

**Virchows Archiv**  
für  
**pathologische Anatomie und Physiologie**  
und für  
**klinische Medizin.**

Band 183. (Achtzehnte Folge Bd. III.) Heft 3.

---

**XIII.**

**Beitrag zur Mikrophotographie  
mit ultraviolettem Lichte nach Köhler.**

(Aus der k. k. III. medicin. Universitätsklinik in Wien.)

Von

Dr. phil. et med. Hermann v. Schrötter  
in Wien.

(Hierzu Tafel IX, X, XI.)

---

Die moderne Mikroskopie ist in den letzten Jahren um zwei wertvolle Fortschritte bereichert worden: durch die Einrichtung zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen von H. Siedentopf und R. Zsigmondy und durch die mikrophotographische Untersuchungsmethode mit ultraviolettem Lichte von A. Köhler. Das Vorkommen des Ausdrucks *ultra* in der Bezeichnung beider Methoden hat wiederholt zu Verwechslungen Anlaß gegeben. In der That handelt es sich aber um zwei prinzipiell verschiedene Verfahren.

Durch die ultramikroskopische Untersuchung oder kurz das Ultramikroskop ist ein Mittel geschaffen worden, um Teilchen sichtbar zu machen, deren Größe weit unter jener liegt, welche nach den Berechnungen von Abbe und v. Helmholtz bisher zur Darstellung gebracht werden konnten. Die kleinsten Teilchen werden durch eine besondere Anordnung der Beleuchtung gleichsam selbstleuchtend gemacht und treten unabhängig von ihrer Form als Beugungsscheibchen oder -kreise in Erscheinung.

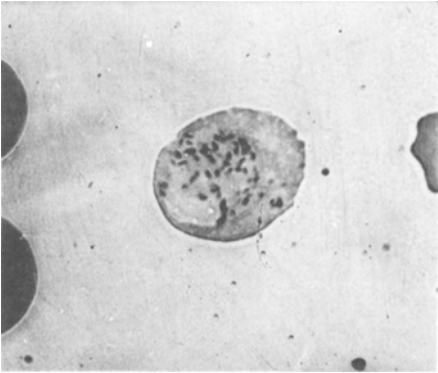


Fig. 1

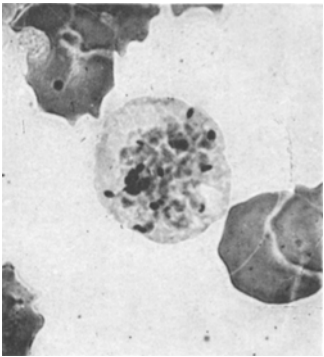


Fig. 2

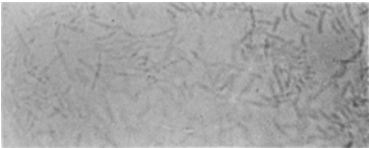


Fig. 3

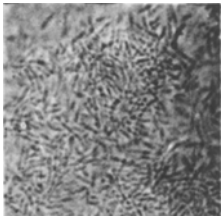


Fig. 4

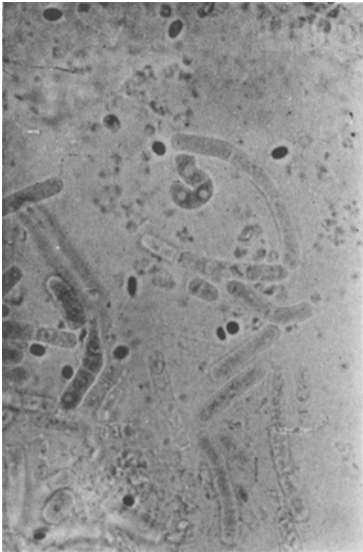


Fig. 5

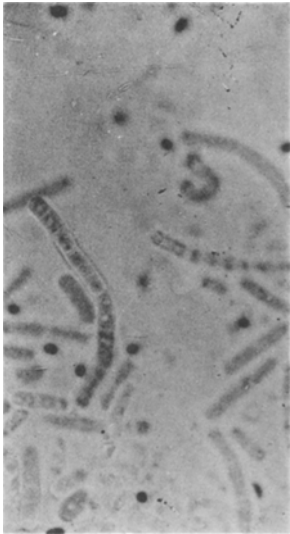


Fig. 6

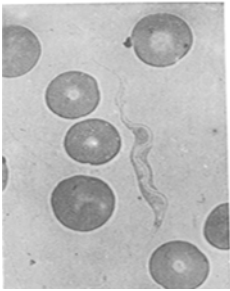


Fig. 7

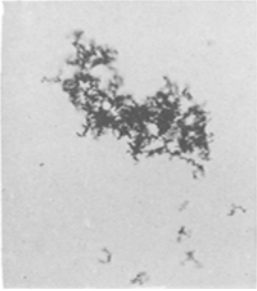


Fig. 8

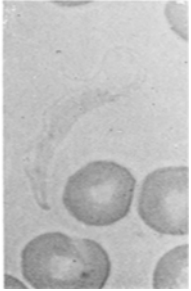


Fig. 9

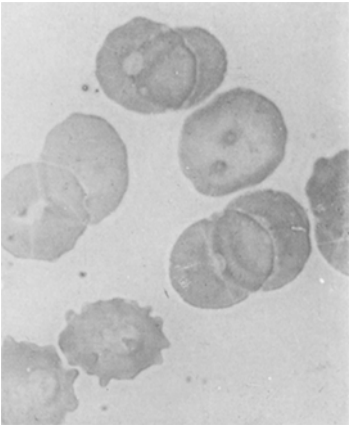


Fig. 10

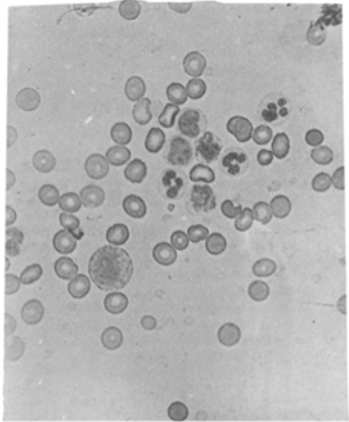


Fig. 11



Fig. 12

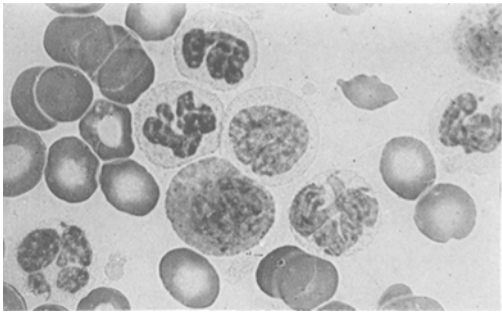
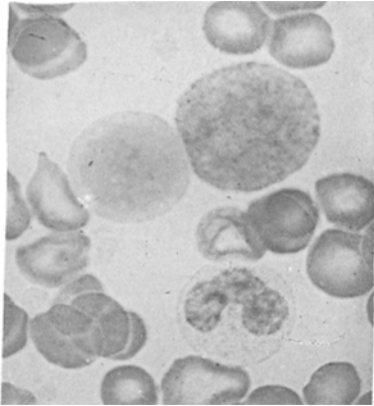
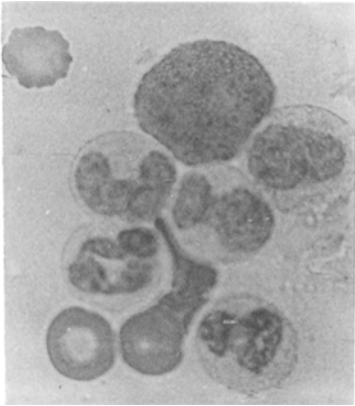


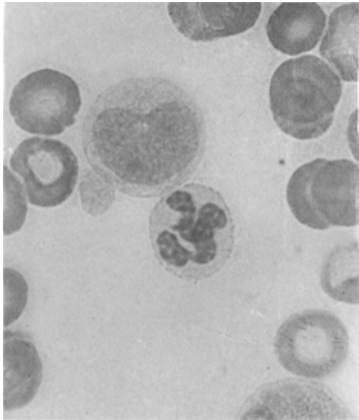
Fig. 13



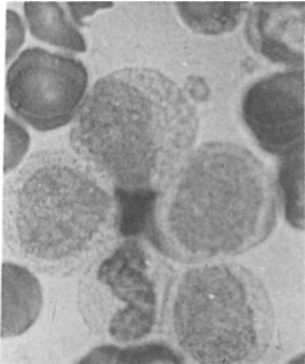
*Fig. 14*



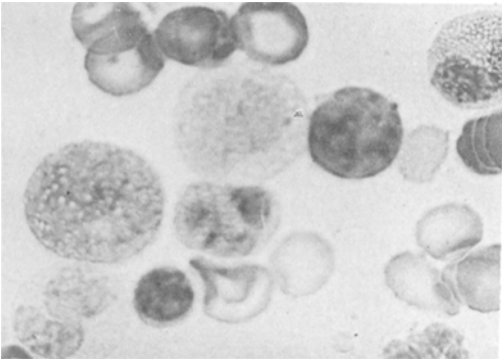
*Fig. 15*



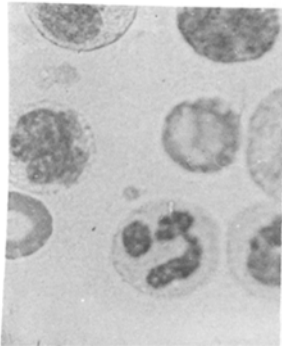
*Fig. 16*



*Fig. 17*



*Fig. 18*



*Fig. 19*

So ist es möglich, mittels dieses Instrumentes noch die Anwesenheit von Teilchen bis zu kleinen Bruchteilen der Wellenlänge des Lichtes, bis zu einer Größe von  $0,004 \mu$  oder  $4 \mu\mu$  sichtbar zu machen, wodurch man bereits gegen das Gebiet der molekularen Dimensionen vorgedrungen ist. Von einer optischen Darstellung der Eiweißmoleküle kann jedoch, wie die Ausflockungserscheinungen lehren, in Übereinstimmung mit L. Michaelis<sup>1)</sup> dabei nicht die Rede sein.

Die feinsten Teilchen treten, wie gesagt, nur als Leuchtkörper unabhängig von ihrer Form in Erscheinung, ein Bild, welches der Ausdruck der letzteren wäre, können wir in dieser Art nicht gewinnen. Damit entfernt sich das durch die Ultramikroskopie erschlossene Arbeitsgebiet von jenem der histologischen Forschung, welcher ja gerade die Aufgabe zufällt, die Morphologie kleinster Objekte aufzudecken und feinste Strukturen zur Abbildung zu bringen. Die Bedeutung des Ultramikroskopes liegt daher vor allem auf dem Gebiete der physikalischen Chemie, dem Studium der Lösungen im weitesten Sinne [Colloide<sup>2)</sup>], der Wirkung der Fermente u. a. Ich muß es mir versagen, hier näher auf den Gegenstand einzugehen; in medizinischer Richtung sei auf die Mitteilungen von Raehlmann, Much, Römer und Siebert sowie Michaelis verwiesen.

Anders liegt die Sache bezüglich der mikrophotographischen Untersuchungsmethode mit ultravioletttem Lichte; diese bildet eine wesentliche Erweiterung der Leistungsfähigkeit der mikroskopischen Technik in dem Sinne, in welchem wir bisher diesen Begriff zu verstehen gewohnt sind. Durch dieses Verfahren ist eine reelle Steigerung des Auflösungsvermögens erreicht und damit die Grenze der Abbildbarkeit feiner Strukturen bedeutend hinausgerückt worden.

Bekanntlich hängt die Leistungsfähigkeit eines Mikroskopes nicht mit der Vergrößerung, sondern dem sog. Auflösungs- und Abbildungsvermögen zusammen, welches durch den Ausdruck der numerischen Apertur,  $n \cdot \sin \alpha$  definiert bzw. dieser Größe proportional ist. Unter Anwendung der bisherigen Mittel war eine Steigerung nach dieser Richtung nicht mehr möglich. Im Apochromaten Abbes ist bereits die größte Ausnutzung der lichtsammelnden und dioptrischen Kraft des Objektives erreicht. Der

<sup>1)</sup> Dieses Archiv Bd. 179, Heft 2, 1905.

<sup>2)</sup> R. Zsigmondy, Zur Erkenntnis der Colloide. Jena, Fischer, 1905.

Öffnungswinkel der Frontlinse ( $\alpha$ ), der für die Menge und Weite der abbildenden Lichtbüschel maßgebend ist, kann nicht mehr vergrößert werden, ohne eine solche Divergenz der Strahlen herbeizuführen, daß dieselbe für den weiteren Verlauf unkorrigierbar wird.

Man hat daher gesucht, das Auflösungsvermögen durch Benutzung von Medien mit großem Brechungsexponenten ( $n$ ) zu erhöhen, wie dies im wesentlichen durch die sog. Ölimmersionssysteme erreicht ist. Nach den Gesetzen der geometrischen Optik sinkt die Abbildbarkeit der Objekte in dem Grade, als sich deren Größe jener der Wellenlänge des Lichtes nähert; die Form und Dimensionen solcher Elemente, deren Größe nur mehr kleine Vielfache oder Bruchteile der Wellenlänge beträgt, kommen nicht mehr zum Ausdrucke. Benutzt man jedoch stark brechende Medien, so vermag man dadurch die Wellenlänge des einfallenden Lichtes zu verkürzen, die Teilchen jetzt gleichsam relativ größer zu machen und damit das Auflösungsvermögen zu steigern. In dieser Richtung ist von Abbe auch das Monobromnaphtalin verwendet worden, eine Substanz, die jedoch gerade in Rücksicht auf die Untersuchung organischer Gewebe keine ausgedehnte Anwendung zuläßt.

Ein anderer Weg als die Überführung des Lichtes von relativ großen Wellenlängen, wie sie vor allem das Tageslicht charakterisieren, besteht darin, solches kleiner Wellenlänge, also blaue bzw. ultraviolette Strahlen als Beleuchtungsmittel zu verwenden. Schon in den siebziger Jahren hat sich Graf Castracane auf Vorschlag von Amici dieses Kunstgriffes bedient, um die Strukturen von Diatomeen zu studieren<sup>1)</sup>. Dann ist Czapski für die Verwendung kurzwelligen Lichtes eingetreten und hat die Gesichtspunkte definiert, nach welchen bezügliche Mikroskope zu konstruieren wären. Die praktische Durchführung seiner Ideen scheiterte jedoch an dem Mangel geeigneter Lichtfilter, der Schwierigkeit, ultraviolette Strahlen von kleiner Wellenlänge in hinreichender Menge zu erzeugen und genügend zu isolieren, sowie daran, daß die damals bekannten Glasarten nur eine beschränkte Durchlässigkeit für die Strahlen kleiner Wellenlänge — nur bis etwa  $350 \mu\mu$  — besaßen.

Erst den zielbewußten Arbeiten Köhlers, welcher seit dem Jahre 1899 um die Verwendung einfarbigen Lichtes für die Mikroskopie bemüht war, ist es durch fortgesetzte Studien gelungen, alle Schwierigkeiten zu beseitigen und die vollen praktischen Konsequenzen aus den theoretischen Anschauungen seiner Vorgänger zu ziehen. Durch die Mikrophotographie mit ultravioletem Lichte, welche wir seinen Arbeiten verdanken, ist uns ein neues Untersuchungsgebiet erschlossen und ein brauchbares Hilfsmittel an die Hand gegeben worden, um histologische Untersuchungen bei maximaler Steigerung des Auflösungsvermögens durchzuführen. Das Verfahren unterscheidet sich nur dadurch von der bisherigen mikroskopischen Technik

<sup>1)</sup> Auch O. Israel hat sich, wie er mir schreibt, schon vor 20 Jahren mit der Verwendung einfarbigen Lichtes beschäftigt.

daß man bei Benutzung kurzwelligen Lichtes nicht mehr direkt beobachten kann, sondern das Auge durch die photographische Platte ersetzen muß, auf welche die unsichtbaren Strahlen ja in hohem Maße einwirken; dies hat aber wieder den Vorteil, daß die Untersuchung an Objektivität gewinnt und man vor Täuschungen subjektiver Art geschützt ist.

In dem neuen Apparate wird einfarbiges Licht verwendet. Wir haben schon gehört, daß das Auflösungsvermögen der Wellenlänge umgekehrt proportional ist; so würde eine numerische Apertur von 1,4 bei einer Wellenlänge von  $550\ \mu\mu$  — dem Tageslichte entsprechend — mit einer solchen von 2,2 bei einer Wellenlänge von  $350\ \mu\mu$  gleichbedeutend sein. Köhler bedient sich des Magnesium-<sup>1)</sup> oder Kadmiumlichtes von den Wellenlängen 280 bzw.  $275\ \mu\mu$ , für welche seine Monochromate konstruiert sind. Sein stärkstes Objektiv hat eine numerische Apertur von 1,25. Da dieses Licht nur mehr etwa die halbe Wellenlänge von jener der wirksamen Strahlen des Tageslichtes besitzt, so ist damit derselbe Effekt erzielt, als ob die numerische Apertur der alten Linsensysteme verdoppelt worden wäre, als ob sie 2,5 betragen würde, was jedoch praktisch unausführbar ist. Köhler bezeichnet nun das Auflösungsvermögen der für ultraviolette Licht eingerichteten Systeme als relative Apertur, die sonach bei der Wellenlänge von  $275\ \mu\mu$  doppelt so groß ist als der Wert der auf das Tageslicht bezogenen numerischen Apertur. Hierdurch ist die Steigerung der Leistungsfähigkeit des neuen Mikroskopes genügend charakterisiert.

Soviel in theoretischer Beziehung. Der Umstand, daß Glas für ultraviolette Licht nahezu undurchlässig ist, erforderte die Verwendung von geschmolzenem, einfachbrechendem Quarze als Material für das Linsensystem; ebenso müssen alle anderen Medien, die das kurzwellige Licht zu passieren hat, für dieses durchlässig sein. Als Objektträger und Deckgläschen dienen daher dünne Platten aus Bergkrystall, welche senkrecht zur Achse desselben herausgeschnitten sind. Als Immersionsflüssigkeit kommt Glyzerin von bestimmtem Brechungsindex zur Anwendung. Als Einschlußmittel können Kochsalzlösung (so auch die „physiologische“), Lösungen von Chloralhydrat und Wasser, aber auch Vaselineöl benutzt werden, Substanzen, in welchen sich organische Gebilde sowohl in nativem Zustande wie auch nach Präparation — Fixierung, Härtung —, also unter den verschiedensten Bedingungen, untersuchen lassen. Einbettung in Paraffin oder Celloidin bildet kein Hindernis.

<sup>1)</sup> Auch die Liniengruppen  $448\ \mu\mu$  und  $383\ \mu\mu$  eignen sich nach Köhler vorzüglich für photographische Aufnahmen. Es ist vielleicht weniger bekannt, daß schon mein Großvater A. von Schrötter auf die große Menge der im Magnesiumlichte enthaltenen ultravioletten Strahlen aufmerksam gemacht hat. In der bezüglichen Notiz (Akademischer Anzeiger der k. Wiener Akademie, Jahrgang 1865, S. 177) berichtet er auch über die Bedeutung dieser Eigenschaft für die Erzeugung von Fluoreszenzerscheinungen.

Es kann nicht meine Aufgabe sein, des genaueren auf die Anordnung des Köhlerschen Mikroskopes und auf die Technik bei den photographischen Aufnahmen einzugehen; ich verweise in dieser Richtung auf dessen Originalarbeit<sup>1)</sup> sowie auf die kurze Darstellung der Einrichtung in dem von der Firma Zeiß herausgegebenen Spezialkataloge<sup>2)</sup>; dort ist auch eine Tabelle der erreichbaren Vergrößerungen beigegeben. In Kürze ist die Anordnung folgende. Das Licht des Magnesium- oder Kadmiumfunktens wird durch Prismen in ein Spektrum zerlegt, von diesem nur der bestimmte Strahlenbezirk (Liniengruppe) abgefangen und auf ein total reflektierendes Prisma geleitet, das unter dem Kondensor des Mikroskopes angebracht ist. Die Strahlen passieren den Objektträger, gelangen ins Objektiv, welches ein reelles Bild des Gegenstandes erzeugt, das nicht direkt, sondern erst mit Hilfe eines Oculares auf die photographische Platte projiziert wird. Der Kamerabalg ist hier vertikal angeordnet, was verschiedene Vorteile bietet.

Da das kurzwellige Licht nicht direkt zur Wahrnehmung gelangt, war noch eine besondere Vorrichtung notwendig, um die Objekte dennoch einstellen zu können. Diese Forderung hat Köhler in geistreicher Weise durch die Konstruktion einer Art künstlichen Auges, des Suchers, gelöst, welcher im wesentlichen aus einer fluoreszierenden Platte (Uranglas) und einer Lupe besteht. Die unsichtbaren Strahlen rufen auf der Platte des Suchers Fluoreszenz hervor, so daß ein sichtbares Bild zustande kommt; hat man dasselbe auf der fluoreszierenden Platte des Suchers präzise eingestellt, so wird es auch scharf auf der photographischen Platte entworfen, wenn man nun die Kamera an Stelle des künstlichen Auges bringt, vorausgesetzt, daß der Abstand der Platte vom Deckel des Oculars etwa 30 cm beträgt. Man begreift, daß die Einstellung schwierig sein kann, wenn die Strukturen gut für ultraviolette Licht durchlässig sind, so daß sie sich vom Fluoreszenzlichte der Platte nur wenig unterscheiden. Es versteht sich ferner, daß durch diese Anordnung auch eine Gefahr für das Auge ausgeschlossen ist, da das ultraviolette Licht das Uranglas nicht zu durchdringen vermag; es wird in Licht längerer Wellen umgewandelt.

Gegenüber der direkten Besichtigung der Objekte stellt die Gewinnung von Bildern auf diesem Wege ein zeitraubendes und gegebenen Falles mühsames Verfahren dar; es ist dies aber ein Umstand, der mit Rücksicht auf die noch zu erwartenden Resultate nicht in die Wagschale fallen kann. Ebenso ist es kaum von Belang, daß sich die mikroskopische Untersuchung durch die Benutzung von Quarzplatten verteuert. Handelt es sich um Präparate, deren Aufbewahrung wünschenswert erscheint, so können dieselben, wie dies Köhler übrigens schon (S. 288) näher erläutert,

1) Mikrophotographische Untersuchungen mit ultravioletttem Lichte, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und mikrophotographische Technik Bd. XXI, 1904, S. 129 und 273.

2) M. 170, VIII, 1904.



auf Objektträger oder Deckgläschen aus Glas umgebettet und in dieser Art konserviert werden.

Bezüglich der Schärfe der Aufnahmen erscheint uns die Verwendung von „lichthoffreien“ Platten wünschenswert.

Da sich viele Objekte bei Tageslicht bezüglich ihrer Durchlässigkeit nur wenig different von den gebräuchlichen Glasarten erweisen und daher in verschiedener Abstufung durchsichtig erscheinen, so durfte man erwarten, daß sich solche Gewebsbestandteile bei ultraviolettem Lichte undurchlässig zeigen und demgemäß in dunkler Schattierung zum Ausdruck kommen würden; umgekehrt konnten sich bei Tageslicht schwer durchdringbare Strukturen für ultraviolettes Licht durchlässig erweisen. Abgesehen von der Steigerung des Auflösungsvermögens durfte man daher auf eine besondere Differenzierung, auf eine Art von Färbung der Objekte bei Benutzung kurzwelligen Lichtes rechnen.

In der Tat haben schon die ersten Versuche Köhlers überraschende Resultate ergeben und seine Photogramme den Wert der neuen Methode anschaulich gemacht. Ich möchte zunächst auf jene Bilder, welche tierische Präparate<sup>1)</sup> betreffen, in Kürze zurückkommen, um daran weitere Bemerkungen anschließen zu können.

Besonderes Interesse beanspruchen die Photogramme 6 und 7, Kernteilungsfiguren der Epithelzelle des Salamanders darstellend; die Gebilde wurden in Glyzerin eingeschlossen. In der ersten Figur, Asterstadium, treten die Chromatinschleifen in dunkelschwarzer Zeichnung gegenüber dem hellen Hyaloplasma hervor. In der zweiten, Spiremstadium, finden sie sich ebenfalls mit seltener Klarheit im Kerne der Zellen gezeichnet, wie wenn sie z. B. nach Altman n fixiert und mit Safranin gefärbt worden wären. Auch nach Konservierung in Alkohol trat bei ultravioletter Durchstrahlung die gleiche „Tinktion“ des Kerngerüsts in Erscheinung. Gerade für das Studium des so interessanten Teilungsvorganges der Zellen wird sich die Methode in

<sup>1)</sup> Auch für die Anatomie der Pflanzen wird das neue Verfahren fruchtbringend sein. Ich verweise u. a. auf die Frage nach der Elementarstruktur der vegetabilischen Zellhaut (Plasomentheorie Wiesners), auf den Bau des Chlorophyllkornes usw.

Anknüpfung an die fundamentalen Arbeiten Flemmings bewähren können und vielleicht dazu beitragen, die noch nicht hinreichend erkannten Beziehungen der Centrosomen zum Kerne u. a. aufzuklären. Gegen manchen Befund auf diesem Gebiete ist ja wiederholt der Einwand gemacht worden, daß es sich um Kunstprodukte, bedingt durch Härtung und Färbung, und nicht um den Ausdruck der wahren Verhältnisse handle.

Fig. 5 bringt das Präparat des Tritonknorpels (0,5prozentige Kochsalzlösung); die Grundsubstanz des Knorpels erscheint hell, ist also für die ultravioletten Strahlen durchlässig. Demgegenüber erweist sich die Linse des Auges vollkommen undurchlässig für ultraviolettes Licht. Die entsprechende Fig. 12 bezieht sich auf ein Präparat des Auges einer Kaulquappe; Formolhärtung, Einbettung in Paraffin, Xylol, Alkohol, Glyzerineinschluß. Die Linse und die Körnerschichte der Retina erscheinen tiefschwarz; eine sichtbare Bestätigung der Ergebnisse von Soret<sup>1)</sup>, der schon im Jahre 1879 auf anderem Wege (Spektroskop mit Fluoreszenzocular) die starke Absorption der Linse bzw. der Augenmedien für ultraviolettes Licht festgestellt hat. Für das gesamte Auge fand er die Grenze der Durchlässigkeit bei einer Wellenlänge von 295  $\mu\mu$ . In letzter Zeit hat sich auch Hertel<sup>2)</sup> von den hohen Werten der Absorption überzeugen können, welche den Medien des Auges für ultraviolettes Licht zukommen. Diese Eigenschaft unseres dioptrischen Apparates ist wohl auch der Grund dafür, warum wir die ultravioletten Strahlen nicht zu sehen vermögen. Angaben wie jene von Mascart, nach welchen ausnahmsweise noch Wellenlängen bis zu 210  $\mu\mu$  herab percipiert worden sein sollen, beruhen offenbar darauf, daß die kurzwellige Strahlung Fluoreszenz hervorruft und nun der Effekt dieser wahrgenommen wird.

Nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen kommt der Linsensubstanz die stärkste Absorption zu;<sup>3)</sup> außer der

<sup>1)</sup> Compt. rend. Bd. 88, S. 1012.

<sup>2)</sup> Bericht des 31. Ophthalmologenkongresses in Heidelberg, Jahrg. 1903, S. 144.

<sup>3)</sup> Nach Widmark, dessen Angaben von Birch-Hirschfeld bestätigt werden (v. Gräfes Archiv, 58. Bd., 1904) bedeutet das Fehlen der

Cornea haben sich aber auch der Humor aqueus und der Glaskörper derart undurchlässig erwiesen, daß eine direkte Wahrnehmung des ultravioletten Lichtes selbst für das aphakische Auge ausgeschlossen erscheint. Das Photogramm Köhlers hat ein weiteres Hindernis für die Fortleitung der Strahlen auf den lichtempfindlichen Endapparat aufgedeckt, indem sich die dichtgedrängte Körnerschichte der Retina undurchlässig erweist. In dieser Eigenschaft der Augenmedien mag man auch einen Schutz gegen die Wirkungen der ultravioletten Strahlung auf das Sehorgan erblicken.

Es ist hier nicht der Ort, näher auf diesen interessanten Gegenstand einzugehen, ich möchte jedoch Gelegenheit nehmen, eine Versuchsreihe zu fixieren, auf welche ich gelegentlich der Demonstration unserer Photogramme<sup>1)</sup> aufmerksam gemacht habe. Der von Köhler in seinem Sucher angewandte Kunstgriff hat mich auf den Gedanken gebracht, zu untersuchen, inwieweit der ultraviolette Teil des Spektrums bzw. die demselben zukommende Lichtenergie dennoch sichtbar gemacht werden kann, wenn wir das kurzwellige Licht in solches langer Wellenlänge verwandeln, wenn wir die Augenmedien künstlich mit Fluoreszenz ausstatten. Zu diesem Zwecke sollen dem Auge fluoreszierende Substanzen entweder vom Bindehautsack oder im Wege der Injektion einverleibt werden, wozu sich die optisch genau bekannten Körper, Fluoreszin und Aesculin, empfehlen werden; beide Substanzen sind ungiftig. Icard<sup>2)</sup> hat kürzlich nach den Studien, welche er zur Diagnose des Scheintodes angestellt hat, gezeigt, daß die Injektion von 10 cem einer 5prozentigen Fluoreszinslösung am lebenden Menschen intensiven „Icterus“ und eine schöne smaragdgrüne Verfärbung des Auges hervorruft; die Substanz findet auch bereits in der Augen-

Linse nur einen Gewinn von etwa 35,5 bis 67 Wellenlängen. — Es wird zu untersuchen sein, welchem der Eiweißkörper mit Bezug auf die vorliegenden Analysen (Mörner) das Maximum der absorbierenden Kraft für ultraviolettes Licht zukommt. Im ganzen sind etwa 35% Eiweißstoffe in der Linse enthalten; die einzelnen Schichten derselben verhalten sich sowohl in chemischer Richtung wie mit Bezug auf ihren Brechungsindex verschieden.

1) Sitzungsbericht der Gesellschaft für innere Medizin am 9. Nov. 1905.

2) Therapeut. Monatsh. Nr. 6, 1905.

heilkunde lokale Verwendung. Aesculin ist schon früher an Stelle von Chinin bei Malaria versucht worden.

Es versteht sich, wie gesagt, daß wir durch diese Mittel das ultraviolette Licht nicht als solches wahrnehmen können; es wird jedoch von Interesse sein, auf diesem indirekten Wege festzustellen, welche Spektralgebiete solcher Art sichtbar zu machen sind und in welcher Weise dabei die Absorption durch die besondere chemische Konstitution der Eiweißkörper des Auges beeinflußt wird.<sup>1)</sup>

Ein lehrreiches Bild bietet endlich auch die Aufnahme (Taf. VI, Fig. 17 der Publikation Köhlers) von menschlichen Epidermisschüppchen. Zunächst Alkohol-, dann Glycerineinbettung. Einzelne isolierte Zellen treten in scharfer Zeichnung hervor, dort, wo mehrere übereinander geschichtet liegen, sind dieselben so gut wie undurchlässig; ein augenscheinlicher Beweis dafür, daß, wie schon Köhler bemerkt, eine so kurzwellige Strahlung (280  $\mu\mu$ ) nicht in die tieferen Schichten der Haut eindringen kann.

Dieser Befund ist für phototherapeutische Fragen von besonderem Interesse. Ohne mich des näheren darauf einzulassen, wie wir uns die Wirkung des Lichtes auf die Haut und den Gesamtorganismus vorzustellen haben, möchte ich nur hervorheben, wie auch dieses Ergebnis wieder lehrt, daß der Einfluß des Lichtes nicht mit einer Ätzung verglichen werden darf, welche ja doch durch die Gleichzeitigkeit von Ursache und Wirkung definiert ist. Mögen auch jenem Teile des Spektrums, welcher die Haut zu passieren vermag, photochemische Einflüsse zukommen, so wissen wir doch auf Grund vielfacher Erfahrung, daß es vor allem die kurzwelligen Strahlen sind, welche physio- und pathologische Veränderungen des Gewebes hervorrufen. Wenn wir nun sehen, daß sich die oberflächlichen Schichten der Haut gerade für diese Lichtqualität undurchlässig erweisen, so kann es sich nicht um einen direkten Effekt dieser, sondern offenbar um die Folgen metabolischer Vorgänge handeln, welche die bekannten Erscheinungen verursachen.

<sup>1)</sup> Herr Kollege Lauber hat mir seine freundliche Mitwirkung bei den bezüglichen Studien zugesagt.

Nach dem Gesetze der Erhaltung der Energie werden die Ätherschwingungen in den absorbierenden Schichten in eine andere Form der Arbeit und so vor allem in chemische Energie umgewandelt, welche zur Bildung jener Substanzen Veranlassung gibt, die einen irritativen oder toxischen Einfluß auf die Umgebung entfalten. In diesem Sinne werden wir Hertel<sup>1)</sup> zustimmen, wenn er betont, daß die starke Reizwirkung der ultravioletten Strahlen, die Anregung zur Proliferation der fixen Gewebelemente, auf die starke Absorption der kurzwelligen Strahlung zu beziehen ist. Vorwiegend scheint es sich hierbei um oxydative Prozesse zu handeln, wenn uns auch der nähere Mechanismus derselben sowie die entstehenden Zwischenprodukte noch unbekannt sind. Nach unserer gegenwärtigen Auffassung dürften es katalytische Vorgänge sein, bei welchen Sauerstoffüberträger (Sensibilisatoren) beteiligt sind und die, einmal angeregt, mit verschiedener Geschwindigkeit ablaufen. Auch an die Umwandlung der photochemischen Energie in Wärme wird bei der Einwirkung auf die Haut zu erinnern sein, wie sie beim Transpirationsversuche an Pflanzen durch die gesteigerte Dampfmenge bei kurzwelliger Bestrahlung festgestellt ist usw.

Außer den Umsetzungen in der epithelialen und der Papillarschichte, hinsichtlich welcher insbesondere der Zerfall der Kernsubstanz zu berücksichtigen wäre, kommen jene Wirkungen in Betracht, welche auf die oberflächlichen Gefäße sowie auf die gesteigerte Lichtabsorption seitens des Hämoglobins zu beziehen sind. Bei unversehrter Oberhaut käme für diesen Körper vorwiegend den Absorptionsstreifen im langwelligen Teile des Spektrums Bedeutung zu. Schon Rollet hat eine erhöhte Reduktion des Hämoglobins in den Geweben bei Insolation angenommen und Quincke die gesteigerte Sauerstoffabgabe desselben im Lichte durch Experimente *in vitro* nachgewiesen. Axmann wiederum bemerkt, wie venöses Blut durch das Licht glühenden Quecksilberdampfes (Uviolampe) hellrot gefärbt und die Gerinnung beschleunigt wird. Wenn demnach auch wertvolle Einzelbeobachtungen sowie Versuche vorliegen, den Einfluß des Lichtes, die Wirkung des Radiums nachzuahmen (Cholininjektion Werner, Exner), in ihrer Gesamtheit sind diese komplizierten Vorgänge noch nicht hinreichend erfaßt.

Für Fragen der Lichttherapie wären vergleichende Aufnahmen lebender Zellen vor und nach ultravioletter Durch-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. allgem. Physiologie, 5. Bd., 1905.

strahlung von Interesse, wodurch sich vielleicht auch den intermediären Vorgängen in morphologischer Richtung nähertreten ließe. Die Intensität der Strahlung könnte nach dem Vorgange von Hertel<sup>1)</sup> auf thermochemischem Wege (bei konstanter Funkenstrecke und Stromquelle) gemessen werden.

Das im Wege der Mikrophotographie Köhlers für die einzelnen Zellen der Epidermis festgestellte Verhalten steht in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen von Versuchen, welche über die Lichtdurchlässigkeit dickerer Hautschichten mittels des spektrographischen Verfahrens gewonnen wurden. Solche Untersuchungen sind außer von Strebel besonders von L. Freund im Institute Professor Eders angestellt worden, wobei sich ergab, daß die Absorption schon bei einer Wellenlänge von rund 330  $\mu\mu$  beginnt, um den übrigen Teil der kurzwelligen Strahlen zu betreffen.

Freund<sup>2)</sup> verwendete abgelöste Brandblasen, dünne Epidermisläppchen, Horn u. a. Die verschiedenen Membranen wurden zwischen Quarzplatten vor dem Spalte eines Gitterspektrographen befestigt und nun das Spektrum sowohl unter Vorschaltung der Präparate wie ohne dieselben, und zwar übereinander, bei konstanter Expositionsdauer, photographiert. Als Lichtquelle diente der Funke eines kräftigen Induktoriums, welchen man zwischen Elektroden aus einer Blei-Zink-Kadmiumlegierung überschlagen ließ. Des genaueren zeigte sich, daß die Absorption der ultravioletten Strahlen bei der Kadmiumlinie  $\lambda = 326 \mu\mu$  ihren Anfang nahm; diese Linie war auf der Platte eben noch erkennbar, während das Licht der stärker brechbaren Strahlen keine Schwärzung derselben hervorbrachte. Abgetötete Epidermis sowie ungefärbtes Horn verhielten sich im allgemeinen gleich, während pigmentiertes Hautmaterial, gefärbte Keratinsubstanz, schon bei der Linie  $\lambda = 344 \mu\mu$  Absorption bewirkten. Spektrophotogramme des Blutes ließen, wie zu erwarten stand, von der Linie G so gut wie keinen Effekt auf der Platte erkennen. Bei Untersuchung der Schwimmhaut des Frosches, wo sowohl Epidermis wie Blut in Frage kamen, wurde das Licht bereits in einer Wellenlänge von  $\lambda = 396 \mu\mu$  absorbiert.

Bezüglich Deutung dieser Befunde möchte ich, wie gesagt, weniger Gewicht darauf legen, daß die blauen und das Anfangsgebiet der ultravioletten Strahlen von den oberflächlichen Haut-

<sup>1)</sup> a. a. O.

<sup>2)</sup> Archiv f. Dermat. u. Syphilis Bd. 58, H. 1, 1901 sowie Grundriß der Radiotherapie, Wien 1903, S. 338.

schichten durchgelassen, als vielmehr darauf, daß der überwiegende Teil der ultravioletten Strahlen von den Epithelzellen und vom Corium absorbiert wird. Der aus diesem Zuwachse an aktinischer Energie resultierende Chemismus dürfte, wie oben angedeutet, vor allem die Ursache jener Veränderungen sein, welche wir nach einer Latenzperiode verschiedener Dauer im Gefolge intensiver, kurzweiliger Bestrahlung an der Haut eintreten sehen; damit soll keineswegs die elektive Bedeutung anderer Strahlenbezirke für die histochemischen Vorgänge in Abrede gestellt werden. Bezüglich der Tiefenwirkung kommt auch noch die Intensität des Lichtes und die Dauer der Strahlung in Betracht.

Es erscheint mir nicht ohne Interesse (Sonnenbäder, Gletscherbrand), einmal auch rechnerisch jener Menge von (Licht) Energie nachzugehen, welche der Körperoberfläche (etwa 18500 cm) oder dem Kopfe plus beide Hände (etwa 2000 cm) bei einer mittleren Lichtstärke täglich zugeführt wird. Im Ballon bzw. in größeren Höhen (Anden) wird dieser Zuwachs, welchen die Hautdecke, das zirkulierende Blut, erfährt, infolge des großen Reichthumes hoher Luftschichten an ultraviolettem Lichte ein bedeutenderer sein.

Über die Wirkung des Lichtes auf den Stoffwechsel ist experimentell noch wenig bekannt; nach den bisher vorliegenden Untersuchungen weisen sämtliche Komponenten auf eine Zunahme der Verbrennungsprozesse. Durch weitere Studien würde sich der Grad derselben genauer bestimmen und ermitteln lassen, inwieweit die Steigerung des Stoffumsatzes direkt, photochemisch, oder indirekt im Wege verschiedener, durch das Licht ausgelöster Reflexmechanismen<sup>1)</sup> veranlaßt wird. Ich bemerke, daß ich schon vor mehreren Jahren Versuche über den Gaswechsel bei länger-dauerndem Aufenthalte unter dem Einflusse verschiedenfarbigen Lichtes (gelbe und blaue Strahlung) geplant hatte, jedoch bisher noch nicht zu deren Ausführung kam; vergleichsweise wäre das Verhalten von Dunkel-tieren heranzuziehen.

Die hochgradige bactericide Wirkung des ultravioletten Lichtes ist durch die letzten Untersuchungen Hertels nunmehr mit Sicherheit festgestellt. Ich verweise in dieser Richtung auch auf unsere U.V.-Photogramme von Tuberkelbazillen; wo zwei oder mehrere Stäbchen übereinanderliegen, tritt die starke Absorption für kurzweiliges Licht deutlich hervor.

Ich selbst wurde veranlaßt, dem mikrophotographischen Verfahren Köhlers näher zu treten, nachdem ich die im

<sup>1)</sup> Vgl. u. a. H. v. Schrötter, Sauerstoff bei Luftdruckerkrankungen. Berlin 1904, S. 214.

vorigen besprochenen Photogramme anlässlich eines Demonstrationsvortrages<sup>1)</sup> gesehen hatte, welcher von Herrn Otto, Vertreter der Firma Zeiß, im vergangenen Winter gehalten wurde.

Es schien mir von Interesse, die Leistungsfähigkeit des Verfahrens an Objekten zu prüfen, deren Auflösung im gewöhnlichen Wege Schwierigkeiten bereitet, bzw. deren Strukturen ohne besondere Färbungsmethoden nicht zu studieren sind. In dieser Richtung sollten zunächst geißel- und kapseltragende Bakterien sowie Gewebsbestandteile von komplizierterem Baue aufgenommen werden. Aus äußeren Gründen kann ich jedoch bisher nur ein beschränktes Material vorlegen, dasselbe läßt aber bereits eine solche Orientierung über das neue Verfahren zu, daß die Mitteilung desselben schon jetzt berechtigt erscheint. Ich ergreife an dieser Stelle die Gelegenheit, Herrn Dr. A. Köhler in Jena für sein freundliches Entgegenkommen zu danken.

Die Präparate wurden in der Weise hergestellt, daß ich das Material in dünner Schichte auf den Quarzobjektträger auftrug; dann wurden die Bakterienkulturen über der Flamme, das Blut mit Methylalkohol fixiert. Zwischen Objektträger und Deckglas wurde das offizinelle Glyzerin der Ph. A. gebracht und das Deckglas mit Asphaltlack befestigt. Die Photogramme sind von Dr. Köhler in Jena mit Licht einer Wellenlänge von  $\lambda = 275 \mu\mu$  (Kadmiumfunken) aufgenommen worden; die Expositionszeit betrug ca. 1 Sekunde.

I. Anthraxbazillen, etwa 30stündige Agarkultur. (Obj. 1,7 mm, Oc. 10, v. A. d. K. etwa  $\frac{2}{3}$ , Vergrößerung 1800 : 1.) Taf. IX, Fig. 5 u. 6. Das Zellprotoplasma erweist sich ziemlich undurchlässig und tritt demgemäß deutlich in der Zeichnung hervor. In demselben erkennt man an einzelnen Individuen runde helle Scheibchen, vielleicht als sporogene Granula aufzufassen; mit den u. a. von Kleth beschriebenen Kernkörperchen möchte ich dieselben wegen ihrer Größe und ihrer Lichtdurchlässigkeit nicht zusammenbringen. Möglicherweise handelt es sich auch nur um Vacuolen, um welche herum das Protoplasma deutlich

<sup>1)</sup> Sitzung der Chem.-physikal. Gesellschaft in Wien vom 24. Jänner 1905.



reicher ist. Die freien Sporen, die bei Beleuchtung mit Tageslicht als hellglänzende ei- oder kugelförmige Gebilde erscheinen, erweisen sich dagegen undurchlässig für ultraviolettes Licht und treten demgemäß als tiefdunkle Körper hervor, wobei manchmal noch eine helle umgebende Zone (Kapsel?) zu unterscheiden ist. Ein Auswachsen der Sporen war an keinem der Photogramme zu sehen. Die Bazillen sind in typischer Weise durch Querlücken unterbrochen; die entsprechenden Endflächen deutlich tellerförmig eingezogen. Da und dort auch kolbige Anschwellungen im Bereiche sowie an den Enden der Fäden. An einzelnen Bazillen sehr schön die Gallertkapsel als helle Zone, von einem dunklen Striche begrenzt, zu sehen. Außerdem Degenerationsformen mit unterbrochenem, gekörntem Protoplasma; die Randzone solcher Stäbe wesentlich heller.

II. Sklerombazillen 4tägige Agarkultur. Vergrößerung 1800:1 (Obj. 1,7 mm, Oc. 10, v. A. d. K.  $\frac{2}{3}$ ). In gefärbten Präparaten, wie für diese Bazillen typisch, die einzelnen Individuen polymorph; neben kurzen, plumpen Stäbchen auch mehr rundliche Formen, reichliche Kapselbildung. Dieses Verhalten zeigt auch das im Wege der ultravioletten Photographie gewonnene Präparat. Es sind Bazillen mit und ohne Kapseln, ebenso leere Kapseln zur Darstellung gelangt. Letztere erweisen sich lichtdurchlässig und erscheinen daher als helle Scheibchen, während der Bacillus im Inneren derselben eine dunkle Schattierung zeigt.

III. Tuberkelbazillen. Kultur auf Glyzerinagar. (Obj. 1,7, Oc. 10, v. A. d. K. etwa  $\frac{1}{4}$ , Vergrößerung 1800:1). Taf. IX, Fig. 3 u. 4. Die Bazillen differenzieren sich gegenüber dem Brechungsindex des Glyzerines; sie absorbieren mithin das ultraviolette Licht, so daß sie sich in grauem Farbentone darstellen. Wo, wie in Fig. 4, zwei oder mehrere Bazillen übereinanderliegen, tritt vollständige Absorption der kurzwelligen Strahlen ein. Es mag dieses Verhalten für lichttherapeutische Fragen nicht ohne Interesse sein. Im Inneren der Bazillen war bei der angewandten Vergrößerung keine Struktur zu bemerken; um sie herum hellere, jedoch in keiner Weise begrenztere Zonen.

IV. Trypanosoma. (Obj. 1,7 mm, Oc. 10, v. A. d. K. etwa  $\frac{2}{3}$ , Vergrößerung 1800:1). Taf. X, Fig. 7 u. 9. Es handelt sich um

Blut einer Ratte, welche mit menschlichen Trypanosomen infiziert worden war. Der fischähnliche Leib ist etwas besser durchleuchtbar als die roten Blutkörperchen; die aalflossenartige Membran erscheint hell. Eine feinere Struktur derselben bei der benutzten Vergrößerung nicht erkennbar; der Randfaden sowie die freie Geißel von derselben Intensität wie das Protoplasma des Leibes. Die Chromatinhäufen, wie sie nach der Romanofsky-Färbung deutlich zu sehen sind, treten so gut wie gar nicht hervor. Vielleicht wäre die Zeichnung der Struktur deutlicher gewesen, wenn ich nicht Glyzerin, sondern physiologische Kochsalzlösung als Einschlußflüssigkeit verwendet hätte.

Die bisher untersuchten Bakterienpräparate haben sich ebenso wie das Ultraviolettphotogramm des Trypanosomenblutes den Bildern gefärbter Präparate nicht überlegen erwiesen. Auf diesem Gebiete scheint die Bedeutung der Methode, wenigstens ohne Anwendung besonderer Tinktionsmittel oder Reagentien, die jedoch erst für die Aufnahme bei ultravioletter Durchstrahlung zu suchen wären, eine beschränkte zu sein. Demgegenüber hat die Untersuchung des Blutes bei Malaria sowie namentlich bei Leukämie, mit Zellmaterial verschiedener Zusammensetzung und Struktur, Ergebnisse geliefert, welche den Wert des neuen Verfahrens deutlich zum Ausdrucke bringen und zeigen, daß dasselbe in der Tat eine wichtige Bereicherung der histologischen Technik und mit Rücksicht auf die gebräuchlichen Tinktionsverfahren sogar einen teilweisen Ersatz derselben bedeutet.

Doch bevor ich auf die bezüglichen Bilder im einzelnen eingehe, möchte ich an der Hand der in den Präparaten IV, V, VI u. a. entsprechenden Photogramme auf das Verhalten der roten Blutkörperchen aufmerksam machen.

Die Morphologie der Erythrocyten ist bekanntlich noch immer nicht in genügender Weise aufgeklärt. Mir schien daher die Art, wie dieselben bei U.V.-Aufnahmen zur Darstellung kommen würden, besonderes Interesse zu beanspruchen. Abgesehen von dem möglichen Einflusse auf das Verhalten der Gasabsorption (Sauerstoffkapazität)<sup>1)</sup> hat die Frage nach der

<sup>1)</sup> Vgl. H. v. Schrötter, Der Sauerstoff bei Luftdruckerkrankungen. Berlin 1904, S. 132.

feineren Struktur der roten Blutkörperchen neuestens für die Auffassung der hämolytischen Vorgänge Bedeutung erlangt. Rollet dürfte der erste gewesen sein, welcher eine Differenzierung im Stroma des Erythrocyten und eine besondere Verteilung des Hämoglobins („Endosoma“) im Zelleibe angenommen hat. Beweise für die Annahme eines netzartigen Baues konnten nicht erbracht werden. Demgegenüber sind in letzter Zeit Köppe sowie namentlich E. Albrecht<sup>1)</sup> auf Grund des Verhaltens der roten Blutkörperchen bei Einwirkung der Wärme, hypo- und hypertonischer Lösungen, fettlösender Mittel u. a., für das Bestehen einer besonderen fettartigen Oberflächenschichte eingetreten, welche den Austausch wasserlöslicher Substanzen verhindern, und damit den normalen Zellbestand gewährleisten soll. Der lipoide Charakter dieser Hüllschichte, welche nach Albrecht bei etwa 50° schmilzt, würde die besondere Form der Erythrocyten erklären und ist für die Quellungserscheinungen und das Klebrigwerden der roten Blutkörperchen maßgebend. Ich bemerke hier nur nebenbei, daß jüngst Landsteiner mit v. Eisler<sup>2)</sup> in der Tat zeigen konnte, daß den lipoiden Substanzen bezw. ihrer Verbindung mit den Proteinen die Fähigkeit zukommt, Hämolyse zu binden und damit die Auflösung des Blutkörperchens herbeizuführen; an den mit fettlösenden Agentien behandelten Zellen haften die Lysine weniger als am unveränderten Stroma. Die Autoren unterlassen es dabei, als für den Vorgang selbst unwesentlich, sich dafür zu entscheiden, ob die Zerstörung der Blutkörperchen zunächst durch Lösung einer besonderen Hüllschichte eingeleitet wird oder durch Lockerung einer mehr gleichmäßigen Mischung der Eiweißkörper und Lipide vor sich geht.

Beruhet die Annahme einer besonderen Oberflächenschichte auf den Ergebnissen künstlicher Einwirkung (Schmelzbarekeit der Lecithinhülle Albrechts usw.) auf das Blutkörperchen, so liegen Angaben, die bei der Beobachtung nativer Präparate

<sup>1)</sup> Verhandlungen der Deutschen patholog. Gesellschaft, 8. Tagung. Breslau 1904, S. 10.

<sup>2)</sup> Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde, 39 Bd., H. 3, S. 309, 1905.

gewonnen wurden, vor, nach welchen in den Erythrocyten besondere Strukturen vorkommen sollen. Raehlmann<sup>1)</sup> hat auf Grund seiner Untersuchungen mit fokaler, seitlicher Dunkel-feldbeleuchtung nach (Siedentopf-Zsigmondy) darauf hingewiesen, daß ältere Erythrocyten unter der Wirkung von Schrumpfungsvorgängen ein granuliertes Aussehen annehmen, derart, daß eine wie kernartige Struktur im Zelleibe erkennbar wird. Soweit ich selbst bezügliche Beobachtungen vorgenommen habe, möchte ich diese Erscheinung in Übereinstimmung mit Raehlmann als Gerinnungsvorgang und beginnenden Zerfall, aber nicht als den Ausdruck eines noch normalen Zellbestandes ansehen. In frischem Blute verschiedenster Provenienz habe ich auch nach Verdünnung mit 0,6prozentiger Kochsalzlösung nichts Derartiges wahrnehmen können. Raehlmann beschreibt überdies das Auftreten von kleinen, gelben Kugeln in den Randpartien der Erythrocyten, deren Identität mit den Grawitzschen Granulis noch fraglich erscheint. Ich habe noch nicht Gelegenheit gehabt, das Blut bei Bleiintoxikation mittels Dunkelfeldbeleuchtung zu untersuchen, wodurch sich diese Beziehung sicherstellen ließe. Wir werden auf diese Gebilde noch im weiteren Verlaufe zurückkommen.

Die mit ultraviolettem Lichte aufgenommenen Photogramme ergaben nun Bilder, wie wir sie im unveränderten oder gefärbten Trockenpräparate zu sehen gewohnt sind.

Entsprechend ihrem Absorptionsvermögen für kurzwellige Strahlung kommen sie gut zur Darstellung. Sie erscheinen deutlich dunkler als das Cytoplasma der weißen Blutkörperchen, wie ja mit Rücksicht auf ihren Hämoglobingehalt und dessen Spektrum zu erwarten war. Ihr Aussehen ist auch hier nicht immer dasselbe. Wir finden Erythrocyten mit ringförmigem Schatten und heller Innenzone, den Dellen entsprechend, sowie Blutkörper von mehr kugelförmiger Gestalt, welche einen vollkommen gleichmäßigen Ton aufweisen; Bilder, die offenbar verschiedenem Drucke und geändertem Turgor der Zellen bei der Fixierung entsprechen. Manche Blutkörperchen lassen, auch in Präparaten, wo die Einstellung ungemein

<sup>1)</sup> Deutsche mediz. Wochenschr. Nr. 29, 1904.

scharf ist, eine schmale helle Randzone erkennen, die von einem dunklen Kontur begrenzt wird; ein Verhalten, das der Ausdruck geänderter Spannungsverhältnisse im Erythrocyten sein mag. Außerdem wurden (Taf. X, Fig. 10) Photogramme von Blutkörperchen mit beginnender Einschnürung und Stechapfelformbildung gewonnen. An diesen erscheinen die Randpartien und kolbigen Zapfen deutlich dunkler, während der innere Zelleib Aufhellung zeigt. Es ist verständlich, daß dort, wo aus einem teilweise lichtdurchlässigen Materiale Protuberanzen entstehen, diese schon aus optischen Gründen dunkler erscheinen können, ohne daß man daraus die Annahme einer besonders undurchleuchtbaren Außenschichte machen müßte.

Anders wenn wir nochmals das Aussehen der an erster Stelle genannten dellenförmigen Blutkörperchen berücksichtigen. Da ihre mittlere Zone das Licht zumeist vollkommen durchläßt, während der Rand schwer durchleuchtbar ist, so würde dies in der Tat auf eine abweichende Zusammensetzung dieser Partien hinweisen, man hätte dann aber keine differenzierte Außenhülle, sondern das Bestehen einer dichteren (äquatorialen oder) Ringschichte anzunehmen. Nur unter der Voraussetzung, daß die Substanz der Delle eine äußerst dünne ist, würde der Unterschied im Verhalten der ringförmigen Zone (Dicke etwa  $1,5 \mu$ ) und der Depression, auch bei gleicher Beschaffenheit beider, durch Differenz der Massen zu erklären sein.

Mit diesen Andeutungen möchte ich mich vorläufig begnügen, da mir bisher nur Aufnahmen von solchen Präparaten vorliegen, welche in (Methyl-) Alkohol fixiert wurden, und bei welchen bloß eine Vergrößerung von 1800 : 1 in Anwendung gezogen wurde; das Auflösungsvermögen kann noch erheblich gesteigert werden.

Fasse ich die bisher gewonnenen Bilder zusammen, so konnte zunächst von einer etwa netzförmigen Struktur des Blutkörperchens nichts wahrgenommen werden; eine solche Annahme dürfte als erledigt gelten. Das elastische rote Blutkörperchen — ich sehe vorläufig von besonderen Einlagerungen ab — scheint vielmehr ein äußerst homogen gebautes Gebilde zu sein, welches aus einer innigen Durchdringung der Eiweißkörper und Lipide (in runder Zahl etwa 1,5 Prozent Cholesterin, Fett und Lecithin) besteht. Dabei mag allerdings der

Hüll- oder vielleicht richtiger der Ringschichte im Sinne Albrechts ein größerer Lecithingehalt zukommen, als dem übrigen Stroma, ohne daß dies optisch besonders hervortreten mußte. Aus den Photogrammen vermochten wir bisher keinen zwingenden Anhaltspunkt für das Bestehen einer schärfer differenzierten Außenlamelle zu gewinnen. Das Aussehen mancher Erythrocyten des bei schwacher Vergrößerung aufgenommenen Photogrammes würde für die von Albrecht vertretene Anschauung sprechen; wie schon gesagt, kann dieser optische Effekt aber auch bloß Ausdruck der besonderen Form, also ungleicher Masse sein. Auch das Ergebnis des von diesem Autor (S. 19 seiner Publikation) mitgeteilten Isolierungsverfahrens scheint mir durch diesen Umstand erklärbar zu sein und nötigt noch nicht eine differente Zusammensetzung von Hülle und Innenleib, einen Unterschied in der Mischung der Lipoide und Proteine anzunehmen. Es wird von Interesse sein, die von Albrecht in seiner wertvollen Arbeit studierten Strukturveränderungen, Auftreten der Stechapfelform, Einschnürung und Blättchenbildung nach verschiedenen Einwirkungen (Salze, Wärme, Hämolysine, Agglutinine) sowie nach mechanischen Einflüssen (Sprengung durch Kälte) bei ultravioletter Durchleuchtung photographisch zu verfolgen.

Haben unsere bisherigen Aufnahmen keine sicheren Beweise für eine besondere Schichtung der roten Blutkörperchen geliefert, so hat die U.V.-Durchleuchtung einen anderen interessanten Befund aufgedeckt. In den Erythrocyten des Blutes verschiedener Provenienz kam nämlich vereinzelt je ein kleines (der Durchmesser desselben etwa  $\frac{1}{15}$  von jenem der Blutscheibe) dunkles, kreisrundes Gebilde zur Darstellung, welches entweder scharf konturiert oder von einer schmalen hellen Zone umgeben ist; dasselbe war stets exzentrisch gelagert. Über die Natur desselben wage ich mich dermalen noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Es liegt nahe, die Einlagerungen mit der bekannten basophilen Granulation der roten Blutkörperchen in Beziehung zu bringen, die nach früheren Erfahrungen, über welche Kollege Reitter<sup>1)</sup> und ich

<sup>1)</sup> Vgl. K. Reitter, Ein Beitrag zum Vorkommen der „punktierten Erythrocyten“. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 47, 1902.

verfügen, auch in normalem Blute vorkommen kann. Wir vertraten damals den Standpunkt, daß die basophilen Granula auch unter physiologischen Verhältnissen vorkommen, und erst das reichliche Auftreten derselben einen pathologischen Befund darstellt. Während die Punktierung im allgemeinen verschiedene Bilder liefert, indem die Körnchen sowohl bezüglich ihrer Zahl als ihrer Größe schwanken können, handelt es sich in meinen Photogrammen immer nur um einen rundlichen Körper von gleicher Größe und konstanter Lagerung. In rein morphologischer Beziehung erwähne ich, etwas Ähnliches in einem Falle von Nitrobenzolvergiftung gesehen zu haben, der im Jahre 1895 an unserer Klinik beobachtet wurde, wobei außerdem alle Arten der Punktierung sowie das Auftreten großer basophiler Gebilde festzustellen war. Vielleicht sind die am Photogramme beobachteten Einlagerungen mit jenen gelben Kugeln identisch, die Raehlmann<sup>2)</sup> bei fokaler Dunkelfeldbeleuchtung nach Verdünnung des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung gesehen und als Polkörperchen bezeichnet hat. Ich habe dieselben bei der Untersuchung von unverändertem Menschenblute bisher noch nicht in überzeugender Weise wahrnehmen können, wobei ich allerdings bemerken muß, daß die Zahl meiner bezüglichen Beobachtungen noch nicht hinreichend ist; die Farbe dieser Kugeln würde auf eine andere Beziehung hinweisen. Daß die Gebilde in den Erythrocyten unserer U.V.-Aufnahmen in der Tat basophilem Zellmateriale entsprechen, dürfte wohl dadurch bewiesen sein, daß dieselben als dunkle Scheiben und nicht als helle Bläschen zum Ausdruck kommen; sie verhalten sich somit hinsichtlich ihrer Absorption wie Kernmaterial. Eine pathognomonische Bedeutung scheinen dieselben nicht zu besitzen. Zu der Frage, ob die basophilen Granula Ausdruck einer beschleunigten Erythrotaxis (H. v. Schrötter) oder karyolitischer Vorgänge sind, will ich hier nicht Stellung nehmen. Erwähnt sei noch, daß die Körnchen bei Dunkelfeldbeleuchtung, wie dies schon L. Michaelis<sup>1)</sup> mitgeteilt hat, sehr schön als kleine konzentrische Lichtringe in den Blutkörperchen nachzuweisen sind.

1) a. a. O.    2) a. a. O. S. 344.

Unsere Photogramme haben neben den wohlcharakterisierten roten und weißen Blutkörperchen auch noch andere Gebilde zur Darstellung gebracht. Kleine graue Scheibchen von nicht immer scharfer Begrenzung konnten mit Blutplättchen identifiziert werden. Außerdem waren aber noch kleinste, dunkle, wohlkonturierte Körperchen von der Größe der in den Erythrocyten beobachteten Einlagerungen sowie an einem der Photogramme (Taf. IX, Fig. 1) helle bläschenartige Gebilde nachzuweisen, für welche die Möglichkeit von Fehlern der photographischen Platte ausgeschlossen werden konnte.

Es muß weiteren Nachforschungen vorbehalten sein, inwieweit diese Bestandteile (vgl. die Fig. 1, 10, 11) den von verschiedenen Forschern bisher beschriebenen Gebilden entsprechen. So hat Heinz auf das Vorkommen etwa  $3\ \mu$  großer Körnchen aufmerksam gemacht, die er als abgelöste tröpfchenartige Bestandteile der Erythrocyten auffaßt. Die Hämoconien Müllers werden als kokkenähnliche, stark lichtbrechende Körper mit deutlicher Molekularbewegung bezeichnet. Raehlmann beschrieb kleine gelbe Kugeln und graue Punkte, bis zur Größe von  $0,2\ \mu$  Durchmesser, welche er aus einem Zerfalle der roten Blutkörperchen ableitet, und die er in geistreicher Weise mit der Ernährung der Gewebe in Beziehung bringen will. Diese kleinsten Eiweißteilchen, welche sich nach ihm noch in einer Verdünnung von 1 auf 10000 in allen serösen Flüssigkeiten finden, sollen unabhängig von der Stromrichtung die Wechselbeziehung zwischen dem Blute und der Lymphe regeln. Ich selbst habe mich wiederholt bei Untersuchungen (Dunkelfeldbeleuchtung) nativen und verdünnten Blutes von der Gegenwart dieser lebhaft herumbüpfenden, glitzernden Gebilde und ihrer verschiedenen Menge überzeugen können.

Ich wollte hiermit nur angedeutet haben, daß sich das neue photographische Verfahren bei Anwendung stärkster Vergrößerung gerade zum Studium und zur Identifizierung dieser kleinsten, in ihrer Bedeutung noch nicht klargestellten Bestandteile des Blutes und der Lympfflüssigkeit eignen würde. Weitere Untersuchungen über die Morphologie der Erythrocyten sowie der noch fraglichen Gebilde erscheinen um so wichtiger, als es sich ja hierbei um Gewebsbestandteile (Gasrezeptoren)



handelt, die für den Stoffwechsel maßgebend sind, und an welche der Transport von Nährmaterial geknüpft sein mag. Auch bei diesen Untersuchungen wird man auf die Möglichkeit von Ausflockungserscheinungen Bedacht zu nehmen haben.

#### V. Malariablut.

Die beiden Photogramme beziehen sich auf einen elfjährigen Knaben J. A., welcher vom 6. September bis 24. September 1905 an der k. k. III. med. Universitätsklinik in Behandlung stand. Der Knabe lebte in Hirschstetten bei Wien (für Malaria bekannte Gegend) und hat die Erkrankung daselbst erworben. Der Beginn derselben ist auf den 31. August zurück zu datieren, an welchem Tage sich Fieber mit Erbrechen, Kopf- und Gliederschmerzen einstellten. Patient von gracilem Knochenbau; Herz- und Lungenbefund normal, Milz vergrößert, ihr unterer Rand deutlich tastbar; täglich Fieberbewegung vom Typus einer Tertiana duplicata mit maximaler Temperatursteigerung um die Mittagsstunde. Zwei Malariagenerationen; die eine mit Maximis von etwa  $38^{\circ}$ , die andere mit solchen von etwa  $40^{\circ}$  einhergehend. Das Präparat wurde am letzten Fiebertage, nachdem der Kranke schon eine Dosis Chinin erhalten hatte, eine halbe Stunde vor Erreichung des Maximums gewonnen. Auf Chinin 6 Dosen zu 0,3 erfolgte prompter Rückgang auf normale Temperatur und weiter Heilung.

Taf. IX, Fig. 1 zeigt einen entwickelten Tertianparasiten. Das Blutkörperchen wesentlich vergrößert, sein Protoplasma aber noch dunkel, offenbar noch hämoglobinreich. Der Parasit selbst erscheint heller, in demselben teils gehäuft, teils in Zügen angeordnetes Pigment, außerdem erkennt man zwei kleine helle Kreise, deren nähere Natur (Chromatin, Vacuolen?) noch nicht zu entscheiden. Ebenso möchte ich mir bezüglich der kleinen runden Gebilde, welche zerstreut im Gesichtsfelde zu sehen sind, noch keine Deutung erlauben.

Fig. 2 stellt ebenfalls ein stark vergrößertes Blutkörperchen dar, welches jedoch bereits sehr stark abgeblaßt und demgemäß lichtdurchlässig ist. Der Parasit befindet sich in Teilung; er ist hier dunkler als das Cytoplasma, das Pigment, an einer Stelle gehäuft, ist im übrigen bereits den einzelnen Schizogonien entsprechend, zerstreut, man erkennt ungefähr die Maulbeerform der Teilungsfigur. Ein rotes Blutkörperchen in der Umgebung zeigt ein kleines, dunkles, kreisrundes Gebilde, welches ich auch in den Erythrocyten des Blutes anderer Provenienz vereinzelt beobachtet habe. Die Frage nach der

Natur dieser Inhaltskörper ist bereits im Vorhergehenden berührt worden. Was die kleinsten bläschenförmigen Körperchen auf Photogramm Fig. 1 anlangt, so könnte es sich möglicherweise um durch Quetschung verstreute und, mit Rücksicht auf ihre geringe Lichtabsorption, im besonderen um eosinophile Granula handeln; übrigens sei bezüglich der Natur derselben ebenfalls auf Seite 362 verwiesen.

Taf. X, Fig. 8 gibt eine Aufnahme (1800:1) von freiem Pigmente wieder; auffallend erscheint die eigentümlich knäuel-förmige Anordnung desselben.

## VI. Myelogene Leukämie.

Diese Präparate beziehen sich auf einen 31jährigen Mann, K. L., welcher vom 24. Mai bis 23. Juni an der k. k. III. med. Universitätsklinik in Beobachtung stand. Im Alter von 6 Jahren soll Schwäche und Schmerzhaftigkeit in den Beinen bestanden haben, wegen welcher er durch Monate bettlägerig war. Beginn des gegenwärtigen Leidens vor 8 Monaten, mit heftigem Stechen im Bereiche des linken Rippenbogens; schon zu dieser Zeit wurde Vergrößerung der Milz auf mehr als das Dreifache konstatiert; im weiteren Verlaufe traten auffallende Blässe und hochgradige Abmagerung ein. Umfang und Spannung des Bauches nahmen wesentlich zu; in den letzten Wochen Schmerzen in beiden Unterschenkelknochen, Schwäche, Mattigkeit.

Patient mittelgroß, von gracilem Knochenbau, schlecht genährt, Körpergewicht 63 kg. Blässe der Schleimhäute. Perkussionsbefund von Lunge und Herz normal; über der rechten Lungenspitze verschärftes Ins-pirium. An der Herzbasis ein blasendes, systolisches Geräusch. Die Dämpfung der Milz überschreitet die Mittellinie nach rechts hin um etwa Handbreite und reicht nach abwärts fast bis in die Inguinalgegend. Das Organ resistent, überall gut abgrenzbar, nicht schmerzhaft. Die Leber von normalem Umfange; nirgends vergrößerte Lymphdrüsen. Hypästhesie im Bereiche des rechten Oberschenkels; beide Tibien beim Gehen schmerzhaft.

Die Untersuchung des Blutes mit den gewöhnlichen Färbungsmethoden (5. Juni 1905) ergibt den Befund myelogener Leukämie, Häoglobingehalt (Fleischl) 75 %; Zahl der roten Blutkörperchen 2800000,

Verhältnis  $\frac{W}{R} : \frac{1}{17,5}$ . Es besteht somit eine beträchtliche Vermehrung der weißen Elemente. Von diesen überwiegend, etwa 51 %, Myelocyten, darunter namentlich großkernige, neutrophil granulierten Zellen, meist mit rundem oder elliptischem Kerne; weiters eosinophile Markzellen. Zellen mit stark eingebuchtetem oder gelapptem zentralen Kerne selten. Reichlich kleine, granulafreie sowie gekörnte Myeloblasten. Lymphocyten vereinzelt. Multinucleäre Leukocyten etwa 40 % mit  $\varepsilon$ - und  $\alpha$ -Granulation.

Kernhaltige rote Blutkörperchen nur in geringer Zahl. Keine Mastzellen-granula, jedoch zeigen die großen einkernigen Elemente hie und da sich intensiv basisch färbenden Protoplasmasaum.

Schon das Photogramm Fig. 11, welches einer Aufnahme bei nur schwacher Vergrößerung 400:1 (Obj. 6 mm, Oc. 7, v. A. d. K. etwa  $\frac{2}{3}$ ; diese Aufnahme wurde bei einer Wellenlänge 257  $\mu\mu$  gemacht) entspricht, zeigt das Blutbild in einer Differenzierung, wie wenn das Präparat mit einem Kernfärbemittel bzw. mit Hämatoxylin-Eosin tingiert worden wäre. Der Unterschied der multinucleären Leukocyten und der Markzellen springt in die Augen. Außerdem sieht man noch (Fig. 12) ein kernhaltiges rotes Blutkörperchen von normoblastischem Typus; der Kern zeigt maximale Dunkelheit. Endlich einen auffallend großen Leukocyten, welcher auch schon bei dieser Vergrößerung, namentlich unter Zuhilfenahme der Lupe, deutliche Granulierung erkennen läßt. Auf die Besprechung der kleinen hellen Scheibchen und Gebilde, wie sie bei Hämoglobinämie vorkommen, möchte ich in dieser Mitteilung noch nicht eingehen.

Außerdem wurden Photogramme bei starker Vergrößerung 1200:1 (Obj. 2,5 mm, Oc. 10, v. A. d. K. etwa  $\frac{2}{3}$ ) sowie 1800:1 (Obj. 1,7 mm, Oc. 10, v. A. d. K. etwa  $\frac{2}{3}$ ) aufgenommen. Dieselben mögen in Rücksicht auf die hier beigegegebenen Abbildungen (Taf. X u. XI, Fig. 11—19) zusammenfassend beschrieben werden.

Ich schicke voraus, daß sich für Gebilde, die etwa als Parasiten anzusprechen wären, keine Anhaltspunkte ergaben. Was zunächst die multinucleären Leukocyten anlangt, so treten deren verschlungene Kerne mit maximaler Intensität im Bilde hervor. Das netzartige Chromatingerüst tief dunkel, wie schwarz gefärbt, gegen welches der helle platinreiche Leib stark kontrastiert; derselbe zeigt feine wabenförmige Zeichnung. Auch die dichte Kernsubstanz der Lymphocyten und solcher Elemente, die als sog. Übergangszellen anzusprechen wären, ist meist tiefdunkel, wenn auch Zellen mit lichtereren Kernen vorkommen. Deutlich tritt der Unterschied im Verhalten bzw. in der Färbbarkeit der Kerne der multinucleären Zellen gegenüber den entsprechenden blassen Gebilden der Myelocyten hervor, von denen solche mit großen elliptischen sowie auch Zellen mit

mehr gelappten Kernen reichlich in dem Photogramme vertreten sind. Im Protoplasma derselben erkennt man teils feine graue bis schwarze Tüpfelung, den neutrophilen Granulationen entsprechend, oder es tritt eine mehr spongiöse Struktur hervor, welche hellere oder lichtere Punkte unterscheiden läßt. In einem Präparate (Fig. 18) ist auch ein Leukocyt mit eosinophiler Granulation getroffen, welche dadurch auffällt, daß sehr helle, annähernd gleich große, dichtgedrängte Scheibchen von dunklen Höfen umsäumt, das Zellprotoplasma einnehmen. Ferner finden sich uninucleäre Elemente mit großem dunklen Kerne und schmalen Lunulis, endlich große freie Kerne, beide mit tiefdunkler, wolkenartiger Zeichnung und solche mit dünnen anhängenden Protoplasmaesten. Im Inneren eines solchen Elementes sind helle, bläschenförmige Gebilde zu erkennen.

Weitere Aufnahmen werden unter der Kontrolle der mit den gebräuchlichen Farbstoffen hergestellten Präparate eine exaktere Determinierung der einzelnen Kernstrukturen und der verschiedenen Granulierung gestatten. Mit Bestimmtheit ließ sich aber jetzt schon erkennen, daß die Substanz der neutrophilen (und basophilen) Granula das kurzwellige Licht in hohem Maße absorbiert, während sich die eosinophilen Einlagerungen durchlässig erweisen. Es würde die Herstellung der Publikation unnötig belastet haben, wenn ich den Photogrammen Abbildungen der entsprechenden Stellen gefärbter Präparate (Methylenblau-Eosin, Tinktion nach Ehrlich) beigegeben hätte. Bei der Beurteilung der feineren Struktur ist gerade hier Vorsicht geboten, indem der Umstand, daß Details, die man sonst hell sieht, sich bei ultravioletter Durchstrahlung undurchlässig erweisen können und umgekehrt, leicht zu Irrtümern Veranlassung geben mag. Es sollen auch Photogramme bei noch stärkerer Auflösungskraft des Systemes hergestellt werden.

Jedenfalls ergaben schon diese Aufnahmen, daß die Granulierung des Zellprotoplasmas der weißen Blutelemente auch bei ultravioletterm Lichte zu Recht besteht und kein Kunstprodukt darstellt; der gekörnte, wabenartige Bau kommt in rein optischer Differenzierung zum Ausdrucke. Wie sich die lebende Zelle verhält, könnte im Wege der ultravioletten Photographie

noch dadurch festgestellt werden, daß man die Aufnahmen nach Verdünnung des Blutes mittels physiologischer Kochsalzlösung und am erwärmten Objektträger vornimmt.

Weiter hat sich eine deutliche Beziehung zwischen der Intensität der Tinktion mit Kernfärbemitteln und der Undurchlässigkeit der Kernstruktur für ultraviolettes Licht ergeben, was sich derart ausdrücken läßt, daß die Dichte des Chromatins der Durchlässigkeit für ultraviolettes Licht (ungefähr) umgekehrt proportional ist.<sup>1)</sup> Derselbe Gegensatz, welchen die multinucleären Leukocyten und Lymphocyten (Taf. XI, Fig. 18) gegenüber den Kernen der Markzellen nach Hämatoxylinfärbung zeigen, ist also, wie wir gesehen haben, auch bei der Durchleuchtung mit ultraviolettem Lichte zum Ausdrucke gekommen. Ich verweise ferner darauf (vgl. Taf. X, Fig. 7 der Publikation Köhlers), in welcher dunklen schwarzen Zeichnung das Chromatingerüst in der Kernteilungsfigur des Salamanders hervortritt, so daß die angedeutete Beziehung in der Tat zu Recht bestehen dürfte.<sup>2)</sup>

Die eosinophilen Granula, welche bei langwelliger Durchleuchtung starken Lichtreflex zeigen oder bei Dunkelfeldbeleuchtung mit koaxialer Anordnung (nach Siedentopf und Zsigmondy) als hellglitzernde Gebilde im Präparate hervortreten, haben sich für ultraviolettes Licht sehr durchlässig erwiesen.

Es wäre verfrüht, wollte man diesen Befund jetzt schon mit dem tinktoriellen Verhalten, der für diese Gebilde charakteristischen Oxyphilie oder deren chemischen Natur in Beziehung bringen. Wir haben ja gehört, wie ein anderes Gewebe, die Linsensubstanz, die ja ebenfalls die sauren Anilinfarben annimmt, sich als geradezu undurchlässig für die ultravioletten Strahlen erwiesen hat. Die Grundsubstanz des Knorpels wiederum ist für kurzwelliges Licht gut durchleuchtbar u. a.; kurz, die Stärke der Lichtbrechung, wie sie bei der Beobachtung mit langwelligem Strahlen zum Ausdrucke kommt, geht

1) Des Genaueren wird es sich um eine geometrische, logarithmische Funktion handeln.

2) Auch für die Pflanzenzelle scheint dies nach bezüglichen Photographen Köhlers (Algen) zuzutreffen.

nicht immer mit der Intensität der Absorption für ultraviolettes Licht parallel. Es muß also erst eine methodische Untersuchung der chemisch differenten Gewebsbestandteile vorgenommen werden, bevor allgemeinere Schlüsse etwa auch in der Richtung erlaubt sind, ob der Grad der Durchleuchtbarkeit für ultraviolettes Licht mit der Menge und der besonderen Konstitution der Eiweißkörper zusammenhängt.

In Berücksichtigung des Obengesagten, scheint mir die Annahme berechtigt, daß die Absorption für ultraviolettes Licht mit dem Nucleingehalte des Gewebes oder der einzelnen Strukturen zunimmt. Nach den uns bisher vorliegenden Präparaten hat sich die Kernsubstanz, im besonderen das Mitoplasma, nahezu undurchlässig für kurzwellige Strahlen erwiesen. Die Nucleoproteide bzw. das Nucleohiston der Lymphocyten scheinen sonach durch ein Maximum der Absorption für Ultraviolett charakterisiert zu sein. Sollte dieses Verhalten vielleicht mit dem relativ hohen Atomgewichte des Phosphors (etwa 5%) zusammenhängen? Wie vorsichtig man in der Aufstellung solcher Beziehungen sein müßte, hat das Verhalten der Linsensubstanz gezeigt, für deren hohe Absorption das genannte Element nicht in Frage kommen kann.<sup>1)</sup> Auch der Schwefel (Gehalt derselben etwa 0,7%) kann hieran nicht beteiligt sein. J. M. Eder hat die Vermutung geäußert, daß das hohe Absorptionsvermögen der Proteinkörper vielmehr mit der besonderen Gruppierung der Kohlenstoffatome im Eiweißmolekül zusammenhängen könnte.<sup>2)</sup>

Das durch das photographische Verfahren erwiesene hohe Absorptionsvermögen der Kernsubstanz für kurzwellige Strahlung, berechtigt nach den schon Seite 353 f. angedeuteten Gesichtspunkten zu der Annahme, daß gerade dieser Zellbestandteil unter dem Einflusse des Lichtes am stärksten chemisch verändert und damit geschädigt werden muß. Dieser Befund erklärt

1) Auch die Absorption der bisher untersuchten Phosphorverbindung,  $\text{PCl}_3$  (vgl. Kayser, Lehrbuch der Spektroskopie Bd. III, Leipzig 1905), beginnt erst jenseits der hier in Betracht kommenden Cadmiumlinie.

2) Substanzen mit verschiedenen C-Bindungen unterscheiden sich in ihrem bezüglichen optischen Verhalten voneinander.

auch die elektiv zerstörende Wirkung der Röntgenstrahlen auf die weißen Blutkörperchen, welche Helber und Linser<sup>1)</sup> in ihren beachtenswerten Tierexperimenten nachgewiesen haben. Hier war es insbesondere die Kernsubstanz der Lymphocyten, welche sowohl im Kreislaufe wie in den blutbildenden Organen destruiert wurden; morphologisch kam dies derart zum Ausdruck, daß Protoplasma und Kern nicht mehr voneinander abgrenzbar waren; die Erythrocyten erfuhren nahezu keine Veränderung. Wie auch ich stets angenommen habe, kann es ja heute kaum einem Zweifel unterliegen, daß der aktinische Effekt des ultravioletten Lichtes qualitativ der gleiche ist, wie die Wirkung der Röntgen- und X-Strahlen, und daß sich letztere nur durch ihre Intensität unterscheidet. Daß dem Radium ein spezifisch wirksamer Einfluß auf die Gewebe zukomme, wird nicht aufrecht zu erhalten sein.

Die im photochemischen Wege bewirkte Zerstörung von Kernmaterial läßt daran denken, daß außer einer Vermehrung der Harnsäureproduktion auch der Phosphor der Nucleoproteide in neue Verbindungen übergeführt und in anderem Mengenverhältnisse (Steigerung der Phosphorsäureausscheidung) im Harne erscheinen könnte. Auf diese Konsequenz, welche mit Rücksicht auf die Röntgenbestrahlung bei Leukämie nicht ohne Interesse sein mag, werde ich in einer späteren Arbeit zurückkommen.<sup>2)</sup>

Ich kehre nach diesem Seitenblicke wieder zu meinem engeren Gegenstande zurück.

Daß den Eiweißsubstanzen die Eigenschaft zukommt, die kurzwelligen Strahlen des Spektrums in hohem Maße zu absorbieren, ist zuerst von Soret (1879) im Anschlusse an seine

<sup>1)</sup> Münchner med. Wochenschr. Nr. 15, 1905.

<sup>2)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Curschmann und Gaupp haben jüngst (Münch. med. Wochenschr. Nr. 50, 1905) gezeigt, daß mit dem Zugrundegehen der weißen Blutkörperchen bei Röntgenbestrahlung ein spezifisches Leukotoxin gebildet wird, welches die Leukocyten sowohl im kreisenden Blute wie in vitro (Mensch) zu zerstören imstande ist; das wirksame Röntgenserum des Leukämikers kann durch Erwärmen inaktiviert werden. Es erscheint nun nach obigen Andeutungen nicht unmöglich, daß auch die Bildung dieser Substanz auf den Zerfall von Kernmaterial zu beziehen ist.

Untersuchungen über die Durchlässigkeit der Augenmedien gezeigt worden, und zwar fand er, daß es nicht etwa krystallinische, dialysable Stoffe sind, welche das Ultraviolett absorbieren, sondern daß dieses Verhalten in der Tat mit der chemischen Konstitution der Proteinkörper zusammenhängt und allen Eiweißderivaten gemeinsam ist. Die Absorptionskurve einer circa 2prozentigen Lösung von Ovoalbumin gleicht jener der Linsensubstanz, nur ist sie etwas gegen den weniger brechbaren Teil des Spektrums verschoben; ebenso verhält sich defibriniertes Blut. In seiner letzten Arbeit (1883)<sup>1)</sup> unterzieht Soret bereits die verschiedenen Eiweißsorten bzw. -derivate der spektroskopischen Untersuchung; alle zeigen hohe Werte der Absorption für die kurzwellige Strahlung. Bemerkenswert ist, daß die Kurve der Alkalialbuminate von jener der Acidalbuminate deutlich abweicht, während die letztere mit jener des unveränderten Eiweißes übereinstimmt; durch Zusatz eines Alkalis scheint der Eiweißkörper viel eingreifender modifiziert zu werden als durch Säuren usw.

Mit Rücksicht auf die früher angeregten Beziehungen wäre es in Verfolgung der schon von Soret unternommenen Versuche entschieden wünschenswert, noch genauere quantitative Untersuchungen darüber anzustellen, in welchem Grade sich die einzelnen Eiweißkörper (Albumin, Globulin, Pepton, Proteide usw.) auch außerhalb des Gewebes, insofern sie rein oder in bekannten Lösungen darstellbar sind, für ultraviolettes Licht durchlässig erweisen.<sup>2)</sup> Eine Abstufung nach dieser Richtung könnte dann andererseits vielleicht gewisse Rückschlüsse auf die Zusammensetzung und den chemischen Charakter untersuchter Strukturen liefern.

Inwiefern eingreifende Veränderungen oder Metamorphosen der Zellwand klar zum Ausdruck kommen, dafür haben schon die Photogramme pflanzlicher Präparate, welche Köhler mitgeteilt hat, Beweise geliefert. Während die unveränderte Zellhaut für die kurzwellige Strahlung durchlässig

1) In dieser Mitteilung, Comp. rend. Bd. 97, S. 642, sind seine bezüglichen Untersuchungen zusammengefaßt.

2) Vielleicht ließe sich bei konstanter Belichtung eine Skala relativer Durchleuchtbarkeit mittels Sawyerscher Photometer (Quarz) aufstellen.



ist, bedingt der Verholungsprozeß, die Korkbildung, die Cuticularisierung, starke, fast vollständige Absorption; während (vgl. seine Taf. X, Fig. 12 bzw. Taf. XI, Fig. 15) das Phloem hell gezeichnet ist, erscheint das Xylem schwarz, die Korkzellen tiefdunkel. Durch Anwendung lösender Reagentien könnte die Durchlässigkeit beeinflußt bzw. die Absorption verringert und damit gezeigt werden, in welcher Weise das optische Verhalten durch eine organische Umwandlung (Lignin, Suberin, Cutin) oder durch einen mineralischen Infiltrationsprozeß verursacht ist. Ähnliches wird sich auch an tierischen Texturen unter normalen und pathologischen Verhältnissen nachweisen lassen.

Die Darstellung des leukämischen Blutes hat ein schönes, klinisch interessantes Beispiel dafür gegeben, wie die bei Tageslicht ungefärbten Präparate unter ultravioletter Bestrahlung infolge der verschiedenen Durchlässigkeit der einzelnen Zellbestandteile, gefärbt und differenziert erscheinen. Dadurch kann das neue Verfahren ein wertvolles Ersatzmittel für manche künstliche Tinktionen werden. Neue Strukturen haben wir sowohl bei den Bakterien wie den Blutpräparaten noch nicht beobachten können, wobei zu bemerken ist, daß vorläufig Abstand genommen wurde, die stärksten Vergrößerungen — bei einer r. A. von 2,5 und Benutzung des Oculares Nr. 20 kann dieselbe bis auf 3600 gesteigert werden — zur Auflösung und Abbildung der Objekte in Anwendung zu ziehen.

Ich brauche somit nicht zu betonen, daß die hier mitgeteilten Befunde keineswegs etwas Abgeschlossenes darstellen, es war vielmehr nur meine Absicht, durch Wiedergabe derselben zur weiteren Untersuchungen auf diesem so interessanten Felde anzuregen.

Um noch einmal, mit Bezug auf unser engeres Arbeitsgebiet, zusammenfassend auf den Wert dieser neuen Untersuchungsmethode einzugehen, sei zunächst nochmals hervorgehoben, daß durch dieselbe das objektive Verfahren der Mikrophotographie um ein Bedeutendes erweitert wurde. Im Wege der Erlangung optischer Durchschnitte gestattet es, die feinsten Strukturelemente bis zu einer Größenordnung von  $0,25\ \mu$  zur Darstellung zu bringen.

Von dem gesteigerten Auflösungsvermögen zunächst abgesehen, besitzen wir in dieser Methode ein Mittel, die verschiedene Durchlässigkeit von Geweben und ihren Bestandteilen für ultraviolette Licht zu untersuchen und dadurch, in Ergänzung der auf indirektem Wege mittels des Spektrographen (Freund, Hertel u. a.) gewonnenen Ergebnisse, schon bei Anwendung schwacher Vergrößerung eine neue optische Charakterisierung derselben in Angriff zu nehmen. Des ferneren wird sich das Verhalten zusammengesetzter Strukturen auf ihre Durchlässigkeit für kurzwelliges Licht auch nach Anwendung von Farbstoffen (mit Rücksicht auf deren Absorptionsspektren) oder chemisch eingreifenden Agentien studieren lassen, wobei sich, wie schon Köhler bemerkt, eine Färbbarkeit auch bei Anwendung solcher Tinktionsmittel ergeben kann, welche bei Tageslicht keine Färbung zeigen. Hierdurch werden sich zweifellos, analog den Erscheinungen der Oxyphilie, Basophilie, des tinktoriellen Verhaltens der Markscheiden usw., weitere elektive Beziehungen zwischen den einzelnen Zellbestandteilen und den „farbloßen“ Färbemitteln auffinden lassen.

Hier wird es sich, um bei der Deutung zusammengesetzter Gewebe Irrtümer zu vermeiden, zunächst empfehlen, die einzelnen Gewebsbestandteile — Bindegewebszellen verschiedenen Alters, Muskelfasern, Grundsubstanzen der Knorpel und Knochen, Fettgewebe, Elastin, Myelin, Amyloid, Epithelien usw. — systematisch zu untersuchen und die Unterschiede ihrer Durchleuchtbarkeit festzustellen. Was kompliziertere Strukturen anlangt, so erscheint die photographische Aufnahme von Präparaten des Nervensystems, wie besonders des Rückenmarkes von Interesse; die eigenartige Gruppierung so differenter Strukturelemente, wie sie hier vorliegt, dürfte besonders schöne Bilder liefern. Dabei wird es sich auch zeigen, welcher Einfluß den verschiedenen Fixierungs- und Härtungsmitteln — Alkohol, Formalin, Chromsäure usw. — für die optische Darstellung des Gewebes zukommt. Mit Bezug auf das gesteigerte Auflösungsvermögen ist es denkbar, daß wir hierbei über die feinere Verteilung der Glia und den Verlauf der Nervenfibrillen noch neue Aufschlüsse erhalten.

Bei der Beurteilung von Aufnahmen, welche bei starker Vergrößerung hergestellt wurden, muß man sich vor Täuschungen

hüten, die beim Vergleiche mit den bisherigen Photogrammen gefärbter Präparate unterlaufen könnten. Erst nach Kenntnis der normalen Gewebe<sup>1)</sup> ist ein erfolgreiches Studium pathologischer Produkte ermöglicht. Auch die Wirkung autolytischer Vorgänge und der Einfluß von Fermenten wird im Wege ultravioletter Aufnahmen zu verfolgen sein; hierbei versagen ja meist die üblichen Tinktionsmittel.

Mehr theoretisches Interesse würde dem Studium der Fluoreszenzerscheinungen tierischer Gewebe zukommen.

Durch die erhöhte Abbildbarkeit feinsten Strukturelemente kann es gelingen, neue Details histopathologischer Richtung aufzudecken und mit Berücksichtigung des Frühergesagten bisher noch nicht bekannte Gebilde zur Anschauung zu bringen. In diesem Sinne könnte das Verfahren für die Auffindung der Erreger gewisser Infektionskrankheiten (Scarlatina usw.) Bedeutung erlangen, worauf Köhler ebenfalls schon in seiner weitblickenden Arbeit aufmerksam gemacht hat.

Es ist von großer Wichtigkeit, daß wir durch die Photographie mittels ultraviolettem Lichte eine Kontrolle unserer bisherigen Forschungsmethoden in Beziehung darauf vornehmen können, inwieweit durch dieselben Kunstprodukte geschaffen werden, inwieweit sich die auf Grund dieser Verfahren gewonnenen Bilder von der natürlichen Struktur des Gewebes unterscheiden.

In dieser Richtung vermögen wir ja auch mittels der neuen Methode lebende Zellen oder Zellkomplexe zu beobachten, und die Veränderungen der Struktur (Vakuolisierung, Entmischung des Protoplasmas) nach dem Absterben derselben photographisch zu verfolgen. Hierbei ist es als glücklicher Umstand zu bezeichnen, daß wir aus optischen Gründen physiologische Kochsalzlösung benutzen können, welche die zelligen Elemente längere Zeit lebend zu erhalten gestattet. Bei Benutzung höherer Temperaturen, welche bei solchen Studien in Frage kommen könnten, wäre auf die thermische Änderung des Brechungsexponenten Bedacht zu nehmen; die Einschlußflüssigkeit müßte dementsprechend optisch korrigiert werden.

<sup>1)</sup> Dieses Material könnte zunächst in Form eines Atlas festgelegt werden.

Für Fragen der Lichttherapie kämen vergleichende Aufnahmen lebender Zellen vor und nach ultravioletter Durchstrahlung in Betracht, die Intensität derselben wäre nach dem Vorgange von Hertel auf thermochemischem Wege zu messen.

In Hinsicht auf Studien an lebenden Gewebsbestandteilen würde es bei dem gesteigerten Auflösungsvermögen u. a. von Interesse sein, die dynamogene Wirkung der Elektrizität von hoher Spannung bzw. Intensität (Ampèrezahl) zu untersuchen. Die materiellen Vorgänge, welche wir hierbei annehmen müssen, sind ja noch vielfach dunkel; es wäre von Wichtigkeit, festzustellen, ob solche Einwirkungen von nachweisbaren Veränderungen der Struktur gefolgt sind. Auch die nachträgliche Untersuchung des Nervensystemes von Tieren, welche mittels des elektrischen Stromes getötet wurden, erscheint wünschenswert.

Endlich würde die photographische Verfolgung jener Vorgänge von Bedeutung sein, welche sich bei der Hämolyse und Agglutination abspielen; ebenso wäre ein näheres Studium der Wirkung normaler und antitoxischer Sera auf Bakterien und das Zellprotoplasma in morphologischer Richtung ermöglicht.

Hiermit wollte ich wenigstens in Kürze angedeutet haben, welche Fülle von Arbeit durch das neue Instrument für weitere Forschungen gegeben ist. Wir hoffen mit gütiger Beihilfe von Dr. Köhler demnächst noch einige weitere Ergebnisse mitteilen zu können.

Was schließlich die dem Aufsatze beigegebenen Tafeln anlangt, sei nochmals hervorgehoben, daß sich sämtliche Abbildungen auf ungefärbte Präparate beziehen. Zur Reproduktion wurde das Lichtdruckverfahren in Anwendung gezogen, wobei die besten Photogramme ausgewählt wurden. Trotz der besonderen Sorgfalt, welche man dem Gegenstande angedeihen ließ, stehen einige Bilder in ihrer Schärfe gegen die Negative und Diapositive zurück, so daß vielleicht manche Details, auf welche im Text aufmerksam gemacht wurde, nicht deutlich genug zum Ausdruck kommen. Am schönsten und geradezu plastisch stellen sich die weißen Blutkörperchen auf den Gelatinkopien dar.

Herrn Hofrat J. M. Eder, Vorstand der k. k. graphischen Lehr- und Versuchsanstalt in Wien, danke ich für seine freundliche Unterstützung bei Herstellung der Reproduktionen.

---

Bemerkung nach der Korrektur. Die vorstehende Mitteilung bezieht sich auf einen Vortrag, welchen ich unter Demonstration der entsprechenden Diapositive am 9. November 1905 in der Gesellschaft für innere Medizin in Wien gehalten habe.

Während der Drucklegung dieses Aufsatzes ist von E. Grawitz und Grüneberg eine schöne Mitteilung über „Die Zellen des menschlichen Blutes im ultravioletten Lichte“<sup>1)</sup> erschienen, in welcher ebenfalls Befunde und Abbildungen leukämischen Blutes gebracht werden. Im Gegensatz zu meiner Angabe, daß sich die eosinophilen Granula gegenüber den neutrophilen durchlässig erweisen, fanden Grawitz und Grüneberg erstere ebenfalls wenig lichtdurchlässig. Wiewohl ich oben auf die Möglichkeit von Irrtümern bei der Identifizierung der U. V.-Photogramme aufmerksam gemacht habe, glaube ich keiner Täuschung bei meiner bezüglichen Annahme begegnet zu sein. Allerdings konnte ich, da die Präparate von Dr. Köhler in Jena aufgenommen wurden (vgl. S. 355), die einzelnen Zellformen nicht wie Grawitz und Grüneberg selbst einstellen, sondern mußte dieselben erst nachträglich aus den rein morphologischen Merkmalen deuten. Der Unterschied zwischen meiner Angabe und jener der genannten Autoren wird sich leicht durch weitere Aufnahmen von eosinophilem Zellmaterialie entscheiden lassen, zu welchem Zwecke Photogramme von Zellen aus Pemphigusblasen in Vorbereitung sind. Andere geringe Differenzen zwischen den Angaben beider Arbeiten mögen damit zusammenhängen, daß Grawitz und Grüneberg frische Blutpräparate aufnehmen konnten, während ich nur die Photogramme fixierten Blutes zu untersuchen in der Lage war. Manche Angaben meiner vorläufigen Mitteilung werden sich ja noch durch weitere Untersuchungen sicherstellen lassen.

Daß es durch systematische Studien der Abbauprodukte der Eiweißkörper im Ultraviolett-Spektrum vielleicht gelingen könnte, der Frage nach der Gruppierung der Kohlenstoffatome in den Albuminoiden näher zu treten, möchte ich nochmals bemerkt haben.

<sup>1)</sup> Verlag von Georg Thieme, Leipzig 1906.

---