

IV.

**Über vitale und supravitale Granulafärbungen
bei Ätzkeratitis.**

Von

Dr. Hermann Marx.

Assistenten am Pathologischen Institut zu Heidelberg.

Die Vorteile, welche die „Vitale Färbung“ bietet, haben es bewirkt, daß in den letzten Jahren eine große Reihe von Untersuchungen mit derselben vorgenommen wurden. Die früheren Untersuchungen über den Bau des Protoplasmas waren meist mit komplizierten Fixierungs- und Härtungsverfahren verbunden. Bei diesen besteht die Gefahr, daß sie Veränderungen des Protoplasmas zur Folge haben und daß so Kunstprodukte als normale Strukturbestandteile angesehen werden können. Fischer¹⁾ hat besonders hierauf aufmerksam gemacht und die durch die Reagentien hervorgerufenen Schädigungen genauer geprüft. Es gelang ihm, künstliche Granula und feine Gerinnsel von Gerüststruktur durch Behandlung verschiedener Eiweißlösungen mit den gebräuchlichsten Fixierungsmitteln her vorzubringen. — Diese Erfahrungen haben dazu beigetragen, die vitale Untersuchungsmethode, bei der ja derartige Veränderungen des Untersuchungsobjektes ausgeschlossen sind, in größerem Maßstabe für die Erforschung des Zellprotoplasmas zu verwerten. So sind wohl alle Gewebe des tierischen Körpers nach der vitalen Methode untersucht worden und in allen konnten auf diese Weise Granula nachgewiesen werden. Dieselben befinden sich stets im Protoplasma wie im Zellkern. Worauf diese Erscheinung beruht, ist noch unbekannt. Nach Fischel, dem wir eingehende „Untersuchungen über vitale Färbung“²⁾ verdanken, beruht dieser Unterschied vielleicht auf chemischen Differenzen von Kern und Protoplasma. „Welcher Natur dieselben aber sind, vermögen wir heute nicht anzugeben.“ — Ebenso ist die Frage, auf welche Weise die lebende

1) Zur Kritik der Fixierungsmethoden u. d. Granula. Anatomischer Anzeiger Bd. IX, 1894.

2) Anatomische Hefte 52/53.

Zelle den Farbstoff aufnimmt, noch nicht gelöst. Ob physikalische oder chemische Vorgänge die Hauptrolle spielen, ist nicht bekannt. Wohl sicher wird der Farbstoff auf dem Wege der Diffusion aufgenommen, doch wissen wir Genaues darüber nicht. Von Interesse sind die Angaben Overtons¹⁾, der sich in zwei Arbeiten ausführlich mit diesen Fragen beschäftigt und nachweisen konnte, daß ein weitgehender Parallelismus zwischen der Schnelligkeit der Aufnahme der Farbstoffe durch die lebende Zelle und der Leichtigkeit, mit welcher diese Farbstoffe in Lösungen von Cholesterin und Lecithin aufgelöst werden, besteht. Da diese beiden Stoffe tatsächlich in allen lebenden Zellen vorzukommen scheinen, ist es wahrscheinlich, „daß die osmotischen Eigenschaften der lebenden Zelle einer Imprägnierung der Plasmahäute durch Cholesterin und Lecithin und dem auswählenden Lösungsvermögen dieser beiden Körper für verschiedene Verbindungen zu verdanken sind.“

Die bis jetzt vorgenommenen Untersuchungen mit der vitalen Methode betreffen stets die normalen Gewebe, in denen es, wie ich schon erwähnt habe, stets gelungen ist, Granula nachzuweisen. Von großem Interesse wäre nun die Frage, inwiefern bei bestimmten pathologischen Vorgängen Veränderungen der Granula festgestellt werden können. Diese Frage ist wichtig einmal für die Pathologie, dann aber auch für die normale Histologie; denn sollte es gelingen, bei bestimmten krankhaften Vorgängen bestimmte Granulaveränderungen nachzuweisen, so wäre dies wohl ein Beweis dafür, daß wir es bei den Granula nicht mit unwichtigen Elementen, Stoffwechselprodukten oder ähnlichem zu tun haben, sondern mit wichtigen Strukturbestandteilen, die an dem Leben der Zelle innig Anteil nehmen. Die Ergebnisse sind bis jetzt auf diesem Gebiete noch sehr spärliche, und die Literatur weist nur wenige Arbeiten auf, die sich mit der Frage beschäftigen. Bei keiner derselben wurde die vitale Untersuchungsmethode angewendet.

Die Granulauntersuchungen pathologischer Neubildungen kommen hier weniger in Betracht, doch ist es immerhin von großem Interesse, zu untersuchen, ob sich die Neubildungen bezüglich ihres Protoplasmaabauens von

¹⁾ Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Pringheims Jahrbuch f. wissenschaftl. Botanik. Bd. 34. 1899,

dem Mutterboden unterscheiden. Diesbezügliche Untersuchungen wurden von Lubarsch¹⁾ angestellt; dieser konnte nachweisen, daß die Zellgranulationen der Karzinome dieselben sind, wie die der Muttereithelien. Auch bei Hypernephromen, die er nach der Altmannschen Methode behandelte, zeigten sich dieselben Verhältnisse der Granula, wie in den Nebennierenzellen. — Weiter hat Raum²⁾ eine Anzahl Tumoren nach Altmann untersucht. In Karzinomen fand er fuchsinophile Granula, die ungleich groß, oft gruppenweise und in Ketten gelagert sind, In einem Adenosarkom waren die Granula ähnlich geordnet, nur etwas größer, ebenso wie in Sarkomen, wo sie besonders deutlich zu Ketten geordnet waren. — Klein³⁾ beschreibt in einer Arbeit, in der er die Identität der Russelschen Körperchen in Karzinomen mit durch Fettassimilation vergrößerten Altmannschen Granula nachzuweisen sucht, die Anordnung der Granula in tuberkulösen Riesenzellen. Nach Altmann fand er die „peripherische protoplasmatische Region in einzelnen mehr, in anderen weniger mit 0,5 μ großen, gleichmäßig geformten Granulas erfüllt.“ Diese entsprachen den Russelschen Körperchen. Außerdem fanden sich „normale“ Granula, vielleicht ist der zentrale Teil mancher Riesenzellen frei von ihnen, während sie nach der Peripherie zunehmen.

Wichtiger als diese Untersuchungen neugebildeter pathologischer Zellen sind für uns die Untersuchungen über die Granulaverhältnisse pathologisch veränderter Zellen. Auch hier weist die Literatur nur wenige Arbeiten auf.

Israel⁴⁾ untersuchte die Veränderungen der durch temporäre Blutsperrre nekrotisierten Nierenepithelien. In der normalen Niere fand er in der Rindensubstanz die nach Altmann gefärbten Granula deutlich in Reihen — entsprechend den Stäbchen von Heidenhain — geordnet. In der inneren Zone sind die Körner sehr spärlich und die reihenweise Anordnung ist verwischt. Vielfach finden sich an Stelle der Körner kleine Stäbchen und kurze Fäden. Bei der Untersuchung des künstlich anämisierten Nierenparenchyms fand Israel sogleich nach Lösung der Blutsperrre keine Veränderungen der Epithelien. Nach 24 Stunden fehlten in großer Ausdehnung die Kerne an den Objekten, die in Alkohol oder Sublimat fixiert waren. Nach Altmanns Methode verschwinden die Nucleoli, die Kerne selbst sind bedeutend verkleinert, ebenso wie auch die Epithelien selbst. „Die reihenweise Anordnung der Granulationen ist schon frühzeitig verwischt und dafür eine gleichmäßige dichte Aneinanderlagerung derselben bemerkbar, welche von der regelmäßigen Anordnung in der

1) Beiträge zur Hist. der von Nebennierenkeimen ausgehenden Geschwülste. Dieses Arch. Bd. 111 und 135.

2) Über granuläre Einschlüsse in Geschwülsten, Archiv für mik. Anatomie. 39.

3) Über die Beziehung der Russelschen Fuchsinkörperchen zu den Altmannschen Zellgranula. Zieglers Beiträge zur pathologischen Anatomie. Bd. 21.

4) Die anämische Nekrose der Nierenepithelien. Dieses Arch. 123. Bd.

Norm weit abweicht.“ Im weiteren Verlauf verschwinden die Granula allmählich, doch selbst nach sechs Tagen sind sie noch in großer Menge vorhanden. Häufig tritt Verkalkung der abgestorbenen Epithelzellen ein, wodurch die Granulafärbung erschwert wird, weiter findet sich Fibrin, was für uns nicht von Bedeutung ist. — In einigen frischen Fällen von Nekrose (24—48 St. nach Lösung der Blutsperre) ist die Größe der Granula auffallend. Es fanden sich hier die Granula an der Zellbasis zusammengedrängt, während der an das Lumen stoßende Teil der Zelle freibleibt. „Die Granula der Zelle überschreiten das gewöhnliche Maß um soviel, daß man im mikroskopischen Sinne von kleinen Tropfen reden kann.“ Die Körner erinnern durch ihre vollkommene Rundung und ihre bei den verschiedenen Zuständen in bedeutendem Maße wechselnde Größe so sehr an flüssige Massen, daß Israel die Frage für naheliegend hält, „ob die in der festen Grundsubstanz eingeschlossenen Körner nicht überhaupt flüssigen Aggregatzustand besitzen, ähnlich dem Fett und dem Nervenmark.“

Schilling¹⁾ untersuchte „das Verhalten der Altmannschen Granula bei trüber Schwellung“. Er suchte experimentell durch Unterbinden einer Nierenvene in der anderen intakten Niere trübe Schwellung zu erzeugen. Dies war, wie er angibt, nach 24 Stunden erreicht. Schilling schließt hieraus, daß die trübe Schwellung das Vorstadium der kompensatorischen Hypertrophie ist. Wichtiger sind für uns seine Angaben über das Verhalten der Granula. Er teilt die Resultate einer Versuchsreihe mit, in der er Kaninchen 1-, 2-, 3- und 4 × 24 St. nach dem erwähnten Eingriff tötete. In der normalen Niere findet er dreierlei Arten von Harnkanälchen, erstens solche mit einer großen Menge dichtgedrängter, intensiv rot gefärbter Körnchen und stäbchenförmige Gebilde, zweitens solche mit wesentlich geringerer Anzahl färbbarer Elemente, drittens solche mit meist nur spärlich in das helle Protoplasma eingestreuten Granula. Eins und zwei gehören den Harnkanälchen II. Ordnung an, drei den Tubuli contorti I. Ordnung. Nach 24 St. konnte er nur eine „Herabsetzung der Färbbarkeit, sowie eine Verminderung der Zahl der Granula“ nachweisen in den Zellen sub 2. Was die Stäbchen betrifft, die sich in der Niere sehr häufig in eine Reihe von Körnchen bei starker Vergrößerung zerlegen, so ist hier eine Zerstörung der reihenförmigen Anordnung feststellbar. Eine Größenveränderung der Granula ist nicht auffallend. Die Granula der Kanälchen sub 1 zeigen nach 24 Stunden noch keine wesentliche Veränderung. Wohl ist dies nach 48 Stunden der Fall: Die mehr basal liegenden Granula haben an Färbbarkeit abgenommen und sich an Zahl vermindert, die zentralen erscheinen intensiver rot und die Größe vieler ist auffallend. In der Intergranularsubstanz treten kleine, scharf umgrenzte Lücken auf. Bei der Zelle 2 ist die Herabsetzung der Zahl und Färbbarkeit noch fortgeschritten, Nach 3 × 24 St. sind hier die Granula fast verschwunden, die Zahl der

¹⁾ Das Verhalten der Altmannschen Granula bei der trüben Schwellung. Dieses Arch. 135.

hellen Lücken hat sich vermehrt. Ebenso findet man nach 4×24 St. noch einen geringen Fortschritt des Prozesses. Das wesentliche Resultat der Schillingschen Versuche ist also das, daß — während die Harnkanälchen I. Ordnung von den Veränderungen freibleiben — in der II. Ordnung „eine Herabsetzung der Färbbarkeit, eine Auflösung der normal reihenförmigen Anordnung und eine Verminderung der Zahl der Granula stattfindet.“ Die Eiweißkörperchen der trüben Schwellung sind nach Sch. mit den Altmannschen Granula nicht identisch, „im Gegenteil: mit dem Verschwinden der ersteren geht das Verschwinden der letzteren Hand in Hand“.

Schmaus und Böhm¹⁾ erwähnen am Schlusse einer Arbeit über Phosphorleber, daß sie entgegen den Befunden Schillings eine deutliche Abnahme der Altmannschen Granula bei ihren Fällen von trüber Schwellung nicht nachweisen konnten.

Lukjanow²⁾ glaubt, daß das Wesen der trüben Schwellung in einer Vermehrung der Altmannschen Granula bestehe. Die Vermehrung soll zustande kommen durch Teilung der normalen, oder aber durch Zerfall von aus dem Kern in den Zelleib ausgewanderten Strukturelementen.

Burmeister³⁾ untersuchte das Verhalten der Nierengranula bei experimentell erzeugter toxischer Nephritis. Nach zehn Stunden findet er nur geringe Unterschiede gegenüber den normalen Bildern, doch trifft man hier schon „eine Umlagerung der Granula durch Anhäufung am freien Zellrande und Spärlicherwerden am Fuße derselben, weiter eine Auflösung der stäbchenförmigen Anordnung der Granula in der Nierenrinde und endlich eine deutliche Vergrößerung der Zellgranula. Bei längerer Dauer wurden die Veränderungen mannigfaltiger. Nach 20 Stunden lagen die Granula an der Basis angehäuft, oder auch am freien Rand. Hierbei fand B. stets im Lumen der Harnkanälchen oder in Cylindern Granula, die wohl von den absterbenden Zellen ausgestoßen waren oder passiv durch eine Art Protoplasmaströmung herausgeschwemmt, Schließlich findet man zahlreiche Kanälchen, die keine Granula mehr enthalten.

Galeotti⁴⁾ hat in einer sehr eingehenden Arbeit „Über die Granulationen in den Zellen“ Untersuchungen über die Granulaverhältnisse in ruhenden Zellen. in solchen, die in physiologischer Tätigkeit sich befinden und endlich an Zellen, die pathologisch verändert sind, angestellt. Die letzteren Untersuchungen kommen für uns hauptsächlich in Betracht. Vorausschicken will ich, daß G. Anhänger der Koellikerschen resp. Naegelischen Protoplasmatheorie ist. „In dem Protoplasma kann man

1) Über einige Befunde in der Leber bei experimenteller Phosphorvergiftung und Strukturbilder von Leberzellen. Dieses Arch. 152.

2) Grundzüge einer allgem. Pathologie der Zelle.

3) Beiträge zur Histogenese der akuten Nierenentzündung. Dieses Archiv. 137.

4) Über die Granulationen in den Zellen. Internat. Monatsschr. für Anatomie und Physiologie. Bd. 12.

mit den heutigen Untersuchungsmethoden keinen typischen Bau erkennen, es erscheint völlig homogen.“ Zur Untersuchung über trübe Schwellung verwandte er die Organe von Spelerpes, die er mit verschiedenen toxischen Substanzen vergiftet oder mit *Hydrophilus fuscus* infiziert hatte. Ich will nur seinen Befund bei der akuten trüben Schwellung der Niere hier mitteilen. Er fand die Zellen der Canaliculi contorti stark vergrößert, in ihnen finden sich keine Vakuolen, „alle fuchsinophilen Körnchen, an denen die Epithelien der Kanälchen so reich sind, sind ganz verschwunden und an ihrer Stelle sieht man hier und da im Protoplasma zerstreut einige gleichförmige runde Körnchen.“ Der Kern zeigt verschiedene Veränderungen, In den Stäbchenepithelien ist dasselbe Bild, „aber die Anordnung der Stäbchen nimmt man nicht mehr wahr“, sie bilden eine homogene Masse. Bei Vergiftungen geringer Intensität sind noch Stäbchen unterscheidbar, auch noch einige fuchsinophile Körnchen sind vorhanden. Bei lange dauernder Vergiftung ist das Cytoplasma dicht durchsetzt mit Körnchen von ungefähr gleicher Größe. Beim Stäbchenepithel sind an Stelle der Stäbchen pathologische Körnchen getreten. Was den Ursprung dieser „pathologischen Körnchen“ betrifft, die nach Galeotti „ihrem Wesen nach sehr verschieden von denen, die man in normalen Zellen trifft“, sind, so bilden sie sich aus dem Protoplasma, nicht aus dem Kern, sie entstehen vielleicht, — wenn man die Naegelische Protoplasmatheorie als richtig anerkennt —, aus einigen Micellen, die dann, wie fast alle abgestorbenen Stoffe, Körnchengestalt annehmen.

Eine ausführliche Arbeit über die Granulaverhältnisse bei der trüben Schwellung ist kürzlich von Landsteiner¹⁾ erschienen, Er untersucht zunächst die normale Niere (Eisenhämatoxylinfärbung). In bezug auf die Stäbchenstruktur schreibt er: „... Die Stäbchen sind meist nicht gleichmäßig dick und zeigen stellenweise Unterbrechungen. Eine eigentliche Zusammensetzung aus runden Körnern ist aber nicht nachweisbar, vielmehr sieht man an vielen Stellen fast gleichmäßig dicke Stäbchenanteile.“ Hier muß ich bemerken, daß die Figur 1, auf welche Landsteiner hinweist, eine deutliche Zusammensetzung der Stäbchen aus einzelnen Körnern zeigt. Außer diesen streptokokkenartig aneinandergereihten Granula zeigt die Abbildung auch einzelne isoliert im Zelleib liegend. — Auch nach anderen Methoden untersuchte L. die normale Niere und kommt betreffs des Baues des Nierenprotoplasmas zu der Ansicht, daß richtige Stäbchenstruktur vorhanden ist, er glaubt nicht, daß die sogen. Stäbchen „in nicht gefärbte, fädige Elemente eingelagerte, tingible Körner sind.“ Figur 1 unterstützt, wie gesagt, diese Ansicht wenig. Bei der Untersuchung pathologischer Nieren fand Landsteiner als wesentlichen Befund die Veränderung der Stäbchen; so ist bei einem Falle von Puerperalsepsis „die Stäbchenzeichnung matt, die Stäbchen zumeist in Körner von ungleichmäßiger Größe, Form und Tinktur zerfallen“, auch bei einer anderen Nephritis erscheinen die Stäbchen in mehr oder weniger gut gereichte

1) Über trübe Schwellung. Zieglers Beiträge Bd. 33.

krümelige Körnchen zerfallen. Als charakteristischen Unterschied zwischen normaler und pathologischer Körnung sieht L. hauptsächlich die unregelmäßige Anordnung der Körner bei der letzteren an, Größenunterschiede sind seiner Meinung nach wenig von Bedeutung, da auch normalerweise eigentümlich große und sehr feine Körnungen vorkamen. Vielleicht ist es möglich, daß zu diesen Produkten der Destruktion bei der trüben Schwelung auch noch ein anderer sich neubildender körniger Bestandteil hinzukommt. Weiter sah L. noch dunkle Tropfen auftreten, die er mit der Cylinderbildung in Zusammenhang bringt, worauf ich nicht näher eingehen kann.

Die Veränderungen der getrübten Leberzellen fand Landsteiner ähnlich denen der Niere. In betreff des Baues der normalen Mäuseleberzelle gibt er an, daß im Protoplasma fädige Gebilde sich finden. „Stellenweise können die Fädchen leicht verdickt, stärker tingiert oder unterbrochen sein, doch ist nirgends das Bild einer Zusammensetzung aus Granula deutlich.“ Auch hier muß ich hervorheben, daß die Abbildung (Fig. 13), die diese Verhältnisse wiedergeben soll, im Gegensatz zu dem Text eine sehr deutliche Zusammensetzung der „Fäden“ aus Granula zeigt! Die pathologische Veränderung bei der Trübung besteht auch hier in einer „Destruktion der färbbaren Protoplasmasubstanz mit Verlust der leichten Färbbarkeit und verbunden mit dem Erscheinen einer Körnung des Zelleibes“. Beim Darmepithel, daß normal nach L. Stäbchen enthält, die „bei genauer Betrachtung etwas unebene, wie angenagte Begrenzungen erkennen lassen, doch ist eine gleichmäßige Körnung nicht wahrzunehmen“, (Fig. 16 zeigt einige aus Granularen bestehende „Stäbchen“), ist die pathologische Degeneration ähnlich der der Nieren- und Leberzellen; „Es handelt sich hauptsächlich um eine Destruktion der filaren Substanz und das Entstehen einer blaß färbbaren Körnung“.

Landsteiner ist der Ansicht, daß die Resultate der Untersuchungen über die parenchymatöse Degeneration dafür sprechen, daß die filaren und granularen Elemente als den vitalen Prozessen als Substrat dienende Teile eher angesehen werden müssen, als daß man sie für „Einlagerungen von geringer Bedeutung für die Zelleistung oder überhaupt am Stoffwechsel beteiligte Bildungen“ halten darf.

Endlich sei noch eine Arbeit Schnaudigels¹⁾ erwähnt, der bei experimenteller Keratitis auf eosinophile Granula untersuchte. Alle Wanderzellen enthielten dieselben, sowohl die runden Formen, als auch die zu Spindel- und Spießformen ausgezogenen Gebilde. Sch. schließt daraus, daß die Wanderzellen sich als Leukocyten dokumentieren und weist die Grawitzsche Schlummerzellenlehre zurück.

Alle die Untersuchungen über Granulaverhältnisse bei pathologischen Vorgängen, die ich. — ohne den Anspruch auf Voll-

¹⁾ Die Immigrationstheorie und die Lehre von den Schlummerzellen
Graefes Archiv 47.

ständigkeit zu erheben —, aus der Literatur im vorhergehenden zusammengestellt habe, wurden mit den Fixierungsmethoden nach Altmann und ähnl. vorgenommen. Wenn auch die Strukturen, die nachgewiesen wurden, nicht als direkte Kunstprodukte infolge der Methode angesehen werden können, wie Landsteiner auch ausführlicher ausführt, so ist doch der Wert dieser Untersuchungen etwas beeinträchtigt und sind offenbar vitale Untersuchungen, die frei von diesem Fehler sind von großem Interesse. Vitale Färbungen bei pathologischen Verhältnissen sind aber bis jetzt überhaupt noch nicht vorgenommen worden, wenigstens konnte ich in der Literatur keine Bemerkungen hierüber finden. So scheint es wohl gerechtfertigt, wenn ich im folgenden die Resultate von Untersuchungen mitteile, bei denen die Granulaverhältnisse bei einem pathologischen Vorgange nach der vitalen Methode untersucht wurden.

Als Untersuchungsobjekt wurde das klassische Objekt für Entzündungsstudien, die Cornea genommen, und zwar die des Frosches, die sich durch ihre Dünne sehr zu solchen Versuchen eignet.

Zunächst ist natürlich festzustellen, wie sich in der normalen Cornea die Verhältnisse der Granula bei der vitalen Färbung darbieten. In der Literatur finden sich hierüber nur wenige Angaben.

Fischel macht in seinen schon erwähnten „Untersuchungen über vitale Färbungen“ an verschiedenen Stellen Angaben über die Granulabilder der Cornea. Als Material verwandte er bei seinen Untersuchungen die Larven von *Rana temporaria*, *Siredon pisciformis* und *Salamandra maculosa*, die er einfach in Wasser brachte, in welchem der betreffende Farbstoff meist in sehr geringem Konzentrationsgrade gelöst war. Bei der Färbung mit Methylblau nehmen die pigmentfreien Zellen der Haut gar keine Farbe an, nur das Corneae epithel färbt sich: „Seine oberflächliche, vollkommen pigmentfreie Epithelschicht enthält in unregelmäßiger Zahl und Anordnung blau gefärbte Granula.“ Mit Neutralrot, das die schönsten Bilder liefert, zeigen die oberflächlichen Zellen der Cornea von *Salamandra maculosa* eine größere Menge von Granula, die nur den Randteil der Zelle freilassen, in den tieferen Schichten findet sich ein den Kern umgebender Kreis von Gra-

nula. Bei der Larve von *Siredon pisciformis* zeigen sich bei der Neutralrotbehandlung die Hornhautepithelien als große polygonale Elemente die außerordentlich feine Granula enthalten, die aber nur im Randteil der Zellen, oft namentlich in den Ecken der Polygone angehäuft liegen. Bei der Doppelfärbung mit Neutralrot und Methylenblau, die Fischel dadurch bewerkstelligte, daß er eine mit Neutralrot intensiv gefärbte Larve in eine ziemlich starke Methylenblaulösung setzte, zeigt die Cornea schöne konstante Bilder. Die Zellen enthalten sowohl rote als blaue Granula. „Ihre Gesamtzahl ist allem Anscheine nach größer als nach reiner Neutralrot- oder Methylenblaufärbung.“ Deshalb glaubt Fischel, daß zwei verschiedene Granulaarten vorliegen, solche, die nur mit Neutralrot und solche, die nur mit Methylenblau tingiert werden. Die blau gefärbten Granula geben ihren Farbstoff leicht ab, sodaß, wenn man ein doppelgefärbte Larve in Wasser setzt, nur die rotgefärbten Granula zurückbleiben. Diese Zellen enthalten dann ersichtlich weniger Granula, als bei der Doppelfärbung.

Arnold¹⁾ hat auf sehr einfache Weise schöne vitale Granulafärbung der Cornea beim Frosch hervorgerufen durch Einbringen eines Körnchens Neutralrot in den Bindehautsack. Nach 12 bis 24 Stunden untersuchte er dann die herausgeschnittene Cornea. Das vordere Epithel zeigt dann ziemlich gleichmäßige Granulierung, die Granula finden sich hauptsächlich in der Umgebung des Kerns. In letzterem sind Granula nicht nachweisbar. In den Hornhautzellen liegen sie in wechselnder Verteilung nicht nur um den Kern, sondern auch in den Ausläufern. Ähnliche Bilder geben die Zellen der Nickhaut. Bei allen Zellformen ist die Anordnung der Granula derart, daß sie niemals die Zelle vollständig erfüllen, somit nur einen Teil der Zellsubstanz, bzw. der Plasmosomen darstellen. Mit Methylenblau findet man nach 12 Stunden die gleichen Granulabilder, doch finden sich hier auch diffus gefärbte Zellen, die wohl abgestorben sind, auch die Corneakörperchen färben sich oft diffus. Die Nickhaut zeigt dieselben Bilder wie bei Neutralrot. Außerdem kamen auch Färbungen der Nerven mit Methylenblau zustande.

1) Granulabilder an der lebenden Hornhaut u. Nickhaut. Anatomischer Anzeiger, 28. Bd.

Bei den eignen Untersuchungen benutzte ich die Arnoldsche Methode der vitalen Färbung. Die Methode lieferte mir im allgemeinen sehr gute Bilder, nur tritt manchmal eine etwas ungleichmäßige Färbung auf; so kann man an einer Stelle der Cornea intensive, an anderer nur schwache Färbung der Granula finden. Dies rührt daher, daß an der Stelle, an der das Neutralrotkörnchen liegt, der Farbstoff sehr konzentriert einwirkt. Um diese Störung zu vermeiden, untersuchte ich auch mit der hauptsächlich von Arnold in die Technik eingeführten „supravitalen Methode“. Diese liefert bei Vermeidung obiger Unregelmäßigkeiten genau dieselben Bilder wie die vitale. Ich ging hierbei so vor, daß ich das Auge rasch enukleierte und dann in toto in die Farblösung legte, worin es etwa 4 bis 5 Stunden blieb, dann wurde die Cornea erst ausgeschnitten und in physiologischer Kochsalzlösung untersucht. Auf diese Weise vermeidet man am besten eine Schädigung der Cornea vor der Färbung, da sich leicht ohne Berührung derselben das Auge enukleieren läßt, während man leicht bei Abpräparieren der Cornea vor der Färbung dieselbe lädiert. Als Farbstoffe wurden Neutralrot Ehrl. vital und Methylenblau rectific. verwandt. Bei der supravitalen Methode wurde eine Lösung von meist $\frac{1}{10}$ p. c. Neutralrot und noch schwächer von Methylenblau verwandt, in stärkerer Lösung wirkt letzteres schädigend auf die Zellen.

Der Befund bei der Neutralrotfärbung ist folgender: Das vordere Epithel der Cornea zeigt ein verschiedenes Bild, je nachdem man die oberste Schicht oder die tiefere einstellt. In der ersten, deren Zellen größer sind als die der tieferen, findet man die Granula peripherisch um den großen Kern. In manchen Zellen ist nur eine Reihe von Granula vorhanden, die dann als Ring das granulafreie Centrum der Zelle mit dem Kern umgiebt. Die äußere Peripherie ist dann wieder granulafrei. Meist ist jedoch nicht nur eine einfache Lage von Granula vorhanden, sondern eine größere Menge ist kreisförmig gruppiert, meist in stärkerer Anhäufung an einer Seite und auch an den Ecken der polygonalen Zellen. Bei schwacher Vergrößerung erscheint so die oberste Schicht als ein System zierlicher Ringe, die zum Teil nach einer Seite verdickt sind. Die Größe der Granula

in dieser obersten Schicht variiert nur wenig, sie sind im allgemeinen kleiner, als die der tieferen. Sie färben sich im allgemeinen mit einer mittleren Intensität. Dazwischen treten oft einzelne Zellen auf, die durch intensivere Färbung vor den anderen auffallen. Ihre Menge ist verschieden, meist nur eine geringe. Ein ganz anderes Bild bieten die tieferen Schichten. Die Zellen sind hier bedeutend kleiner, als die beschriebenen. Auch das Verhältnis von Kern zu Protoplasma ist ein anderes: während in der obersten Schicht der große bläschenförmige Kern oft nur einen schmalen Saum von Protoplasma um sich hat, sodaß die Granula ringförmig um den Kern geordnet erscheinen ist hier um den kleinen Kern eine verhältnismäßig breite Protoplasamasse vorhanden. Weiter sind die Zellen der obersten Schicht stark abgeplattet, sodaß das granulaführende Protoplasma fast nur seitlich, nicht oben und unten von dem Kern auftritt, während in der tieferen Lage die Zellen nach Höhe und Breite ungefähr gleich sind, dadurch also beim Blick von oben der Kern meist von einer granulahaltigen Protoplasmaschicht überdeckt ist. Natürlich ist die Granulaanhäufung an den Seiten beim Blick von oben auch stärker. Übrigens kommen auch platte Elemente in der tiefen Schicht vor und geben so das Bild der ringförmig angeordneten Granula, nur ist der Ring verhältnismäßig dicker, als die der oberen Schicht. Die äußerste Peripherie der Zellen bleibt auch hier frei von gefärbten Granula, wodurch das granulaführende Protoplasma der einzelnen Zellen durch ungefärbte Zwischenräume getrennt erscheint.

Bei der tieferen Einstellung gelangt man in das Bereich der Corneasubstanz. Man untersucht sie am besten, nachdem man das Epithel abgeschabt hat oder auch indem man die Cornea lamelliert, was jedoch meist nicht nötig ist. Dieselbe bietet sehr zierliche Bilder, indem die Körperchen reichlich mit kleinen Granula erfüllt sind. Dieselben umlagern den Kern, der selbst frei bleibt, außerdem finden sie sich auch in den Ausläufern der Zellen, die so ein zierliches perlschnurartiges Aussehen bieten können, wenn die Granula dicht gelagert sind. Meist finden sich jedoch zwischen den Granula Teilchen, die granulafrei und ungefärbt sind. Oft erscheinen

die Körnchen des Zellfortsatzes kleiner als die des Zellleibes, doch ist dies nicht die Regel. In weniger vollkommenen Präparaten, die wohl eine unbekannte Schädigung erhalten haben, finden sich neben intensiv gefärbten auch blasse und ungefärbte, hier ist auch manchmal der Zellleib schwach diffus mit dem Farbstoff imbibiert.

Die Membrana Descemeti giebt in den meisten Fällen sehr gute Bilder. Ihre Zellen sind bedeutend größer als die des vorderen Corneaepithels, sie zeigen sich ziemlich gleichmäßig mit Granula erfüllt. Diese sind sehr klein und nehmen den Farbstoff weniger auf, als die Corneakörperchen und das vordere Epithel, und erscheinen dadurch blässer als diese. Der Zellkern ist, wie immer, auch hier frei, ebenso die äußerste Peripherie der Zellen, wodurch Zwischenräume zwischen dem granulaführenden Protoplasma der einzelnen Zellen entstehen. Diese ungefärbten Zwischenräume sind breiter als die der vorderen Epithelzellen.

Die beschriebenen Bilder zeigen sich, wie erwähnt, bei der vitalen und supravitalen Färbung mit Neutralrot; einen bestimmten Unterschied je nach der Anwendung der einen oder anderen Methode konnte ich nicht feststellen. Nicht unerwähnt will ich lassen, daß es mir bei manchen Hornhäuten begegnete, daß überhaupt keine gute Granulafärbung zustande kam, wieder bei andern war die Färbung an verschiedenen Stellen verschieden. Hier ist wohl anzunehmen, daß irgendwelche Schädlichkeiten auf die Zelle eingewirkt haben, und solche Fälle sind natürlich für die Untersuchung nicht brauchbar. Auch ein Unterschied der Jahreszeiten ist zu bemerken, im allgemeinen geben Winterfrösche konstantere Bilder als Frühjahrsfrösche, bei letzteren findet man auch öfters, besonders an der Peripherie, Leukocyteninfiltration, die natürlich sehr störend wirkt. Auch die pathologischen Veränderungen sind bei Winter- und Frühjahrsfröschen oft etwas verschieden, worauf ich noch zurückkommen werde.

Außer Neutralrot verwandte ich noch Methylenblau zur Färbung, vital und supravital. Dasselbe giebt dieselben Bilder wie Neutralrot, doch kommen oft Schädigungen der Hornhaut durch die Giftwirkung zustande. Die Hornhautkörperchen geben im allgemeinen sehr gute Granulabilder, besonders bei der

vitalen Methode, während die Färbung des Epithels oft zu wünschen übrig läßt. Oft tritt hier Kernfärbung auf, ebenso Confluenz der Granula, weiter zeigt sich manchmal eine eigentümliche Metachromasie der Granula, einzelne erscheinen blau, andere mehr violett, selbst rötlich. —

Auch Doppelfärbungen mit Neutralrot und Methylenblau wurden vorgenommen, doch nicht fortgesetzt, da die Resultate keine konstanten waren, manchmal zeigen sich hübsche rote Granula, die ganze Epithelzelle ausfüllend, daneben andre wieder ganz mit blauen erfüllt oder auch mehr violetten, auch rote und blaue treten in derselben Zelle auf. — Im allgemeinen herrscht bei dem Epithel die rote Granulierung vor, bei den Hornhautkörperchen die blaue. —

Was nun die Eingriffe an der Cornea betrifft, so wurden besonders 2 vorgenommen, einmal die Ätzung mit dem Lapisstift und dann die Ätzung mit dem mit Chlorzink (1 : 2 Wasser) getränkten Seidenfaden nach Boettcher. Diese beiden Methoden, die ja auch bei den Versuchen zur Entzündungslehre meist angewandt wurden, gaben die zuverlässigsten Resultate und wurde deshalb von Reizmitteln wie Schwefelsäure, Salzsäure usw., ebenso wie von der einfachen Lädierung des Epithels mit der glühenden Platinnadel keine größere Anzahl von Versuchen vorgenommen.

Die Dauer der Ätzung war eine verschiedene, doch wurde meist nur sehr leicht und kurz, — besonders mit dem Lapisstift —, geätzt. Es gelingt so leicht, nur die oberflächliche Epithelschicht zu verschorfen, und zwar so, daß die Form der Zellen noch vollständig erhalten bleibt. Die Untersuchungen wurden in verschiedenen Zeiträumen nach der Ätzung vorgenommen, der Unterschied der Befunde war hier kein großer, am günstigsten sind 4—8 St. nach der Ätzung, es bleibt dann das Bild konstant auch nach längerer Zeit. Länger wie 24 Stunden wurde nur selten gewartet, da dann die Wanderzellen zahlreich auftreten und so die Klarheit des Bildes für unsre Untersuchungen gestört wird.

Als Versuchstiere wurden *Rana temporaria* und *esculenta* verwandt. Einen typischen Unterschied der Veränderungen bei den beiden Froscharten konnte ich nicht feststellen.

Wenden wir uns nun zu einer kurzen Betrachtung der Resultate der verschiedenen Versuche.

Es erscheint am passendsten nach einander die Veränderungen des Epithels, der Corneasubstanz und der Descemetischen Membran zu betrachten.

Das Epithel bietet nach einer kurzen Ätzung mit dem Chlorzinkfaden bei schwacher Vergrößerung folgendes Bild: Die Ätzstelle fällt sofort als *circumscriptes* rundes Scheibchen auf, das einen mehr gelbroten, im allgemeinen helleren Farbenton besitzt, als die unveränderte Umgebung der Cornea. Zugleich sieht man schon bei dieser Vergrößerung, daß hier die Färbung eine diffuse ist, in der einzelne dunkle Punkte mehr oder weniger deutlich hervortreten. Um diese Scheibe findet sich ein dunkelroter Kreis, der ziemlich scharf gegen sie und die Circumferenz absetzt. Nach außen kann der Kreis auch der schärferen Begrenzung entbehren und mehr allmählich in die normale Umgebung übergehen, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß die Ätzflüssigkeit sich weiter ausbreitete, als der Querschnitt des Fadens berührte, was namentlich bei feuchter Cornea eintritt. Die äußere Umgebung zeigt das normale, oben beschriebene Bild, bei dem bei schwacher Vergrößerung die einzelnen Zellen durch ihre Granulafärbung als *circumscripte* Gebilde erscheinen. — Bei stärkerer Vergrößerung zeigt es sich, daß die dunklen Punkte im Ätzbezirk die Kerne der Epithelzellen sind. Dieselben haben sich mit dem Farbstoff intensiver gefärbt, als der Zelleib, ferner erscheinen sie oft geschrumpft und von unregelmäßiger Form, meist eigentümlich hyalin glänzend. In einigen Fällen tritt außerdem eine eigentümliche Vakuolenbildung, oder besser gesagt, Tropfenbildung in dem Kern auf. Daß die Tropfen in dem Kern liegen, kann man deutlich an solchen Zellen sehen, in denen sie von nur geringer Größe sind und in der Mitte des Kerns auftreten. Man sieht hier einen oder auch 2—3 kleinste, hellglänzende, ungefärbte Tröpfchen ringsum von der dunklen Kernsubstanz umgeben, oft bildet die letztere hierbei nur einen schmalen Ring, der sich scharf von der Perle im Innern abhebt. Meist liegt der Tropfen nicht genau in der Mitte, sondern seitlich, und die Kernsubstanz, die verdrängt wird, stellt dann je nach der Aus-

dehnung des Tropfens ein becherförmiges, oder mehr halbmond- oder sichelförmiges Gebilde dar, oder sie ist endlich so verdrängt, daß der Kern wie eine kleine Fettzelle aussieht. Beim Vorhandensein mehrerer Tröpfchen in einem Kern, erscheint derselbe an verschiedenen Stellen wie eingekerbt und stellt so oft ein sonderbar difformiertes Gebilde dar. Aus welcher Substanz die Tropfen bestehen, konnte ich nicht feststellen, jedenfalls besitzt sie ein starkes Cohäsionsvermögen, denn man kann oft mehrere Tropfen so dicht aneinander liegen sehen, daß sie sich berühren, ohne jedoch zusammenzufließen. Dazwischen treten dann einzelne Zellen mit sehr großem, stark gekörntem Kern, der frei von den beschriebenen Tropfen ist. Diese Kernveränderung findet sich, wie schon gesagt, nicht konstant, sondern nur in einer Anzahl von Fällen. — Das Protoplasma der Zellen des Ätzbezirks hat sich diffus, mehr oder weniger gleichmäßig gefärbt, manchmal zeigen sich dunklere Schollen in demselben, von einer distinkten Granulafärbung kann nicht die Rede sein. — Der dunkle Ring um den Ätzbezirk zeigt bei starker Vergrößerung bedeutende Veränderungen. Die Zellen erscheinen hier größtenteils von unregelmäßiger Form, haben sich zum Teil diffus mit der Farbe tingiert. Kaum kann man Granula in normalen Verhältnissen erkennen. Dieselben bilden vielmehr größere Schollen und Brocken, die sich ganz intensiv mit Neutralrot gefärbt haben, oft sind sie zu einem mehr oder weniger ringförmigen dunkelroten Gebilde um den Kern konfluiert, oft densellen ganz verdeckend und als unregelmäßige dunkle Klumpen einen großen Teil der Zelle einnehmend. — In einer Anzahl von Zellen haben sich auch die Kerne gefärbt. Der Grad der Veränderung ist hier bei den einzelnen Versuchen oft ein verschiedener, ebenso wie die Ausdehnung der dunklen Zone. Bei manchen findet sich nur ein schmaler Ring, bei andern ist der Ätzbezirk von einer breiten Zone umgeben. Hier spielt natürlich die Stärke der Ätzung eine Rolle, ebenso wie die Ausbreitung der Ätzlösung auf der Hornhautoberfläche. Die weitere Umgebung der Ätzstelle, die Peripherie der Cornea, bietet im allgemeinen normale Verhältnisse, manchmal schien es mir, als ob mehr dunkle Zellen aufträten, doch ist deren Zahl ja, wie oben erwähnt, auch normaler Weise sehr

verschieden. — Der geschädigte Teil des Epithels wird bald locker und löst sich ab, sodaß 5—6 Stunden nach der Ätzung es schon schwer ist, die Cornea herauszupräparieren ohne Verlust des Ätzbezirks und auch seiner beschriebenen Umgebung.

Bei der Ätzung mit dem Silberstift findet man das Epithel folgendermaßen verändert: Die Ätzstelle selbst zeigt das Bild der Verschorfung mit Imprägnation von Ag. Die Veränderung ist hier in hohem Grade abhängig von der Stärke der Ätzung. Bei ganz leichter Ätzung bleibt die Form der Epithelzellen auch in der obersten Lage vollständig erhalten. Die Zellen sind rotgelb, oft ganz gleichmäßig imprägniert, aber auch heller und dunkler an verschiedenen Stellen. Sie erscheinen homogen oder feinkörnig, von Granula ist nichts deutliches nachzuweisen. Dabei findet sich ein äußerst zierliches Netz schwarzer Kittleisten. Bei stärkerer Ätzung ist der Ätzbezirk dunkler, braungelb, oft schwärzlich, die Zellform ist mehr oder weniger verändert und bei ganz starker Ätzung endlich findet sich ein brauner Schorf ohne deutliche Zellgrenzen. Oft ist er auch in der Mitte dunkler, ja manchmal lassen sich deutlich zwei Zonen unterscheiden: eine zentrale braune mit starker Zellalteration und eine peripherisch gelbrote mit gut erhaltenen, aber imprägnierten Zellen. Manchmal, besonders nach längerer Zeit, sind die Zellen etwas gelockert, und man sieht dann in schönster Weise die sogenannten Interzellularbrücken: die beiden etwas voneinander abstehenden Zellen sind mit feinsten, zierlichen Zäckchen an den Kanten besetzt. — Um diesen Ätzbezirk sieht man bei schwacher Vergrößerung den dunklen Ring wie bei der Chlorzinkätzung meist deutlich ausgeprägt. Auch hier ist der Grad der Veränderungen, je nach der Stärke der Ätzung und auch von anderen Einflüssen abhängig ein verschiedener, ja es kann vorkommen, daß der rote Ring überhaupt nur andeutungsweise vorhanden ist. Meist ist er jedoch sehr intensiv, bei starker Vergrößerung findet sich, daß auch in dieser Schicht meist ein schönes schwarzes Kittleistennetz vorhanden ist, oft über die ganze Schicht sich erstreckend, oft aber auch nur an den zentralen Teilen derselben, manchmal ist es nur an einzelnen Stellen schön ausgebildet. Die Zellen selbst sind hier nicht imprägniert,

ja meist ist die oberste Schicht direkt um die Ätzstelle überhaupt vollständig ungefärbt, weder Granula- noch diffuse Färbung ist vorhanden, die Zellen sind vollständig durchsichtig und könnten leicht übersehen werden, wenn nicht ihre Kittleisten schwarz gefärbt wären. Die tiefere Schicht zeigt dann geschrumpften dunkelgefärbten Kern. Weiter nach außen ist der dunkle Hof analog dem der Chlorzinkätzung, nur tritt hier noch häufiger Kernfärbung auf, als dort. Erwähnen will ich, daß ich bei Winterfröschen in dieser Reizzone oft nur Kernfärbung fand, es war dann der Ätzbezirk von einem Hof umgeben, dessen Zellen diffus, schwach gefärbt waren und dunkelrote Kerne besaßen. Bei Frühjahrsfröschen treten die roten Klumpen der konfluierten Granula mehr in den Vordergrund, doch findet sich auch oft, besonders zunächst der Ätzstelle, Kernfärbung.

Die Hornhautsubstanz bietet leider nicht immer ganz konstante Befunde, oft kommt es vor, daß Epithel und Membrana Descemeti sehr gute Granulabilder geben und zwar schon nach kurzer Zeit, während die Cornea selbst nicht schön granuliert erscheint. Schabt man nach der Chlorzinkätzung das Epithel ab, so erkennt man in einer Anzahl der Fälle schon mit bloßem Auge die Ätzstelle; während nämlich sonst die Grundsubstanz selbst ungefärbt ist, hat sie unter der Ätzstelle eine diffuse, blaßrote Farbe angenommen. Diese diffuse Färbung zeigt jedenfalls an, daß die Grundsubstanz hier verändert ist, da bei den anderen Untersuchungsmethoden eine Veränderung der Grundsubstanz bei der Chlorzinkätzung nicht nachgewiesen werden konnte. „Die Grundsubstanz wird durch das Ätzmittel nicht alteriert.“ (Boettcher). Diese diffuse Färbung kommt nicht in allen Fällen vor, doch immerhin recht häufig, sodaß ich es erwähnen zu müssen glaubte.

Untersucht man in diesen Fällen mit starker Vergrößerung, so findet man in dem Ätzbezirk die Hornhautkörperchen als längliche, zerknitterte, oft spindelförmige, oft auch mehr stäbchenförmige Gebilde; sie haben sich diffus gefärbt, etwas dunkler als die Grundsubstanz, von Granula ist meist nichts deutliches nachzuweisen. Mehr nach außen treten dann Körperchen auf mit kleinerem und geschrumpftem Zelleib von rundlicher oder

mehr eckiger Form und meist ohne Ausläufer. In ihnen bilden die Granula meist in der Mitte ein kleines Häufchen, sie sind nicht als deutliche, voneinander abgegrenzte runde Körper unterscheidbar, sondern konfluieren oft und bilden eine einheitliche Masse. Mit Neutralrot färben sie sich intensiver als die Granula der normalen Zellen. Weiter nach außen kommen dann die normalen Verhältnisse der schönen Körperchen wieder. Warum bei einer Anzahl von Hornhäuten gerade diese diffuse Färbung der Grundsubstanz auftritt, konnte ich nicht feststellen, auf einer gewissen Stärke oder Dauer der Ätzung beruht sie nicht, da ich sie bei verschiedensten Ätzungsgraden auftreten sah. Wahrscheinlich spielen individuelle Verschiedenheiten der Versuchstiere, wie verschiedener Ernährungszustand und ähnliches eine Rolle.

In den andern Fällen findet man nach Entfernung des Epithels die Grundsubstanz überall gleichmäßig durchsichtig. Bei schwacher Vergrößerung sieht man im Centrum die ungefärbten Körperchen in stark geschrumpftem und oft stark lichtbrechendem Zustand, ihre Form ist meist eine mehr längliche, oft ganz spießförmig, oft auch mehr spindelförmig und selbst rundlich-eckig. Zuweilen finden sich dabei auch in ihrer Form ziemlich erhaltene Körperchen. Weiter peripherisch stellen die Zellen sich als mehr rundliche oder unregelmäßig geformte Gebilde dar. Ausläufer sind meist nicht deutlich zu erkennen, nur selten hie und da vorhanden. Die Granula sind in dieser Zone meist auf einen Platz zusammengedrängt, oft konfluierend und undeutlich begrenzt. Besonders an der Grenze nach der mittleren ungefärbten Zone findet man oft vollständig unregelmäßige Formen; stark dunkle, tröpfchenartige Gebilde von oft bedeutender Größe können hier auftreten, wodurch die Zone schon bei schwächster Vergrößerung als dunkelrote Grenze sich markiert. Hie und da beobachtet man auch hellglänzende Vakuolen und ungefärbte Tröpfchen, doch ist ihr Auftreten bei der Chlorzinkätzung immerhin ein seltenes. Die stärkere Ätzung unterscheidet sich von der schwächeren dadurch, daß bei ihr die besprochenen Veränderungen eine größere Ausdehnung besitzen, und daß hierbei die Form der Körperchen im Ganzen noch mehr destruiert, doch kann man hierbei auch in ihrer

Form erhaltenen ungefärbten, wohl in toto abgestorbenen Körperchen begegnen.

Bei der Ätzung mit *Argentum nitricum* variieren die Resultate auch öfters, doch ist meist der Befund ein sehr typischer. Einen solchen wollen wir zunächst betrachten. Nach ziemlich intensiver Ätzung finden wir nach Entfernung des Epithels an der Ätzstelle zunächst, mehr oder weniger gut ausgeprägt, das bekannte Recklinghausensche Silberbild der Cornea. Die Form der Körperchen ist manchmal gut erhalten und sie erscheinen als helle, sternförmige Figuren in der gelblichen oder braunen Grundsubstanz. Oft allerdings ist die Form auch undeutlich, und die Ätzstelle gibt das Bild einer braunen Masse mit hellen Flecken. Bei schwacher Vergrößerung sieht man um diesen Ätzbezirk einen schmalen, ungefärbten Ring, dann eine oft auffallend dunkelrote Zone und endlich peripherisch das normale Bild. Bei stärkerer Vergrößerung zeigt es sich, daß in dem schmalen, ungefärbten Ring Corneakörperchen als längliche, spindel- und stäbchenförmige Gebilde von starker Lichtbrechung sich finden, die meist ganz ungefärbt sind oder auch sich etwas diffus mit Farbe imbibiert haben. In der weiteren Zone, deren Breite 4—7 Hornhautkörperchen oder manchmal auch weniger beträgt, sind die Veränderungen sehr auffallende. Die Form der Hornhautkörperchen ist verschieden, meist rundlich oder auch mehr eckig, von Ausläufern ist nichts nachzuweisen. In ihrem Körper zeigen sich „Granula“ der verschiedensten Größe und Gestalt. Oft sieht man große, schön runde Kugeln, dann wieder unregelmäßig schollenartige Gebilde, dazwischen kleine und kleinste Kügelchen in verschiedenster Anzahl. Alle haben sich ganz intensiv mit dem Farbstoff tingiert, wodurch dem unbewaffneten Auge diese Zone als dunkler Ring erscheint. Die Granula sind aber nicht gleichmäßig in dem Zellkörper verteilt, vielmehr sind sie auf einzelnen Stellen zusammengedrängt und liegen so in einzelnen Häufchen und Streifen zusammen. Die Ursache dieser Erscheinung ist, daß zwischen ihnen in dem Protoplasma eine große Anzahl von oft hellglänzenden Vakuolen aufgetreten ist. Diese sind von verschiedener Größe, oft sehr klein, dann auch manche so groß, daß sie fast die ganze Zelle einnehmen. Auch ihre Anzahl

ist in den einzelnen Zellen eine verschiedene, manchmal sieht man nur eine bis zwei, meist aber eine große Menge, sodaß oft die Zellen einen vollständig schaumigen Eindruck machen. Das ganze Bild weist darauf hin, daß wir es hier mit der Key Wallisschen Vakuolenzone zu tun haben. Doch finden sich in unserem Bilde die Vakuolen sicher im Protoplasma, während sie K. W. im Kern fand und erst nach 3 Tagen auch im Protoplasma. Was den Kern betrifft, so ist er oft gar nicht nachweisbar, da er von Granulahaufen und Vakuolen verdeckt ist, in einigen Zellen erscheint er als hyalines großes Gebilde. Von Vakuolen konnte in ihm nichts mit Sicherheit nachgewiesen werden. Weiter nach außen nehmen die Körperchen nach und nach die gewohnte Gestalt an. Die Vakuolen grenzen ziemlich scharf mit der Zone ab, die Fortsätze sind oft noch schlecht ausgeprägt und die Granula von verschiedener Größe und oft noch dunkler. Dazwischen auch schon mehr normale Zellen, bis endlich das gewohnte Bild wieder auftritt und in der ganzen Peripherie festzustellen ist. — Von diesem hier beschriebenen typischen Befunde weichen andere insofern ab, daß die einzelnen Zonen nicht so deutlich ausgebildet sind, besonders nach schwächerer Ätzung ist dies der Fall. Nach momentaner, ganz oberflächlicher Berührung findet man oft das Silberbild nur in den obersten Schichten, entfernt man diese, so zeigt sich die darunter liegende Substanz meist ungefärbt, bei stärkerer Vergrößerung sieht man in ihr die spindelförmigen Körper, wie oben beschrieben. Die Vakuolenzone ist oft dann nur angedeutet, manchmal sind Vakuolen gar nicht nachweisbar, und man erkennt nur die diffusen Körperchen mit dunklen, verschieden großen Granulahaufen. Auch diese sind manchmal nicht deutlich ausgeprägt, und die Färbung kann dann eine mehr diffuse sein, die Hornhautkörperchen geben im Ätzbezirk nur das Bild der kleinen, geschrumpften Zellen, wie es bei der Chlorzinkätzung am häufigsten auftritt. Läßt man längere Zeit vergehen, so verändert sich das Bild im allgemeinen wenig, oft nimmt die Färbbarkeit ab, und man hat häufiger diffuse Färbungen, wartet man 12—24 Stunden, so wird das Bild durch die Rundzelleneinwanderung gestört, und da es uns nur auf das Studium der Granulaverhältnisse der geschädigten Zellen

ankam, wurde in diesem Stadium von genauen Untersuchungsreihen abgesehen.

Die *Membrana Descemeti* reagiert meist sehr typisch auf die Ätzungen, es ist interessant, wie sie selbst bei den geringsten Eingriffen sogleich Veränderungen zeigt.

Nach leichter Ätzung mit dem Chlorzinkfaden erscheinen zunächst bei schwacher Vergrößerung in der, der Ätzstelle entsprechenden Gegend und ihrer Nachbarschaft die granulaführenden Zelleiber kleiner und dunkler. Während sonst die Granula hübsch gleichmäßig verteilt sind und mit Ausnahme des Kerns und der Peripherie der Zelle dieselbe in fast gleichmäßigen Abständen erfüllen, erscheinen sie hier mehr an einer Stelle zusammengedrängt, und es treten so größere Zwischenräume zwischen den gefärbten Zelleibern auf. Zugleich erscheinen die letzteren meist dunkler, oft haben sie nicht rundliche, sondern mehr unregelmäßige Begrenzung, manchmal kleinen Hornhautkörperchen nicht unähnlich. Bei genauer Untersuchung sieht man oft, — doch nicht immer —, daß die Granula verschiedene Größen haben, besonders an der Grenze nach der normalen Membran kommen größere Kugeln zwischen den kleinen häufig vor. Der Kern der Zellen ist meist sehr groß, wie gequollen, hyalin aussehend, sodaß außer 1—2 Kernkörperchen meist keine Strukturbestandteile an ihm unterscheidbar sind. Hier und da treten auch schon bei schwacher Ätzung in dem Protoplasma der Zellen helle ungefärbte Tropfen, ähnlich den in der sog. Vakuolenzone auf. Nach stärkerer Ätzung mit Chlorzink ist das Bild schon insofern ein anderes, als hier im Zentrum, d. h. der unter der Ätzstelle liegenden Stelle, die Membran ungefärbt ist, bei starker Ätzung zuweilen auf eine große Strecke hin, nach und nach tritt dann die Granulafärbung wieder auf, und zwar zunächst, wie oben beschrieben. Zwischen den Zellen, die gefärbt sind, liegen immer auch solche, die durchscheinend und ungefärbt erscheinen. Weiter tritt bei starker Ätzung fast in allen Präparaten ganz auffallend die Bildung der hellen Vakuolen oder Tropfen in den Vordergrund, besonders in der ungefärbten Zone treten dieselben in großer Zahl auf, oft auch am Rande derselben am reichlichsten. Man kann leicht Bilder sehen, in denen die Zellen

vollständig wie aus durchsichtigem Schaum zu bestehen scheinen, dann auch wieder solche, in denen nur vereinzelt helle Tropfen erscheinen, und dazwischen Granula, mehr oder weniger verändert. Besonders an der Grenze sieht man auch hier häufig größere Granulatropfen, die sich ganz intensiv gefärbt haben. — Der Grad der Veränderung ist auch hier bei den einzelnen Individuen oft ein verschiedener.

Bei der Ätzung mit *Argent. nitricum* ist der Befund in mancher Hinsicht verschieden von dem beschriebenen, sodaß man einen für die Chlorzinkätzung und einen für die Silberätzung typischen unterscheiden kann. Immerhin will ich auch hier nicht unterlassen, hervorzuheben, daß ein Variieren der Veränderungen vorkommt und die beiden Veränderungen sich ähneln können, ja manchmal für dieselben angesehen werden können. Natürlich ist in der Mehrzahl der Fälle dies nicht der Fall. —

Ätzt man nur kurz mit dem fein zugespitzten Stift, entfernt dann das Epithel und die Hornhautsubstanz, soweit der Ättschorf sich in die Tiefe erstreckt, so bietet sich meist ein sehr hübsches Bild. Der Ätzstelle entsprechend sind nämlich die Granulaverhältnisse derart geändert, daß hier in der Zelle statt der vielen kleinen, wie betont ziemlich blassen, einzelne größere kugelförmige Gebilde sich finden, die sich sehr intensiv gefärbt haben. Ihre Form ist meist vollständig rund, doch kommen auch mehr unregelmäßige Gebilde vor. Ihre Größe ist verschieden, einzelne sind ganz bedeutende Kügelchen, dazwischen kleinere, hier und da ein solches von normaler Größe. Sie liegen in kleinen Häufchen von ca. 3—10 Stück zusammen und heben sich ganz intensiv von der Peripherie ab, die normale Granulaverhältnisse zeigt. Ätzt man stärker, so tritt in der Mitte eine ungefärbte Zone auf, an ihrem Rande erscheint dann die Zone mit den veränderten Granula, die meist schroff abgegrenzt ist, doch auch allmählicher in die normale Peripherie übergehen kann. Die mittlere, ungefärbte Partie kann ziemlich ausgedehnt sein, die Breite der diese umgebenden Zone beträgt meist ungefähr 3—4 Zellreihen, doch variiert sie etwas. In diesen Zellen, sowie im Zentrum treten auch manchmal die hellen Tropfen auf, doch lange nicht so häufig und ausgeprägt,

wie es bei der Chlorzinkätzung das gewöhnliche ist. Weiter peripherisch sind dann die Membranzellen normal, manchmal hängen auch die Granula dichter zusammen, als dies normaler Weise der Fall ist. —

Betrachten wir noch einmal zusammenfassend die Resultate der Untersuchungen. — Wir konnten dreierlei Granulaveränderungen nachweisen: solche der Form, der Färbbarkeit und Anordnung. Meist kombinieren sich die 3 Veränderungen, oft tritt eine derselben mehr in den Vordergrund.

Beim Epithel sind alle 3 gleichartig vertreten: der dunkle Ring um den Ätzbezirk kommt durch die intensive Färbung der atypisch angeordneten und unregelmäßig gestalteten Granula zustande — Schollen und brockenförmig Gebilde. — Dabei tritt mehr oder weniger ausgedehnt auch Kernfärbung auf.

Bei den Corneakörperchen ist bei der Chlorzinkätzung die veränderte Anordnung besonders auffallend. — In der Umgebung der Ätzstelle meist Zusammendrängung der Granula — dabei auch Gestaltsveränderung, bei der Argentumätzung ist die letztere noch auffallender, dabei intensive Färbung und Lageveränderung, letztere besonders durch das Auftreten der Vakuolen bewirkt.

Bei der Membrana Descemeti tritt bei der Chlorzinkätzung besonders die Lageveränderung, bei der Argentumätzung die Formveränderung — Tropfenbildung usw. — in den Vordergrund. Bei beiden Ätzungen erscheinen die geschädigten Granula gefärbt.

Im Ätzbezirk selbst findet man meist keine Granulafärbung. — Die Befunde variieren nach Stärke der Ätzung und auch infolge anderer Einflüssen.

Die Veränderungen, die sich bei Irritation der Cornea mit der vitalen Färbung nachweisen lassen, sind, wie wir sehen, mannigfaltiger Art. Es liegt nun die Frage nahe, inwiefern die Resultate der Untersuchungen der Granulaveränderungen bei pathologischen Vorgängen für die Erkenntnis des Wesens und der Bedeutung der Granula verwertbar sind. Diese Frage jetzt schon zu beantworten, sind wir, meiner Meinung nach, nicht berechtigt. Die Erfahrungen sind bis jetzt noch zu spärliche und wir müssen erst über eine viel größere Anzahl von Arbeiten —

besonders mit der vitalen Methode — verfügen können, ehe wir bestimmte Schlüsse für die Granulalehre ziehen dürfen.

Deshalb möge diese Arbeit mehr als ein kasuistischer Beitrag zur Granularpathologie — wenn ich mich dieses Ausdrucks bedienen darf — angesehen werden.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Chef und Lehrer, Herrn Geheimrat J. Arnold, für das fördernde Interesse, das er dieser Arbeit entgegengebracht hat, meinen Dank auszusprechen.

V.

Zur Pathologie des elastischen Gewebes der Milz.

Von

Dr. med. Bernhard Fischer,

ehemaligem Assistenten am Institut, jetzigem Assistenzarzt an der Kgl. Universitätsklinik für Hautkrankheiten zu Bonn.

(Hierzu Tafeln II, III und IV.)

Eine Reihe chemischer Untersuchungen über die Bestandteile des Elastins legten mir die Vermutung nahe, daß zwischen der Chondroitinschwefelsäure bzw. dem Amyloid einerseits und dem Elastin andererseits enge Beziehungen bestehen müßten. Die daraufhin angestellten histologischen Untersuchungen konnten allerdings einen zwingenden Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme nicht erbringen. Bei dieser Gelegenheit fand ich nun in der amyloid degenerierten Milz eine Reihe von eigentümlichen, bisher meines Wissens in der Literatur noch nicht beschriebenen Veränderungen des elastischen Gewebes, die mich zu systematischen Untersuchungen über das Stützgewebe der Milz im normalen und pathologischen Zustande veranlaßten.

Die Milz ist bekanntlich reich an elastischen Elementen. Kapsel und Trabekel werden vorherrschend von elastischen Fasern gebildet, denen gegenüber das kollagene Bindegewebe meist völlig in den Hintergrund tritt, und auch die Blutgefäße