. (Nach Löwit und Horbaczewski bewirkt Nuclein eine Proliferation der Leukozyten auch in der Milz.) Hieraus scheint mit ziemlicher Sicherheit hervorzugehen, dass die Hb-Erzeugung gebunden ist an die Aktivität der lebenden Zelle, wobei der Zellkern wahrscheinlich eine nicht untergeordnete Rolle spielen dürfte. Specifisch differenziert zu solcher Hb-Production, scheinen aber nur die Zellen des adenoiden Gewebes, sowie laut Henle (1841) und Kölliker (1850) die gestreifte Musculatur zu sein (siehe Kühne⁶⁶ und Ray Lankester¹⁰⁸).

Auf welchen Bedingungen indess die Hämatinerzeugung des Cytoplasma beruht, ist bis heute noch in ziemliches Dunkel gehüllt. Man sagt, dass bei Polarforschern unter dem Einfluss der sonnenlosen Winternacht eine temporäre Chloranämie beobachtet würde, was bei dem Zusammenhang zwischen Blutfarbstoff und Pigment an den pigmentlosen Winterpelz arktischer Thiere, die Blauäugigkeit und blonden Haare der Nordländer, die schwarze Hautfarbe der Tropenbewohner erinnert; ferner weiss man, dass Chlorose unter dem Einfluss der Eisentherapie behoben werden kann. Ein Analogon hierzu ist, dass im Dunkeln étiolirte Pflanzen unter dem Einfluss des Sonnenlichts und von Eisensalzen wieder ergrünern.

Wir wissen aber nicht, ob die diffuse Hb-Färbung des vorher farblosen Cytoplasma rein autochthonen Ursprungs ist, d. h. auf einen plastischen oder idioplastischen blossen Reiz hin aus sich heraus erfolgt, oder ob zu der metabolischen Umwandlung des Protoplasma in Hb noch gewisses zu verarbeitendes Material von aussen her in den Zellleib aufgenommen werden muss. Während bei gewissen Anneliden das Hb als O bindendes Agens in der intercellulären „Hämolymphe“ enthalten ist, dabei aber die Blutkörperchen selbst dauernd farblos bleiben, sind gewisse Theile der Musculatur bei manchen Gastropoden Hb-haltig, obgleich im Blute dieser Thiere keine Spur von Hb enthalten ist, was für den autochthonen Ursprung des Hb sprechen würde. Nach den Untersuchungen v. Hösslin's und neuerdings Socin's¹³¹ scheinen anorganische Eisenpräparate vom Organis-

mus sicher nicht zu Hb verarbeitet werden zu können, auch Quincke's¹⁰⁶ Arbeiten lassen es bestenfalls nur als möglich erscheinen, dass das in Leber, Milz und Knochenmark deponirte Hämosiderin und Eisenalbuminat, welches theils aus der Nahrung stammt, theils vom Untergange rother Blutkörperchen herführt, zum Wiederaufbau junger rother Blutkörperchen verwendet wird. Dagegen scheinen Bunge's¹⁰ Versuche zu beweisen, dass eisenhaltige Nucleine die Vorstufen des Blutfarbstoffs sind, welche dem Organismus von aussen mit der Nahrung zugeführt werden, und zwar dem Embryo aus dem Dotter, beim Vogelei als Hämatogen, beim Karpfenrogen als Ichthulin, dem Säugling mit der Milch, dem Erwachsenen durch verschiedenste derartige animalische und vegetabilische Nahrung bestandtheile, die alle in der Leber zu Hepatin verarbeitet werden, um von dort nach Bedarf in die hämatopoetischen Organe zu wandern, wo sie von den betreffenden Zellen wahrscheinlich unter der regulirenden Directive des Kerns in die Protoplasmamolekel aufgenommen und zu Hb assimiliert werden.

Eine farblose Vorstufe, ein Chromogen des Hb ist nicht bekannt, welches etwa unter dem Einfluss des Lichts oder der Oxydation farbiges Aussehen gewönne, wie z. B. beim Indigo, dem Purpur u. a.

Es fehlt aber auch nicht an Beobachtungen, welche die Entstehung des Hb auf einen idiotypischen Einfluss des eigenen Kerns der Zelle zurückführen lassen, beziehungsweise sogar auf morphologische und chemische Bestandtheile des Zellkerns. Letztere Auffassung hat durchaus nichts Unwahrscheinliches, seitdem Schneider¹²³, Zaleski¹⁵³ und Macallum⁷⁷ im Kernnuclein einen Gehalt von Eisen nachgewiesen haben, so dass allerdings im Zellkern selbst gewisse Vorbedingungen zur Hb-Production von innen heraus präformirt zu sein scheinen.

Giglio-Tos⁸⁶ lässt gewisse Granula in jungen rothen Blutzellen, welche Ranzier¹⁰⁷ (p. 218) als Dotterkörnchen beschrieben hatte, und deren auch schon bei Tarchanoff¹³⁶ Erwähnung gethan wird, aus „Erythrocytin“ bestehen und nimmt mit Cuénod¹² an, dass sie seien „granuli emoglobini, produttori dell' emoglobina“, „che essi provenissero dal nucleo“. „La faculta di produire emoglobina rissiede primitivamente nel

nucleo.“ Es liegt nahe, bei dieser Deutung an die Lehre von de Vries von der intracellulären Pangenese zu denken und die Erythrocytingranula in Beziehung zu bringen mit den Nägeli-Hertwig'schen Idioblasten, welche aus dem Kern in das Cytoplasma auswandern, „um hier ihr Wachsthum und ihre Vermehrung in einer der Function entsprechenden Weise fortzusetzen“.

Wie der Kern nach Trambusti¹³⁸ in gewissem Sinne die Secretion der Drüsenzellen, bezw. die Umbildung des Cytoplasma zu Secret beeinflusst, ebenso scheinen nun auch Beziehungen zwischen Kernnuclein und Hb-Bildung zu bestehen, die M. B. Schmidt¹²² ungefähr so formulirt, dass je älter die Zellen werden, desto grösser ihr Hb-Gehalt, desto kleiner ihr Kern und desto plumper und stärker färbbar sein Chromatingerüst wird*).

Indess muss man doch annehmen, dass nur das Nuclein derjenigen Zellen, welche durch Anpassung und Differenzirung die Function der Hb-Bildung erworben haben, diese Production in wirklich zweckentsprechender Weise ausführt; auch das Nuclein der Leberzellen ist eisenhaltig, aber die Leberzellen haben im Gegentheil hämolytische Eigenschaften und das in ihnen bisweilen in der Umgebung des Kerns entstehende amorphe eisenhaltige Pigment der braunen Atrophie ist jedenfalls nicht Hb. Nach Mares¹⁵⁸ bestehen in den Nucleinen sämmtlicher Kerne Beziehungen seitens der Nucleinbasen zum Xanthin und der Harnsäure; dieselben sind aber im Leukonuclein nach Horbaczewski⁵⁰ und Weintraud¹⁴⁷ ganz besonderer Art, und wirklich hat Kossel gezeigt, dass dasselbe nur Adenin, und daneben als specifische Spaltungsprodukte Thymin und Cytosin enthält. Horbaczewski (a. a. O.) zeigte nun, dass die an Kernnuclein ganz besonders reichen adenoiden Organe am leichtesten und meisten Harnsäure durch oxydative Zerfall bilden, speciell waren isolirte Milzzellen im Stande, Xanthinbasen in Harnsäure überzuführen, womit übereinstimmt, dass bei der

*) Da mit der Pyknose, also der Zunahme des Basichromatins, auch eine Abnahme des Karyolinins Hand in Hand geht, könnte es allerdings nahe liegen, auch nach dieser Richtung hin an eine Wechselwirkung zwischen Kern und Cytoplasma, Verlust von Bestandtheilen dort, Zunahme von Hb hier zu denken (s. Verhornung).

Leukämie, wo besonders viel Leukocyten zu Grunde gehen, nach Scherer¹²⁰, Stadthagen¹³³, Kolisch und Stejskal⁸⁵ die Xanthinbasen und Harnsäure in Blut und Urin vermehrt sind, und dass, während Harnsäure selbst nach Löwit Leukocytose verursacht, durch Chinin, welches die Lebenstätigkeit und Proliferation der Leukocyten hemmt, die Harnsäureausscheidung vermindert wird.

Während nun im Kernnuclein P sicher nachgewiesen ist, gilt für gewöhnlich das Hb für P-frei. Zwar konnten Hoppe-Seyler⁴⁹ und Jaquet⁵⁵ in den aus Vogelblut dargestellten Blutkristalle P nachweisen, indess erscheint es nach Inoko⁵⁶ sicher, dass dieser P-Gehalt nur der durch Kochsalz aus den Kernen ausgelaugten Nucleinsäure zukommt, welche sich dem Blutfarbstoff beimischt; im Farbstoff der kernlosen Blutscheiben des Rindsbluts konnte Plosz¹⁰⁰ wenigstens kein P nachweisen, und wenn Kober^{62a} (S. 473) sagt, dass bei der Hämoglobinämie durch Erythrocytolyse kernloser Scheiben in Folge des Uebergangs des Oxyhämoglobins in den gelösten Zustand Phosphorsäure und Glycerinphosphorsäure frei werde, so können diese ganz gut aus dem Lecithin des Stromata herstammen. Daraus würde folgen, dass nicht die ganze Nucleinmolekel zur etwaigen Bildung des Hb verwandt wird.

Wie es ferner unwahrscheinlich ist, dass noch in kernlosen Blutscheiben derartige plastische Prozesse, wie Zunahme des Hb, stattfinden, und die Unterschiede verschieden starker Färbung der Scheiben wahrscheinlich anders zu erklären sein dürften, so wird auch durch den Vorgang der Entkernung selbst nur eine relative Zunahme des Hb in Folge gleichzeitigen Verlustes protoplasmatischer Bestandtheile veranlasst, keineswegs aber eine absolute Zunahme, zumal eine eigentliche „Kernresorption“ gar nicht stattfindet, da ja das Nuclein bei der Karyolyse „hinausgelaugt“ wird. Auch die polychromatophile Degeneration ist nicht mit Troje¹⁶¹ auf Kernresorption zurückzuführen, geht also auch schon deshalb nicht mit Hb-Zunahme, sondern vielmehr Hb-Abnahme Hand in Hand, ganz abgesehen davon, dass sie sich auch bei kernlosen Erythrocytoden noch einstellt.

Inwieweit die Granula von Giglio-Tos identisch sind mit den oxyphilen Körnchen in den Uebergangszellen von

Semmer¹²⁰, A. Schmidt-Semmer¹²¹ und Erb²², lässt sich nicht mit Bestimmtheit feststellen; keineswegs wohl aber dürften sie in Beziehung zu stehen zu den fuchsinophilen Körnchen von Russel, Prus, Galeotti und Altmann (s. auch Klien, Touton, Seifert, L. und R. Zoja), sowie zu den von Arnold² in rothen Blutzellen beschriebenen Granulis. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass letztere erst durch die Behandlung mit den angewandten Reagentien hervortreten, ebenso wie die von Knoll^{61a} auf Taf. I als Fig. 38 abgebildete vacuolisirte Zelle durch Auslaugung von Hb*) entstanden scheint, wodurch aber jedenfalls der Rückschluss gestattet ist, dass auch die Sarkode der rothen Blutzelle ursprünglich dem Waldeyer'schen Schema entsprechenden „granulären“ Bau hatte. Schliesslich ist noch eine letzte Art Körnchen von Israel und Pappenheim⁵⁷ an rothen Blutzellen und Scheiben beschrieben worden, deren Bedeutung noch nicht feststeht, die aber jüngst von Horsley⁵¹ wieder aufgefunden zu sein scheint.

Es sind also diejenigen Zellen, die, mit Ausnahme der gestreiften Musculatur, zur Hervorbringung des Hb besonders befähigt sind, farblose runde Mesenchymzellen von „lymphoidem“ Charakter, welche das sogenannte adenoide, cytogene oder reticuläre Bindegewebe und das Granulationsgewebe bilden, beziehungsweise in demselben gebildet werden; und während man mit diesen Gewebsarten, ähnlich wie mit dem embryonalen Schleimgewebe, die Vorstellung von etwas Jugendlichem, Unfertigem, histogenetisch tiefer Stehendem zu verbinden pflegt, — sind sie doch im Stande, sich unter Umständen metaplastisch in verschiedenster Richtung zu eigentlichem Bindegewebe, Fettgewebe, Knochengewebe u. s. w. zu differenziren, — ebenso pflegt man in der einzelnen „Wanderzelle“ ein noch nicht differenziertes Gebilde zu sehen, welches zur Verrichtung der allerverschiedensten Functionen für den Gesamtorganismus befähigt ist; ich erinnere bloss an Chemotaxis und Phagocyten, die Production der baktericiden Alexine, die histolytische und peptonisirende Eigenschaft der Eiterzelle, die Mitwirkung bei der Blutgerinnung u. s. w.

Dieselben farblosen mesenchymatischen Rundzellen sind es

*) s. hier auch Mosso: Rendiconti della R. Accad. d. Lincei. IV. fasc. 8, 9, 12. 1888.

nun auch, welche stellenweise im Organismus die Fähigkeit erlangt haben sollen, auf einen bestimmten plastischen Reiz hin, mit der Production von Hb und der Umbildung in rothe Blutzellen zu reagiren.

Eine Umbildung von farblosen, kernlosen Blutplättchen zu kernlosen gefärbten Mikrocytoden, wie dies Hayem und Ponchet, Gobuleff und Schklaresky annehmen, und ein Heranwachsen letzterer zu normalen Blutscheiben, wie Eisenlohr²⁰ und Eichhorst¹⁸ wollen, ist bis jetzt einwandsfrei wohl nicht bewiesen; dagegen kommt bei Amphibien eine Entstehung rother Blutzellen aus den farblosen „Spindelzellen“ nach Marquis⁸⁰ vor, was indess kaum als etwas besonderes Eigenthümliches hervorgehoben zu werden verdient, da nach Neumann's und auch meinen Erfahrungen besagte Spindelzellen höchstens eine Varietät oder Abart, wahrscheinlich nur ein vorübergehendes Ruhestadium lymphoider Rundzellen darstellen, keineswegs aber den Blutplättchen homolog oder auch nur analog gelten können. Es scheint überhaupt bis jetzt die embryonale und postembryonale Hämatogenese und Blutregeneration bei allen Wirbeltieren nach einheitlichem Modus zu verlaufen, denn auch die Lehre von der endogenen Blutscheibenbildung, wie sie Schäfer, Ravier, Leboucq, Kuborn und Minot aufgestellt, Stricker-Carmalt¹³⁵ und Nicolaides⁹² zu bestätigen versucht, schliesslich Bayerl⁶, Heitzmann⁴⁵, auch Schöney¹²⁴ und Spina in Misskredit gebracht haben, dürfte seit der Untersuchung Spuler's über diesen Gegenstand kaum noch mit Ueberzeugung irgendwo vertreten werden können.

Wir finden nun, dass die Metamorphose, oder wenn man will Metaplasie der farblosen lymphoiden Zellen zu gefärbten Blutzellen in den verschiedenen Entwickelungsabschnitten des Organismus an verschiedene Oertlichkeiten geknüpft ist. Das erste Auftreten rothen Blutes wird bekanntlich in den multipel zerstreuten Blutinseln beobachtet, später konnte Sacher¹¹⁸ die Entstehung rother Blutzellen überall im subcutanen embryonalen Bindegewebe aus seinen „primären Wanderzellen“ constatiren, schliesslich sind es aber abgeschlossene Organe aus grossen Anhäufungen lymphoider Rundzellen bestehend, welche mit der Hb-Bildung betraut sind, die Anfangs auch in der Circulation,

in die sie etwa gerathen sind, später nur noch in den betreffenden lymphoiden Organen von den dazu bestimmten Zellen ausgeübt wird.

Zu diesen hämatopoetischen Organen gehört nach den Beobachtungen Bizzozero's und Neumann's die Milz; später wird diese nach Neumann vom Knochenmark abgelöst, welches dann auch im postembryonalen Leben unter physiologischen Verhältnissen als alleinige oder wenigstens hauptsächlichste Brutstätte rother Blutzellen zu fungiren scheint. Ausnahmen bilden nur die Fische, speciell auch Knochenfische, bei denen adenoides Gewebe der Nieren die Hämatopoesis versieht, und die Schwanzlurche, bei denen nach Bizzozero, Eberth und Aly (Halle 1884) auch postembryonal die Milz dauernd rothe Blutzellen liefert.

Im Allgemeinen ist es mir nie gelungen, zwischen den zu verschiedenen Zeiten gebildeten und aus verschiedenen Orten stammenden rothen Blutzellen ein und desselben Thieres irgend einen durchgreifenden morphologischen Unterschied zu finden, es sei denn, dass die embryonal gebildeten Zellen sich von denen postembryonaler Herkunft durch relativ mächtiger ausgewachsenes Cytoplasma und relativ kleinere Kerne unterscheiden (Taf. I, Fig. 7, 39, 66, 68, alles alte Zellen) bei im Ganzen absolut grösseren Zellen, was gewissermaassen als eine Art von Compensation aufzufassen ist, da das embryonale Blut weniger rothe Blutzellen hat, als das postembryonale; ebenso führen die einzelnen embryonalen Zellen viel mehr Hb als für gewöhnlich die postembryonalen. Ursache dieses verschiedenen Verhaltens scheint zu sein, dass im embryonalen Leben der Ersatz rothen Blutes und die Neubildung rother Zellen mittelst Karyokinese überwiegt, woher es denn kommt, dass auch bereits ziemlich Hb-reiche Zellen sich immer noch theilen und mit fortschreitender Alterung noch mehr Hb erwerben, dagegen überwiegt postembryonal der Modus der Regeneration aus farblosen Zellen; dies hängt wieder damit zusammen, dass postembryonal die einzelnen Blutzellen statt sich durch Theilung zu verjüngen, rasch- und kurzlebiger sind, schneller altern und dann entkernt werden, wogegen die Blutzelle des embryonalen Bluts eine längere Lebenszeit hat; sie theilt sich nicht nur häufig, sondern die einzelne

Zelle wächst stärker aus, woher sich der umfangreichere Zellleib erklärt. So kommt es, dass zwar zwischen den Blutzellen verschiedener Herkunft (Milz, Mark) keine wesentlichen Differenzen bestehen, wohl aber bestehen gewisse constante Auffälligkeiten zwischen embryonalen und postembryonalen Zellen z. B. der Milz; es sind aber ihrerseits wieder die embryonalen Blutzellen verschiedener Thiere und verschiedenen Ursprungs im Grossen und Ganzen völlig gleich und andererseits auch die postembryonalen Blutzellen verwandter Thierklassen, sei es, dass sie aus der Milz oder dem Knochenmark stammen.

Aus dem gegenseitigen Sichablösen der einzelnen hämatopoetischen Organe, Milz, Knochenmark u. s. w., folgt, dass die von einzelnen lymphoiden Zellen erworbene Fähigkeit der Hb-Bildung nicht dauernd durch Vererbung erhalten wird sondern bei einem bestimmten Punkte sistirt, womit auch die Erythropoese des Gesamtorgans brach gelegt ist [und nun dafür in Erytholyse (siehe Nasse 1891) übergeht], vergleichbar mit einer Art von Inaktivitätsatrophie, so zwar, dass die Inanspruchnahme des einen Organs mehr und mehr entlastet wird durch die zunehmende Proliferation in dem vicariirenden; demnach wäre das Eingreifen des folgenden Organs die Ursache für die Arbeits-einstellung des vorangegangenen, nicht die Folge derselben. Denn das Vermögen der Hb-Erzeugung ist in dem zur Ruhe gesetzten Organ ja nicht völlig erloschen, so dass es durch ein neues Organ nothwendig ersetzt werden müsste, sondern diese Potenz schlummert nur und kann experimentell oder unter pathologischen Bedingungen durch Vermehrung der blutbildenden Reize u. s. w. zu neuem Leben erweckt werden. Diese schon früher für die Milz von Bizzozero und seiner Schule aufgestellte Lehre, scheint neuerdings durch Arbeiten von Vulpius¹⁴⁵, Luzet⁷⁵, Lagesse⁶⁹, Korn^{64a}, Freyer²⁸, Wino-gradow¹⁵¹, Grigorescu¹⁵⁹, Tschistowitsch¹³⁹, ferner Krebsbach (Inaug.-Diss. Bonn 1889) Tizzoni und Griffini, M. B. Schmidt¹²² und Bannwarth⁴, Gabbi³⁰ und Zenoni¹⁵⁵, vor Allem von Laudenbach⁷¹ und Eliasberg²¹ durchaus bewiesen zu sein. Ein Gleiches soll auch für die Lymphdrüsen gelten. Schon Foà und Salvioli hatten sie als Bildner rother Blutzellen im embryonalen Leben in Anspruch genommen, was neuerdings

von Säxer¹¹⁸ ebenfalls vertreten wird; dass sie aber auch postembryonal unter Umständen erythropoetisch functioniren können, wird von Gibson³⁵, Löwit⁷⁴ und neuerdings Grünberg⁴⁰ gezeigt.

Wir sehen also, dass, abgesehen von der gestreiften Musculatur, die Hb-Erzeugung überall, mit Ausnahme wohl der Thymus, wo sie von Schaffer¹¹⁹ und v. Braunschweig⁹ nicht nachgewiesen werden konnte, an das lymphoide Mesenchymgewebe geknüpft erscheint. Eine weitere Ausnahme scheint die Leber zu machen, insofern als hier die Hb-Erzeugung von einem parenchymatös drüsigen Organ entodermalen Ursprungs ausgeübt wird. Denn seitdem Weber¹⁴⁶, v. Kölliker, Neumann und Remak ihre Bedeutung für die embryonale Blutbildung erkannt, ist dieselbe von vielen Nachuntersuchern bestätigt worden. Während aber van der Stricht¹³⁴ und mit ihm v. Kostanecki⁶⁵ den Standpunkt vertreten, dass in der Leber eine Neubildung aus farblosen Zellen nicht stattfindet, sondern die rothen Blutzellen nur in Folge der langsamem Circulation dort in grosser Masse sich anhäufen und somit günstige Gelegenheit zur Theilung finden, vertreten Howell⁵² und Kuborn eine Neubildung innerhalb von Leberendothelien, die nach letzterem Forscher vasoformative Riesenzellen sind, M. B. Schmidt¹²² eine solche durch Karyokinese von Leberendothelien. Nach Säxer (a. a. O.) entstehen rothe Blutzellen in der Leber aus hier eingewanderten primären Wanderzellen.

Ich habe bei meinen Untersuchungen an Abstrichen von der embryonalen Rattenleber Zellen gefunden, welche sich eigentlich in nichts von den lymphoiden Plasmazellen des Knochenmarks, der Milz, der Lymphdrüsen und Thymus unterschieden (Fig. 22, 28, 52, 53, 55, 56, 59, 60, 70) und welche ich nicht anstehe, in Beziehung zur Erythrocytenbildung in der Leber zu setzen, ohne damit etwas Bindendes über ihre Bedeutung im organischen Gefüge des Leberbaues aussagen zu wollen, was sich ja bei der angewandten isolirenden Methode von selbst verbietet.

Auch die oben erwähnten Riesenzellen werden nur von vereinzelten Forschern in Beziehung zur Erythrocytenbildung gebracht, so dass durch sie ebenfalls die Einheitlichkeit im Bildungsmodus rother Blutzellen noch nicht erschüttert erscheint.

In der Leber waren sie wohl zuerst von Kölliker beschrieben und Kuborn nimmt nun an, indem er der be-

kannten Lehre von Malassez folgt, dass die einzelnen, durch Sprossung von einem ursprünglichen Hauptkern entstandenen Kerne ihre Einflusssphäre auf die ihnen benachbarten Territorien des Cytoplasma ausdehnen, ähnlich wie Merocytē bei der superficiellen Furchung centrolecithaler Eier, und schliesslich sich zu neuen einzelnen Zellen abschnüren, aus denen, immer noch intracellular in der ursprünglichen Riesen-Mutterzelle, rothe Blutzellen werden. Etwas Aehnliches sagt nur noch Foà²⁵ von seinen „Blastoblasten“ des Knochenmarks, die mit gewissen, von Bizzozero beschriebenen Riesenzellen identisch sind, nehmlich dass sie einen gelappten Kern haben, dessen Sprossen sich mit einer gewissen Menge gekörnten Cytoplasmas abschnüren und später zu gefärbten Blutzellen werden. Eben diese Myelopläques (Osteoklasten?) aber sind nach Sanfelice¹¹⁷ auch nur ehemalige lymphoide Markzellen, die durch Verschmelzung Syncytiēn gebildet haben und nun in Rückbildung begriffen sind; Freiberg²⁷ sieht in ihnen Phagocyten, und nach Sixer (a. a. O.) zerfallen sie wieder in die primären lymphoiden Wanderzellen, aus denen sie hervorgegangen sind, dienen also nur indirect etwaiger Erythrocytenbildung. Nach Eliasberg²¹ zerfallen sie in der Milz, wo Peremeschko sie zuerst gesehen hatte, ohne je mit der Hb-Bildung etwas zu thun gehabt zu haben.

Wie wir aus Vorstehendem bis jetzt ersehen, nehmen fast alle zuletzt erwähnten Forscher, welche sich mit diesem Gegenstande beschäftigt haben, farblose lymphoide Zellen als Vorstufen der Erythrocyten an. Einzig Bizzozero verharrt auf absolut ablehnendem Standpunkt, indem er bestreitet, dass farblose Zellen je durch Aufnahme von Hb zu rothen Blutzellen werden und behauptet, dass letztere vielmehr überall und von Anbeginn an stets nur von ihresgleichen abstammen.

Von neueren Forschern sind es Mayet⁸¹, van der Stricht¹³⁴ und Freiberg²⁷, die es unentschieden lassen, ob ein ursprünglicher Zusammenhang zwischen Hb-freien und Hb-führenden Elementen bestand, aber doch mehr zu der Ansicht Bizzozero's hinzuneigen scheinen.

Aber auch die übrigen Forscher, die ursprünglich Hb-freie Vorstufen als Mutterzellen rother Blutzellen annehmen, sind in zwei Lager gespalten. Zu der einen Partei gehören Dénys¹⁴,

Cuénot und Gulland⁴¹, sowie Dolschansky¹⁶, Sixer¹¹⁸ und Löwit^{74, 74a}. Diese Autoren lassen zwar lymphoide, farblose Stammformen rother Blutzellen zu, trennen aber von ihnen streng die eigentlichen weissen Blutkörperchen, von denen ein directer Uebergang zu rothen nie stattfinden soll. Im Einzelnen gestalten sich die Ansichten folgendermaassen.

Nach Dolschansky (a. a. O.) werden in der ersten Zeit des embryonalen Lebens farblose Metrocyten gebildet, welche die indifferenten Mutterzellen aller zelligen Elemente des Blutes sind; sie differenziren sich entweder zu farblosen „Erythroblasten“ oder farblosen „Leukoblasten“, aus denen dann durch mitotische Theilung rothe und weisse Blutzellen hervorgehen, welche nun nicht mehr in einander übergehen.

Nach Sixer (a. a. O.) ist die primäre Wanderzelle die Urform aller morphotischen Bestandtheile des Blutes; aus ihr differenziert sich durch Mitose die weisse oder die rothe Blutzelle. Löwit (a. a. O.) endlich, das Haupt der Partei, hat die Charaktere der zwei principiell verschiedenen Arten farbloser Vorstufen genau festgelegt. Die Unterschiede sollen in Kernstruktur und Theilungsmodus bestehen. Die „Leukoblasten“ sollen einen relativ grossen Kern haben, dessen Chromatin in klumpigen Granulis angeordnet ist, so dass von einem Centrum zur Kernmembran ungleich dicke Fäden ziehen, die unter einander durch feine, parallel zur Kernwand verlaufende Brücken verbunden sind; diese „Leukoblasten“ theilen sich nur direct. Die „Erythroblasten“, welche sich nur indirect theilen sollen, haben in ihrem farblosen Leib ebenso gebaute Kerne wie die rothen Blutzellen, nehmlich ein aus feinen Fäden bestehendes Netz ohne circumscriptive Chromatinanhäufung im Centrum.

Nun aber konnten andere Forscher, wie Bannwarth⁴, bei farblosen einkernigen Rundzellen absolut keine derart extrem conträren Unterschiede der Kernstruktur auffinden, und vor Allem wiesen eine ganze Reihe von Forschern gerade bei weissen Blutzellen ebenfalls indirecte Theilung nach, wie Dénys selber, ferner Bizzozero, Hayem, Arnold, ferner Ranvier, Stricker und Klein^{60a}, vor Allem Peremeschko^{98, 98a}, Flemming^{24a}, Spronck¹³², sowie Prus¹⁰⁴, Lawdowsky⁷², Kultschitzky⁶⁷, Deckhuyzen¹³, schliesslich Wertheim und H. F. Müller.

Indem so einer Eintheilung der farblosen Zellen in Leukoblasten und Erythroblasten jede Basis entzogen ist, scheint eigentlich wohl auch die ganze Lehre Löwit's zu Falle gebracht und unhaltbar; dazu kommt, dass ich bei meinen Untersuchungen bei kernhaltigen rothen Blutzellen ähnliche Kerndifferenzen auffinden konnte wie Löwit bei farblosen Rundzellen (Fig. 6, 17, 62, 64, 72, 74 einerseits, 5, 35, 64, 65, 73 andererseits), welche indess keine fundamentalen Gegensätze in sich begreifen, sondern durch Uebergänge mit einander verknüpft sind und daher auch nicht zu Artunterschieden innerhalb der rothen Blutzellen Veranlassung geben, sondern vielmehr wohl nur auf verschiedenen physiologischen Zuständen der funktionellen oder nutritiv-formativen Zellthätigkeit, speciell vielleicht auf Erscheinungsformen des cytogenetischen Alterns beruht. Ob nicht vielleicht der Vorwurf, den Bizzozero gegen Dénys erhebt, auch Löwit zu machen ist, nehmlich, dass er ursprünglich Hb führende Zellen vor sich gehabt, deren Farbstoff durch unzweckmässige Behandlung ausgelaugt ist? (s. u. S. 129)*).

Die Forscher, die farblose Vorstufe der Erythrocyten mit gewissen weissen Blutkörperchen ausdrücklich gleich setzen, sind hauptsächlich Obrastzow, Howell, Wertheim¹⁵⁰ und H. F. Müller^{37a}, welch' letztere Zwei präcise die rothen Blutzellen aus den sogenannten kleinen Lymphocyten hervorgehen lassen, welche ihrerseits wieder irgendwie von den „grossen Lymphocyten“ abstammen sollen.

Bevor wir weiter gehen, wird es nöthig sein, diesen farblosen mesenchymatischen Rundzellen und weissen Blutkörperchen einen Augenblick näherer Betrachtung zu widmen, um uns darüber zu verständigen, welche von ihnen als Stammformen rother Blutzellen in Betracht kommen.

*) Nach den Abbildungen zu der jüngst erschienenen Arbeit Justi's (dieses Archiv. Bd. 150) führen diejenigen farblosen Rundzellen des Granulationsgewebes, welche sich zu Fibroblasten differenzirt haben, ähnliche sternförmige Kerngerüste wie die rothen Blutzellen, so dass auch hier die Ordnung des Chromatins mit der Differenzirung zusammenzuhängen scheint (s. u. S. 150). Ueber Unterschiede von Leukozyten und von durch Proliferation fixer mesenchymatischer Stromazellen entstandenen Wanderzellen siehe Buddee (dieses Archiv. Bd. 147) und Goecke (Ziegler's Beitr. Bd. XX).

Bekanntlich unterschied man je nach ihrem vorwiegenden Vorkommen in Lymph- oder Blutgefässen, also ihrem Circulationsrayon, Lymphkörperchen und farblose Blutkörperchen; erstere sollten bei hyalinem Zellleib einen runden, relativ grossen Kern mit einem oder mehreren Kernkörperchen besitzen, letztere unregelmässig contourirte, bezw. mehrere einzelne Kerne ohne Kernkörperchen in granulirtem Zellleib. Man nahm an, dass Ort und Sitz der Bereitung von „Lymphocyten“ in die in das Lymphgefäßsystem eingeschalteten Lymphdrüsen und lymphatischen Apparate zu verlegen sei, während die „Leukocyten“ aus den das Blut metakerastisch beeinflussenden Organen, wie Milz und Knochenmark, hervorgehen sollten. Virchow¹⁴⁴ sprach wohl als erster aus, dass diametrale Gegensätzlichkeiten zwischen Lymphocyten und Leukocyten nicht bestehen, sondern das letztere durch Alterung aus ersteren entstehen, hatte man doch auch in Milz und Knochenmark einkernige und vor Allem in dem Keimzentren der Lymphfollicularstränge vielkernige Rundzellen nachgewiesen, die kaum aus der Circulation hier eingeschwemmt sein dürften, so dass zugleich hiermit auch die Annahme als widerlegt gelten muss, als ob das Altern zu vielkernigen Formen nur im Blut, bezw. der Circulation vor sich gehen könne. Der Anschauung Virchow's schlossen sich die meisten Forscher an, Erb, Hayem, Löwit auf Grund von Beobachtungen über Form und Grösse der in Rede stehenden Zellen, Klein, Biondi, Rawitz auf Grund von Betrachtungen über die betreffenden Zellkerne.

Seitdem sollte man nicht mehr unterscheiden, was allerdings doch A. Fränkel auch heute noch thut, Lymphocyten im alten Sinne Sherrington's von Leukocyten, sondern man sollte nur von uninucleären und multinucleären farblosen Rundzellen sprechen, die je nach ihrer Herkunft Lymphocyten im eigentlichen Sinne, Thymocyten, Splenocyten (Pulpazellen) oder Myelocyten sein können.

Das Auftreten mehrerer einzelner Kerne in den farblosen Rundzellen pflegte man allgemein seit Erb auf Fragmentation zurückzuführen, indess glauben wir nicht mit Ranzier, Stricker, Dénys, Arnold, Biondi⁷ und Metschnikoff⁸⁴, dass es das Resultat einer progressiven Amitose darstellt, auch nicht mit Löwit und Nikiforoff⁹³, dass in ihm eine Erscheinung der

Degeneration zu sehen sei, sind es doch gerade die multinucleären Leukocyten, welche zu den wichtigsten Functionen ausersehen scheinen, auch M. Heidenhain's⁴³ Auffassung, dass es eine Folge der amöboiden Zellbewegung sei, erscheint uns unwahrscheinlich; sondern wir sind mit Klein^{60b}, Krüger¹⁶⁰, Schmidt, Rawitz, Einhorn und Ehrlich der Ansicht (siehe van der Stricht^{134a}), dass die Vielkernigkeit einfach eine Folge des Wachsthums, also des Alterns der uninucleären Zellen sei. Diese Vielkernigkeit, die von Pfitzner überhaupt geleugnet wird, entsteht nun so, dass der runde Kern entweder der Lochkernbildung und Zertheilung von innen heraus verfällt, oder aber sich von aussen her dudelsack- oder hufeisenförmig einbuchtet, kleeblattförmig polymerisirt wird und schliesslich in einzelne Fragmente zerfällt. Wir sehen demnach, dass die Vielkernigkeit nur das letzte Stadium einer Entwickelungsphase darstellt, welche bereits durch die Einbuchtung des ursprünglich runden Kerns eingeleitet wird. Da nun aber die einkernigen rothen Blutzellen selbstverständlich bei der runden Contourirung ihrer Kerne nicht aus schon durch Alterung irgendwie differenzierten, sondern nur aus den unentwickelten jungen einkernigen Myelocyten, Splenocytes u. s. w. mit noch nicht eingebuchtem Kern entstehen können, so empfiehlt es sich, statt von uninucleären und multinucleären Myelocyten u. s. w. zu sprechen, lieber einen mehr natürlichen gewissen Gegensatz zwischen rundkernigen und polymorphkernigen Myelocyten u. s. w. aufrecht zu erhalten (siehe Marquévitch⁷⁹), wobei letztere, sowohl die einkernigen „Uebergangsformen“ wie die vielkernigen Endformen des Fragmentirungsprozesses, als ältere Gebilde den jungen ein- und zugleich rundkernigen gegenüberstehen.

Somit sind die jungen rundkernigen Myelocyten u. s. w. die eigentlichen „Hämatoblasten“ und zwar sowohl „Erythroblasten“, wie „Leukoblasten“ in Personalunion, indem sie entweder durch nähre Formveränderung und Polymorphose des Kerns zu alten Myelocyten u. s. w. altern, oder aber in Folge irgend welcher Ursache sich auf näher zu untersuchende Weise (Veränderungen im Cytoplasma und Kern) zu jungen Erythrocyten differenzieren, welche ihrerseits durch innere Strukturveränderung des Kerns, Pyknose, zu alten Erythrocyten werden. Feuerstack, Timofe-

jewsky und Freiberg hatten rothe Zellen mit grossem Kern und schmalem Zellleib von solchen mit kleinem verdichteten Kern und grossem Plasmaleib unterschieden, M. B. Schmidt, Minot und Säxer aber erkannten, dass dieselben in einem cytogenetischen Verhältniss zu einander stehen, indem letztere aus ersteren durch Alterung hervorgehen.

Schon früher hatte man in der Lymphe, im Blute und den Lymphdrüsen kleine, junge, rundkernige Lymphocyten mit relativ grossem Kern von „grossen Lymphocyten“ mit relativ breiterem Zellleib unterscheiden gelernt, von denen A. Fränkel²⁶ mit Einhorn¹⁹ und Zenoni^{155a} annimmt, dass sie aus den kleinen durch Alterung heranwachsen. Neuerdings ist es hauptsächlich das Verdienst von Arnold, Löwit und H. F. Müller auch in Milz und Knochenmark kleine und grosse „Lymphocyten“, kleine und grosse rundkernige Splenocytes und Myelocytes nachgewiesen zu haben, die nach H. F. Müller in derartiger Beziehung zu einander stehen sollen, dass die kleinen aus den grossen, welche demnach etwa dem Metrocyten Dolschansky's entsprechen würden, durch Mitose entstehen, ähnlich wie die Spermatocytes aus den Spermatogonien durch Reductions- oder Aequationstheilung; die kleinen, jungen, rundkernigen „Lymphocyten“, speciell die Myelocytes des postembryonalen Lebens, sollen sich dann entweder zu jungen rothen Blutzellen des „normoblastischen“ Typus differenziren, oder zu polymorphkernigen Myelocytes altern.

Während aber bisher nur grosse und kleine „Lymphocyten“, d. h. rundkernige, junge Lymphocyten, Myelocytes u. s. w. einer grösseren und kleineren Art unterschieden wurden, ist es mir nun gelungen, in allen lymphoiden Organen, ausser den bekannten alten polymorphkernigen Rundzellen der kleineren Art, auch alte polymorphkernige Rundzellen der grösseren Art aufzufinden (Fig. 14, 15, 29, 30, 31, 46, 57). Wir haben demnach, ebenso wie ich dies früher bei Amphibien nachgewiesen habe, auch bei Säugethieren zwei vollständige Reihen von mesenchymatischen Rundzellen auseinander zu halten, die jederzeit leicht und mit Sicherheit zu unterscheiden sind, zwar nicht an der absoluten Grösse von Kern und Sarcode, die durchaus individuellen Schwankungen unterworfen sind, — es gibt „kleine“

junge Myelocyten, die äusserlich dieselben Grössenverhältnisse wie „gross“ aufweisen (Fig. 2 und 13) und „gross“ alte Thymocyten von denselben Maassproportionen wie entsprechende kleine Formen (Fig. 57 und 54) — wohl aber an ihren Kerncharakteren, welche, wie wir sehen werden, von der Natur der Chromatinmikrosomen abhängig gedacht werden müssen; d. h. wenn Rundzellen dieselben Kerncharaktere aufweisen, wie sie die Mehrzahl der „grossen“ oder je nachdem der „kleinen“ Myelocyten u. s. w., darbieten, dann gehören sie in dieselbe Art, auch wenn die äusserlichen Dimensionen nicht übereinstimmen (Fig. 1 und 2), und umgekehrt sind zwei äusserlich gleich grosse Rundzellen verschieden zu klassificiren, wenn sie in den wesentlichen Kernmerkmalen von einander abweichen (Fig. 1 und 12). Wir haben also in beiden Arten von Rundzellen, sowohl der „amblychromatischen“ wie „trachychromatischen“ — ich nannte sie früher so, weil der Name kein Präjudiz über die äussere Grösse in sich schliesst — junge, rundkernige von alten polymorphkernigen Formen zu unterscheiden (Fig. 22, 24, 28, 29); in beiden Reihen geht also die Alterung in der gleichen, oben beschriebenen Weise vor sich, gehen die jungen Zellen in die polymorphkernigen über. Ob aber die „amblychromatische“ Art, wie H. F. Müller a. a. O. dies annimmt, karyokinetisch in die „trachychromatische“ übergeht, darüber habe ich keine auskunftgebenden Uebergangsbefunde zu beobachten Gelegenheit gehabt, vielmehr stets die Artmerkmale constant befunden; es stimmt demnach auch nicht, zu sagen, dass, je kleiner oder gar älter die Zellen werden, desto näher kommend dem trachychromatischen Charakter ihre Kerne werden müssen, und umgekehrt. Sowohl aus diesem Grunde, wie aus den obigen für uns gültigen Darlegungen über den Alterungsmodus in den beiden Arten, folgt, dass ein Heranwachsen und allmähliches Altern von rundkernigen, also jungen „trachychromatischen“ Myelocyten u. s. w., zu rundkernigen und demnach ebenfalls jungen „amblychromatischen“ Myelocyten u. s. w., wie A. Fränkel a. a. O. will, als durchaus ausgeschlossen gelten muss.

Diese zwei Arten farbloser Rundzellen stehen demnach in denselben Verhältniss zu einander, wie die von mir⁹⁷ bei Amphibien aufgestellten zwei Arten von rothen Blutzellen, die ich

mit den sogenannten Megaloblasten und Normoblasten in Beziehung setzte, weil alle für diese Begriffe von der klinischen Pathologie angegebenen Eigenschaften auch auf die besagten zwei Arten von Amphibienblutzellen zutrafen. Dass es sich dabei nicht um Kunstprodukte gehandelt hat, geht auch daraus hervor, dass z. B. Knoll^{61a} neben „trachychromatischen“ Normoblasten ebenfalls solche wenig resistente „amblychromatische“ Erythrocyten beschrieben und abgebildet hat, ohne indess über ihre Bedeutung etwas auszusagen. Die Berechtigung, die Erythrocyten der Amphibien in zwei Arten zu klassificiren und nicht etwa in ihnen nur durch relative Grössen- und Altersverhältnisse verschiedene Individuen nur einer Art zu erblicken, wurde hergeleitet von gewissen, wie oben erwähnt, auch bei den farblosen Rundzellen sich findenden Unterschieden der ruhenden Kerne, die den Zellen ihr eigenartiges Gepräge hauptsächlich verleihen, und die am auffälligsten in die Erscheinung treten bei den Chromosomen der Karyokinese, worauf schon Hansmann⁴² als auf ein wichtiges Kriterium zur Unterscheidung zweier Zellarten aufmerksam gemacht hat. Es waren demnach die Kerne, nicht die äussere Grösse, maassgebend für die Artbestimmung, und wurden deshalb die Namen „Megaloblasten“ und „Normoblasten“, da sie aus denselben Gründen, die oben bei den farblosen Zellen hervorgehoben sind, sich als unzweckmässig erwiesen, fallen gelassen und vorläufig durch „amblychromatische“ und „trachychromatische“ Erythrocyten ersetzt.

Dieselben zwei Arten von rothen Blutzellen finden sich nun auch bei Homöothermen, natürlich nicht in der Circulation, ausser beim Embryo und in pathologischen Zuständen, sondern in den verschiedenen Keimorganen: während aber die amblychromatische Form beim Embryo Anfangs noch in ziemlich grosser, ja fast überwiegender Menge gebildet wird, nimmt sie mit der allmählichen Uebertragung der hämatopoetischen Function an das Knochenmark an Zahl beträchtlich ab, um postembryonal nur unter pathologischen Verhältnissen wieder mit verjüngter Kraft zu proliferiren, ohne aber auch unter physiologischen Verhältnissen jemals ganz aus dem betreffenden Organ zu verschwinden. Trotz dieses physiologischen Vorkommens in dem Knochenmark und bei manchen Neugeborenen, z. B.

Kaninchen (siehe Fig. 47—50, wodurch Orth's Angaben gegenüber Neumann bestätigt werden) auch noch in immerhin nicht zu übersehender Zahl in der Milz, erfüllen sie doch nur in verschwindenden Ausnahmen ihren respiratorischen Zweck dadurch, dass sie entkernt werden und als blasse, meist grosse Erythrocytoden in die Circulation gelangen; die meisten gehen als gegen Aenderungen der isotonischen Concentration des Serums äusserst labile Gebilde gewöhnlich vorher durch Quellung cytolytisch zu Grunde*). Ebenso finden sich die farblosen amblychromatischen Myelocytten u. s. w. fast nur in den betreffenden lymphoiden Organen und gelangen nur unter pathologischen Verhältnissen in grösserer Anzahl in die Circulation.

Der oben (Seite 98) ganz allgemein aufgestellte Satz, dass die aus verschiedenen hämatopoetischen Organen abstammenden rothen Blutzellen einander homolog seien, ist nun dahin zu erweitern, dass nur die entsprechenden Arten einander homolog sind, also z. B. die amblychromatischen Erythrocyten der Milz denen des Knochenmarks u. s. w.

Eine natürliche Folge dieses Satzes ist, was auch schon früher beobachtet ist, dass auch die aus verschiedenen lymphoiden Organen entsprungenen Stammformen der rothen Blutzellen, die farblosen Rundzellen des Knochenmarks, der Milz u. s. w. unter einander völlig homolog, und nicht zu unterscheiden sind,

*) Wie weiter unten auseinandergesetzt werden wird, scheinen besonders diese amblychromatischen Zellen Biernatzki's Lehre vom Plasma gehalt der Blutzellen zu bestätigen, insofern als sie äusserst wasserreiche Gebilde sein dürften; daher sind sie, wie oben hervorgehoben, ja auch zumeist grösser als die trachychromatischen Formen.

Allerdings können nun auch durch Quellung pathologisch oder experimentell ursprünglich trachychromatische Zellen in Folge Wasser aufnahme grösser werden und schliesslich zerfliessen. Die hierdurch entstehenden Bilder enthalten aber die Flüssigkeit zwischen, nicht in den Nucleinmikrosomen des Kerns. Weil nun also auch durch Quellung grosse wasserreiche Zellen entstehen können, liegt keineswegs ein Grund vor, mit Botkin¹⁶² (S. 395) alle grossen, wasserreichen, zu Cytolyse neigenden Zellen, alle „grossen“ Lympho- und Leukocyten als derart entstandene Degenerationsformen zu deuten, zumal sie sich ja auch innerhalb der lymphoiden Organe neben kleinen trachychromatischen Formen, und nicht etwa nur im Circulationsstrom finden,

allerdings, mit der jetzt hinzuzufügenden Modification, nur unter Berücksichtigung der bezüglichen isodynamen Verhältnisse, welche in Artcharakter und Alter zu sehen sind. Demnach lautet für rothe und farblose Zellen unser Gesetz: Nach Art und Alter analoge Zellformen der verschiedenen Blutwerkstätten sind homolog.

Da demnach ein Unterscheiden der verschiedenen lymphoiden Zellen nach ihrer Provenienz zur Zeit praktisch unmöglich scheint, empfiehlt es sich, die Bezeichnung Splenocyten u. s. w. ganz aufzugeben, und nur noch von farblosen Rundzellen oder Leukocyten schlechthin im Gegensatz zu rothen Blutzellen oder Erythrocyten zu sprechen, wobei die Splenogenität u. s. w. unberücksichtigt bleibt, so dass wir von nun an nur noch mit jungen und alten, amblychromatischen oder trachychromatischen Leukocyten zu operiren haben.

Ich behaupte nun, dass die jungen amblychromatischen Erythrocyten in weiter unten zu schildernder Weise aus gewissen noch näher zu definirenden jungen amblychromatischen Leukocyten entstehen, und die trachychromatischen Leukocyten sich zu trachychromatischen Erythrocyten differenziren und umbilden.

Ich zeigte früher, dass auf Grund von Betrachtungen über die Chromatinvertheilung im Kern, auf die besonders Pfitzner aufmerksam gemacht hat, nicht nur die jungen Zellen genetisch tiefer stehen als die alten, sondern auch die amblychromatischen tiefer als die trachychromatischen Formen. Während aber die jungen Zellen sich zu alten entwickeln, gehen die amblychromatischen nie in die trachychromatischen über. Bei der Cytopgenese handelt es sich um Individuen einer Art; in diesem letzten Fall aber liegen zwei Arten vor, die zwar in einem gewissen gewebsphylogenetischen Unterordnungsverhältniss stehen, etwa wie Amphibien und Reptilien, die aber ihre charakteristischen Artmerkmale durch Vererbung constant erhalten. Als dritter Factor kommt nun noch die Eintheilung der amblychromatischen und trachychromatischen Art in je eine rothe und weisse Gattung hinzu, da ja die Leukocyten ihrerseits histogenetisch tiefer stehen als die Erythrocyten, in die sie wohl mehr als wahrscheinlich übergehen, wie etwa Schwanzlurche in Ba-trachier, bzw. Kaulquappe in Frosch.

Wir würden demnach mutatis mutandis etwa folgendes Vergleichsschema haben:

I. Amphibien:	Urodelen → Anuren (junge→alte) (junge→alte)
Reptilien:	Crocodilier → Chelonier (junge→alte) (junge→alte)
II: Amblychromatische:	Leukocyten → Erythrocyten (junge→alte) (junge→alte)
Trachychromatische:	Leukocyten → Erythrocyten (junge→alte) (junge→alte).

In meiner oben citirten Arbeit habe ich ausführlich erörtert, in welchen Veränderungen einer Kernstruktur von bestimmtem Typus die cytogenetischen Altersmerkmale bestehen, und habe für Erythrocyten gezeigt, was ich hier für Leukocyten wiederhole, dass die Artunterschiede, ob ambly- oder trachychromatisch, ebenfalls im Kern, aber in seinem Gesamtcharakter gelegen sind, während die Strukturen bei gleichaltrigen Formen im Einzelnen fast mathematisch ähnliche Projectionsgebilde zu sein scheinen und ja auch bei der Karyokinese die gleiche Zahl von Chromosomen in Action treten. Wie wir weiter unten sehen werden, haben nun auch die weissen und rothen Gattungen je ihren bestimmten, noch näher zu beschreibenden Kerntypus, so dass wir demnach dreierlei an einem Kern zu unterscheiden und zu beobachten haben, die Struktur und äussere Form, die über das Alter Auskunft giebt, den Charakter, der ihn unter die amblychromatische oder trachychromatische Art einreicht, und den je nachdem leuko- oder erythrocytischen Gattungstypus.

Es ist demnach auch in der Hämatologie den Zellkernen eine ihnen bisher nicht genügend zu Theil gewordene aufmerksamste Beachtung zu vindiciren.

Wir haben bis jetzt einen Factor unberücksichtigt gelassen, durch den unsere Betrachtungen etwas complicirt werden, die Granulirung der Leukocyten, bezw. die Chromatophilie ihrer Granulationen und des sie einbettenden Protoplasmas. Bekanntlich hat Ehrlich je nach dem tinctoriellen Verhalten ihrer Granulationen, bezw. ihrer specifischen Affinität zu verschiedenen Farbstoffen die Leukocyten in fünf verschiedene (α — ϵ) Klassen eingetheilt. Er fand, dass die rundkernigen jungen Leukocyten

basophiles hyalines Protoplasma haben, dagegen die polymorphkernigen alten theils eosinophile (α), theils indulinophile oder amphophile (β), theils basophile (γ und δ), zumeist aber, wie die gewöhnlichen Formen bei der Leukocytose oder im Eiter, neutrophile (ϵ) Granulationen. Gerade weil sie die gewöhnlichsten hauptsächlichsten polymorphkernigen, also alten Leukocyten des normalen Blutes sind, leitete Ehrlich diese letzteren ϵ -Zellen aus den einzigen im Blut vorkommenden jungen Zellen, den hyalinen rundkernigen basophilen Lymphocyten ab, d. h. die neutrophilen Granulationen aus dem granulationslosen basophilen Protoplasma, so dass unter dem Einfluss des circulirenden Blutes das basophile Protoplasma neutrophile Granulationen hervorbringen sollte. Im Gegensatz zu Gulland^{41a}, der in den Granulationen Veränderungsformen der Mikrosomen sieht, erblickt er in ihnen den sichtbaren Ausdruck einer chemischen Function der Zelle, die je nach dem Reifungsstadium eine verschiedene ist; d. h. das Auftreten derselben bedeutet einen Reifungsprozess des Protoplasma, die Art desselben ein verschiedenes Stadium dieses Reifungsprozesses. Dieser Anschauung folgten H. F. Müller^{87b, 88}, Rieder¹¹¹ und Zappert¹⁵⁴, die in den polymorphkernigen eosinophilen Zellen des Blutes, den grobkörnigen Granulationen M. Schultze's¹²⁶, einen noch höheren Reifungszustand der neutrophilen Granulationen erblickten, d. h. die polymorphkernigen eosinophilen aus den polymorphkernigen neutrophilen wegen gewisser Aehnlichkeiten des Kerns und der Färbung ableiteten*). Indess brauchen zwei ähnliche Dinge, wenn sie schon verwandt sein können, wie etwa Geschwister, noch nicht aus einander hervorgehen, dazu kommt, dass nach Hirschfeld bei manchen Thieren, wie Maus, Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, neutrophile Zellen gar nicht vorhanden sind, aus denen die eosinophilen hervorgehen könnten. Ehrlich hatte nun ferner angenommen, in den Granulationen auch ein Kriterium für die Herkunft der Zellen sehen zu können, und leitete seine neutrophilen und eosinophilen Zellen aus dem Knochenmark ab. Seitdem nun aber die farbenanalytischen Untersuchungen in ausgedehnterem Maassstabe auch auf das patho-

*) Hierher wohl auch Janowski: Centralbl. für allgem. Pathol. III. 1892 und Archiv für exp. Pathol. XXXVI.

logisch veränderte Blut, vor Allem aber auf die blutbildenden Organe sowohl in der Norm, wie in pathologischen Fällen angewendet worden sind, mussten Ehrlich's ursprüngliche Lehren vielfach modifizirt werden. Vor Allem fand man, dass neutrophile und eosinophile Granulationen auch in der Milz sich finden, Kanter⁵⁸ beschrieb letztere in Lymphdrüsen (s. a. Fig. 27), ich fand sie auch in der Thymus (Fig. 58), Siawello bei Knorpelfischen; schliesslich fanden sie sich sogar local, aus dem granulirenden Bindegewebe entstanden, bei Uteruscarcinom, Nasenpolyp, Asthma, Trippereiter (Gollasch, Fortschr. der Med. 1889) u. s. w., so dass man auch in den Granulationen keine Handhabe für Bestimmung des Ursprungs der Zelle hatte. Ferner fanden sich in Knochenmark und Milz eosinophile Zellen, die ganz denen des Bluts gleichen, aber mit rundem Kern (Fig. 10), so dass kein Grund vorliegt, H. F. Müller zu folgen, sondern man in die Lage gesetzt wird, die polymorphkernigen eosinophilen Zellen des Bluts und der blutbildenden Organe aus den rundkernigen abzuleiten. Dies vorausgesetzt, musste nun auch eine Alterung von basophilem Protoplasma zu neutrophilen Granulationen kritische Bedenken erregen, und so war es vor allem Zenoni^{155a}, der für einen getrennten Ursprung der polymorphkernigen Zellen aus je nach den Granulationen verschiedenen rundkernigen Stammformen eintrat*). Schliesslich aber wurde die ganze Eintheilung Ehrlich's, besonders jüngst von Kanthack und Hardy⁵⁹, als eine äusserliche und künstliche verworfen, seitdem Arnold verschiedene chromatophile Granulationen in einer und derselben Zelle beobachtet hat, wodurch allerdings auch Zenoni's Lehre wieder etwas erschüttert zu sein scheint. Ehrlich, der nur Granula derselben chemischen Zusammensetzung in einer und derselben Zelle kannte, setzte, wie wir gesehen haben, die Granula in Beziehung zu der jeweiligen chemischen Action der Zelle, hielt er doch die Granula selbst für Produkte der Zellthätigkeit, „die bald die Function von Reservematerial erfüllten, bald der Eli-

*) Auch in der jüngst erschienenen Arbeit von Ribbert (dieses Archiv. Bd. 150) wird ein Zusammenhang zwischen den gewöhnlichen multi-nucleären neutrophilen Leukocyten und rundkernigen basophilen Lymphocytēn gelehnt. (Zusatz bei der Correctur.)

mination gewidmet sein könnten“. Selbstverständlich kann eine Zelle zu einer bestimmten Zeit nur in einer bestimmten Art und Weise functioniren, bezw. secerniren, also er stellt sich vor, dass mit zunehmender Reifung und Alterung der Zelle die basophile „Function“ in die neutrophile überginge u. s. w. Arnold nunmehr glaubte seinerseits in den Granulis den blossen Ausdruck einer fortschreitenden Entwicklung, also nicht nutritiv-secretorischer Vorgänge, sondern einer rein formativen Thätigkeit sehen zu müssen. Und doch glaube ich, dass sowohl Ehrlich's Anschauung, die Granula seien Functionsprodukte, als auch Arnold's, sie seien der Ausdruck eines plastischen Reifungszustandes, sich ungezwungen vereinen lassen, wenn man nur den Begriff des Alters und der Reife nicht cytogenetisch, sondern ebenfalls quasi phylogenetisch im Sinne von höherer Ausbildung und Differenzirung fasst, und unter der Zellfunction nicht secretorischen Prozesse im streng chemischen Sinne schlechthin versteht, die in einem gegebenen Zeitdifferential nur einheitlicher Art sein können, sondern sie etwa im Sinne von specifischer Energie interpretirt. Dann wären Arnold's Bilder zwar Uebergangsstufen, aber nicht von einem Zellentwickelungszustand in einen nächst höheren, so dass die Zelle bereits Granula der neuen Art zu produciren beginnt bevor die alten eliminiert oder resorbirt sind, sondern von einer niedriger stehenden Zellart zu einer histologisch höher differenzirten, also Zwischenformen, die zwar ihr Artmerkmal, die Production von Granulis verschiedener Art, durch Vererbung constant bewahren, aber doch allmählich, wie Bastarde, der Erschöpfung und dem Aussterben anheimfallen, woher sich ihr relativ seltenes Vorkommen erklärt. Unter solchem Gesichtspunkt betrachtet, erscheint auch Zenoni's Lehre von der Constanz der Granulaart während des ganzen cytogenetischen Zellalters wieder durchaus annehmbar, nur kommen die Zellen mit verschiedenen Granulis als eigene neue Arten hinzu. Die Kerne, die ja die Träger der specifischen Zellenergie sind, und diese ihre Eigenschaften durch Fortpflanzung ihrer Art unverändert erhalten und übermitteln, sind aber in den einzelnen Arten so veranlagt, dass sie entweder basophile oder neutrophile, oder amphophile u. s. w., oder gemischte Granula zur Abscheidung gelangen können,

sowohl im jugendlichen runden, wie im vorgeschrittenen polymorphen Zustand. Die Qualität der Granula in einer Zelle sind ein Ausdruck für den Kernchemismus, mithin nach wie vor das einzige sichtbare Artmerkmal der verschiedenen Leukocyten. Granulationslose Leukocyten sind demnach nicht immer, wie Hirschfeld^{47a} will, Uebergangsformen von einem basophilen Jugendzustand in ein neutrophiles u. s. w. Alter, sondern, wenn sie sich bei ein und demselben Thier (Hund) neben neutrophilen Zellen finden, zufällige Degenerationsformen, wie sich ja auch im Eiter vorkommen, oder aber, wenn sie nur als solche auftreten, wie bei der Maus, eine Art für sich, die der neutrophilen, oder der bei anderen Thieren dieser analogen amphophilen (Kaninchen, Katze) und indulinophilen (Meerschweinchen) Art entsprechen.

Diese verschiedenen Arten von Leukocyten haben sich nun, wie man annehmen muss, durch verschiedene funktionelle Inanspruchnahme, Erwerbung neuer Eigenschaften durch Anpassung, auseinander entwickelt, so dass die basophilen [die „Lymphocyten“ sind nicht wie Grawitz³⁸ (S. 28 und 123) angiebt, hyalin, cf. Hirschfeld⁴⁷ (S. 9)] Formen die niedrigst im System stehenden sind, dann folgen neutrophile, amphophile, indulinophile und schliesslich die oxyphile (s. u.); zwischen den einzelnen Arten sind dann noch diejenigen, Arnold'schen Zellen einzuschalten, die noch keine total einseitige funktionelle Differenzirung zur Production nur einer chemischen Verbindung erlangt haben, sondern noch verschiedene Granula abscheiden.

Alle diese Varietäten von Leukocyten treten aber, wie wir das oben erörtert haben, in zwei Erscheinungsformen, einer amblychromatischen und einer trachychromatischen, auf. Während sich die Kerne der Leukocyten und Erythrocyten einerseits, der basophilen und oxyphilen u. s. w. Leukocyten andererseits durch, wie wir unter schon werden, qualitativ-chemische Differenzen des Nucleins unterscheiden, bestehen zwischen amblychromatischen und trachychromatischen Formen, ähnlich wie zwischen jungen und alten, was wir ebenfalls weiter unten auseinandersetzen werden, gewisse quantitative Unterschiede. Wie ich das früher entwickelt habe⁹⁷, produciren junge, soeben aus farblosen Zellen hervorgegangene Erythrocyten weniger Hb als alte, und auch amblychromatische Erythrocyten ein im Ganzen verdünnteres Hb als trachy-

chromatische. Entsprechend haben junge Leukocyten weniger, aber dichter stehende Granula als alte, und amblychromatische Leukocyten feinere Körnungen als trachychromatische (Fig. 10 und 27, 11 und 21). Wir würden demnach die Haupterscheinungsformen der Leukocyten etwa in folgendes System zu rubriciren haben:

A. Trachychromatische Formen.

I. eosinophile von Max Schultze,

- a) alte, gewöhnliche des Blutes (Fig. 27, 40),
- b) junge, in hämatopoetischen Organen (Fig. 10, 11).

II. neutrophile

- a) alte gewöhnliche des Blutes und Eiters,
- b) junge rundkernige = kleine Leukocyten des Marks von M. Heidenhain.

III. basophile γ

- a) alte (Fig. 3, 4, 24, 25 u. s. w., sowie auch Ehrlich's Mastzellen),
- b) junge = kleine Lymphocyten im alten Sinn (Fig. 1, 22 u. s. w.).

B. Amblychromatische Formen.

I. eosinophile = H. F. Müller's^{87b}

„Markzellen“,

- a) alte (Fig. 21 und 51) (in der Milz),

- b) junge (Fig. 20, sowie Rieder^{111b} Taf. VIII Fig. 31, 32).

II. neutrophile = Markzellen κατ'

ξερχήν (Mosler¹⁸⁶), Myelocyten (Uthemann¹⁴²), Cellules médullaires (Cornil¹¹¹), Médullocellules (Robin¹¹²) u. s. w.,

- a) alte (Rieder Taf. IX Fig. 34),

- b) junge (Rieder Taf. IX Fig. 36).

III. basophile δ

- a) alte (Fig. 15, 30 u. s. w., so wie Grawitz Taf. II No. 1),

- b) junge (Fig. 13, 28 u. s. w., so wie Rieder Taf. X Fig. 38) = „grosse Lymphocyten“ und „unreife Zellen“ (Grawitz³⁸ S. 123).

Am tiefsten im System stehen die basophilen Formen; aus ihnen haben sich, durch Arbeitstheilung, wie wir oben bereits erwähnt haben, die übrigen entwickelt, indem sich, wie wir weiter unten auseinandersetzen werden, der Chemismus des Kerns allmählich geändert hat. Sie sind die primitivsten Formen aller Leukocyten und zeigen laut Hirschfeld^{47a} (S. 40), zumal als junge „Lymphocyten“, bei allen Thieren die gleiche histologische Beschaffenheit, während die übrigen polymorphkernigen Zellformen um so mannichfältiger entwickelt sind, „was ebenfalls für einen getrennten Ursprung der verschiedenen einzelnen polymorphkernigen Formen im Sinne von Zenoni spricht“.

Diese basophilen Leukocyten sind es nun, welche während

ihrer rundkernigen Jugendzeiten die Mutterzellen der rothen Blutzellen sind, oder umgekehrt: von den verschiedenen jungen rundkernigen Leukocyten (Lymphocyten im Sinne A. Fränkel's) sind es speciell die basophilen (Lymphocyten im alten, aber auf alle lymphoiden Organe erweiterten Sinne), welche sich zu jungen Erythrocyten in der weiter unten zu schildernden Weise differenziren und umbilden, falls sie nicht zu alten basophilen Rundzellen werden, und zwar gehen die trachychromatischen Leukocyten („kleinen Lymphocyten“) in die trachychromatischen Erythrocyten („Nomoblasten“) und die amblychromatischen grossen Lymphocyten in die „Megaloblasten“ über.

Die Berechtigung, in den basophilen Leukocyten die Vorstufen der Erythrocyten zu sehen, wird unter anderem nicht zum mindesten daraus hergeleitet, dass die eben entstehenden jungen Erythrocyten ein basophiles Cytoplasma haben, in das das spärliche Hb eingelagert erscheint; es sind das keine distincten Körnelungen, wie sie Arnold¹ beschreibt, sondern nur ein leichtkörniger chagrinartiger Zustand, wie ihn das Cytoplasma der basophilen Leukocyten darbietet, in welches die basophilen Granulationen eingebettet sind (Fig. 17 und 48). Diese geringfügige Basophilie wurde von Gabrischewsky und Askanazy geradezu als ein Ausdruck der Jugendlichkeit angesehen, was nicht allgemeine Gültigkeit haben kann, da auch eine bestimmte Art von Degeneration, die „anämische“ nehmlich, diese „Polychromatophilie“ aufweist (Fig. 17, 48 zeigt dieselbe bei alten Zellen). Schon im Jahre 1847 hat Virchow^{144a} es ausgesprochen, dass Ausgang und Ende einer Reihe beim Combiniren leicht zu verwechseln sind. Dies gilt nicht nur, wenn man zwischen zwei neben einander liegenden Bildern einen genetischen Connex construiren will, sondern auch wenn man von einem einzelnen Bild aussagen soll, ob es progressiver oder regressiver Natur sei, nimmt doch das Alter in einzelnen Merkmalen der Involution oft wieder jugendliche Erscheinungsformen an (s. infantile Demenz der Greise, gallertiges Knochenmark und embryonales Schleimgewebe u. s. w.). Man muss also jugendliche Polychromatophilie von polychromer Degeneration scharf trennen. Die jugendliche Basophilie bezeichnet einen unfertigen Zustand des protoplasmatischen Eiweisses,

welches noch keine ausgesprochene Affinität zu den sauren Farben erlangt hat, und dessen Molekularstruktur noch ähnliche Verhältnisse aufweist wie das Karyoplasma. Umgekehrt finden in der Molekel des ausgebildeten cytoplasmatischen Eiweisses bei regressiven Verhältnissen, sei es dass dieselben im natürlichen Verlauf der Dinge sich einstellen, sei es, dass sie künstlich erzeugt werden (s. u.), Umwälzungen statt, durch welche wieder der frühere basophile Zustand erlangt wird.

Was das anbetrifft, dass Grawitz³⁸ (S. 124) in seinen, unreifen“ Zellen Hb-Klümpchen beschreibt, und das Jawein¹⁶³ bei seinem Fall von Anaemia splenica pseudoleucaemica grosse Hb-arme Erythrocyten beschreibt, deren Kerne ganz denen der grossen (amblychromatischen?) rundkernigen Leukocyten glichen, so dass der Eindruck erweckt werden konnte, als ob das Protoplasma der grossen Leukocyten Hb aufgenommen hätte, so erscheint es noch fraglich, ob man diese Bilder als Uebergangsstadien von Leukocyten zu Erythrocyten deuten darf, so lange nicht feststeht, ob diese Gleichheit der Kerne sich nur auf den etwaigen gleichen amblychromatischen Charakter oder wirklich auf den Strukturtypus bezieht. Ich vermuthe (s. u. S. 142), dass der erstere Fall vorliegt und es sich nicht um progressive Umbildungs-, sondern regressive Rückbildungsformen handelt, nicht um amblychromatische Leukocyten, die Hb aufgenommen, sondern amblychromatische Erythrocyten, die im hydrämischen Serum durch Cytolyse u. s. w. Hb verloren haben.

Diese basophilen Leukocyten im lymphoiden Gewebe des Knochenmarks, der Milz u. s. w. scheinen also befähigt, sich nicht nur zu oxyphilen u. s. w. Leukocyten, Fettzellen des gelben Markes, Osteoblasten u. s. w., sondern auch zu Erythrocyten zu differenziren. Der Kürze halber wird es sich nun empfehlen, statt von amblychromatischen und trachychromatischen, oxyphilen u. s. w. Leukocyten lieber von oxyphilen u. s. w. Protoleuciten und Metaleuciten zu reden und speciell die basophilen Markzellen der Erythrocyten als Protogeneten und Metageneten zu bezeichnen, im Gegensatz zu den aus ihnen hervorgehenden rothen Proto- und Metaphyten*).

*) Diese Namen vorläufig nur provisorisch, da sie ja schon für pflanzliche Protisten vergeben sind.

Ich kann diesen Abschnitt nicht schliessen, ohne noch einige Bemerkungen über die anämischen Zustände anzuknüpfen.

Nachdem so, wie ich glaube, durch obige Einteilung einige Ordnung in die Fülle der Gesichte eines mikroskopischen Blutpräparates gebracht ist, würde durch Experiment und klinische Beobachtung zu prüfen sein, ob es sich bestätigt, was vermutet werden darf, dass bei einfacher Anämie — Metaphyten, meist alte Formen; sogen. perniciöser Anämie — auch Protophyten; Leukocytose — vorwiegend alte neutrophile Metaleuciten, keine Protoleuciten; Lymphocytose — überwiegend junge Metageneten; Leukämie — junge und alte Protoleuciten in's Blut treten.

Dann würde die Bedeutung der „schweren“ Blutkrankheiten ganz allgemein darin liegen, dass an die Regeneration so übermässig starke Anforderungen gestellt werden, das adenoide Ge- webe in solchem Maasse gereizt wird, dass die sonst nie in's Blut tretenden „atypischen“ Organzellen, die unvollkommenen Protoformen zur Aushülfe als Circulationszellen verwendet werden.

Im Gegensatz zu den eigentlichen Anämien würden speciell die Leukämien nach Virchow und Neumann auf einer heteronomen, excessiven Proliferation von Leukocyten, verbunden mit heterotoper Austreibung in's Blut (Desquamativkatarrh) und heterotyper Entwickelungsrichtung, bezw. gehemmter Umbildung in rothe Zellen beruhen, wobei nicht nur wie bei allen „schweren Blutkrankheiten“ Protoleuciten überhaupt, sondern sogar, worauf besonders Löwit, Pawlowsky und Mayet aufmerksam gemacht haben, noch ganz junge rundkernige Formen, statt ihre Entwicklung in dem betreffenden Organ durchzumachen und ihre Reife abzuwarten, als Nothbehelf in der Circulation zur Verwendung kommen.

II.

Nachdem wir im Vorangegangenen die für die Abstammung der Erythrocyten in Betracht kommenden wesentlichen Momente hervorgehoben, unseren Standpunkt, den wir bei der Deutung der zu schildernden Befunde einzunehmen gedenken, entwickelt, und unsere Aufgabe präcisirt haben, wenden wir uns nunmehr zur Lösung der letzteren, der Entstehung der Erythrocyten durch

Umbildung der jungen basophilen Leukocyten, und beginnen damit, die zu diesem Zweck angewandten technischen Untersuchungsmethoden zu besprechen.

Zuerst wurde frisches unfixirtes Material der Untersuchung unterzogen.

Wie Hoppe-Seyler^{49a}, Huppert⁵⁴ und Salomon¹¹⁶ gezeigt haben, enthalten Leukocyten Glykogen. Da mikrochemisch das Glykogen nach den Angaben Gabritschewsky's⁵¹ auch durch Jod nachgewiesen und durch dasselbe weinrot bis mahagonibraun gefärbt wird, das Hb aber zum Theil ebenfalls unter Jodwirkung cognac- bis rumfarben wird, in schwacher Vertheilung, reinlich bei jungen Erythrocyten und Protophyten, aber ebenso diffus gelbe Farbe annimmt, wie der Zellleib der jungen Leukocyten, schliesslich nicht alle Leukocyten Glykogen enthalten, so ist auf Grund von Glykogenbefund eine scharfe Unterscheidung zwischen Leukocyten und Erythrocyten nicht zu erzielen und mit Hülfe von Jod nicht sicher festzustellen, ob etwaiges Glykogen jungen Erythrocyten oder Leukocyten gehört, bezw. ob das Glykogen bei der Umbildung verloren geht oder nicht. Das Jod wurde angewandt in der Form von Jodserum (M. Schultze, Frey), Lig. Lugoli + Kochsalz (Nasse), Lig. Lugoli + Sol. Farranti (O. Israel), Jodgummischleim (Ehrlich).

Ferner war unser Augenmerk darauf gerichtet, junge Leukocyten und Erythrocyten an dem etwaigen Vorhandensein oder Fehlen von Nucleolen zu unterscheiden, beziehungsweise festzustellen, ob die Nucleolen, die ja laut Lehrbüchern in den „Lymphkörperchen“ vorhanden sind, sich auch noch in jungen Erythrocyten finden. Da Zusätze von verdünnter Essigsäure oder Kalilauge die Zellleiber mehr oder weniger zerstörten, Ranzier's Drittelalkohol das Hb theilweise diffundiren machte, so wurde schliesslich ein dem Knochenmark entnommener Bluts tropfen über hohlgeschliffenem Objectträger, in dessen Grunde ein Tröpfchen Osmiumsäure (besser wie Ammoniak, weil es gleichzeitig das Hb fixirt) verdampfte, hängend untersucht. So weit sich im ungefärbten Präparate weisse und rothe Blutzellen unterscheiden liessen, konnte nur festgestellt werden, dass in den homogenen Kernen Hb-reicher Zellen sicher keine Kernkörperchen vorhanden sind; in den fraglichen grosskernigen Zellen

indess konnten schärfer lichtbrechende Körnchen zur Anschauung gebracht werden, nur war im Einzelfall nicht immer zu constatiren, ob eine Hb-freie oder Hb-arme Zelle vorlag. Was diese Körnchen selbst betrifft, so waren sie theils in der Einzahl, theils regellos zerstreut in der Mehrzahl vorhanden und dann von variirender Gestalt, oft sich zu gebrochenen Linien berührend, so dass sie mit ächten Nucleolen, wie z. B. in Ei- und Ganglienzellen, nichts gemein zu haben scheinen, sondern wahrscheinlich dem Karyolinin, Oxychromatin oder Paranuclein, den pyrenoiden „Lücken“ des gefärbten Kerns entsprechen dürften.

Ein weiterer Versuch, einen sauren Anilinfarbstoff, Orange G, im unfixirten Präparat als Reagens auf Hb nutzbar zu machen, indem derselbe, wie Neutralroth (Israel und Pappenheim⁵⁷) in Substanz zugesetzt wurde, scheiterte an der Achromatophilie des unfixirten Hämoglobins.

Schliesslich führte auch die Verwendung des Kal. bichrom. im feuchten Präparat, welches in Schnittpräparaten durch Umwandlung des Hb in Met-Hb (Dittrich¹⁵) so gute Resultate liefert, eben so wenig wie die mikrochemische Verwendung der Cyanmethämoglobinmethode (Kobert⁶², Grabe³⁷) zu dem gewünschten Ziel, zumal die Integrität der Zellen erheblich gestört wurde.

Wir wenden uns nunmehr zur Fixation und Färbung von Trockenpräparaten.

Bei dem Undeutlichwerden, der Verkleinerung und dem Zugrundegehen wichtiger Formbestandtheile, namentlich des Kerns und der Granulationen in Folge der allgemeinen Schrumpfung durch die gebräuchlichen Fixationsmittel, erwarteten wir von Schnittpräparaten keine Förderung zur Lösung unserer Aufgabe. Auch methodologisch dürfte die Unterlassung der Herstellung von Schnittpräparaten in unserem Falle kaum als ein Fehler gelten: erstens lag uns nicht daran, den Ort der Entstehung rother Blutzellen in den betreffenden Organen zu ermitteln, zweitens ist die Bewahrung des natürlichen Nebeneinanders für uns nicht von so grosser Bedeutung, da ja die farblose Zelle selbst sich umwandelt und nicht etwa durch Theilung neben sich das neuentstehende Gebilde hinsetzt, dessen unbekannte Vorstufen zu ermitteln wären, wie etwa bei der Haut und gewissen ächten Drüsen, z. B. beim Hoden, wo das zellige Secret allmäh-

lich, während seiner Proliferation von der Peripherie nach dem Lumen des Ausführungsganges zu, verschiedene Umgestaltungen durchmacht, und wo man aus dem jeweiligen örtlichen Nebeneinander auch auf ein zeitliches Nacheinander zu schliessen hätte.

Es wurden nun Deckglasabstriche hergestellt unter peinlicher Befolgung der Principien Welcker's¹⁴⁹ behufs schneller An trocknung in der früher von uns⁹⁷ beschriebenen Weise. Dann wurde zur Fixation geschritten.

Die üblichste Methode ist die zweistündige Erhitzung bei 120° nach Ehrlich. So hergestellte Präparate sind durchaus geeignet für die klinische Diagnostik, wo es bisher nur darauf ankam, kernhaltige rothe Blutkörperchen überhaupt und Granulationen zu erkennen, die verschiedene Werthigkeit der Kerne aber absolut nicht beachtet wurde. Für unsere Zwecke indess eignet sich die Methode ganz und gar nicht, da bei derselben zwar das Hb vorzüglich fixirt wird, die Zellkerne aber entschieden leiden, so zwar, dass die der Metaformen bei der darauf folgenden Färbung äusserst leicht überfärbt werden (künstliche Pyknose) und bei schwächerer Färbung noch dazu leicht unregelmässige höckrige Contouren und Risse (künstliche Karyorrhexis) zeigen; die Kerne der Protoformen hingegen sich als überfixirt erweisen derart, dass Kernfarbstoffe, mit Ausnahme von dem nicht zu den gewöhnlichen basischen Farben gehörenden Indulin, Nigrosin und Benzazurin, nur in dünnster Schattirung oder gar nicht aufgenommen werden, ja sogar eine homogene Färbung mit sauren Farben eintreten kann (Oxychromasie, künstliche Karyolyse durch chemische Umwandlung des Basicromatins in Oxychromatin) und die Kerne als „saure Kerne“ (Unna) imponiren. Sowohl bei den Proto-, wie bei den Metaformen sind demnach die Kernstrukturen bei dieser Methode nicht in der erforderlichen Deutlichkeit zu erkennen.

Ueber verschiedene Chromatophilie der Kerne.

Aus dem verschiedenen Verhalten der Proto- und Metakerne der Fixation gegenüber dürfte sich eine verschiedene Resistenz beider gegen äussere Einwirkungen folgern lassen.

Es scheint, als ob in den Protokernen ein äusserst empfindliches zartes Chromatin vorhanden ist, welches noch keine so stark ausgesprochene Affinität zu basischen Farben aufweist und dessen Molekularstruktur schon

durch relativ geringfügige Eingriffe leicht so verändert wird, dass die Affinität zu basischen Farben noch stärker abnimmt, schliesslich verloren geht, indem erst eine solche zu neutralen Farben auftritt (besonders deutlich bei Anwendung von Triacid-Grübler, wo dann die Kerne violett, statt grün werden), schliesslich aber alles von der sauren Farbe überfärbt wird.

Dieser unreife Zustand des Chromatins, kenntlich daran, dass es nur sehr geringe Mengen basischen Farbstoffes zu binden im Stande ist und leicht auch von sauren Farben gefärbt werden kann, erklärt sich vielleicht so, dass die die basischen Farbstoffe stark aufnehmende Nucleinsäure in der freien Entfaltung ihrer Aktivität durch eine grössere Menge paratinctorieller Materie, wahrscheinlich zu sauren Farben affines Eiweiss, behindert ist, so dass nur unvollständige Sättigung mit sehr geringen Mengen basischen Farbstoffes eintritt, und bei der Erhitzung die relativ wenige Menge Nucleinsäure leicht gänzlich unwirksam gemacht wird. Dieses unfertige Chromatin scheint demnach eine ähnliche Zusammensetzung aufzuweisen, wie wir dies oben von dem jugendlich polychromatophilen Cytoplasmprotein gesehen haben und überhaupt chemisch dem Cytoplasma noch näher zu stehen als dem fertigen basophilen Karyoplasma in Folge seines relativ grossen Reichthums an Eiweiss. Wie bei dem polychromatophilen Cytoplasma das Eiweiss (s. S. 116) durchsetzt ist mit basophiler Substanz, so scheint in dem unfertigen Proto-Chromatin die Nucleinsäure vermischt zu sein mit oxyphilem Eiweiss, d. h. die Nucleinsäure scheint in einer durch Eiweiss verdünnten Modification vorzuliegen.

Dagegen scheint dem Chromatin der Meta-Kerne so wenig oxyphiles Eiweiss beigemischt zu sein, dass man von freiem rein basophilem Nuclein reden kann, wie ja auch das fertige Cytoplasma rein monochromatophil und zwar oxyphil ist. Das fertige Nuclein kann daher grosse Mengen basischen Farbstoffes aufnehmen und wird durch Erhitzen nur sehr schwer so weit abgestumpft, dass die Basophilie aufgehoben wird; dagegen tritt leicht mechanische Zertrümmerung der formalen Anordnung ein, indem der Kernsaft verdampft und das chromatische Gefüge sprengt, welches hier weniger nachgiebig zu sein scheint, als bei den Proto-Kernen. Aehnliche Veränderungen der Chromatophilie, wie wir durch Erhitzen erhalten haben, hat Galeotti³³ durch die verschiedensten chemischen Schädlichkeiten erzielt; sowohl bei Kern wie bei Cytoplasma (s. Pappenheim^{97a} S. 89) schlug (Inversion) das färberische Verhalten in den antipolaren Zustand um. Zu erwähnen ist nur noch, dass nach Arnheim¹ die ächte Karyolyse, der Basicromatinschwund, auf Auslaugung des Nucleins beruht, auf welche dann erst der Oxychromatinschwund, der eigentliche definitive Kernschwund folgt.

Wie wir früher⁹⁷ gezeigt haben, nimmt bei der Umwandlung der jugendlichen in die pyknotische Struktur das Nuclein an Masse zu, das Karyolinin ab, welches Verwandtschaft zu sauren Farben hat (Oxychromatin), aber morphologisch im Raum vom Basicromatin gesondert ist. Dagegen unterscheiden sich die Proto-Kerne von den Meta-Kernen durch ein Mehr von oxyphilem Eiweiss, welches im Basicromatin selbst enthalten zu sein scheint.

Sowohl bei der ächten, wie bei der künstlichen Karyolyse entstehen gleicherweise Unna's sterile „saure Kerne“, die fast nur aus „Oxychromatin“ bestehen und sich demnach nach Malfatti⁷⁸ stärker mit „sauren“, als mit „basischen“ Anilinfarben färben. Da sie demnach relativ arm an Nuclein und relativ reich an Histon sind, sollen nach Lilienfeld²³ die „sauren“ Kerne alkalisch reagiren, da das Histon nach diesem Autor stark basische Eigenschaften hat, während das Nuclein in Folge seines Gehalts an Nucleinsäure sauer reagirt. Ich glaube indess, dass diese Ausdrucksweise zu Missdeutungen Veranlassung geben kann. Nach Lilienfeld reagirt nehmlich des Nuclein deshalb sauer, weil es sich mit Farbbasen verbindet, und das Histon (Oxychromatin Heidenhain, Paranuclein Hertwig, Pyrenin Schwarz, Nucléoles plasmatische Carnoy, sowie das ganze Cytoplasma) deshalb alkalisch, weil es Affinität zu sauren Farben hat; es scheint hierfür viel angebrachter, statt von verschiedener chemischer Reaction, Acidität und Alkalescenz, von verschiedener Chromatophilie, basophilem Nuclein und oxyphilem Histon zu sprechen. Ueber die chemische Reaction hingegen des lebenden ruhenden Zellkerns verdanken wir einige Angaben Fol, der zeigte, dass derselbe, wie alles lebende Eiweiss schwach alkalische Reaction besitzt, indem er basische Pflanzenfarbstoffe entsprechend metachromatisch verändert, röthlichen Alauncarmarin in Lila, Ribesin in Blaugrün, Rothkohlfarbstoff in Grün, und rothviolette Hämatoxylin in Blauviolett umschlagen lässt („Cyanotropismus“). Im Gegensatz dazu nimmt beim Sterben die Alkalescenz ab, wie Bizzozero, Mosso, Grandis, Cuénot und Rhumbler¹⁶⁴ mittels Methylgrün zeigten.

Ich fand nun, dass nicht mehr lebende Kerne, die nach eingetretener Nekrobiose (Knochenmark 6 Stunden nach eingetretenem Tode des Thieres) fixirt wurden, zwar ebenfalls eine Art Karyolyse aufwiesen, meist gequollen waren und sich schlecht mit eigentlichen basischen Anilinfarben, besser mit Indulin und Saffranin (s. Hermann⁴⁶) färben; eine irgendwie besondere Einwirkung auf metachromatische Farbstoffe, die von der nicht nekrobiotischer Kerne abwiche, konnte ich indess nicht beobachten. Frischlebig fixirte Kerne zeigten eine zu schwache Alkalescenz, um basische Anilinfarbstoffe, wie Thionin, Methylviolet, Methylgrün, Saffranin u. s. w. irgendwie metachromatisch zu verändern; auch war die Alkalescenz zu schwach, um etwas stärker angesäuerte Pflanzenfarbstoffe, die Kerne färben, z. B. rothen Orseille-extract, in Blau umschlagen zu lassen, dagegen wurde die „neutrale“ purpurfarbene Teinte de passage der Lakmustinctur in deutlich blauer Nuance aufgenommen. Ueber die chemische Reaction der „sauren“ Kerne habe ich nichts ermitteln können.

Wegen dieser von Fol gefundenen alkalischen Reaction scheinen sich die Kerne auch, ebenso wie die basophilen Granulationen der Mastzellen, besonders gut und distinct in angesäuerten, selbstverständlich basischen Farbstoffen zu färben, wie Schwarz¹²⁸ und Zacharias¹⁵² gezeigt haben, zumal ja durch Essigsäure und Metaphosphorsäure das Nuclein unter deutlichem Hervortreten und Beibehaltung seiner natürlichen Struktur mit starkem Glanz

coagulirt, während Paranuclein und protoplasmatische Proteine dabei unter Verlust ihrer Struktur quellen. Umgekehrt geht die Struktur des Nucleins durch Quellung verloren bei Behandlung mit Alkalien und gewissen Salzen, welche ihrerseits die Paranucleinstrukturen erheblich verdeutlichen, woher es denn auch kommt, dass die Eiweisskörper und oxyphilen Granulationen sich besonders gut in sauren Anilinfarbstoffen färben, die schwach alkalisch gemacht sind, oder denen etwas Alaun (Ranvier-Wissotzky) oder Glaubersalz (Bannwarth) zugesetzt ist.

Im Uebrigen reagirt durchaus nicht alles sich mit sauren Farben färbende Eiweiss im Sinne Lilienfeld's alkalisch: das den Zellleib der rothen Blutkörperchen erfüllende Hb wenigstens, welches sich mit sauren Anilinfarben färbt, also oxyphil ist, hat chemisch auch deutlich saure Eigenschaften, indem einmal bei der Hämoglobinämie durch Erythrocytolyse die Alkalescenz des Blutsersums stark herabgesetzt wird, dann aber nach Preyer¹⁰³ das Hb sogar im Stande ist im Vacuum aus Sodalösung Kohlensäure frei zu machen, ja sogar auch in gleicher Weise die Verbindung des Kaliumchlorats zu lockern.

Ich habe nun auch das Verhalten des Hb hinsichtlich seiner Acidität an verschiedenen Indicatoren geprüft, soweit dieselben saure Farben sind. Es scheint, dass hiernach die Reaction als amphoter bezeichnet werden muss: gegenüber Congoroth war die Reaction entschieden nicht sauer, gegenüber Carmin sicher nicht alkalisch; sehr schön färbte sich, gemäss dem oben Auseinandergesetzten das Hb in schwach alkalisch gemachter Tropäolinlösung und basisch rosolsaurem Natron, die es aber nicht im Stande ist, wie eine schwache Säure zu beeinflussen. In angesäuertem (blaulichem) Congoroth oder Benzopurpurin färbt im Gegentheil das Hb sich röthlich-gelb und mit den rothen Azosulfosäuren nimmt es die gelbe Farbe der Alkalosalze dieser an (Griesbach), ist also xanthotrop.

Wir haben demnach bei der Färbung mit Anilinfarben einmal basische und saure und dann mit Lauge versetzte und angesäuerte zu unterscheiden; bei den basischen ist das färbende Princip eine Base, z. B. Rosanilinsulfat, Fuchsin, bei den sauren eine Säure, z. B. S-Fuchsin, rosanilinsulfosaures Natron. Neutrale Farben sind z. B. rosolsaures Rosanilin u. s. w. Saure aber sowohl wie basische Farbstoffe können mit Lauge versetzt oder angesäuert gedacht werden. Das Histon, Cytoplasma u. s. w. verhält sich wie Seide, d. h. es färbt sich mit sauren Anilinfarben, die Zellkerne dagegen haben wegen des P-Gehaltes der Nucleinsäure eine Verwandtschaft zu basischen Farben, verhalten sich wie Wolle. Hierbei ist der „Ton“ des betreffenden basischen oder sauren Farbstoffes völlig irrelevant, d. h. das Cytoplasma färbt sich gleich gut in rothen, wie blauen sauren Farbstoffen, und die Kerne nehmen jeden basischen Farbstoff gleich gut auf, sei er roth oder blau. Aus Farbgemischen werden die Farben nicht im Verhältniss zur Schnelle der Diffusion, sondern im Verhältniss zu ihrer färberischen Intensität und tinctoriellen Kraft oder chemischen Affinität aufgenommen, eine spezifische Cyanophilie des Kerns oder Erythrophilie des Cytoplasma aber be-

steht nicht, eben so wenig wie irgend ein verschiedenes färberisches Verhalten zwischen rothen und blauen Farben derselben basischen oder sauren Kategorie.

Auerbach³, der Begründer der Lehre von der Cyanophilie, ignorirt den Unterschied zwischen basischen und sauren Farben völlig, unterscheidet nur zwischen rothen und blauen Farben und behauptet, dass P-haltiges Protein, also Nuclein, aus rothblauen Farbgemischen den blauen oder grünen Farbstoff schlechthin auswählt, den rothen oder gelben aber abstößt, während das plasmatische Eiweiss sich umgekehrt verhalten solle.

Zufällig sind nun allerdings die meisten und gebräuchlichsten Kernfarben blaue oder grüne (Hämatoxylin, Methylviolett, Indulin, Methylenblau, Methylgrün) und die meisten Protoplasmafärben roth oder gelb (Eosin, Congoroth, S-Rubin, Orange, Aurantia, Pikrinsäure) und zufällig war das blaurothe Gemisch, welches Lilienfeld⁷⁸ anwandte, um die Cyanophilie des Nucleins zu verkünden, ein solches das einen grünen basischen (Methylgrün) und einen rothen sauren (S-Rubin) Farbstoff enthielt, nehmlich Ehrlich's Triacid. Nun wurde Basophilie des Nucleins mit Cyanophilie, Oxyphilie des Cytoplasma mit Erythrophilie confundirt, die doch in diesem Falle ein blosses Accidens war; vielleicht trat eine weitere Ideenassocation zwischen Oxyphilie und Acidität, Basophilie und Alkalescenz einerseits, Acidität und Erythrophilie, Alkalescenz und Cyanophilie andererseits hinzu, indem man vielleicht daran dachte, dass kernfärbende Pflanzenfarbstoffe, z. B. Lacmus, durch Alkalien blau, durch Säuren roth werden (Congoroth wird durch Säuren blau); und wenn man hinzunimmt, dass nach Fol der Kern Pflanzenfarbstoffe wie schwache Alkalien beeinflusst, und nach Heine⁴⁴ Kerne nach Behandlung mit Alkalien cyanophil, nach Behandlung mit Essigsäure erythrophil sich erhalten, ist der Verwirrung Thür und Thor geöffnet.

Ein solches allgemeines Dogma, wie die Cyanophilie der Kerne, darf man aber nicht abstrahiren von einem blaurothen Gemisch, in dem der kernfärbende Bestandtheil blau oder grün, das Eiweiss färbende roth oder gelb ist, wie dies Malfatti und Rosen thaten, indem ersterer Methylgrün + S-Fuchsin, letzterer Methylenblau + S-Fuchsin anwandte, da sich bekanntlich Kerne nicht in S-Fuchsin, Cytoplasma nicht in Methylgrün färben, nicht des Farbenton halber, sondern wegen ihrer chemischen Zusammensetzung. Die allgemeine Gültigkeit der Lehre Auerbach's ist sofort erschüttert, wenn man bedenkt, dass es auch rothe und gelbe basische, und blaue und grüne saure Farben giebt. Zu ersten gehören Carmin, Fuchsin, Magenta, Saffranin, Magdalaroth, Neutralroth, Vesuvin, Bismarckbraun, Chrysoidin, Auranin, zu letzteren Anilinblau, Bleu de Lyon, Wasserblau, Aechtblau, S-Violett, S-Grün, Lichtgrün.

Thatsächlich giebt auch Zimmermann, im Uebrigen ein Verfechter der Auerbach'schen Lehre, an (152a S. 22 und 23), dass „ausnahmsweise“ in einem Gemisch von Saffranin-Lichtgrün der Kern sich erythrophil verhielte. Gleiche „Ausnahmen“ könnte man beliebig viel finden mit Gemischen wie Fuchsin + Bleu de Lyon u. s. w.

Verhielte sich mit Auerbach der Zellkern schlechthin rothblauen Farbgemischen gegenüber cyanophil, dann müsste er aber auch aus 2 sauren Farben, z. B. S-Fuchsin + Lichtgrün, den grünen Farbstoff an sich ziehen, was, wie sich jeder leicht überzeugen kann, nicht der Fall ist.

Aber selbst wenn man entweder nur basische oder nur saure Gemische anwendet, kann von einer Cyanophilie des Kerns oder Erythrophilie des Cytoplasma nicht die Rede sein, vorausgesetzt, dass man nicht derartig unzweckmässige Mischungsverhältnisse anwendet, wie Zacharias^{152a}.

Um die Cyanophilie des Kerns gegenüber einem blaurothen Gemisch zweier nur basischer Farbstoffe zu beweisen, verwendet dieser Forscher Methylenblau und Fuchsin aa 0,5/5000. Eine elective Cyanophilie indess beweist sich nicht bei Anwendung gleicher Gewichtstheile Farbstoffes, da z. B. das Fuchsin specifisch schwerer als Methylenblau ist, weshalb von letzterem ein grösseres Volumen, d. h. mehr färbende blaue wie rothe Farbpunktel (Molekel) in Anwendung kommen mussten, der blaue Farbstoff also in der Uebermacht war, das Gemisch also ungeeignet war. Eine Cyanophilie der Kerne gegenüber verschiedenfarbigen basischen Farbstoffen würde nur bewiesen werden können mit Hülfe eines Gemisches, in dem rothe und blaue Farben in gleich starker Färbe Kraft zur Anwendung kommen. Das entsprechende Concentrationsverhältniss ist erreicht, wenn die Absorptionsstreifen beider Farbstoffcomponenten im Spectralapparat gleich dunkel erscheinen.

Verwendet man ein solches Gemisch, dann färben sich nach meinen Erfahrungen die Kerne sämtlich in der Mischfarbe und nur je nach dem Nucleinvorrath heller oder gesättigter. Auch Zimmermann hat mit seinem Fuchsin-Jodgrünemisch (157, 157a S. 6 und 35) hinsichtlich des tinctoriellen Verhaltens der Kerne bei den verschiedenen Pflanzen bedeutende Verschiedenheiten gefunden, indem sehr häufig das Chromatin sich erythrophil verhielt, desgleichen zeigten Rosen¹¹³ und Schottländer¹²⁵, dass die weiblichen Sexualkerne gewisser Pflanzen sich erythrophil verhalten; erythrophil sind ferner nach Schottländer (a. a. O.) die Kerne im Prothallium von Gymnogramme und nach Rosen (a. a. O.) die Kerne in den Wurzelhaubenzellen von Hyacinthus vor dem Absterben (s. Hermann⁴⁶). Vor Allem aber bewies Heine⁴⁴ an seinem Saffranin-Methylgrünemisch, dass die Vorbehandlung und Fixirung der Präparate von grösstem Einfluss auf der Färbung sei (s. o.). Es besteht demnach keine allgemeine Cyanophilie der Kerne und kein principieller Gegensatz zwischen blauen und rothen Farben. Beiläufig erwähnt würden wir vom Standpunkt der Auerbach'schen Lehre aus heute wahrscheinlich nur cyanophile oder nur erythrophile Leukocytengranulationen kennen, da man ja, wie leicht ersichtlich, die betreffenden Farben so wählen kann, dass sich sowohl oxyphile wie basophile, amphophile und neutrophile Granula entweder sämtlich roth oder sämtlich blau färben, während doch heute in Folge der Lehren Ehrlich's unsere Kenntnisse von dem chemischen Verhalten der Granula bei Weitem vertieftere sind.

Um die beschriebenen Kernschädigungen bei der Ehrlich'schen Fixation zu vermeiden, könnte es das einfachste scheinen, die Erhitzung abzukürzen, oder bei geringerer Temperatur vorzunehmen. Aber Ehrlich hat das zweistündige Erhitzen bei 120° gerade deshalb empfohlen, weil nur so das Hb derart vollständig fixirt wird, dass es bei der darauffolgenden Färbung nicht ausgelaugt wird; die Kernschädigungen waren für die klinische Diagnostik ziemlich irrelevant, obschon man trotzdem nicht allzu selten in die Lage kam, im Unsichern darüber zu sein, ob ein „kleiner Lymphocyt“ oder „Normoblast“ vorlag. Schwächt man demnach in besagter Weise die Erhitzung ab, so tritt auch in der That bei der Färbung eine Hb-Diffusion besonders leicht aus den Hb-armen Zellen ein, so dass auch bei Kernerhaltung es erschwert ist, Unterschiede zwischen Hb-führenden und Hb-freien Elementen aufzustellen.

Es wurde ferner die vollständige Fixation des an das Deckglas angetrockneten Blutes mittelst flüssiger und gasförmiger Fixationsmittel versucht, wie Nikiforoff's Alkoholäthergemisch, Sublimatalkohol, Sublimatosmiumsäure, welche sich mir bei Amphibienblut so vorzüglich bewährt hat, concentrirte Sublimatlösung, 4 pCt. Formollösung, ferner Aether-, Formol-, Jod- und Osmiumsäuredämpfe u. s. w. Die Resultate waren nicht ausreichend; relativ am besten waren Jod- und Osmiumdämpfe, sowie concentrirte wässrige Sublimatlösung.

Die Fixation mit Sublimatlösung stellt sich nun zu der Erhitzung folgendermaassen:

- 1) Bei langer starker Erhitzung — Hb fixirt, Kerne überfixirt.
- 2) Bei kurzer starker Erhitzung — Hb noch nicht fixirt, Kerne fixirt.
- 3) Bei langer oder kurzer, schwacher Erhitzung — weder Hb, noch Kerne fixirt.
- 4) Bei kurzer, sowie auch langer Einwirkung verdünnter Sublimatlösung — weder Hb, noch Kern ganz fixirt.
- 5) Bei kurzer Einwirkung concentrirter Sublimatlösung — Hb nicht fixirt, Kerne fixirt.
- 6) Bei langer Einwirkung concentrirter Sublimatlösung — Hb nicht fixirt, Kerne überfixirt.

Wir sehen also, dass bei No. 2 und 5 die Kerne gut fixirt und in Struktur wohlerhalten bleiben, bei den anderen Modificationen aber noch nicht hinreichend fixirt oder überfixirt werden. Aber sowohl bei No. 2, wie No. 5 ist das Hb noch nicht völlig fixirt. Ich versuchte deshalb beide so zu combiniren, dass das Hb völlig fixirt wurde ohne dass Ueberfixation der Kerne eintrat.

[Eine Combination von trockener Fixation durch Erhitzen und feuchter mittelst Flemming'scher Lösung war bereits von Löwit^{74, 74a} versucht worden, allerdings nur bei Blut, nicht bei lymphoiden Organen, auf die es uns zumeist ankommt. Löwit hat seine Deckglaspräparate vom Blut zwei Stunden lang im Trockenschrank bei 120° erhitzt und sie dann eine Stunde lang der Einwirkung Flemming'scher Lösung ausgesetzt. Da er dabei fand, dass durch das Erhitzen die Kerne der rothen Blutzellen nicht leiden, aber die weissen Blutzellen stark alterirt werden, hat er seine Deckglaspräparate von lymphoiden Organen nicht erhitzt, sondern sie nur in Flemming'sche Lösung eingelegt, wobei allerdings, wie er zugiebt, eine theilweise Entfärbung der rothen Zellen nicht vermieden werden konnte (s. o. S. 103).]

Die Fixation führte nun zu dem gewünschten Ziel, verhinderter Auslaugung von Hb ohne Ueberfixation der Kerne, in folgender fractionirter und summativer Handhabung: Die Deckglaspräparate werden 5—10 Minuten bei 120° erhitzt und schliesslich 3—5 Sekunden in concentrirte wässrige Sublimatlösung getaucht und darauf abgespült. Lässt man Hitze oder Sublimat zu lange einwirken, so werden nicht nur die Kerne, sondern auch das Hb überfixirt und färbt sich nachher mit basischen Farben, wird invertirt, gerade als ob vorher ein Chrom- oder Eisensalz als Beizmittel angewandt wäre. Diese Fixation entsprach nicht nur den gestellten Anforderungen an Erhaltung des Hb und der Kerne, sondern hat vor Allem auch den Vorzug grosser Zeitsparniss vor der gewöhnlichen zweistündigen Fixation durch Erhitzen, was die kleine Unbequemlichkeit der verschiedenen Manipulationen wohl aufwiegt.

Bei der Färbung wurde natürlich in erster Linie versucht, durch Kenntlichmachung des Hb die rothen und die in Rede

stehenden weissen Blutzellen auseinanderzuhalten. Da sich das Hb ebenso wie das Protoplasma diffus in sauren Farben färbt, ist es bei Anwendung von nur einer solchen Farbe, etwa Eosin, schon a priori klar, dass feinste Farbenunterschiede dem Auge entgehen müssen, und wennschon auch sehr Hb-reiche Formen von Hb-freien, ja sogar auch Hb-armen deutlich abstechen, da bei jenen das gelbliche Hb sichtlich zu dem rosa Farbstoff sich hinzuaddirt, so lässt die Empfindlichkeit des Gesichtssinnes und seine Zuverlässigkeit im Stich, wenn es gilt, sehr wenig gelbliches Hb führende Elemente von Hb-freien Formen zu unterscheiden. Noch schwieriger gestalten sich natürlich die Verhältnisse, wenn der angewandte Farbstoff selbst gelblich, etwa Pikrinsäure oder Aurantia ist, weil hier nur Abstufungen der Intensität und Sättigung, nicht auch, wie bei dem röthlichen Farbstoff, des Farbenton vorliegen, weshalb man in diesem Falle nicht nur auf das eine Merkmal, den Hb-Gehalt bauen kann, sondern zur Erkennung der rothen Blutzellen als solcher, mehrere Eigenschaften, wie äussere Form, hyalines Gefüge, Freisein von Granulationen u. s. w., heranziehen muss.

Die Thatsache, dass das Hb eine ächte, fast specifisch zu nennende Affinität, zu gewissen sauren Anilinfarben aufweist, so zwar, dass es aus Gemischen derselben gerade letztere auswählt, selbst wenn sie in minimalen Quantitäten vorhanden, und sie auch gegenüber der Einwirkung von entfärbenden Mitteln ziemlich beharrlich zurückhält, diese Thatsache könnte zu der Annahme verleiten, dass es mit Hülfe zweier saurer Farben ermöglicht werden könne, das Hb deutlich kenntlich zu machen, indem sich dieses mit der einen, das eigentliche Protoplasma mit der anderen sauren Farbe tingiren würde.

Solche von Ehrlich in die hämatologische Technik eingeführten Farbgemische sind die verschiedenen neutrophilen Mischungen, die Orange G und Fuchsin S enthalten, und das Glyceringemisch, welches Aurantia, (Naphthylamingelb), und Eosin enthält, und welch' letzteres ich besonders in den beiden Modificationen von Schwarze und von Huber anwendete.

Die Erfahrung lehrt nun aber, dass unsere Absicht auch hiermit nicht völlig erreicht wird. Zwar weisen Leukocyten

und kernlose Erythrocytoden völlig verschiedenen Farbenton auf, indem letztere wohl nur Gelb, je nach dem Hb-Gehalt mehr oder weniger erstere fast nur Roth aufnehmen, aber gerade die kernhaltigen Erythrocyten, die noch ächte Zellen sind, und auf die es uns zumeist ankommt, zeigen einen Mischton aus Roth und Gelb in allen möglichen Schattirungen und Abstufungen, zum Beweis, dass sie in ihrer Sarcode noch einen ächt protoplasmatischen, roth sich färbenden Bestandtheil führen, der bei der Entkernung verloren geht. Im Grossen und Ganzen erscheint das Cytoplasma der Protophyten bei gleichem gelbrothen Farbenton weniger gesättigt als das der Metaphyten (Fig. 61, 72 — 63, 74 — 66, 78), dagegen bei beiden Arten das der jungen Zellen relativ mehr roth als gelb, das der alten relativ mehr gelb als roth gefärbt (Fig. 61, 66 — 72, 78), woraus indess nicht zu folgern ist, dass mit zunehmendem Alter der roth sich färbende Bestandtheil allmählich verloren geht, denn der Leib der alten Zellen enthält kaum weniger roth sich färbende Substanz als der der jungen, sondern bloss, dass mit zunehmendem Alter der gelb sich färbende Anteil, das Hb, an Menge zunimmt und weniger durch eigentlich protoplasmatisches Eiweiss verdünnt erscheint. Somit ist ersichtlich, dass die jungen, Hb-armen und ziemlich überwiegend röthlich gefärbten Zellen äusserst schwer als überhaupt schon Hb-führend zu begutachten sind.

Da das Hb sich schliesslich mit allen sauren, und auch das protoplasmatische Eiweiss sich ebenfalls mit den specifisch das Hb färbenden sauren Farben tingirt, so würde ein wesentlicher Vortheil auch nicht erreicht bei Anwendung zweier indifferenter saurer Farben, wie S-Fuchsin und Lichtgrün, sowie ferner nicht bei Anwendung zweier, specifische Affinität zu Hb aufweisenden Farben, wie Orange-S und Indigocarmine.

Nach meinen bisherigen Erfahrungen scheinen die specifisch das Hb bevorzugenden sauren Farben das mit einander gemein zu haben, dass sie zu den sogenannten „in sich neutralen“ Farben gehören, die in derselben Molekel neben einander sowohl eine saure, z. B. Oxy- oder Nitrogruppe, als auch eine basische, etwa Amidogruppe, besitzen, im Gegensatz zu den eigentlich neutralen Farben, die aus einer Farbsäure und einer Farbbase bestehen,

z. B. rosanilinsulfosaures Rosanilin u. s. w. (s. S. 125). Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die HS-Gruppe der Hb-Molekel Ursache der Affinität des Hb zu diesen sauren, in sich neutralen Farben ist, zu denen Aurantia, Corallin, Indigocarmine, Chromviolett gehören. Prototyp dieser Gruppe sind die Tropäoline und Orangefarben = amidoazosulfosaure Alkalien.

Zu den in sich neutralen Farben dürften ferner aber auch gewisse basische Farbstoffe, wie die Lauth'schen Farben, die Thionine (Amethyst), das Toluidinblau, das Methylenblau gehören, und in der That wäre hierbei, besonders mit Methylenblau, das ersehnte Ziel fast erreicht worden, indem es die Kerne blau, das Hb leicht grünlich, das eigentliche Protoplasma gar nicht färbt, wenn nicht gerade das unreife Protoplasma jugendlicher Zellen, also auch der Leukocyten (s. S. 117), basophile Eigenschaften hätte, so dass das Auge bei jungen, grosskernigen Hb-armen Zellen nicht entscheiden kann, ob schon grün oder noch blau vorliegt. Leider fehlt eine Beize, die den basischen Farbstoff adjectiv nur an das Hb bindet. Beizt man in Kaliumbichromat, so wird der angewandte basische Farbstoff als Lack auch auf dem Zellleib der Hb-freien Elemente niedergeschlagen und der Effect ist derselbe, als wenn man ohne Beize einen sauren Farbstoff angewandt hätte.

Unterlassen wurde es auch nicht, die ächte specifische Affinität des Hb zu in sich neutralen sauren Farben von dem Gesichtspunkt aus auszunutzen, dass das Hb nicht nur sehr gierig dieselben aufnimmt, sondern sie auch Entfärbungsmitteln gegenüber ziemlich fest zurück hält, während das eigentliche Protoplasma den sauren Farbstoff leichter abgibt, so dass nach der Entfärbung nur das Hb hätte gefärbt bleiben müssen.

Ich versuchte folgende zwei Arten:

Erstens Färbung in einer filtrirten Mischung hergestellt aus

Eosin spritlöslich	4 Theile
Orange-G wasserlöslich	1 Theil
Sulfanilsäure	2 Theile
Alkohol	200
Wasser	50

Entfärbung in absolutem Alkohol + Glycerin aa. Nachfärbung in Methylgrün.

Zweitens Färbung in einer Mischung, bestehend aus

Aurantia spritlöslich	1 Theil
S-Rubin wasserlöslich	4 Theile
Alkohol	50 -
Anilinwasser	200 -

Entfärbung in mit Essigsäure schwach angesäuertem Wasser.
Nachfärbung in Methylgrün.

Der Erfolg hätte ein idealer sein können, wenn die Vertheilung des Hb in allen rothen Elementen die gleiche wäre; so aber, wo die Entfärbung so lange zu dauern hat, bis aller rother Farbstoff vom Protoplasma abgegeben ist, ist es nicht zu vermeiden, dass auch das Hb etwas von seinem gelben Farbstoff verliert; bei den sehr Hb reichen Elementen bleibt dabei noch hinlänglich genug zurück, um sie als solche zu recognosciren, aber die sehr Hb armen Zellen büssen doch das bischen Farbstoff, was sie aufgenommen hatten, so gut wie völlig ein, und sind dann, wie im ungefärbten Präparat, nicht von jungen, grosskernigen, schmalleibigen Leukocyten zu unterscheiden.

Das Resultat war das gleiche, nicht ausreichende, wenn die Entfärbung an einem Präparat vollzogen wurde, das nur mit Einer einfach sauren (Eosin französisch nach Ranzier) oder in sich neutralen sauren (Orange-G) Farbe behandelt worden war.

Wir sehen also, dass es nicht mit hinreichender Sicherheit möglich ist, durch die Färbung das Vorhandensein geringer Spuren von Hb zu constatiren, wie es nötig wäre, um rothe und weisse Zellen behufs Feststellung von Unterschieden gehörig auseinander zu halten.

[Nebenbei aber zeigt eine systematische Färbung mit sauren Farben, dass zwar innerhalb eines und desselben Präparates je nach dem Hb-Gehalt der Elemente der Farbenton gewisse Abstufungen von gelblich-roth zu röthlich-gelb annimmt, dass aber, vorausgesetzt gleiche Behandlung, d. h. Fixation und Färbung, der Präparate, in mehreren Präparaten desselben Thieres oder derselben Thierart der Farbenton constant ist, dagegen abweicht bei in gleicher Weise behandelten Präparaten eines anderen Thieres. Wahrscheinlich handelt es sich dabei nicht um quan-

titative, sondern qualitative specifische Art-Differenzen in der chemischen Zusammensetzung des Hb.

Zwar lässt das Hämatin aus Oxyhämoglobin aus verschiedene Herkunft, sowie das Hämochromogen aus Hämoglobin aus verschiedener Herkunft keine chemischen Differenzen erkennen, wie Nencki und Sieber⁹⁰ gezeigt haben, aber das O²Hb und das Hb der verschiedenen Thiere ist keineswegs identisch, wie sich aus der differirenden Krystallform (mit Ausnahme des Hamsters und Eichhörnchens, wo hexagonale Tafeln auftreten, stets verschiedene Formen des rhombischen Systems), dem wechselnden Krystallwassergehalt, der verschiedenen Löslichkeit und vor Allem der abweichenden elementaren Zusammensetzung, sowie der ungleichen Resistenz gegen zersetzende Reagentien nach den Feststellungen Körber's⁶³ und Krüger's^{160a} ergiebt.

Es ist nicht unwahrscheinlich, dass diese Differenzen zumal des Farbenton bei der Färbung auf dem wechselnden S-Gehalt des Hb verschiedener Thierklassen beruhen.]

Ueber eosinophile Zellen.

Bei dem methodischen Vergleichen der verschiedenen sauren Farbstoffe hinsichtlich ihrer Werthigkeit, fielen mir einige Punkte auf, die vielleicht geeignet sein dürften, einiges Licht über die Bedeutung der sogenannten eosinophilen Granulationen zu verbreiten, die von gewissen Leukocyten, sowohl des Proto- wie Metacharakters, während ihrer ganzen Lebensdauer, also im jugendlich rundkernigen, wie älteren polymorphkernigen Zustand ständig gebildet werden.

Die eosinophilen Granulationen haben ihren Namen daher, weil sie aus dem Ehrlich'schen Glyceringemisch, im Gegensatz zum Aurantia-affinen Hb, das Eosin an sich reissen; aus den neutrophilen Mischungen nehmen sie dagegen S-Fuchsin auf; auch sind sie congophil.

Wie aus den Untersuchungen Hirschfeld's^{47, 47a} hervorgeht, haben nicht alle Thiere eosinophile Zellen, wohl aber finden sich stets oxyphile, und die eosinophilen sind nur eine Unterabtheilung dieser, die beim Pferd z. B. durch Indulin + Eosin aufnehmende Granulationen, bei Hund und Katze durch Eosin + Aurantia aufnehmende ersetzt und vertreten werden.

Es wurde oben (s. S. 116) auseinandergesetzt, dass die Leukocyten mit oxyphilen Granulationen in der Descendenz am höchsten ständen, die basophilen am wenigsten differenzirt erschienen. Zwischen ibnen liegen, abgesehen von den Zellen mit gemischten Granulationen, als ausgeprägte Uebergangarten die neutrophilen, amphophilen und indulinophilen Zellen. Diese Uebergangarten aber sind es nun, die einerseits den Beweis dafür zulassen, dass eine allmähliche aufsteigende Entwicklung der Leukocyten bis zur

Potenz der Production oxyphiler Granulationen stattgefunden hat, andererseits die Behauptung nicht unbegründet erscheinen lassen, dass zwischen oxyphilen Granulis und Hb gewisse Beziehungen bestehen.

Bei jedem Thier — zu Grunde lege ich nur die von Hirschfeld untersuchten Klassen — finden sich nehmlich basophile, bei jedem Thier oxyphile und bei jedem Thier „Uebergangsgranulationen“. Letztere sind neutrophiler Art bei Mensch und Hund (Methylgrün + S-Fuchsin), sowie bei Schaf, Ziege, Rind und Schwein (Methylgrün + S-Fuchsin — Methylgrün + Orange). Bei der Maus finden sich statt ihrer neben basophilen und oxyphilen Zellen solche ohne Granula; beim Kaninchen und bei der Katze Zellen mit amphophilen Granulationen. Beim Kaninchen nun färben sich diese amphophilen Granula sowohl mit basischen, wie auch mit sauren Farben; aus der neutrophilen Mischung nehmen sie das frei verfügbliche S-Fuchsin auf, aus dem Glyceringemisch hingegen Indulin. Bei der Katze färben sich die amphophilen Uebergangsgranula dagegen nur entweder mit neutrophilen oder mit sauren Farben, hingegen nicht mit basischen; aus dem Glyceringemisch nehmen sie Aurantia + Eosin auf. Beim Meerschweinchen schliesslich sind die „Uebergangsgranulationen“ vertreten durch Leukocyten, deren Granula nur Indulin aufnehmen.

Wir nehmen nun in der Chromophilie des Eiweisses der amphophilen Granulationen folgende aufsteigende Reihe an:

Erstens noch ziemlich universale Affinität zu drei Farbarten beim Kaninchen, nehmlich zu basischen Farben, zum Indulin und zum gewöhnlich sauren S-Rubin.

Zweitens zwiefache Affinität bei der Katze und zwar sowohl zu neutralen Farben als auch zu sauren, und zwar nehmen sie, falls nur mit Mischungen solcher gefärbt wird, immer gleich zwei, Eosin + Aurantia, S-Rubin + Orange G, also einfach saure und in sich neutrale saure Farben auf.

Denn wir behaupten, dass mit zunehmender Affinität zu den in sich neutralen Farben die Molekularstruktur des Granulationsproteins sich der des Hb genähert hat.

So stehen die neutrophilen Granula von Schaf, Ziege, Rind und Schwein in Bezug auf die Molekularstruktur ihres Proteins höher als die von Mensch und Hund, da sie zu Methylgrün und S-Fuchsin noch außerdem Orange aufnehmen.

Die amphophilen Granulationen der Katze stehen höher als die des Kaninchens. Letztere nehmen, wenn mit neutrophilen Mischungen oder mit Gemischen bloss saurer Farben gefärbt wird, allein S-Rubin oder Eosin, erstere aber S-Rubin + Orange, Eosin + Aurantia auf; aus dem Glyceringemisch nehmen erstere ebenfalls Eosin + Aurantia auf, während letztere nur Indulin festhalten.

Wie also die Leukocyten mit gemischten Granulis in einem Zellleib nicht so hoch differenzirt erscheinen, wie die, deren Zellleib nur Granula derselben Art producirt, abgesehen natürlich von den zuniederst stehenden basophilen Zellen, so erscheinen hinwiederum von diesen letzten diejenigen als die höher ausgebildeten, deren Granula eine Verwandtschaft zu den basischen Farben verloren, zu den sauren Farben aber und speciell zu in sich neutralen erlangt haben.

Demnach werden wir also auch berechtigt sein dürfen, unter den rein oxyphilen Granulationen höher und niedriger differenzirte zu unterscheiden.

Um nun die niedrig stehenden oxyphilen Granulationen festzustellen, dafür geben uns ebenfalls die „Uebergangsgranulationen“ einen Hinweis.

Wir sahen nehmlich, dass die niedrigen amphophilen Zellen des Kaninchens, die noch keine besonders elective Affinität zu in sich neutralen sauren Farben erlangt haben, die sich auch noch mit basischen Farben tingiren, aus dem Glyceringemisch Indulin aufnehmen, was die höheren amphophilen Granulationen zu Gunsten von Eosin + Aurantia verschmähen, und es dürfte demnach wohl berechtigt erscheinen, die Indulinophilie als die niedrste Stufe der Oxyphilie anzusehen, die zugleich auch die höchste Stufe der Basophilie vorstellt, da sich zu stark fixirte Kerne in dem Glyceringemisch ebenfalls mit Indulin färben (s. o. S. 122). Demnach würden die in Bezug auf das Glyceringemisch ächt indulinophilen „Uebergangsgranulationen“ des Meerschweinchens im strengsten Sinne des Wortes von den rein basophilen Granulationen zu den rein oxyphilen hinüberleiten, bei diesen hinwiederum würden die Indulin + Eosin aufnehmenden des Pferdes niedriger stehen als die rein eosinophilen bei den meisten Thieren, wie Schaf, Ziege, Rind, Schwein, Maus, Ratte, Kaninchen, Meerschwein, Mensch u. s. w., und diese rein eosinophilen niedriger stehen, als die Aurantia + Eosin aufnehmenden Granulationen von Hund und Katze. [In den neutrophilen Mischungen nehmen die indulinen „Uebergangsgranulationen“ des Meerschweinchens, sowie die oxyphilen (Indulin + Eosin im Glyceringemisch) Granulationen des Pferdes ebenso wie die amphophilen Zellen des Kaninchens nur S-Rubin auf.] Eigenartig erscheint es, dass speciell bei der Katze sowohl die amphophilen als auch die oxyphilen Zellen bei Anwendung des Glyceringemisches sowie Mischungen saurer Farben Aurantia + Eosin, Orange + S-Rubin aufnehmen. In den neutrophilen Mischungen nehmen erstere Methylgrün + S-Rubin + Orange, letztere S-Rubin + Orange auf.

Durch Combination und Zusammenstellung des so eben Ausgeföhrten erhalten wir demnach folgendes System der Leukocytengranulationen.

A. basophile

- 1) granulationslose der Maus,
- 2) amphophile des Kaninchens
(basophil, indulinophil, einfach oxyphil),
- 3) neutrophile des Menschen und Hundes
(Methylgrün + S-Rubin),
- 4) indulinophile des Meerschweinchens,
- 5) neutrophile von Schaf, Ziege, Rind, Schwein,
Ratte
(Methylgrün + S-Rubin + Orange),
- 6) amphophile der Katze
(neutrophil und oxyphil zu in sich neutralen sauren Farben; Methylgrün + S-Rubin + Orange -- S-Rubin + Orange oder Eosin + Aurantia).

B. Uebergangsgranulationen

C. oxyphile

- 1) des Pferdes
(Indulin + Eosin),
- 2) Schaf, Ziege, Rind,
Schwein, Maus, Ratte,
Kaninchen, Meerschwein,
Mensch
(Eosin, S-Rubin),
- 3) Hund, Katze
(Aurantia + Eosin,
Orange + S-Rubin).

Wir haben demnach von der Basophilie des Chromatins, des Eiweisses der Kerne, eine fortschreitende und aufsteigende Molekularentwickelung bis zur Oxyphilie, welche mit der Affinität des Hb bloss zu in sich neutralen Farben ihren Höhepunkt erreicht, und zwar nehmen die kernhalten Erythrocyten noch Orange-G + Fuchsin-S auf, die kernlosen Erythrocytoden aber nur Orange-G (s. o. S. 131).

Diese allmähliche molekulare Umgestaltung des basophilen in oxyphiles Eiweiss, und des indulinophilen in aurantiophiles, wie sie sich physiologisch in den verschiedenen chromophilen Granulationen der Leukocyten findet, kann auch durch künstliche Eingriffe, wie z. B. das Erhitzen, erzielt werden.

Wie in dieser Abhandlung bereits mehrfach erwähnt, wird das basophile Karyoplasma, das Chromatin der Kerne, durch starkes Erhitzen erst indulinophil, und später oxyphil, wobei dann Unna's saure Kerne entstehen (s. o. S. 122). Ebenso werden die Indulin + Eosin aufnehmenden oxyphilen Granulationen des Pferdes durch stärkeres Erhitzen rein eosinophil, die eosinophilen Zellen des Menschen erlangen durch stärkeres Erhitzen eine Affinität zu Eosin + Aurentia (s. a. Rieder^{11b}, Taf. IX Fig. 36). Die Eosin + Aurantia aufnehmenden Granulationen des Hundes werden durch intensives Erhitzen derart moderirt, dass sie rein aurantiophil werden. Jetzt ist der Höhepunkt der Oxyphilie erreicht und es tritt ein Umschlag, eine Inversion der Chromophilie ein; gleichzeitig nehmlich hat das Hb der Erythrocyten und Erythrocytoden seine Aurantiophilie eingebüsst und eine Affinität zu Indulin erlangt (s. Rieder a. a. O.), die bei noch stärkerem Erhitzen zu einer Saffranophilie wird (s. Pappenheim^{97a} S. 89) und allmählich in eine ächte Basophilie übergeht, gleichsam als ob das Präparat mit Chromsalzen gebeizt gewesen wäre.

Hieraus ist ersichtlich, dass das Eiweiss der oxyphilen Granulationen dem Hb verwandt und in eine diesem ähnliche Modification überführbar ist; vielleicht ist es eine Art von Vorstufe, womit indess noch keineswegs gesagt ist, dass das Hb aus dem Eiweiss der oxyphilen Granulationen hervorgehen muss, bezw. letzteres in ersteres übergehen muss.

Dass die eosinophilen Granulationen ebenso wie das Hb thatsächlich aus Eiweiss bestehen, zeigte Weiss¹⁴⁸, dem es gelang, an ihnen die Furfurolreaction von Molisch und Udránsky, ferner die Cynamylaldehyd-, Salicylaldehyd- und Vanillinreactionen nachzuweisen, welche nach Mikusch und Reichl Eiweissreactionen sind.

Dass aber die eosinophilen Granulationen, ebenso wie das Hb, „verstecktes“ Eisen besitzen, zeigte Barker⁵ mit Hülfe der Methode MacCallum's⁷⁷, während die neutrophilen Granulationen auf Grund von farbenanalytischen Untersuchungen nach Posner¹⁰² und Lilienfeld^{73a} aus eisenfreiem phosphorsaurem Nucleoalbumin bestehen sollen.

Der nun zwar naheliegende, aber meiner Meinung nach unnötige und unberechtigte Schluss, dass das eosinophile Eiweiss zu dem Hb der Erythrocyten wird, bezw. letzteres sich allein nur aus diesem bildet, ist von Osler⁹⁵ und Bannwarth⁴ gezogen worden. Ich glaube vielmehr, dass

die oxyphilen Granulationen, ebenso wie das Hb (s. o. S. 93) mit Hülfe des eisenhaltigen Nucleins der Zelkerne sich bildet, wofür in ähnlicher Weise auch Tettenhamer¹²⁷, Przwsky¹⁰⁵ und Sacharoff¹¹⁵ eintreten.

Wir haben uns oben darüber verständigt, dass das Cytoplasma der basophilen Leukocyten mit Hülfe der specifischen Energie seines Kerns etwaig aufgenommenes Hämatogen und dergl. in Hb umzuwandeln scheint; ebenso sprechen des öfteren von mir bei Amphibien und Säugern in Milz und Knochenmark erhobene Befunde dafür, dass gewisse andere Leukocyten (Fibroblasten des Granulationsgewebes?), deren Art ich bis jetzt noch nicht sicher bestimmen konnte, in ihrem Zellleib aufgenommenes Hb natürlich ebenfalls mit Zuthun der specifischen Potenz ihres Kerns, in oxyphile Granula umzuwandeln und verarbeiten, so dass nicht die oxyphilen Granula in Hb, sondern das Hb in oxyphile Granula überzugehen scheint, und hierzu, ebenso wie bei der Fabrication von Hb, sowohl ein äusserer wie ein innerer, vom Kern ausgehender Antrieb nöthig zu sein scheint, die Granula also thatsächlich ursprünglich Producte nutritiver Stoffwechselvorgänge sind.

Ich glaubte nehmlich des öfteren gewisse Bilder so deuten zu müssen, dass besonders bei physiologisch durch Cytolyse zu Grunde gehenden Protophyten das diffundirende Hb von daneben liegenden Rundzellen endosmotisch aufgenommen zu werden und in Gestalt von oxyphilen Granulationen in der Sarcode abgeschieden zu werden scheint, da nur an der dicht dem zerfliessenden Protophyten anliegenden Seite ebenso wie das Hb sich färbende, Aurantia + Eosin aufnehmende Granula anzutreffen waren. Demnach scheint ebenso wie bei Erythrocyten ein zwiefacher Modus der Entstehung und Vermehrung angenommen werden zu müssen, einmal plastische Arterhaltung durch Theilung, und dann Neubildung aus bisher nicht oxyphil granulirten Zellen auf trophische Weise durch Zufuhr, Aufnahme, Assimilation und Verarbeitung von Hb-Derivat. Je nach der Todesart des rothen Blutkörperchens und je nach der zufällig dabei zugegen seindenden Leukocytenart wird demnach die descriptive Morphologie verschiedene Bilder als Resultat und Combinationseffekt der Nekrobiose rother Blutkörperchen und Phagocytose weisser Zellen zu verzeichnen haben.

So werden gewisse farblose Zellen, die ganzenekrotische Erythrocyten in sich aufnehmen, zu den bekannten blutkörperchenhaltigen Zellen von v. Gerlach, Langhans, Nasse, Quincke (s. Gulland^{41b} und Kultschitzky^{67a}), die sich in allen hämolysischen Organen finden, wie in der Leber (Gerlach, Schaffner), in der Milz (Köllicker, Ecker, Henle, Kusnetzow), im Knochenmark (Freiberg), in den Lymphdrüsen (Schumacher). Ferner sind beschrieben Zellen, die Hämatinschollen in sich tragen, sowie die sogenannten Melanocyten, die gelbes, braunes und schwarzes Pigment hämatischer Abstammung in ihrer Leibessubstanz führen und zu denen wohl auch die Herzfehlerzellen zu rechnen sind. Schliesslich erwähnt Schumacher¹²⁷ farblose Zellen, die dicht mit Hämatoidinkristallen besetzt sind. Hierher scheinen mir nun auch die oxyphil granulirten Leukocyten gerechnet werden zu müssen. In Uebereinstimmung mit

Gabbi^{30, 30a} und Freiberg²⁷ fand ich nehmlich, dass bei entmilzten Kaninchen die hämolytische Function der Milz auf das Knochenmark übergeht, und entsprechend hier sowohl Melanozyten, wie eosinophile Zellen in enormer Menge vermehrt sind. Der Prozess der Production von oxyphilen Eiweissgranulationen ist also der gleiche, wie der der Hb-Production; der verschiedene Effekt dieses Prozesses aber wird bedingt durch die differente und differenzirte Specificität der in Betracht kommenden Zellen, die sich ihrerseits wieder in der Verschiedenheit der Art bestimmenden, Art erhaltenden und daher innerhalb der Art stabilen Zellkerne, ihrem verschiedenen Chemismus und daher auch verschiedenem Functioniren ausdrückt. Hiermit stimmt auch recht gut überein, dass der elementare Bau der rothen Blutzelle ursprünglich ein granulärer ist (s. o. S. 96) und auch die zuerst im Embryo auftretenden Erythrocyten von den Autoren als granulirt beschrieben werden; dass andererseits in rundkernigen jungen, im Entstehen begriffenen, oxyphil granulirten Leukocyten die Granula so dicht angeordnet stehen, dass der Zellleib bei der grobkörnigen Metaform fast hyalin, bei der feinkörnigeren Protoform ähnlich zart chagrinirt, wie die entsprechenden Protophyten erscheint.

Ob die oxyphil granulirten Leukocyten in irgend welcher Beziehung stehen zu den oben erwähnten Zellen von Erb oder Schmidt-Semmer, ist nicht mit Bestimmtheit zu bejahen oder zu verneinen; indess glaube ich, dass man nach dem Auseinandersetzen berechtigt sein darf, in dem Auftreten der oxyphilen Granulationen vielleicht eine Art von Heteromorphose oder atavistischer Hb-Regeneration zu sehen, die Granula selbst aber für eine Form von unfertigem, rudimentärem Hb anzusprechen.

Die Aufnahme des diffundirenden Hb aus cytolytisch degenerirenden Erythrocyten und die Verarbeitung desselben zu oxyphilen Granulationen ist aber wahrscheinlich nicht der Endzweck der Existenz dieser specifisch dazu befähigten Leukocytenart, sondern wohl nur das Mittel zur Verrichtung gewisser, allerdings noch unbekannter Functionen, wie ja auch die basophilen Leukocyten mit der Bereitung des Hb sich nur ein Werkzeug zur O-Bindung und Uebertragung hergestellt haben. Dass diese Function der oxyphilen Leukocyten ebenfalls eine mehr specifische sein wird und nicht in so allgemeinen Verrichtungen, wie das z. B. die Phagocytose ist, sich erschöpft — eosinophile Phagocyten sind nehmlich von Schwarze¹²⁹ beschrieben worden — dürfte nicht von der Hand zu weisen sein; bis jetzt scheinen indess ihre Daseinsbedingungen noch nicht genügend erforscht zu sein: am bekanntesten ist ihre allgemeine Vermehrung bei Leukämie und ihr gehäuftes locales, also von granulirenden, bindegewebigen Stromazellen sich ableitendes Vorkommen bei gewissen Dermatosen, Portiocarcinom, Tripper, einzelnen Respirationskrankheiten, Asthma, Nasenpolyp u. s. w.

Gerade ihr Vorkommen bei Leukämie und den erwähnten Respirations-erkrankungen erscheint vorragend geeignet, einen Beweis für die Specificität der oxyphilen Zellkerne zu erbringen.

Gleichzeitig mit ihrer heteronomen Vermehrung bei erwähnten Krank-

heiten fiel nehmlich das Auftreten der sogenannten Charcot-Leyden'schen Krystalle auf, so dass der Schluss durchaus berechtigt erscheint, beide Bildungen mit einander in genetischen Connex zu setzen, da bis jetzt wenigstens ein Tertium fehlt, als dessen coordinirte simultane Coeffekte, Eosinophilie und Krystallbildung anzusehen wären (s. Meissen⁸²). Diese Krystalle nun, die von Charcot, Robin, Zenker, Neumann und Eberth in Milz und Knochenmark leukämischer Leichen, sowie im nicht frischen leukämischen Blute beschrieben, von v. Leyden und Zenker im Asthmasputum, von Förster, Friedreich und Hartwig im Sputum bei chronischer Bronchitis gefunden worden sind, bestehen nach Schreiner, der sie auch in der Spermaflüssigkeit fand, aus Sperminphosphat. Nun ist aber nach Ladenburg das Spermin nichts Anderes als Diäthylendiamin, d. h. eine Base, die mit den Ptomainen ähnlich verwandt ist, wie die Kreatin- und Xanthinbasen mit den Leucomainen. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, wofür auch die Form der Verbindung mit Phosphorsäure spricht, dass die Charcot-Leyden'schen Krystalle von den Kernen der eosinophilen Zellen abstammen, indem das Spermin oder eine Vorstufe desselben, wie die gewöhnlichen Xanthinbasen, dort einen Bestandtheil der specifischen Nucleinsäure bildet, der dann bei der regressiven Metamorphose (Fäulniss?) frei wird. Solche, wie das Spermin mehr specifischen, nicht in allen Kernen vorkommenden Nucleinbasen giebt es mehrere, z. B. das Plasmatin im Ochsenblut, das Plasmin der Hefe, Karnin der Muskeln, Miescher's Protamin im Lachssperma, sowie bei Pflanzen Coffein, Theobromin, Theophyllin, Vernin u. s. w. (über Adenin, Thymin und Cytosin im Leukonuclein s. o. S. 94). Interessant ist, dass dieses Spermin, Diäthylendiamin, Athylenimin oder Piperazin der bei der Leukämie vermehrten eosinophilen Zellen hervorragend harnsäurelösende Eigenschaften hat, während die Kernbasen der bei der Leukämie ebenfalls vermehrten anderen Leukocyten bekanntlich in Harnsäure übergehen. [Bei der Gicht und harnsauren Diathese hat Neusser⁹¹ bei allen Leukocyten gewisse basophile Körnchen in der Umgebung des Kerns gesehen.]

Bei gewissen Thieren (Schaf, Ratte, Maus; s. a. Fig. 10, 11, 20, 21) sind die Kerne der eosinophilen Zellen, sowohl die jungen runden, als auch die gealterten polymorphen, häufig besonders arm an Chromatin, so dass dieser Chromatinmangel mit dem Alter nichts zu thun zu haben scheint; derselbe dürfte vielleicht als Ausdruck schwacher Fortpflanzungsfähigkeit und generativer Erschöpfung zu deuten sein. Ursache dieser Nucleinarmuth, die sich in gleicher Weise auch bei basophilen Mastzellen findet, scheint der Uebergang von Kernbestandtheilen in die oxyphilen Granula bei der Bildung dieser zu sein. Sich theilende eosinophile Zellen und Mastzellen haben stets sich stark färbende Kerne.

Auch in diesem Fall sehen wir wieder, wie infantile und involutive Gebilde gleiche Erscheinungsform darbieten können, nemlich Chromatinarmuth: dieselbe ist nicht schlechthin mit Pfitzner ein Ausdruck der Jugendlichkeit, sondern kommt bekanntlich auch degenerativ in Form von

Karyolyse und bei Unna's „sauren“ Kernen vor; unreife und erschöpfte Elemente sind in gleicher Weise zeugungsunfähig. Nach Kossel ist nehmlich die physiologische Function des Nucleins in einer Production neuen organischen Materials zu suchen. Während z. B. das embryonale Gehirn sehr reich an Nuclein ist, ist das ausgebildete Gehirn trotz seines Zellenreichtums hieran ziemlich arm, und während im embryonalen Leben lebhafte Zellproliferation statt hat, findet im ausgewachsenen Gehirn, wo die Ganglienzelle für ihre specifische Function ausgebildet ist, bekanntlich keine Neubildung und Ersatz mehr statt. (Vergl. auch über Karyorrhexis degenerirender Ganglienzellen bei Vas¹⁴³ und Hodge¹⁴⁵).

Obwohl die an den Begriffsinhalt eines rothen Blutkörperchens geknüpfte Vorstellung vor Allem das Vorhandensein von Hb erheischt, so müssen wir doch wohl oder übel andere, allein den Erythrocyten eigenthümliche Merkmale aufzufinden suchen, da, wie wir gesehen haben, das Vorhandensein geringster Spuren von Hb in Folge der Unzulänglichkeit unserer technischer Hülfsmittel im Einzelfall vorläufig nicht mit genügender Genauigkeit festgestellt werden kann.

Hoffentlich wird es nicht als Willkür ausgelegt werden, wenn wir im Kerntypus ein geeignetes Gattungsmerkmal zur Unterscheidung der Erythrocyten von den Leukocyten zu finden erwarten, ist doch die Anordnung des Chromatins, zumal in ruhenden jungen Kernen, in jeder histologischen Gattung eine typisch stabile, so dass die Folgerung berechtigt erscheint, dass Zellen mit isotyphen Kernen derselben Gattung zugehören. Da nun verschiedene Zellgattungen verschiedene Kerntypen aufweisen, werden wir auch an den Verschiedenheiten dieses Typus die verschiedenen Gattungen auseinander halten können. Sonach ist es wieder der Kern, der in letzter Hinsicht dasjenige Element ist, dem die Zelle ihr typisches Gepräge, den Stempel ihres histologischen Werthes verdankt. Der Kern ist, sagt Nissl, der Index der Zellgattung.

Ich behaupte nun, dass alle Zellen in unseren Präparaten, deren Kerne völlig homolog denen in ausgeprägten, Hb führenden, natürlich jungen Erythrocyten sind, ebenfalls zu den Erythrocyten zu rechnen sind, auch wenn in ihrer Sarcode das Hb wegen seiner geringen Menge noch nicht mittelst Färbung

sicher nachweisbar erscheint. Zu dieser Annahme fühle ich mich um so mehr berechtigt, als ich in meinen Präparaten nie Zellen gefunden habe, deren Kerne leukocytischen Typus aufwiesen, deren Cytoplasma aber Hb führte (s. oben S. 118), wo Jawein wahrscheinlich in Leukocyten und Erythrocyten nur gleichen amblychromatischen Charakter gesehen haben dürfte. Unter dieser Voraussetzung erscheinen meine Erythrocyten mit noch nicht nachweisbarem Hb identisch mit Löwit's farblosen „Leukoblasten“, nur dass auch seine „Erythroblasten“ zum Theil wenigstens zu unseren Erythrocyten gehören, da solche Chromatinanordnungen, wie er für letztere angegeben hat, auch sicher bei unseren Hb-führenden Erythrocyten vorkommen (s. oben S. 103), so dass seine Leukoblasten vielleicht ausgelaugte Erythrocyten sein könnten. Wie wir sehen werden, weichen die von uns gefundenen morphologischen Differenzen in der typischen Chromatinanordnung bei jungen Erythrocyten und jungen Leukocyten ziemlich erheblich von den von Löwit aufgestellten ab.

Aber wenn doch junge basophile Leukocyten und junge Erythrocyten, die in genetischem Connex stehen sollen, gänzlich verschiedene Kerntypen aufweisen, seien es nun die von Löwit beschriebenen oder andere, dann hätte ja Löwit Recht, trotz aller theoretischer Erwägungen einen solchen Connex in Abrede zu stellen, um so mehr, als Zellen mit Leukocytenkern und Hb-führendem Cytoplasma als Uebergangsformen nicht vorkommen. Dem ist nur entgegenzuhalten, dass Zellen mit noch nicht nachweisbarem Hb vorkommen, zwar nicht allzuhäufig wegen der wahrscheinlich nur kurzen Dauer der Uebergangsphase und der geringen Wahrscheinlichkeit der Fixation gerade in dem betreffenden Moment, bei denen aber im Grossen und Ganzen das Kernchromatin bereits den Typus Erythrocytenanordnung aufweist, während im Einzelnen noch den Leukocytenkernen zukommende Eigenthümlichkeiten fortbestehen (s. unten S. 150). Ob diese Zellen noch Hb-frei oder schon Hb-arm sind, oder ein noch unbekanntes gelöstes Hämoglobinogen diffus vertheilt in ihrem Zellleib besitzen, lässt sich bis jetzt leider nicht entscheiden, weshalb wir vorläufig annehmen müssen auf Grund des oben erwähnten Fehlens von Hb-führenden Leukocyten, dass die Kernumwandlung der Veränderung im Zellleib vorausgeht, d. h. dass

die Bedingungen zur Hb-Bildung erst durch gewisse voranzeigende Kernveränderungen gegeben werden können, dass also erst der in Folge eines unbestimmten nitus formativus zum Erythrocytenkern differenzierte Leukocytenkern seinen idioplastischen Einfluss auf die Hb-Bildung geltend machen kann.

Wir wenden uns jetzt zur morphologischen Beschreibung der in den Kernen fundirten Gattungstypen und beginnen mit den zu diesem Zweck angewandten Kernfärbungen.

Hämatoxylin überfärbt die Kerne ungemein leicht, so dass gerade die für uns wichtigen Struktureinzelheiten verwischt werden; insbesondere nehmen die Erythrocyten den Farbstoff begieriger auf als die Leukocyten, die Metaphyten zeigen dunklere Kerne als die Protophyten, und speciell die pyknotischen Metaphytenkerne erscheinen mit Farbstoff geradezu gemästet. Entfärbt oder differenzirt man ein solches Präparat oder färbt man mit verdünnten Lösungen, so kann man zwar an älteren Kernen wieder Struktureinzelheiten wahrnehmen, aber gerade die in Rede stehenden jungen Kerne besonders der Protoformen haben dann entweder zu viel oder auch allen Farbstoff abgegeben, oder zu wenig verdünnten Farbstoff aufgenommen, so dass wiederum keine ausreichenden Strukturbilder erhalten werden, und man mehrere verschieden gefärbte Präparate combiniren müsste, was wegen des Einschleichens zu vieler unberechenbarer Fehlerquellen am besten zu vermeiden ist. Gerade wegen der eigenartigen schwachen Farbstoffaufnahme der Protokerne empfiehlt sich das sonst so vorzügliche Färben mit verdünnten Lösungen nicht, und wir mussten deshalb einen Farbstoff zu ermitteln suchen, der in concentrirten Lösungen nicht überfärbt. Dabei fanden wir, dass das leichte Ueberfärben mit dem Hämatoxylin alle blau-violetten Farbstoffe, also auch die verschiedenen Anilinfarben, wie Hexamethylviolett, Rosanilinviolett, Thionin u. s. w. gemein haben.

Ganz das entgegengesetzte Verhalten und dem entsprechende Mängel zeigten die linksspectralen Farben, besonders die gelbbraunen, gelbrothen und gelbgrünen, wie Auramin, Chrysoidin, Vesuvin, Saffranin, Carmin, Brasilin, Methylgrün: selbst mit den concentrirtesten Lösungen tritt keine Ueberfärbung ein und insbesondere bei den nucleinarmen jungen

Protokernen tritt, selbst wenn Ueberfixation sicher ausgeschlossen ist, die Struktur wegen der grossen Transparenz der lasirenden Farbstoffe nicht genügend hervor. Etwas besser gestaltete sich die Anwendung des bräunlich-rothen Orcein (hergestellt nach Angabe des Ehrlich'schen Hämatoxylin), des bläulich-rothen Fuchsin, des röthlich-violetten Alauncarmin und des blaugrünen Jodgrüns.

Relativ die besten Kernbilder erzielt man noch mit Ausnahme von Victoriablau, welches sich wie die Pararosanilin-violette verhält, mit blauen Farbstoffen wie Toluidinblau, Unna's polychromen Blau, Methylenblau u. s. w. Mit mässig concentrirten wässrigen Lösungen dieser Farbstoffe werden einerseits die Strukturen der Leukocyten- und Protophytenkerne hinreichend prägnant anschaulich gemacht, andererseits die der jungen Metaphytenkerne nicht überfärbt.

Leider aber haben diese in sich neutralen basischen Farben die oben hervorgehobene Eigenschaft, mit einer in ihnen enthaltenen Componente sonst oxyphiles Eiweiss wie Hb mitzufärben, eine Nebenwirkung, die recht unerwünscht ist, da nun auch die Kernlücken, sei es, dass sie aus Oxychromatin bestehen, sei es, dass sie durchschimmerndes Hb vorstellen, einen bläulichen Ton annehmen, so dass das Basicromatin doch noch immer nicht so recht distinct von dem Grunde sich abhebt. Weder Methylenblau + Essigsäure noch Löffler's Methylenblau waren ganz frei von diesem Uebelstand.

Es gelingt jedoch, alle Vorzüge der blauen Farben ohne ihre Nachtheile zu erzielen mittelst Combination und Addition zweier transparenter Farben*).

Ueber die Vertheilung des Nucleins in den verschiedenen Kernen.

So viel wir bis jetzt aus der Färbung mit nur einem Farbstoff, dem Methylenblau ersehen, nehmen gewisse Kerne weniger Farbstoff auf als andere,

*) Eine so detaillierte Hervorhebung des Technischen erwies sich als nothwendig, da man bei einer Angelegenheit, bei der alles vom Kernbau abhängt, diesen so präzise wie möglich zur Anschauung zu bringen streben muss. Bei Präparaten, in denen sich die verschiedenen Kerne verschieden gegenüber Fixation und Färbung verhalten, kann aber dieses Ziel nur durch Ausnutzung selbst der geringsten irgendwie sich bietenden Vortheile einigermaassen erreicht werden.

sind mit Farbstoff schon längst gesättigt, wenn andere noch zu weiterer Imbibition fähig sind. Da nun die Farbstoffaufnahme vom Nucleingehalt abhängig ist, kann man ganz allgemein wohl sagen, dass die schwächer sich färbenden Kerne weniger Nuclein als die stärker gefärbten enthalten. Es färben sich nun aber schwächer sowohl bei Leukocyten wie bei Erythrocyten, bei Protazzellen wie bei Metazellen, erstens alle jugendlichen Kerne im Verhältniss zu gealterten, zweitens bei Leukocyten wie bei Erythrocyten die Protokerne im Verhältniss zu den Metakernen, drittens alle Leukocytenkerne schlechthin im Vergleich mit den Kernen der Erythrocyten. Ausgenommen erscheinen die Leukocyten solcher Organe, wie Lymphdrüsen und Thymus (s. Fig. 22, 53), in denen keine postembryonale Hb-Bildung mehr stattfindet, dafür aber um so lebhaftere Leukocytenproliferation. Hier erscheinen die Parenchymzellen nicht mehr so universal und omnipotent wie in Milz und Knochenmark, sie haben verschiedene Functionen aufgegeben und dafür mehr specifische ausgebildet. Es stimmt dies Ergebniss mit der Auffassung Pfitzner's, dass je tiefer irgendwie genetisch eine Zelle steht, desto, ganz allgemein gesagt, schwächer färbbar und nucleinarm ihr Kern ist. Im Einzelnen aber dürfte nun diese „Nucleinarmuth“ wohl noch etwas näher zu präcisiren sein, maassen auch die „schwache Färbung“ je nach Helligkeit und Sättigung verschiedener Auslegung fähig ist; ja selbst der Farbenton kann den Begriff der „schärferen“ Färbung beeinflussen, insofern er selbst ein hellerer oder dunklerer, mehr links- oder rechtsspectraler sein kann, wie denn mit Toluidinblau die Kerne der Leukocyten eine Spur in's helle Röthliche, die der Erythrocyten in's dunkle Grünliche spielen. Wir finden nun, dass bei beiden Zellgattungen, Leuko- und Erythrocyten, der grünlich-blaue oder röthlich-blaue Farbenton constant ist, indess führen ihn bei beiden die Kerne der Protoart in hellere Schattirung als in der Metaart und erscheinen in jeder Art wiederum, in der die Helligkeit eines bestimmten Farbentons constant ist, die jungen Kerne weniger gesättigt als die alten.

Um mit letzterem Punkt, dem Unterschied zwischen jungen und alten Kernen zu beginnen, so enthalten junge Kerne relativ wenige, einzeln stehende Chromatinpartikel; bei pyknotischen Kernen sind diese in grosser Menge dicht zusammen gerückt. **Im Durchschnitt enthalten also junge Kerne absolut weniger Nuclein als alte Kerne; sie sind oligochromatisch im Verhältniss zu alten Kernen.** Zur Erklärung der matten und schweren Färbbarkeit, „Dyschromophilie“ der amblychromatischen Proto- und „Euchromophilie“ der trachychromatischen Metakerne vergleichen wir einen pyknotischen Protophytenkern mit einem jugendlichen gleichgrossen Metaphytenkern: ersterer erscheint gesättigt hellgrünblau letzterer verwaschen wässrig dunkelblaugrün, d. h. ersterer erscheint hellerleuchtender als letzterer. Nun hat unser pyknotischer Protophytenkern absolut mehr Chromatinpartikel als ein jugendlicher Protophytenkern, ein jugendlicher Protophytenkern aber gleich viel, wenn auch breitere und grössere Chromatinpartikel wie unser im Vergleich stehende junge Metaphytenkern; folglich hat auch der hellgefärbte alte Protophytenkern

mehr Chromatinpartikel als der ungesättigte dunkle Metaphytenkern. Also kann nur in der Grösse und Breite der Chromatinpartikel die Ursache davon liegen, dass die Protophytenkerne sich heller färben als die entsprechend jungen oder alten Metaphytenkerne, bezw. dass sie trotz gleicher Anzahl von Chromatinpartikeln weniger Farbstoff aufnehmen.

Nehmen wir nun unsere bei der Fixation (s. oben S. 123) gewonnenen Resultate hinzu, dass nehmlich das „unreife“ Nuclein der Protokerne durch sich zur Färbung mit basischen Farben inaktiv verhaltendes Eiweiss verdünnt ist, so können wir sagen: **im Durchschnitt enthalten Protokerne absolut eben so viel, relativ weniger Nuclein als Metakerne von entsprechendem Altersstadium, sind im Verhältniss zu Metakernen hypochromatisch.**

Diese beiden für den Durchschnitt aufgestellten Sätze über den absoluten Nucleingehalt sind im Einzelnen jedoch noch zu modifizieren durch Berücksichtigung des Factors der Kerngrösse, der in folgenden zwei Sätzen zum Ausdruck kommt:

In einer und derselben Zellart, z. B. Metaphyten, haben von Kernen gleichen Alters die grösseren relativ eben so viel, absolut mehr Nuclein als die kleineren; und: in ein und derselben Zellart (z. B. Metaphyten) haben von Kernen gleicher Grösse die älteren absolut und relativ mehr Nuclein als die jüngeren.

Bekanntlich sind es nun die jugendlichen Kerne, die im Verhältniss zum Zelleib relativ gross sind, während die pyknotischen Kerne relativ klein sind, bezw. der Leib alter ausgewachsener Zellen im Verhältniss zum Kern relativ gross ist; demnach sehen wir, dass nur unter gewissen Voraussetzungen der Satz von Landwehr⁷⁰ Gültigkeit hat, dass ein Organ um so mehr Nuclein liefert, je grösser sein Reichthum an Zellen ist, deren Zelleib relativ klein zum Kern erscheint, wie dies in lymphoiden Organen der Fall ist.

Man könnte nun meinen, dass die „schwache“ Färbung der genetisch tiefer stehenden Zellkerne nun doch nicht bloss auf quantitative Differenzen des Nucleinvorraths beruht, sondern dass auch Differenzen der Qualität dabei eine Rolle spielen, so dass das schwächer basophile Nuclein specifisch anders geartet wäre als das starke Affinität äussernde. Um dieser Frage näher zu treten, empfiehlt es sich, die Resultate der unterbrochenen Färbung, der Entfärbung und der summativen Färbung zu betrachten; wenn nehmlich die „schwache“ Färbung auf specifisch geringer Affinität zu basischen Farben beruht, dann muss sie identisch sein mit „schwerer Färbung“ und „leichter Entfärbung“.

Es ergiebt sich nun Folgendes:

Wird das Präparat einen Augenblick in mässig verdünnte Methylenblaulösung gehalten und sofort abgespült, so erscheinen schwach gefärbt sämmtliche Leukocytenkerne und alle jungen Erythrocytenkerne sowohl der Proto- wie der Metaart. Die pyknotischen Erythrocytenkerne sind ungefärbt geblieben; die jungen Protokerne erscheinen eher gefärbt als die jungen Metakerne.

Wird ein völlig gefärbtes Methylenblaupräparat in schwach angesäuertem 60 prozentigem Alkohol entfärbt, so behalten die pyknotischen Erythrocytenkerne am längsten den Farbstoff, da sie so viel davon aufgenommen haben, dass sie noch lange nicht entfärbt sind, wenn die jugendlichen Kerne bereits längst allen Farbstoff abgegeben haben; die jungen Protokerne scheinen zuerst allen Farbstoff zu verlieren.

Drittens nehmen, wie wir weiter unten sehen werden, bei der summatischen Färbung mit zwei Farben auch die genetisch tiefer stehenden Kerne beide Farben auf.

Ich glaube nun, dass diese Resultate höchstens geeignet sein können, einen Schluss auf die physikalisch-mechanische Strukturanordnung der Chromatinpartikel bei jugendlichen und alten Kernen zuzulassen.

Vier Fälle sind theoretisch möglich:

1. Leichte Färbung — schwere Entfärbung (Chromosomen, basophile (γ) Mastzellengranula).
2. Schwere Färbung — leichte Entfärbung (überfixierte Kerne und Cytoplasma mit basischen Farben).
3. Schwere Färbung — schwere Entfärbung (pyknotische Kerne, Sporen, Tuberkelbacillen).
4. Leichte Färbung — leichte Entfärbung (jugendliche Kerne).

Physikalisch gedacht ist der Vorgang der Färbung ein ähnlicher, wie die Zustandsänderung eines Körpers unter der Einwirkung einer Kraft, aber je nach dem Widerstand des Körpers ist entweder die Einwirkung oder die Nachwirkung der Kraft hauptsächlich beeinflusst. Besteht der Widerstand in Verhältnissen der Cohäsion, bezw. der Elasticität, dann macht er sich hauptsächlich auf die Nachwirkung der Kraft geltend, d. h. auf die dauernde oder vorübergehende Zustandsänderung durch dieselbe, oder die schwerere oder leichtere Elimination des die Kraft ausübenden zur Einwirkung gelangten Fremdkörpers. Es besteht ein Missverhältniss zwischen Kraftausübung und Kraftwirkung, Grösse des Irritans und Nachhaltigkeit der Irritation. Unter diesen Gesichtspunkt fallen auch unsere No. 1 und 2. Hier walten dieselben Verhältnisse wie bei der Deformation und Reformation von Wachs und Stahl, des Eintreibens und der Entfernung eines widerhakigen Pfeils in einen Körper, oder eines breitbasigen Ppropfens in den Hals einer kohlensäurehaltigen Flasche; es sind dieselben Verhältnisse wie bei ächter electiver Attractions-Affinität (Idiosynkrasie, Prädisposition) und Repulsion (Immunität).

Beruhrt aber der Widerstand auf dem Molekulargewicht, bezw. der Dichte, die sich der einwirkenden Kraft entgegensezt, dann besteht Parallelität zwischen der Grösse der aufgewandten Kraft und der gesetzten Zustandsänderung, wie bei No. 3 und 4. Hier liegen dieselben Verhältnisse vor, wie bei Herstellung eines Stahl- oder Eisenmagneten und der Dauer des Magnetismus, des Anheizens eines Kachel- oder Eisenofens und der Dauer der erzeugten Wärme, wie beim Hinein- und Hinausschlüpfen durch einen dichten oder weiten Zaun. Speciell auf unseren Fall 3 und 4 passen nun

die Gesetze der Permeabilität und Filtration von Flüssigkeiten, die entsprechende Schlüsse auf die Dichtigkeit des Gefüges jugendlicher und pyknotischer Kerne gestatten. Wir wissen nehmlich, dass die Permeabilität der IV. Potenz des Porendurchmessers proportional ist, also um so kleiner ist, je kleiner die Porosität (Porenweite) und Korngrösse ist. Wir wissen ferner, dass auch die Filtration gelöster Stoffe, sowie die Wasserretention und ächte Wassercapacität um so grösser ist, je grösser das Porenvolumen (Oberfläche) und je kleiner die Porosität und Korngrösse ist. Dies ergiebt im Vergleich mit den Resultaten der abgebrochenen Färbung und theilweise Entfärbung, dass die pyknotischer Kerne kleinere Porosität als die jugendlichen, die Metakerne kleinere Nucleinmikrosomen (Korngrösse) als die Protokerne besitzen. Demnach haben z. B. pyknotische Protophytenkerne viel dichtstehende aber grosse, jugendliche Metaphytenkerne, wenig locker stehende, aber kleine Nucleinmikrosomen.

Aus Vorstehendem ergiebt sich folgender Unterschied zwischen geringfügiger und blasser Färbung. Die Stärke der Färbung ist in eine Function des Alters, proportional dem Nucleinvorrath, also umgekehrt proportional, reciprok, der Menge des „Kernsaftes“. Die matte Färbung = „Dyschromophilie“ (s. oben S. 145) ist Emblem und Symptom des Protocharakters und geht parallel der Menge der in den Chromatinmikrosomen dem Nuclein beigesellten, nicht ausgesprochen basophilen Eiweisses.

Wir hatten gesehen, dass sowohl die grünen, wie die rothen Farbstoffe einzeln angewandt, zu transparent sind, als dass man bei den „nucleinarmen“ und „schlecht“ sich färbenden, also speciell z. B. jugendlichen Proto-Kernen alle Struktureinzelheiten mit genügender Deutlichkeit wahrzunehmen im Stande wäre*): durch Combination aber eines rothen und eines grünen Farbstoffes erhält man ganz ausgezeichnete Kernbilder in blauer oder violettrother Nüance ohne die Nebenwirkung der blauen und die Pastosität der violetten Farbstoffe. Ich versuchte nun folgende Combinationen: das gelblich-rothe Phenosaffranin und das bläulich-grüne Jodgrün; das bläulich-rothe Carmalaun und das bläulich-grüne Jodgrün; das gelblich-rothe Phenosaffranin und das gelblich-grüne Methylgrün; das bläulich-rothe Carmalaun und das gelblich-grüne Methylgrün. Die schönsten Bilder geben die Combinationen eines gelblichen und eines bläulichen Farbstoffes, also Phenosaffranin + Jodgrün und Carmalaun + Methylgrün; aus Bequemlichkeitsgründen wandte ich definitiv aber nur die beiden Methylgrüncombinationen an, weil letzterer Farbstoff bereits gemischt

*) Auch Justi (dieses Archiv Bd. 150) ersetzte deshalb das Methylgrün im Triacid durch Black-Blue.

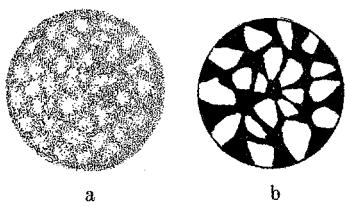
mit den zur Färbung des Cytoplasma und Hb nothwendigen sauren Farben, Orange-G und Rubin-S, in Gestalt der verschiedenen sogen. neutrophilen Mischungen erhältlich ist. Von diesen verschiedenen, Methylgrün führenden, neutrophilen Mischungen erwies sich bei der Färbung von Abstrichen lymphoider Organe, bei denen die Zahl der Hb-freien Elemente die der Hb-führenden überwiegt, am geeignetsten das von Rosin zur Färbung von Celloidinschnitten des Nervensystems angegebene Gemisch, bei dem, im Gegensatz zum Biondi-Heidenhain-Gemisch, das Rubin-S in relativ viel grösserer Menge zur Anwendung kommt als das Orange-G. Es wurde nun successive in der Weise gefärbt, dass zuerst der rothe Farbstoff, dann das Methylgrün enthaltende Gemisch zur Einwirkung kam, und zwar gestalteten sich die Kernbilder am deutlichsten, wenn man die dunkleren Farben etwas prävaliren lässt, derart, dass man entweder zuerst längere Zeit mit concentrirter wässriger Carmalaunlösung vorfärbt und darauf das Methylgrün gemisch nur kürzere Zeit einwirken lässt, oder dass man mit verdünnter wässriger Phenosaffranin kürzere Zeit vorfärbt und dann etwas längere Zeit mit dem Methylgrün-gemisch nachfärbt; in letzterem Falle werden pyknotische Kerne in Folge ihrer Saffranophilie fast rothbraun (Hermann)*). Die ganze Manipulation beschränkt sich demnach auf folgende Tempi:

- 1) Färbung mit dem rothen Farbstoff.
- 2) Abspülen in Wasser.
- 3) Färbung mit Rosin-Lösung II.
- 4) Abspülen in Wasser.
- 5) Trocknen.
- 6) Einbetten.

Vergleichen wir nunmehr in einem so hergestellten Präparat einen zweifellos Hb-führenden jungen Erythrocyten mit einem mit nichts Anderem zu verwechselnden jungen Leukocyten etwa aus den nicht mehr Hb-bildenden Organen des Thymus und Lymphdrüsen, wo die Struktur auch besonders deutlich ist (s. Fig. 23, 28, 44, 53, 56 einerseits, 6, 17, 36, 50, 74 andererseits): wir finden dann, dass in beiden Zellen das Chromatin netzartig angeordnet ist (Flemming); während aber im Leukocyten (Schema a) ein dichtes, nach allen Richtungen vielfach sich durchflechtendes Gewirr lockerer, und bogig geschwungener,

*) Bei Färbung mit Toluidinblau fand ich, dass junge Kerne violett, mit Thionin, dass sie blau werden.

Fäden und Bänder vorliegt, die viele enge unregelmässig gestaltete Lücken zwischen sich lassen (s. a. Rieder^{11b} Taf. V Fig. 20, Taf. VI Fig. 23 und 24, Taf. XI Fig. 44), präsentiren sich die Erythrocytenkerne (b) als ein geordnetes Gitter- oder Maschenwerk,



dessen wenige breite, aber geradlinige Balken von der Kernwand breitbasig entspringen und radiär in die Gegend des Centrums verlaufen, auf welchem Wege sie, von einigen wenigen, tangential, bzw. parallel der Kernwand verlaufenden, queren Verbindungsbalken gekreuzt werden, so dass auch nur wenige, aber breite, geradrandige und bis an die Kernwand reichende Lücken zwischen ihnen bleiben; ebenso wie die Ursprungspunkte an der Kermembran sind die Kreuzungspunkte mit den Querbalken und das Centrum klumpig verdickt. Es ist das Kernnetz der Erythrocyten demnach nicht mit den rechtwinklig angeordneten Maschenwerken eines Fischnetzes oder Ballschlägers zu vergleichen, bei denen senkrecht und wagerecht verlaufende Maschen gleich sind, sondern eher mit einem centrierten Spinngewebe*). Man möchte versucht sein, anzunehmen, in der Regellosigkeit des Chromatins der Leukocyten einen Ausdruck der niedrigen Entwicklung, der Universalität zu erblicken, das bei der Differenzirung zu Erythrocyten (oder Fibroblasten s. o. S. 103) von einem gewissen ordnenden und richtenden Zug ergriffen wird. In der S. 142 erwähnten Uebergangsphase finden wir Kernformen bei denen im Grossen und Ganzen bereits der Eindruck eines Erythrocytenkerns hervorgerufen wird in Folge der geregelten straffen Anordnung und des zum Theil schon breitbasigen Aufsitzens auf der Kermembran, bei denen aber noch kein Zusammenfliessen der Radien in einem Centrum statthat und bei denen die Radien vor Allem noch durch relativ viele Verbindungsbrücken in viele kurze, noch nicht ganz geradlinige Abschnitte zerlegt erscheinen (s. Fig. 73)• so dass viele kleine Lücken gebildet werden.

*) Schema b combinirt aus den wesentlichen Merkmalen der regelmässig radiären Kerne ausgesprochener junger Erythrocyten (Fig. 17 und 36) und der noch nicht fertige „Uebergangsbilder“ (Fig. 73).

Ueber das Oxychromatin der Kerne.

Was die „oxychromatischen“ Kernlücken der Erythrocyten anbetrifft, so zeigen sie bei gelungener Kernfärbung stets dieselbe Farbe wie das Cytoplasma, erscheinen also entweder bei grossem Hb-Gehalt stark mit Orange gefärbt, oder zeigen vorwiegend röthlichen Ton bei überwiegendem Vorhandensein von protoplasmatischem Eiweiss. Manche Autoren haben dieselben für Kerngranula, andere sogar für Nucleolen gehalten. Ich glaube, dass der Raum zwischen dem Chromatin von Karyolinin ausgefüllt ist, dass aber dasjenige, was man bei einem auf unsere Weise gewöhnlich gefärbten Präparat sieht, doch kein Hb ist. Zum Beweis versuchte ich noch folgende Färbung, die zugleich Aufschluss geben sollte über das Vorhandensein von Nucleolen in den Kernen der Leukocyten und Erythrocyten, beziehungsweise darüber, ob die centrale Chromatinanhäufung in den Erythrocyten einen Nucleolus enthielte¹⁾. Das fixierte Deckglaspräparat wird längere Zeit gefärbt in einer heissen Lösung von S-Rubin- (alkohol. Lösung) Anilinwasser, dann entfärbt in absolutem Alkohol, dem reichlich Orange-G zugesetzt ist, bis kein rother Farbstoff mehr abgegeben wird, darauf Nachfärbung in wässriger Methylgrünlösung. Während auf diese Weise in den parenchymatösen Drüsenzellen der embryonalen Leber stets ein deutlicher centraler, rothgefärbter Nucleolus nachweisbar war, gelang es mir weder in Leukocyten, noch in Erythrocyten solche zur Darstellung zu bringen; dagegen zeigten die Erythrocyten nunmehr statt der eckigen gelben bei jungen Individuen viele, bei alten wenige, leuchtend roth gefärbte Interfilarlücken, während das Cytoplasma rein gelben Farbenton angenommen hat. Nicht so schön demonstrativ aber eben so gut instructiv ist der Erfolg mit einer einfachen Doppelfärbung von Methylgrün Bordeaux-R, wobei das Hb fast ungefärbt bleibt.

Ich resumire unsere Ergebnisse in folgenden Thesen:

- 1) Bei geeigneter Fixirung und distincter Färbung sind Leukocyten- und Erythrocytenkerne stets mit Sicherheit zu unterscheiden.
- 2) Hb-führende Zellen mit Leukocytenkernen kommen nicht vor, anscheinend Hb-freie Zellen mit Erythrocytenkernen sind bereits als Erythrocyten zu bewerthen.
- 3) Bei der postulirten Umwandlung der basophilen Leukocyten in Erythrocyten gehen die Kernveränderungen den Veränderungen im Cytoplasma voraus.
- 4) Mit der Ortsveränderung des Chromatins, Chromatkinese, geht auch eine qualitative Veränderung parallel, welche idioblastisch Hb-erzeugend auf das Cystoplasma einwirkt.
- 5) Den

¹⁾ Die Fibroblasten in Justi's Arbeit (a. a. O.) enthalten bei der Färbung in Schnittpräparaten mit modifizirtem Triacid einen rothen Nucleolus.

beiden Arten rother Blutzellen (Erythroprotocyten und Erythrometacyten) entsprechen ebenfalls zwei Arten weisser Zellen (Leukoprotocyten und Leukometacyten). 6) Sowohl in farblosen lymphoiden wie rothen Blutzellen fehlen eigentliche ächte Nucleolen. 7) Die Substanz der oxyphilen Granulationen ist als ein rudimentäres Analogon des Hb zu erachten, welches sich aus einer Rückbildungsform dieses mit Hülfe des Kerns immer wieder erneut.

Die jüngst erschienenen Arbeiten von Marwedel (Ziegler's Beitr. XXII. Habilitationsschrift) und Masslow (Archiv für mikr. Anat. Bd. LI) sind mir erst kurz vor der Correctur zugegangen, so dass ich dieselben leider nicht mehr berücksichtigen konnte. Erstere gelangt zu ähnlichen Resultaten über die Bedeutung der eosinophilen Granulationen, letztere zu gleichen über die Unterschiede der Leukocyten- und Erythrocytenkerne. Daher ist auch jetzt Masslow's Polemik gegen mich (a. a. O. S. 120) gegenstandslos geworden, da ich aufgehört habe, in den regulären „Radkernen“ Formen des Karyorrhexis zu erblicken, was ich auch seinerzeit nur unter Vorbehalt gethan habe, indem ich die regulären Kerne nicht ohne Grund gesondert von den irregulären abgebildet habe (s. meine Inaug.-Dissert. und dieses Archiv Bd. 143. Taf. II D und Taf. III B). Dagegen stehe ich auch jetzt noch auf dem Standpunkt, dass die Pyknose nicht unbedingt der Karyorrhexis voraufgehen muss, sondern dass auch junge Erythrocyten zu Erythrocytoden werden können. Jedenfalls aber zeigt auch Masslow's Arbeit auf Taf. IX sehr schön den intracellulären Kernschwund, so dass vielleicht nunmehr endlich dem Postulat Albrecht's (Ergebnisse der allgemeinen Pathologie dritter Jahrgang, S. 514) genügt sein dürfte, der statt karyorhektischer Uebergangsformen Reste des oxychromatischen Kerngerüstes verlangt. Obwohl auch ich in meiner oben citirten Dissertation Taf. IIIA derartige Reste abgebildet habe, hält Albrecht diese Abbildungen für den erstrebten Zweck für unzureichender als seine, desgleichen die ausführlich zur Vermeidung von künstlicher Kernausquetschung angegebenen Untersuchungsmethoden, weil die von ihm auf eben dasselbe Ziel gerichtete Untersuchung, die er als vorläufige Mittheilung (Sitzungsber. der Münchener Gesellsch. f.

Morphol. u. Physiol. 1895, Heft 1) hat erscheinen lassen, auf die aber bis jetzt noch keine ausführliche Darstellung erfolgt ist, und bei der das angewandte Ehrlich-Biondi'sche Gemisch vielleicht keine „Mischfarben“ ergeben haben dürfte — weil diese Untersuchung bei Fixation in Sublimat, Flemming'scher und Hermann'scher Lösung ihm die gleichen „freien“ pyknotischen Erythrocytenkerne ergeben hat, welche auch ich bei Fixation in Zenker'scher und Foà'scher Lösung erhalten, aber (s. die citirte Arbeit) doch etwas anders deuten zu müssen geglaubt habe.

Es ist mir eine liebe Pflicht und Genugthuung, auch noch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank den Herren Geh.-Rath Virchow und Prof. O. Israel aussprechen zu können, die mich bei meiner Arbeit stets in uneigennütziger und entgegenkommendster Weise unterstützt und gefördert haben.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel II.

Die Bilder wurden gezeichnet mit Zeiss Apochromat, Compensationsocular 4, Tubuslänge 160 mm, Zeichentisch 60 mm parallel unterhalb des Objecttisches. Vergrösserung 687/1. Die in Vergleich stehenden jungen Leukocyten und Erythrocyten finden sich zu beiden Seiten zu nächst der mittleren Scheidelinie. Im Uebrigen s. Text.

L i t e r a t u r.

1. Arnheim, Dieses Archiv. Bd. 120. 1890.
2. Arnold, Dieses Archiv. Bd. 144. 1896.
3. Auerbach, Sitzungsber. der Berl. Akademie. 1890, 1891.
4. Bannwarth, Archiv für mikr. Anat. Bd. XXXVIII. 1891.
5. Barker, Bullet. of the John Hopkins Hospit. Baltimore 1894.
6. Bayerl, Archiv für mikr. Anat. Bd. XXIII. 1884.
7. Biondi, Arch. scienze medich. XIII. Centralbl. für klin. Med. 1890.
8. Bischoff, Entwicklungsgesch. der Säugetiere.
9. v. Braunschweig, Inaug.-Dissert. Dorpat 1891.
10. Bunge, Zeitschr. für physiol. Chemie. IX. 1885. — Lehrb. der phys. und pathol. Chemie. 2. Aufl. 1889.
11. Cornil, Archive de physiol. norm. et pathol. X. 1887. — Cornil et Ranzier, Manuel d'histol. pathol. 2. édit. Paris 1881.

12. Guénot, Arch. de zool. expérим. et gener. VII. 1889.
13. Deckhuyzen, Anat. Anz. VI. 1891.
14. Dénys, Cellule. II. 1884. IV. 1886.
15. Dittrich, Arch. für exper. Pathol. XXIX. 1891.
16. Dolschansky, Inaug.-Diss. Dorpat 1894.
17. Eberth, Fortschr. der Med. 1885.
18. Eichhorst, Pernic. Anämie. Leipzig 1878.
19. Einhorn, Inaug.-Dissert. Berlin 1884.
20. Eisenlohr, Deutsches Archiv für klin. Med. XX.
21. Eliasberg, Inaug.-Dissert. Dorpat 1893.
22. Erb, Dieses Archiv. Bd. 34. 1865.
23. Feuerstack, Zeitschr. für wissenschaftl. Zool. XXXVIII.
24. Flemming, Archiv für mikr. Anat. Bd. XVI.
- 24a. Derselbe, Ebendaselbst. Bd. XXXVII.
25. Foà, Arch. ital. de biol. I. 1882. — Internat. Beitr. zur Med. 1891.
26. A. Fränkel, Deutsche med. Wochenschr. 1895.
27. Freiberg, Inaug.-Dissert. Dorpat 1892.
28. Freyer, Inaug.-Dissert. Königsberg 1892.
29. Funke, Centralbl. für die med. Wissenschaft. 1880.
30. Gabbi, Lo speriment. 1893. — Ziegler's Beitr. Bd. XIV. 1893.
- 30a. Derselbe, Ziegler's Beitr. Bd. XIX. 1896.
31. Gabritschewsky, Archiv für exp. Pathol. XXVIII.
32. Gad-Heymans, Lehrb. der Physiol. des Menschen. 1892.
33. Galeotti, Ziegler's Beitr. Bd. XIV. 1893.
- 33a. Derselbe, Il Policlinico Roma. V. 1895. — Internat. Monatsschr. für Anat. und Physiol. XII. 1895.
34. v. Gerlach, Zeitschr. für rationelle Med. 1849. — Müller's Archiv. 1858.
35. Gibson, Journ. of anat. and physiol. XX. 1886.
36. Giglio-Tos, Anat. Anz. XII. 1896.
37. Grabe, Inaug.-Dissert. Dorpat 1892.
38. Grawitz, Klin. Pathol. des Blutes. 1896.
39. Griesbach, Archiv für mikr. Anat. Bd. XXXVII. 1891.
40. Grünberg, Inaug.-Dissert. Dorpat 1891.
41. Gulland, Edinb. Med. Journ. 1891.
- 41a. Derselbe, Journ. of Physiol. V. 1896.
- 41b. Derselbe, Report. Labor. Royal. Coll. Phys. Edinb. III.
42. Hansemann, Studien über Specificität u. s. w. Berlin 1893. — Archiv für mikr. Anat. Bd. XLIII. 1894.
43. M. Heidenhain, Archiv für mikr. Anat. Bd. XLIII. 1894.
44. Heine, Zeitschr. für physiol. Chemie. XXI. 1896.
45. Heitzmann, Wiener med. Jahrb. 1872, 1873.
46. Hermann, Anat. Anz. 1888.
47. Hirschfeld, Inaug.-Dissert. Berlin 1897.
- 47a. Derselbe, Dieses Archiv. Bd. 149. 1897.

48. Hodge, Journ. of Physiol. XVII. 1894.
49. Hoppe-Seyler, Med.-chem. Unters. 1868.
- 49a. Derselbe, Med.-chem. Unters. 1871.
50. Horbaczewsky, Monatsschr. für Chem. X. 1889. XII. 1891. — Sitzungsber. der Wiener Akad. C₃. 1890, 1891. — Du Bois' Archiv. 1893.
51. Horsley, Cit. nach Münch. med. Wochenschr. 1897. S. 625.
52. Howell, New York med. record. XXXIV. 1888. — Journ. of Morphol. IV. 1891.
53. Hünerfauth, Dieses Archiv. Bd. 76. 1879.
54. Huppert, Centralbl. für Physiol. 1892. — Zeitschr. für physiol. Chemie. XVIII. 1894.
55. Jaquet, Zeitschr. für physiol. Chem. XIV. 1890.
56. Inoko, Zeitschr. für physiol. Chem. XVIII. 1894.
57. Israel und Pappenheim, Dieses Archiv. Bd. 143. 1896.
58. Kanter, Centralbl. für allgem. Pathol. V. 1894.
59. Kanthack and Hardy, Journ. of Physiol. XVII.
60. Klein, Allgem. Wiener Med. Ztg. XXIV. 1889. — Internat. klin. Rundschau. III. 1889.
- 60a. Derselbe, Centralbl. für die med. Wissensch. 1880.
- 60b. Derselbe, Samml. klin. Vorträge. 1893.
61. Knoll, Sitzungsber. der Wiener Akad. CII₃. 1894.
- 61a. Derselbe, Sitzungsber. der Wiener Akad. CV₃. 1896.
62. Kobert, Ueber Cyanmethämoglobin. Stuttgart 1891.
- 62a. Derselbe, Lehrbuch der Intoxicat. 1893.
63. Körber, Inaug.-Dissert. Dorpat 1866.
64. Korn, Dieses Archiv. Bd. 68.
- 64a. Derselbe, Centralbl. für die med. Wissensch. 1880. — Inaug.-Dissert. Königsberg 1881. — Dieses Archiv. Bd. 86. 1881.
65. v. Kostanecki, Anat. Hefte. I. 1892.
66. Kühne, Dieses Archiv. Bd. 33. 1865.
67. Kultschitzky, Dieses Archiv. Bd. 96.
- 67a. Derselbe, Arbeiten der naturf. Gesellsch. Charkow. XV.
68. Laache, Die Anämie. Christiania 1883.
69. Laguesse, Inaug.-Dissert. Paris 1890.
70. Landwehr, Zeitschr. für phys. Chemie. VIII. 1893.
71. Laudenbach, Physiol. Centralbl. IX. 1895. — Dieses Archiv. Bd. 141. 1895.
72. Lavdowsky, Archiv für mikr. Anat. Bd. XX.
73. Lilienfeld, Archiv für Anat. und Physiol. 1833.
- 73a. Derselbe, Zeitschr. für physiol. Chem. XVIII. 1893. XX. 1895.
74. Löwit, Sitzungsber. der Wiener Akad. der Wissensch. LXXXVIII. 1883. XCII. 1885. XCV. 1887. CI. 1894. — Prager med. Wochenschr. 1883, 1887.
- 74a. Derselbe, Archiv für mikr. Anat. Bd. XXXVIII. 1891. — Ziegler's Beiträge. Bd. X. 1891.

75. Luzet, Compt. rend. II. 1891.
76. Lyon, Dieses Archiv. Bd. 84. 1881.
77. Macallum, On the distribution etc.
78. Malfatti, Ber. des naturf. med. Vereins Innsbruck. 1891/92.
79. Marquévitch, Arch. des scienc. de biol. de St. Pétersbourg. III.
89. Marquis, Inaug.-Dissert. Dorpat 1892.
81. Mayet, Compt. rend. CVI. 1888.
82. Meissen, Berl. klin. Wochenschr. 1883.
83. Menicanti, Deutsches Archiv für klin. Med. Bd. L. 1892.
84. Metschnikoff, Pathol. compar. Paris 1892.
85. Kolisch und Stejskal, Zeitschr. für klin. Med. XXVII. 1895.
86. Mosler, Pathol. und Therap. der Leukämie. Berlin 1872.
87. H. F. Müller, Sitzungsber. der Wiener Akad. XCVIII. 5—9. 1889.
- 87a. Derselbe, Deutsches Archiv für klin. Med. Bd. XLVIII. 1891. — Centralbl. für exper. Pathol. 1894.
- 87b. Derselbe, Archiv für allgem. Pathol. 1892.
88. H. F. Müller und Rieder, Zeitschr. für klin. Med. XLVIII.
89. Nasse, Einfl. der Nahrung auf das Blut. Marburg 1852.
90. Nencki und Sieber, Archiv für exper. Pathol. XVIII. 1884. — Ber. der Deutschen chem. Gesellsch. XVII. 1884. XVIII. 1885.
91. Neusser, Wiener klin. Wochenschr. 1894.
92. Nicolaides, Archiv für Anat. und Physiol. 1891.
93. Nikiforoff, Ziegler's Beiträge. Bd. XIII. 1890.
94. Oppel, Centralbl. für allgem. Pathol. 1892.
95. Osler, Lancet. 1882. — Brit. med. Journ. 1886. — New York med. record. XXIX.
96. Otto, Pflüger's Archiv. XXXVI. 1895.
97. A. Pappenheim, Dieses Archiv. Bd. 145. 1896.
- 97a. Derselbe, Inaug.-Dissert. Berlin 1895.
98. Peremeschko, Biol. Centralbl. I. No. 2.
- 98a. Derselbe, Centralbl. für die med. Wissenschaft. XVII. 1878. XVIII. 1879. — Archiv. für mikr. Anat. Bd. XVI. 1879.
99. Pfitzner, Archiv für mikr. Anat. Bd. XX.
100. Plosz, Med.-chem. Unters. IV. 1872.
101. Ponick, Dieses Archiv. Bd. 56.
102. Posner, Verhandl. des Congresses für innere Med. 1893.
103. Preyer, Die Blutkrystalle. Jena 1871.
104. Pruss, Ref. nach Centralbl. für klin. Med. VIII.
105. Przwsky, Centralbl. für allgem. Pathol. 1896.
106. Quincke, Dieses Archiv. Bd. 54. — Festschr. für Haller. 1877. — Deutsches Archiv für klin. Med. XX. 1876. XXV. 1879. XXVII. 1880. XXXII. 1882. XXXIII. 1883.
107. Ranvier, Traité techn. d'histol.
108. Ray Lankester, Pflüger's Archiv. Bd. IV. 1871. — Proc. of the Roy. Soc. XXI. 1872.

109. v. Recklinghausen, Archiv für mikr. Anat. Bd. II. 1866.
110. Remak, Unters. über die Entwickel. der Wirbelth. 1855.
111. Rieder, Münchn. med. Wochenschr. 1891.
- 111a. Derselbe, Die Leukocytose. 1892.
- 111b. Derselbe, Atlas der klinischen Mikrosk. des Blutes. 1893.
112. Robin, Thèses de Paris. 1881.
113. Rosen, Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen. V.
114. Rückert, Anat. Anz. 1887.
115. Sachoroff, Archiv für mikr. Anat. Bd. XLV. 1895.
116. Salomon, Deutsche med. Wochenschr. 1877. No. 8 und No. 35. — Centralbl. für Physiol. 1892.
117. Sanfelice, Arch. ital. de biol. XIII. 1890.
118. Säxer, Anat. Anz. XI. 1895. — Anat. Hefte. VI. 3. 1896. — Centralbl. für allgem. Pathol. VII. 1896.
119. Schaffer, Sitzungsber. der Wiener Akad. 1891. 1894.
120. Scherer, Verhandl. der phys. med. Gesellsch. Würzburg 1852.
121. A. Schmidt-Semmer, Pflüger's Archiv. XI.
122. M. B. Schmidt, Ziegler's Beitr. Bd. XI. 1892.
123. Schneider, Sitzungsber. der Berl. Akad. der Wissensch. 1888, 1890.
124. Schöney, Archiv für mikr. Anat. Bd. XII. 1876.
125. Schottländer, Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen. 1892.
126. M. Schultze, Archiv für mikr. Anat. Bd. I.
127. Schumacher, Archiv für mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1896.
128. F. Schwarz, Cohn's Beitr. zur Biol. der Pflanzen. V. 1887.
129. Schwarze, Centralbl. für die med. Wissensch. 1880.
130. Semmer, Inaug.-Dissert. Dorpat 1874.
131. Socin, Zeitschr. für physiol. Chemie. XV. 1891.
132. Spronck, Nederl. Tijdschr. for Geneesk. 1889. — Centralbl. für klin. Med. 1889.
133. Stadthagen, Dieses Archiv. Bd. 109. 1887.
134. van der Stricht, Arch. de biol. XI. 1891. XII. 1892. XIII. 1893.
- 134a. Derselbe, Verhandl. der anat. Gesellsch. Göttingen 1893.
- 134b. Derselbe, Compt. Rend de la soc. de biol. 1896.
135. Stricker und Carmalt, Med. Jahrb. 1871.
136. Tarchanoff, Compt. Rend. Sér. 6. T. II. 1875. 1876. — Arch. de physiol. norm. et pathol. Sér. 2. T. II. 1875.
137. Tettenhamer, Anat. Anz. 1893.
138. Trambusti, Le Speriment. II. 1895.
139. Tschistowitsch, Centralbl. für die med. Wissensch. 1894.
140. Unna, Monatsschr. für prakt. Dermatol. XXI. 1895.
141. Uskoff, Mémoir de l'académ. Impér. des scienc. de Petersb. VII. 1. 35. — Archiv für mikr. Anat. Bd. XXI. 1882. (Schwalbe's Jahresber. XVII.)
142. Uthemann, Inaug.-Diss. Berlin 1887.
143. Vas, Archiv für mikr. Anat. 1894.

144. R. Virchow, Dieses Archiv. 1853.
 144 a. Derselbe, Med. Vereins-Ztg. 1847. No. 35.
 145. Vulpian, Compt. Rend. LXXXIV.
 146. Weber, Zeitschr. von Henle und Pfeuffer. IV. 1846.
 147. Weintraud, Centralbl. für innere Med. 1895.
 148. Weiss, Centralbl. für die med. Wissensch. 1891. — Hämatol. Unters. Wien 1896.
 149. Welcker, Zeitschr. für rationelle Med. XX.
 150. Wertheim, Zeitschr. für Heilk. XII.
 151. Winogradow, Centralbl. für die med. Wissensch. 1882.
 152. Zacharias, Bot. Ztg. 1885. 1887. — Flora, Ergänzungs-Bd. 1895.
 152 a. Derselbe, Ber. der deutsch. bot. Gesellsch. 1893.
 153. Zaleski, Zeitschr. für physiol. Chemie. X. 1886. XIV. 1890.
 154. Zappert, Zeitschr. für klin. Med. XXIII.
 155. Zenoni, Dieses Archiv. Bd. 139.
 155 a. Derselbe, Ziegler's Beitr. XVI. 1894.
 156. Ziegler, Archiv für mikr. Anat. Bd. XXX. 1887. — Ber. der naturw. Gesellsch. Freiburg i. B. IV. 5. 1889.
 157. Zimmermann, Zeitschr. für wissensch. Mikroskop. XII. 1896.
 157 a. Derselbe, Morphol. und Physiol. des pflanzl. Zellkerns. 1896.

Nachtrag.

158. Mares, Monatshefte für Chemie. XIII. 1892. — Arch. slaves de biol. III. 1888.
 159. Grigorescu, Arch. de phys. norm. et pathol. 1891.
 160. Krüger, St. Petersb. Med. Wochenschr. 1893.
 160 a. Derselbe, Zeitschr. für Biolog. N.F. VI. 1888.
 161. Troje, Berl. klin. Wochenschr. 1892.
 162. Botkin, Dieses Archiv. Bd. 145. 1896.
 163. Jawein, Berl. klin. Wochenschr. 1897.
 164. Rhumbler, Zool. Anz. 1893.
-

Meerschwein, 3 Jahre alt		Hund, 1½ Jahre alt, ausgewachsen		Carmalaun-Rosin		Ratte, 1 Tag alt		Phenosaffranin-Rosin		Phenosaffranin-Rosin	
Metagenereten	Protogenereten	Metagenereten	Protogenereten	Metaphyten	Protophyten	Metaphyten	Protophyten	Metaphyten	Protophyten	Metaphyten	Protophyten
24	22	10	3	1	5	7	8	18	16	19	79
25	23	11	4	2	6	9	-	-	-	-	79
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	79
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	79
28	20	14	12	-	-	-	-	-	-	-	79
29	21	15	13	-	-	-	-	-	-	-	79
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	79
31	28	17	19	-	-	-	-	-	-	-	79
Lymphdrüse		Knochenmark		Carmalaun-Rosin		Ratte, 8 Tage alt		Carmalaun-Rosin		Ratte, 8 Tage alt	
32	-	-	-	-	-	35	37	38	39	36	50
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
35	52	40	32	-	-	-	-	-	-	-	50
36	53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
37	55	46	43	42	41	47	49	-	-	-	50
38	56	45	45	44	44	49	50	-	-	-	50
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
L	E	b	e	r	r						