

## XXII.

**Über die bei der Luft- und Gasfüllung des Knochengewebes auftretenden Phänomene und ihre Deutung, insbesondere über die sogenannten „Gitterfiguren“.**

(Aus der Pathologisch-Anatomischen Anstalt des Städtischen Krankenhauses im Friedrichshain-Berlin.)

Von

Dr. Georg Axhausen,  
vormaligem Volontärarzt der Anstalt, Assistenzarzt an der Chirurgischen Klinik  
des Charité-Krankenhauses zu Berlin.

Hierzu Taf. X.

Seitdem von v. Recklinghausen im Jahre 1891 die Methode der Luft- resp. Kohlensäurefüllung in der pathologischen Histologie angewendet wurde, und seitdem die hierbei beobachteten Phänomene, die „Gitterfiguren“, von ihm als ein Wahrzeichen destruierender, dem Abbau dienender Vorgänge hingestellt wurden, ziehen sich die „Gitterfiguren“ bis zum heutigen Tage durch alle Darstellungen hindurch, die die Frage des Knochenumbaus, die Frage nach dem Wesen von Osteomalazie und Rachitis und ähnliche Probleme zum Gegenstand haben.

Sieht man jedoch näher zu, so findet man fast überall nur unbestimmt gehaltene Angaben über den genannten Gegenstand; man gewinnt den Eindruck, als ob die den Angaben zugrunde liegenden Untersuchungen nicht immer bis in die Tiefe der Vorgänge eingedrungen seien. Man überzeugt sich leicht, daß die von v. Recklinghausen und seiner Schule angegebene Technik (Untersuchung an ausgebrochenen Spongiosabälkchen und an Knochenspänen, die mit scharfem Skalpell abgehobelt wurden) die Ursache darstellt, daß die Mehrzahl der Untersucher sich mit der Methode nicht recht befrieden konnte. Die Unsicherheit der Methodik führte dazu, daß die angegebenen Befunde meistenteils an Bestimmtheit und Überzeugungskraft durchaus zu wünschen übrig lassen. Nur vier Forscher sind es, die sich in den 15 Jahren

seit der ersten Veröffentlichung von v. Recklinghausen<sup>1)</sup> eingehender mit dieser Frage befaßt haben (Apolant<sup>2)</sup>, Hanau<sup>3)</sup>), Bertschinger<sup>5)</sup> und E. Meyer<sup>6)</sup>). Sie alle benutzten aber das gleiche Untersuchungsmaterial wie v. Recklinghausen selber (Balken und Späne). Es liegt auf der Hand, daß bei einer so groben Methode und bei der Dicke der erzielten Objekte die Bilder wenig übersichtlich sein mußten, so daß Täuschungen und Mißdeutungen Tor und Tür geöffnet war.

Die Fragen, die von v. Recklinghausen und Apolant auf der einen Seite, von Hanau und Bertschinger auf der anderen Seite umstritten wurden, bewegten sich fast nur auf dem Boden der diagnostischen Bedeutung der Gitter; und nicht einmal hierin konnte bis auf den heutigen Tag eine Einigung erzielt werden. Demgegenüber trat in jener Diskussion die Frage nach ihrem eigentlichen Wesen und nach den Gründen ihres Zustandes kommend ganz zurück. Und doch sollte man meinen, daß hier zunächst der Hebel zur Klärung auch des ersten Punktes einzusetzen hätte. Schon die Frage, ob denn alle Bilder, die als Gitter beschrieben wurden, als einheitliche Erscheinungen aufzufassen seien, harrte der Erledigung. Vergleicht man die Abbildungen in der ersten Arbeit v. Recklinghausens mit denen Apolants, Hanau-Bertschingers und Meyers, so muß sich diese Frage als berechtigt sofort aufdrängen.

<sup>1)</sup> v. Recklinghausen, Die fibröse oder deformierende Arthritis, die Osteomalazie und die osteoplastische Karzinose usw. Festschrift für R. Virchow. Berlin 1891.

<sup>2)</sup> Apolant, Über die Resorption und die Apposition von Knochengewebe bei der Entwicklung bösartiger Knochentumoren. Dieses Arch. 131, S. 40, 1893.

<sup>3)</sup> Hanau, Bericht über die anatomische Untersuchung der Knochen usw. Correspondenzbl. f. Schweizer Ärzte, XXII, 1892.

<sup>4)</sup> Derselbe, Über Knochenveränderungen in der Schwangerschaft. Fortschr. d. Med. 1892, Nr. 7.

<sup>5)</sup> Bertschinger, Über das Vorkommen und die Bedeutung der v. Recklinghausenschen Gitterfiguren. Dieses Arch. 147, S. 341, 1897.

<sup>6)</sup> Meyer, Über Rippenbrüchigkeit bei Geisteskranken. Arch. f. Psych. XXIX, S. 850, 1897.

Den Anregungen des Herrn Prosektor Dr. L u d w i g P i e k folgend, habe ich diese für die grundlegende Auffassung der feineren Vorgänge im pathologischen Knochen prinzipiell wichtige Frage zum Gegenstand eingehender Studien gemacht. Einen außerordentlichen, kaum hoch genug anzuschlagenden Vorsprung vor den früheren Untersuchern hatte ich durch die Möglichkeit der Anwendung des Gefriermikrotoms, das mir gestattete, gerade von dem in Frage stehenden Knochenmaterial direkt in frischem oder in gehärtetem Zustande oder auch nach unvollkommener Entkalkung durch Müller'sche Flüssigkeit glatte, rißfreie Schnitte bis herunter zu  $20\text{ }\mu$  anzufertigen. Weiter fand ich, daß auch Zelloidinschnitte der verschiedenen Knochen nach der Entfernung des Zelloidins durch Alkoholäther zur Herstellung der Luftfüllung vorzüglich geeignet sind; es gilt dies ganz besonders für die unvollkommen entkalkten Stücke. Ja ich fand, daß auch vollkommen mit Salpetersäure — nach S c h a f f e r — entkalkte Schnitte bei geeigneter Technik sehr gut zur Luftfüllung brauchbar sind, was von v. R e c k l i n g h a u s e n vollkommen in Abrede gestellt wurde. Auf diese Weise stand mir ein fast unbegrenztes Untersuchungsmaterial zur direkten und vergleichenden Untersuchung zur Verfügung.

Wenn ich auch keineswegs behaupten will, daß das bisher Festgestellte das Gebiet der in Rede stehenden Fragen vollkommen erschöpft, wenn ich im Gegenteil hier und da Punkte berühren muß, die wiederum eine weitere Verfolgung verdienten, so glaube ich doch sagen zu dürfen, daß wir in den wesentlichen Punkten zur Klarheit gekommen sind, daß wir, wie ich glaube, das Wesen der optischen Phänomene aufzudecken vermögen.

Dementsprechend glaube ich auch, von der diagnostischen Bedeutung der Gitterfiguren eine besser begründete Vorstellung gewonnen zu haben, die allerdings von den bisher gültigen Anschauungen in den Hauptpunkten abweicht.

Als wesentliches Ergebnis der folgenden Untersuchungen möchte ich bezeichnen, daß wir die Annahme einer diagnostischen Bedeutung der Gitterfiguren im Sinne halisteretischer Prozesse als unzutreffend ablehnen mußten, und daß wir die von v. Recklinghausen und seiner Schule vertretene Auffassung des osteomalazischen

Prozesses überhaupt in den wesentlichen Punkten als nicht haltbar erweisen konnten.

Wenn wir den begreiflichen Wunsch haben, daß in diesen prinzipiellen Dingen einmal Klarheit auf Grund einer einheitlichen Anschauung geschaffen werden möchte, so sei es mir gestattet, eine ausführliche Darlegung der ganzen Verhältnisse zu geben und eine genaue Angabe der Befunde zu machen, die uns zu der angegebenen Stellungnahme veranlaßten.

### I. Die bisher über die Gitterfiguren bekannten Tatsachen und deren Deutung.

#### 1. Die Lehre der v. Recklinghausenschen Schule: Die Gitterfiguren als Ausdruck eines regressiven Vorganges.

Den Anlaß zu den betreffenden Untersuchungen boten gewisse optische Unterschiede in dem Aussehen der Knochenkörperchen der kalklosen Säume und der kalkhaltigen Substanz — Unterschiede, auf die übrigens schon vorher von P o m m e r eingehend hingewiesen worden war. Sie erweckten in v. Recklinghausen die Vermutung, daß in den Säumen ein S c h w u n d von Knochenkörperchen erfolge. Um dieser Vermutung weiter nachzugehen, war es sein Bestreben, „alle Höhlen und Kanälchen der Knochensubstanz bis in die feinsten Verzweigungen hinein kenntlich zu machen“. Hierzu diente ihm zunächst die von der normalen Anatomie her bekannte Luftfüllung der Knochenkörperchen, und in zweiter Linie benutzte er chemisch freiwerdende Kohlensäure zur Füllung der Hohlräume. Über die Einzelheiten der Methodik werde ich später kurz zu sprechen haben. Bei gelungener Gasfüllung konnte nun v. Recklinghausen an dem Verhalten der Knochenkörperchen (samt Ausläufer) im kalkhaltigen Knochen einerseits und im kalklosen Knochengewebe andererseits Unterschiede feststellen. „Ist die Füllung gelungen, so überzeugt man sich leicht, daß die vollständig kalklose Zone gänzlich freibleibt. In ihr sind die Leiber der Knochenkörperchen noch zu erkennen, wenn auch oft verblaßt.“ Dies erklärt sich v. Recklinghausen so, daß „die Kohlensäure in sie auch von ihren Nachbarn her nicht eindringt, trotzdem gerade diese besonders stark gefüllt und äußerst kräftig sind“. Er hat den Eindruck, daß „die Knochenkörperchen schließlich schwinden und damit die kalklose Zone zu einer ganz hyalinen Substanz werden kann, indem die Überreste der alten Knochensubstanz miteinander verschmelzen.“

Als neues, bisher unbekanntes Phänomen fand nun v. Recklinghausen bei gleicher Behandlung der Präparate die Gasfüllung von Räumen, die neben den Knochenkörperchen existieren mußten. Diese Räume mußten nach dem Bilde, das die Gasfüllung ergab, feinste Spalträume darstellen, da die Bilder sich im großen und ganzen aus feinsten Strichen zusammensetzten. Und da diese Striche vielfach sich kreuzten, bezeichnete v. Reckling-

h a u s e n die gefundenen Bilder als „Gitterfiguren“. Über die Einzelheiten der Morphologie dieser Gitter verweise ich auf die Originalarbeit.

Über das Auftreten der Gitter gibt v. Recklinghausen an, daß sie ganz vorzugsweise an der Grenze des kalklosen Gewebes gegen das kalkhaltige gelegen sind, also an der Stelle, die der körnig-krümeligen Grenzzone Pommers entspricht. „Wo kalklose Säume deutlich hervortreten, kann man am sichersten auf das Erscheinen von Gittern rechnen.“ Ganz besonders aber hebt v. Recklinghausen hervor, daß „die Gitter nur die Grenze dieser kalklosen Säume erreichen, jedoch regelmäßig das kalklose Gebiet nicht beschreiten; höchstens sind hier vereinzelte luftgefüllte Kanälchen oder auch federartige Figuren vorhanden“. Weiter fand v. Recklinghausen, daß sich die Gitter gerade an der Grenzlinie der Pommers-Säume gegen die kalklosen Säume am längsten hielten und hier noch lange als „kleine Schraffierungen auf bräunlichem Grunde hervortreten“. Hieraus schloß er, daß „hier die Spalträume am weitesten sind, aber auch daß sie gegen die kalklose Substanz hin abgeschlossen sind“.

Wenn aber auch die Grenzzone den bevorzugten Lokalisationsort der Gitter darstelle, so fehlen sie auch keineswegs innerhalb der kalkhaltigen Abschnitte. v. Recklinghausen beschreibt sie hier als „dunkle Streifen, welche sich aus richtigen Gitterfiguren zusammensetzen, größtenteils konzentrisch mit den Lamellen in einem Abstande von den Rändern des Bälkchens verlaufen, bald gleichmäßig breit sind, bald aus vergrößerten, nebeneinander aufgereihten Knochenkörperchen entstanden zu sein scheinen. Derartige dunkle Streifen, welche ganze Reihen von Gitterfiguren darstellen, stehen nicht nur parallel den Balkenrändern, sondern durchbrechen auch die Lamellensysteme nach der Art der perforierenden Kanäle. Andererseits treten sie auch innerhalb der Kittlinien als schalenförmige Gebilde hervor“.

Die Morphologie der Gitter ergab eine so auffallende Analogie mit der fibrillären Struktur des Knochengewebes, daß v. Recklinghausen die Spalträume unmittelbar mit den Interfibrillärräumen v. Ebners identifizierte. Es handelte sich nach ihm bei den luftgefüllten Spalträumen um „natürliche, eine Flüssigkeit enthaltende Hohlräume, welche nicht erst durch Zerstörung oder künstliche Auflösung fester Fasern erzeugt worden sind, welche also, nach ihrem ganzen Verlauf zu urteilen, zwischen den Knochenfasern innerhalb der hier anzunehmenden Kittsubstanz gelagert erscheinen.“ Nicht recht vereinbar hiermit jedoch erscheint die weitere Angabe, daß „die Interfibrillärspalte nachweislich aus den Knochenkanälchen entstehen, indem diese ihre schlanke Gestalt und ihre glatte Kontur einbüßen, indem sie erweitert werden auf Kosten der festen Knochensubstanz“.

Alle diese Spalträume faßt v. Recklinghausen als intra vitam im fertigen Knochen neu gebildet auf und erblickt in ihrer Entstehung einen regressiven Vorgang. „Es ist ersichtlich, daß die hier geschilderten Zustände inmitten des alten fertigen Knochengewebes beginnen mit einer Bildung von Kanälen und Spalten auf Kosten der festen Grundsubstanz,

also mit einem Schwund derselben, zunächst desjenigen Bestandteils, welcher die Kittsubstanz zwischen den Knochenfasern darstellt. Später können die Fasern selbst zerstückelt, in Körner zerlegt werden, aber ebenso kann auch eine allmähliche Abschmelzung des kalklosen Knochenknorpels erfolgen, Schicht für Schicht, ohne daß derselbe krümelig würde. Denkbar ist es sogar, daß die Fasern des Knochenknorpels, selbst ihre Stücke zu der homogenen Masse, als welche die osteomalazischen Zonen sich darstellen, zusammenbacken, indem in ihr gleichzeitig alle alten Kanäle und neue Spalten schwinden. Berücksichtigt man die außerordentliche Feinheit der jüngsten Interfibrillärspalten, den ferneren Umstand, daß die Knochenzelle auch da, wo die Gitterfigur recht im Leib des Knochenkörperchens ihren Sammelpunkt findet, schwer nachzuweisen ist, also sicherlich in keinen aktiven Zustand der Zellteilung usw. geraten ist, bedenkt man ferner das anfängliche Fehlen solcher Öffnungen gegen die Markräume hin, welche den Zelleintritt von dieser Seite her ermöglichen, so muß man in dem ganzen Vorgang sicherlich eine chemische Auflösung mittels des durchströmenden Gewebssafes sehen. Da diese Einschmelzung inmitten des kalkhaltigen Knochens undenkbar ist, ohne daß von Anfang an die Kalksalze mit der Kittsubstanz gleichzeitig gelöst werden, so können wir logischerweise nicht umhin, anzunehmen, daß hierbei die noch eine längere Zeit fest und sichtbar bleibende Zone kalkloser Knochensubstanz nicht verflüssigt wird, wenn nicht etwa das Knochenmark seine Pioniere zum lakunären Abbau gegen diesen Knochenknorpel aussendet.“

Aber sogar den Anfang größerer Veränderungen erblickt v. Recklinghausen in diesen Spalträumen. Einmal sollen durch Häufung der feinen interfibrillären Spalträume (durch vorschreitende Einschmelzung der Grundsubstanz) „förmliche interlamelläre Spalten“ entstehen, die, wenn sie die kalklosen Lamellen eines Haverschen Systems ringförmig umgeben, diese völlig von der knöchernen Umgebung trennen können. In gewissem Umfange möchte v. Recklinghausen solchen größeren Spalten der Nutrition dienende Funktionen zuschreiben. „Lieg es doch nicht fern, die gittrigen Interfibrillärspalten, da sie die erweiterten alten Knochenkanälchen, die Saftkanälchen des Knochens mit einschließen, als Saft- und die durch ihren Zusammenfluß entstandenen längeren Straßen als Lymphspalten des Knochengewebes zu betrachten.“

Weiter aber glaubt v. Recklinghausen, daß schließlich diese Spalten Markzellen und Gefäße eintreten lassen und so zu Volkmanischen Gefäßkanälen oder auch zu Resorptionsräumen sich umwandeln.

Nach allem erblickt v. Recklinghausen in dem Auftreten der Gitterfiguren „ein Wahrzeichen der Einschmelzung.“

Da nun aber von ihm ausdrücklich angegeben wurde, daß die gleichen Figuren auch am rachitischen und am normalen, besonders am wachsenden Knochen gefunden werden, mußte v. Recklinghausen in richtiger Konsequenz auch hier das Vorkommen einer halisterischen Einschmelzung unter Spaltraumbildung als vorhanden nahe legen.

Von Apolant, einem Schüler v. Recklinghausens, wurden die Phänomene der Gasfüllung im einzelnen weiter verfolgt. Die Hauptidee

v. Recklinghausen kommt in seinen Ausführungen noch schärfer zum Ausdruck; er spricht es deutlich aus, daß „die unter pathologischen Verhältnissen auftretenden Gitter ganz vorzugsweise als Ausdruck einer Entkalkung angesehen werden müssen“. Nach ihm handelt es sich „sowohl bei der Auffaserung des hyalinen Knorpels, wie bei der Gitterbildung im Knochen um eine Zerlegung der Grundsubstanz in ihre elementaren Bestandteile, in die Fibrillen“, und er nimmt an, daß an der Grenze des kalklosen Anteils gegen den kalkhaltigen Knochen (in der körnig-krümeligen Grenzzone Pommers) „neben einer Einschmelzung der zwischen den Fibrillen liegenden Substanz auch ein Untergang der Fibrillen selbst zustande kommt“.

Die durch die Gasfüllung nachgewiesenen Räume teilt Apolant in zwei Gruppen:

1. solche, die durch Erweiterung präformierter Höhlen und Kanäle entstehen;

2. solche, die wirkliche Neubildung von Kanälen darstellen.

An erster Stelle beschreibt Apolant Erweiterungen von Knochenhöhlen und ihren Ausläufern, die schließlich zu einem Zusammenfluß derselben führen; er bildet große gasgefüllte Räume ab, die noch vielfach ihre Entstehung aus zusammengetretenen erweiterten Knochenhöhlen anzeigen sollen. Apolant beruft sich im Zusammenhang hiermit auf die von Lossen, Sоловьевschick u. a. beschriebenen Bilder, bei denen die einfache mikroskopische Untersuchung eine Erweiterung vorhandener Knochenhöhlen und ihren Zusammenfluß zu Gefäßkanälen nachgewiesen haben soll. Schon neben diesen Erweiterungen soll nun auch eine Neubildung feinster Kanäle in der unmittelbaren Umgebung solcher Knochenhöhlen entstehen können, wofür Apolant ebenfalls Abbildungen gibt. Unabhängig aber von ihnen sollen solche Neubildungen an anderen Stellen in dichtgedrängter Anordnung entstehen, deren Ausdruck bei Gasfüllung die typischen Gitterfiguren sind. Apolant beschreibt zwei Arten von Gitterfiguren — auf alle diese Einzelheiten komme ich später noch zurück —: die einen, die innerhalb des kalkhaltigen Knochengewebes liegen und sich oft über eine größere Fläche ausdehnen, sind zarter und durchsichtiger; sie bestehen „aus kleinen Strichelchen und machen oft bei flüchtiger Betrachtung den Eindruck von „oberflächlichen Kratzeffekten“. Von ihnen gibt die Fig. 8, Taf. X der Arbeit Apolants eine Vorstellung. Ich will sie Gitter I nennen (vgl. meine Fig. 7, Taf. X). Dies müssen auch wohl die Gitter gewesen sein, die der bei v. Recklinghausen gegebenen halbschematischen Zeichnung zugrunde gelegen haben.

Die andern sind im Gegensatz hierzu so dicht gedrängt, und die sie zusammensetzenden Linien so tiefschwarz, daß ihre Zusammensetzung zunächst schwer zu erkennen ist; erst beim Abblasen erkennt man hier und da das Gewirr der sich regelmäßig durchkreuzenden scharfen Linien. Das sind die Gitter, die ganz vornehmlich der körnig-krümeligen Grenzzone angehören, und die auch von v. Recklinghausen im Text eingehend

beschrieben wurden. Ich will sie als Gitter II bezeichnen (vgl. meine Figg. 4 und 7, Taf. X).

Wie v. Recklinghausen, gibt auch Apolant an, daß diese Gitterfiguren auf die Pommern-Zone beschränkt seien und besonders nicht in die kalklosen Säume hineinreichen. Er glaubt auch, einen sicheren Beweis erbringen zu können, daß die Annahme v. Recklinghausen's zutrifft, daß nämlich die Gitterfiguren in der Pommern-Zone einer partiellen Entkalkung ihre Entstehung verdanken müßten. Dies in dem Sinne, daß in diesem Bezirk durch die partielle Entkalkung an vielen Stellen, wo vorher Kalk gewesen war, Flüssigkeit getreten sei, die dann durch das Gas verdrängt wurde, während an anderen Stellen der noch vorhandene Kalk für die „Versteifung der Interfibrillärräume sorge“; andererseits sollte am völlig entkalkten Saum durch das Fehlen jeden Kalks ein Zusammensinken resp. ein Zusammenbacken der Fibrillen zustande kommen, wodurch eine Injektion zwischen ihnen gelegener Spalträume nicht möglich sei. Diesen Beweis glaubte Apolant dadurch erbringen zu können, daß er ähnliche Symptome, nämlich Erweiterung präformierter Höhlen und Neubildungen von gasfüllbaren Spalträumen auch im normalen Knochen feststellen zu können glaubte, wenn er ihn mit v. Ebnerschem Gemisch unvollkommen entkalkte. Er benutzte hierzu Knochen *schliffe*, die er nach Austrocknung in hartem Balsan einschloß. Apolant ging von der folgenden Voraussetzung aus: „Wenn dem Schliff so viel Kalk entzogen ist, daß seine Steifigkeit darunter nicht gelitten hat, daß also das Gewebe nicht zusammenbackt, so müssen an Stelle derjenigen Partien, an denen vorher Kalk gewesen ist, Räume entstehen, die sich nunmehr mit Luft füllen.“ Es müßten dann also ähnliche Bilder entstehen wie in der Pommern-Zone des osteomalazischen Knochens. Diese Voraussetzung schien sich zu erfüllen.

Zunächst sah Apolant bei unvollkommener Entkalkung „die Kanälchen und Höhlen in auffälliger Plumpheit; die Querschnitte der Kanälchen erscheinen als recht erhebliche Löcher“. Je länger die Entkalkung dauerte, desto reichlicher wurden diese Bilder. „Werden nun diese Räume allseitig erweitert, so sind derartige Bilder von den bei Osteomalazie vorkommenden Gittern kaum zu unterscheiden.“ Und weiter: Apolant fand, daß „neben diesen einfachen Erweiterungen in hervorragendem Grade durch die Entkalkung Figuren erzeugt werden konnten, die mit den präformierten Kanälen absolut nichts zu tun haben, sondern frei im Gewebe entstehen und in direkteste Analogie mit den richtigen Gittern gebracht werden können“. „Bei noch stärkerer Entkalkung entsteht über ausgedehnte Flächen gleichmäßige Körnung, die sich bei stärkerer Vergrößerung als dichteste Kanalinjektion erweist.“ Und wenn schließlich Apolant bei der weiteren Entkalkung unter Anwendung der Luftfüllung „neben der dichtesten Injektion, die kaum noch Details erkennen ließ, völlig hyaline Massen fand, bei denen so gut wie keine Injektion mehr zu beobachten war“, so glaubte er, daß in diesen hyalinen Partien die Entkalkung vollkommen erfolgt sein mußte, und daß hier, gerade wie in den osteoiden Säumen, die Verbackung der Fibrillen

erfolgt war, die eine Injektion der interfibrillären Räume nicht mehr zuließ.

So schien auch der experimentelle Nachweis für die von v. Recklinghausen angenommene Natur der Gitterfiguren erbracht zu sein.

Dieser Anschauung ist v. Recklinghausen und seine Schule<sup>1)</sup> meines Wissens bis zum heutigen Tage treu geblieben; auf die weiteren Angaben feinerer Details, die von v. Recklinghausen<sup>2)</sup> noch vor wenigen Jahren gemacht wurden, will ich hier nicht eingehen, weil sie die folgenden Ausführungen nicht zu beeinflussen vermögen.

## 2. Die Lehre Hanau: Die Gitter als Zeichen einer unvollkommenen Verkalkung neugebildeten Knochengewebes.

Die Ausführungen Hanau gründeten sich zunächst auf die Befunde, die er an den teilweise kalklosen Osteophyten des Schädeldaches von normalen Puerperis und an den übrigen Knochen desselben Materials machte, an denen sich ebenfalls unverkalkte Anteile in reicher Verbreitung vorhanden. Hier, wo insbesondere das gefundene geflechtartig geordnete Knochengewebe mit Bestimmtheit annehmen ließ, daß der vorhandene kalklose Anteil neugebildetes unverkalktes Knochengewebe darstellte, fand Hanau überall an den Stellen der beginnenden Verkalkung (Pommer-Zone) des geflechtartig geordneten Knochens die ausgedehntesten Gitterfiguren; und genau so auch an der Pommer-Zone der kalklosen lamellösen Säume des gleichen Materials. Hieraus glaubte Hanau schließen zu dürfen, daß die Gitterfiguren keineswegs eine partielle Entkalkung beweisen könnten, sondern daß sie einzig und allein einen unvollkommenen Kalkgehalt bewiesen, der ebensogut durch eine unvollkommene Verkalkung hervorgerufen werden konnte. Seine Anschauungen ließ Hanau später durch seinen Schüler Bertschinger weiter ausführen, dem wir eine ausgezeichnete Arbeit über diesen Gegenstand verdanken.

Bertschinger wies zunächst darauf hin, daß die Deutung der weiten gasgefüllten Knochenkörperchen, wie A polant sie beschrieben hatte, als erweiterte Knochenhöhlen ebensowenig zwingend sei, wie die gleichen Angaben Lossens und Solowetschicks, weil nicht hinlänglich ausgeschlossen werden konnte, ob es sich nicht bei diesen Knochenhöhlen um die stets weiten Knochenhöhlen geflechtartig geordneten Knochengewebes handle. Weiter wies Bertschinger darauf hin, daß die im Innern des kalkhaltigen Knochens auftretenden Gitterfiguren leicht dadurch verständlich werden könnten, daß es sich um Tangential-schnitte unterhalb oder oberhalb der Schnittebene liegender kalkloser Säume oder richtiger deren körnig-krümeliger Grenzzone handeln könnte. Und

<sup>1)</sup> Vgl. M. B. Schmid, Allg. Pathologie und patholog. Anatomie der Knochen. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse 4. Jahrg. 1898 S. 531.

<sup>2)</sup> v. Recklinghausen, Thioninfärbung am rachitischen Knochen. Verhandl. der Deutschen Patholog. Gesellschaft 1901.

auch wenn dies nicht zuträfe, wäre das Vorkommen unvollkommen kalkhaltiger Bezirke im kalkhaltigen Knochenanteil nach den Untersuchungen P o m m e r s viel eher als eine ungleichmäßige Verkalkung denn als Zeichen der Entkalkung aufzufassen. Gerade das Auftreten solcher Stellen m i t t e n im kalkhaltigen Knochengewebe bereite der Vorstellung der Entkalkung eine große Schwierigkeit. Denn wie könnte die entkalkende Flüssigkeit, die vom Knochenmark her, von den Säumenandrängt, gerade die Mitte angreifen, während sie die zunächst liegenden Teile intakt läßt?

Die Richtigkeit der Befunde A p o l a n t s bei seinen Entkalkungsversuchen wird von B e r t s c h i n g e r in keiner Weise bestritten. Wohl aber weist er mit voller Berechtigung darauf hin, daß diese Versuche nur die Möglichkeit beweisen, daß die Gitter auch auf dem Wege der Entkalkung entstehen können, nicht im geringsten aber die N o t w e n d i g k e i t, daß sie unter natürlichen Verhältnissen dieser und keiner anderen Ursache ihre Entstehung verdanken müssten.

Die eigenen Untersuchungen B e r t s c h i n g e r s erstrecken sich auf weitere Fälle von physiologischer Osteomalazie von Puerperis, auf Fälle von Rachitis, auf Kallusteile, fötalen Knochen u. a. m. Bei der Darstellung der Gitterfiguren, die nach der Austrocknungsmethode (Näheres später) erfolgte, fand B e r t s c h i n g e r eine außerordentlich reiche Entwicklung der Gitter, eine viel reichere, als sie von v. R e c k l i n g h a u s e n angenommen wurde. Die Untersuchungen ergaben unterschiedslos, daß „sich in sämtlichen nach der Austrocknungsmethode angefertigten Präparaten, welche kalklosen oder unvollkommen kalkhaltigen Knochen enthielten, auch typische Gitterfiguren nachweisen ließen“.

Nach den Angaben B e r t s c h i n g e r s war die Lage dieser Gitter die Grenze des kalklosen Knochens gegen den kalkhaltigen, also die Zone des unvollkommen kalkhaltigen Knochens ( P o m m e r - Zone). Da nun bei dem größten Teil des untersuchten Materials nichts für das Vorhandensein von Entkalkungsprozessen spräche (geflechtartig geordnetes Knochengewebe des puerperalen Osteophyts! Kallus! wachsender Knochen!), so müsse das Auftreten der Gitterfiguren in diesen Fällen einzig und allein als ein Zeichen einer u n v o l l k o m m e n e n V e r k a l k u n g aufzufassen sein. B e r t s c h i n g e r schloß, daß „die Gitterfiguren wohl fast stets gerade im Knochengewebe vorkommen, welches, neugebildet, seinen mangelhaften Kalkgehalt lediglich einer unvollkommenen Verkalkung verdankt“. Objektiv betrachtet, seien sie nichts weiter als „ein Kriterium einer oder mehrerer Formen des u n v o l l k o m m e n e n K a l k g e h a l t s des Knoch e n g e w e b e s“. Und hieraus ergebe sich als weitere Folge, daß „die Gitterfiguren im besonderen auch nicht als Beweismittel für das Zustandekommen einer Kalkberaubung bei Osteomalazie oder bei Knochengeschwüren zu verwenden sind“. Nach alledem gelangten H a n a u - B e r t s c h i n g e r in Übereinstimmung mit der Auffassung, die P o m m e r in seiner klassischen Arbeit niedergelegt hatte, zu einer A b l e h n u n g h a l i s t e r i s c h e r P r o z e s s e im osteomalazischen Knochen überhaupt.

### 3. Die gegenwärtige Beurteilung der Streitfrage.

Sieht man die Literatur daraufhin durch, welche von beiden Anschauungen bei maßgebenden Untersuchern Unterstützung findet, so erkennt man, daß bis zum heutigen Tage eine Einigung nicht erzielt worden ist.

In den Untersuchungen, die E. Meyer unter Orth 1897 an den Rippen von Geisteskranken anstellte, folgte er in der Technik und in der Deutung der Befunde durchaus den von v. Recklinghausen gezogenen Bahnens. Auch er untersuchte ausgebrochene Spongiosabalken, und die beigegebenen Abbildungen zeigen deutlich, wie wenig charakteristisch die schwarzen dicken Massen im Innern des kalkhaltigen Knochens bei dieser Technik sind. Von Interesse ist, wie ich nebenbei bemerken möchte, daß Meyer diese Bilder ebenso im Innern des kalkhaltigen Knochengewebes fand, wenn der untersuchte Knochen osteomalazisch oder wenn er nicht osteomalazisch war.

Aber auch in den Veröffentlichungen der letzten Zeit findet sich eine durchaus getrennte Stellungnahme der Autoren.

Während Schmohl sich z. B. auf Grund eigener Erfahrungen den Standpunkt Hanau zu eigen macht, während Orth sich dahin ausspricht, daß die von v. Recklinghausen angenommene diagnostische Bedeutung der Gitterfiguren sich „leider nicht hat bestätigen lassen“, bezeichnet M. B. Schmidt die Gitterfiguren als einen Begriff, der „als das geforderte histologische Merkmal der Halisterese betrachtet werden kann“, und nimmt auch gegenüber den Ausführungen Hanau und Bertschingers für die Richtigkeit der Angaben und Deutungen v. Recklinghausens Partei. Seine Ausführungen gründen sich vor allem auf die von v. Recklinghausen gegebenen detaillierten Befunde bei der Luft- und Gasfüllung (das Fehlen der Interfibrillärräume und Knochenkörperchen in den osteoiden Säumen, der auffällig exakte Abschluß der Füllung innerhalb des kalkhaltigen Knochens gegen den kalklosen Saum hin, das Eintreten von Markzellen in die Spalträume u. a. m.). Den Befunden Hanau-Bertschingers an den Schädelosteophyten normaler Puerperis hält er die Möglichkeit entgegen, daß es sich hier schon wieder um Rückbildungsvorgänge handle, die ebenfalls wieder unter dem Bilde der halisteretischen Einschmelzung vor sich gingen. Er zieht als Stütze für diese Annahme die Tatsache heran, daß Hanau nur selten Osteoblasten auf den Säumen antraf.

Ebenso schließt sich Ziegler und Ribbert der Auffassung v. Recklinghausens an. Und auch Kaufmann, was ich ganz besonders hervorheben möchte, folgt bei der Darstellung dieser Verhältnisse in der neuesten Ausgabe seines Lehrbuchs in allen Beziehungen den Angaben und der ganzen Lehre v. Recklinghausens. Ebenso wird auch in den neuesten Angaben der Lehrbücher der Allgemeinen Chirurgie (z. B. Lexer, 3. Aufl. 1908) und in dem kürzlich gegebenen Sammelreferat von Zesas<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Zesas, Die neueren Forschungen auf dem Gebiete der Osteomalazie. Zentralblatt f. d. Grenzgebiete. 1907. Nr. 21—23.

der Standpunkt v. Recklinghausen zur Grundlage der Ausführungen genommen; und nur in der schönen zusammenfassenden Arbeit Loosers<sup>1)</sup> ist in neuester Zeit der Lehre Hanau ein Verteidiger entstanden.

Nach alledem dürfte es wünschenswert erscheinen, durch eine nochmalige genaue Nachprüfung aus dem Zwiespalt heraus zu einer sicher gestützten, einheitlichen Auffassung der Dinge zu gelangen.

#### 4. Die bisher geübte Untersuchungstechnik.

Als Untersuchungsmaterial wurden von v. Recklinghausen, wie schon erwähnt, ausschließlich ausgebrochene Spongiosabalken und Schnitte benutzt, die mit scharfem starkem Messer aus freier Hand geschnitten wurden. Sehr häufig erfolgt hierbei eine Aufrollung der Schnitte nach Art der Hobelröhne, und sie enthalten dann Sprünge und Risse. Doch gibt v. Recklinghausen an, daß man „diese von den natürlichen Spalträumen bald unterscheiden lerne“.

Das gleiche Material benutzte A polant; doch fügte er für seine Entkalkungsversuche noch feine Schritte hinzu. Das gleiche Material benutzten ferner auch E. Meyer, Ribbert und Berthling. Wenn Berthling auch seine diesbezügliche Technik nicht genauer angibt, so zeigt doch die Tatsache, daß er von der „Notwendigkeit, die Schnitte aus freier Hand anzulegen“, spricht, deutlich an, daß er mit dem gleichen Material gearbeitet haben muß.

Zur Kenntlichmachung der feinen Räume des Knochengewebes gab v. Recklinghausen zwei Methoden an:

1. Methode der Luftfüllung: Behandlung mit absolutem Alkohol; darauf mit Äther oder Chloroform; hierauf flüchtiges Antrocknen der Schnitte auf dem Objektträger und endlich Bettung in Glyzerin oder in Knochenöl oder in dickflüssigem Wasserglas.

2. Methode der Kohlensäurefüllung: Die Kohlensäurefüllung sollte schon erfolgen durch einfache Einbettung der Schnitte aus Wasser in Glyzerin. Da hierbei oft die Knochenkörperchen und Ausläufer schwarz auf hellem Grunde hervortreten, nahm v. Recklinghausen an, daß „Kohlensäure aus dem Gewebsaft des Knochens als absorbierte oder auch aus der Knochengrundsubstanz als locker gebundene, durch das Glyzerin freigemacht werde“. Reichlicher erfolgte die Kohlensäurefüllung durch Behandlung der Schnitte mit starker Alaunlösung. „Vollkommen genügt schon ein minutenlanges bis einviertelstündiges Eintauchen in eine starke, namentlich stark alaunhaltige Lösung von Alaunkarmin. Nachweislich besteht der Effekt dieses Verfahrens darin, daß alle Kanälchen mit Kohlensäuregas gefüllt werden, wesentlich mit demjenigen, welches durch den säureartig wirkenden Alaun, bezüglich auch schon durch saures Glyzerin aus dem kohlensauren Kalk des Knochengewebes freigemacht wird.“ Später wurde von v. Reckling-

<sup>1)</sup> Loosser, Über Spätrachitis und die Beziehungen zwischen Rachitis und Osteomalazie. Mitteilungen aus d. Grenzgebieten. XVIII. S. 678. 1908.

h a u s e n die Kohlensäurefüllung mit Vorliebe dadurch erzielt, daß der Schnitt einige Zeit abwechselnd in starke Alaun- und Natrium bicarbonicum-Lösung gelegt und im Zustande der vollsten Injektion in Glyzerin eingebettet wurde.

Die gleichen Methoden benutzte A p o l a n t, nur fügte er als Modifikation der ersten die Einbettung in alten harten Kanadabalsam zu, wie sie von v. E b n e r nach dem Vorgange von K r u k e n b e r g zum Studium der feineren Knochenhistologie verwendet worden war. Das Verfahren besteht darin, daß man zu dem ausgetrockneten Schnitt einige Bröckel völlig harten Balsams zusetzt, das Deckglas aufsetzt und nun unter Erwärmung und leichtem Druck das Eindringen des weichwerdenden Balsams in den Knochen bewirkt, wobei die Luft allmählich herausgetrieben wird. Nach A p o l a n t gibt diese Methode die vollständigste Luftfüllung; doch wird von ihm als Schattenseite angegeben, daß das Verfahren umständlicher sei, daß die dicken Schnitte oft nicht durchsichtig seien, und daß künstliche Risse in derselben Vollkommenheit injiziert würden, wodurch die Untersuchung sehr erschwert werde. Der letzte Punkt gerade ergebe einen besonderen Vorteil der Alaunmethode, die auch sonst einfach sei und überzeugende Bilder liefe. Auch die einfache Glyzerinmethode wurde von A p o l a n t benutzt; ihre Wirkung führte er, wie v. R e c k l i n g h a u s e n, auf die Entstehung von Kohlensäure zurück. Aber gerade für die Entkalkungsversuche benutzte er ausschließlich die Kanadabalsammethode — ein Punkt, der für die spätere Erklärung der von ihm angegebenen Befunde wichtig ist.

Aus demselben Grunde ist es auch von Bedeutung, daß B e r t s c h i n g e r die von ihm beschriebenen und gezeichneten Bilder nur unter Benutzung der Methode I (Luftmethode) erhielt; er benutzte als Einbettungsmaterial teilweise Glyzerin, besonders aber dicken Syrup. Alle anderen Methoden, so auch die Kanadabalsammethode (K r u k e n b e r g), wurden nur versuchsweise angewandt.

Von den übrigen Autoren (E. M e y e r, R i b b e r t u. a.) wurden die Methoden von v. R e c k l i n g h a u s e n in der angegebenen Weise benutzt und die Bilder nach den Angaben v. R e c k l i n g h a u s e n s gedeutet. Ausschließlich die Alaun-Natronmethode benutzte S c h m o r l<sup>1)</sup>, der sie auch auf Gefrierschnitte anwandte; er folgte in der Deutung der Befunde der Auffassung H a n a u s. (Den Vorschlag E. Meyers, man solle die Stücke nach der Kohlensäurefüllung direkt in Balsam bringen, habe ich in dieser Fassung nicht verstanden; Wasser und Balsam vertragen sich nicht, und durch Zwischenschaltung der Alkoholreihe geht die Kohlensäurefüllung natürlich verloren.)

## II. E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n.

### 1. U n t e r s u c h u n g s m a t e r i a l.

Nach orientierenden Untersuchungen, die nach den Angaben v. R e c k l i n g h a u s e n s an frischen herausgebrochenen Spongiosabalken und feinen

<sup>1)</sup> S c h m o r l, Über Rachitis tarda. Arch. f. klin. Medicin. 85. S. 174, 1905.

herausgestemmten Knochenlamellen, sowie an Knochenpähnen, die mit dem Skalpell abgehobelt wurden, angestellt wurden, ging ich alsbald zum Gefriermikrotom über. Es wurde reichliches Material von atrophischen und dystrophischen (rachitischen und osteomalazischen) Knochen untersucht, ferner Material von osteoplastischer Karzinose, sowie Kallus und heterotopisches, durch Periostimplantation erzeugtes Knochengewebe. Weiter wurde normaler Knochen zur vergleichenden Untersuchung herangezogen. Der Übersichtlichkeit wegen will ich den folgenden Ausführungen die Befunde an einigen besonders charakteristischen Präparaten zugrunde legen, und ferner möchte ich einige Abkürzungen einschalten, um die stete Wiederkehr bestimmter Wortgruppen zu vermeiden.

**M I (Material I): Querschnitt einer osteomalazischen Rippe** (älteres Formalinmaterial).

Der Fall, der der Privatsammlung des Herrn Dr. L. Pick entstammt stellt eine schwere puerperale Osteomalazie dar, mit allen klassischen Symptomen. An dem Querschnitt der Rippe sieht man eine dünne Kortikalis, die sich aus bunt geordneten Lamellensystemen zusammensetzt und von zahlreichen länglichen Markräumen durchsetzt ist. Die äußere Fläche ist eine Resorptionsfläche, nur an einer Kante, dem Ansatz der Ligamente entsprechend, findet sich Apposition kalklosen Knochens, aus einigen Maschen geflechtartig geordneten Knochengewebes bestehend. Das gleiche kalklose Knochengewebe findet sich auch an einigen Stellen der Markhöhle und im Innern einiger kortikaler Markräume. Die Wandung dieser Markräume besteht an den meisten Stellen aus breiten kalklosen Säumen lamellös geordneten Knochengewebes („osteomalazische Säume“); an anderen Stellen fehlt die Auflagerung kalklosen Gewebes den hier lakunär konturierten Wandungsabschnitten (Resorptionsflächen).

Dieses Material wurde teils unentkalkt verarbeitet: M I O (Original), teils nach P o m m e r in M ü l l e r scher Flüssigkeit, die zuerst täglich, später wöchentlich gewechselt wurde und im Brutschrank einwirkte, entkalkt. Die Entkalkung wurde einmal nur so weit getrieben, daß zwar dünne Schnitte erhältlich waren, aber noch deutlich der Kalk an den kalkhaltigen Partien farberisch nachweisbar war: M I P<sub>1</sub> (1. Grad der Entkalkung nach P o m m e r); ein anderes Mal wurde die Entkalkung auf diesem Wege so weit getrieben, daß durch keine Methode mehr die Anwesenheit von Kalk erkennbar war: M I P<sub>2</sub>. Ein weiteres Mal wurde nach der Methode v. E b n e r s (Salzsäure + konzentrierte Kochsalzlösung) vollkommen entkalkt: M I E.

Wieder ein anderer Teil wurde in Salpetersäure in der von S c h a f f e r angegebenen Weise (Nachbehandlung in 5 % Natrium sulfuricum-Lösung) vollkommen entkalkt: M I S.

**M II (Material II): Schnitt aus einem dicken rachitischen Schädeldach.**

Nach der Dura zu alte Kompakta, mit zahlreichen länglichen Markräumen, deren Wandungen größtenteils von breiten osteoiden Säumen bedeckt sind; Kieser Schicht auflagernd ein dichtes Knochennetz, dessen Maschen von einem dern verkalkten, geflechtartig geordneten Knochengewebes und einem Mantel

parallelfaserig resp. lamellös oder auch geflechtartig geordneten kalklosen Knochengewebes gebildet sind. Weiter nach außen ein dichtes Netzwerk völlig kalklosen, geflechtartig geordneten Knochengewebes, aus der Proliferationsschicht des Periosts hervorgehend.

Von diesen Stücken wurde das verschiedene Material in gleicher Weise gewonnen.

M III: Kallus einer *Fractura cruris* bei einem einjährigen Kinde.

Die Stücke wurden so gewählt, daß die äußeren Schichten der Kortikalis mitgenommen wurden, denen das umfangreiche, teilweise kalklose Kallusgewebe aufsitzt. Auch hier in den Markräumen allerdings schmale osteoide Randsäume.

M IV: *Sternum* eines Falles von osteoplastischer Karzinose, der in einer anderen Arbeit<sup>1)</sup> ausführlich beschrieben werden wird.

Kortikalis von erweiterten Markräumen durchzogen, in denen Karzinommassen liegen, deren radiär gestellte Septen teilweise verknöchert sind; die Verknöcherung der Septen schreitet von den Wandungen zum Zentrum vor, die zentralen Kuppen derselben sind in etwas verschiedener, im ganzen nur geringer Ausdehnung kalklos. An den Wandungen der Markräume schmalste Randsäume, die zarte Karminfärbung annehmen. In der *Spongiosa* umfangreiche Knochenneubildung, in Abhängigkeit von dem bindegewebigen Anteil des Karzinoms, das die Räume ausfüllt; auch hier immer die jüngsten Partien in geringer Ausdehnung kalklos.

Nur unvollkommen oder vollkommen entkalkte Stücke kamen hier zur Untersuchung.

M V: Heterotopisch gebildetes Knochengewebe, gewonnen durch Implantation von Periostlappen der Tibia-Vorderfläche eines Hundes in die Wadenmuskulatur desselben Hundes. Auf dem Querschnitt sieht man ein rundliches Knochenstück von der Größe des Durchschnitts einer kleinen Erbse; es besteht aus einem dichten Netz verkalkten, geflechtartig geordneten Knochengewebes, das ringsum von wucherndem Periost umgeben ist. Nur ein sehr schmaler Saum unter der Wucherungsschicht des Periostes und die zartesten Randsäume der Maschen sind kalklos.

M VI: Normale Humerus- und Femurrinde eines 12 jährigen Mädchens.

Hier von kamen nur vollkommen entkalkte Stücke zur Untersuchung.

## 2. Untersuchungstechnik.

Von diesem Material wurden entweder Gefrierschnitte angelegt: G-Schnitte; oder Zelloidin-Schnitte, die weiterhin von Zelloidin durch Behandlung mit Alkoholäther befreit wurden: C-Schnitte.

<sup>1)</sup> A. xhausen, Histologische Studien über den Knochenumbau im osteoplastischen Karzinom. Dieses Archiv (im Druck).

So würde z. B. ein M I P<sub>2</sub> C-Schnitt einen von Zelloidin befreiten Zelloidinschnitt eines osteomalazischen Rippenstücks darstellen, das durch Müllersche Flüssigkeit vollkommen entkalkt wurde.

Es wurden zu den folgenden Untersuchungen nur dünne rißfreie Schnitte benutzt, die von geeigneten O-Präparaten (M I, M II äußerer Teil, M III) bis herunter zu 20  $\mu$  mit dem Gefriermikrotom angelegt werden konnten; von P<sub>1</sub>-Präparaten gelang es mühelos, G-Schnitte und C-Schnitte bis zu 15  $\mu$  anzu fertigen; das P<sub>2</sub>-, E- und S-Material machte natürlich überhaupt keine Schwierigkeiten.

An den Schnitten wurden die von v. Recklinghausen angegebenen Methoden zur Kohlensäure- resp. Luftfüllung, soweit wie irgend möglich, an allen verschiedenen Bereitungen jedes einzelnen Materials angewandt; ich bezeichne in abgekürzter Form die Methoden der Kohlensäurefüllung (K-Methoden):

K Gl<sub>1</sub>: Einfaches Einbetten des Schnittes aus Wasser in Glyzerin.

K Gl<sub>2</sub>: Behandlung mit konzentrierter Alaunlösung resp. mit stark alaunhaltigem Alaunkarmin; dann Einbetten in Glyzerin.

K Gl<sub>3</sub>: Abwechselndes Eintauchen in starke Alaun- und Natrium bicarbonicum-Lösung; Einbetten in Glyzerin.

In allen Fällen wurde in vergleichenden Präparaten statt Glyzerin dick eingedampfte Zuckerlösung benutzt; ich bezeichne dieses Verfahren als: K Z<sub>1</sub>, K Z<sub>2</sub>, K Z<sub>3</sub>.

Als Methoden der Luftfüllung benutzte ich die folgenden:

L Gl: Austrocknen der Schnitte durch Alkohol-Chloroform, Untersuchung in Glyzerin.

L Z: Austrocknen der Schnitte durch Alkohol-Chloroform, Untersuchung in dicker Zuckerlösung.

L B: Austrocknen der Schnitte durch Alkohol-Chloroform, Einschluß in harten Kanadabalsam nach Kruckenberg.

Über die Anwendbarkeit dieser Methoden für dünne G- und C-Schnitte ist das Folgende zu sagen:

A. Kohlensäuremethoden:

a) Methode K Gl<sub>1</sub>.

Schon lange war es bekannt, daß das Einlegen feuchter Knochenschliffe oder Knochenstücke in Glyzerin die Knochenkörperchen und Ausläufer deutlich sichtbar mache. v. Recklinghausen erinnert an die diesbezüglichen Angaben Klebss, die diesen Forscher veranlaßten, mit einer Luftfüllung dieser Hohlräume intra vitam zu rechnen, analog den luftgefüllten Röhrenknochen der Vögel. Auch v. Recklinghausen glaubt dieses Phänomen nur durch eine Gasfüllung dieser Hohlräume erklären zu können. Er nimmt an (vgl. oben), daß das Glyzerin entweder die locker gebundene Kohlensäure aus den Gewebssäften befreie, oder daß es aus dem Kalk des Knochens Kohlensäure in Freiheit setze.

Gelegentlich einer Unterredung mit Herrn Dr. Arndt (zurzeit Assistenzarzt der chirurg. Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses) wurde mir,

und zwar noch vor Beginn der vorliegenden Arbeit, von ihm an dünnen Knochenschnitten, die mit Hilfe der von ihm angegebenen Doppelsäge<sup>1)</sup> angelegt worden waren, demonstriert, wie jedesmal, wenn die Schnitte aus Wasser, in dem sie einige Minuten liegen mußten, in Glyzerin gelegt wurden, die Kanälchen des Schnittes sofort auf das schönste kenntlich wurden. Sie verblaßten dann allmählich, ohne daß Luftblasen hierbei auftraten. Dies führte ihn zu der Annahme, daß das optische Hervortreten der Kanälchen nicht einer Luftfüllung seine Entstehung verdankt, sondern Lichtbrechungsverschiedenheiten zwischen dem Wasser, das zunächst noch die feinen Kanälchen ausfüllte, und der darüber befindlichen Glyzerinschicht. Erst mit vollendeter Diffusion mußte die Erscheinung verschwinden.

Es lag nahe, diesen Vorgang auch an G-Schnitten zu prüfen. Auch hier werden bei nicht zu dünnen O-Präparaten, wenn man überschüssiges Wasser entfernt und einen Tropfen Glyzerin hinzufügt, nicht immer, aber häufig hier und da gruppenweise eine Anzahl von Knochenkörperchen mit ihren Ausläufern sichtbar. Hierbei muß jedoch sofort eine Fehlerquelle ausgeschlossen werden. Wenn ich nämlich einen Gefrierschnitt aus dem Wasser auf den Objektträger bringe und das Wasser durch Aufdrücken von Fließpapier entferne, erhalte ich bei Zusatz von Glyzerin jedesmal eine sehr erhebliche Luftfüllung der Hohlräume, die dadurch bedingt ist, daß durch die Austrocknung Luft in die Hohlräume eingetreten ist, die durch das Glyzerin nicht sofort verdrängt wird (siehe später). Wenn man nun den Schnitt aus dem Wasser auflegt und das Wasser, wie man es vor dem Hinzufügen des Glyzerins tun muß, um nicht eine sofortige Vermischung zu erhalten, durch Umkippen des Objektträgers und Absaugen aus der Umgebung entfernt, so besteht die Möglichkeit, daß aus den höchsten Partien des niemals ganz glatten Schnittes bei diesen Manipulationen etwa noch vorhandenes Wasser verdunstet. So könnte auch hier eine Luftfüllung eintreten, so daß die Erscheinung weder mit der supponierten Kohlensäure-entstehung noch mit Brechungsverschiedenheiten zweier flüssiger Medien etwas zu tun hätte. Auf der anderen Seite darf man nicht erwarten, daß man stets beim Verschwinden offenkundiger Gasfüllung (Luft- oder Kohlensäure) aufsteigende Bläschen finden müßte. Auch bei sicherer Luftfüllung (Methode L G oder L Z) sieht man nicht selten Verschwinden der Füllung eines ganzen Gesichtsfeldes ohne erkennbare Blasenbildung, sei es daß die Luft von den flüssigen Medien absorbiert wird, sei es daß sie in feinster, nicht sichtbarer Form austritt und sich an Stellen abseits vom Gesichtsfeld zu größeren Blasen vereinigt. So ließ auch der Umstand, daß das Entstehen von Gasblasen nicht gesehen werden konnte, keineswegs die Existenz einer Gasfüllung ausschließen.

Nun kann man aber in der Tat auch das gleiche Bild kleiner verstreuter Bezirke schwarz sichtbarer Knochenkörperchen erhalten, wenn man auf den Objektträger einen Tropfen Glyzerin bringt und das Präparat mit der Pinzette aus dem Wasser herausnimmt und sofort auf den Tropfen legt,

<sup>1)</sup> Arndt, Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 18 u. 22.

resp. wenn man das Präparat aus dem Wasser rasch in ein Glyzerinschälchen bringt und den Schnitt sofort bei schwacher Vergrößerung im Schälchen untersucht.

Bei diesem Vorgehen dürfte wohl eine unbeabsichtigte Luftfüllung mit Sicherheit auszuschließen sein. Aber auch um eine Kohlensäurefüllung kann es sich nicht handeln:

1. weil das Sichtbarwerden stets unmittelbar erfolgt, während man doch für die Entwicklung der Kohlensäure durch Wirkung des Glyzerins eine gewisse, wenn auch kurze Zeit der Einwirkung erwarten müßte;

2. weil das Sichtbarwerden stets unmittelbar am stärksten ist und im weiteren Verlauf allmählich abnimmt, niemals aber zunimmt;

3. weil in vielen Fällen beim Abklingen der Erscheinungen im ganzen Präparat nirgends etwas von Gasblasen zu finden ist;

4. weil, wie mir von chemischer Seite bestätigt wird, das säurefreie Glyzerin puriss. der Pharmakopoe nicht die behaupteten chemischen Eigenschaften entfalten kann, und schließlich

5. weil auch eine dicke Zuckerlösung in manchen Fällen die gleichen Bilder hervorruft wie das Glyzerin.

Ich muß mich damit der Annahme Arndts anschließen, daß es bei diesem Wasserglyzerinverfahren nur die verzögerte Diffusion und der verschiedene Brechungsexponent der beiden Flüssigkeiten sein kann, der die geschilderten optischen Erscheinungen hervorruft, und nicht die Entwicklung von Kohlensäure, wie v. Recklinghausen und Apolant angenommen haben. Daß die Diffusion der beiden Flüssigkeiten bei dicken Spänen, ausgebrochenen Bälkchen und Schliffen noch mehr verzögert ist als bei dünnen Gefrierschnitten, und daß daher an jenen die optischen Bilder viel verbreiteter und länger anhaltend sein müssen, liegt auf der Hand.

Zugleich sieht man aber auch schon hier eine deutliche Abhängigkeit der Erscheinungen von dem Kalkgehalt der Knochen. Man findet nämlich, daß das Sichtbarwerden der Knochenkörperchen und ihrer Ausläufer nur im kalkhaltigen Anteil des Präparats erfolgt, und daß das Phänomen bei P<sub>2</sub>-E- und S-Präparaten nicht auftritt. Da aus dem bereits Angeführten mit Deutlichkeit hervorgeht, daß der vorhandene Kalk eine chemische Rolle für das Zustandekommen des Phänomens nicht spielen kann, muß man schließen, daß es physikalische Eigenschaften sein müssen, die dieses Phänomen auf den kalkhaltigen Knochen beschränken, wahrscheinlich wohl so, daß die Kalkeinlagerung in der Form der Kanälchen oder in der Beschaffenheit ihrer Wandungen gewisse Veränderungen hervorbringt, die das Zustandekommen der Diffusion in den Kanälchen hinausschiebt. Dazu kommt, daß, wie wir später sehen werden, für Knochenkörperchen im kalklosen Knochengewebe besonders reichliche Abzugskanäle für gasige oder flüssige Füllung vorhanden sind.

Auf alle Fälle ist das Sichtbarwerden der Knochenkanälchen auf diesem Wege bei G- und C-Schnitten so unzuverlässig und räumlich und zeitlich so beschränkt, daß die Methode hierfür nicht brauchbar ist. Außerdem ist von einem Sichtbarwerden von Gitterfiguren überhaupt nichts zu bemerken.

b) Anders liegen die Dinge bei der Methode  $K\text{Gl}_2$ .

Hier konnte zunächst gleichfalls die Annahme berechtigt erscheinen, daß die Bilder einer verzögerten Diffusion ihre Entstehung verdankten. Daß dies nicht der Fall ist, ergibt sich aus den folgenden Tatsachen:

1. der Grad der Gasfüllung steigt mit der Zeit der Einwirkung des Alauns bis zu einem Maximum;
2. man sieht zuweilen Gasblasen aus den gefüllten Knochenkörperchen austreten;
3. man sieht im ganzen Präparat nach Verschwinden der Kanälchenzeichnung zahlreichere Gasblasen als vorher;
4. Alaunlösung reagiert stark sauer und vermag aus Knochen Kohlensäure in Freiheit zu setzen.

Es handelt sich also hier um eine wirkliche Kohlensäurefüllung der Höhlen und Kanälchen, indem der Alaun bei längerer Einwirkung aus dem kohlensauren Kalk des Knochens Kohlensäure freimacht, die in den feinen Hohlräumen des Knochens haften bleibt. Das gleiche kann man übrigens, wie A polant zeigte, auch durch irgend eine andere anorganische oder organische Säure erreichen. Hieraus ergibt sich aber, daß bei der  $K\text{Gl}_2$ -Methode die Zeichnung nur im kalkhaltigen Knochen auftreten kann, da zur Entstehung der Kohlensäure das Vorhandensein von kohlensaurem Kalk eine unumgängliche Voraussetzung ist. In der Tat zeigte es sich bei meinen Untersuchungen, daß auf diese Weise nur O-Präparate eine ausgedehnte Injektion des kalkhaltigen Knochens zuließen; bei solchen war, wenn sie nicht zu dünn waren, manchmal das Hohlräumsystem des ganzen überhaupt vorhandenen kalkhaltigen Knochens gasgefüllt, und auch Gitterfiguren wurden hier und da sichtbar. Dagegen wurde die Luftfüllung sehr rasch unvollkommen und hinfällig, wenn auch nur mäßig Entkalkungsprozeduren vorgenommen worden waren. Schon wenig entkalkte P<sub>1</sub>-Präparate waren nicht recht brauchbar, weil die Luftfüllungerscheinungen zu unvollkommen vor sich gingen; P<sub>2</sub>-, E- und S-Präparate waren aus begreiflichen Gründen völlig unbrauchbar. Aber auch schon ein zu langer Aufenthalt im Alaun schädigt durch die vor sich gehende Entkalkung den Gasfüllungsprozeß. Man darf allerdings die Entkalkungskraft des Alauns überhaupt nicht überschätzen; auch nach zwölftständiger Einwirkung starker Alaunlösung war aus einem M II P<sub>1</sub>-Schnitt von etwa 25  $\mu$  Dicke noch keineswegs aller Kalk entfernt, wie sich färberisch leicht nachweisen ließ, wenn auch der Kalkgehalt nicht unwesentlich herabgesetzt war. Wenn trotzdem hier und selbst bei Schnitten, die viel kürzer (bis zwei, ja eine Stunde) in der Alaunlösung gelegen haben, die Gasfüllung nicht oder nur schlecht gelingt, so fällt dies mit dem zusammen, was ich eben über unvollkommen entkalkte Präparate überhaupt sagte. Es mag sein, daß nicht mehr genügend Gas entwickelt wird, um die Kanäle vollkommen zu füllen, oder daß es aus den bereits berührten physikalischen Gründen zu rasch entweicht; es mag aber auch sein — und dies möchte ich für das Wahrscheinlichste halten —, daß durch den Alaun ganz vornehmlich der kohlensaurer Kalk angegriffen wird, so daß dieser zunächst

zersetzt wird und schon ganz aus dem Knochen verschwunden sein kann, während noch Kalk in anderer Verbindung vorhanden ist. In diesem Falle ist natürlich auch die Bildung von Kohlensäure trotz färberisch nachweisbarem Kalk unmöglich. Und die sauren Salze der Müller'schen Flüssigkeit werden das gleiche bewirken können wie die Alaunlösung.

Aber auch bei gelungener Gasfüllung tritt das Sichtbarwerden der Kanälchen usw. stets erst bei dem Glyzerinzusatz auf. Daß der Glyzerinzusatz erst die Kohlensäurefüllung bewirke, ist selbstverständlich auszuschließen; übrigens gilt das gleiche auch für die Benutzung einer dicken Zuckerlösung. Man kann also nur annehmen, daß die Lichtbrechungsverhältnisse zwischen Luft und Alaunlösung nicht so sind, wie zwischen Luft und Glyzerin resp. Zuckerlösung; denn während die Kanälchen, so lange nur Alaunlösung über dem Schnitt sich befindet, bei totaler Füllung in durchfallendem Licht überhaupt nicht hervortreten, tritt die bekannte typische Zeichnung, die grauschwarze Färbung der Kanälchen auf weißem Grunde sofort ein, wenn Glyzerin oder Zucker denselben Schnitt bedeckt. Das gleiche Phänomen ergibt sich bei der Methode KGl<sub>3</sub> (vgl. unten).

Nimmt man statt einfacher Alaunlösung eine stark alaunhaltige Lösung von Alaunkarmin, so kann man bei geeignetem Material gleichzeitig die Karminfärbung des kalklosen Gewebes erzielen. Es trifft dies für frisches oder in Müller'scher Flüssigkeit fixiertes resp. unvollkommen entkalktes Material zu. Hier nimmt das osteoide Gewebe begierig den Farbstoff auf, so daß bei Unterbrechung der Behandlung zwecks Kohlensäurefüllung eine genügende Färbung des kalklosen Gewebes bereits erreicht ist. Anders bei Formalin-, besonders älterem Formalin- und älterem Alkoholmaterial.

Auf diese Verschiedenheiten der Karminfärbung ist meines Wissens bisher nirgends eindringlich genug hingewiesen worden, und doch geben sie, namentlich wenn man mit den Knochenuntersuchungen beginnt, oft zu Überraschungen und Störungen Anlaß. Färbte ich nämlich in derselben Karminlösung von MI (älteres Formalinmaterial) gleichzeitig einen O- und einen P<sub>1</sub>-Schnitt, so fand ich bei gleicher Zeit der Einwirkung bei dem letzteren das osteoide Gewebe kirschrot gefärbt, während das kalkhaltige fast farblos geblieben war; dagegen war bei dem ersten das osteoide Gewebe nahezu farblos, während das kalkhaltige eine deutliche blau-rötliche Färbung angenommen hatte — und dies trotz vorausgegangener gründlicher Wässerung des Formalinmaterials. Auch bei weiteren Versuchen konnte ich feststellen, daß die spezifische und differentielle Färbung zwischen kalklosem und kalkhaltigem Knochengewebe durch Karmin bei dem obengenannten Material entweder nicht auftritt oder sogar in das Gegenteil umschlägt. Auf zweierlei Weise kann man nach meinen Erfahrungen auch dieses refraktäre Material der charakteristischen Färbung wieder zugänglich machen: entweder indem man die Knochenstücke einige Zeit der Einwirkung der Müller'schen Flüssigkeit im Brutschrank aussetzt, oder indem man den fertigen Schnitt vorher auf einige Stunden (am besten über Nacht) in starke Alaunlösung bringt. Gerade im letzteren Falle wurde z. B. die vorher fast völlig ausbleibende Färbung der osteoiden Säume in M III O G-

Schnitten (älteres Alkoholpräparat) durchaus deutlich. Ja, es trat hier eine Erscheinung auf, die man sonst bei der Karminfärbung in der Regel vermißt. Man sah nämlich neben den osteoiden dunkelrot gefärbten Randzonen nach innen zu eine schmalere, parallelgehende Zone, die sich nur hier und da an Stellen von Nischen oder Buchten verbreiterte, und die sich durch ein wesentlich helleres, matteres Rot auszeichnete. Diese Zone entspricht nach ihrem ganzen Verhalten der körnig-krümeligen Grenzzone P o m m e r s. Während diese Zone jedoch für gewöhnlich — wenigstens in ihrem größeren, nach dem kalkhaltigen Knochengewebe zu gelegenen Abschnitt — ungefärbt bleibt, wegen des hier schon reichlicher vorhandenen Kalks, hat sie bei der genannten Modifikation der Färbung, wegen des noch vorhandenen unverkalkten Anteils, ein, allerdings zarteres, Rot angenommen. Auch im Innern des kalkhaltigen, völlig ungefärbten Anteils zeigten sich bei diesem Vorgehen in viel größerer Ausdehnung als sonst rot gefärbte Fleckchen und Strichelchen; die letzteren besonders traten an vielen Stellen als Gruppen parallel laufender, kurzer, zur Lamellenrichtung fast senkrecht oder schräg stehender Fäserchen auf, die in ihrer Aneinanderordnung den quergeschnittenen Fibrillenbündeln einer Lamelle entsprachen. Diese Reihen von kleinen Fäserchen entsprechen in ihrer Anordnung und Form etwa der Zeichnung, die in Fig. 6, Taf. X, bei Qu gegeben ist, wobei freilich zu bemerken ist, daß dort die schwarzen kurzen Strichelchen die luftgefüllten i n t e r fibrillären Spältchen (vgl. unten) bedeuten. Man kann sich daher dem Eindruck nicht verschließen, daß es sich hierbei um die unverkalkten Fibrillenbündel einer quergetroffenen Lamelle handelt, die um ein wenig aus dem Schnitte herausragen und starke elektive Färbung angenommen haben. Dieser Annahme ist die Auffassung v. E b n e r s zugrunde gelegt, daß im kalkhaltigen Knochen die kollagenen Fibrillen selber unverkalkt enthalten sind, während die Kalkablagerung in der Kittsubstanz vor sich geht. Hierfür geben die angeführten Befunde eine Stütze ab, wie auch alle weiteren Bilder, auf die ich noch zurückzukommen habe, in die gleiche Richtung weisen. Nach allem, was ich gesehen habe, gibt die Auffassung v. E b n e r s eine näherliegende Deutung der Befunde als die K ö l l i k e r s, nach der die Fibrillen selber das Substrat der Verkalkung darstellen.

c) Auch die Methode K Gl<sub>3</sub> eignet sich im wesentlichen nur für O-Präparate. Dies betone ich um so mehr, als hier die Entstehung der Kohlensäure gewiß a n s i c h u n a b h ä n g i g v o n d e m K a l k g e h a l t i s t, da sie durch den Zusammentritt der Flüssigkeiten, in die der Schnitt nacheinander gelegt wird, entsteht und in alle vorhandenen Hohlräume eintreten kann.

Das E i n d r i n g e n der Kohlensäure geschieht n a c h w e i s b a r ebenso in die Kanälchen des k a l k l o s e n Knochens; dies konnte ich z. B. bei der Behandlung der M II P<sub>1</sub>-Präparate feststellen. Wenn ich einen Tropfen Zuckerlösung auf einen Objektträger brachte und das Ganze so lange frei der Luft aussetzte, bis der Zucker ganz dickflüssig geworden war, und wenn ich dann den Schnitt im Stadium der höchsten Gasfüllung auf diesen Tropfen legte und das Ganze mit einem Deckgläschchen bedeckte, konnte ich mehrfach bei unmittelbarer Beobachtung sehen, daß auch a l l e K n o c h e n k ö r p e r c h e n d e s

kalklosen Knochens, selbst die Knochenhöhlen des jüngsten, ganz kalklosen, geflechtartig geordneten Knochengewebes, gasgefüllt waren. Nur wenige Augenblicke dauert jedoch dieser Zustand, dann tritt das Gas unter lebhafter Blasenbildung aus den Knochenhöhlen des kalklosen Gewebes heraus. Hierbei sieht man oft Bilder, die sehr leicht Erweiterung der Knochenhöhlen vorzutäuschen imstande sind, wenn nämlich das Gas aus den Knochenhöhlen sich zu Gasblasen sammelt. In wenigen Sekunden ist dieser Austritt beendet. Dann sieht man nur noch die starke Injektion durchaus beschränkt auf den kalkhaltigen Anteil, wo sie sich noch lange Zeit mit scharfen Grenzen gegen den kalklosen Anteil hält, um dann allmählich auch zu verschwinden. Benutzt man, wie oben angegeben, die eingedickte Zuckerlösung, so erstarrt die Schicht unter dem Deckglas in kurzer Zeit vollkommen, und es kann die Gasfüllung im kalkhaltigen Anteil sich tagelang halten.

Aus dem eben beschriebenen Vorgange sieht man wieder von neuem die große Bedeutung der physikalischen Verhältnisse des kalkhaltigen Knochens für das Zustandekommen einer längerdauernen Gasfüllung. Denn hier ist eine chemische Einwirkung ausgeschlossen. Die Kohlensäure entsteht in dem Substrat, und man kann ihr Eindringen auch in die Höhlen des kalklosen Knochens bei geeignetem Verfahren einwandsfrei feststellen. Wenn bei gewöhnlicher Beobachtung nur die Höhlen des kalkhaltigen Anteils gefüllt sind, so liegt dies daran, daß aus dem kalklosen Anteil die Kohlensäure fast momentan austritt, während sie sich, abhängig von Wandrauhigkeit, Oberflächenspannung und ähnlichen Faktoren sowie, wie wir weiter sehen werden, von dem Fehlen der als Abzugskanäle dienenden Interfibrillärräume, nur in den kalkhaltigen Teilen länger hält.

Das gleiche Verhalten wie im kalklosen Knochen findet sich auch im vollkommen entkalkten Knochengewebe. Hier zeigen dicht gedrängte, über das ganze Präparat zerstreute feine Gasblasen die ursprüngliche Füllung der Knochenhöhlen an, und nur hier und da sieht man noch im ersten Augenblick einige gefüllte Höhlen und Ausläufer.

Etwas reichlicher als nach der Methode  $K\text{Gl}_2$  findet man bei der Methode  $K\text{Gl}_3$  an O-Präparaten Gitterfiguren, und zwar sowohl in der Pommere-Zone, als auch im Innern der kalkhaltigen Anteile. Und bei dem beschriebenen flüchtigen Sichtbarwerden der Knochenhöhlen im kalklosen Anteile (unmittelbares Beobachten von  $K\text{Z}_3$ -Präparaten) sieht man neben diesen auch zarte gittrige Figuren. Jedoch im ganzen genommen sind auch bei dieser Methode an G- und C-Schnitten die auftretenden Gitterfiguren selbst in der Pommere-Zone spärlich und wenig ausgedehnt.

Auch bei dieser Methode gilt die vordem gemachte Angabe, daß alle optischen Erscheinungen erst durch den Glyzerinzusatz sichtbar werden. Ein Schnitt, der sich durch Glyzerinzusatz als total gasgefüllt erweist, läßt vorher bei Untersuchung in der Alaun- oder Natrium bicarbonicum-Flüssigkeit nicht das geringste von der Füllung erkennen. Deshalb kann ich den Angaben

Schmors<sup>1)</sup> nicht zustimmen, man soll „die Schnitte von unentkalkten Knochen abwechselnd in starke Alaun- und Natrium bicarbonicum-Lösung bringen, bis man unter dem Mikroskop erkennt, daß die Knochenkanälchen bis in ihre Ausläufer mit Gas injiziert sind. Man tupft dann die Präparate mit Fließpapier ab und bringt sie in Glyzerin“. Ich habe eine optisch erkennbare Gasfüllung vor dem Glyzerinzusatz niemals erhalten können.

#### B. Luftmethoden.

Ganz anders sind die optischen Erscheinungen bei richtiger Ausführung der Luftfüllung.

Zunächst möchte ich bemerken, daß man von vornherein nicht die K-Methoden und die L-Methoden einfach in Parallelle setzen kann, wie dies von v. Recklinghausen geschehen ist. A priori wird es wohl nur für den starren verkalkten Knochen anzunehmen sein, daß seine Struktur durch den Akt der Austrocknung unverändert bleibt, so daß hier das Bild dem durch die K-Methoden gewonnenen wird gleichen müssen. In der Tat wird auf diese Weise im wesentlichen nichts anderes dargestellt, als ein feinster trockener Schliff. Anders jedoch in den kalklosen Anteilen. Hier werden infolge des Austrocknungsprozesses durch Schrumpfung der Gewebe leicht gewisse Veränderungen entstehen können, die verständlicherweise ganz besonders dahin führen werden, daß z. B. vorhandene feinste Spalträume erweitert werden. Immerhin besteht die Möglichkeit, auch jetzt noch über die Natur etwaiger Spalträume Aufschluß zu erhalten. Vor allem aber muß darauf hingewiesen werden, daß schon A polant sich vorwiegend der L-Methoden zur Darstellung der von ihm diagnostisch verwerteten charakteristischen v. Recklinghausenschen Figuren bediente, und daß Hanau und Berthelinger dieser Methode ausschließlich ihre Befunde verdankten. Hieraus geht mit Sicherheit hervor, daß wir nicht etwa bei den von uns mit der Austrocknungsmethode dargestellten Bildern etwas ganz anderes gesehen hätten als die von den früheren Autoren beschriebenen Figuren. Von vornherein mußte jedoch das Augenmerk darauf gerichtet werden, ob denn die durch Trocknung und Luftinjektion erzeugten Gitterfiguren mit jenen, die man bei der K-Methode gewinnt, in allen Teilen identisch sind.

a) Was die Technik der LGI- und LZ-Methoden anlangt, so habe ich nur das zu wiederholen, was ich in meiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand<sup>2)</sup> ausgeführt habe.

Vollkommene Luftfüllung der Knochenkörperchen und ihrer Ausläufer ist hier nicht allein an O-Präparaten, sondern auch an P<sub>1</sub>-Präparaten zu erzielen; ja, man erhält sie auch an E- und S-Präparaten, wenn die Entkalkung

<sup>1)</sup> Schmorsl, Histologische Untersuchungsmethoden. 1907.

<sup>2)</sup> Axhausen, Über das Wesen und die diagnostische Bedeutung der v. Recklinghausenschen Gitterfiguren. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat., XIX, S. 97, 1908.

n i c h t b i s z u E n d e g e f ü h r t w u r d e . So lange nur etwas Kalk vorhanden ist, kann man auf das Gelingen der Luftfüllung mit Sicherheit rechnen. Auf diese viel ausgedehntere Anwendbarkeit der L-Methoden gegenüber den K-Methoden wurde übrigens schon von A p o l a n t kurz hingewiesen. Bei P<sub>2</sub>-Präparaten wird die Luftfüllung der Knochenkörperchen und ihrer Ausläufer durch die von der fibrillären Struktur des Knochens abhängige Zeichnung verdeckt und verschwindet mit ihr sehr rasch. Bei E- und S-Präparaten ist auf diese Weise eine Luftfüllung der Beobachtung nicht zugänglich.

Zur Anwendung der Methode sind ebenso G-Schnitte wie C-Schnitte geeignet. Zu G-Schnitten aller Art benutzt man zweckmäßig unentfettetes Material. Vorfärbung mit Ammoniakkarmin empfiehlt sich stets, und zwar aus dem Grunde, weil nur dann die Beziehung der Luftfüllungserscheinungen zu der Verbreitung des kalklosen Gewebes einwandsfrei erkennbar ist.

Will man das ideale Bild der LG- oder LZ-Methode erhalten, so muß man vornehmlich zweierlei beachten: 1. daß die Austrocknung eine v o l l k o m m e n e ist, und 2. daß die Beobachtung dem Einschluß in Glycerin oder Zucker u n - m i t t e l b a r folgt. Das Verfahren, das uns immer wieder die gleich schönen Bilder lieferte, gestaltet sich im einzelnen in folgender Weise:

Einlegen des vorgefärbten Schnittes aus 75 % Alkohol in Alkohol absolut. Nach 1—2 Minuten Überführen in Chloroform. Nach 1½—1 Minute Auflegen auf den Objektträger. Überschüssiges Chloroform ablaufen, das übrige Chloroform verdunsten lassen. Während dieser Zeit wird ein Tropfen Glycerin resp. Zucker auf ein Deckglas gebracht und dies in die rechte Hand genommen. Die linke Hand faßt den Objektträger und beendigt unter leichtem Schwenken die Austrocknung. Man sieht das Weiße des kalkhaltigen Knochens deutlich hervortreten, und der Schnitt kräuselt sich etwas ein. Auch jetzt noch wartet man einige Augenblicke; über das zuerst angenommene Maß der Kräuselung geht der Schnitt bei weiterer Austrocknung nicht hinaus. Und nimmt man den Schnitt nicht zu groß, ist die Kräuselung fast niemals so stark, daß sie nicht durch das nunmehr auffallende Deckglas ausgeglichen würde. Sobald das Deckglas, das den Glycerin- resp. Zuckertropfen trägt, aufgefallen ist, wird das Präparat unter das Mikroskop gelegt, das man zweckmäßigerweise vorher einstellt.

Dieses ganze Verfahren ist so einfach und das hierbei gewonnene Bild so schön und instruktiv, daß es mit großem Vorteil auch z. B. für Kurszwecke angewendet werden könnte. Neben den luftgefüllten Knochenhöhlen und Ausläufern, die sich in dem dünnen Schnitt auf dem weißen Untergrunde der Grundsubstanz durch ihre zierliche, tiefschwarze Zeichnung wundervoll abheben, sieht man in den rot gefärbten osteoiden Säumen die totale Füllung mit Gitterfiguren, ihr Zurücktreten u. a. m.

Will dieses Bild nicht recht herauskommen, so sind dafür einige Punkte verantwortlich, die leicht abzustellen sind. Erstens nämlich: man hat die Austrocknung nicht vollkommen gemacht; dann sieht man die Gitterfiguren gewöhnlich nur in der P o m m e r - Zone, und die Füllung der Knochenhöhlen ist unvollkommen. Oder aber man hat den unentfetteten Schnitt zu lange in Alkohol resp. Chloroform gelassen, so daß das gelöste Fett in die Spalträume

eingedrungen ist; dann ist das ganze Bild weniger klar und einheitlich. Oder schließlich man hat in dem Präparat zu wenig kalkhaltigen lamellösen Knochen; ein gewisser Rest alter kalkhaltiger Kompakta gehört dazu, um alle Erscheinungen bei dieser Methode zur vollen Geltung zu bringen. Deswegen eignen sich auch am besten zur Demonstration Rippen-, Femur- oder Humerusquerschnitte, Schnitte aus dem Schädeldach und ähnliches. An Schnitten, wo fast nur kalkloses, geflechtartig geordnetes Knochengewebe mit einigen kalkhaltigen Kernen vorhanden ist, wird das Bild nicht so klar und überzeugend. Es kommt dies daher, weil es nicht immer gelingt, die Luftfüllung in dem geflechtartig geordneten kalklosen Knochengewebe in einer für die Orientierung genügenden Zeit zu erhalten. Für diese Präparate ist die folgende LB-Methode die gegebene; sie liefert alles, was billigerweise verlangt werden kann.

b) Die alte Kruckenberg'sche Methode der Einschließung trockener Schlitte in erstarrendem Kanadabalsam, auf ausgetrocknete Gefrierschnitte angewandt, stellt nicht nur alle hier in Rede stehenden Einzelheiten in vollkommener Weise dar, sondern sie gibt auch, wie ich bei weiterer Fortführung der Untersuchungen fand, die Möglichkeit an die Hand, sich von der fibrillären Struktur des Knochengewebes, am kalklosen Knochen leicht und sicher zu überzeugen; sie gewährt die Möglichkeit, an vollkommen durch Salpetersäure entkalkten Schnitten ursprünglich kalkhaltiges von ursprünglich kalklosem Knochengewebe ohne Schwierigkeit zu trennen; sie verschafft, an geglühten Gefrierschnitten ausgeführt, mühelos einen genauen Einblick in den feineren Bau des kalkhaltigen Knochengewebes, der bislang nach dem Vorgange v. Ebner's nur durch die Untersuchung schwierig herzustellender feinster Schlitte möglich war; und — wie ich in Parenthese bemerken möchte — wendet man sie auf den Knorpel an, so bietet sich auch hier die Möglichkeit, eine Vorstellung von der feineren Struktur desselben zu gewinnen.

Auch von Polant und Berthfinger war die gleiche Methode benutzt worden, und ihr wurden manche Vorteile gegenüber der Glyzerinmethode eingeräumt — Vorteile, denen aber als Hauptnachteil die schlechte Durchsichtigkeit solcher Präparate gegenüberstand. Dies trifft nun naturgemäß bei dünnen Gefrierschnitten nicht mehr zu; andererseits bietet diese Technik bei richtiger Ausführung den Vorteil, daß die Luftfüllung der trocknen Schnitte in jedem gewünschten Stadium abgestuft und auf längere Zeit erhalten werden kann.

Von Wichtigkeit ist es nur, daß man sich genau an die alten, von Kruckenberg gegebenen Vorschriften hält; die von v. Ebner angegebene Modifikation, der auch Polant und Berthfinger folgten, ist für unser Material nach meinen Erfahrungen nicht zu empfehlen.

Ich gebe das von mir ausgeprobte Verfahren im einzelnen an; es deckt sich im wesentlichen mit den Angaben Kruckenberg's, die nunmehr 60 Jahre zurückliegen und wohl vielfach vergessen sein dürften.

Auf die Mitte eines Objektträgers und auf ein Deckgläschchen kommt je ein kleiner Tropfen gewöhnlichen Kanadabalsams — nimmt man ihn zu groß, so wird die später erstarrende Schicht so dick, daß der Gebrauch der Ölimmersion

unmöglich wird —, durch mehrfaches Erwärmen über der Flamme und Aufblasen werden beide Tropfen eingedickt, was bei einiger Übung zusammen etwa eine Minute in Anspruch nimmt. Etwaige Blasen vergehen bei der weiteren Prozedur gewöhnlich wieder von selber. Wenn nicht, führt man nach dem Erkalten den Objektträger resp. das Deckglas, mit dem Tropfen nach unten, nochmals kurz in die Flamme; alsdann platzen die an die Oberfläche gerückten Blasen sofort. Fängt der Balsam gelegentlich Feuer, so schadet dies an sich nichts, nur leidet der äußere Anblick der Präparate durch die zarte Rußbildung. Nach dem Erkalten bildet der Balsam auf Deckglas und Objektträger eine dünne, steinharte Auflagerung. Jetzt wird der Schnitt, der wie bei der L Gl-Methode behandelt wird, aus dem Chloroform auf den Objektträger *n e b e n* den Balsam gelegt, so daß aber überschüssiges Chloroform *n i c h t* mit dem Balsam in Berührung kommt. Vollständiges Austrocknen. Der trockne Schnitt wird jetzt mit der Pinzette *a u f* den Balsam des Objektträgers gelegt und das Deckglas mit dem Balsam heraufgelegt. Fürchtet man wegen der Kräuselung des Schnitts, daß das Deckglas den Schnitt nicht streckt, so kann man vorher die gegenüberliegenden Kanten mit zwei Fingern sanft gegen den Balsam des Objektträgers andrücken. Läßt man die Finger einige Augenblicke darauf ruhen, so genügt die Erwärmung, um den Schnitt für die Zeit auf dem Balsam zu fixieren, bis das Deckglas aufgelegt ist. Liegt alles gut, so wird das Präparat 1—2 Sekunden über die Flamme gehalten, bis der Balsam weich geworden ist, und es wird das Deckglas sanft angedrückt. Alsdann umschließt der Balsam den Schnitt, der aber zunächst noch weiß bleibt. Unter dem Mikroskop erscheint er noch vollständig schwarz und undurchsichtig. Bei Wiederholen der Prozedur beginnt der Schnitt sich an einigen Stellen eben aufzuhellen, und durch weiteres Vornehmen des gleichen Verfahrens kann man jeden erwünschten Grad der Luftfüllung erreichen, den man unter dem Mikroskop leicht kontrollieren kann.

Bei richtiger Anwendung erhält man auf diesem Wege Bilder, die den für die erste Beobachtung der L Gl-Präparate beschriebenen durchaus nahekommen. Außerdem aber ist hier die Luftfüllung auch an allen Abschnitten des vorhandenen *g e f l e c h t a r t i g g e o r d n e t e n* kalklosen Knochengewebes in voller Ausdehnung sichtbar. Setzt man die Erwärmung usw. fort, so läßt sich das Abklingen der Luftfüllung, das bei der Glyzerineinbettung so überaus rasch erfolgt, in allen Stadien in Muße beobachten. Man erkennt das Vorhandensein der Knochenhöhlen neben den gittrigen Figuren; man findet Bilder, die für die Deutung der vermeintlich erweiterten Knochenhöhlen eine Rolle spielen u. a. m. Hierbei läßt sich auch die fibrilläre Struktur des Knochengewebes, die Anordnung und Richtung der Fibrillen u. a. m. an den osteoiden Säumen auf das schönste erkennen. Besser als alle Worte zeigt diese Verhältnisse ein Blick auf die Figg. 5 und 6, Taf. X.

Die eben geschilderten Bilder beziehen sich auf O- und P<sub>1</sub>-Präparate. Die gleiche Methode auf P<sub>2</sub>- und E-Präparate angewandt, zeigt die fibrilläre Struktur des *g e s a m t e n* Knochengewebes sehr deutlich; die bewirkte Zeichnung verdeckt die Knochenhöhlen vollkommen, und mit dem Verlöschen der gittrigen Luftfüllung durch Eindringen des Balsams schwindet meist auch

die Luftfüllung der Knochenhöhlen gleichzeitig. Manchmal verschwindet die fibrilläre Zeichnung rascher — dann treten die luftgefüllten Knochenhöhlen an einzelnen Stellen klar und scharf heraus; ein anderes Mal verschwindet erst die Luftfüllung in den Knochenhöhlen und in ihrer unmittelbaren Umgebung — dann treten runde Lücken in der fibrillären Zeichnung auf.

Ganz anders verhalten sich höchst bemerkenswerter Weise S-Schnitte, sowohl SG-, wie SC-Schnitte. Wendet man die Methode von Kruckenberg auf normale Femurrinde, nach Schaffer entkalkt, an, so sieht man, ebenso wie an dem übrigen Material, nichts von den fibrillären Netzen wie bei der  $P_2$ - und E-Entkalkung. Beim Aufhellen der Schnitte treten im Gegenteil genau wie bei den Knochen mit geschlossenem Kalkgehalt die Knochenhöhlen und ihre Ausläufer heraus, während der Grund völlig klar und durchsichtig wird. Nur die lamelläre Struktur wird z. B. bei den Haversschen Systemen durch Abwechseln von hellen und dunklen Ringen in einem bestimmten Stadium der Aufhellung deutlich sichtbar. Aber auch wenn diese Zeichnung verschwunden ist, auch wenn die Grundsubstanz z. B. eines Haversschen Systems vollkommen durchsichtig und strukturlos ist, sind die Knochenkörperchen in ihrer konzentrischen Anordnung und mit ihren radiären Ausläufern vollkommen schwarz auf das schönste sichtbar. Es verhält sich in der Tat der S-Knochen in dieser Beziehung fast genau so wie der O-Knochen oder wie trockne Schritte. Erst später fand ich eine kurze Notiz von Flemming<sup>1)</sup>, der im Jahre 1886 darauf hinwies, daß man auch salpetersäureentkalkten Knochen zur Luftfüllung der Knochenhöhlen mit Vorteil benutzen könne. Nur gab Flemming eine recht umständliche, tagelang dauernde Methode an, um die Schnitte während der Austrocknung gestreckt zu erhalten. Nimmt man nicht zu große Schnitte, so z. B. nur ein Viertel der Femurrinde, so ist dies umständliche Verfahren nach meinen Erfahrungen nicht nötig; es gelingt vielmehr, in der oben von mir beschriebenen Weise fast stets den Schnitt glatt zur Einbettung zu bekommen.

Worin dies unterschiedliche Verhalten des S-Knochens begründet ist, ist nicht leicht zu sagen. Hierauf werde ich später ausführlicher einzugehen haben.

Wendet man nun die LB-Methode, um sich über die Natur etwaiger Spalträume zu orientieren, auf *geglühte* O-Schnitte an, so kann man sich mit großer Leichtigkeit von der Existenz der Bilder überzeugen, die v. Ebner mit so großer Mühe an feinsten geglühten Schritten erhalten hat. Man vergleiche hierzu die Figg. 9 und 10, Taf. X. Über die Übereinstimmung dieser Figuren mit den luftfüllbaren Spalträumen des kalklosen Knochens werde ich später ausführlicher sprechen.

Das Glühen der Schnitte selber ist außerordentlich einfach. Man legt einen O-Schnitt oder auch, was aber nicht ganz so gut geht, einen  $P_1$ -Schnitt

<sup>1)</sup> Flemming, W., Surrogate für Knochenschritte. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. III, S. 47, 1886.

auf einen Objektträger und diesen auf ein Drahtnetz; zunächst vorsichtiges Erwärmen; dann läßt man den Bunsen-Brenner unter dem Objektträger stehen. Man sieht, wie der Schnitt schwarz wird, sich krümmt usw. Nach fünf Minuten etwa ist er schon wieder größtenteils weiß geworden, und nach etwa zehn Minuten ist das Glühen beendigt, der kalkhaltige Anteil des Knochens ist als schneeweißes Blättchen zu sehen. Bei diesem Glühen springt wohl der Schnitt manchmal in zwei oder mehrere Stücke; es bleiben aber immer noch genügend große Stücke zur Untersuchung übrig. Nur sind diese begreiflicherweise außerordentlich brüchig, so daß man sie, ohne sie wieder zu zertrümmern, nur so auf den harten Balsam bringen kann, daß man sie von dem schräg gestellten Objektträger auf den Balsamtropfen des zweiten Objektträgers hinübergleiten läßt. Das weitere Verfahren gestaltet sich genau wie vordem angegeben.

### 3. Über das Zustandekommen und die Morphologie der Gitterfiguren.

Die orientierenden Voruntersuchungen legten mir den Gedanken nahe, daß es sich bei den durch Luftfüllung entstehenden Gebilden nicht um einheitliche Dinge handele. Manche innerhalb des kalkhaltigen Knochengewebes sichtbare, unregelmäßig geformte, massive, schwarze Gebilde, wie sie z. B. auch von Meyer abgebildet wurden, lassen auch beim Ablassen keine Struktur erkennen; sie machen den Eindruck von Luftansammlungen, die an Rauhigkeiten der Oberfläche haften geblieben sind und sich in ihrer Konfiguration in rohen Zügen der Struktur des Knochengewebes anpassen. Manchmal stieß ich auch an einer Kittlinie auf schalenförmige schwarze Gebilde, wie sie auch von v. Ecklinghausen beschrieben wurden, und hier konnte ich dann leicht eine ausgesprochene Niveaudifferenz der die Kittlinie zusammensetzenden Knochenabschnitte feststellen. Zum Unterschiede hiervon ließen die eigentlichen Gitterfiguren ihre Struktur namentlich beim Ablassen im allgemeinen gut erkennen. Aber erst bei der Untersuchung von Gefrierschnitten war es möglich, in die Details der Phänomene einzudringen.

#### a) Befunde bei Anwendung der Luftmethoden.

Ich beginne mit der Schilderung der Bilder, die ich bei der LGl- und LB-Methode in MIO- und MPI-Präparaten erhielt, weil aus ihnen schon die wichtigsten Tatsachen zur Aufklärung der ganzen Verhältnisse sich ergeben.

Bei der Untersuchung eines ausgetrockneten dünnen Gefrierschnittes der unentkalkten oder unvollkommen nach Pommere entkalkten osteomalazischen Rippe fand ich nach der Einbettung in Glycerin das folgende Bild:

Man sieht im kalkhaltigen Knochengewebe die Knochenhöhlen in idealer Weise mit allen Ausläufern aus der farblosen Grundsubstanz hervortreten und hier und da in ihm ein meist kurzes und schmales Gitter. In einer ganz ungeahnten Reichhaltigkeit finden sich aber die Gitter in der Umgebung der Markräume und Gefäßkanäle, d. h. an den Stellen, wo durch vergleichende Karminfärbung die Anwesenheit osteoider Säume festgestellt worden war. Man kann sagen, daß kaum ein Punkt vorhanden ist, wo nicht auch an der Stelle

der osteoiden Säume Gitter liegen. Sie reichen nicht bis an den Markraum heran, sondern lassen einen verschieden breiten Saum markraumwärts frei. Sie bilden daher in diesem Stadium des Präparats langgestreckte dunkle Säume und geschlossene Ringe. Dabei sind die Gitter entsprechend der Feinheit der Schnitte von einer überraschenden Klarheit und lassen ihre Zusammensetzung aus sich rechtwinklig oder spitzwinklig kreuzenden Stäben, entsprechend der Fibrillenrichtung, auf das deutlichste erkennen. Das ganze Bild gleicht, wie aus der Beschreibung hervorgehen dürfte, etwa den von Hanau-Bertschinger beschriebenen Befunden.

Erst die weitere Beobachtung dieser Bilder führte auf Befunde, die mit den Angaben Berthsingers nicht mehr vereinbar waren, und die die Anschauung v. Recklinghausens als nicht haltbar erkennen ließen.

Sehr rasch nämlich ändert sich das Bild unter den Augen des Beobachters: die Gitter verschmälern sich zusehends, indem sie sich nach dem kalkhaltigen Knochen hin zurückziehen. Diese Erscheinung kann man am besten vergleichend so bezeichnen, daß die Gitter vom freien Rande her „einschmelzen“, während die dem axialen Teile zugekehrte Seite unverändert bleibt. Auftretende feinste Luftbläschen über dem Bezirk des Einschmelzens lassen über die Natur dieses Vorgangs keinen Zweifel.

Dieser Umstand, zusammen mit der Tatsache, daß die von der Gitterbildung zunächst freibleibenden Säume doch erheblich schmäler erschienen, als die vordem bei der Karminfärbung gesehenen osteoiden roten Säume, veranlaßten mich, die gleiche Untersuchung an karminvorgefärbten Präparaten anzustellen. Hier ließ sich nun sofort mit absoluter Sicherheit stets und ohne Ausnahme erkennen, daß im Gegensatz zu den Angaben v. Recklinghausens und aller übrigen Autoren die Gitter zum größten Teil innerhalb des osteoiden, intensiv rot gefärbten Gewebes liegen, und daß sie nur mit einem kleinen Randteil in den ungefärbten kalkhaltigen Knochen hinüberreichen.

Diese Topographie der Gitterfiguren ergibt sich nicht allein von vornherein aus dem Durchschimmern des roten Grundes, sowie aus der Schmalheit der von den Gittern nach dem Markraum zu freigelassenen roten Randsäume, die in gar keinem Verhältnis zu der bekannten Breite der osteoiden Säume stehen, sondern ganz besonders auch dadurch, daß bei dem bereits erwähnten Zurücktreten der Gitterfiguren nach dem kalkhaltigen Knochen zu der von Gitterbildung unter unsern Augen freierwerdende Abschnitt sich als karmingeschärfte erweist.

Wenn nun bei dem ersten Zusehen der größere Teil der kalklosen Säume luftgefüllte Spalträume zeigte, und die Luftfüllung bei der weiteren Beobachtung nach dem kalkhaltigen Anteil zu einschmolz, so ließ sich vermuten, daß es sich bei diesen Bildern um eine dem kalklosen Knochen eng gewebte ganz allgemeine bei der Luftfüllung zukommende Erscheinung handelte, deren völlige Ausbreitung nur deshalb nicht beobachtet wurde, weil der Schnitt zu einer Zeit untersucht wurde, wo schon ein Teil der Luft markwärts entwichen war.

Ich wiederholte daher die Versuche, indem ich erstlich auf die völlige Austrocknung der Schnitte großen Wert legte und dann das Präparat unmittelbar nach dem Auffallen des den Glyzerintropfen tragenden Deckgläschens untersuchte. Meine Erwartungen wurden nicht getäuscht. Unter diesen Bedingungen sah ich sehr häufig, daß nicht allein, wie bisher beschrieben, an dem weitaus größten Teil des osteoiden Gewebes die Gitterbildung auftritt, sondern daß im ersten Augenblick die ganzen überhaupt vorhandenen osteoiden Säume bis an den Markraum heran von dichter Gitterbildung erfüllt sind.

Ein Bild dieses Zustandes ist in Fig. 1, Taf. X wiedergegeben. Es reicht jedoch die Zeichnung an die Schönheit und Zierlichkeit des mikroskopischen Bildes nicht heran; wie die Knochenhöhlen und Ausläufer, sind auch die Gitter bei der Dichte und Feinheit der sie zusammensetzenden Linien außerordentlich schwer zeichnerisch wiederzugeben.

In dieser Figur sieht man angedeutet, was häufig beobachtet werden konnte, daß nämlich auch im Innern des kalkhaltigen Knochens gittrige Figuren auftreten, die denen der Randsäume durchaus wesensgleich sind. Es läßt sich sofort erkennen, daß ein Teil derselben dadurch entsteht, daß die osteoiden Säume von darunter oder darüber liegenden Gefäßkanälen resp. Markräumen tangential angeschnitten wurden. Ein anderer Teil besteht entsprechend den Beschreibungen von v. Recklinghausen aus konzentrischen Halbkreisen oder Kreisabschnitten, die parallel den osteoiden Säumen, namentlich dort, wo diese tief einschneidende Buchten auskleiden, verlaufen. Sofort erinnert man sich an die Beobachtungen Pommers, daß in solchen Fällen die Verkalkung des Knochengewebes oft unregelmäßig erfolgt, so daß hier zuweilen kalklose (karminfärbbare) Lamellenzüge mit partiell verkalkten und völlig verkalkten in unregelmäßiger Weise abwechseln. Die Lokalisation und Form der im Innern des kalkhaltigen Knochens auftretenden Gitter vom Typ der Gitter II im einzelnen anzugeben, würde auf eine Wiederholung der von Pomer gelieferten topographischen Beschreibung der innerhalb des kalkhaltigen Knochens vorhandenen Inseln oder vermeintlichen Inseln kalklosen und partiell verkalkten Knochengewebes hinauslaufen.

Sehr rasch wandelt sich nun dieses Bild durch Einschmelzen der Gitter von den freien Rändern her in die Bilder um, die ich zuerst beschrieb, und von hier aus lassen sich auch die weiteren Stadien der Einschmelzung leicht verfolgen. Hierbei lassen sich manche Einzelheiten beobachten, die namentlich mit Rücksicht auf die Angaben v. Recklinghausens recht interessant sind, und die durch die Fig. 2 bis 4 Taf. X illustriert werden sollen.

Schon bei voller Ausbildung der Gitter lassen sich hier und da durchschimmernde dunklere Stellen finden, die die Existenz luftgefüllter Knochenhöhlen vermuten lassen (Fig. 2, Taf. X). Bei dem Zurücktreten der Gitter werden nun hier und da die Knochenhöhlen in dem roten Saum samt ihren Ausläufern in voller Schönheit sichtbar, da sich in ihnen die Luftfüllung meist eine kurze Spanne länger erhält (Fig. 3, Taf. X). Doch sehr rasch schwinden auch sie. Es entstehen so schmalere Säume und Ringe, die auf die Grenzzone selber be-

schränkt sind und zum Teil noch im osteoiden Gewebe, zum Teil in der angrenzenden ungefärbten P o m m e r - Zone liegen, während in dem roten Hauptteil des osteoiden Gewebes nur mehr die abgeblaßten Knochenkörperchen erkennbar sind (Fig. 4, Taf. X).

Wiederum nach ganz kurzer Zeit ändert sich das Bild weiter, indem die schmalen Säume, Ringe und Streifen sich noch weiter zurückziehen und hier und da durchbrochen werden, dadurch, daß an manchen Stellen das Gitter ganz schwindet. So finden sich dann statt der zusammenhängenden Gebilde reichliche, nebeneinander liegende, auf die P o m m e r - Zone und besonders auf ihren ungefärbten Anteil lokalisierte Gitter neben den spärlicheren Gittern und den luftgefüllten Knochenhöhlen innerhalb der kalkhaltigen Knochensubstanz selbst, während gleichzeitig die osteoiden roten Säume homogen erscheinen und nichts mehr von gefüllten Knochenkörperchen oder Spalträumen erkennen lassen. In diesem Zustande erhalten sich die Glyzerinpräparate einige Zeit fast unverändert. Und dieser Zustand der Luftfüllung muß es gewesen sein, der den Beobachtungen und Deutungen v. Recklinghausens zugrunde gelegen hat. Darauf vornehmlich baute v. Recklinghausen seine Anschauungen von dem Fehlen der Spalträume und der Knochenhöhlen in den kalklosen Säumen und dem Abschluß der Ausläufer des kalkhaltigen Knochens gegen den kalklosen Saum auf.

Schließlich schwinden zusammen mit den Knochenkörperchen der kalkhaltigen Teile auch alle noch vorhandenen Gitterzeichnungen.

Richtet man nun sein Augenmerk auf die in den M I -Präparaten vorhandenen Züge g e f l e c h t a r t i g g e o r d n e t e n Knochengewebes, so sieht man in vielen Fällen bei unmittelbarer Beobachtung überall da, wo solches Gewebe vorhanden ist, luftgefüllte Spalträume, die entsprechend den sich wirr durchflechtenden Fibrillen hier ein d i c h t e s F i l z w e r k , eine Art Rasen bilden. Wir wollen diese Figuren gegenüber den oben erwähnten Gitterfiguren als R a s e n f i g u r e n bezeichnen. Überall da, wo inmitten der Züge schon kalkhaltige Bezirke liegen, entspricht die Anordnung der Rasenfiguren der für die Gitterfiguren angegebenen Lokalisation. Sie füllen im ersten Augenblick den ganzen kalklosen Anteil aus und reichen nur mit einem schmalen Saum in den kalkhaltigen ungefärbten axialen Teil hinein. Der ganze Vorgang des Luftaustritts vollzieht sich im geflechtartig geordneten Knochengewebe prinzipiell genau so wie im lamellös geordneten, nur noch erheblich rascher, was bei der Zahl und Größe der Knochenkörperchen in diesem Gewebe nicht wundernehmen kann.

Es kommt daher häufig vor, daß man auch beim ersten Zusehen nicht mehr ganz luftgefüllte kalklose Züge antrifft, daß sich die Gitter schon überall nach der Mitte zurückgezogen haben. Manchmal sieht man zum größten Teil nur noch die luftgefüllten Knochenhöhlen, und auch diese sind vielfach im Begriff, die Luft austreten zu lassen, und gewinnen hierdurch stark verzerrte Formen.

Diese ganzen Verhältnisse lassen sich mit viel größerer Muße an den gleichen Schnitten studieren, wenn man sie, wie oben ausgeführt, nach der

Krukenberg'schen Methode behandelt. Man hat dann die Möglichkeit, jedes Stadium der Luftfüllung zu erzielen und auf längere Zeit zu fixieren.

Untersucht man einen ausgetrockneten MIO-Schnitt nach Krukenberg - Einbettung ohne weitere Behandlung, oder nachdem durch leichte Erwärmung und Druck nur erst der eben warm gewordene Balsam sich um das Präparat herumgelegt hat, so erscheint das Knochengewebe überall schwarz. Wie schon von Krukenberg für Schritte ausgeführt wurde, kommt dies dadurch zustande, daß nicht nur sämtliche Knochenhöhlen und Kanäle der Schnitte mit Luft gefüllt sind, sondern daß auch die zahlreichen Unregelmäßigkeiten der Oberfläche so ausgedehnte Lichtbrechungen bewirken, daß der Schnitt für durchfallendes Licht undurchsichtig bleibt. Gerade darin bestand der große Fortschritt der von Krukenberg eingeführten Methode, daß durch den engen Anschluß des warmen Balsams an die Knochenoberfläche alle diese Unregelmäßigkeiten in ihrer störenden optischen Wirkung beseitigt wurden.

Gibt man nun dem wieder erwärmten Balsam Gelegenheit sich auszubreiten, so ist die nächste Folge, daß er sich an die Unregelmäßigkeiten der Oberfläche anpaßt, hier die verschieden gestaltete Luftsicht verdrängt und so die optischen Hindernisse für die Durchsichtigkeit aus dem Wege räumt: die Folge ist die Aufhellung der Schnitte. Diese erfolgt jedoch zunächst nur an den kalkhaltigen Anteilen der Präparate. Hier wird bei genügender Aufhellung die Grundsubstanz vollkommen durchsichtig, und nur die Knochenkörperchen heben sich durch ihren Luftgehalt und ihre schwarze zierliche Zeichnung aus der weißen Grundsubstanz heraus. Alles kalklose Gewebe bleibt jedoch im Gegensatz hierzu zunächst vollkommen schwarz, und mehrfach lassen die schwarzen Bezirke schon erkennen, daß sie sich aus dichtgedrängten schwarzen Linien zusammensetzen. Dieses Verhalten gilt ebenso für das geflechtartig geordnete, wie für das lamellös geordnete Knochengewebe. Alle kalklosen Züge des Knochengewebes ersterer Art sind vollkommen schwarz durch dichte Erfüllung mit wirr angeordneten schwarzen Linien. Sobald die Aufhellung überhaupt einen Einblick in die Struktur dieser schwarzen Gebilde gestattet, zeigt es sich, daß die Zeichnung den eben erwähnten Rasenfiguren entspricht. Bei G<sub>1</sub> Fig. 5, Taf. X ist eine solche Stelle gezeichnet.

Man erhält also auf diese Weise das Bild, wie es für die unmittelbare Beobachtung der LGI-Präparate beschrieben wurde. Unterbricht man jetzt das weitere Eindringen des Balsams und hebt den Schnitt kühl auf, so erhält man Wochen und Monate hindurch haltbare Dauerpräparate dieses Zustandes. Darüber, daß die durch Bestehenbleiben der Luftfüllung in den kalklosen Abschnitten entstehenden Figuren mit den bei der GI-Methode erhaltenen Gitterfiguren und Rasenfiguren übereinstimmen, kann ein Zweifel nicht bestehen; ebensowenig darüber, daß sie in ihrem Wesen mit den oben als Gitter II bezeichneten Figuren der früheren Autoren identisch sind.

Zwischen diesen beiden Stadien — totale Schwärzung einerseits und dem bei der LGI-Methode erhaltenen Bild (völlige Aufhellung des kalkhaltigen

Knochens bis auf Knochenhöhlen und Ausläufer, schwarze gittrige Luftfüllung des kalklosen Gewebes) andererseits — liegen nun Zwischenstufen, die in ihrer Gestaltung von Niveaudifferenzen der Oberfläche abhängig sind, und die im Zusammenhang mit entsprechenden Bildern bei der Kohlensäurefüllung den Schlüssel für das Verständnis der in den einleitenden Ausführungen als Gitter I bezeichneten Figuren geben.

Beginnt nämlich die Aufhellung, so erfolgt sie nicht in allen Teilen des kalkhaltigen Knochens gleichmäßig, sondern es werden zunächst in dem Gebiet der zunehmenden Aufhellung die Lamellenzüge der längsgetroffenen Fibrillen durchsichtig, während die Lamellen, deren Fibrillen quergetroffen sind, noch dunkel bleiben. Hierdurch wird erstlich einmal die lamelliöse Zeichnung deutlich; dann aber sieht man bei weiterer Aufhellung, daß die dunkleren Züge sich aus zahlreichen feinsten runden und länglichen Tröpfchen zusammensetzen. So sieht man manchmal innerhalb eines völlig aufgehellten Gebietes, das nur noch die Knochenkörperchen und Ausläufer aufweist, hier und da dunkle Linien, die sich bei stärkerer Vergrößerung als solche Tröpfchen erweisen, die im Verlaufe eines Lamellenzuges mit quergetroffenen Fibrillen auftreten. Ist diese Zeichnung über ein größeres Gebiet ausgedehnt, so entstehen Bilder ganz ähnlich dem, das in Fig. 7, Taf. X für die nach der  $KZ_3$ -Methode behandelten Schnitte gezeichnet ist. Nur sind die Einzelheiten nicht so zart wie dort. Auf diese Bilder und ihre Deutung komme ich später noch zurück.

Treibt man nun aber das Eindringen des Balsams noch über das der ersten L Gl-Beobachtung entsprechende Stadium hinaus, so ist die nächste Folge, daß auch die schwarzen Bezirke kalklosen Knochens sich aufzuhellen beginnen. Man erkennt dies daran, daß bei karmingefärbten Präparaten das Rot des kalklosen Knochengewebes mehr und mehr durchzuschemmern beginnt und gleichzeitig die fibrilläre Struktur des kalklosen Knochengewebes mit überraschender Deutlichkeit zutage tritt.

Hier macht sich ein kleiner Unterschied der L B-Methode gegenüber der L Gl-Methode geltend. Während bei letzterer die Luftfüllung der kalklosen Säume so schwindet, daß der Gittersaum vom freien Rande her sozusagen einschmilzt, d. h. daß der äußere Teil in zunehmender Ausdehnung sich völlig aufhellt, während nach dem kalkhaltigen Knochen zu die Zeichnung fast unverändert bleibt (vgl. Fig. 2 bis 4, Taf. X), liegen bei der L B-Methode die Verhältnisse insofern etwas anders, als hier die Aufhellung zunächst über den ganzen Saum gleichmäßig erfolgt, wodurch eben gerade die Sichtbarmachung der fibrillären Struktur erzeugt wird; dann erst erfolgt das Schwinden dieser zierlichen Zeichnung in der gleichen Weise wie bei der Gl-Methode, durch Einschmelzen vom Rande her. Eine gute Illustration hierfür gibt, wie ich glaube, die Fig. 6, Taf. X. Sie ist einem  $M II P_1 C$ -Schnitt entnommen. Der Schnitt wurde mit Hämalaun vorgefärbt; Nachbehandlung mit Salzsäurealkohol entfernte das Hämalaun aus dem kalklosen Knochen (OKn), während der kalkhaltige Knochen (KKn) leicht gefärbt blieb. Nachfärbung mit Ammoniakkarmin färbte das kalklose Knochengewebe rot. Nach der L B-Methode weiter

behandelt. Man erkennt nun in dem gezeichneten Abschnitte die folgenden Einzelheiten: die Mitte wird eingenommen von einem Kern geflechtartig geordneten, völlig verkalkten Knochengewebes, das zahlreiche ungeordnete, gut injizierte Knochenhöhlen einschließt. Bei O Kn findet sich eine Neuauflagerung lamellösen Knochengewebes; der eine Lamellenzug geht der Achse des Bälkchens parallel, der andere kreuzt sie, wofür die gezeichneten kammähnlichen Figuren der optische Ausdruck sind. Auf der anderen Seite (OKn<sup>1</sup>) findet sich eine Auflagerung geflechtartig geordneten Knochengewebes. In den lamellös geordneten Knochensäumen sind die Knochenkörperchen in typischer Anordnung erkennbar; in dem anderen Saum haben sie, wie dies zuweilen geschieht, schon relativ frühzeitig den Luftgehalt verloren. Was auch an letzter Stelle aus der Zeichnung hervorgeht, ist die Tatsache, daß in der P o m m e r - Zone die Gitterfiguren ganz besonders dicht und ungeordnet liegen, was von dem später zu beschreibenden Bau dieser Zone abhängig ist.

Ganz besonders geeignet sind nun die L B-Präparate zum Studium der Erscheinungen, die sich beim Abklingen der Luftfüllung im geflechtartig geordneten Knochengewebe einstellen, erstlich deswegen, weil diese Erscheinungen, wie schon erwähnt, bei der L Gl-Methode manchmal gar nicht zu Gesicht kommen, da die Luft hier allzu rasch entweicht, und ferner weil man häufig in einem Präparat, manchmal in einem Gesichtsfeld, die verschiedenen Stadien des Luftaustritts nebeneinander beobachten kann. Einen solchen Fall stellt z. B. die Fig. 5, Taf. X dar, die von einem Präparat eines anderen Rippenabschnittes des Falles 1 entnommen ist. Auch hier findet sich zunächst eine Aufhellung der schwarzen Züge, die dann die Zusammensetzung der schwarzen Zeichnung aus sich wirr durchflechtenden Linien deutlicher erkennen läßt (Fig. 5, Taf. X, G<sub>1</sub>). Dann tritt die Zeichnung allmählich nach der Mitte hin zurück, so daß ringsum ein schmaler roter Saum frei wird; hier und da sieht man jetzt schon Knochenkörperchen durch das Gewirr hindurchschimmern (Fig. 5, Taf. X, G<sub>2</sub>). Bei weiterem Zurücktreten der Rasenfiguren werden nun nicht selten wohlgeformte, völlig luftgefüllte Knochenhöhlen (Fig. 5, Taf. X, J. Knkp) inmitten des roten Knochengewebes sichtbar. Daneben findet sich aber jetzt häufig eine Zeichnung, die besonders mit Rücksicht auf die von A p o l a n t abgebildeten „erweiterten Knochenhöhlen mit Neubildung von Kanälen in der Umgebung“ von hohem Interesse ist. Es zeigt sich nämlich, daß häufig aus dem zentralen dichten Rasen Fortsätze herausstehen, die im ganzen starren Spießen vergleichbar sind, die sich aber bei stärkerer Vergrößerung als sich kreuzende feinste Linien erweisen (Fig. 5, Taf. X, G<sub>3</sub>). Mit Rücksicht auf die oben (Fig. 6, Taf. X) beschriebenen und abgebildeten Figuren dürfte es einem Zweifel nicht unterliegen, daß es sich hier um R e s t e d e r u r s p r ü n g l i c h t o t a l e n R a s e n b i l d u n g , also um Luftfüllung der Spalträume des geflechtartig geordneten Knochengewebes handelt, die sich um ein ebenfalls luftgefülltes Knochenkörperchen herum gruppieren. Beim weiteren Abklingen der Luftfüllung gewinnen oft die Knochenkörperchen dadurch besonders plumpe Formen, daß sich die Luft über ihnen zu sammeln beginnt (G<sub>4</sub>); manchmal werden schon die Zeichen der Blasenbildung inmitten eines solchen Knochenkörperchens sichtbar. Schließlich verschwindet die

ganze Luftfüllung, und man sieht nur noch die gewöhnlichen blassen Knochenhöhlen in dem roten Knochengewebe. Auf die Übereinstimmung dieser beim Verschwinden der Luftfüllung entstehenden Figuren mit den von A polant gezeichneten Bildern, die er als Erweiterung präformierter Höhlen und Neubildung von Kanälen in der Umgebung deutete, habe ich später ausführlich hinzuweisen.

Wenn nun das Auftreten gittriger Luftfüllung eine charakteristische Erscheinung des kalklosen Knochengewebes darstellt, so war hiermit den weiteren Untersuchungen die Richtschnur gegeben. Es lag nahe, zu untersuchen, inwieweit künstlich kalkloses gemacht Knochengewebe die gleichen Erscheinungen zeigte. Dies erschien um so notwendiger, als dadurch auch die Folgerungen, die A polant aus seinen Entkalkungsversuchen zog, einer Prüfung unterzogen werden konnten.

Ich benutzte hierzu  $P_2$ -, E- und S-Präparate und unterzog sie der LGl- und L B-Methode. Hierbei ergab sich Folgendes:

Ganz zum Unterschiede von den O- und  $P_1$ -Präparaten z. B. des MI zeigt sich bei  $P_2$ -Präparaten, unter Anwendung der LGl-Methode kein Unterschied mehr zwischen dem ursprünglich kalkhaltigen und dem ursprünglich kalklosen Anteil. Ist die Entkalkung wirklich vollkommen, so ergibt sich bei der LGl-Behandlung das überraschende Bild, daß jetzt der ganze Knochen, der ursprünglich verkalkt ebenso wie der kalklose Anteil, ganz diffus die dichteste Gitterbildung erkennen läßt, die sich vordem nur an dem osteoiden Anteil darstellen ließ. Diese Gitterbildung ist naturgemäß sehr vergänglich; sie ist daher nicht immer über das ganze Präparat hin gleichmäßig zu erhalten, weil hier und da schon rasch die Aufhellung erfolgt. Auch hier vollzieht sich der Luftaustritt vom Rande der Markräume her, ohne aber daß jetzt — vollkommene Entkalkung vorausgesetzt — an der Grenzzone eine Verzögerung der Luftentweichung stattfände, wie für die unentkalkten und unvollkommen entkalkten Schnitte angegeben wurde. Noch während vom Rande her der Luftaustritt vor sich geht, bemerkt man auch im Innern der ursprünglich kalkhaltigen Abschnitte die Zeichen des Luftaustritts, und zwar erfolgt dieser stets in der Form regelmäßiger, sich langsam vergrößernder Kreise, in deren Mitte dann immer ein abgeblaßtes Knochenkörperchen zu erkennen ist. Durch Zusammenfließen der sich vergrößernden Kreise entstehen größere Flächen; bei weiterer Vergrößerung scheint eine gewisse Abhängigkeit von der Formation der Lamellensysteme vorhanden zu sein. Jedenfalls ist die Übereinstimmung des ganzen Vorganges der Luftfüllung zwischen diesem künstlich „osteoid“ gemachten Knochengewebe und dem ursprünglich osteoiden der früheren Präparate unverkennbar.

Benutzt man nun Präparate, die noch nicht ganz vollkommen entkalkt sind, so erhält man hier Bilder wie bei den  $P_1$ -Präparaten, nur daß hier im kalkhaltigen Knochen verstreut, manchmal auch zu kleineren Flächen zusammengeordnet, sich kreuzende dunkle Linien und Strichelchen, sowie punktförmige Figuren auftreten, die in ihrer dichten Zusammensetzung den Bildern der Luftfüllung der  $P_2$ -Präparate durchaus nahe kommen.

Anders liegen die Dinge bei der Anwendung der L Gl-Methode auf E- und S-Präparaten; hier gelang es mir nicht, eine Luftfüllung zu erzielen, weil das Eindringen des Glyzerins momentan erfolgt.

Was durch die L Gl-Methode nicht möglich war, erreichte ich aber sehr leicht durch die L B-Methode. Nach dieser Methode behandelte M I E- resp. M II E-Schnitte zeigten eine dichte gittrige, gleichmäßige Luftfüllung des gesamten Knochengewebes, die im allgemeinen etwas zarter erschien als die Luftfüllung der P<sub>2</sub>-Gl-Präparate. Auch hier erfolgte die Aufhellung an den Rändern, unter raschem Zarter- resp. Durchsichtigwerden der gittrigen Zeichnung, dem dann rasch das gleichmäßige Verschwinden folgt.

Ganz anders waren zu meiner Überraschung die Bilder, die ich bei der L B-Methode von S-Präparaten erhielt. Hier entspricht merkwürdigerweise, wie ich schon bei den Angaben über die Technik kurz erwähnte, der ganze Vorgang fast vollständig den O-Präparaten, d. h. die Aufhellung erfolgt hier zunächst nur im ursprünglich kalkhaltigen Anteil, so daß zu einer bestimmten Zeit der Untersuchung der ursprünglich kalkhaltige Anteil durchsichtig ist und nur die Zeichnung der Knochenkörperchen aufweist, während alles ursprünglich kalklose Gewebe durch Luftfüllung schwarz bleibt. Neben den Knochenkörperchen sieht man im ursprünglich kalkhaltigen Anteil bei nicht zu starker Aufhellung zunächst auch die Lamellenzeichnung verhältnismäßig deutlich. Wenn auch die Bilder nicht den für die O-Präparate geschilderten vollauf entsprechen, so sieht man doch, daß die Lamellen quergetroffener Fibrillen sich als dunklere Linien gegen die der längsgetroffenen abheben. Über dieses eigenartige Verhalten der S-Präparate werde ich später noch mehr zu sagen haben.

#### b) Befunde bei Anwendung der Kohlensäuremethoden.

Über die Anwendbarkeit der K-Methoden für feine Schnitte verschiedener Bereitung im allgemeinen habe ich bereits gesprochen. Ich erwähnte auch bereits, daß diese Methoden den Luftmethoden nicht ohne weiteres gleich zu setzen sind, wie dies von allen früheren Untersuchern geschehen ist. Nur A p o - l a n t berührte kurz diesen Punkt, indem er angab, daß die Luftfüllung viel vollständiger sei als die Kohlensäurefüllung und oft sehr ausgesprochen auftrete, wenn die K-Füllung versage. Man darf nicht vergessen, daß die L-Methoden ein Verfahren darstellen, bei dem aller Voraussicht nach etwa vorhandene Spalträume (durch den Akt der Austrocknung) erweitert werden müssen; die K-Methoden dagegen finden die Spalträume in ihren natürlichen, wohl feineren Verhältnissen vor. Aber auch die drei K-Methoden sind unter sich ebensowenig gleichwertig. Wie ich bereits vorher zeigte, kommt bei der K Gl,-Methode überhaupt keine Kohlensäurefüllung zustande, sondern die bei Schläifen und dicken Schnitten auftretenden Bilder entstehen durch die verschiedenen Lichtbrechungsverhältnisse der nicht sofort in allen Teilen diffundierenden flüssigen Medien. Bei den von uns angewandten dünnen Schnitten erfolgt nun die Diffusion so rasch, daß nur ab und zu an umschriebenen Stellen die Knochenkörperchen optisch hervortreten. Daß hier die Gitterbildungen überhaupt nicht kenntlich werden, kann nicht wundernehmen.

Und bei der  $K\text{Gl}_3$ -Methode ist die Entstehung der K-Füllung streng an den Kalkgehalt des die Kanälchen umgebenden Knochengewebes gebunden, da eben aus diesem Knochen die Kohlensäure entsteht. Schon bei  $P_1$ -Präparaten gelingt die Füllung der Knochenkörperchen auf diesem Wege bei weitem nicht in der Vollständigkeit wie bei den O-Präparaten. Wo also überhaupt kein Kalkgehalt ist, kann man auch keine Kohlensäurebildung und daher weder gefüllte Knochenkörperchen, noch Gitter erwarten. Die Folge ist, daß bei der Untersuchung von O-Schnitten nach dieser Methode die osteoiden Säume und die osteoiden Züge geflechtartig geordneten Knochengewebes von gasgefüllten Knochenhöhlen und Gittern vollständig frei sein müssen.

Nach den vorausgegangenen Ausführungen dürfte es aber wohl verständlich sein, daß sowohl die Knochenkörperchen im kalkhaltigen Anteil gasgefüllt sind, als auch die Knochenhöhlen und die Spalträume in der Pommere - Zone; denn auch in den letzteren, besonders in dem ungefärbten, stärker kalkhaltigen Anteil, genügt der Kalkgehalt zur Bildung von Kohlensäure, die nun die Spalträume des eingeschlossenen kalklosen Knochengewebes zu füllen imstande ist. Nur ist die Gitterbildung hier auch nicht annähernd so über das ganze Präparat verbreitet wie bei den L-Methoden. Man sieht sie auch bei sofortiger Untersuchung immer nur an einzelnen Stellen in kurzen Strecken, ganz besonders an den Stellen tiefer Buchten; in denen bekanntlich die Pommere - Zone stets eine besondere Breite aufweist. Hier finden sich zuweilen auch die konzentrisch übereinander gelagerten Gitter, entsprechend den durch die etappenweise erfolgende Verkalkung konzentrisch übereinander geschichteten Pommere - Zonen. Es entstehen also auf diese Weise genau die Bilder, die v. Recklinghausen seinen Ausführungen zugrunde gelegt hat. Es ist die Luftfüllung der Knochenkörperchen streng gegen die kalklosen Säume abgeschlossen; Gitter treten vorwiegend an den Grenzonen auf, gehören aber durchaus dem kalkhaltigen Anteil an und reichen nicht in den kalklosen Saum hinein. Und auch das gelegentliche Auftreten von Gittern des Typus II im Innern des kalkhaltigen Knochengewebes dürfte nach dem Vorangegangenen verständlich sein. Viel häufiger finden sich aber die Gitter des Typs I (vgl. Fig. 7, Taf. X); sie entstehen hier ebenso wie in der folgenden  $K\text{Gl}_3$ -Methode, wo ich ihnen noch einige Worte widmen werde.

Auch die  $K\text{Gl}_3$ -Methode ist wieder von den anderen beiden wesentlich unterschieden, und zwar, wie schon erwähnt, dadurch, daß hier die Kohlensäurebildung nicht an den Kalkgehalt aus chemischen Gründen gebunden ist, weil sie aus den Medien während der Behandlung selber entsteht.

Daß bei dieser Methode die Kohlensäure auch in die Räume des kalklosen Knochens eindringt, konnte ich, wie bereits erwähnt, erweisen. Sind die Knochenhöhlen des kalklosen Anteils gefüllt, so finden sich auch hier und da zarte gitterige Figuren innerhalb des kalklosen Gewebes. Beides verschwindet aber fast momentan. Hierzu paßt vorzüglich die Angabe v. Recklinghausen, daß in dem kalklosen Anteil „höchstens einmal vereinzelte gefüllte Knochenkörperchen und federfahnennartige Gebilde vorhanden sind“.

Es ergibt sich daraus, daß die Kohlensäure auch in die Knochenkörperchen und Spalträume des kalklosen Knochengewebes eindringt, daß sie aber bei Gl- oder Z-Zusatz so rasch wieder entweicht, daß die entstehenden Bilder einer Beobachtung kaum zugänglich sind, viel rascher jedenfalls als die Luft bei der L Gl- oder L Z-Methode. Es ist eben die Kohlensäure ein anderes Gas als die Luft und daher auch in ihrem Verhalten gegenüber feinsten Spalträumen und gegenüber dem andringenden Glyzerin nicht unbedingt den gleichen Gesetzen unterworfen wie die Luft. Und andererseits ist nicht zu erkennen, daß durch die Austrocknung auch eine Veränderung der Spalträume (Erweiterung oder dgl.) vor sich gehen mag, die für das unterschiedliche Resultat von Bedeutung sein mag. Vielleicht dringt auch die Kohlensäure bei der Feinheit der natürlichen Spalten nur in den oberflächlichen Anteil derselben ein, während die Erweiterung der Spalträume beim Austrocknen die Luft auch in die tiefer gelegenen Spalträume dringen läßt, wo sie dann auch begreiflicherweise fester und länger haftet.

Genau so aber wie bei der L Gl-Methode bleibt die Gasfüllung aus physikalischen Gründen in dem kalkhaltigen Anteil längere Zeit bestehen, so daß auch hier für die einfache Beobachtung Bilder entstehen, die den vorher bei der K Gl<sub>2</sub>-Methode gemachten Angaben entsprechen. Hier aber läßt sich dann eben auch direkt nachweisen, daß die Spalträume oder die von ihnen abhängigen Gitterfiguren zunächst auch auf das kalklose Knochengewebe sich ausdehnen, und daß die der gewöhnlichen Beobachtung zugänglichen Bilder nur einem Schwinden der ursprünglichen Gasfüllung und einem aus physikalischen Gründen auftretenden längeren Haftenbleiben an den Stellen vorhandenen Kalkgehalts ihre Entstehung verdanken.

Recht häufig und oft in großer Verbreitung finden sich hier die bereits bei der K Gl<sub>2</sub>-Methode erwähnten Gitter I. In Fig. 7, Taf. X ist ein solches Präparat gezeichnet, das bei der K Z<sub>3</sub>-Methode gewonnen wurde. Auch hier ist die zarte Zeichnung, wie bei der L B-Methode beschrieben, aus zarten, runden und länglichen Tröpfchen zusammengesetzt, die in ihrer Anordnung dem Verlauf der quergetroffenen Lamellen entsprechen. Der morphologische Unterschied der beiden Gitterarten geht aus der in dem gleichen Präparat gezeichneten Gitterbildung in der P o m m e r - Zone deutlich hervor.

Zweierlei ist hier für die Gitter I zu bemerken: Erstlich liegen die gefüllten Knochenkörperchen niemals in der gleichen Ebene wie diese Gitter — im Gegensatz zu Gitter II. Man kann durch verschiedenes Einstellen des Tubus leicht feststellen, daß die Lage der Gitter fast immer der Unterfläche des Präparats, seltener der Oberfläche entspricht, ein Punkt, der auch von v. Recklinghausen gelegentlich kurz erwähnt wurde. In Fig. 7, Taf. X sind die Knochenkörperchen nur zum Vergleich scharf gezeichnet worden. Weiter konnte ich mehrfach beobachten, daß mit dem plötzlichen Verschwinden der Luftfüllung in einem Knochenkörperchen gleichzeitig die GI-Figur um einige Ansätze gleicher Form sich vergrößerte. Es

ist also durch einen Luftaustritt aus der Tiefe unter unseren Augen ein Bild gleicher Art entstanden. Auf alles dieses komme ich noch bei der Deutung der Gitter I zurück.

Nach dem, was ich vorher ausgeführt habe, glaube ich den Beweis erbracht zu haben, daß das Phänomen der gittrigen Luftfüllung, wie es durch die L-Methoden so überaus schön darzustellen ist, nicht an einen unvollkommenen Kalkgehalt geknüpft, sondern an dem ganzen überhaupt vorhandenen k a l k l o s e n Knochen-gewebe selber darstellbar ist und in dem Bau des kalklosen Knochen-gewebes seinen Grund findet. Die gegenteiligen Angaben der früheren Autoren erklären sich entweder durch eine unzutreffende Deutung der Befunde (s. später), oder dadurch, daß die Beobachter erst spätere Stadien zu Gesicht bekamen, in denen die Luft zum Teil schon wieder ausgetreten war. Da dieser Luftaustritt nachweislich von dem dem Markraum zugekehrten Rande her nach dem kalk-haltigen Knochen resp. der P o m m e r -Zone zu fortschreitet, so stellen die von v. Recklinghausen, A p o l a n t u. a. be-schriebenen, auf die Grenzzone beschränkten Gitter (Gitter II) nur die R u d i m e n t e d e r u r s p r ü g l i c h e n G i t t e r b i l d u n g d a r , die sich über das ganze kalklose Knochengewebe hin aus-dehnte.

Und weiter! Am wenigsten der Beobachtung zugänglich wegen der Vergänglichkeit der Gasfüllung sind die Gitterbildungen des kalklosen Anteils bei der  $K\text{Gl}_3$ -Methode. Und bei der  $K\text{Gl}_2$ -Methode k ö n n e n im kalklosen Anteil die zweifellos ebenfalls vorhandenen Spalträume nicht sichtbar gemacht werden, weil zum Entstehen der Kalkgehalt die notwendige Voraussetzung ist. Hier m ü s s e n die Gitterfiguren auf den stark kalkhaltigen (ungefärbten) Anteil der P o m m e r -Zone beschränkt sein. Hieraus ergibt sich, daß bei der vorzugsweisen Benutzung der K-Methoden die von v. Recklinghausen gegebenen Bilder als das Typische erscheinen müssen, und die von ihm gegebene Deutung, wenn sie auch an sich nicht zutrifft, wird hierdurch verständlich.

#### 4. Über das Wesen der Gitterfiguren.

Ich beginne mit den zarten Gittern I (vgl. Fig. 7, Taf. X), die immer nur innerhalb des kalkhaltigen Knochens an unentkalkten Schnitten auftreten, und die sich sowohl bei der L B-Methode bei

richtiger Unterbrechung der Aufhellung, als auch durch die  $KGl_2$ - und  $KGl_3$ - resp.  $KZ_2$ - und  $KZ_3$ -Methoden darstellen lassen. Den Schlüssel für das Verständnis dieser Bilder gibt die LB-Methode.

Wie schon erwähnt, erscheint ein ausgetrockneter Knochenschnitt wie ein trockner Schliff bei durchfallendem Lichte durchweg schwarz. Wir kennen seit Kruckenberg und v. Ebner als Ursache hierfür neben der Luftfüllung sämtlicher Hohlräume die Unregelmäßigkeiten der Schnittoberfläche. Um größeren Störungen dieser Art zu begegnen, wurde von v. Ebner u. a. stets auf das Polieren fertiger Schritte als ein notwendiges Erfordernis hingewiesen, und gerade in dem Ausgleich dieser Unregelmäßigkeiten bestand, wie schon betont, der durch die Kruckenberg-sche Methode gegebene große Fortschritt.

Daß solche Unregelmäßigkeiten bei einem Schnitt durch kalkhaltigen lamellösen Knochen, in dem unverkalkte Fibrillen und verkalkte Kittsubstanz zusammengelagert sind und eine innige Durchkreuzung aufweisen, auf den Schnittflächen entstehen müssen, liegt auf der Hand. Gerade in der wechselnden Anordnung der Lamellen liegt eine reiche Quelle von Niveaudifferenzen der Schnittfläche beschlossen. Hiervon kann man sich leicht auf die folgende Weise überzeugen: Nimmt man einen SC-Schnitt einer normalen Kompakta und wendet man die Methode Kruckenbergs an, so sieht man bei stärkerem Eindringen des Balsams jede Struktur verschwunden; findet man aber in dem gleichen Präparat, wie das nicht selten vorkommt, an einer oder der anderen Stelle eine ausgedehnte flache Luftsicht (flache Luftblase) über dem Schnitt in dem Balsam eingeschlossen, so zeigt sich genau in dem gleichen Bezirk die lamellöse Struktur des Knochens in überraschender Deutlichkeit. Daß diese Erscheinung nur von der darüber liegenden Luftsicht abhängig sein kann, darüber kann sich bei dem jedesmaligen Zusammentreffen der beiden Faktoren ein Zweifel nicht erheben; dazu kommt, daß sonst an diesen Stellen von einer Luftfüllung im Innern des Knochens nicht das Geringste mehr zu erkennen ist. Es scheint mir, soviel ich sehe, daß es für diese Erscheinung nicht recht eine andere Erklärung gibt, als das Bestehen von Niveaudifferenzen, die von der lamellären Struktur abhängig sind.

Bei dem Eindringen des Balsams bei O-Schnitten und Anwendung der L B-Methode entstehen nun, bevor die Aufhellung der Grundsubstanz vollkommen ist, d. h. bevor alle Niveaudifferenzen der Oberfläche ausgefüllt sind, die zarten Figuren, die ich als Gitter I zusammenfaßte. Wie sind diese Bilder zu erklären?

Nach dem, was vorher über die Wirkung des Kanadabalsams überhaupt gesagt wurde, ist meiner Ansicht nach die einzige mögliche Erklärung die, daß der Balsam sich zunächst den Lamellen mit längs getroffenen Fibrillen anschmiegt und noch zwischen sich und den quer getroffenen Fibrillen einige Zeit eine feinste Luftsicht beläßt. Hier sind also die optischen Erscheinungen ähnlich wie bei den oben geschilderten Verhältnissen der deckenden Luftsicht bei S-Schnitten, nur ist alles den Verhältnissen entsprechend viel feiner und zarter. Vor allem aber setzt sich hier die dunklere Zeichnung der quergetroffenen Fibrillen deutlich aus zahlreichen rundlichen und länglichen Tröpfchen zusammen (vgl. Fig. 7, Taf. X). Wenn nun aber der Balsam beim Einwirken auf die freie Oberfläche des Schnittes sich zunächst mit den Lamellen längsgetroffener Fibrillen verbindet, und es erst weiterer Erwärmung bedarf, bis er sich auch den Lamellen quergetroffener Fibrillen in allen Teilen anschmiegt, so folgt daraus, daß örtliche Verhältnisse vorhanden sein müssen, die das Andringen des Balsams an die Lamellen quergetroffener Fibrillen erschweren. Es kann dies wohl mit dem Verlauf der Fibrillen in diesen Bezirken in Zusammenhang gebracht werden, sei es, daß die unverkalkten Fibrillen hier und da in kurzen Stummelchen vorstehen, sei es, daß sie sich nach dem Durchschneiden etwas in ihren Kanal zurückgezogen haben. Für die erstere Annahme sprechen die Bilder, die ich bei der Karminfärbung von alaunvorbehandelten Schnitten besprach (vgl. S. 391); für die letztere lassen sich andere unterstützende Befunde unschwer erheben.

Die zweite Annahme wird besonders für die Trockenmethode in Frage kommen können. Hier wird eine Verkürzung der Fibrillen durch Schrumpfungen bei der Austrocknung leicht vorstellbar sein. Hierbei würden sie sich von der Schnittfläche innerhalb ihrer verkalkten Scheide zurückziehen können, wodurch an der Oberfläche der Anfangsteil der Scheide leer wird, also eine kleine, kanalartige Vertiefung der Oberfläche entsteht. Hier wird der

Balsam nicht ebenso rasch eintreten können, wie er sich der übrigen Oberfläche anschmiegt, so daß optisch bei einem bestimmten Grad der Luftfüllung diese blinden, kurzen Kanälchen als feinste rundliche oder längliche Luftbläschen erscheinen müssen, was in der Tat, wie schon erwähnt, der Fall ist. Bei der Kürze dieser Luftkanälchen — es handelt sich nur um oberflächliche Niveau-differenzen — müssen die optischen Erscheinungen naturgemäß zart sein, was, wie erwähnt, ebenfalls zutrifft. Der gleiche Vorgang kann sich bei den längsgetroffenen Fibrillen deswegen nicht abspielen, weil diese ihrer ganzen Länge nach, z. B. in den konzentrischen Lamellen eines H a v e r s s e n s Systems, an ihrer Stelle gehalten werden dadurch, daß sie einen in sich geschlossenen Ring bilden und in ganzer Länge in den Kalkmantel eingeschlossen sind.

Die gegebene Deutung für das optische Hervortreten der quergetroffenen Lamellenzüge bei bestimmten Stadien der Luftfüllung wird nun sehr wesentlich in ihrer Verläßlichkeit durch die Bilder unterstützt, die man durch die Kr u k e n b e r g s e h e Methode an g e g l ü h t e n G-Schnitten von O-Präparaten machen kann. Hier sind die kollagenen Fibrillen durch den Akt des Glühens vollständig zerstört: wir erhalten also statt der oberflächlichen Vertiefungen an der Stelle der quergetroffenen Fibrillen durch das Präparat hindurchziehende feinste Kanälchen. Optisch muß die Erscheinung in diesen Bezirken ähnlich sein wie an den gleichen Stellen der zuletzt besprochenen Präparate, nur müßten die entstehenden Zeichnungen dunkler sein. Da aber die Zeichnungen, um als solche erkennbar zu werden, einer relativ hohen Aufhellung bedürfen, die nur durch Eindringen des Balsams in die Anfangsteile dieser Röhrechen geschaffen werden kann, so wird es im wesentlichen darauf hinauskommen, daß auch im geglühten Präparat die quergetroffenen Fibrillen bei genügender Aufhellung als dichtgedrängte, feinste Punkte erscheinen müssen, wenn die oben gegebene Deutung richtig ist. Die Fig. 9, Taf. X zeigt nun mit völliger Deutlichkeit, daß diese Annahme zutrifft. An Stellen, wo das zunächst sichtbare, undurchdringliche Gewirr von Punkten und Strichen sich durch Eindringen des Balsams in die Kanäle optisch aufhellt, sehen wir die feinen Luftpünktchen der quergetroffenen Fibrillenkanäle mit hinreichender Deutlichkeit. Zum Unterschiede

von einfachen ausgetrockneten OG-Präparaten müssen hier natürlich auch die längsgetroffenen Lamellenzüge ein optisches Bild geben, da sie von längslaufenden Röhrchen, den nach dem Glühen leeren Fibrillenkanälchen, durchsetzt werden. In völliger Übereinstimmung hiermit sieht man in der Fig. 9, Taf. X die längsgetroffenen Lamellen aus feinsten Strichelchen und dichtgedrängten Linien zusammengesetzt. Man muß nach allen diesen Bildern annehmen, daß auch die *inter fibrilläre*, nicht nur die *interfaszikuläre* Kittsubstanz verkalkt ist. Insofern unterscheidet sich dieses Bild von dem von v. Ebner gezeichneten, da der letztere diese längsgetroffenen Lamellen als eine einheitliche dunkle Linie zeichnet, während sie sich in den von mir beobachteten Bildern deutlich als Züge dichtgedrängter paralleler oder annähernd parallel laufender Linien zusammensetzen. Es mag wohl der Unterschied nicht zum wenigsten in der Dünne meiner Schnitte liegen, die auch wohl der feinste Schliff nicht erreichen kann. Jedenfalls sprechen diese, wie alle sonstigen von mir erhobenen Befunde, in voller Übereinstimmung für die Richtigkeit der Annahme v. Ebners über die Anordnung des Kalks im Knochengewebe.

Daß aber die durch die Austrocknung gegebene Verkürzung der Fibrillen *allein* das Ausschlaggebende nicht sein kann, beweist die Tatsache, daß ähnliche, wenn auch im allgemeinen noch zartere und durchsichtigere Bilder auch bei den K-Methoden erhältlich sind. Es muß also wohl schon die einfache Durchschneidung der Fibrillen in querer Richtung zu Unregelmäßigkeiten der Oberfläche an den betreffenden Stellen führen, in der Art, wie ich es oben vorher angab, — zu Unregelmäßigkeiten, die die Lamellen mit längsgetroffenen Fibrillen in der gleichen Reichhaltigkeit nicht abgeben können.

Daß es wirklich Niveaudifferenzen der äußeren Oberfläche sind, die die zarten Gitter I auch bei den K-Methoden hervorrufen, geht neben der Übereinstimmung mit den Bildern, die man beim allmählichen Eindringen des Balsams erhält, auch noch aus anderen Momenten hervor. Ich erwähnte vorher, daß die Gitter I nicht mit den gefüllten Knochenkörperchen in einer Ebene liegen, sondern in ihrer Lage der Oberfläche oder, noch gewöhnlicher, der Unterfläche des Präparates entsprechen. Ferner ist die Abhängigkeit von der lamellenlosen Struktur und die Zusammen-

setzung aus feinsten Tröpfchen, die besonders bei stärkster Vergrößerung erkennbar ist, höchst bemerkenswert. Und schließlich ist auch sonst die Anpassung der deckenden Luftschicht an vorhandene Niveaudifferenzen g r ö b e r e r Art oft genug zu konstatieren. In Fig. 8, Taf. X ist z. B. das Bild gezeichnet, das ich in demselben Präparat (also o h n e Austrocknung) in dem derben Bindegewebe des Periosts erhielt. Auch hier ist die Anpassung der Luftblase an die fibrilläre Struktur unverkennbar, ebenso die Bildung von — sit venia verbo — Luftwürstchen, die als Vergrößerung und Vergrößerung der angegebenen länglichen Tröpfchen der Gitter I imponieren. Und auch eine weitere Analogie ließ sich konstatieren. In dem gezeichneten Falle trat nämlich mehrfach rückweise, unter Verkleinerung der Blase, ein Ausschießen, eine Verlängerung der parallel laufenden Luftwürstchen auf. Genau den entsprechenden Vorgang konnte ich nun auch mehrfach bei der Beobachtung der Gitter I feststellen. Ich sah mehrfach, daß plötzlich ein oder zwei luftgefüllte Knochenhöhlen verblaßten, und gleichzeitig wie mit einem Ruck sich die zarten Figuren der Gitter I etwas weiter über die Fläche a u s d e h n t e n. Es ist dieser Vorgang im Zusammenhang mit jener Beobachtung wohl nur so zu deuten, daß die aus den Knochenkörperchen austretende Kohlensäure sich in allerdünner Schicht an der Unterresp. Oberfläche des Knochenschnittes ausdehnte und sich in feinste Tröpfchen auflöste, die sich den vorhandenen feinen Unregelmäßigkeiten dieser Oberfläche in der beschriebenen Weise anpaßten.

Nach allem, was ich gesehen habe, dürfte es keinem Zweifel unterliegen, daß das optische Hervortreten der quergetroffenen Lamellen eine Folge der geschilderten Niveaudifferenzen ist, und daß die zarteren Figuren, die durch Ausdehnung solcher Zeichnungen über eine größere Fläche entstehen, und die mit dem von A p o l a n t in Fig. 8, Taf. X gezeichneten Bilde eine so auffallende Übereinstimmung haben, ebenfalls diesem Umstande ihre Entstehung verdanken. Danach wären diese als Gitter I bezeichneten Figuren nichts anderes als der durch die Auflagerung feinster Gaspartikelchen bewirkte optische Ausdruck von Niveaudifferenzen an der Oberfläche, die der Knochenschnitt

infolge seiner Struktur aufweist. Daß sie nur im kalkhaltigen Anteil zur Beobachtung gelangen, kann schon deswegen nicht wundernehmen, weil im kalklosen Knochen und in der Pommern-Zone die durch die Spalträume bewirkten Bilder (Gitter II) das ganze Bild beherrschen, so daß die optischen Phänomene feinerer Art nur dort erkennbar sein können, wo keine luftgefüllten Spalträume vorhanden sind.

Im allgemeinen haben jedoch diese zarten Figuren (Gitter I) nicht so sehr im Vordergrunde der Diskussion gestanden. Die Figuren, die die Hauptstütze der ganzen Auffassung von v. Recklinghausen und seiner Schule abgeben und die allein von Hanau und Berthelot berücksichtigt wurden, um die sich in der Tat die ganze Streitfrage dreht, das sind die dichten, aus gekreuzten Linien zusammengesetzten Figuren, die von allen bisherigen Beobachtern ausschließlich auf die Pommern-Zone lokalisiert wurden. Es dürfte aus dem Vorangegangenen mit Sicherheit hervorgehen, daß die Annahme, die Gitterbildung sei auf die Zone eines partiellen Kalkgehalts beschränkt, durchaus unhaltbar ist. Es handelt sich hierbei vielmehr um eine Eigenschaft des kalklosen Knochengewebes, die ihm wegen seiner Struktur innewohnt, und die ihm auch bei partiell Kalkgehalt erhalten bleibt.

Worin besteht nun das Wesen dieser gittrigen Zeichnung?

Ich will zuerst die bei der L-Methode gewonnenen Bilder berücksichtigen. Daß es sich hierbei um feinste, luftfüllbare Spalträume handelt, geht aus der ganzen Morphologie mit Sicherheit hervor.

Wenn man berücksichtigt, daß das kalklose Knochengewebe sich aus dichtgedrängten Fibrillen zusammensetzt, die zu Bündeln zusammengeordnet sind, und daß diese Bündel teils sich wirr durchflechten (geflechtartig geordnetes Knochengewebe), teils nebeneinander gereiht Lamellen bilden, die in ihrem Zusammenschluß eine regelmäßige Abwechslung der Fibrillenrichtung aufweisen (lamellöser Knochen), so kann die Deutung der durch die Gasfüllung entstandenen gittrigen Figuren nicht auf Schwierigkeiten stoßen. Wenn die Fibrillen in ihrer Anordnung durch eine weiche Kittsubstanz zusammengehalten werden, so ist es ersicht-

lich, daß im ganzen kalklosen Knochengewebe zahlreiche Spaltbildungen vorhanden sein müssen, von denen man drei Arten unterscheiden kann:

1. die zwischen den Fibrillen und der interfibrillären Kittsubstanz liegenden,
2. die zwischen den Fibrillenbündeln und der interfaszikulären Kittsubstanz liegenden,
3. die zwischen den Lamellen und der interlamellären Kittsubstanz liegenden.

Auf diese Verhältnisse wurde schon in der grundlegenden Arbeit v. E b n e r s kurz hingewiesen. Ich möchte für die folgenden Ausführungen alle diese Spaltbildungen als „*Interfibrillärspalten*“ zusammenfassen. Ob nun diese Spalten schon *intra vitam räumlich* Ausdehnung haben und dann vielleicht von Gewebsflüssigkeit erfüllt sind, oder ob die Räume an diesen Stellen *als solche* erst durch die Behandlung entstehen, das muß ich dahingestellt sein lassen. In jedem Falle ist es vollkommen verständlich, daß bei der *A u s t r o c k n u n g s* methode, die begreiflicherweise zu einer Schrumpfung nicht nur der kollagenen Fibrillen, sondern auch der organischen Kittsubstanz führen wird, nachweisbare Räume an den Stellen der Spalten auftreten, so daß jetzt das kalklose Knochengewebe von einem zusammenhängenden dichten Kanalsystem leerer, lufthaltiger Spalträume durchsetzt ist, das in seiner Anordnung der Anordnung der Fibrillen durchaus entsprechen muß. Und wenn wir, wie in der *L B*-Methode, ein so feines Mittel zur Darstellung lufthaltiger feinster Räume besitzen, so ist es durchaus verständlich, daß die interfibrillären usw. Spalträume zu den beschriebenen Figuren führen müssen. Dafür, daß auch unter *natürlichen* Verhältnissen eine gewisse Raumausdehnung der Spalten vorhanden ist, spricht der Befund bei der Kohlensäurefüllung *frischer* Präparate, es sei denn, daß schon die Alaunbehandlung Veränderungen der organischen Substanz bedingt, die zur Entstehung von nachweisbaren Räumen an den Stellen der Spalten führen. Sicher ist, daß die *luftgefüllten* *gitterigen* *Figuren* mit den *Interfibrillär-* usw. *Spalten* v. Ebners der Lage nach zusammenfallen. Nicht aber treten diese luftfüllbaren Spalten nur da auf, wo die Interfibrillärräume durch

partielle Kalkablagerung „abgesteift“ werden, wie dies von allen früheren Autoren angenommen wurde, sondern, wie ich zeigen konnte, in dem *g a n z e n k a l k l o s e n K n o c h e n g e w e b e* überragt als Zeichen der fibrillären Struktur und infolge fehlender Kalkeinlagerung.

Daß nach erfolgter vollkommener Kalkeinlagerung die Luftfüllung von Spalträumen unmöglich ist, ergibt sich von selber: Die organische Kittsubstanz wird durch den Kalkgehalt in ihrer Lage festgehalten; eine Schrumpfung ist nicht möglich. Und auch die Fibrillen sind in der verkalkten Umgebung zu fest eingemauert, um mehr entstehen zu lassen, als — auf Querschnitten — die Gitter I.

Daß aber der Kalkgehalt eine *v o r h a n d e n e* Luftfüllung relativ lange festhält, das ergibt sich am besten aus dem verschiedenen Verhalten der Luftfüllung in den Knochenkörperchen des kalkhaltigen und kalklosen lamellösen Knochengewebes. Schon wenn die Luft aus allen Knochenkörperchen der kalklosen Säume geschwunden ist, hält sie sich in den benachbarten, im kalkhaltigen Knochenanteil gelegenen Knochenkörperchen noch längere Zeit unverändert; dabei ist die Grenze, abhängig vom Kalkgehalt, absolut scharf. Nicht aber röhrt dieses Faktum davon her, daß, wie v. Recklinghausen annahm, die Knochenkörperchen des kalklosen Knochens gegen den kalklosen Saum hin abgeschlossen seien, oder daß gar in den kalklosen Säumen die Knochenkörperchen überhaupt geschwunden wären, sondern einzig und allein daher, daß die Luft aus dem kalklosen Knochengewebe unverhältnismäßig leichter entweicht. Denn es ließ sich leicht nachweisen, daß zunächst auch in den kalklosen Säumen Knochenhöhlen, wie Interfibrillärräume aufs schönste gefüllt sind. Man wird nicht fehlgehen, wenn man in physikalischen Verhältnissen (Rauhigkeit der Wandungen, Oberflächenspannung usw.) den Grund für das unterschiedliche Verhalten der Luftfüllung sucht. Auch ist es denkbar, daß die feinen Kanäle der Ausläufer durch die Einlagerung von neuen Substanzen bei der Verkalkung der Grundsubstanz noch weiter eingeengt werden. Dazu kommt, daß die gleichzeitige Anwesenheit des interfibrillären Kanalsystems im kalklosen Knochengewebe reichliche Wege für den Austritt der Luft gewährt, die dem kalkhaltigen Knochen vollkommen fehlen.

Das gleiche Moment ist nun auch zweifellos der Grund, warum die Gitter sich in der P o m m e r-Zone relativ lange halten. Der Vorgang des Verschwindens der Gitter ist nicht so, daß die Erscheinung vom freien Rande her bis zum völligen Abbllassen in gleichmäßiger Bewegung fortfährt; dies ist nur so lange der Fall, bis der Rand der P o m m e r-Zone erreicht ist; dann sistiert der Vorgang zunächst auf einige Zeit, und die Reste der Gitter in der P o m m e r-Zone verblassen erst, kurz bevor die Knochenkörperchen im kalkhaltigen Knochen selber verschwinden. In der P o m m e r-Zone ist einerseits noch genügend kalkloses Knochengewebe vorhanden, um die Erscheinung der Gitterbildung zuwege zu bringen, andererseits wird aber durch den schon vorhandenen Kalkgehalt bewirkt, daß aus den oben erwähnten Gründen der Austritt der Luft verzögert wird. Noch ein weiterer Umstand kommt jedoch bei der P o m m e r-Zone hinzu, der hier zu einer leichten morphologischen Eigenheit der gittrigen Zeichnung führen kann. Aus dem Wechsel von verkalkter und unverkalkter Kittsubstanz — hier liegt nach P o m m e r das Wesen der partiellen Verkalkung — ergeben sich morphologische Verhältnisse, die wohl geeignet sind, auch bei der Austrocknung und Luftpfüllung einen sichtbaren Unterschied gegenüber dem einfachen kalklosen Knochengewebe hervorzurufen. Ein solcher Unterschied ist nach dem, was ich gesehen habe, bei der LGl-Methode nicht wahrnehmbar; die Dichte der Gitter und das rasche Ein schmelzen lassen hier wohl die Beobachtung feinerer Nuancen nicht zu. Wohl aber läßt sich ein solcher Unterschied bei der LB-Methode feststellen (man vergleiche hierzu die Fig. 6, Taf. X). Während schon im reinen kalklosen Knochengewebe die dichte Füllung geschwunden ist, besteht in der P o m m e r - Zone, und zwar deutlich abgesetzt gegen die Umgebung, eine dichte Füllung, die *zweifellos gegenüber der Luftpfüllung an dem kalklosen Gewebe Unterschied* zeigt. Es kommt eben durch die partielle Verkalkung ein Umstand hinzu, der eine Variation der Spaltraumbildung und damit eine Nuance der Luftpfüllungsbilder zuwege bringt. Doch muß daran festgehalten werden, daß im Wesen die Gitterbildung in der P o m m e r - Zone mit der der kalklosen Säume durchaus identisch ist und im Prinzip auch morphologisch mit ihr übereinstimmt.

Drei weitere Momente sind es, die die gegebene Deutung der Gitter II als Luft- resp. Gasfüllung der interfibrillären usw. Spalträume noch mehr unterstützen: Erstens sieht man nicht selten auch in einem gewissen Stadium der Luftfüllung eine deutliche Zeichnung in dem straffen kollagenen Bindegewebe des Periosts auftreten. Die Zeichnung besteht hier im wesentlichen aus parallel laufenden, dichten, tiefschwarzen Linien, die dem Verlauf der Fibrillen folgen. Auch hier muß es sich um Spalträume handeln, die zwischen den Fibrillenbündeln resp. zwischen den einzelnen Fibrillen vorhanden sind, und in denen die vorhandene Gewebsflüssigkeit durch Luft ersetzt wird. Der Unterschied der Zeichnung entspricht durchaus dem Unterschied der Anordnung und Form der Fibrillen in den Geweben beider Art.

Nicht unerwähnt lassen möchte ich hier, daß man auf diesem Wege sich auch von der feinen fibrillären Struktur des Faserknorpelgewebes überzeugen kann.

Bei meinen Untersuchungen über die osteoplastische Karzinose fand ich an den Knorpelstücken, die den untersuchten Wirbeln anhafteten, anderweitig interessante Bilder. Wenn hier die ursprüngliche Schwärzung allmählich durch Eindringen des Balsams in die Spalträume verschwindet, sieht man, daß der Schwund nicht gleichmäßig erfolgt, sondern es löst das Ganze sich in eine große Anzahl von elliptischen feinfibrillären Figuren auf, deren Zeichnung aus dem Schwarz mehr in ein lichtes Braun übergeht. Diese Braunfärbung ist schon von v. E b n e r bei dichter Füllung von Knochenkanälen beschrieben und in ihrer optischen Bedeutung gewürdigt worden. Das zwischen diesen Ellipsen liegende Knorpelgewebe zeigt ebenfalls eine fibrilläre Struktur, doch ist die Zeichnung zarter und die Anordnung der Fibrillen mehr unregelmäßig. Bei weiterer Aufhellung tritt nun das Schwinden der Luftfüllung immer zunächst in dem Zentrum jeder einzelnen elliptischen Figur auf, und man sieht, daß hier jedesmal eine Knorpelzelle liegt. Ist die Aufhellung fast bis zum Rande der Ellipsen vorgeschritten, so besteht das ganze Knorpelgewebe aus zartfibrillären elliptischen Ringen, in deren Mitte jedesmal eine Knorpelhöhle liegt. Diese Ringe verschwinden dann allmählich auch. Man hat hier den bestimmten Eindruck, daß die interfibrillären Spalträume jedes einzelnen „Zellterritoriums“ gegeneinander abgeschlossen sind.

Diese Dinge weiter zu verfolgen, lag nicht in dem Rahmen dieser Arbeit.

Und zweitens: Wenn durch die Behandlung zwischen den Fibrillen und im engen Anschluß an sie luftgefüllte Spalträume darstellbar sind, so ergibt sich aus der vorhandenen Struktur als

wahrscheinlich, daß durchaus ähnliche „Negativbilder“ sich werden erzeugen lassen müssen, wenn man im kalkhaltigen Knochen die Fibrillen durch Glühen entfernt. Nur kann man hier für die Interfazikulär- und Interlamellärspalten ein Analogon nicht erwarten, wohl aber durchaus für die Interfibrillärspalten, die schließlich den Gitterfiguren das charakteristische Gepräge verleihen. Ein Blick auf die Fig. 10, die eine Stelle eines geglühten  $M II P_1 C$ -Schnittes nach der LB-Methode behandelt wiedergibt, zeigt sehr schön, wie richtig diese Vermutung ist, und wie schön das hierbei entstandene Bild z. B. mit dem durch Luftfüllung des kalklosen Knochengewebes hergestellten Bilde der Fig. 6 ( $M II P_1 C$ -Schnitt) übereinstimmt.

Und an dritter Stelle stehen die Ergebnisse der durch Müller'sche Flüssigkeit vollkommen entkalkten Knochen; an dem auf diese Weise künstlich kalklos gemachten Knochengewebe entsprechen die Phänomene der Gitterbildung durchaus dem am ursprünglich kalklosen Knochengewebe erhobenen Befunde.

Allerdings stimmen hiermit die Bilder bei anderen Entkalkungarten, wie oben erwähnt, nicht immer vollkommen überein. Schon bei der als schonend angesehenen E-Methode zeigt sich ein Unterschied, insofern die E-Präparate der Luftfüllung nach der LGl-Methode nicht mehr zugänglich sind. Immerhin ist auch bei E-Präparaten nach der LB-Methode die fibrilläre Struktur des gesamten Knochens durch die Luftfüllung der Interfibrillärusw. Räume noch nachweisbar, wenn auch feinste Unterschiede in dem Aussehen der Bilder vorhanden sind.

Ganz anders ist dagegen das Verhalten der S-Präparate, insofern als ich hier im vorher kalkhaltigen Gewebe auch durch die LB-Methode niemals gittrige Luftfüllung herstellen konnte. Vielmehr gleicht das Bild im wesentlichen denjenigen Bildern, die man bei der Luftfüllung gänzlich unentkalkter Schnitte durch die LB-Methode gewinnt.

Man muß jedoch ohne weiteres zugeben, daß diese unterschiedlichen Ergebnisse nicht so vollständig unverständlich sind. Zunächst ist es noch keineswegs sicher, ob der kalkhaltige Knochen

einfach als kalkloses Gewebe plus Kalksalz anzusehen ist. Wir kennen die Bilder der präliminaren Eisenablagerung, die durch Gierke und Schmorr aufgedeckt wurden; es liegt nahe anzunehmen, daß auch im fertigen verkalkten Knochengewebe außer den Kalksalzen noch andere Salze sich finden, die durch die Entkalkungsmethoden nicht in gleicher Weise beeinflußt werden. Wir wissen ferner noch keineswegs sicher, wie die verschiedenen Entkalkungsmittel außer der Kalkentziehung auf die chemischen und physikalischen Verhältnisse des verkalkten Knochengewebes einwirken. Daß hier Unterschiede bestehen müssen, lehrt uns am besten die Karminfärbung. Färbt man zwei Stücke des gleichen Knochenstücks, die im übrigen völlig gleich behandelt wurden, von denen aber eins durch Müller'sche Flüssigkeit, das andere nach Schaffner durch Salpetersäure völlig entkalkt wurde, in der gleichen Karminlösung die gleiche Zeit, so nimmt das gesamte Knochengewebe des P<sub>2</sub>-Schnittes eine tiefkirschrote Farbe an, genau der entsprechend, die bei P<sub>1</sub>-Präparaten an dem kalklosen Knochengewebe allein auftritt, während das kalklose Knochengewebe der S-Schnitte kaum überhaupt die rote Farbe angenommen hat.

Man konnte also wohl darauf gefaßt sein, daß auch bei den Luftfüllungsmethoden, die in hohem Grade von der physikalischen Beschaffenheit der Fibrillen und der Kittsubstanz, insbesondere wohl auch von dem Freisein der Kittsubstanz von irgendwelcher besonderer Einlagerung abhängig sind, Unterschiede an dem Material verschiedener Entkalkungsart auftreten würden. Und bevor die Einzelheiten der Wirkung der verschiedenen Flüssigkeiten völlig klargelegt sind, wird man gut tun, sich einfach an die Tatsachen zu halten. Immerhin scheint es mir von besonderer Bedeutung zu sein, daß gerade bei der Entkalkungsart (P-Methode), die auch t i n k t o r i e l l (Karminfärbung) das entkalkte, ursprünglich kalkhaltige Knochengewebe dem ursprünglich kalklosen gleichstellt, auch die bei der Luftfüllung auftretenden Bilder in beiden Anteilen völlig gleich sind. In diesem Falle finden wir sowohl bei der LGl- wie bei der LB-Methode in dem gesamten Knochengewebe die gleiche Erscheinung wie an dem kalklosen Anteil der O und P<sub>1</sub>-Präparate — gewiß ein Beweis, daß das Auftreten der gittrigen Figuren ganz allgemein von der Anwesen-

heit kalklosen Knochengewebes und seiner fibrillären Struktur abhängig ist.

Mit einigen Worten sei noch des eigenartigen Verhaltens der S-Schnitte gedacht.

Ich glaubte bei den Befunden zunächst, daß die Schnitte doch noch etwas Kalk enthielten, überzeugte mich aber durch entsprechende Behandlung bald, daß diese Annahme nicht zutreffend sein konnte. Da auch zahlreiche andere Präparate, vor allem auch normaler Femur- und normaler Humerus-Knochen in S C-Schnitten das gleiche Verhalten des kalkhaltigen Knochens aufwiesen, mußte ich hierin ein gesetzmäßiges Verhalten erblicken. Der Gedanke, der zunächst auftritt, ist wohl der, daß durch die Salpetersäurebehandlung eine Veränderung, vielleicht eine Quellung der Fibrillen erfolgt ist, so daß die spätere Austrocknung nicht in gleicher Weise das Auftreten der Spalträume herbeiführt. Dies kann aber aus dem Grunde nicht zutreffen, weil dann unbedingt auch die Fibrillen des kalklosen Anteils das gleiche Schicksal treffen müßte. Und doch ist hier im Gegensatz zum kalkhaltigen Anteil eine dichte Gitterbildung nachweisbar. Man wird sich den Vorgang kaum anders erklären können, als daß entweder bei der Verkalkung neben den Kalksalzen noch andere Stoffe abgelagert werden, die bei der Salpetersäurebehandlung nicht in gleicher Weise weichen oder aber daß durch die aus der Behandlung folgenden chemischen Umsetzungen bei der Entfernung der Kalksalze in der Kittsubstanz ein anderer Stoff niedergeschlagen wird, der seinerseits von der Säure nicht gelöst werden kann.

Jedenfalls ist es sicher, daß die Befunde an den P<sub>2</sub>-Präparaten, in denen auch tinktoriell das kalklos gemachte Knochengewebe dem ursprünglich kalklosen Knochengewebe gleicht, die schönste Bestätigung für die von mir gegebene Deutung der gittrigen Figuren ergeben. Die abweichenden Befunde bei der S-Entkalkung dürften einer Erklärung in anderer Richtung zugänglich sein.

##### 5. Über die diagnostische Bedeutung der Gitterfiguren und über die halisterisch-destruktive Theorie der Osteomalazie.

Wenn ich auf Grund der neu gewonnenen Erkenntnis auf die einzelnen Angaben der früheren Autoren einzugehen habe, so kann ich gleichzeitig hiermit auch die praktisch im Vordergrunde

stehende Frage nach der diagnostischen Bedeutung dieser Figuren erledigen, weil alle diesbezüglichen Angaben stets die diagnostische Wertschätzung zum Hintergrunde haben.

a) Was zunächst die Angabe von v. Recklinghausen anlangt, daß bei gelungener Gas- resp. Luftfüllung an den osteoiden Säumen jenseits der Gitterfiguren weder Knochenkörperchen noch Interfibrillärräume nachweisbar seien, so dürfte sich nach meinen Feststellungen als sicher ergeben, daß diese Annahme unzutreffend ist. Gewiß stößt man auf solche Bilder; sie kommen aber allein dadurch zustande, daß erst ein späteres Stadium der Luftfüllung zu Gesicht kommt, oder daß die gewählte Methodik die Luftfüllung im kalklosen Anteil unmöglich macht (KG<sub>2</sub>-Methode). Hieraus ergibt sich nun, daß auch die von diesem Forcher gezogenen Folgerungen, als seien in den osteoiden Säumen die Fibrillärspalten durch Verbacken der Fibrillen geschwunden und als seien auch die ursprünglich vorhandenen Knochenkörperchen verschwunden, nicht zu Recht bestehen können. Durch geeignete Technik läßt sich im Gegenteil nachweisen, daß überall in sämtlichen osteoiden Säumen sowohl Knochenkörperchen samt Ausläufern, als auch Interfibrillärräume vorhanden sind. Damit schon ist die Basis beseitigt, die der Annahme eines regressiven Vorgangs bei der Osteomalazie zugrunde liegt.

Ich möchte hierbei nicht zu erwähnen vergessen, daß v. Recklinghausen keineswegs alle osteoiden Säume für entkalktes Knochengewebe ansah; er mußte zugeben, daß an vielen Stellen offenkundige Osteoblastenbesätze den Beweis lieferten, daß an diesen Stellen der osteoide Saum als neugebildetes, unverkalktes Knochengewebe aufzufassen sei.

Nun glaubte aber v. Recklinghausen, eine Trennung beider Arten osteoider Säume ermöglichen zu können auf Grund der Beobachtung, daß in den eben erwähnten Fällen siche re Neubildung die Gitterfiguren an den Grenzonen fehlten. Hierdurch glaubte er nahelegen zu können, daß man gerade das Auftreten der Gitterfiguren in der Pömmel-Zone für eine differential-diagnostische Trennung solcher Säume verwerten könne.

Die erwiesene Tatsache nun, daß die Gitterbildung eine Erscheinung jedes kalklosen Knochengewebes ist, daß die Gitter sich in jedem lamellös geordneten kalklosen und in jedem geflecht-

artig geordneten kalklosen Knochengewebe darstellen lassen, dürfte jene Beobachtungen v. Recklinghausen als einen Zufall und die daraus gezogenen diagnostischen Schlüsse als unberechtigt erscheinen lassen. Auf die übrigen Befunde an den Säumen, die von v. Recklinghausen zur Stütze seiner Annahme einer regressiven Natur derselben beigebracht wurden (atrophische Knochenhöhlen, matt gefärbte Kerne usw.), glaube ich nicht eingehen zu müssen. Es handelt sich hier, wie ich in der in diesem Archiv demnächst erscheinenden Arbeit über die osteoplastische Carcinose weiter ausführen werde, meiner festen Überzeugung nach entweder um Trugbilder, die von optischen und tinktoriellen Eigenheiten, besonders bei der Karminfärbung, abhängig sind oder aber um Erscheinungen, die sich in gleicher Weise auch beim sicher neugebildeten Knochen finden (vgl. Schmorl, l. c.). Und gerade auch da, wo an der Natur des kalklosen Knochengewebes als neugebildet, unverkalkt kein Zweifel sein kann, so vor allem bei M V (durch Periost-Implantation experimentell erzeugtes Knochengewebe), wo eine schmale Zone kalklosen Knochengewebes ringsum in der Peripherie zwischen der periostalen Wucherungsschicht und dem kalkhaltigen Knochen liegt, tritt die gittrige Füllung mit der gleichen Deutlichkeit in die Erscheinung wie überall sonst. Hiermit stimmen die Angaben Schmorls überein, der Gitter (allerdings nur in der Grenzzone) auch an solchen Stellen sah, wo der osteoide Saum von Osteoblasten bedeckt war.

Und wenn schon ein gewisser Widerspruch in den beiden Angaben v. Recklinghausen besteht, einmal daß die Spalträume mit den Interfibrillärräumen v. Ebners identisch seien, und das andere Mal, daß die Spalträume aus den Knochenkanälchen durch Erweiterung entstünden, so dürfte sich aus meinen Befunden als sicher ergeben, daß die letztere Annahme nicht zutrifft. Im kalklosen Knochengewebe sind beide Arten von feinsten Kanälchen nebeneinander vorhanden. Nirgends ist der Vorgang so, daß sich erst Spalträume durch Umwandlung von Knochenkanälchen oder auch sonst irgendwie bilden. Auch ein solcher Vorgang, der wieder in die Richtung regressiver Veränderungen wiese, muß zweifellos als irrtümliche Deutung vorhandener Bilder angesprochen werden.

Auch alle weiteren Folgerungen, die v. R e c k l i n g h a u s e n aus seinen Befunden ziehen zu müssen glaubte, der Zusammenfluß der neugebildeten Interfibrillärräume zu interlamellären Spalten, die einerseits die Bedeutung von Lymphbahnen gewinnen sollten, andererseits zur Abspaltung von Lamellen und ganzen Ringen führen und schließlich sich durch Eintreten von Zellen zu Resorptionsräumen umbilden sollten, — alle diese Folgerungen müssen allein schon nach den mitgeteilten Befunden über die wahre Natur der Gitterfiguren hinfällig sein. Aber auch abgesehen von dieser Tatsache habe ich bei meinen ausgedehnten Untersuchungen niemals Bilder gesehen, die mir die Möglichkeit einer lamellösen Abspaltung oder einer Abtrennung ganzer Ringe oder schließlich die Entstehung von Resorptionsräumen oder von V o l k m a n n s c h e n Kanälen auf diesem Wege als einen natürlichen Vorgang annehmbar machten; vielmehr habe ich mich im Laufe der Untersuchungen davon überzeugt, daß es sich bei Bildern, die solche Vorgänge zu illustrieren scheinen, stets um Kunstprodukte handelt. Die eigenartige Form der Artefakte entsteht dadurch, daß bei dem lamellösen Bau des Knochens auch an den Zertrümmerungsprodukten oft die lamellöse Struktur, die konzentrische Schichtung usw. bewahrt bleiben.

Gewiß erhält man nicht selten, besonders beim Gebrauch von Gefrierschnitten, Bilder, die das Vorhandensein einer lamellösen Abspaltung nahezulegen scheinen. Man sieht jedoch, daß die Bilder mit besonderer Vorliebe an Stellen der Schnitte auftreten, wo auch sonst Zeichen der Gewalteinwirkung unverkennbar sind, besonders an den Randpartien. Aber auch an anderen Stellen zeigt sich eine Bevorzugung für die Spaltbildung. So sah ich z. B. bei meinen Untersuchungen über die Knochentransplantation<sup>1)</sup><sup>2)</sup><sup>3)</sup> an den Stellen, wo auf erweiterte H a v e r s s c h e Kanäle (H a v e r s s c h e Räume) sich ein wandständiger Halbring neuen

<sup>1)</sup> A x h a u s e n , Histologische Untersuchungen über Knochentransplant. am Menschen. Deutsche Zeitschr. f. Chir. 91, S. 385.

<sup>2)</sup> A x h a u s e n , Die pathologisch-anatomischen Grundlagen der Lehre von der freien Knochentransplantation. Beiheft 2 der „Medizinischen Klinik“, 1908.

<sup>3)</sup> A x h a u s e n , Die histologischen und klinischen Gesetze der freien Osteoplastik auf Grund von Tierversuchen. Arch. f. klin. Chir. Bd. 88, Heft 1, 1908.

Knochens abgelagert hatte, der sich durch intensive Kernfärbung als lebender, neugebildeter Knochen von dem umgebenden kernlosen Knochengewebe sofort unterschied, nicht selten den Halbring ganz von der Umgebung gelöst. Und auffallend war es, wie gleichmäßig sich das Markgewebe in den Spalt hineingelegt hatte. Daß es sich hier um einen regressiven Vorgang handeln könnte, ist bei der Natur des Knochengewebes als Neuanlagerung auf totes Gewebe selbstverständlich ausgeschlossen. Und es ist ja auch vollkommen verständlich, daß gerade an den Stellen, wo eine einfache Anlagerung durch Kittsubstanz erfolgt, während das Knochengewebe (altes wie neues) selbst durch die Verflzung der Fibrillen eine so überaus dichte, feste Textur hat, eine Lösung besonders leicht erfolgen muß. Zum Überfluß zeigen aber auch vorsichtig angefertigte Zelloidinschnitte der gleichen Stücke, daß es sich um Kunstprodukte handeln muß; denn hier fehlen die Abspaltungsbilder an den entsprechenden Stellen vollkommen. Ähnlich war auch das Verhältnis bei der Ablagerung sicher neugebildeten Knochengewebes auf die lebenden oder nekrotischen Bezirke alter Kompakta im osteoplastischen Karzinom (M IV). Aber auch sonstige artefizielle Spaltbildungen, Sprünge, die die Lamellen quer durchtrennen, gewinnen oft eine verzweifelte Ähnlichkeit mit Volkmanischen Kanälen, die noch dadurch erhöht wird, daß sich das Markgewebe hier und da in die Spalten hineinlegt. Ich hatte in der ersten Zeit meiner Untersuchungen, namentlich bei einem Falle von Osteodystrophia juvenilis (frühe Osteomalazie),<sup>1)</sup> selber den bestimmten Eindruck, daß hier natürliche Kanalbildungen vorlagen, und glaubte — wie ich meinte — Volkmanische Kanäle zu erweiterten Knochenkörperchen in Beziehung setzen zu können. Erst weitere Untersuchungen, namentlich unter Benutzung vorsichtig angefertigter Zelloidinschnitte und weitere Studien von Knochenbildern überhaupt, haben mir unzweideutig gezeigt, daß es sich bei diesen Bildern ebenfalls um Kunstprodukte handelte.

Wenn schon hier bei den Gefrierschnitten am völlig entkalkten Knochen solche Mißdeutungen möglich waren, wird es

<sup>1)</sup> Ahausen, Osteogenesis imperfecta oder frühe Osteomalazie als Grundlage der idiopathischen Osteopsathyrosis? Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 92, S. 42, 1908.

unschwer zu verstehen sein, daß gleiche Täuschungen bei herausgebrochenen Spongiosabalken und bei Spähnen kalkhaltigen Knochens noch in viel höherem Grade vorkommen können. Von diesem Gesichtspunkte aus mahnen auch die älteren Angaben von Solowetschik u. a. über das Entstehen Volk-mannscher Kanäle durchaus zu skeptischer Beurteilung.

Hier nicht eingebettet sind natürlich die Ringe osteoider Substanz, die zwar an einem Abschnitt der Peripherie mit dem umgebenden Knochen fest in Verbindung sind, mit dem übrigen, größeren, jedoch frei in einen Markraum hineinragen — Bilder, die schon von Pommér eingehend gewürdigt wurden, und die von v. Recklinghausen ebenfalls mit seinen Anschauungen in Verbindung gebracht wurden. Für sie kann nur die Erklärung herangezogen werden, die schon Pommér nahelegte, und auf die kürzlich Loosser<sup>1)</sup> von neuem zurückkam, daß nämlich der lakunäre Abbau das umgebende kalkhaltige Knochengewebe in ungleich stärkerem Grade betroffen hat als den kalklosen Innenteil eines Haversschen Systems (vgl. die Abbildungen bei Pommér und Loosser).

Und was nun die von v. Recklinghausen angegebene Häufigkeit der Gitter im Innern des kalkhaltigen Knochens anlangt, so dürfte auch hierfür die Erklärung jetzt nicht schwer sein. Von vornherein standen ja der Deutung v. Recklinghausen daß hier im Innern die Entkalkung beginne, schwere Bedenken gegenüber, wie ich bereits erwähnte. Auf der anderen Seite wurde von Berthling eingehend auf die notwendige Häufigkeit von Tangentialschnitten kalkloser Säume im osteomalazischen und rachitischen Knochen hingewiesen.

Erstlich wissen wir ja durch Pommers klassische Untersuchungen, daß die Verkalkung des osteoiden Gewebes bei der Osteomalazie und bei der Rachitis oft etappenweise erfolgt. Dadurch entstehen nicht selten an den Stellen ausgedehnter Knochenanlagerung, so besonders bei der Ausfüllung tiefer Buchten und Nischen, abwechselnd kalklose und kalkhaltige Schichten, und ebenso, und zwar noch häufiger, abwechselnde Schichten von total

<sup>1)</sup> Loosser, Über Spätrachitis und die Beziehungen zwischen Rachitis und Osteomalazie. Mitteilungen aus den Grenzgebieten. XVIII, S. 678, 1908.

und partiell verkalktem Knochengewebe. Bei weiterer Entwicklung müssen solche Bezirke partieller Verkalkung weiter ins Innere vorrücken, und so kann es nicht wundernehmen, daß gerade im osteomalazischen Knochen, wie übrigens auch in seltenen Fällen im normalen Knochen (P o m m e r), im kalkhaltigen Anteil relativ häufig Lamellenzüge mit partiellem Kalkgehalt sich vorfinden. Auch hier müssen nach den vorangegangenen Ausführungen Gitter entstehen und sich länger halten. Nehmen wir dazu, daß außerdem im Innern des kalkhaltigen Anteils oft in großer Ausdehnung jene Zeichnungen sich finden, die ich vorher als optischen Ausdruck von Niveaudifferenzen der Oberfläche erweisen konnte die schon A p o l a n t morphologisch von den anderen Figuren trennte, und die ich im Anschluß hieran als Gitter I bezeichnete, nehmen wir weiter hinzu, daß, wie schon erwähnt, bei den älteren Untersuchungsmethoden oft gröbere Luft- resp. Gasansammlungen, die der Oberfläche anhaften, als schwarze Gittermassen erscheinen, so dürfte wohl verständlich sein, daß auch innerhalb des kalkhaltigen Anteils mancherlei gittrige und gitterähnliche Figuren gesehen werden konnten.

Nach allem dürfte es einem Zweifel nicht unterliegen, daß die ganze Lehre v. R e c k l i n g h a u s e n s, in dem Auftreten der Gitterfiguren die Zeichen eines regressiven Vorgangs zu erblicken, unhaltbar ist, und daß die im einzelnen geschilderten Stadien der Einschmelzung und Abschmelzung in Wirklichkeit nicht existieren. In gleicher Weise dürfte es sicher sein, daß luft- resp. gasfüllbare Spalträume, wo sie auch vorkommen mögen, irgendeine diagnostische Bedeutung nicht besitzen, daß sie nichts weiteres anzeigen, als die Anwesenheit kalklosen oder partiell kalklosen Knochengewebes, und daß sie im besonderen in genetischer Richtung nicht das geringste für die Deutung der Natur dieses Gewebes besagen.

Hiermit werden auch die Schwierigkeiten beseitigt, auf die v. R e c k l i n g h a u s e n bei der konsequenten Durchführung seiner Auffassung stoßen mußte. Da v. R e c k l i n g h a u s e n die gleichen Bilder, wenn auch nicht mit derselben Häufigkeit, im normalen Knochen fand, mußte er schließen, daß auch physiologisch diese Einschmelzungsprozesse sich abspielten. Und da er sie auch in reichlicher Verbreitung im rachitischen Knochen

nachweisen konnte, mußte er annehmen, daß auch hier der gleiche Vorgang beim Abbau eine große Rolle spiele. Gerade dieser letzte Punkt führte ihn zur Annahme einer Kombination von Rachitis und Osteomalazie bei gewissen Fällen. Alle diese Anschauungen müssen nach dem Vorangehenden als unhaltbar oder wenigstens als durchaus unbewiesen angesehen werden. Da überall das Knochengewebe kalklos angelegt wird und dann erst, wenn auch beim normalen Knochen fast unmittelbar, verkalkt, so müssen wir auch beim normalen Knochen, der, wie P o m m e r uns lehrte, in stetem Umbau begriffen ist, auf Gitterfiguren in Form schmaler Randsäume stoßen. Und daß v. R e c k l i n g h a u s e n gerade beim jugendlichen Knochen, gemäß der vom Wachstum abhängigen massenhaften Anbildung und dem dauernd tätigen formativen Umbau, solche Bilder so häufig fand, kann gewiß nicht überraschen.

Ich komme zu den ergänzenden Ausführungen A p o l a n t s.

Nach dem von mir Ausgeführten und nach allem, was wir sonst wissen, kann es keinem Zweifel unterliegen, daß die Angaben A p o l a n t s über die Vorgänge bei der Entkalkung im einzelnen auf Irrtum beruhen.

Was zunächst die Erweiterung der präformierten Hohlräume des kalklosen Knochengewebes anlangt, so wurde schon von B e r t - s c h i n g e r darauf hingewiesen, daß diese Angaben keinen Wert besäßen, weil nicht deutlich aus ihnen hervorging, daß die Bilder am l a m e l l ö s e n Knochen gesehen wurden. Und daß die Knochenhöhlen des geflechtartig geordneten Knochengewebes von vornherein weit und *plump* sind, ist allgemein bekannt. Der gleiche Fehler wurde auch, wie wir jetzt wissen, von L o s s e n begangen, auf dessen Angaben sich A p o l a n t im übrigen ebenfalls bezieht.

Die Bilder der plumpen Knochenhöhlen des geflechtartig geordneten Knochengewebes werden nun noch in ihrer Eigenheit verstärkt, wenn die in ihnen enthaltene Luft resp. Kohlensäure sich sammelt und sich zur Entweichung anschickt. (Vergl. Fig. 5, Taf. X.) Aber hiermit nicht genug. Die beschriebene und abgebildete K o n f l u e n z der Knochenhöhlen, die nach A p o l a n t von einer N e u b i l d u n g v o n K a n ä l e n in ihrer Umgebung begleitet ist, stellt nichts weiter dar als die R e s t e

der Luftfüllung in den benachbarten Interfibrillärräumen. Die von A polant beschriebenen verschiedenen Formen der Erweiterung und Kanalbildung entstehen einfach durch die verschiedenen Stadien des Luftaustrettes, die man unter der von mir angegebenen Technik leicht an derselben Stelle nach einander beobachten kann. Um sich von der Richtigkeit dieser Erklärung zu überzeugen, ist es nur nötig, die von A polant gegebenen Zeichnungen mit den gleichen Bildern auf meiner Fig. 5, Taf. X zu vergleichen. Und ebensowenig wie hier in der Umgebung der Knochenhöhlen Spalträume neugebildet sind, sind sie es auch in der P o m m e r - Zone; hierfür gelten die Ausführungen, die ich v. R e c k l i n g h a u s e n s Lehre gegenüber stellte, in gleicher Weise. Voll verständlich ist hiernach die kurze, nebenbei geäußerte Bemerkung A polants, daß er bei der LB-Methode von karmingefärbten Schnitten die Gitter zuweilen bis in die o s t e o i d e Z o n e s e l b e r h e i n r e i c h e n sah. Und auf der anderen Seite gibt gerade die von A polant in Fig. 8, Taf. X gegebene Zeichnung der zarten, im Innern nachweisbaren Gitter und ihre völlige Übereinstimmung mit meiner Fig. 7, Taf. X die beste Stütze für die Annahme, daß auch die von mir als Gitter I bezeichneten, zweifellos von Niveaudifferenzen der Oberfläche abhängigen Figuren unter die Reihe der von v. R e c k l i n g h a u s e n und A polant gesehenen und als Entkalkungszeichen gedeuteten Phänomene gehören.

Gleich erheblich für die vorliegende Frage sind die Irrtümer, denen A polant bei der Deutung seiner Entkalkungsversuche unterlag. Wenn er angab, daß auch bei der künstlichen Entkalkung eine Erweiterung der präformierten Hohlräume auftritt, so daß auch im lamellösen normalen, Knochengewebe „die Kanälchen und Höhlen eine auffällige Plumpheit“ aufweisen und „die Querschnitte der Kanälchen als recht erhebliche Löcher erscheinen“, so lehrt schon ein einfacher Blick auf ein nach S e h m o r l gefärbtes v. E b n e r - Präparat, daß hier ein Irrtum vorliegen muß. Aber auch bei richtig angewandter Luftfüllung konnte ich an Präparaten aller Entkalkungsstadien, besonders auch an vollkommen entkalkten Präparaten der verschiedenen Methoden (P<sub>2</sub>-, E-, S-Schnitte) nachweisen, daß von einer Erweiterung der prä-

formierten Kanäle keine Rede sein kann. Selbst beim vollkommen mit Salpetersäure entkalkten Knochen sind bei der Luftfüllung die feinen Kanälchen, z. B. eines Haverschen Systems, in der Anordnung und Form mit der gleichen Feinheit und Zierlichkeit zu erkennen wie am Knochenschliff. Es ist ja auch von vornherein schwer zu verstehen, warum die Entkalkung zu einer Erweiterung der Höhlen führen sollte. Ist doch nicht der Kalk allein dasjenige, was die Form der präformierten Kanäle garantiert; wissen wir doch durch Brösicke, daß gerade die Wandung der präformierten Höhlen eine besonders resistente organische Substanz enthält. Hier muß sich also A polant durch Bilder, die vielleicht durch den Luftaustritt entstanden sind, haben täuschen lassen.

Daß A polant bei zunehmender Kalkentziehung gittrige Zeichnungen in zunehmender Verbreitung fand, wird nach meinen Ausführungen vollkommen verständlich sein. Allein sie sind nicht für partielle Entkaltungsvorgänge pathognomonisch, sondern sie zeigen einzig und allein an, daß an den betreffenden Stellen kalkloses Gewebe vorhanden ist. Da A polant die LB-Methode für diese Versuche ausschließlich anwandte und zur Entkalkung v. Ebner'sches Gemisch benutzte, mußte bei richtiger Luftfüllung das nunmehr vorhandene kalklose Knochengewebe Gitterbildung zeigen. Auch bei vollkommen nach v. Ebner entkalkten Knochenstücken läßt sich ja nach dieser Methode eine, nun natürlich totale Gitterbildung darstellen.

Ein Irrtum von A polant war es aber, daß er in seinen Präparaten die Stellen, die vollkommen durchsichtig, wie hyalin erschienen, als Stellen vollkommen entkalkt ansprach, während er die gittrigen als unvollkommen entkalkt ansah. Diese vollkommen durchsichtigen Stellen, die man genau so auch an völlig unentkalkten Schnitten und Schliffen erzielen kann, entstehen nur dadurch, daß hier das Eindringen des Balsams komplett geworden, die Aufhellung vollständig ist, während in Wirklichkeit auch die vollkommen entkalkten Schnitte eine totale, dichteste Gitterbildung bei richtiger Luftfüllung erkennen lassen, wie ich schon im einzelnen ausführte.

b) Aber auch die Anschauungen Hanau's und Berthschingers, die beide manchem offenkundigen Irrtum der Lehre v. Recklinghausen's mit Erfolg entgegengesetzten, brachten nicht eine vollständig richtige Deutung der vorliegenden Verhältnisse, weil beide Autoren in der Annahme befangen waren, daß die Gitterbildung auf die Bezirke unvollständiger Verkalkung beschränkt sei. Der Gegensatz zwischen ihrer Auffassung und der v. Recklinghausen's konzentrierte sich im wesentlichen darin, daß sie den Nachweis erbrachten, daß die Gitterbildung auch in den Bezirken unvollkommenen Kalkgehalts auftrat, die mit Sicherheit als neugebildet und unvollkommen verkalkt anzusehen waren. Sie schlossen daraus, daß den Gittern die von v. Recklinghausen's gegebene diagnostische Bedeutung nicht innewohnen konnte, und sie schlossen weiter, daß auch nach diesem Phänomen im osteomalazischen Knochen die osteoiden Säume ebenso durch Ausbleiben der Verkalkung, wie durch Entkalkung erklärt werden könnten.

Die der Arbeit Berthschingers beigegebenen Zeichnungen zeigen die Gitterbildung in solcher Verbreitung, und die Photogramme lassen die Gitter in so kontinuierlichen, bis an die Markräume heranreichenden Säumen und die Rasenfiguren in solcher Ausdehnung erkennen, daß man kaum verstehen kann, warum Berthschinger nicht auf die richtige Deutung der Befunde gekommen ist; so sind z. B. in Tafel 8 offenkundig sämtliche osteoiden Säume in ganzer Ausdehnung luftgefüllt. Diese Erscheinungen sind auch Berthschinger wohl aufgefallen: aus seinen Angaben geht deutlich hervor, daß er den Kontrast zwischen der Breite der osteoiden Säume bei einfacher Karminfärbung und der Breite der bei Luftfüllung (LZ-Methode) markwärts von den Gittern freibleibenden Säume sowie das Fehlen derselben bei der LB-Methode wohl bemerkt hat. Er nahm als Erklärung dafür an, „daß die osteoiden Zonen durch die Eintrocknungsmethoden (sowie infolge der zur Entfernung des Marks vorgenommenen Auspinselung der Schnitte) undeutlich und zum Teil ganz unsichtbar geworden sind“. Daß diese Annahme nicht den wahren Sachverhalt trifft, dürfte wohl aus meinen Ausführungen klar hervorgehen. Unter dieser Annahme hielt Berthschinger an der Anschauung der früheren Autoren fest, daß näm-

lich die Gitter ausschließlich auf die Grenzzone lokaliert seien. Und weil beide Autoren nicht zum vollen Verständnis der Phänomene vordrangen, konnten sie auch die prinzipiellen Ausführungen v. Recklinghausen über die Einzelheiten des regressiven Prozesses und die vermeintlichen Ergebnisse der Entkalkungsversuche A polants nicht auf ihr richtiges Niveau zurückführen.

c) Wenn nun auch die Darstellung der luftfüllbaren Spalträume als diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung einer vermeintlichen halisteretischen Einschmelzung nicht in Betracht kommt, so muß auf der anderen Seite betont werden, daß deswegen nicht etwa das ganze Phänomen als diagnostisches Mittel unverwertbar sei.

Ganz im Gegenteil bin ich der festen Überzeugung, daß die Darstellung der Interfibrillärspalten ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel darstellt, ganz besonders nach der von mir eingehend beschriebenen Methode von Kruckenberg, aber nicht zum Nachweis von halisteretischen Prozessen, sondern zum Nachweis von kalklosem Knochengewebe oder überhaupt von Apposition neuen Knochengewebes. Wie allgemein bekannt, erfolgt bei der gewöhnlichen Karminfärbung nur zum kleinen Teil die Rotfärbung der Pommern-Zone, während der breitere Abschnitt farblos bleibt. Zum Unterschied hiervon findet bei der Luftfüllung die Gitterbildung im kalklosen Gewebe s a m t der ganzen Pommern-Zone statt. So kann man z. B. beim normalen Knochenumbau und bei den normalen Verkalkungsverhältnissen, wie sie die Knochenanbildung fast stets im osteoplastischen Karzinom aufweist, sehr häufig an Stellen offenkundiger Apposition einen deutlichen Karminsaum nicht nachweisen. Höchstens, daß der durch Hämalaun blau gefärbte kalkhaltige Knochen eines  $P_1$ -Präparats am Rande einen zarten rosa Beiton hat. Im Gegensatz hierzu ist in diesen Fällen leicht durch die Luftfüllung ein deutlicher schwarzer gittriger Saum darzustellen, weil eben auch in dem partiell verkalkten, der Karminfärbung nicht mehr zugänglichen Anteil noch die Luftfüllung auftritt. Aber auch im sonstigen pathologischen, besonders dystrophischen Knochen ist diese Methode des Nachweises des kalklosen Knochengewebes deswegen so empfehlenswert, weil sie ohne besondere Färbmittel mit den stets vorhandenen Flüssig-

keiten Alkohol, Chloroform und Balsam, möglich ist, weil sie zum mindesten ebenso rasch herzustellen ist wie die Karminfärbung, und weil gleichzeitig mit der Differenzierung auch die fibrilläre Struktur des kalklosen Knochens und die zierliche Zeichnung der Knochenkörperchen und Ausläufer erhältlich ist (vgl. Fig. 1, Taf. X). Nimmt man weiterhin den schwerwiegenden Umstand hinzu, daß die Methode auch die Differenzierung des ursprünglich kalklosen vom ursprünglich kalkhaltigen Knochengewebe in solchem Knochen, der mit Salpetersäure vollkommen entkalkt wurde, bei vorsichtiger Anwendung gestattet, so glaube ich wohl, daß die Methode Krukenbergs auch heute noch einen Platz in der histologischen Diagnostik der Knochenpathologie verdient.

#### Zusammenfassung.

Überblickt man noch einmal die Ergebnisse der Untersuchungen, so sieht man, daß alle Befunde durchaus einheitlich sind und sich gegenseitig in befriedigender Weise ergänzen. Das gleiche Verhalten findet sich in jedem kalklosen Knochengewebe, gleich ob wir es im osteomalazischen Knochen (M I), ob im rachitischen Knochen (M II) oder im Kallusgewebe (M III), ob in der Knochenanbildung der osteoplastischen Karzinose (M IV), oder ob wir es schließlich im heterotopischen, experimentell erzeugten Knochen (M V) untersuchen; das gleiche Bild entsteht im lamellös geordneten, wie im geflechtartig geordneten kalklosen Knochengewebe, variiert nur entsprechend den Anordnungen der Fibrillen in beiden Typen; und das gleiche Verhalten zeigt auch der durch Müllersche Flüssigkeit vollkommen entkalkte, ursprünglich kalkhaltige Knochen. Und im Wesen das Gleiche ist es auch, was die verschiedenen Methoden erzeugen, wenn auch im Einzelnen Unterschiede bestehen, die von der Verschiedenartigkeit der gewählten Methodik nachweisbar abhängig sind.

Das Vorhandensein darstellbarer Interfibrillärräume stellt eine ganz allgemeine Eigenschaft des kalklosen Knochengewebes dar, die ihm infolge seiner Struktur zukommt. Diese Eigenschaft zeigt das kalklose Knochengewebe auch noch dann, wenn es schon zum Teil Kalkeinlagerungen enthält; hier sind die optischen Phänomene nur unwesentlich different, nachweisbar nur durch die Anwendung der feinen Methode der dosierten LB-Behandlung.

Eben dieser partielle Kalkgehalt aber bewirkt die bei der früher geübten Methodik so auffällige Bevorzugung der P o m m e r - Zone für die Gitterbildung, sei es daß er die Ursache für das Zustandekommen der Gitter an dieser Stelle überhaupt ist (KGl<sub>2</sub>-Methode), sei es daß er das länger dauernde Haften der Gitter an diesen Stellen zur Folge hat (KGl<sub>3</sub>- und LGl-Methode).

Aus den Einzelheiten der vorangehenden Ausführungen dürfte es wohl mit Sicherheit hervorgehen, daß die universelle, durch Gasfüllung der Interfibrillärräume entstehende gittrige Zeichnung des kalklosen Knochengewebes (Gitter II) mit den von v. Recklinghausen, Apolant und Hanau-Bertschinger beschriebenen Gitterfiguren der Grenzzone im Wesen identisch ist. Die Gitterfiguren jener Autoren stellen nichts anderes dar, als die R e s t e der ursprünglich universellen Luftfüllung des ganzen kalklosen Knochengewebes, die beim Schwinden der Füllung zurückgeblieben sind; oder aber sie stellen eine partielle Gasfüllung der über das ganze kalklose Knochengewebe ausgebreiteten Interfibrillärräume dar — partiell nur, weil dies durch die gewählte Methode (KGl<sub>2</sub>) bedingt ist.

Was die innerhalb des kalkhaltigen Anteils auftretenden Gitter anlangt, so handelt es sich bei ihnen entweder um tangential getroffene Partien kalklosen resp. partiell kalkhaltigen Knochengewebes oder um die Bezirke der von P o m m e r aufgedeckten ungleichmäßigen, etappenartigen Verkalkung (konzentrisch übereinander gestellte Halbringe usw.), oder aber sie stellen als eine Erscheinung differenter Art (Gitter I) einfach den optischen Ausdruck von Niveaudifferenzen der Oberfläche des Schnittes dar.

Weiter glaube ich bewiesen zu haben, daß alle jene regressiven Erscheinungen, die v. Recklinghausen und Apolant an dem kalklosen Knochengewebe des osteomalazischen Knochens beobachtet zu haben glaubten (Erweiterung praeformierter Knochenhöhlen, Neubildung von Kanälen und Spalten, Verschwinden der Knochenkörperchen und Spalträume u. a. m.) auf irrigen Deutungen beruhen, die darauf zurückzuführen sind, daß jene, wie auch die übrigen Autoren infolge der gewählten Technik die wahre Verbreitung und das Wesen der Gitterfiguren nicht zu erkennen und die beim Schwinden der Luftfüllung auftretenden Phänomene nicht richtig zu bewerten vermochten.

Mit zwingender Notwendigkeit ergibt sich hieraus die Folgerung, daß die Anschauung der v. Recklinghausen'schen Schule, als seien die Gitterfiguren als ein Kennzeichen einer halisteretischen Einschmelzung zu verwerten, nicht mehr haltbar ist. Die Kenntnis der wahren Natur dieser Gitterfiguren lehrt, daß die ganze Vorstellung einer typisch osteomalazischen, d. i. halisteretisch-regressiven Knochenveränderung, soweit sie sich auf jene Annahme gründet, nicht aufrechterhalten werden kann. Und die Summe jener Tatsachen, die für eine einheitliche Genese des kalklosen Knochens im ostemalazischen und rachitischen Knochen sprechen in dem Sinne, daß es sich stets um neu gebildeten, noch unverkalkten Knochen handele — sie wurden noch kürzlich von Looser in so überzeugender Weise zusammengestellt, — die Summe jener Tatsachen läßt es jetzt, nach Be seitigung der vermeintlichen Bedeutung der „Gitterfiguren“, als sicher erscheinen, daß die Annahme des Vorkommens halisteretisch-regressiver Vorgänge überhaupt für den osteomalazischen und rachitischen Knochen wie für den normalen fallen gelassen werden muß.

#### Z u s a m m e n s t e l l u n g d e r i m T e x t g e b r a u c h t e n A b k ü r z u n g e n.

M I = Material I (Querschnitt einer osteomalazischen Rippe).

M II = Material II (Schnitt aus einem rachitischen Schädeldach).

M III = Material III (Längsschnitt aus der Bruchstelle einer Fractura cruris von einem einjährigen Kinde mit reichlichem Callus).

M IV = Material IV (Schnitt aus einem osteoplastischen Karzinom des Sternums).

M, V = Material V (Schnitt aus einem durch Periostimplantation erzeugten Knochens ück vom Hund).

M VI = Material VI (Querschnitt des normalen Femurs eines 12 jährigen Mädchens).

O = Original (unentkalkte Stüeke).

P<sub>1</sub> = unvollkommene Entkalkung durch Müller'sche Flüssigkeit nach Pommere.

P<sub>2</sub> = vollkommene Entkalkung durch Müller'sche Flüssigkeit.

E = vollkommene Entkalkung durch v. Ebner's Gemisch (Salzsäure + konzentrierter Kochsalzlösung).

S = vollkommene Entkalkung durch Salpetersäure nach Schaffer.

G-Schnitte = Gefrierschnitte.

C-Schnitte = durch Alkoholäther von Zelloidin befreite Zelloidinschnitte.

L Gl-Methode = Austrocknung durch Alkohol-Chloroform; Glyzerineinschluß.

L Z-Methode = Austrocknung durch Alkohol-Chloroform; Einschluß in dicke Zuckerlösung.

LB-Methode = Austrocknung durch Alkohol-Chloroform; Einschluß in harten Kanadabalsam nach Kruckenberg.

K Gl<sub>1</sub>-Methode = Einbetten aus Wasser in Glycerin.

K Gl<sub>2</sub>-Methode = Vorbehandeln mit starker Alaunlösung; Einbetten in Glycerin.

K Gl<sub>3</sub>-Methode = Abwechselndes Eintauchen in starke Alaun- und Natrium bicarbonicum-Lösung; Einbetten in Glycerin.

K Z<sub>1</sub>-Methode =

K Z<sub>2</sub>-Methode = } den K Gl-Methoden entsprechend; aber Einbettung in dicke Zuckerlösung.

K Z<sub>3</sub>-Methode = }

### Erklärung der Abbildungen auf Taf. X.

Fig. 1. Gefrierschnitt aus einer osteomalazischen Rippe nach unvollkommener Entkalkung durch Müller'sche Flüssigkeit. Vorfärbung mit neutralem Ammoniakkarmen. Austrocknungsmethode. Glycerineinschluß.

Die Figur stellt den Befund unmittelbar nach dem Auffallen des Deckgläschens dar. Ka. Kn. = kalkhaltiger Knochen; zierliche Zeichnung der luftgefüllten Knochenhöhlen und Knochenkanälchen. O.S. = osteoide Säume, von dichten gittrigen Gebilden total erfüllt; nur schwach schimmert noch das Rot der Karminfärbung durch. T.O.S. = tangential angeschnittene osteoide Säume, zu Gittern innerhalb des kalkhaltigen Knochens führend. U.V. = Ungleiche Verkalkungszone, zu übereinander gereihten, konzentrischen Gittern führend (Näheres im Text). Rfl. = Resorptionsflächen. M = Markraum.

Fig. 2—4. Verlauf der Luftentweichung an einer Stelle des vorigen Präparates bei stärkerer Vergrößerung.

Fig. 2. Universelle Gitterbildung; Typ der Gitter II (1. Stad.)  
Ka. Kn. = kalkhaltiger Knochen. G.O. = Gitterbildung im osteoiden Gewebe. G.Pz. = Gitterbildung der Pommere-Zone. G.Ka. = Gitterbildung innerhalb des kalkhaltigen Knochens (vgl. U.V. Fig. 1, Taf. X). D.Knkp. = Durchschimmerndes Knochenkörperchen.

Fig. 3. Partielle Gitterbildung (2. Stadium).

O.S. = osteoider, karmingeschärfbarer Saum mit wohlgeformten, luftgefüllten Knochenkörperchen. H. Knkp. = aus der Gitterbildung heraustrittendes Knochenkörperchen. G.Ka. = Gitterbildung im kalkhaltigen Knochen. G.Pz. = Gitterbildung in der Pommere-Zone. L.Bl. = Luftbläschen.

Fig. 4. Auf die Grenzzone beschränkte Gitterbildung (3. Stadium).

G.Ka. = Gitterbildung im kalkhaltigen Knochen. G.Pz. =

Gitterbildung der Grenzzone (P o m m e r - Zone). A.Knkp. = Abgeblaßtes Knochenkörperchen (durch Luftaustritt).

- Fig. 5. Gefrierschnitt aus einer o s t e o m a l a z i s c h e n Enostose (Rippe) nach unvollkommener Entkalkung durch M ü l l e r s c h e Flüssigkeit. Vorfärbung mit Ammoniakkarmi. Austrocknung. Einbetten in erstarrenden Kanadabalsam (K r u k e n b e r g ).

Die verschiedenen Stadien der Luftfüllung im geflechtartig geordneten kalklosen Knochengewebe.

$G^1$  = totale gittrige Luftfüllung (Rasenfigur).  $G^2$  = Zurücktreten der Rasenfiguren vom Rand nach der Mitte zu.  $G^3$  = Reste der Luftfüllung in der Umgebung einiger Knochenhöhlen. Knochenhöhlen teils selbst noch luftgefüllt (J. Knkp.), teils abgeblaßt. Bei  $G^4$  = Knochenhöhlen kurz vor dem Luftaustritt; zum Teil verblaßte Knochenhöhlen.

- Fig. 6. Knochenbalken aus einem r a c h i t i s c h e n Schädeldach. Unvollkommene Entkalkung durch M ü l l e r s c h e Flüssigkeit. Zelloidin. Aus dem Schnitt Zelloidin durch Alkoholäther entfernt. Vorfärbung mit Hämalaun. Differenzierung durch Salzsäurealkohol. Nachfärbung mit Ammoniakkarmi. Austrocknungsmethode. Erstarrender Kanadabalsam.

K. Kn. = kalkhaltiges, geflechtartig geordnetes Knochengewebe mit luftgefüllten Knochenhöhlen. O. Kn. = osteoide lamellös geordnete Knochenauflagerung mit luftgefüllten Knochenhöhlen und Fibrillenzeichnung. O. Kn<sup>1</sup>. = osteoides, geflechtartig geordnetes Knochengewebe mit deutlicher Fibrillenzeichnung. Pz. = dichtere, unregelmäßige Luftfüllung der P o m m e r - Zone (Näheres im Text). Qu. = Zeichnung der quergetroffenen Fibrillen.

- Fig. 7. Schnitt aus dem K a l l u s einer Fractura cruris (einjähriges Kind); das gezeichnete Stück stellt den Randteil der alten Kortikalis dar. Unentkalkt. Gefrierschnitt. Kohlensäurefüllung (K G l<sub>3</sub>-Methode). Einbettung in dicker Zuckerlösung. Ka. Kn. = kalkhaltiger Knochen. In ihm bei G I die zarte Zeichnung eines Gitters I (Näheres siehe im Text). Die Striche setzen sich aus feinsten Tröpfchen zusammen und sind abhängig von der Lamellenanordnung. O. S. = kalkloser Saum. G II = Gitterfigur der Grenzzone (P o m m e r - Zone) vom Typ der Gitter II. I. Knkp. = luftgefüllte Knochenkörperchen. a. Knkp. = abgeblaßte Knochenkörperchen.

Die luftgefüllten Knochenkörperchen sind nur zum Vergleich scharf gezeichnet; sie liegen im Präparat jedoch nicht in derselben Ebene wie das Gitter I, sondern höher.

- Fig. 8. Aus demselben Präparat.

Anpassung des Kohlensäuregases an grobe Niveaudifferenzen des derben Bindegewebes.

- Fig. 9. Schnitt aus dem K a l l u s einer Fractura cruris (einjähriges Kind); unentkalkter Gefrierschnitt. G e g l ü h t. Erstarrender Balsam.

Die gezeichnete Stelle entspricht dem Randbezirk alter Kompakta. Man sieht bei Ölimmersion auf das Schönste die feine Struktur des lamellösen Knochengewebes. Qu.F. = quergetroffene luftgefüllte Fibrillenröhren. L.F. = längsgetroffene luftgefüllte Fibrillenröhren. Knkp. = Knochenhöhlen samt Ausläufern.

Fig. 10. Schnitt aus einem rachitischen Schädeldach. Unvollkommen entkalkt. Zelloidin entfernt. G e l ü h t. Einschluß in erstarrenden Balsam.

Man sieht die sich wirr durchflechtenden Fibrillenröhren in dem geflechtartig geordneten, verkalkten Knochenbälkchen.

### XXIII.

## Über das Vorkommen von Glykogen in den Kernen von Leberzellen.

Von

Dr. J. Karamitsas.

(Aus dem Pathologischen Institute der Universität München.)

Hierzu Taf. XI.

Das Glykogen findet sich in den normalen Leberzellen diffus in Tropfenform abgelagert. Seine Menge hängt im wesentlichen von der Kohlehydratzufuhr ab. Nach dem Tode wandelt sich das Glykogen in Zucker um; dieser Vorgang geht zuerst sehr schnell vor sich, bis er eine gewisse Grenze erreicht hat, sodann nimmt diese Umwandlung wieder mehr und mehr ab, so daß sich noch nach Tagen in den ausgeschnittenen Leberstücken reichliche Glykogenmengen finden können. Diese Zuckerbildung wird durch ein Ferment bedingt, welches von der Leberzelle selbst produziert wird (vgl. Pflüger).

Bei Diabetes mellitus hat man bisher sehr wechselnde Bilder gesehen; dabei hängt natürlich das Vorhandensein von Glykogen zum Teil von den verschiedenen Graden des Diabetes ab. Nach Naunyn besteht Dyszoamylie bei Pankreasdiabetes speziell in der Leber, trotz starken Zuckergehaltes des Blutes, d. h. er fand in den Leichen an Diabetes verstorbener Menschen die Leber in der Regel glykogenfrei.

Da auch die Fermentbildung eine wechselnde ist, so wird auch das Glykogen bei starker Fermentbildung sofort in Zucker umgewandelt. Bei allen Lebern ist schließlich zu berücksichtigen,

Fig. 1.

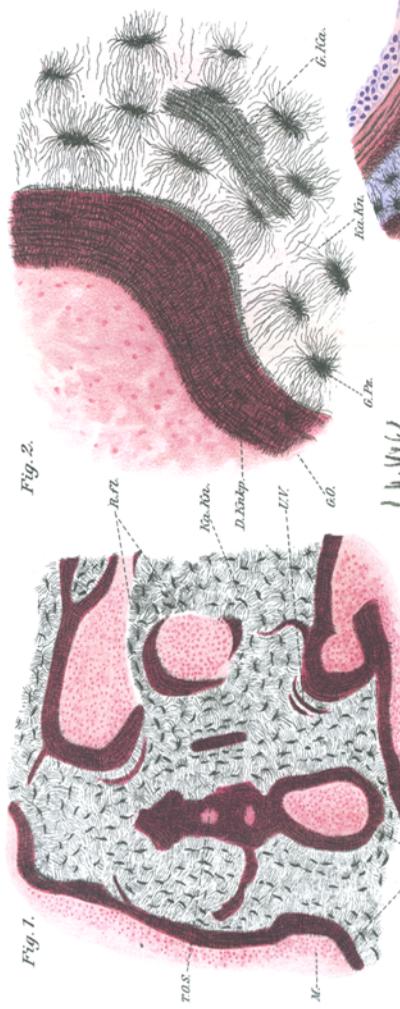
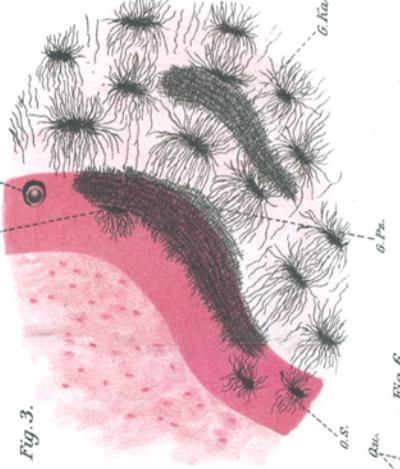


Fig. 2.



H.R.K.p.

J.B.L.



Fig. 3.



Fig. 4.

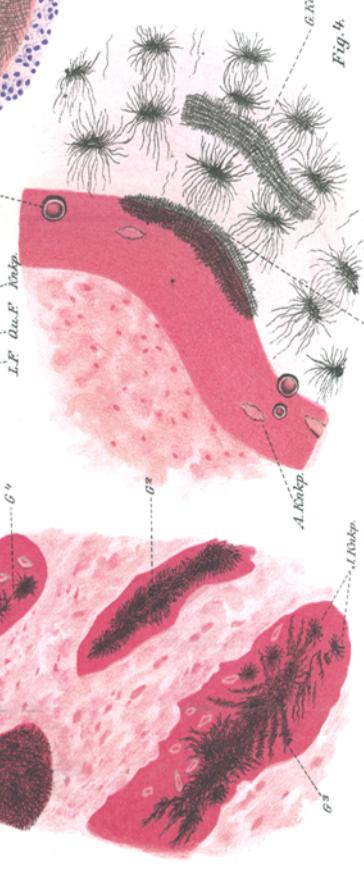


Fig. 4.

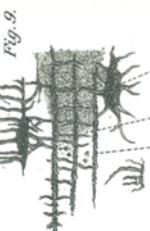


Fig. 5.

