

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin. — Direktor: Geh. Rat
Prof. Dr. O. Lubarsch.)

Über den Bau des Erythrocyten.

II. Mitteilung. Bau des Erythrocytenkörpers.

Von

Dr. med. M. Gutstein und Dr. med. G. Wallbach.

Mit 1 Textabbildung und Tafel I.

(Eingegangen am 25. Oktober 1926.)

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit¹⁾ hat der eine von uns neue Färbemethoden angegeben, mit deren Hilfe sich der Nachweis einwandfrei führen läßt, daß die Erythrocyten eine anatomische Membran besitzen. Es konnte dort noch wahrscheinlich gemacht werden, daß die theoretisch schon lange angenommene Haut als eine Lecithineiweißverbindung aufzufassen ist (Lecithoproteid). Die in der genannten Arbeit beschriebenen Färbemethoden — singuläre Färbung der Erythrocytenausstriche mit den Lösungen eines sauren oder basischen Farbstoffes oder basischen bzw. sauren Beizenfärbungen —, hatten außer der gelungenen Membrandarstellung häufig Befunde ergeben, die es nahe legten, daß die E. außer dem Hämoglobin noch scharf begrenzte Körper enthalten müßten. Da diese Befunde jedoch nur an einzelnen E. erhoben werden konnten und im schärfsten Gegensatz zu der landläufigen Meinung standen, daß die E. homogene biconcave Scheiben seien, so ergab sich die unbedingte Notwendigkeit, dem naheliegenden Einwand zu begegnen, daß es sich bei diesen Befunden um Kunstprodukte handeln könnte. Vor allen Dingen mußten Methoden ausfindig gemacht werden, die regelmäßig und an allen E. diesen Körper darzustellen gestatten. Über diese Versuche wollen wir in dieser Mitteilung berichten.

Gegen die landläufige Anschauung von der homogenen Beschaffenheit des E. haben zahlreiche Untersucher gewichtige Einwände gemacht und zahlreiche Befunde erhoben, die die Annahme nahelegten, daß die Blutzellen außer dem eigentlichen Hämoglobin noch einen Körper enthielten, der evtl. als Kernrest gedeutet werden könnte. Wir erwähnen z. B. die Arbeiten von Bremer, Lawdovsky (von dem die Bezeichnung *Nucleoide* herrührt), Arnold, Maximow, H. Hirschfeld, Pappenheim u. a. Auf eine ausführliche Darstellung des Schrifttums können wir um so mehr

verzichten, als der letzte Bearbeiter dieses Gebietes, *V. Schilling*²⁾, sie eingehend berücksichtigt hat. Etwas ausführlicher möchten wir auf eine Arbeit von *M. Loewit*³⁾ eingehen, da sie von *Schilling* nicht genügend gewürdigt worden ist. *Loewit* behandelte unfixierte Blutausstriche mit einer Auflösung gewisser saurer Farbstoffe (Fuchsin S, Orange G) in Methylalkohol und färbte mit bestimmten basischen Farben nach. Mit Hilfe dieser Methode erhielt *Loewit* an einzelnen E. im Innern der Zelle gelegene Körper, für die er die Bezeichnung *Innenkörper* vorschlug. Der Wert der *Loewitschen* Methode litt erheblich dadurch, daß sie nur an einzelnen dieser E. den Innenkörper nachwies. Hebt doch *Loewit* selbst hervor, daß die Innenkörper keine regelmäßigen Gebilde der E. darstellen, da sie an vielen Exemplaren fehlen können (l. c. S. 582). Es kommt noch hinzu, daß die Innenkörper *Loewits* keine scharf begrenzten und einheitlichen Gebilde darstellen, inkonstant in bezug auf Größe und Auftreten in den einzelnen Aussstrichen, so daß der Einwand eines Kunstproduktes zum mindesten erhoben werden könnte. Immerhin sind wir auf Grund unserer eingehenden Untersuchungen, die mit völlig anderen Methoden ausgeführt worden sind, der Überzeugung, daß *Loewit* zum Teil wenigstens wirkliche Bestandteile der E. und keine Kunstprodukte vor sich gehabt hat. Diese Befunde sowie vieler anderer Forscher sind von den meisten Hamatologen nicht anerkannt worden. Insbesondere hat *Weidenreich*⁴⁾ den Befunden des Innenkörpers oder Nucleoids die folgenden Einwände entgegengesetzt: daß nämlich die Ergebnisse der Untersucher beruhten auf 1. Mißdeutung der zentralen Depression (Delle), 2. färberischer Eigentümlichkeit der Erythrocytenmembran, 3. schlechter Fixation und Reagentienwirkung.

Mit dem Bau der E. hat sich zuletzt besonders eingehend *Schilling* beschäftigt. Im Gegensatz zu allen übrigen Untersuchern beschreibt *Schilling* nicht einen, sondern *mehrere körperliche Gebilde*, die in dem E. enthalten sein sollten, und zwar unterscheidet *Schilling*:

1. Glaskörper, eine größere achromatische Substanz,
2. Kapselkörper, „ein begrenzter anscheinend körperlicher isolierter Bezirk im normalen E., der sich infolge etwas höherer Resistenz und geringer chemischer Differenz ab und zu deutlich darstellen läßt.“ Nach *Schilling* ist der schwer darstellbare Kapselkörper verwandt mit dem *Heinz-Ehrlichschen* hämoglobinämischen Innenkörper (bei gewissen toxischen Anämien), die durch Erhöhung ihrer Resistenz und stärkere Veränderung ihrer chemischen Zusammensetzung sich leicht darstellen lassen,
3. Zentralkörnchengruppe, scharf begrenzte Körner mit kleiner Grundplatte, liegen unmittelbar am Kapselkörper und
4. den Blutplättchenkern.

Kritisch muß man gegen diese *Schillingschen* Befunde einwenden, daß seine Darstellungsmethoden, besonders die hämolytischen Färbe-

methoden, z. B. das stark alkalische Mansonblau, nicht als einwandfrei zu bezeichnen sind. Bei Verwendung solcher Verfahren sind ja Kunstprodukte unvermeidlich und in seinen Abbildungen reichlich enthalten. Unter diesen Umständen ist es aber äußerst schwierig, zu unterscheiden, welche Befunde als normale Erythrocytenstrukturen und welche als Kunsterzeugnisse anzusehen sind. Hinzu kommt, daß die Methoden, wie *Schilling* selbst schreibt, durchweg mehr den Charakter von gelegentlichen Mitteln zum Spezialstudium als von sicheren Demonstrationsmethoden haben. Wohl aus diesen Gründen sind die Ergebnisse von *Schilling* so ziemlich von allen Hämatologen mit größter Skepsis aufgenommen worden.

Bei der Ausarbeitung unserer Färbemethoden waren wir bestrebt, Verfahren zu finden, die folgenden Bedingungen genügen: 1. müssen die Befunde durch weitgehende Konstanz sich auszeichnen, d. h. gleichmäßige Befunde an allen oder fast allen E. der Blutausstriche ermöglichen; 2. mußten die einzelnen Strukturen an unveränderten E. zur Darstellung gebracht werden und sich deutlich vom Hämoglobin unterscheiden lassen und 3. eine Fixationsmethode angewandt werden, die die leicht verletzbare E. so erhält, daß sie die nachfolgende Färbung mit sauren bzw. basischen Farbstoffen vertragen, ohne hämolytisch verändert zu werden. Ferner mußte eine Fixation gewählt werden, die allgemein in der Histologie üblich ist, ohne Benutzung sehr differenter Lösungen, so daß von vorherein der Einwand eines Kunstproduktes ausgeschaltet werden konnte.

Es zeigte sich nun bald, daß die Wahl des Fixationsmittels von allergrößter Bedeutung für die Darstellbarkeit der einzelnen Erythrocytenstrukturen ist, und vor allen Dingen auch für die Konstanz der Befunde. Nach langen vergeblichen Versuchen fanden wir endlich, daß die Behandlung der Blutausstriche mit Susa nach *Heidenhain* die besten Resultate ermöglicht. Gelegentlich erwies sich auch eine Alkoholfixierung und Nachbehandlung mit Formalin als ziemlich gleichwertig. Die nachstehenden Färbemethoden wurden zum größten Teil an Hammelblutkörperchen angewendet, wo wir die zu beschreibenden Strukturen mit größter Regelmäßigkeit erhalten konnten. Bei Meerschweinchen, Mäusen haben wir keine so regelmäßigen Befunde erheben können, allerdings führen auch hier einzelne Färbemethoden zum Ziel. Zum Vergleich haben wir noch menschliche Erythrocyten herangezogen, bei denen ebenfalls die Darstellung geglückt ist.

Technische Vorbemerkungen.

Die Blutausstriche werden auf gut entfetteten Objektträgern in möglichst dünner und gleichmäßiger Verteilung angefertigt. Nach Lufttrocknung werden die Präparate im Susagemisch (Sublimat 4,5; Kochsalz 0,5, Wasser 80,0, Trichlorsäure 2,0, Eisessig 4,0, Formalin 20,0) fixiert, dann mit Aqua dest. abge-

spült und mit verdünnter Lugolscher Lösung und 0,25% Natriumthiosulfatlösung je $\frac{1}{2}$ Stunde nachbehandelt. Abspülen mit Aqua dest. Dann werden die Präparate den einzelnen Färbemethoden unterworfen, abgespült und mit Filtrierpapier getrocknet.

I. Färbung mit sauren Farbstoffen.

Am leichtesten gelingt der Nachweis einer besonderen Struktur des E. mit Hilfe saurer Farbstoffe, und zwar kann man sehr bequem durch Verwendung zweier Farbstoffe eine Doppelfärbung erzielen.

Die nachstehenden Färbemethoden lassen erkennen, daß der Hämoglobinanteil des E. nur die periphere Zone einnimmt, an die sich ein kugelförmiges Gebilde dicht anschließt, das wir als *Innenkörper* bezeichnen werden. Daneben sieht man oft innerhalb des Innenkörpers ein kleineres, ebenfalls kugelförmiges Gebilde, das wir als *Innenkörperchen* bezeichnen wollen, und ferner ein punktförmiges, sehr kleines Körperchen, — *Mikrogranulum* — das sich innerhalb, am Rande des Innenkörpers oder außerhalb, im Hb-Anteil befindet.

1. Pikrinsäure-Guineagrünmethode*).

Technik. Die nach oben vorbehandelten Ausstriche werden $\frac{1}{2}$ —1 Min. mit gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung gefärbt, abgespült und mit Guineagrün $\frac{1}{2}$ —1 Min. nachgefärbt, abgespült und getrocknet.

Färbungsergebnisse. Die E. sind von außen von einer *scharf umschriebenen grünen Membran* begrenzt, ihr folgt eine gelbfärbte Zone. Zentral befindet sich ein grüngefärbtes Gebilde. Dieser „Innenkörper“ ist meist scharf begrenzt, oft aber zeigt er eine verwaschene Randzone. Er liegt oft exzentrisch und ist meist vollständig gefärbt. Oft zeigt er aber eine grüne Membranfärbung mit einem ungefärbten hellen Zentrum. Die Innenkörper zeigen verschiedene Größe von etwa $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ des Erythrocytendurchmessers. Zuweilen hat er nur $\frac{1}{4}$ des Durchmessers und enthält im Innern ein für sich gefärbtes dunkles punktförmiges Gebilde, dunkel bis schwarzgrün, das zuweilen auch außerhalb, im Hb-Anteil zu finden ist (Tafel I, Abb. 1).

2. Erythrosin-Guineagrünmethode.

Technik. Die nach oben vorbehandelten Ausstriche werden $\frac{1}{2}$ —1 Min. mit Eosin oder Erythrosin gefärbt, abgespült und mit Guineagrün $\frac{1}{2}$ —1 Min. nachbehandelt. Abspülung und Trocknung.

Färbungsergebnisse. Die E. werden von einer scharf umschriebenen grünen Linie begrenzt; einzelne E. zeigen oft eine äußere hellgrüne Membran und eine innere, die dem Hb aufsitzt und schwach oder fast gar nicht gefärbt ist. Zwischen diesen beiden Linien befindet sich dann ein ungefärbter heller Zwischenraum. Die Randzone des E. ist rosa gefärbt. Zentral oder manchmal exzentrisch befindet sich ein grünlich-bläuliches rundes Körperchen von $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ des Erythrocytendurchmessers. Die Innenkörper sind meist scharf begrenzt mit hellem Zentrum. Auch hier befindet sich ein dunkelgrün bis schwarz gefärbtes Pünktchen am Rande oder im Innern des Innenkörpers oder selten außerhalb desselben im Innern des Hb-Anteils. Die Innenkörper treten in dem Präparat sehr deutlich als körperhafte Gebilde auf (Tafel I, Abb. 2).

*) Die Farbstoffe wurden, soweit nicht eine andere Zusammensetzung ausdrücklich angegeben ist, in 1%-wässrigen Lösungen verwendet.

II. Färbung mit basischen Farbstoffen.

3. Carbolmethylenblaumethode.

Die wie oben vorbehandelten Ausstriche werden $\frac{1}{2}$ Min. mit Carbolmethylenblau gefärbt. Darauf werden die Ausstriche abgespült und getrocknet.

Färbungsergebnisse. Die E. werden von einer breiten dunkelblauen Membran begrenzt. Zuweilen ist außer dieser noch eine schwächere durch einen Zwischenraum getrennte, schwach bläuliche zarte Linie sichtbar. Der Hb-Anteil ist grünlichgelb. Der Innenkörper weist eine blaue, scharf begrenzte Linie und ein hellgefäßtes Zentrum auf. Das punktförmige Gebilde — Mikrogranulum — ist dunkelblau, fast schwarzblau gefärbt, befindet sich innerhalb oder am Rande des Innenkörpers oder im Hb-Anteil, zuweilen aber auch am äußeren Rande des E. Zuweilen befindet sich auch innerhalb des Innenkörpers oder außerhalb desselben ein kleines rundes, dunkelblau bis blauviolett gefärbtes Innenkörperchen. Man hat oft den Eindruck, daß das Innenkörperchen im Begriff ist, den E. zu verlassen (Tafel I, Abb. 3).

4. Methylviolettmethode.

Technik. Die vorbehandelten Ausstriche werden $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Min. mit Methylviolet gefärbt. Abspülung und Trocknung.

Färbungsergebnisse. Die E. sind von einer doppelt konturierten dunkelvioletten Membran begrenzt, zwischen deren beiden Linien sich ein heller Zwischenraum befindet. Der Hb-Anteil ungefärbt oder nur schwachviolett, der Innenkörper im Zentrum oder exzentrisch gelegen. Innenkörper meist dunkelviolett, vollkommen durchgefäßt, zuweilen nur Membranfärbung. Begrenzung meist scharf, zuweilen etwas verwaschen. Das Mikrogranulum ist ebenfalls mit charakteristischer Lagerung vorhanden, in dunkelvioletter bis schwarzvioletter Färbung (Tafel I, Abb. 4).

5. Carbolfuchsinmethode.

Technik. Die vorbehandelten Ausstriche werden $\frac{1}{4}$ Min. mit Ziehls Carbolfuchsinfärbt. Abspülen, Trocknung.

Färbungsergebnisse. Erythrocytenmembran rot, Hb hellrot, Innenkörper mit dunkelroter Membran und hellerem Zentrum. Mikrogranula oft sichtbar, am Erythrocytenrand oder in der Nähe des Innenkörpers (Tafel I, Abb. 5).

Wie wir eingangs bereits erwähnt haben, haben wir neben Hammelblut, auf das sich die oben beschriebenen Abbildungen beziehen, auch Ausstriche von Meerschweinchen, Mäusen und Kaninchen zur Untersuchung herangezogen. Hier gaben nur vereinzelte Methoden positive Befunde. Wir gewannen aber im Verlauf der Untersuchung die Überzeugung, daß auch hier der Innenkörper zwar vorhanden ist, aber vielleicht durch das hier reichlicher vorhandene Hb leicht überdeckt ist. Besonderen Wert legten wir darauf festzustellen, daß auch an menschlichen E. die beschriebenen Befunde nachzuweisen sind. Hier ergab nun die Pikrinsäure-Guineagrünmethode einen deutlich positiven Befund (Tafel I, Abb. 6). Freilich sind hier die Innenkörper nicht so scharf begrenzt. Die besten Ergebnisse hatte die Erythrosin-Guineagrünmethode, bei der die E. eine deutlich blaugrüne Membran haben, das Hb gelblichrosa erscheint, während der Innenkörper blaugrün in Erscheinung tritt (Tafel I, Abb. 7).

Die Größe des Innenkörpers schwankt zwischen $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ des Erythrocytendurchmessers. Es erscheinen die Innenkörper ziemlich groß, schwach gefärbt, während die Innenkörperchen kleiner, stark blau-grün gefärbt sind. Zuweilen sieht man die beiden Körper nebeneinander liegen. Auch das Mikrogranulum ist zuweilen sichtbar, es stellt ein dunkelgrünes Pünktchen dar. Positive Ergebnisse hatte auch die Methylviolettmethode (Tafel I, Abb. 8): Erythrocyteninnenmembran dunkelviolett, Außenmembran hellviolett, Hb gelblich oder ungefärbt, Mikrogranulum dunkel. Auch bei Alkoholätherfixierung und nachfolgender Formalinbehandlung gab uns die Methylviolettmethode einen positiven Befund. Erythrocytenmembran dunkelviolett, Hb ungefärbt, Innenkörper violett (Tafel I, Abb 9).

Die beschriebenen neuen Färbemethoden lassen unserer Meinung nach sehr deutlich erkennen, daß die landläufige Anschauung, die Erythrocyten seien homogene Scheiben, die in ihrem Innern nur Hämoglobin enthielten, nicht den Tatsachen entspricht. Freilich sieht man bei Beobachtung der ungefärbten Erythrocyten unter dem Mikroskop auf den ersten Blick, daß keine homogenen Körper vorliegen. Im zentralen Teil der roten Blutkörperchen erblickt man eine runde helle Lücke, die sich besonders bei Abblendung durch die Irisblende deutlich von dem hämaglobingelben Rest abhebt. Dieses bekannte Verhalten hat man allgemein darauf zurückgeführt, daß die Erythrocyten bikonkav Scheiben seien, die mit einer zentralen Delle versehen sind. Unserer Überzeugung nach beruht aber die allgemeine Anschauung, die Erythrocyten besäßen eine zentrale Einbuchtung, auf einem Irrtum. Dagegen spricht nämlich die folgende Beobachtung, die wir wiederholt gemacht haben: Bringt man einen großen Blutstropfen auf einen Objektträger, deckt ihn mit einem Deckgläschen zu und mikroskopiert bei mittelstarker Vergrößerung (Leitz Okular 4, Objektiv 4—6), so kann man sehr schön feststellen, daß an den sich bewegenden Erythrocyten die sogen. zentrale Einbuchtung selbständige Bewegungen innerhalb des Blutkörperchens ausführt. Wie wir nachträglich aus dem Schrifttum festgestellt haben, war diese Tatsache bereits *Loewit* bekannt. *Loewit* beschreibt nämlich im Dunkelfeld am frischen Blutkörperchen homogene helle Gebilde, die selbständig wirbelnde oder kreisende Bewegungen innerhalb des Erythrocyten ausführen (L.C., S. 589). Nach unseren Erfahrungen kann man auch ohne Dunkelfeld dieselbe Beobachtung anstellen, und zwar unter Abblendung.

Gegen die Beobachtung am frischen Blutstropfen kann man allerdings den scheinbar berechtigten Einwand machen, daß das runde helle Körperchen bzw. die Lücke auf einer optischen Interferenzerscheinung beruhen könne. Dieser Einwand wird aber dadurch völlig widerlegt, daß es mit Hilfe der beschriebenen Färbemethoden gelungen ist, denselben Körper für sich in einer Gegenfarbe zum Hämoglobin zur Dar-

stellung zu bringen. Für diesen Körper haben wir in Anlehnung an *Loewit* die Bezeichnung Innenkörper gewählt. Anscheinend ist dieser Innenkörper dem von *Schilling* als Glaskörper bezeichneten Gebilde gleich. *Schilling* wählte diese Bezeichnung aus dem Grunde, weil er eine homogene nicht färbbare Substanz vor sich zu haben geglaubt hat. Nachdem aber unsere Untersuchungen ergeben haben, daß dieser Körper sich sogar verhältnismäßig leicht mit sauren und basischen Farbstoffen färben läßt, erscheint die Bezeichnung Glaskörper nicht mehr gerechtfertigt; vielmehr scheint uns die ältere Bezeichnung Innenkörper auch aus geschichtlichen Gründen den Vorzug zu verdienen.

Der Innenkörper entspricht in bezug auf Größe und Lagerung genau der zentralen Delle. Da letztere demnach überhaupt nicht vorhanden ist, und nur durch den Innenkörper vorgetäuscht wird, so kann der Erythrocyt nicht mehr als bikonkav Scheibe aufgefaßt werden. Vielmehr ist es viel wahrscheinlicher, die Blutkörperchen als kugelige Gebilde aufzufassen, die nach außen von einer doppelt umrisstenen Haut begrenzt werden. Innerhalb dieser Kugel wird eine mehr oder mindere breite Randzone vom Hämoglobin eingenommen. Im zentralen Teil des Blutkörperchens befindet sich, nach außen unmittelbar an das Hämoglobin anschließend, ein kugelförmiges Gebilde, der Innenkörper. Die Tatsache, daß der Innenkörper bisher meist übersehen worden ist, und nur schwer nachgewiesen werden kann, scheint nur darauf zu beruhen, daß er, im mittleren Teil des Blutkörperchens gelegen, von der Randhämoglobinzone meist verdeckt wird.

Wie wir eingangs bereits erwähnt haben, hat es nicht an Untersuchern gefehlt, die gegen die vorherrschende Lehre von der Homogenität des Erythrocyten Front gemacht haben. Die von verschiedenen Seiten erhobenen Befunde über das Vorhandensein spezieller Gebilde innerhalb des Blutkörperchens wurden bisher mit dem Einwand „Kunstprodukt“ abgetan. Es erscheint daher notwendig, auf diesen Punkt etwas näher einzugehen. Daß es sich bei dem von uns dargestellten Innenkörper etwa um aufgelagerte Blutplättchen handelt, dürfte für jeden unvoreingenommenen Beobachter als ausgeschlossen gelten. Dagegen spricht erstens das regelmäßige Vorkommen des Innenkörpers in jedem Erythrocyten und zweitens das völlig abweichende färberische Verhalten der Blutplättchen. Auch den allgemeinen Einwand eines Kunstproduktes glauben wir völlig widerlegen zu können. Daß man mit solcher Regelmäßigkeit Kunstprodukte erhalten kann, dürfte für jeden Unvoreingenommenen zumindesten ziemlich unwahrscheinlich sein. Dagegen spricht ferner noch, daß wir dieselben Befunde mit verschiedenen Färbemethoden und durch eine Fixationsmethode (Susagemisch) erhalten haben, die in der Histologie und Histopathologie allgemein verwendet wird. Wir möchten noch ganz besonders auf die Tatsache hinweisen, daß uns die Darstellung

des Innenkörpers am unveränderten Erythrocyten gelungen ist, wobei gleichzeitig das Hämoglobin in einer Gegenfarbe erscheint (vgl. die Abbildungen 1 und 2, Tafel I), so daß eine Verwechslung des Innenkörpers mit letzterem ausgeschlossen erscheint.

Wir wollen uns nunmehr der Frage zuwenden, ob der Säugetier-erythrocyt neben dem Innenkörper noch andere Strukturen enthält. Bekanntlich hat *Schilling* in seinem theoretischen Schema des Erythrocytenbaues mehrere Gebilde unterschieden: Glaskörper, Kapselkörper, Blutplättchenkern, Körnergruppe. Mit unseren Färbemethoden können wir die *Schillingschen* Angaben nicht bestätigen. Vielmehr ist es uns im Laufe unserer Untersuchung wahrscheinlich geworden, daß seine Befunde zum Teil auf Kunstprodukten beruhen, die er durch partielle Hämolysen der Erythrocyten erhalten hat. Bei unvollständigen Fixationsmethoden haben wir oft auch solche Gebilde, wie z. B. *Schillings* Blutplättchenkern, erhalten, die aber unzweifelhaft uns als veränderte Innenkörper erscheinen sind. Dagegen haben wir des öfteren innerhalb oder neben dem Innenkörper ein kleineres ebenfalls rundes Gebilde beobachtet, daß wir Innenkörperchen zu bezeichnen vorschlagen. Verhältnismäßig häufig gelang uns der Nachweis des Innenkörperchens mit Hilfe nachstehender Methode*).

Technik. Die unfixierten Blutausstriche werden 2—3 Min. mit einer gesättigten wässrigen Pikrinsäurelösung gefärbt. Nach kurzem Abspülen werden die Ausstriche einige Sekunden (3—5 Sek.) mit Eosin- oder Guineagrün nachgefärbt, abgespült und getrocknet.

Bei dieser Methode (Tafel I, Abb. 10), bei der die Pikrinsäure gleichzeitig als Färbungs- und Fixierungsmittel dient, werden die Erythrocyten erheblich, wahrscheinlich durch hämolytische Vorgänge, verändert. Doch lassen die meisten Erythrocyten folgenden Befund erkennen. Der periphere Teil ist deutlich gelb gefärbt, nach außen wird der Erythrocyt von einer scharf begrenzten roten bzw. grünen Membran begrenzt, von der das Hämoglobin oft durch eine schmale ungefärbte Zone getrennt ist. Nach innen ist das Hämoglobin durch eine schmale rötliche bzw. grünliche Linie abgetrennt. Innerhalb dieser Linie befindet sich ein roter bzw. grüner halbmondförmiger oder runder Körper, der ein kleines gelbes rundes oder ovales Gebilde einschließt. Der Innenkörper befindet sich oft außerhalb oder neben dem Erythrocyten. Man erkennt aber noch, daß er im Begriff ist, den Erythrocyten zu verlassen. Zuweilen haben wir auch nur das Innenkörperchen hervortreten sehen mit schmaler roter bzw. grünlicher Membran und gelbem Zentrum.

*) Wir möchten noch bemerken, daß einem von uns die Darstellung des Innenkörpers und Innenkörperchens auch an Schnittpräparaten an der Maus gelungen ist, und zwar mittels zweier Methoden: 1. Carboltoluidinblau-Tannin-Fuchsin. 2. Carbofuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau, über deren Ergebnisse an anderer Stelle berichtet wird.

Wenn auch diese Befunde nicht als ganz eindeutig zu betrachten sind, so erscheinen sie doch deswegen wertvoll, weil sie in Übereinstimmung mit ähnlichen Ergebnissen stehen, die wir mit anderen Färbemethoden an fixierten Blutaussstrichen gefunden haben.

Nachweis des Innenkörperchens durch supravitale Färbung.

Da wir das Innenkörperchen nicht regelmäßig, sondern nur vereinzelt erhalten haben, so ist es von Wichtigkeit und größter Bedeutung, daß es gelungen ist, dieses Gebilde supravital am unveränderten Erythrocyten nachzuweisen.

Technik. 2—3 Ösen frischen Hammelblutes (durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert) werden auf einen sauberen Objekträger gebracht. Dann werden 2—3 Ösen einer filtrierten 1 proz.

Nilblausulfat-, Viktoriablau- oder Methylviolett-Lösung so auf den Objekträger getan, daß der Farbstoff den Bluts tropfen gerade an einer Seite berührt. Tut man ein Deckgläschen darauf, so diffundiert der Farbstoff langsam in den Bluts tropfen hinein.

Unter dem Mikroskop beobachtet man nach einigen Minuten (Tafel I, Abb. 11) ein kleines rundes blau bzw. violett gefärbtes Gebilde, das in lebhaft kreisender Bewegung innerhalb des Erythrocyten sich befindet. Der Größe nach entspricht dieser Körper dem Innenkörperchen. Sehr

schön beobachtet man oft, wie dieses Körperchen an der Innenfläche der Erythrocytenmembran sich entlang bewegt, ohne den Erythrocyten verlassen zu können. Zuweilen wird das Innenkörperchen sichtbar innerhalb der hämolysierten Erythrocyten, die sich als Scheiben mit hellem Zentrum und dunkelblau bzw. violett gefärbter Membran darbieten. Wir möchten hervorheben, daß dieses Körperchen nicht mit Farbstoffkörnchen verwechselt werden kann, da es sich innerhalb des Erythrocyten befindet und nur bei einer bestimmten Einstellung des Mikroskops auf ein bestimmtes Niveau des Erythrocyteninneren sichtbar wird. Die Supravitalfärbung ist uns regelmäßig nur am Hammelblut geglückt, während die Innenkörperchen an Mäuse- und Menschenblut nur vereinzelt nachgewiesen werden können.

Der Bau des Erythrocyten läßt sich nach vorstehendem in folgendes Schema bringen (Textfigur 1):

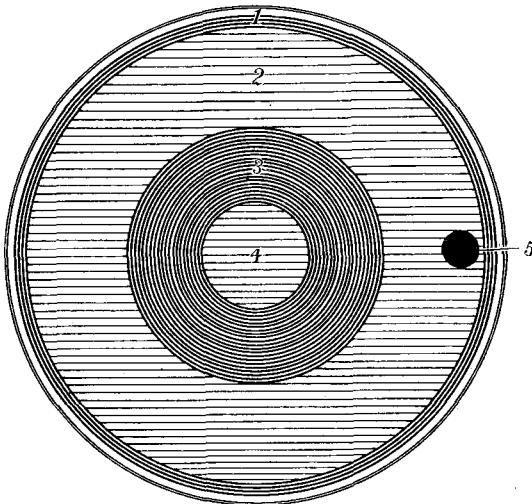


Abb. 1. Bau des Erythrocyten (schematisch).
Erläuterung vgl. S. 750.

1. Membran, bestehend aus einer dünnen äußeren und einer dickeren inneren Schicht, zwischen denen eine schwer färbbare Zone sich befindet.
2. Hämoglobin.
3. Innenkörper.
4. Innenkörperchen.
5. Mikrogranulum.

Es erübrigts sich noch, die Frage aufzuwerfen, wie die in den Erythrocyten nachweisbaren Innenkörperchen und Innenkörper zu deuten sind. Betrachtet man die Bilder, die der Erythrocyt nach den beschriebenen Färbemethoden gibt, so würde jeder unvoreingenommene Beobachter, der nicht weiß, daß es sich um rote Blutzellen handelt, wahrscheinlich eine gewöhnliche tierische Körperzelle mit Kern, Kernkörperchen und Zelleib vor sich zu haben glauben. Wir wollen dabei keineswegs behaupten, daß der Innenkörper dem Kern der übrigen Körperzellen entspricht, zumal nach der herrschenden Lehre der Erythrocyt im Gegensatz zu dem Erythroblasten den Kern durch Karyolyse oder durch Ausstoßung verloren hat. Ohne die unserer Meinung nach noch nicht vollständig geklärte Frage entscheiden zu wollen, daß der Erythroblast vollständig seinen Kern verliert, müssen wir die Frage aufwerfen, ob die von uns dargestellten Gebilde nicht als Kernreste zu betrachten sind. Für die Beurteilung dieser Frage schien es uns von Wichtigkeit festzustellen, wie sich die roten Blutkörperchen der Vögel diesen Färbemethoden gegenüber verhalten.

Verwendet man in gleicher Weise fixierte Blutausstriche vom Huhn, so gibt die Eosin-Guineagrünmethode folgenden Befund (Tafel I, Abb. 12): Die ovalen Blutkörperchen sind von einer dunkelgrünen Haut umgrenzt, die sich nach außen in eine zarte helle Begrenzungslinie fortsetzt. Der Kern ist grün gefärbt, zeigt einen netzförmigen Bau und setzt sich durch eine schön rot gefärbte Linie vom Hämoglobin ab (Kernmembran). Auch das Mikrogranulum sieht man oft als schwarzes Pünktchen an der Kernmembran oder im Hämoglobin oder am Erythrocytenrand. Bei Färbung mit basischen Färbstoffen ergibt z. B. Methylviolett (Tafel I, Abb. 13): die Erythrocytenmembran violett, die Randzone (Hämoglobinanteil) gelblich bis schwach hellviolet, während der Kern meist dunkelviolet und stark gefärbt ist. Auch ist zuweilen das Mikrogranulum als schwarzes Pünktchen an typischer Stelle zu sehen. Carbol-methylenblau liefert bez. des Kernes ein gleiches Bild (Tafel I, Abb. 14): Dunkelblauer Kern ohne sichtbare Membran. Hämoglobin grünlich, äußere Haut nicht sichtbar.

Wie aus diesen Befunden ersichtlich, verhält sich der Kern der Vogelerythrocyten färberisch ähnlich dem Innenkörper der Säugetiererythrocyten. Ganz charakteristisch ist hier die Doppelfärbung mit Eosin-Guineagrün, wo der Kern dieselbe Farbe wie der Innenkörper annimmt,

im Gegensatz zum Hämoglobin, das die Kontrastfarbe annimmt. Diese Tatsachen lassen uns die Annahme berechtigt erscheinen, daß der Innenkörper der Säugetiererythrocyten als veränderter Kernrest der Jugendformen (Erythroblasten) aufzufassen sind. Über das Verhältnis des Innenkörpers und Innenkörperchen zu den *Heinz-Ehrlichschen hämoglobinämischen Innenkörperchen* werden wir in einer anderen Arbeit berichten.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Die Abb. 3, 6, 7, 8, 10, 11 sind bei $\frac{1}{12}$ Immers. und Okular 4, die übrigen mit dem gleichen Objektiv und Okular 3 angefertigt.

- Abb. 1. Pikrinsäure-Guineagrünmethode. Hammelblut. Susafixation. Scharf konturierte grüne Membran, nach innen zunächst eine periphere Zone, gelb gefärbt, der Hb-Anteil. Im Zentrum oder etwas exzentrisch der grüne Innenkörper, meist scharf begrenzt, selten verwaschene Grenze. Das dunkel gefärbte Mikrogranulum teils im Zentrum des Innenkörpers, teils am Rande der Hb-Zone.
- Abb. 2. Erythrosin-Guineagrünmethode. Hammelblut. Susafixation. Scharf begrenzte grüne Membran. Hb-Anteil dunkelrosa. Innenkörper treten als körperhafte blaugrüne scharf begrenzte Gebilde hervor.
- Abb. 3. Carbolmethylenblaumethode. Hammelblut. Susa. Scharf begrenzte blaue Membran. Hb-Anteil grünlichgelb. Der Innenkörper weist eine blaue scharf begrenzte Linie und ein helles Zentrum auf. Das Mikrogranulum dunkelblau, fast schwarzblau, innerhalb des Innenkörpers oder im Hb-Anteil. In einem E. befindet sich ein kleines violettes rundes Gebilde — das Innenkörperchen, das anscheinend im Begriff ist, den E. zu verlassen.
- Abb. 4. Methylviolettmethode. Hammelblut. Susa. Doppelt konturierte dunkelviolette Membran. Hb-Anteil schwach violett, zum Teil mit ausgeprägter Membranfärbung.
- Abb. 5. Carbofuchsinmethode. Hammelblut. Susa. Membran und Hb-Anteil rot, Innenkörper mit dunkelroter Membran und hellem Zentrum.
- Abb. 6. Pikrinsäure-Guineagrünmethode. Menschenblut. Susa. Hb gelb, der Innenkörper schwach grünlich, meist mit hervortretender Membranfärbung und hellem Zentrum.
- Abb. 7. Erythrosin-Guineagrünmethode. Menschenblut. Susa. Membran blau-grün, periphere Hb-Zone schwach rosa. Innenkörper grünlichblau. An einem E. innerhalb des Innenkörpers deutlich das Innenkörperchen als dunkelblau gefärbtes Gebilde zu erkennen.
- Abb. 8. Methylviolettmethode. Menschenblut. Susa. Membran hellviolett. Hb-Zone schwach gefärbt, Innenkörper bläulichviolett.
- Abb. 9. Methylviolettmethode nach vorheriger Alkohol-Äther-Formalinfixierung am Menschenblut. Die Innenkörper treten hier deutlicher hervor als in voriger Abbildung. Auch die Membran hier schärfer ausgeprägt.
- Abb. 10. Pikrinsäure-Eosinmethode am unfixierten Blutausstrich (Hammel). Scharf begrenzte rote Membran, Hb-Anteil gelb. Im Zentrum oder etwas exzentrisch ein roter halbmondförmiger, zuweilen kreisförmig geschlossener Körper (Innenkörper?), der ein kleines gelbes rundes oder ovales Gebilde einschließt. (Innenkörperchen.)

- Abb. 11. Supravitalfärbung des Innenkörperchens mit Nilblausulfat. Innerhalb des angefärbten E. ein dunkelblaues rundes Gebilde von verschiedener Größe, das bei Lebendbeobachtung innerhalb des E. tanzende Bewegungen ausführt. Der Größe nach entspricht es dem Innenkörperchen.
- Abb. 12. Eosin-Guineagrünmethode. Susa. Hühnererythrocyten. Doppelt konturierte grüne Membran, Innenmembraun scharf begrenzt, dunkelgrün, Außenmembran unscharf, hellgrün, Hb-Anteil rosa, dunkelrote Kernmembran. Kern grün, zeigt netzförmigen Bau.
- Abb. 13. Methylviolettmethode. Susa. Huhn. Membran violett, Hb schwach hellviolett, Kernmembran als ungefärbter Hof zu erkennen. Kern dunkelviolett.
- Abb. 14. Carbolmethyleneblaumethode. Susa. Huhn. Kern dunkelblau. Heller Hof um den Kern, der der ungefärbten Kernmembran entspricht. Erythrocytenmembran ungefärbt.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Gutstein, M., Cbl. f. Bakt. **97**, Beiheft und Folia haematol. 1927 (im Erscheinen). — ²⁾ Schilling, V., Folia haematol. **14**, 1. Teil, Archiv. — ³⁾ Loewit, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. **42**. — ⁴⁾ Weidenreich, Zeitschr. f. d. ges. Anat., Abt. 3: Ergebni. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. **13**, 1; **14**, 345.
-

