

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

Band 185. (Achtzehnte Folge Bd. V.) Heft 1.

I.

Die Bildung der elastischen Faser.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Halle.)

Von

Dr. S. Fuss,

Assistenten am Institut.

(Hierzu Taf. I.)

Bei meinen Untersuchungen über den Lidspaltenfleck konnte ich beobachten, daß sich unter gewissen Umständen im Bindegewebe Umwandlungsvorgänge abspielen, die sich dadurch kenntlich machen, daß es nicht mehr die für Bindegewebe geforderten Farbreaktionen gibt, wohl aber solche, wie sie für das elastische Gewebe typisch sind. Diese Umwandlungs- oder Degenerationsprozesse betrafen sowohl die Fibrillenbündel wie auch das netzförmige Bindegewebe. Im ersten Stadium war eine einfache hyaline Verquellung zu konstatieren. Später änderten dann die Bindegewebsfibrillen ihr färberisches Verhalten dahin, daß sie eine erhöhte Affinität zu dem Weigertschen Resorcinfuchsin (Fuchselin nach Fischer) und dem Orcein zeigten. In dem Netzwerk des reticulären Gewebes waren kleiner Körnchen und Klümpchen einer mit den erwähnten Farblösungen darstellbaren Substanz aufgetreten. Als Endprodukt der Degeneration resultierte aus beiden Arten des Bindegewebes eine strangförmige, schollige und klumpige Masse, die durch weitere Verquellung der Fasern und Zusammensintern der Einlagerungen entstanden war. Diese Vorgänge habe ich

elastoide Degeneration des Bindegewebes genannt. Schon damals hatte ich nach diesen Befunden die Vermutung ausgesprochen, daß die elastischen Fasern ihren Ursprung aus der Grundsubstanz des Bindegewebes nehmen.

Um diese Vermutung entweder zu bestätigen oder zu widerlegen, habe ich es auf Anraten meines hochverehrten Chefs, Herrn Geheimrat Eberth, unternommen, auch an embryonalen Organen der Entwicklung der elastischen Fasern nachzuspüren.

Literatur.

In meiner früheren Arbeit habe ich bezüglich der hierher gehörigen Literaturangaben, besonders auf die Veröffentlichungen von Hansen und Krösing und Passarge hingewiesen. Heute will ich besonders noch die Arbeit von Loisel nennen, in der ein wohl lückenloses Verzeichnis aller bis zum Jahre 1897 erschienenen Publikationen über die Histiogenese der elastischen Fasern sich findet. Es bleibt mir also nur das zu besprechen übrig, was nach dieser Zeit über diesen Gegenstand geschrieben worden ist.

Zunächst Loisel selbst. Seine Untersuchungen wurden an sehr jungen Embryonen der verschiedensten Tierklassen ausgeführt, und zwar benutzte er vorwiegend das Nackenband oder vielmehr diejenige Stelle des Körpers, an welcher sich später das Nackenband bildet. Er gelangt zu folgenden Resultaten:

Ursprünglich sind die elastischen Bänder von eng aneinanderliegenden Zellen gebildet, die zunächst keine scharfen Abgrenzungen haben und so eine plasmodiale Masse ohne deutliche Zellterritorien bilden. In etwas späteren Stadien isolieren sich dort scharf abgrenzbare Zellen. Diese teilt Loisel nach ihren Formen in zwei Gruppen, die der Elastogenen und die der Elastoblasten. Die erstgenannten haben Sternform und anastomosierende Fortsätze, die zweiten sind spindelförmig, ihre Fortsätze sind unverzweigt. Beider Vorkommen ist variabel. In den meisten Fällen überwiegen die Elastogenen erheblich, dagegen finden sich in der Scheide des Nackenbandes vorzugsweise Elastoblasten. Beide Zellarten sind indes nur in den ersten Entwicklungsstadien zu unterscheiden. Die Elasto-

genen bilden auf Kosten ihrer Fortsätze und ihrer Peripherie Fibrillen, isolieren sich dann in Form einer protoplasmatischen Spindel, die von einem netzförmigen fibrillären „manchon“ zusammengehalten wird. In diesem Stadium sind sie von den Elastoblasten kaum mehr zu unterscheiden.

Wenn die neugebildeten Fibrillen von ihrer Muttersubstanz frei geworden sind, werden die meisten von ihnen körnig und gewinnen die Eigenschaften von elastischen Körnchen und Fibrillen. Einzelne indes bleiben auf dem Stadium der Bindegewebelemente stehen. Andere elastische Körnchen wieder stammen von isolierten und verlagerten Protoplasmateilen. Diese dienen vorwiegend der Vergrößerung der elastischen Fasern.

Während in jungen Stadien die elastischen Bänder sehr reich vascularisiert sind, läßt sich mit fortschreitendem Wachstum eine immer weitergehende Gefäßatrophie konstatieren, die proportional der Produktion von Elastin verläuft. Hieraus zieht Loisel den Schluß, daß die Umwandlung der Zellen in Elastin eine ihrer Ursachen in der Asphyxie der Zellen, verursacht durch die mangelhafte Blutzufuhr, hat. Die Bildung von Elastin ist also in gewisser Weise als ein Degenerationsprozeß der Zellen aufzufassen.

Anfänglich kommt also das Wachstum der elastischen Fasern durch die Körnchenbildung zustande; später findet eine Umwandlung der Bindegewebsfibrillen in elastische Fasern statt. Auch hier ist die Ursache in der fortschreitenden Gefäßatrophie zu suchen.

Die Zellen, die sich noch in dem Nackenband von alten Embryonen finden, faßt Loisel als Elastogene auf, die, wie ihr spärliches und undeutliches Protoplasma anzeigt, nur noch eine äußerst geringe Vitalität haben.

Gardner findet bei seinen Untersuchungen der Eihäute, daß die elastischen Fasern aus feinen, innerhalb der Zellen auftretenden Körnchen gebildet werden. Diese Körnchen treten zuerst im Protoplasma auf, ordnen sich dort in Reihen an und kommen als perlschnurartige Gebilde auch außerhalb der Zellen vor. Durch ein späteres Verschmelzen der Körnchen entsteht zunächst eine unverzweigte Faser, die dann pinselförmig zerfällt.

Die Untersuchungen von Teufel über die Entwicklung der elastischen Fasern in der Lunge führten zu analogen Resultaten: innerhalb der Zelle traten Körnchen auf, die später konfluieren und so die elastische Faser bildeten.

Für eine celluläre Entwicklung der elastischen Fasern treten auch Hansen und Thomé ein. Hansen unterscheidet im Protoplasma der Bindegewebszellen zwei Schichten, eine äußere, die den Bindegewebsfasern, und eine innere, die den elastischen zum Ursprung dienen soll.

Thomé läßt das Protoplasma der Zellausläufer sich in Fasern differenzieren, die den Bindegewebsfibrillen nahe stehen. Später werden in dem Zellprotoplasma in mehr oder weniger großer Ausdehnung elastische Fasern ausgebildet.

Minervini hat am Narbengewebe spindelförmige Zellelemente beobachtet, welche sich an den Spitzen in zwei dünne elastische Fasern fortsetzen. Es ist ihm jedoch nie gelungen, feinste elastische Körnchen zu beobachten.

Marokichi Nakai, der seine Untersuchungen an Hühnerembryonen anstellte, fand, daß die elastischen Fasern immer dicht den Zellen anliegen und zu einer Zeit auftreten, wo fertige Bindegewebsfibrillen noch nicht vorhanden sind, was ihn bestimmt, der „cellulären Theorie den Vorzug zu geben“.

Auch Retterer hat am Nackenband des Hundes eine celluläre Entstehung von elastischen Fasern beobachtet, in der Weise, daß in den „prolongements chromophiles“ von Zellen Segmente von elastischen Fasern netzförmig verteilt sind.

Im Gegensatz hierzu stehen die Ansichten von Katzurada, Linser und Melnikow-Raswedenkow, die eine Umwandlung von kollagenem in elastisches Gewebe für möglich halten.¹⁾ Linser gibt indes auch andere Entwicklungsmöglichkeiten zu, wie die mit körniger Vorstufe.

Auch Schiffmann will eine Entstehung der elastischen Faser aus einer kollagenen „nicht unbedingt von der Hand weisen“.

Technik und Material.

Für meine Untersuchungen stand mir ein sehr reiches Material zur Verfügung, so ganze uneröffnete schwangere Uteri

¹⁾ Fuss, S., Der Lidspaltenfleck und sein Hyalin. Dieses Arch. Bd. 182.

von Rindern, Schweinen und Schafen, ferner lebende trüchtige Kaninchen. Die Länge der Embryonen schwankte von 0,5 bis zu ca. 75 cm. Rinder, Schweine und Schafe stammten von vormittags geschlachteten Tieren und kamen im Laufe des Nachmittags in meinen Besitz. Menschliche Organe konnte ich direkt nach der Geburt erhalten, sodaß sie in lebenswarmem Zustande in die Fixierungsflüssigkeit gelangten.

Von den Organen, die ich zu meinen Untersuchungen verwandte, hebe ich als die wichtigsten hervor: die Eihäute, das Nackenband und die Lungen. Alle drei habe ich in den verschiedensten Entwicklungsstufen und nach den verschiedensten Methoden verarbeitet.¹⁾

Von Fixierungsflüssigkeiten habe ich so ziemlich alle der jetzt in Gebrauch befindlichen durchprobiert. Unter diesen gab mir die Osmiumsäure in allen Fällen schlechte Resultate. Ich habe das Hermannsche und das Flemmingsche Gemisch

1) Das neuerdings vielfach empfohlene Aceton wird im Pathologischen Institut Halle ausgiebig angewandt, und immer sind die Resultate ausgezeichnet. Wenn es sich um eine möglichst schnell auszuführende Untersuchung handelt, empfiehlt es sich, die Organstückchen direkt ohne jede Vorfixierung in das Aceton zu bringen. Je nach der Größe der Stücke schwankt die erforderliche Zeit des Aufenthalts in der Flüssigkeit zwischen $\frac{1}{4}$ Stunde bis zu 5 Stunden. Länger wie höchstens 12 Stunden läßt man sie jedoch dort nicht liegen, weil sie sonst zu hart werden und stark schrumpfen. Ich halte das Aceton stets auf ausgeglühtem Kupfersulphat und wechsele es für Organstücke von mittlerer Größe, d. h. von ca. 1 qcm Oberfläche und 5 mm Dicke mindestens dreimal. Um die Objekte vollständig zu entwässern, lasse ich sie während 5 Stunden 3 aufeinander folgende Gefäße mit Aceton passieren. Nach 14 tägigem Gebrauch benutze ich das Aceton des ersten Gefäßes nicht mehr. An seine Stelle tritt das zweite und an die Stelle des letzteren das dritte. Dieses wieder wird durch frisches, bisher ungebrauchtes Aceton ersetzt. Auf diese Weise ist der Verbrauch auch ein außerordentlich sparsamer. Meiner Erfahrung nach kann man dem Aceton alle möglichen anderen Fixierungsmittel voraufgehen lassen, ja man erzielt, was die feinsten Strukturen anlangt, dadurch eventuell nur noch bessere Resultate. Osmiertes Fett wird, wie ich mich an der Mamma von Graviden überzeugen konnte, nicht extrahiert. Von dem Aceton aus kann man die Stückchen entweder direkt in Paraffin bringen oder bei größeren Objekten nach Brunks Vorschlag noch Xylol einschalten.

versucht, ich habe die Organstückchen kurze Zeit, 24 Stunden, und lange Zeit, 8 Tage oder mehr in den Lösungen gelassen: die distinkte Darstellung der elastischen Fasern wollte mir nie gut gelingen. Sie war um so schlechter, je länger die Organstückchen mit der Osmiumsäure in Berührung gewesen waren. Die Arbeit Ewalds gab mir die Aufklärung dafür.¹⁾

Die übrigen von mir benutzten Fixierungsmittel waren Formol, absoluter Alkohol, Sublimat in konzentrierter wässriger Lösung, Aceton, Müllersche, Zenckersche Flüssigkeit u. a. Alle Reagentien ergaben ausreichende Resultate. Die schönsten Bilder erzielte ich jedoch mit Aceton, Alkohol und Sublimat. Die Erfolge mit Müllerscher Flüssigkeit waren wider Erwarten nach meinen Erfahrungen am Auge ziemlich gute. Wenn sie auch nicht so elegante Bilder ergab wie die andern Fixationsmittel, so hat sie doch zwei nicht zu unterschätzende Vorteile, die besonders bei den Untersuchungen der Eihäute zutage traten. Einmal ist die Zeichnung des Protoplasmas sehr deutlich und dann erleichtert sie die von mir nach Gardners Vorschrift angewandte Technik für die weitere Behandlung der Eihäute. Diese besteht darin, daß man die Membranen²⁾ 2 bis 3 Tage in Müllerscher Flüssigkeit fixiert, rasch (was unter rasch zu verstehen ist, gibt Gardner nicht an, doch ist es

1) Ewald hat gezeigt, daß die Osmiumsäure schon in $\frac{1}{2}$ prozentiger Lösung imstande ist, nach 24—48ständiger Einwirkung die elastischen Fasern anzugreifen. Wenn sich zunächst unter dem Mikroskop auch keine Veränderungen nachweisen ließen, so genügte doch eine ganz kurze Trypsinverdauung (in einem Falle nur 15 Minuten), um die Folgen der Trypsinwirkung sichtbar zu machen. Frische, nicht osmierte elastische Substanz zeigte erst nach $1\frac{1}{2}$ ständiger Einwirkung des Trypsins die ersten Spuren der Verdauung.

Werden elastische Fasern längere Zeit in Osmiumsäure belassen, so erscheinen sie schon ohne jede weitere Behandlung etwas verquollen. Eine 2prozentige Osmiumsäure veränderte ihr Aussehen schon in 24 Stunden, und nach 48 Stunden waren sie bereits vollkommen gelöst.

Hiernach ist die Osmiumsäure als eine nicht geeignete Fixierungsflüssigkeit für die elastischen Fasern anzusehen.

2) Die Eihäute habe ich meist mit Igelstacheln auf Kork ausgespannt. Gardner macht keine Angaben, ob er ausgespannt hat oder nicht. Auf die Folgen der Ausspannung komme ich weiter unten zu sprechen.

meinen Erfahrungen nach ziemlich gleichgültig, ob die Stücke nur 1 Stunde oder 1 Tag im Wasser bleiben) in destilliertem Wasser auswäscht und mit Alkohol von 60 % im Dunkeln stehen läßt, um sie dann in 75prozentigen Alkohol überzuführen. Zur Untersuchung kommen kleine Stücke wieder in destilliertes Wasser. Die Epithelien werden durch Schütteln in Probiergläschen entfernt und dann die Stücke mit 2 Pinzetten in Lamellen geteilt. Nach Vorfärbung mit Vesuvin werden sie in destilliertem Wasser abgespült und dann auf 24 Stunden oder länger in folgende Farblösung gebracht:

Fuchsin 0,5

Alkohol 25,0 (Prozente sind nicht angegeben)

Acidum nitricum (25/100) 10,1.

Die Stückchen kommen zur Differenzierung auf 1 Sekunde in eine 25prozentige Lösung von Ätzkali und dann schnell zum Waschen in mehrfach zu wechselndes Wasser. Untersuchung in Wasser oder Glyzerin. Auf diese Weise sollen sich die elastischen Fasern blau, die Zellkerne tiefrot, das Protoplasma rosa färben. Neben dieser Methode habe ich noch andere gewöhnlichere, so vor allen Formol- und Acetonfixierungen und Färbung mit Resorcinfuchsin angewandt.¹⁾ Senkrechte Durchschnitte dienten mir zur Orientierung über die Lage der einzelnen Schichten in den Schleimhäuten. Das Lamellieren und das Entfernen der Epithelien gelingt nach Müllerfixation und bei dicken Eihäuten älterer Embryonen leicht, ist aber in allen andern Fällen eine harte Geduldsprobe, die nur bei einiger

¹⁾ Das Überführen der Eihautlamellen in die verschiedenen Flüssigkeiten ist häufig unbequem. Um dieselben sicher ausgebreitet in die Lösungen zu bringen, habe ich sie meist zwischen zwei Deckgläser geklemmt in die Farbnäpfe getan. Besonders empfehlenswert war dies dann, wenn sie, wie nach Müllerfixationen, vorher nicht mit hochprozentigem Alkohol in Berührung gekommen waren und nun längere Zeit in dem 96prozentigen Alkohol enthaltenden Resorcinfuchsin verweilen sollten. Auf diese Weise lassen sich die unangenehmen und oft schwer zu beseitigenden Faltungen der Präparate vermeiden. Ist das Präparat glücklich auf dem Objektträger, so bewirkt ein leichtes Abdrücken mit Fließpapier sicher die glatte, einwandfreie Ausbreitung.

Übung und großer Vorsicht zum Ziele führt. Nach Resorcin-fuchsin-Färbung der Eihäute möchte ich als Gegenfärbung unter allen Umständen nur das alkoholische Eosin empfehlen. Die Kerne halten ein Minimum des Resorcinfuchsins stets zurück und treten vollkommen deutlich hervor, zumal man ja meist nur mit den stärksten Vergrößerungen (1000—1500fach) zu arbeiten gezwungen ist. Lithioncarmin ist umständlicher und gibt nicht bessere Bilder. Pikrinsäure läßt das sehr zarte Protoplasma der Zellen längst nicht so klar hervortreten.

Mag das Orcein dem Resorcinfuchsin in der Sicherheit der Darstellung des Elastins gleichkommen, ich ziehe letzteres immer vor, schon deshalb, weil der unbestimmte bräunliche bis schwarze Farbenton des Orcein viel eher zu Irrtümern Anlaß geben kann als das markante Blau des Resorcinfuchsins. Über die Dauer der Färbung habe ich in meinen früheren Arbeiten schon ausführlich gesprochen. Hier sei nur noch einmal erwähnt: die allgemein vorgeschriebene Färbezeit von $\frac{1}{2}$ Stunde genügt durchaus nicht immer. Auf der andern Seite ist ein zu langer Aufenthalt der Stücke in der Farblösung auch nicht zu empfehlen, weil dann eine genügende Differenzierung nicht mehr zu erreichen ist. Am besten ist es für die embryonalen Organe, über Nacht zu färben. Die äußerst zulässige Zeit wären ca. 36 Stunden. Die Differenzierung der Präparate habe ich diesmal vorwiegend nach Fischers Vorschrift in absolutem Alkohol vorgenommen, ohne jedoch die Überzeugung zu gewinnen, daß er vor dem 96prozentigen Vorteile bietet. Ebenso stimmen meine Erfahrungen hinsichtlich der Differenzierungszeit nicht ganz mit denen Fischers überein. Ich konnte oft genug zu meinem Leidwesen konstatieren, daß ein Zuviel von Resorcinfuchsin, was nach einstündigem Aufenthalt im Alkohol aus dem Präparat nicht verschwunden war, auf keine Weise mehr, selbst nicht durch mehrtägiges Verweilen in salzsaurem Alkohol, zu entfernen möglich ist.

Bei den Lungen habe ich als Gegenfärbung vielfach Lithioncarmin und Pikrinsäure benutzt, bei dem Nackenband neben den genannten Methoden noch besonders die von mir an andrer Stelle ausführlich beschriebene kombinierte Elastin- und van Gieson-Färbung.

Zur Darstellung des Fettes, die sich auch als nötig erwies, habe ich Osmiumsäure, Sudan III und Fettponceau benutzt. Von den sonstigen Reaktionen erwähne ich noch die Indigokarmin-Pikrinsäure-Methode nach Vorfärbung mit Lithionkarmin und Orcein; Zellkerne rot, Muskulatur und Protoplasma gelb, Bindegewebe grün, elastische Fasern braun, dann die kombinierte Fuchsin-Orcein und Säurefuchsin-Orangefärbung, letztere nach Orcein oder Resorcinfuchsin-Vorfärbung. Welchen speziellen Zwecken sie dienen, ist ersichtlich. Das Gleiche gilt für die von Delamare angegebene „melange tetrachrome“, die aus folgenden Lösungen besteht:

1. Orcein 1,0
Acid. hydrochlor. 1,0
Alcohol absol. 50,0
2. Hämatoxylin Böhmer 4,0
Säurefuchsin 1,0
Pikrinsäure (gesättigt wässrige Lösung) 200,0.

Beide Lösungen werden zu gleichen Teilen gemischt und die Schnitte 20 Minuten bei 45 Grad darin belassen. Kerne violett, Protoplasma und Muskulatur gelb, Bindegewebsfibrillen rot und elastische Fasern schwarz.

Im übrigen habe ich beobachten können, daß die einfachste Technik in fast allen Fällen auch die beste ist. Indigokarmin, Pikrinsäure, Lithionkarmin und Orcein geben zwar schöne Übersichtsbilder, sind aber dort nicht gut anwendbar, wo es sich um zarte Details handelt; ebenso die „melange tetrachrome“. Scharfe Kontraste lassen sich durch sie nicht im erforderlichen Maße erzielen.

Außerdem genügt zur deutlichen Färbung der jüngsten elastischen Fasern die vorgeschriebene Zeit nicht. Bleiben aber die Schnitte länger in der Lösung, so überfärben die andern Bestandteile, so besonders Säurefuchsin und Hämatoxylin, so stark, daß sich daraus Schwierigkeiten ergeben.

Zur Herstellung der Schnitte möchte ich bemerken, daß sie unter allen Umständen so dünn wie möglich sein sollen, am besten 3—5 μ . Was die Schnittrichtung anlangt, so kommt eine solche ja nur beim Ligamentum nuchae in Betracht.

Wesentliche Unterschiede sind es nicht, ob man quer oder längs schneidet, weil auch bei den Querschnitten eine große Zahl der Fasern etwas schräg getroffen wird. Mir ist es stets lieber gewesen, die Fasern möglichst in Längenausdehnung zu sehen, selbstverständlich habe ich auch den Querschnittsbildern Rechnung getragen.

Die Eihäute.

Die auf die geschilderte Weise gewonnenen Lamellenpräparate von den Eihäuten bieten allen Schnitten gegenüber sehr wesentliche Vorteile. Es kommt bei den Schnitten oft vor, daß nur noch kleine Reste von Fasern mit in die Schnittebene fallen; das kann und hat sicher auch schon in vielen Fällen zu den schwerwiegendsten Irrtümern Veranlassung gegeben.

Man sieht dann punkt- oder strichförmige Gebilde, die leicht den Eindruck von selbständigen elastischen Körnchen machen können. Bei ihrer Kleinheit ist es nicht immer möglich, sicher zu bestimmen, ob sie innerhalb einer Zelle oder nur auf oder an ihr liegen. Kommt es nun gar vor, daß eine stark geschlängelte Faser mehrfach durchschnitten wird, so kann es den Anschein gewinnen, als ob erst durch Zusammenfließen der hintereinander gelegenen Bruchteile eine kontinuierliche Faser gebildet wurde.

In den Eihäuten bilden die Fasern Netze, deren Fasern im allgemeinen immer parallel der Oberfläche verlaufen. Die einzelne Lamelle ist stets noch dick genug, um die Faser in ihrer ganzen Länge verfolgen zu können. Nie habe ich dort, wie in der Lunge, derartige kleine Reste gefunden, von denen es oft nicht möglich ist, zu sagen, ob sie selbständige Gebilde sind oder Reste von durchschnittenen Fasern. Kurz, ich halte mit Gardner die Eihäute für das günstigste Objekt zum Studium der Histiogenese der elastischen Fasern.

Als das geeignetste Material empfehle ich die Eihäute von Rindern, Schafen und Schweinen. Weniger gut sind Kaninchen. In menschlichen Eihäuten habe ich merkwürdigerweise häufig gar keine Fasern auffinden können. Ein Durchschnitt durch den gesamten Fruchtsack zeigt, daß sowohl Amnion und Chorion reichlich mit elastischen Fasern durchsetzt

sind. Sie kommen in allen Lagen vor und durchziehen, wie man schon hier vermuten kann, und wie spätere Lamellenpräparate bestätigen, netzförmig die Membranen. Während ihre Zahl im eigentlichen Amnion nicht allzu reichlich ist, findet man sie in dem Chorion in großen Mengen, besonders in der Nähe der Gefäße. Gardner gibt an, daß im Amnion wie im Chorion die Fasern ziemlich stark wären und dort Netzwerke mit großen Maschen bildeten. Dagegen sei in den mittleren Lagen, die Amnion und Chorion miteinander verbinden, das Netz erheblich enger zusammengezogen und die einzelne Faser bedeutend feiner. Ich habe mich hiervon nicht so recht überzeugen können. Am meisten geeignet zum Studium der elastischen Fasern fand ich vielmehr das Chorion, und zwar vorwiegend die Schicht seiner größeren Gefäße.

Durchschnitte belehren, daß Zellen und elastische Fasern allenthalben dicht nebeneinander vorkommen, d. h. daß keine scharfbegrenzte elastische Lage existiert.

Über die Zellen geben derartige Präparate keine genügende Auskunft. Sie erscheinen geschrumpft, ihre Protoplasmafortsätze sind nicht ordentlich sichtbar, ebensowenig lassen sich Protoplasmastrukturen erkennen. Die je nach dem Alter des Individuums, von dem die Präparate stammen, verschieden reichlichen elastischen Fasern sind nur in wenigen Fällen in ihrer ganzen Länge sichtbar. Waren die Eihäute ausgespannt, so verlaufen die Fasern in schnurgerader Richtung, wie mit dem Lineal gezogen, anderenfalls geschlängelt. Meistens lassen sich keine Beziehungen zu den Zellen erkennen, dann wieder liegen sie in deren nächster Nähe. Hier und dort sieht man punkto- oder strichförmige Gebilde, die die Färbung der elastischen Fasern zeigen und die wie diese teils entfernt, teils in unmittelbarer Nähe der Zellen liegen. Offenbar sind es Reste von durchschnittenen Fasern. In vielen Fällen ist es wegen der mangelhaft scharfen Umgrenzung der Zellen außerordentlich schwer zu entscheiden, ob die Fasern noch zu ihnen gehören oder nicht. Kurz, es ergeben derartige Präparate Bilder, die nicht so leicht zu deuten sind.

Zerlegt man die Eihäute eines älteren Foetus in Lamellen, so findet man in einem solchen Präparat das wohl ausgeprägte

Netzwerk von zahlreichen elastischen Fasern (Fig. 1, Taf. I). Die Maschenweite ist wechselnd, teilweise so eng, daß gerade zwischen mehreren Fasern Raum für nur eine Zelle bleibt. Dabei sind sie im allgemeinen ziemlich lang. Leitz' Obj. 6, Ocul. 3 gestatten in der Regel nicht, in einem Gesichtsfeld eine Faser in ihrer ganzen Länge zu übersehen. Über ihre Verlaufsrichtung, ob gestreckt oder gewunden, bin ich nicht imstande, genaue Angaben zu machen. An Präparaten, die gut ausgespannt waren, d. h. bei denen der Zug nach allen Richtungen gleichmäßig war, ziehen die Fasern ganz gerade dahin, hat der Zug nur in einer Richtung gewirkt, so sieht man die senkrecht dazu verlaufenden Fasern stark gewunden, fast zickzackförmig. Präparate, die von nicht ausgespannten Eihäuten stammen, zeigen leichte Schlängelung der Fasern. Ihre Dicke ist variabel. Hin und wieder fällt eine Faser durch ihre besondere Stärke auf. Verfolgt man eine solche über mehrere Gesichtsfelder, so sieht man, daß an mehreren meist dicht aufeinander folgenden Stellen von ihr unter sehr spitzem Winkel andere Fasern sich abzweigen, deren Durchmesser zusammen etwa dem der ursprünglichen Hauptfaser entspricht (Fig. 1, Taf. I). Daneben kommen viele Fasern vor, die erst mit starken Immersionssystemen sichtbar sind. Sie mögen, um mich eines zeitgemäßen Vergleichs zu bedienen, ungefähr die Dicke der *Spirochaeta pallida* haben. Wie es ja für alle anderen Fälle schon genügend bekannt ist, so sind auch hier die feinsten Fasern am schwächsten gefärbt. Es gelingt fast nie, eine Faser bis zu ihrem wirklichen Ende zu verfolgen. Dadurch, daß sie sich auf die geschilderte Weise spaltet, nimmt ihre Dicke immer mehr ab, einem solchen feinen Zweige legen sich dann in seinem weiteren Verlauf wieder andere, gleich feine Fasern an, so daß dadurch ein Stärkerwerden resultiert. Gelingt es, einen feinen Zweig ohne Anastomosen weiter zu verfolgen, so nimmt mit der immer geringer werdenden Dicken- ausdehnung auch die Färbung immer mehr ab, so daß dem Beobachter schließlich das Bild völlig entschwindet. Die plötzlichen Enden der dickeren Fasern, die nur selten zur Beobachtung gelangen, sind dann so scharfrandig, daß sie nur als abgerissene Enden einer beim Lamellieren zerrissenen Faser zu

deuten sind, deren eigentliche Fortsetzung in einer höher oder tiefer gelegenen Schicht zu suchen ist.

Die Zellen in einem solchen Präparat sind nicht immer von der gewünschten Deutlichkeit. Müllersche Flüssigkeit scheint ihr Protoplasma am wenigsten zu schädigen. Die Zellkerne sind in allen Fällen gut sichtbar, meist durch einen Rest von zurückgehaltenem Resoreinfuchsin rot mit einem Stich ins Violette gefärbt. Das Protoplasma ist immer sehr zart und läßt sich häufig nicht scharf genug abgrenzen. Es umgibt in ziemlich reichlicher Menge den Kern und entsendet nach allen Richtungen Fortsätze, die untereinander anastomosieren. In manchen Fällen ist es deutlich gekörnt, in anderen wieder nicht. Stets sind die Granulationen am frischen, ungefärbten Präparat am reichlichsten. In Canadabalsam aufbewahrte Objekte zeigen sie weniger gut als solche in Glyzerin. Müllersche Flüssigkeit konserviert sie besser als Formol. Die Zellgranulationen färben sich jedoch bei Resoreinfuchsin-Eosin-Behandlung niemals blau, sondern stets rot.

Und die Beziehungen der Zellen und elastischen Fasern? Ich nehme die Resultate meiner sämtlichen Beobachtungen vorweg. Beide erscheinen als völlig voneinander unabhängige Elemente; elastische Fasern und Zellen sind stets in jedem Gesichtsfeld eines geeigneten Präparats sehr reichlich vertreten. Daraus resultiert, daß beide häufig einander begegnen müssen. Aber ebenso oft ist eine lange, elastische Faser auf eine große Strecke hin verfolgbar, ohne je an eine Zelle heranzutreten. Findet man jedoch eine Faser an irgendeiner Stelle ihres Verlaufs im Kontakt mit einer Zelle, überzeugt man sich, daß die Faser nicht in der Zelle ihr Ende findet. Die Anwendung der stärksten Vergrößerungen und einer äußerst vorsichtigen Benutzung der Mikrometerschraube zeigen, daß geringe Niveaudifferenzen zwischen Faser und Zelle bestehen. Niemals jedoch habe ich eine elastische Faser oder überhaupt elastisch gefärbte Substanz innerhalb der Zelle gesehen.

Diese nach Eihäuten von relativ alten Embryonen gegebene Schilderung gilt mit geringen Modifikationen auch für solche von früheren Stadien, nur ist dort das Zellnetz reichlicher und das der elastischen Fasern spärlicher. Außerdem sind diese,

je jünger der zugehörige Embryo ist, desto feiner und auch blasser gefärbt. Die beschriebenen Gabelungen und Verschmelzungen von Fasern sind immer seltener und in den jüngsten Stadien überhaupt nicht aufzufinden. Schließlich gelangt man zu einer Altersstufe, wo mit Sicherheit sich nicht mehr mit Resorcinfuchsin färbbare Fasern darstellen lassen. Das ganze Gewebe hat einen zwischen Eosinrot und Graublau stehenden Farbenton angenommen und läßt nur undeutlich kontourierte Fasern erkennen, die sich leicht von den zarten, aber scharf umgrenzten Fasern der späteren Stadien unterscheiden lassen.

Die Lagebeziehungen zwischen Zellen und Fasern haben sich in keiner Weise geändert.

Der Schilderung der nach Gardner behandelten Präparate muß ich einiges über die Technik selbst vorausschicken.

Aus der Vorschrift, die ich in wörtlicher Übersetzung aus dem Französischen wiedergegeben habe, sind schon ihre Mängel ersichtlich. Gardner selbst gibt zu, daß seine Methode durchaus nicht in allen Fällen gleich gute Resultate liefert. Absehen will ich hier von den eingangs schon erwähnten, nicht immer präzisen Angaben für die Zeit des Aufenthalts der Präparate in den verschiedenen Flüssigkeiten. Ich halte es aber unter allen Umständen für äußerst gefährlich, eine Differenzierung in nur einer Sekunde vorzunehmen. Das mag wohl bei Ausstrichen von Flüssigkeiten, wie Blut usw., zulässig sein, vielleicht auch bei ganz dünnen, auf dem Objektträger festgeklebten Schnitten, die eine absolut glatte Oberfläche bieten, nicht aber bei den frei zu behandelnden Eihautlamellen. Sowie man diese aus der Fuchsinlösung in das Kali caust. überführt, kräuseln sie sich leicht und verfallen in das bekannte Tanzen, das man stets an Schnitten beobachten kann, die von einem hochprozentigen Alkohol in Wasser gelangen. Das Tanzen dauert erheblich länger als eine Sekunde, und damit ist bewiesen, daß diese Zeit nicht ausreicht, um alle Diffusionsströme verschwinden zu lassen. Hieraus wieder erhellt, daß die Differenzierung nicht an allen Stellen des Präparates die gleiche ist und je nach der Dicke der Lamelle längere oder kürzere Zeit braucht, um vollkommen zu sein. Man sollte eben nicht solche Lösungen anwenden, die nur eine derart minimal kurze

Zeit mit den Präparaten in Berührung bleiben dürfen. Ich habe, um unter genau denselben Bedingungen zu arbeiten wie Gardner, trotzdem ich mir der Unvollkommenheit seiner Methode bewußt war, mich teilweise streng an seine Vorschrift gehalten. Wie zu erwarten stand, waren die Resultate durchaus verschieden. Bei gut gelungenen Präparaten sind die Zellkerne leicht braunrot gefärbt, das Protoplasma etwas heller rot. Die elastischen Fasern erscheinen als zarte, blauviolette bis schwarze Gebilde. Häufig weisen die auf diese Methode gewonnenen Bilder eine weitgehende Ähnlichkeit mit denen auf, die man mit Resorcinfuchsin und Eosin erhält.

In einzelnen Fällen, längst nicht in allen, sah ich innerhalb des Zellprotoplasmas deutliche, körnchenförmige Einschlüsse. Sie hoben sich durch eine dunkle, mehr ins Violette gehende Farbe ziemlich gut von dem umgebenden Zellprotoplasma ab. Indes ist sowohl die Intensität ihrer Färbung, wie auch ihre Nuance von der der elastischen Fasern sehr deutlich zu unterscheiden. Ihre Größe ist fast immer ziemlich erheblich und kommt der der roten Blutkörperchen nahe. Daneben kommen auch kleine Körnchen vor, jedoch erreichen sie niemals die Zartheit der feinsten elastischen Fasern. In keinem einzigen Falle habe ich sie deutlich reihenweise gelagert gesehen. Ebenso lagen sie stets innerhalb des Protoplasmas.

Ich habe mich auf mannigfache Weise bemüht, die Natur dieser Gebilde sicher zu ergründen, ohne jedoch zu einem völlig zufriedenstellenden Resultat zu kommen. In den Eihäuten von Kaninchenembryonen, die sofort nach Tötung des schwangeren Muttertieres ohne vorhergegangene Fixierung in Kochsalzlösung untersucht wurden, fand ich ebenfalls um die Kerne gruppierte, innerhalb der Zellen gelegene, kugelförmige Gebilde von leicht gelber Farbe und starkem Glanz. Ließ mich dies vermuten, daß es sich hier um feine Fetttropfen handelte, so bestätigte die Scharlachrot- und Sudanreaktion dies insofern, als sie dadurch schön rot erschienen. Mit Osmiumsäure behandelte Stückchen zeigten innerhalb der Zellen reichlich schwarze Körnchen.

Nunmehr lag der Gedanke nahe, daß auch die Fuchsinlösung nach Gardner imstande sei, Fett etwas mitzufärben.

Zu meinem Erstaunen erwies jedoch ein dahingehender Versuch mit Gefrierschnitten von Lebern, in denen Scharlach und Sudan reichlich Fetttropfen färbten, daß diese Vorstellung irrig war. Das Fett blieb bei der Fuchsinbehandlung völlig ungefärbt. Eine genügende Erklärung hierfür anzugeben bin ich nicht imstande. Die mit Fuchsin gefärbten Körnchen fand ich nur in seltenen Fällen, während ich dagegen Fetttropfen mit Sudan fast immer darstellen konnte. Vielleicht kann man diese Tatsache dahin deuten, daß irgendwelche mir unbekannt gebliebenen Momente das Fett derart verändert hatten, daß es diese merkwürdige Affinität zum Fuchsin aufwies.

Nachdem ich so einmal auf das Vorkommen von Fett in den Eihäuten aufmerksam geworden war, habe ich dieser Tatsache besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Die lebensfrischen Eihäute von Kaninchen (sofort nach Tötung der Mutter) und von Menschen (eine halbe Stunde nach der Geburt) lieferten mir übereinstimmende Resultate. Ich benutzte zu diesem speziellen Zweck besonders das Chorion, weil es sich besser lamellieren läßt als das zarte Amnion. Regelmäßig konnte ich nun dort in den oberflächlichsten Schichten reichlich Fett nachweisen, das sich in der geschilderten Weise innerhalb der Zellleiber meist in der Nähe des Kerns fand und sowohl im frischen Präparat wie nach Sudanfärbung leicht erkennbar war. Bemerkenswert ist dabei die Tatsache, daß die Körnchen durchaus nicht so leicht zum Verschwinden zu bringen waren, wie man vermuten sollte. Eine Behandlung mit Äther, Alkohol, Aceton und den übrigen fettlösenden Substanzen führte nur langsam zum Ziel. Im gefärbten Präparat verschwand zwar fast momentan die rote Farbe, doch blieben kleine, ungefärbte Körnchen noch lange sichtbar. Erst als ich ein solches Präparat nach Extraktion des Farbstoffs durch Alkohol abs. für mehrere Stunden in Benzin eingelegt, dann noch mit Alkohol, Karbolxylol, Xylol behandelt und in Canadabalsam eingeschlossen hatte, gelang es mir nicht mehr, die erwähnten Körnchen zu sehen. Diese Tatsachen lassen mich annehmen, daß die von mir beobachteten Körnchen Fett oder eine dem Fett nahestehende Substanz darstellen.

Das Nackenband.

Die Behandlung des Nackenbandes ist in mehrfacher Hinsicht schwieriger als die der Eihäute. Will man gute Färbungen haben, so ist man auf die im Verhältnis zu den zarten Fasern immer erheblich dicken Schnittpräparate von eingebetteten Stücken angewiesen. Das Band ist so außerordentlich reich an Fasern, daß es oft sehr schwer ist, sich in diesem Gewirre zu orientieren. Ich benutzte darum meist Schnitte von 3 μ Dicke. Zupfpräparate vom uneingebetteten Band gestatten nicht, die etwas komplizierten Färbemethoden anzuwenden. Häufig habe ich insofern einen Ausweg gesucht, daß ich die schon fertigen Schnitte in Xylol zerzupfte. Daß aber auch dieser Methode manche Mängel anhaften, ist leicht ersichtlich. Am besten sind die Randpartien eines Schnittes zu verwenden. Um sie möglichst zweckmäßig zu gestalten, verfährt man so, daß man den Block derart in das Mikrotom einspannt, daß die Schnittebene sich mit der Oberflächenebene des Organstückchens unter einem spitzen Winkel kreuzt. Auf diese Weise gelingt es, den Schnitt an einer Stelle tatsächlich nur so dünn zu halten, wie die Dicke einer Faser beträgt.

Zur guten Übersicht dient ein mit Hämatoxylin-Eosin gefärbter Längsschnitt von einem älteren (etwa 60 cm langen) Kalbsembryo (Fig. 2, Taf. I). Man sieht daran, daß das Band aus zahlreichen Zellen und einer bei Eosinfärbung undeutlich faserigen Zwischensubstanz zusammengesetzt ist. Unterzieht man zuerst die letztere einer genauen Betrachtung, so zeigt eine Resorcinfuchsin-Färbung, daß ein großer Teil davon aus schwarzblauen Fasern besteht, d. h. seine elastische Natur verrät. Diese Fasern haben verschiedene Dicke, gewöhnlich entsprechen sie etwa $\frac{1}{4}$ Durchmesser eines roten Blutkörperchens. Daneben kommen einige wenige stärkere vor und eine Anzahl feinere, bis herab zu den allerzartesten, die eben noch mit Immersionslinsen sichtbar sind. Läßt man auf die Resorcinfuchsin-Färbung eine solche mit van Giesonscher Lösung folgen, so erkennt man neben den blauen Fasern noch eine Anzahl rot gefärbter, die aber an Masse den erstgenannten nachstehen. Die Zellen liegen in gleichmäßigen Abständen zwischen den

Fasern zerstreut und haben deutliche Spindelform. Ihre Anordnung ist eine derartige, daß ihre Längsachse der Verlaufsrichtung der Fasern entspricht. Das Protoplasma ist sehr zart, häufig nur schwer zu sehen und nicht scharf konturiert. Seitlich von den Kernen ist es in kaum erkennbaren Spuren vorhanden, nur an den beiden Kernpolen einigermaßen deutlich ausgebildet. Es erscheint fast wie hyalin, wie hingehaucht. Deutliche, immer wiederkehrende Zeichnungen lassen sich nicht nachweisen. Hin und wieder sieht man, besonders an den Zellpolen, eine äußerst feine, fädige Struktur. Eine stärkere Körnelung scheint nicht vorhanden zu sein (Fig. 3, Taf. I).

In Präparaten etwas jüngerer Individuen (40 cm) lassen sich all die geschilderten Elemente in der gleichen Weise wiederfinden: Zellen, rot und blau gefärbte Fasern. Alle jedoch bieten ein etwas anderes Aussehen. Die Zellen haben ein etwas reichlicheres Protoplasma, die blauen Fasern sind erheblich zarter, weniger intensiv gefärbt und weniger zahlreich. Die roten überwiegen an Zahl, sind jedoch weniger deutlich konturiert. Fertigt man von einem solchen Stadium einen Querschnitt an und färbt mit Resoreinfuchsin und Eosin, so sieht man die elastischen Fasern als blaue Punkte im Zwischengewebe, das seine fibrilläre Struktur hier nicht deutlich zu erkennen gibt (Fig. 4, Taf. I). An diesen Präparaten tritt besonders klar zutage, daß die Zellen frei von Einlagerungen elastischer Natur sind.

Gewiß lassen sich auch andere Bilder als die auf der Figur wiedergegebenen auffinden. Da indes an dem Äquator des Korns das Protoplasma der Zellen erheblich schwächer entwickelt oder vielleicht dort schon weiter in Grundsubstanz umgewandelt ist, so fehlt es begreiflicherweise nicht an Stellen, die die Faserquerschnitte in unmittelbarer Nähe des Korns zeigen, was ja für eine intracelluläre Entstehung der elastischen Fasern sprechen könnte. Solche Bilder jedoch entsprechen erst den späteren Stadien, indem die Zellen ärmer an Protoplasma geworden sind. Dann muß man auch berücksichtigen, daß nicht überall die Bildung der elastischen Fasern gleichzeitig einsetzt. Auch hieraus ist das Vorkommen verschiedener Bilder verständlich. Die Querschnitte zeigen die Grundsubstanz wie mit einem System von Lücken durchsetzt, in denen die Zellen

liegen. In der Grundsubstanz selbst wieder finden sich überall zerstreut die punktförmigen Querschnitte der elastischen Fasern. Dort, wo sie an die Lücken für die Zellen herantreten, rücken sie selbstverständlich auch den letzteren näher.

Zur Untersuchung noch jüngerer Stadien haben mir keine Kalbsembryonen mehr zur Verfügung gestanden. Ich nahm daher menschliche und Schafsembryonen zuhülfe, ohne jedoch dadurch wesentlich gefördert zu werden. Geht man im Alter der Foeten immer tiefer, so gelangt man an einen Zeitpunkt, wo sich keine elastischen Fasern mehr nachweisen lassen. Wo aber solche vorhanden sind, da ist das Verhalten der drei Elemente immer das gleiche. Niemals findet man innerhalb und außerhalb der Zellen Körnchen oder Klumpen elastischer Natur, die in Reihen zu Fasern angeordnet liegen.

Beide Faserarten indes, die roten und die blauen, sind nicht scharf voneinander zu trennen. Nimmt man die stärksten Vergrößerungen zuhülfe, so sieht man, daß zwar in allen Fällen die Länge der Faser eine gleichmäßige Tinktion aufweist, dagegen scheinen die feinsten blauen Fasern wie von einem schmalen, rot oder rosa gefärbten Saum umgeben. Besonders deutlich wird dies bei ausgiebigem Gebrauch der Mikrometerschraube. Eine solche Faser verliert bei hoher Einstellung allmählich ihre scharfe Färbung, bis sie schließlich nur mehr rosa erscheint. Durch Senken gelangt man wieder zu dem Punkt, wo sie neben der größten Schärfe auch die deutliche Blaufärbung zeigt. Geht man noch tiefer, so sieht man sie wieder in der genannten Weise ihre Farbe wechseln. Die stärkeren blauen Fasern zeigen dies Verhalten nicht, sie sind in allen Ausdehnungen gleichmäßig gefärbt. Dagegen ist die Färbung der Fasern, die bei flüchtigem Betrachten rot erscheinen, nicht immer genau zu bestimmen. Sie haben häufig, besonders in ihren zentralen Partien, einen Stich ins Bläuliche und bilden so alle Übergänge zu den geschilderten blauen Fasern mit dem rot gefärbten peripherischen Saum.

Die Lungen.

Kurz kann ich mich fassen bei der Schilderung der elastischen Fasern in den Lungen. Über die Zeit wie den Ort

ihres Auftretens finden sich genaue Angaben in der Arbeit von Teufel.

Die elastische Faser, die sich innerhalb des zellreichen Lungenparenchyms findet, ist außerordentlich schwer in ihrer Lage zu bestimmen. Häufig scheint es so, als fänden sich nur Klumpen und Pünktchen von elastischer Substanz innerhalb oder in nächster Nähe der Zellen. Anwendung der stärksten Vergrößerungen und vor allem ausgiebiger Gebrauch der Mikrometerschraube gestatten es aber meist, aus den Punkten und Strichen eine vielfach gewundene und geschlängelte Faser zu konstruieren, die äußerst dicht einer oder mehreren Zellen anliegt. Indes sind die Bilder, wie wohl schon aus der kurzen Schilderung hervorgeht, so wenig klar und übersichtlich, daß ich sie bald außer acht ließ und meine Untersuchungen hauptsächlich auf die vorher genannten Organe beschränkte.

Aus der eingehenden Beschreibung meiner Präparate ist das eine leicht ersichtlich: nur die Eihäute und das Nackenband haben Bilder ergeben, die sich einwandfrei deuten lassen. Die Lungen mögen somit außer Betracht bleiben. —

In den Eihäuten haben wir gesehen, daß schon in frühen Stadien äußerst feine, an der Grenze des Sichtbaren stehende, völlig kontinuierliche Fasern auftraten, die sich mit Resorcinfuchsin und Orceïn darstellen ließen. Wir haben ferner gesehen, daß diese Fasern in keinen festen Beziehungen zu den Zellen stehen; bald gingen sie in ziemlicher Entfernung daran vorbei, bald lagen sie ihnen an. Letzteres war natürlich um so häufiger der Fall, je jünger, d. h. je zellreicher die Eihäute waren. Aber auch in den jüngsten Stadien waren die Fasern in der Mehrzahl der Fälle ihrer Lage nach unabhängig von den Zellen. Niemals ließ sich einwandfrei nachweisen, daß innerhalb einer Zelle deutlich mit Resorcinfuchsin oder Orceïn färbbare Substanzen lagen. Die kugeligen Einschlüsse von relativ bedeutender Größe, welche die Zellen beherbergen und die sich durch hohen Glanz und eine ziemlich beträchtliche Widerstandsfähigkeit gegen chemische Reagentien, wie Kalilauge, Alkohol. abs., Äther usw. auszeichneten, sind keine konstanten Gebilde. Sie waren auch in den späteren Stadien häufiger wie in den früheren. Eine besondere Anordnung dieser Körnchen war nicht

nachzuweisen, sie lagen in allen Fällen regellos durcheinander. Wenn es auch nicht sicher gelungen ist, sie chemisch zu analysieren, sprach vieles dafür, daß sie dem Fett außerordentlich nahestehen.

Das Nackenband erwies sich als zusammengesetzt aus Zellen und fibrillären Elementen. Letztere färbten sich teils mit van Giesonscher Lösung, fuchsinrot, teils mit Resorcinfuchsin und Orcein. In jüngeren Stadien färbte sich die große Mehrzahl der Fasern fuchsinrot, während nur einzelne starke Fasern Resorcinfuchsin annahmen. Mit zunehmendem Alter änderte sich dies Verhalten derart, daß die mit Resorcinfuchsin färbbaren Fasern an Zahl immer zunahmen, bis schließlich im Nackenbände des Erwachsenen nur noch solche vorhanden waren.

Somit kann es als ausgemacht gelten, daß die mit Resorcinfuchsin und Orcein färbbare Substanz im Zwischengewebe unabhängig von den Zellen gleich im ersten Beginn als kontinuierliche Faser auftritt.

Sind nun die von mir beobachteten Gebilde die ersten Anfänge der elastischen Fasern? Ich meine, es ist unmöglich, die elastischen Fasern in ihrer Entwicklung weiter zu verfolgen, als sie sich uns durch ihre Farbreaktionen zu erkennen geben. Das, was wir sonst als charakteristisches Verhalten von Elastin gegen chemische Reagenzien kennen, ist bei der Beurteilung der Frage nach der Entstehung der Fasern nicht anwendbar. Man kann wohl Kalilauge und Alkohol usw. da auf eine Substanz einwirken lassen, wo man sie in genügend großen Mengen beisammen hat und nicht vermischt mit anderen, an Masse ungleich überwiegenden Bestandteilen. Aus dem von mir bei der Beschreibung der Präparate Gesagten ist ersichtlich, wie schwer es hielt, die feinsten glänzenden Körnchen durch fettlösende Substanzen zu zerstören. Wir können uns also nicht mit den einfachen Reaktionen, wie Widerstandsfähigkeit gegen Alkalien, Kochen usw., begnügen, wenn es gilt, das Elastin in feinsten Verteilung nachzuweisen. Wir sind auf andere Hilfsmittel angewiesen, und als solche stellen sich uns die Farbreaktionen dar. Auch sie sind unvollkommen, aber immer noch sicherer als die erstgenannten.

Selbst, wenn man das von mir über die Unvollkommenheit der Kalilauge-reaktion Gesagte nicht gelten lassen wollte, so stößt man auch dann auf Schwierigkeiten, wenn man die Bildung der elastischen Fasern aus dem Konfluieren von innerhalb der Zellen gebildeten Körnchen erklären wollte. Die Körnchen — ich zweifle nicht, daß die von mir gesehenen mit denen anderer Autoren identisch sind — hatten eine relativ erhebliche Größe und lagen stets innerhalb der Zellen. Die Fasern dagegen waren von äußerster Feinheit und lagen stets extracellulär, meist sogar in ziemlicher Entfernung von den Zellen. Soll man annehmen, wenn man von dem chemischen Verhalten absieht, daß die Körnchen von den Zellen ausgestoßen werden und gleichzeitig in demselben Moment zu Fasern verschmelzen? Dabei waren die feinsten Fasern erheblich dünner als der Durchmesser der kleinsten Körnchen.

Man hat den spezifischen Färbungen häufig zum Vorwurf gemacht, daß sie nicht geeignet wären, uns über die Entwicklung der elastischen Fasern genügende Auskunft zu geben. Der Vorwurf ist meiner Meinung nach unberechtigt. Die Farblösungen leisten uns das, was sie zu leisten imstande sind, sie stellen uns die Fasern in einer Zartheit dar, die an der Grenze des Sichtbaren steht. Darüber hinaus können sie nicht gehen, weil auch erst in dem Moment, wo das Gewebe den Farbstoff annimmt, dieses genügend scharf in seinen chemischen Eigenschaften charakterisiert ist, um sicher optisch nachweisbar zu sein.

Eine noch zu beantwortende Frage wäre die, ob die elastische Faser sich stets aus einer collagenen entwickelt. Wenn die Präparate aus den Eihäuten hierfür keine besonderen Anhaltspunkte ergeben haben, so lassen es die aus dem Nackenbände in hohem Maße wahrscheinlich erscheinen. Dieses bestand schon in recht jungen Stadien aus Fasern, die anfänglich kein Resorcin-Fuchsin annahmen, sich aber fuchsinrot mit van Giesonscher Lösung färbten. Später waren fast nur mit Resorcin-fuchsin gefärbte Fasern vorhanden. Offenbar haben also die ursprünglichen Fasern eine dahingehende Umwandlung durchgemacht.

Es ist mir allerdings nicht gelungen, Fasern aufzufinden, die, wie bei der Pinguecula, in einem Teil ihrer Länge rot,

im andern blau gefärbt waren. Von Bedeutung ist es aber, daß besonders in den jüngeren Stadien die blauen Fasern einen zarten, leicht rot gefärbten Saum aufwiesen. Damit ist festgestellt, daß die Bildung der elastischen Faser sich an eine andere vorher bestehende Fibrille anlehnt, die dieselbe Farb-reaktion gibt wie Collagen.

Wenn so dieser Auffassung dem chemischen Verhalten beider Faserarten nach sich keine Schwierigkeiten entgegenstellen, so sind auch die nicht unüberbrückbar, die sich in morphologischer Hinsicht ergeben. Die Bindegewebsfibrille erscheint unverzweigt im Gegensatz zur elastischen Faser. Wir haben aber gesehen, daß auch die jüngste elastische Faser keine Äste abgibt. Präparate von älteren Eihäuten haben beobachten lassen, wie mehrere feinere elastische Fasern in ihrem Verlauf immer mehr konvergieren, bis schließlich nicht mehr ersichtlich ist, ob man es mit einer Summe von ganz dicht liegenden, parallel verlaufenden Fasern zu tun hat, oder ob es sich um einen dickeren Strang handelt. Im weiteren Verlauf dieser stärkeren Fasern beobachtet man dann ein umgekehrtes Verhalten insofern, als daraus eine Anzahl von mehreren feineren, immer weiter divergierenden Fasern wird.

Mehrfach haben Beobachtungen an pathologisch veränderten Organen gezeigt, daß auch im späteren Leben eine Umwandlung von collagenem in elastisches Gewebe stattfindet. Das von mir Beobachtete wäre hierzu der physiologische analoge Bildungsvorgang.

Somit kann ich die Summe meiner Beobachtungen in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Es existiert keine körnige Vorstufe der elastischen Fasern.

2. Die Zellen haben an der Bildung der elastischen Fasern keinen unmittelbaren Anteil.

3. Die elastische Faser entwickelt sich aus einer Fibrille, die ihrem chemischen Verhalten nach als identisch mit der Bindegewebsfibrille anzusehen ist, und zwar in der Art, daß in einer dieser Fibrillen in ihrer ganzen Länge ein axialer Strang von Elastin auftritt, der schließlich den ganzen Umfang der Fibrille einnimmt. Dadurch,

daß eine so gebildete elastische Faser entweder pinselförmig zerfällt oder deren mehrere sich zu einer stärkeren zusammenlegen, kommen die Verzweigungen der elastischen Fasern zustande.

Für die beiden ersten von mir aufgestellten Sätze glaube ich den Beweis einwandfrei geführt zu haben. Ich bin mir aber dessen wohl bewußt, daß der letzte Satz zum großen Teil Hypothese ist. Wer will unter dem Mikroskop eine elastische Faser wachsen sehen? Wir sind auf unsere nicht immer vollkommenen Untersuchungsmethoden angewiesen und müssen dort, wo sie versagen, die Hypothese zu Hilfe nehmen.

Daß trotz der so vielfach ausgeführten Untersuchungen über die Histiogenese der elastischen Fasern sich immer noch so weitgehende Differenzen finden, erklärt sich aus vielen Umständen. Als den bedeutsamsten möchte ich den hinstellen, daß es so außerordentlich schwer ist, ein wirklich geeignetes Untersuchungsmaterial hierfür zu finden. Alle Schnittpreparate kranken an dem einen Fehler, daß man nie ganz genau Schnittebene mit der Verlaufsrichtung der Fasern in Einklang bringen kann. Man wird also in jedem Präparat Bruchstücke von Fasern zu sehen bekommen und ist dadurch Täuschungen ausgesetzt. Dort, wo die elastischen Fasern einen annähernd regelmäßigen Verlauf haben, wie im Nackenband, wo also die eben genannte Fehlerquelle am geringsten ist, ist das Gewebe wieder so dicht gefügt, daß durch diesen großen Reichtum an Fasern das Isolieren der einzelnen Gewebselemente sehr erschwert ist.

Gardner gebührt das Verdienst, ein wirklich geeignetes Untersuchungsobjekt in den Eihäuten ausfindig gemacht zu haben. Wenn seine Ansichten trotzdem meines Erachtens irrig sind, so kann ich die Ursache hierfür nur darin suchen, daß die von ihm angewandte Technik eine fehlerhafte war. Auf einige hervorstechende Mängel derselben habe ich eingangs aufmerksam gemacht.

Vorläufig sind wir nur auf die Färbmethode angewiesen und nur berechtigt, das eine elastische Faser zu nennen, was sich färberisch als eine solche darstellt. Demgemäß hat die Frage nach der Entstehung dieser Gewebsart nur so zu lauten: wie treten die Substanzen, welche die spezifischen Reaktionen

geben, zuerst auf, und es ist erst eine zweite Frage, woraus wieder die Vorstufen der elastischen Fasern ihren Ursprung nehmen. Bei dieser Art der Fragestellung begegnen sich meine Anschauungen mit denen vieler Autoren, so Retterer und Jores. Auch mit Loisel lassen sich in dieser Weise gewisse Übereinstimmungen erkennen. Sagt er doch ausdrücklich, daß bei dem späteren Wachstum des Nackenbandes aus dem vorhandenen Bindegewebe elastische Fasern weitergebildet werden. Die Zellen des Bandes hat er nach seinen Abbildungen genau ebenso gesehen wie ich. Was die „elastischen“ Körnchen anlangt, so habe ich gezeigt — und vorher hat schon Rabl-Rückhardt darauf aufmerksam gemacht —, daß feine Fettkörnchen sich nicht ohne weiteres entfernen lassen. Loisel hält die von ihm beschriebenen Körnchen allein deshalb für Elastin, weil sie durch Alkohol nicht zerstört wurden und sich mit alkalischem Eosin gut färbten. Meiner Überzeugung nach sind diese beiden Tatsachen allein absolut ungenügend dazu, um irgend welche Elemente genauer zu charakterisieren. Ziemlich stark hypothetisch und ohne rechte Begründung erscheint mir seine Annahme, daß die Zellen an Asphyxie zugrunde gingen und dadurch in elastische Körnchen zerfallen.

In letzter Instanz verdankt ja freilich alles Gewebe den Zellen seine Entstehung, so auch die elastischen Fasern. Aber ehe noch an sie zu denken ist, ist schon die ungeformte Grundsubstanz da. Diese wieder differenziert sich teilweise zu faserigen Elementen, und erst hieraus entstehen in noch späterer Zeit die elastischen Fasern.

Was v. Ebner in seiner Arbeit „Die Chorda dorsalis der niederen Fische“ sagt, findet auch seine Anwendung auf das Nackenband und die Eihäute: „Die Erfahrungen, welche man über die Bildung elastischer Substanz an den Chordascheiden der Fische sammeln kann, lassen ebenso vermuten, daß dieselbe ein funktionell gezüchtetes Ausscheidungsprodukt der Bindegewebszellen ist, dessen vielgestaltige Formen nicht von einer direkten plastischen Tätigkeit der Bindegewebszellen, sondern von den mechanischen Bedingungen abhängen, unter welchen es der Aufgabe, Verschiebungen der Gewebe durch Elastizitätswirkung wieder auszugleichen, am besten genügt.“

Fig. 1.

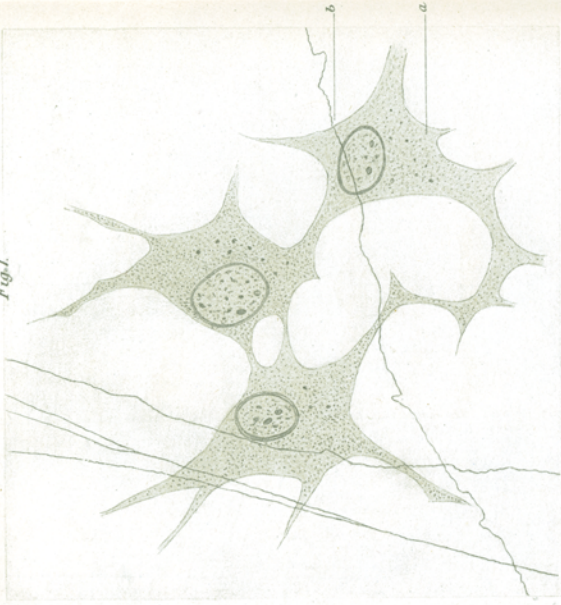


Fig. 2.



Fig. 3.

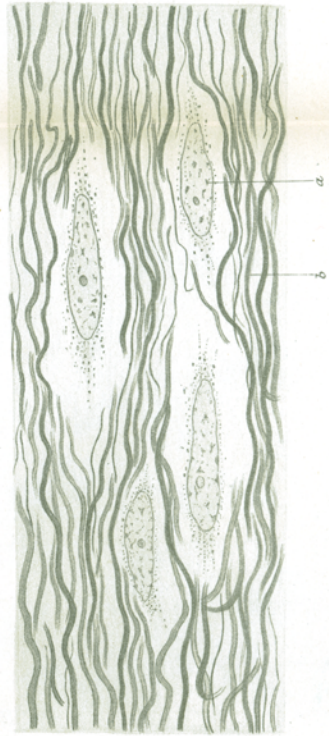
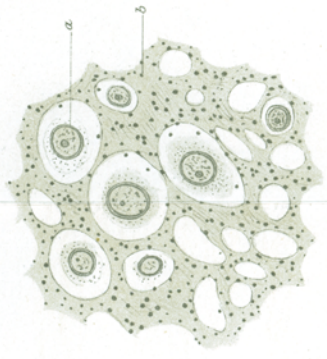


Fig. 4.



Meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Eberth, danke ich verbindlichst für die Anregung und das freundliche Interesse am Fortgang dieser Arbeit, wie ganz besonders für die Überlassung der von ihm angefertigten Abbildungen.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. I.

- Fig. 1. Eihautlamelle vom jüngeren Kalbsembryo.
 a) Sternförmige Zellen mit anastomosierenden Fortsätzen.
 b) Elastische Fasern.
 Resorcinfuchsin- und Eosinfärbung. Vergrößerung: Zeiss' homogene Immersion Apochromat. Brennweite 2 mm, Apertur 1,30. Compens. ocular 8. 1000fach.
- Fig. 2. Nackenband vom jüngeren Kalb. Längsschnitt.
 a) Spindelförmige Zellen.
 b) Undeutlich faserige Grundsubstanz.
 Hämalalaun- und Eosinfärbung. Vergrößerung: Zeiss' homogene Immersion Apochromat. Brennweite 2 mm, Apertur 1,30. Compens. ocular 12. 1500fach.
- Fig. 3. Nackenband vom älteren Kalb. Längsschnitt.
 a) Zellen mit spärlichem Protoplasmaleib.
 b) Elastische Fasern.
 Resorcinfuchsin- und Eosinfärbung. Vergrößerung wie Fig. 2.
- Fig. 4. Nackenband vom jüngeren Kalb. Querschnitt.
 a) Zellen hier rundlich erscheinend.
 b) Elastische Fasern als dunkle Punkte in der bei dieser Färbung nicht deutlich fibrillär erscheinenden Grundsubstanz.
 Resorcinfuchsin- und Eosinfärbung. Vergrößerung wie Fig. 2.

Literatur.

1. Acquisto, Genesi e sviluppo della sostanza elastiche. Atti d. R. academia di sc. med. 38.
2. Adikes, Zur Histologie des Bindegewebes. Diss. Göttingen 1822.
3. Baur, Die Entwicklung der Binde substanz. 1858.
4. Boll, Untersuchungen über Bau und Entwicklung d. Gewebe. Schulzes Arch. f. mikr. Anat., 1871, Bd. 7.
5. Bruch, Untersuchung über d. Entw. d. Gewebe. Abhandl. d. Senkenbergischen naturforsch. Gesellsch., 1868, Bd. 5 und 6.
6. Caye, Über die Entw. der elast. Fasern im Nackenband. 1869.
7. Davidsohn, Fragmentation d. el. Fasern. Dieses Archiv, Bd. 160.
8. Deutschmann, Über d. Entw. d. el. Fasern im Netzknochen. Arch. f. Anat. und Phys., 1873.
9. Donders, Form, Mischung und Funktion d. element. Gewebsbestandteile. Zeitschr. f. wissensch. Zoologie, 1851.

10. v. Ebner, Über eine optische Reaktion der Binde substanz auf Phenol. Sitzungsber. d. K. Akademie in Wien. 1896.
11. Derselbe, Die Chorda dorsalis der niederen Fische usw. Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie, LXII.
12. Eulenberg, de tela elastica. Diss. 1836.
13. Flemming, Die Histogenese d. Stützsubstanzen, der Binde subst.-Gruppe. (Handb. d. vergleich. u. experim. Entwicklungslehre d. Wirbeltiere, herausgeg. v. Dr. Oskar Hertwig.)
14. Derselbe, Über d. Entw. d. collagenen Bindegewebsfibrillen bei Amphibien und Säugetieren. Arch. f. Anat. u. Physiol., 1897.
15. Fuss, Der Lidspaltenfleck und sein Hyalin. Dieses Archiv, Bd. 182.
16. Gardner, De l'histiogenie du tissu elastique. Le Physiologiste Russe, 1898.
17. Gerber, Handb. d. allgem. Anat. d. Menschen. 1840.
18. Gerlach, Handb. d. allgem. u. spez. Gewebelehre. 1860.
19. Hansen, F., Über Bildung und Rückbildung d. el. Fasern. Dieses Archiv, Bd. 137.
20. Hansen, C. C., Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Anzeiger, Bd. 16, 1899.
21. Harting, Recherches micrométriques sur le développement des tissus et des organes du corps humain. 1845.
22. Hauf, De systemate telae elasticae. 1822.
23. Heller, Beitr. z. Histiogenese d. el. Fasern im Netzknoorpel u. im lig. nuch. Monatsh. f. prakt. Dermat., XIX, 1892.
24. Henle, Allgem. Anatomie. 1841.
25. Derselbe, Bericht über d. Fortschritte d. Anat. i. J. 1858.
26. Hertwig, Über d. Entw. u. Form d. el. Gewebes im Netzknoorpel. Arch. f. mikr. Anat., Bd. IX, 1873.
27. Katurada, Zur Kenntnis d. regress. Veränderung. d. el. Fasern d. Haut. Zieglers Beiträge, Bd. 31.
28. Kei ji Sawada, Über Zerstörung u. Neubildung d. el. Gewebes u. d. Lunge. Dieses Archiv, Bd. 169.
29. Kölliker, Über d. Entw. d. sogenannten Kernfasern, d. el. Fasern u. d. Bindegewebes. Würzb. Verhandl., 1852.
30. Derselbe, Neue Untersuchungen über die Entwickl. d. Bindegewebes. 1861.
31. Derselbe, Handb. d. Gewebelehre des Menschen von V. v. Ebner. Leipzig 1902.
32. Kuskow, Beitr. z. Kenntnis d. Entw. d. elast. Gewebes im lig. nuch. und im Netzknoorpel.
33. Leydig, Lehrb. d. Histol. 1866.
34. Linser, Über Bau u. Entw. d. el. Gewebes i. d. Lunge. Anat. Hefte, Bd. 13, Heft 2 u. 3.
35. Livini, Sur la distribution du tissu elastique dans divers organes du corps humain. Arch. italien. de biologie, 1899, T. XXXII.

36. Loisel, Formation et evolution des elements du tissu elastique. *Journal de l'anat.*, T. 33, 1897.
37. Derselbe, Développement des fibres elastiques dans le ligament cervical du cheval. *C. R. Soc. Biol.*, juillet 1894.
38. Mall, Reticulated and yellow elastic tissues. *Anat. Anz.* III, 1888.
39. Derselbe, Das reticuläre Gewebe u. s. Beziehungen z. d. Bindegewebsfibrillen. *Abhandl. d. Kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch.*, Leipzig 1891.
40. Melnikow-Raswedenkow, *Histol. Unters. über d. el. Gewebe in norm. u. pathol. veränderten Organen.* *Ziegl. Beitr.*, Bd. 26.
41. Minervini, Über d. Ausbildung d. Narbe. *Dieses Archiv*, 175.
42. Müller, Über d. Bau d. Molen. 1847.
43. Derselbe, Über d. el. Fasern im Nackenband der Giraffe. *Würzb. naturw. Zeitschr.*, 1860, Heft 11.
44. Nakai Morokichi, Über d. Entw. d. el. Fasern im Organismus und ihr. Bezieh. z. d. Gewebefunktion. *Dieses Archiv*, 182.
45. Ordonnez, Étude sur le développement des tissus fibrillaires et fibreux. *Journ. de l'anat.*, 1866.
46. Pansini, Sulla genesi delle fibre elastiche. *Progresso medico*, Napoli 1887.
47. Derselbe, Sulla costituzione della cartilagine e sulla origine delle fibre elastiche nella cartilagine reticolata ed elastica. *Giornale dell' Ass. dei Naturalisti e Medici*, Napoli 1891.
48. Passarge-Krösing, Schwund u. Regener. d. el. Gewebes d. Haut. *Monatsh. f. prakt. Derm.*, 1894.
49. Pfeuffer, Die el. Fasern d. lig. nuch. unter Pepsin- u. Trypsin-Einwirkung. *Arch. f. mikr. Anatomie*, 1878, Bd. 16.
50. Rabl-Rückhard, Über d. Netzknorpel d. Ohres. *Müllers Archiv*, 1863.
51. Ranvier, Recherches sur l'histologie et la physiologie des nerfs. *Arch. physiol.*, Bd. IV, 1872.
52. Reichert, Zur Streitfrage über die Gebilde der Bindesubstanz usw. *Müllers Archiv*, 1852.
53. Reinke, Zellstudien. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, Bd. XLIII.
54. Retterer, Sur le développement morphologique et histologique des bourses muqueuses et des cavités peritendineuses. *Journ. de l'Anat. et Phys.*, 1896.
55. Derselbe, Développement et structure du tissu elastique. *Comp. rend.*, 1898, T. V.
56. Remak, *Müllers Archiv*, 1852, Heft 1.
57. Robin, *Anatomie et physiologie cellulaire.* Paris 1873.
58. Derselbe, Article elastique. *Dict. encycl. sc. méd.* 33, 1886.
59. Rollet, Unters. über d. Struktur d. Bindegewebes. *Würzb. Sitzungsber.*, 1858.
60. See, *Anat. et Physiol. des tissus elastiques.* Thèse agrég. Paris, 1860.

61. Schiffmann, Die Histiogenese d. elast. Fasern bei Organisation des Aleuronatexsudats. Centralbl. f. allgem. Path., 1903.
62. Schwalbe, Beiträge z. Kenntnis d. el. Gewebes. Zeitschr. f. Anat. u. Entwicklungsgesch., 1876/77.
63. Schwann, Mikrosk. Untersuchungen über d. Übereinst. in d. Struktur u. in d. Wachstum d. Tiere u. Pflanzen. 1839.
64. Sofiantini, Contribution à l'étude du tissu dans les neoplasmes fibreux de la peau. Arch. méd. experim., Mai 1893.
65. Spuler, Über Bau u. Entw. d. el. Knorpels. Diss., Erlangen 1895.
66. Soudakewitsch, Das el. Gewebe, sein Gefüge und seine Entwicklung. (Russisch.) Kiew 1882.
67. Teufel, Über d. Entw. d. el. Fasern in d. Lunge d. Foetus u. d. Neugeborenen. Arch. f. Anatomie, anat. Abteilg. Heft 5 u. 6.
68. Thin, Bindegewebszellen. Jahresber. von Virchow-Hirsch (Waldeyer).
69. Thomé, Beiträge z. mikrosk. Anat. d. Lymphknoten. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissenschaft. Bd. 30, 1902.
70. Tsutomo Jnouye, Über d. Verhalten d. el. Gewebes im Magenkarzinom. Dieses Archiv, Bd. 169.
71. Valentin, Repertorium f. Anat. u. Physiologie, Bd. II, 1837.
72. Virchow, Die elastischen Fasern und deren Veränderungen. Dieses Archiv, 1889.
73. Derselbe, Identität von Knochen, Knorpel und Bindegewebskörperchen. Würzb. Verhandlungen, Bd. II.
74. Derselbe, Dieses Archiv, 1855, S. 558.
75. Weißmann, Über d. feineren Bau d. menschl. Nabelstrangs. Zeitschr. f. rationelle Medizin, 1861.
76. Ziegler, Bindegewebsneubildung. Centralbl. f. allgem. Path., Bd. 13.

II.

Das elastische Gewebe im gesunden und kranken Herzen und seine Bedeutung für die Diastole.¹⁾

Eine Studie

von

Dr. Fahr,

Prosektor am Hafenkrankenhaus zu Hamburg.

(Hierzu Taf. II.)

Bei den zahlreichen anatomischen Untersuchungen, die am Herzen schon unternommen wurden, um die histologischen

¹⁾ Nach einem Vortrag, gehalten in der biologischen Abteilung des ärztlichen Vereins zu Hamburg in der Sitzung am 10. April 06.