

flüssigkeit eine directere, als bei den übrigen Säugern. In früheren Stadien der Entwicklung ähnelt dagegen die menschliche Placenta mehr der thierischen, indem hier, wie dort, die foetalen Zotten in mütterliches Gewebe eingesenkt sind, also die foetalen Gefässe von den mütterlichen ausser durch eine Lage foetalen auch noch durch eine mehr oder minder dicke Schicht mütterlichen Gewebes getrennt sind, so dass der Stoffübergang kein so directer ist. Daher ist wahrscheinlich auch bei dem Menschen der Embryo gegen schädliche Stoffe von Seiten des mütterlichen Blutes in den frühesten Stadien besser geschützt, als in späteren.

XX.

Der Uebergang der embryonalen kernhaltigen rothen Blutkörperchen in kernlose Erythrocyten.

(Aus dem Pharmakologisch-Poliklinischen Institut der Universität Erlangen.)

Von

Dr. med. R. Heinz, Privatdocenten.

(Hierzu Taf. XVI, Fig. 2.)

Die kernlosen Erythrocyten des Säugethiers haben zweierlei verschiedene Vorstufen: bei dem Fötus die sog. embryonalen kernhaltigen rothen Blutkörperchen, bei dem Erwachsenen die kernhaltigen rothen Blutkörperchen des Knochenmarks, die sogenannten Erythroblasten. Beide sind nahe verwandt und haben daher in ihrem Bau gemeinsame Grundzüge; ja die Erythroblasten des Knochenmarkes sind wohl ohne Zweifel directe Nachkommen der embryonalen kernhaltigen rothen Blutkörperchen; aber immerhin bestehen doch auch erhebliche Unterschiede, so dass embryonale Blutkörperchen und Erythroblasten des Erwachsenen auf den ersten Blick zu unterscheiden sind. Die Unterschiede betreffen namentlich die Grösse und die Färbung (den Hämoglobin-Gehalt).

Die embryonalen rothen Blutkörperchen sind zunächst viel grösser, als die Knochenmarks-Erythroblasten derselben Thierart (Kaninchen). Messungen von Letzteren haben folgende Zahlen ergeben:

8,80 μ	Kern	6,60 μ	9,05 μ	Kern	7,45 μ
8,25 "	"	6,60 "	8,25 "	"	5,50 "
9,05 "	"	7,15 "	8,80 "	"	6,05 "
9,35 "	"	7,42 "	8,25 "	"	4,95 "
8,80 "	"	6,85 "	9,35 "	"	7,05 "

während die embryonalen kernhaltigen rothen Blutkörperchen nachstehende Dimensionen zeigten:

13,20 : 13,20 μ	Kern	5,50 μ	13,75 : 12,10 μ	Kern	5,75 μ
12,65 : 12,65 "	"	5,50 "	13,20 : 13,20 "	"	5,50 "
13,75 : 13,75 "	"	6,60 "	12,65 : 12,65 "	"	5,50 "
14,85 : 12,65 "	"	6,60 "	13,20 : 12,65 "	"	5,50 "
11,55 : 10,45 "	"	5,50 "	12,10 : 12,10 "	"	5,50 "

Auch das Verhältniss zwischen Kern und Protoplasma-Leib ist, — wie die vorstehenden Zahlen, sowie die Figur 1b bis e auf Tafel XV meiner Arbeit: Ueber Blut-Degeneration und Regeneration¹⁾ lehren —, ein sehr verschiedenes. Bei den Knochenmarks-Erythroblasten ist der Zellsaum stets viel schmaler, oft im Verhältniss zum Kern ganz ausserordentlich schmal. Bei den embryonalen rothen Blutkörperchen beobachten wir dagegen ein mächtig entwickeltes Protoplasma, das den Kern an Masse stets weit übertrifft.

Der Zellsaum des Knochenmarks-Erythroblasten ist schliesslich weit schwächer gefärbt, als das Protoplasma der embryonalen Blutkörperchen. Letztere erscheinen intensiv gelb, während man an jenen oft nur bei starken Vergrösserungen und gutem Licht eine Gelbfärbung des Zellsaumes constatirt.

Aus den kernhaltigen embryonalen rothen Blutkörperchen, wie aus den Erythroblasten des Knochenmarks gehen schliesslich gleichartige kernlose Erythrocyten hervor. Es fragt sich nun, ob die Art und Weise der Umbildung in beiden Fällen die gleiche ist. Es hat dies von vornherein viel Wahrscheinliches an sich; jedoch ist man keineswegs berechtigt, dies ohne Beweis als sicher anzunehmen. Wir haben durchaus kein Recht, Beobachtungen am embryonalen Blut ohne Weiteres auf das erwachsene Thier zu übertragen und umgekehrt.

¹⁾ Ziegler's Beiträge. Bd. 29. 1901.

In der oben erwähnten Arbeit habe ich den Uebergang der Erythroblasten des Knochenmarks in kernlose Erythrocyten geschildert. Ich habe betont, dass für die interessirende Frage die Untersuchung des absolut frischen Präparates ohne Zusatz von Conservirungs- oder Farblüssigkeit von höchster Wichtigkeit, ja allein entscheidend sei. Das Studium fixirter und gefärbter Präparate kann die frische Untersuchung nur ergänzen, nie ersetzen. — Das Gleiche, wie für die Knochenmarks-Elemente und das Blut des Erwachsenen, gilt auch für die Untersuchung des embryonalen Blutes. Auch hier gewinnen wir einen sicheren Einblick in die Vorgänge bei der Umwandlung in kernhaltige Blutscheiben nur durch Untersuchung des frischen Blutes, ohne Zusatz von irgend einer Conservirungs-Flüssigkeit, auch nicht von sog. „physiologischer“ Kochsalzlösung. Die Beobachtungen an fixirten und gefärbten Präparaten können dann unterstützen- des und ergänzendes Material liefern.

Bekanntlich gibt es im Wesentlichen zwei Theorien für die Umwandlung von kernhaltigen in kernlose rothe Blutkörperchen. Nach der einen soll dieselbe durch Ausstossung, nach der anderen durch Zerfall oder Auflösung des Kerns erfolgen.¹⁾

Die Lehre von der Ausstossung des Kernes hat Rindfleisch begründet, indem er in seinem bekannten Experimente zeigte, dass auf Zusatz von 0,6 pCt. Kochsalzlösung die embryonalen rothen Blutkörperchen unter den Augen des Beobachters ihre Kerne austreten liessen. — Der Versuch von Rindfleisch wurde von den Meisten für beweisend angesehen; erst nach längerer Zeit kam man auf den Gedanken, dass das Austreten der Kerne in der 0,6 pCt. Kochsalzlösung kein normaler, sondern gewissermassen ein pathologischer Vorgang sei, der erst durch die — dem embryonalen Blut nicht einmal isotonische — Kochsalzlösung hervorgerufen werde. Nach der Meinung der Gegner erfolgt das Verschwinden des Kernes nicht durch Austreten aus der Blutzelle, sondern durch allmähliche

¹⁾ Eine Zusammenstellung der neuesten Literatur beabsichtige ich in dem Biologischen Centralblatt 1902 zu geben. Die Literatur bis 1892 findet sich, zusammengestellt von Opel, im Centralblatt für allg. Pathologie u. pathol. Anatomie. Bd. III. 1892.

Auflösung in dem Protoplasma, dem nach einem Theil der Autoren ein Zerfall des Kernes in Theilstücke vorhergehen soll.

Ich machte meine Beobachtungen an Embryonen von Kaninchen, die gelegentlich, — bei Blutdruckversuchen oder Aehnlichem, — zur Section kamen; und zwar erhielt ich Embryonen von drei verschiedenen Entwicklungsstufen. Die jüngsten Embryonen hatten eine Länge von 8 mm; dann kamen solche von 15 mm und schliesslich von 24 mm zur Beobachtung. Auch ganz oder fast ganz ausgetragene Föten untersuchte ich; jedoch sind dieselben für das Studium der Frage ungeeignet, weil sie überwiegend kernlose Erythrocyten in ihrem Blute führen.

Die Untersuchung wurde so vorgenommen, dass von dem quer durchschnittenen Embryo mit dem Deckgläschen ein Blutstropfen abgestreift und sofort ohne irgend welche Zusatzflüssigkeit betrachtet wurde. Zu manchen Präparaten wurde Methylviolett-Kochsalz (0,8 pCt.) -Lösung zugesetzt. Einzelne Präparate wurden nach Ehrlich fixirt und gefärbt. Ausserdem wurde je 1 Embryo in 10 pCt. Formol und in Formol-Sublimat-Eisessig (10 : 3,5 : 1 pCt.) fixirt, in Paraffin eingebettet und die Schnitte theils mit Hämalun-Orange (oder Eosin), theils mit Heidenhain-Ehrlich-Biondi'schem Farbgemisch gefärbt. Auch hier erwies sich, — wie für alle Zwecke der Blutuntersuchung, — das Formol durch seine ausgezeichnete Conservirung der Form wie der Farbe der Blutzellen als ideales Fixierungsmittel.

Die Ergebnisse der Untersuchung des frischen Blutpräparates sind folgende: Die embryonalen kernhaltigen rothen Blutkörperchen besitzen Form und Färbung, wie es Fig. 2a (Taf. XVI) oben zeigt. Die Dimensionen der Blutzellen wie der Zellkerne sind oben mitgetheilt worden. Das Protoplasma ist stark gelb gefärbt, so stark wie die ev. vorhandenen kernlosen Erythrocyten selbst. Der Kern ist ungefärbt, wie man bei günstiger Lagerung eines Blutkörperchens erkennen kann; in vielen Fällen erscheint er aber, weil von Hämoglobin gefärbtem Protoplasma bedeckt, ebenfalls gelblich. Der Kern zeigt charakteristische Structur, die gleiche, wie die Kerne der Knochenmarks-Erythroblasten des erwachsenen Thieres. Er ist durchzogen von einem dichten Netzwerk gleichmässig dicker Balken, die nur kleine, regel-

mässige Räume zwischen sich frei lassen. Dieses Netzwerk nimmt Kernfarbstoffe intensiv auf; die Kerne erscheinen deshalb sehr dunkel tingirt; aber bei einer guten Kernfärbung erkennt man sofort, wie bei den Knochenmarks-Erythroblasten, dass der Kern nicht diffus gefärbt (nicht „pyknotisch“) ist, sondern dass er ein dichtes Netzwerk stark gefärbter Chromatinbalken mit zwischengelagerter, schwach gefärbter Interfilarsubstanz enthält. — Die embryonalen rothen Blutkörperchen haben im Allgemeinen runde Gestalt. Jedoch finden sich auch vielfach abweichende Formen. Zahlreiche Blutzellen zeigen Einstülpungen; und zwar entweder an einer Stelle: dann sehen sie nicht selten glockenförmig aus; oder an zwei gegenüberliegenden Stellen, wobei gewöhnlich die eine Einbuchtung tiefer ist, als die andere; sehr häufig auch an drei, in gleichem Abstand von einander befindlichen Stellen. Der Kern sitzt meistens in der Mitte; häufig jedoch auch excentrisch, dagegen kaum je — bei gut erhaltenen Exemplaren — direct an der Peripherie.

Die beschriebenen Zellen sind die typischen embryonalen rothen Blutkörperchen. Sie setzten bei dem Embryo I fast allein das Blut zusammen, bei Embryo II bilden sie den weit aus grösseren, und bei Embryo III immer noch einen beträchtlichen Theil der körperlichen Blutelemente. Bei E. I fanden sich nur vereinzelt, bei E. II zahlreiche und bei E. III massenhaft fertig ausgebildete, kernlose rothe Blutkörperchen. Dieselben haben folgende Grösse:

$$\begin{array}{l} 7,15 \mu - 8,25 \mu - 7,70 \mu - 7,15 \mu - 8,80 \mu \\ 7,32 \text{ „} - 7,15 \text{ „} - 8,80 \text{ „} - 8,25 \text{ „} - 7,15 \text{ „} \end{array}$$

Zwischen den typischen embryonalen Blutzellen und den kernlosen Erythrocyten finden sich nun bei E. II und namentlich bei E. III zahlreiche Zwischenformen. Fig. 2a (Taf. XVI) giebt sie wieder. Dieselben zeigen folgende Durchmesser:

$$\begin{array}{l} 11,55 \mu - 10,45 \mu - 11,00 \mu - 11,27 \mu - 10,45 \mu \\ 8,80 \text{ „} - 9,90 \text{ „} - 9,35 \text{ „} - 8,80 \text{ „} - 8,25 \text{ „} \end{array}$$

Man wird nicht fehl gehen, wenn man die grösseren für die jüngeren, die kleineren für die älteren, fortgeschritteneren ansieht. Irgend ein Kriterium für das relative Alter der verschiedenen Blutbildungszellen muss man haben, wenn man

Entwicklungsreihen aufstellen will. Bei den Knochenmarks-Erythroblasten hielt ich mich an den Hämoglobin-Gehalt und schloss, dass die Erythroblastenzellen mit schmalem, schwach gefärbtem Saum (und relativ grossem Kern) die jüngeren, die mit breitem, deutlich gelb gefärbtem Protoplasma-Leib (und kleinerem Kern) die älteren Entwicklungsstufen darstellten. Bei den embryonalen rothen Blutkörperchen, bei denen auch die jüngsten gleichmässig stark mit Hämoglobin imprägnirt sind, wird man mit Recht aus der Zusammenziehung des Zellleibs von den sehr bedeutenden Dimensionen der embryonalen Formen zu dem schmalen Durchmesser der fertigen Erythrocyten auf fortschreitende Altersstufen schliessen dürfen. — Die Zwischenformen mit den Durchmessern $11,55-8,80\ \mu$ sind es nun, die uns vor Allem, und zwar insbesondere in Bezug auf das Verhalten des Kernes, interessiren. Was sehen wir nun an denselben? Wir beobachten zunächst, — besonders reichlich bei E. III —, Zellen mit fast unverkleinertem Durchmesser, bei denen der Kern seine charakteristische Structur nicht mehr so deutlich zeigt. Das Chromatin-Netzwerk tritt nicht mehr prägnant hervor; es sieht aus, als ob der Kern einen diffus-trüben, halbflüssigen Inhalt habe. Das mikroskopische Bild des Kernes erscheint wie verwischt; nicht nur seine innere Structur, auch seine äussere Contur tritt nicht mehr scharf hervor. Dabei scheint es, als ob der Kern an Durchmesser abgenommen habe. Thatsächlich zeigt der Kern auch etwas kleinere Dimensionen: $4,95$ und $4,40\ \mu$.

Unter den nächst kleineren Zwischenformen erkennt man nun solche, die nicht nur eine Verkleinerung sämmtlicher Durchmesser, sondern auch den Uebergang von der Kugelform zu der Scheibenform erkennen lassen. Auf solche Formen ist das Haupt-Augenmerk zu richten. Es bieten sich da Bilder, wie sie Fig. 2 (Taf. XVI) zeigt: scheibenförmige Blutkörperchen mit einem fein grannlirten, wenig scharf begrenzten Kern in der Mitte. Der Kern zeigt zuweilen nicht mehr runde, sondern ovale oder höckerige Form. Häufig verkleinert er sich dabei bedeutend; seine Conturen werden ganz unregelmässig; er erscheint länglich, knollenförmig, zuweilen löst sich ein Teilstück ganz ab und liegt frei neben dem Haupttheil des Kernes in der

Blutzelle. Letztere Form kommt aber durchaus nicht häufig, sondern im Gegentheil als ausserordentliche Seltenheit vor. Ein Zerfall in Theilstücke ist also, — nach unseren Beobachtungen am frischen Präparat —, durchaus nicht das Gewöhnliche, findet sich vielmehr nur als seltene Ausnahme.

Viele Blutkörperchen von 10,45—8,80 μ Durchmesser und von Scheibenform lassen den Kern nur eben deutlich mit ganz schwachen Conturen erkennen; nur bei scharfer Einstellung und genauem Zusehen constatirt man das Vorhandensein eines kernähnlichen Gebildes in der Blutzelle. Dasselbe ist allerdings nur mehr ein „Schatten“ von einem Kern; es sieht aus, als ob der Kern eben in Verflüchtigung begriffen sei. Der Kern erscheint dabei häufig nicht zusammengezogen, verkleinert; es sieht vielmehr aus, als ob er auseinandergehe und, indem er seine Conturen verliere, sich in dem Zellprotoplasma auflöse. Fig. 1a zeigt einige derartige Formen, offenbar die letzten Uebergangsformen zu den Erythrocyten.¹⁾

Was sehen wir nun an den gehärteten und gefärbten Präparaten? Wie bemerkt, wird durch Formol-, bezw. Formol-Sublimat-Eisessig, Gestalt wie Färbung der Blutzellen ausgezeichnet erhalten. Die Färbung mit Hämalan, Methylgrün u.s.w. dient nun dazu, die Kerne der Blutbildungszellen deutlicher hervorzuheben. Bei E. I und E. II erscheinen die meisten Kerne so wie Fig. 2 (Taf. XVI) oben es zeigt: wir erkennen das regelmässige Netzwerk von Chromatin-Balken mit wenig zwischengelagerter Interfilarsubstanz. Bei E. III sehen wir ausserdem zahlreiche grosse runde Blutzellen mit zwar sehr lebhaft, aber diffus gefärbtem Kerne. Die Färbung der Kerne ist bei Anwendung von Ehrlich-Heidenhain-Biondi dunkelgrün. Durchmustern wir nun die Zellen mit kleinerem Durchmesser, die Uebergangsformen. Dieselben zeigen zum Theil noch deutlichen Kern; aber derselbe ist nicht dunkelgrün, sondern diffus hellgrün gefärbt. In anderen Zellen finden sich noch ziemlich gut gefärbte

¹⁾ Einige embryonale rothe Blutkörperchen zeigen vereinzelte Granula. Dieselben sind nicht etwa Partikel zerfallener Kerne; sie finden sich nemlich zuweilen auch neben dem gut erhaltenen Kern in dem Zellprotoplasma. Sie sind stark lichtbrechend; sie färben sich mit Neutralroth. — Ihre Bedeutung ist nicht ganz klar.

Kerne; aber dieselben sind verkleinert, deformirt, einzelne, — wenn auch nur sehr selten —, zerstückelt. Die den Uebergang zur Scheibenform zeigenden Zellen lassen eben gerade einen runden oder ovalen Kern erkennen. Derselbe wird nur bei scharfer Einstellung sichtbar, bei einem geringen Heben oder Senken des Tubus verschwindet er wieder. Er ist nicht mehr grün gefärbt, oder die grüne Farbe wird durch das Orange des Zellleibs verdeckt. Solche schattenartige, wie in Verflüchtigung begriffenen Zellkerne sind bei den fixirten und gefärbten Präparaten noch schöner und deutlicher zu beobachten, als bei den frisch untersuchten. Das Abtrennen von Theilstücken des Kernes wird etwas häufiger beobachtet, als bei dem frischen Präparat, wahrscheinlicher aber nur deshalb, weil es deutlicher in die Augen springt. Aber auch bei dieser, Kernfragmente besser darstellenden Methode sieht man Kern-Fragmentirung nur als grosse Seltenheit. Der gewöhnliche Vorgang ist vielmehr die ganz allmähliche, unter Verwischung der Conturen erfolgende Auflösung des Kernes in dem Zellleib. Der Kern verliert dabei seine Affinität zu Kernfarbstoffen schliesslich ganz; nachdem er ganz im Anfang eine Zeit lang abnorm stark, aber diffus färbbar, — „pyknotisch“ —, erschien. Wir sehen, die Vorgänge sind ganz analog denen, die wir bei der Umwandlung von kernhaltigen Erythroblasten in kernlose Erythrocyten geschildert haben.¹⁾ Diese Umwandlung scheint, wie wir dort bemerkten, sehr rasch vor sich zu gehen, weil wir so relativ selten Uebergangsbilder zwischen beiden bei dem erwachsenen Säugethier constatiren können. Solche finden sich in viel grösserer Zahl zwischen den embryonalen kernhaltigen und kernlosen rothen Blutkörperchen zu einer gewissen Periode der Gravidität. — Untersuchung des frischen Blutes, sowie gut fixirter und gefärbter Organe ergiebt in gleicher Weise, dass der Uebergang in kernlose Erythrocyten nicht durch Kern-Ausstossung, sondern durch allmähliche Auflösung des Kernes, — im Allgemeinen ohne Kern-Fragmentirung —, erfolgt.

¹⁾ S. Fig. 1c bis e auf Taf. XV der citirten Arbeit. — Zu ganz ähnlichen Resultaten gelangten Israel und Pappenheim bei der Untersuchung des embryonalen Mäuseblutes. Vergleiche Virchow's Archiv. Bd. 143.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XVI, Fig. 2.

- Fig. 2. Uebergang embryonaler, kernhaltiger, rother Blutkörperchen in kernlose Erythrocyten, frisch untersucht und mit Ehrlich-Heidenhain-Bondi'schem Farbungemisch gefärbt.



Berichtigung. Durch ein Versehen beim Druck sind die Figurenbezeichnungen auf Tafel IX in umgekehrter Reihenfolge eingetragen; sie sind demgemäss von 10—1 zu lesen, statt von 1—10.