

(Aus der Universitäts-Augenklinik Bern [Direktor: Prof. A. Siegrist].)

Arbeiten über das E-Vitamin.

VII. Mitteilung.

Gewebemengenanalyse der Zwischenzellen in den E-Avitaminosehoden.

Von

Alexander Juhász-Schäffer.

Mit 14 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 2. Juni 1932.)

In der I. Mitteilung unserer Arbeiten über das E-Vitamin haben wir schon über das Verhalten des Zwischengewebes in den E-Avitaminosehoden einiges mitgeteilt. Dieses Gewebe hat in der Frage nach den inkretliefernden Bestandteilen der Keimdrüse eine gewisse Bedeutung erlangt; es wurde zur Beantwortung dieser Frage bekanntlich der alkohol- und röntgenatrophische Hoden, der kryptorche und der durch Samenleistenunterbindung verödete Hoden als Forschungsgegenstand herangezogen. Eben durch die Isolierung des Zwischengewebes durch Absterben des Keimgewebes eignet sich der E-Avitaminosehoden gleichfalls zur Inangriffnahme dieser Frage. Ebenso, wie bei den Röntgenhoden, erfahren die *Leydig*-schen Zellen auch in den Hoden unsrer Versuchstiere keine Entartung oder sonstige pathologische Veränderungen. In dieser Beziehung sind sich eigentlich sämtliche Forscher, die den Krankheitsvorgang der sog. E-Avitaminose untersucht haben, einig. Als Forschungsproblem, auf das ich zuerst hingewiesen habe, bleibt uns immerhin die Frage, ob diese Zellen in der Karenzzeit irgendwie an Menge sich verändert haben, d. h. ob sie zunahmen, oder an Zahl abgenommen haben. Eigentlich war die gleiche Frage bei anderen Hodenatrophien der Mittelpunkt unzähliger Forschungen jener Forscher, die auf das Mengenverhalten des Zwischengewebes Annahmen über die Lokalisation des hormonbildenden Gewebeanteiles in den Hoden aufgestellt haben (*Ancel* und *Bouin*, *Steinach*, *Pezard*, *Sand*, *Lipschütz*, *Stieve* u. a.). Soweit war diese Forschung auf Bestimmung der genannten Mengenverhältnisse gegründet, daß es zu genügen schien, die Annahme über die innere Sekretion der *Leydig*-Zellen vollständig zu widerlegen, wenn man nachweisen konnte, daß diese Zellen in den atrophischen Hoden nicht, oder

wenigstens nur in geringem Maße zunehmen. Wir wollen nicht auf die Kritik dieser Arbeiten eingehen. Wir wollen nur zur Erforschung der gleichen Frage den E-Avitaminosehoden ausdrücklich empfehlen, und zwar aus dem besonderen Grunde, weil die E-Avitaminose einen sehr chronischen langdauernden Krankheitsvorgang darstellt, bei welchem das Zwischengewebe genügend Zeit hat eine vermutliche Gewebereaktion ausgiebig zu entfalten. Dabei ist es auch von Vorteil, daß bei diesem Krankheitsprozeß die erhaltenen Schädigungen ausschließlich auf die Hoden beschränkt bleiben und der gesamte übrige Organismus von dem Vitaminmangel keinen Schaden erleidet. Wenigstens wurden bis jetzt keine Allgemeinschädigungen, oder außerhalb des Hodens lokalisierte Veränderungen erkannt.

Eine Darstellung dieser Frage im Rahmen dieser Arbeit ist nicht angebracht und wir können auf die einschlägigen Monographien von *Harms, Steinach, Stieve*, aber vor allem auf die von *Lipschütz* verweisen. Mir scheint, daß wenn auch die Frage nach der funktionellen Bedeutung der *Leydig*-Zellen an Aktualität stark eingebüßt hat, ist sie heute immerhin noch nicht endgültig gelöst. Jede Annahme, also auch die der sog. Pubertätsdrüse, hat nur als Arbeitsannahme eine Daseinsberechtigung und als solche hat sie sich recht verdient gemacht. Daß die genannte Frage weder dafür noch dagegen endgültig beantwortet werden konnte, liegt vielleicht an dem Mangel an Mitteln, die zum Ziele führen könnten. Der E-Avitaminosehoden wird sicherlich unter den Forschungsgegenständen, die in dieser Frage noch herangezogen werden, eine nicht unbedeutende Rolle spielen. Eine nicht zu umgehende Schwierigkeit ergibt sich jedoch bei Erzeugung dieser Art von Hodenatrophie, nämlich die ungewöhnlich lange Dauer des Krankheitsvorganges. Während einerseits, wie schon erwähnt, die lange Dauer der Erkrankung von großem Vorteil ist, werden andererseits manche Forscher Bedenken haben zu diesem Objekt zu greifen, dessen Herstellung allein mindestens ein halbes Jahr Arbeit beansprucht. Vielleicht ist dies allein die Ursache, warum verhältnismäßig so wenig Schrifttum über das Thema E-Vitamin bis heute entstanden ist.

In der vorliegenden Arbeit haben wir versucht, die Mengenverhältnisse der *Leydig*-schen Zellen in den E-Avitaminosehoden auf Grund möglichst genauer Messungen zu bestimmen.

Die Frage der Mengenverhältnisse des Zwischengewebes bei normalen und pathologisch veränderten Hoden war, wie obenerwähnt, eines der umstrittensten Forschungsgebiete des letzten Jahrzehnts, besonders da diese Frage mit der der innern Sekretion des Hodens eng verknüpft zu sein schien. Eine Zergliederung der Gewebsmengen an verschiedenen Organen wurde schon früher versucht, so z. B. von *Jensen, Jäger, Dahlberg* für Rinde und Mark im Großhirn, von *Heiberg* für die *Langerhansschen*

Inseln der Bauchspeicheldrüse, von *Hammar* für den Thymus, lymphoide und endokrine Organe. An diese einleitenden Versuche lehnt sich dann die von *Bergonié* und *Tribondeau* ausgearbeitete Mengenbestimmung der Gewebsteile der Hoden an. Diese Forscher zeichneten die Umrisse von Hodenkanälchen ab und schnitten diese aus dem Papier heraus; nun wurden die den Kanälchen und die dem Zwischenraum entsprechenden Teile der Zeichnung gesondert gewogen und die Gewichtsverhältnisse miteinander verglichen. Durch dieses Verfahren erhielt man das zahlenmäßige Wertverhältnis zwischen Keimanteil und Zwischengewebsteil des Hodens. Da aber nur Verhältnis- und keine Vollwerte gewonnen wurden, ergänzte *Stieve* dieses Verfahren auf eine einfache Art. Er maß vor der Fixierung das Gesamtvolumen des Hodens, so daß er nachher in der Lage war, aus den Verhältniswerten die Voll- (absoluten) Werte auch auszurechnen. Bei früheren Arbeiten wurden bekanntlich die Mengenverhältnisse zwischen Keimanteil und Zwischengewebsteil nur schätzungsweise ermittelt und daraus Folgerungen gezogen, die, wie das sich nachher herausstellte, sich als nicht richtig erwiesen haben. So wollten vor allem die beiden französischen Forscher *Bouin* und *Ancel*, dann *Steinach*, *Sand*, *Lipschütz* u. a. bei ihren Arbeiten über innere Sekretion des Hodens und vor allem über die Bedeutung des Zwischengewebes tatsächlich ohne eine hinreichende Meßmethode in den Mengenverhältnissen der verschiedenen Hodengewebe Wertverschiebungen erkannt haben, von denen verschiedene Annahmen über die Verrichtung des Zwischengewebes abgeleitet wurden. Diese Fragen, die heute schon zum Teil geklärt sind, sind für uns jetzt ohne Belang; dagegen schien uns die Frage dennoch anziehend zu sein, wie sich das Zwischengewebe im E-Avitaminohoden verhält. Um aber eine Zergliederung der Gewebsmengen, soweit es möglich ist, verläßlich vornehmen zu können, haben wir nach einem Verfahren gesucht, und da ein solches schon vorlag, griffen wir selbstredend zuerst zu diesem. Dieses Verfahren ist unter anderen in dem *Abderhaldenschen* Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden von *Schinz* und *Slotopolsky* sehr eingehend beschrieben, und wir würden uns nicht lange bei diesem Thema aufhalten, wenn sich nicht auch dieses Verfahren in unsern Versuchen als unzulänglich erwiesen hätte, und wenn wir uns nicht genötigt gesehen hätten, ein anderes, unserer Auffassung nach besseres und einfacheres, unserem Zweck eher entsprechendes Verfahren auszuarbeiten. Dies ist der Grund, warum wir bei der Zergliederung der Gewebsmengen länger verweilen müssen. Obwohl diese ganze Frage seit einigen Jahren, wie erwähnt, an Bedeutung beträchtlich eingebüßt hat, wird vielleicht die entsprechende Methodik immerhin die weitere Forschung fördern können.

Die *Bergonié-Tribondeau-Stievesche* Methode bezweckt, über die vollständigen und beziehungsmäßigen Mengenverhältnisse der einzelnen Gewebsanteile im Hoden ein klares Bild zu geben. Einfach gestaltet

sich diese Zergliederung bei der Bestimmung der Verhältnismengen. Zu diesem Zwecke werden die histologisch bearbeiteten Hodenschnitte 80—120mal vergrößert auf ein Papier oder einen Karton projiziert und die Umrisse der Kanälchen aufgezeichnet; diese werden nachher herausgeschnitten und die den verschiedenen Gewebsanteilen entsprechenden Teile (Kanälchen und Zwischenraum) gesondert gewogen. Die Gewichtszahlen geben die relativen Mengenverhältnisse im Gewicht an. Man soll dabei gleichzeitig mittelbar auch das Volumenverhältnis der gleichen Gewebsanteile gemessen haben. Wird der Flächeninhalt eines betreffenden Gewebsanteils in der Zeichnung mit der Vergrößerungszahl geteilt, so erhält man den wirklichen Flächeninhalt; wird dieser mit der Schnittdicke vervielfacht, so bekommt man den Volumeninhalt des betreffenden Gewebsanteils im Schnitt. Daraus läßt sich weiter auf die Verhältnisse im Gesamtvolumen folgern (*Romeis*).

Die Bestimmung absoluter Mengenverhältnisse geschieht durch Bestimmung des Gesamtvolumens des Hodens vor der Fixierung. Die von *Hammar* angegebene *Laurellsche* Formel teilt die Art der Berechnung mit. Sie ist für das Zwischengewebe

$$v_z = \frac{z}{z + k} \cdot V;$$

und für das Keimgewebe

$$v_k = \frac{k}{z + k} \cdot V;$$

wenn v_z und v_k das Volumen des Zwischengewebes, bzw. des Keimgewebes im ganzen Organ, z und k die durch Wägung aus dem Zeichnkarton erhaltenen Werte für Zwischengewebe und Keimgewebe — V aber das Volumen des ganzen Hodens bedeutet (*Schinz* und *Slotopolsky*).

Könnte man das Verhältnis zwischen beiden Gewebsanteilen dem tatsächlichen Verhältnis der Gewichte gleichsetzen, so würde dieses Verfahren der Gewebsmengenzergliederung ein vorbildliches Meßverfahren darstellen. Die Frage, ob bei den Mengenbestimmungen die spezifischen Gewichte der Gewebsteile praktisch vernachlässigt werden dürften, konnte bejaht werden, obwohl z. B. bei *Hammar* bei der ähnlichen Histoanalyse des Thymus der Unterschied zwischen dem spezifischen Gewichte des Thymusparenchyms und des Fettes keinesfalls vernachlässigt werden dürfte. Während nämlich das Fett ein spezifisches Gewicht von 0,95 hat, ist das entsprechende Gewicht beim Thymusparenchym 1,055. Ein ähnliches Verhältnis ist zwischen Keimanteil und Zwischengewebsteil des Hodens nicht wahrscheinlich, noch weniger meßbar; wenn aber ein ähnliches Meßverhältnis der spezifischen Gewichte tatsächlich da wäre, könnte es dennoch praktisch vernachlässigt werden. Um die Bedeutung der Fehlergröße in dem Falle zu ermessen, daß die spezifischen Gewichte beider Gewebsanteile einander nicht gleichzusetzen sind, haben *Schinz* und *Slotopolsky* beim Hoden ähnliche spezifische Gewichte wie beim

Thymus angenommen, natürlich für die Zwischenzellen den niedrigeren, für die Samenkanälchen den höheren spezifischen Gewichtswert. Bei einer solchen Berechnung hatte sich ergeben, daß der Unterschied ein unbedeutender war.

Trotz des theoretisch scheinbar ausgezeichneten Meßverfahrens enthält es eine ganze Reihe von technisch unüberwindbaren Fehlerquellen, auf die wir im folgenden eingehen wollen.

Um die Zwischenzellgruppen mit genügender Sicherheit umschreiben zu können, haben die verschiedenen Untersucher für die Präparate eine gewisse Schnittdicke anempfohlen; während *Lundgreen* beim Kaninchenhoden eine Schnittdicke von 18μ empfiehlt, werden bei den andern Forschern meistens $5\text{--}10\mu$ dicke Schnitte hergestellt. Diese Schnittdicke ist wohl bei der histologischen Technik allgemein üblich. Sonst scheint uns diese Frage der Präparatedicke eigentlich zugunsten dieser Methodik auszufallen, da Dickenunterschiede der Präparate kaum die erhaltenen Werte beeinflussen; ebensowenig beeinflussen die Ergebnisse die Unterschiede in der Wahl der mikroskopischen Vergrößerung, Dicke des Zeichenpapiers und Größe des mikroskopischen Gesichtsfeldes, wenn man sich nur grundsätzlich an die gleiche Technik hält. Es werden von *Stieve*, von *Lundgreen*, von *Schinz* und *Slotopolsky* u. a. Größen hierzu angegeben, die bei der Wahl sicherlich als Anhaltspunkte dienen dürften. So wird unter anderem eine $80\text{--}150$ fache Vergrößerung empfohlen, und die meisten Forscher arbeiteten mit einer 100 fachen Vergrößerung. Die Gesichtsfelder hatten meistens einen Durchmesser von 30 cm , während *Lundgreen* und *Stieve* Gesichtsfelder mit einem Durchmesser von 1 m und mehr gewählt haben. Je weniger groß die Gesichtsfelder sind, desto weniger mühsam ist die Bearbeitung, ohne jedoch durch Änderung der Gesichtsfeldgröße die Genauigkeit der Ergebnisse zu beeinflussen. Bei *Schinz* und seinen Mitarbeitern wird die Dicke des Zeichenpapiers als $0,5\text{ mm}$ angegeben. Aus diesen Voraussetzungen geht klar hervor, daß die Wahl der Messungstechnik die erhaltenen Werte kaum beeinflussen kann. Es blieb noch die Frage zu entscheiden, wieviel Hodenschnitte zu zeichnen seien, um zu genauen Ergebnissen zu gelangen. So empfiehlt *Romeis* 10 , *Lundgreen* 6 , *Saller* 4 Schnitte pro Hoden, während *Bascom* sich mit einem einzigen Schnitt begnügen konnte. Die Verfasser dachten sich mit der Prüfung so weniger Schnitte begnügen zu dürfen, nachdem es sich ergeben hat, daß durch Messung einer größeren Anzahl von Schnitten die erhaltenen Werte nicht beeinflußt werden. Deshalb empfehlen auch *Schinz* und *Slotopolsky*, bei jedem Hoden jeweils $3\text{--}4$ Schnitte zu prüfen. Man wähle die Schnitte auf verschiedenen Höhen des Hodens und zähle die erhaltenen Werte zusammen, um daraus den Mittelwert zu errechnen. Noch genauer ist es, wenn man die Gewichtszahlen der einzelnen Gewebsteile unabhängig von der Zahl der Schnitte in den einzelnen Zeichnungen zusammenzählt und daraus den Durchschnitt in Hundertzahlen berechnet.

Es ergeben sich bei der Herstellung der Zeichnungen trotz des Einhaltens aller vorher aufgezählten Bedingungen Schwierigkeiten, die unserer Auffassung nach nicht zu überwinden sind. Vor allem erscheinen in manchen Präparaten, besonders bei solchen, die mit den gewöhnlichen Fixiermethoden hergestellt worden sind, zwischen den Samenkanälchen Lücken, die zum Teil als künstliche Bildungen zu betrachten sind, zum Teil jedoch durch wässrige Durchtränkung des Hodens entstehen. In diesem Falle sind die einzelnen Samenkanälchen stark auseinandergedrängt und der Zwischenraum ist von einem im Gewebsschnitt leer erscheinenden Raum ausgefüllt. In diesem erweiterten Raum erscheint das Zwischengewebe als abgetrennte Insel. Betrachtete man in diesem Falle das Zwischengewebe als dem Zwischenraum gleich, so würde man selbstverständlich zu groben Fehlschlüssen gelangen. Um die Entstehung solcher künstlichen Lücken zu verhindern, hat *Stieve* eine Fixationsmethode angegeben, bei welcher solche künstlichen Bildungen ausbleiben. Das Wesentliche seines Verfahrens besteht aus folgendem:

Die Objekte werden lebenswarm in folgende Mischung gebracht: 76 Teile gesättigte wässrige Sublimatlösung, 4 Teile Eisessig und 20 Teile konzentrierte Formollösung. Die Mischung wird auf 37° erwärmt, die Objekte verweilen darin 3 Stunden, im Brutschrank aufbewahrt. Sodann kommen die Objekte für 24 Stunden in 70%igen Jodalkohol, dann für 12 Stunden in reinen 75%igen Alkohol, um dann auf die Alkoholreihe überzugehen. Die Einbettung geschieht in Paraffin. Großer Wert wird darauf gelegt, daß sämtliche Maßnahmen bei 37° sich vollziehen. Das Verfahren liefert tatsächlich vortreffliche Präparate, die nur ganz wenige, meistens nur in der Mitte liegende künstliche Lücken aufweisen.

Leider scheint nach unseren Erfahrungen diese Lückenlosigkeit der Präparate bloß von Nachteil zu sein. Wenn man nämlich bei solchen Präparaten die Kanälchen aufzeichnet und sie nun auszuschneiden versucht, bleibt eigentlich kein dem Zwischengewebe entsprechender Rest übrig. Diese Erfahrung hat *Stieve* selber auch gemacht, wie das aus seiner eigenen Zeichnung klar hervorgeht¹.

Um bei den Präparaten, die zwischen den einzelnen Kanälchen gewaltige Lücken aufweisen, auch zu einem Ergebnis kommen zu können, versuchte man, im Zwischenraum das Zwischengewebe wieder gesondert aufzuzeichnen. So wurden die Kanälchen, Zwischenraum und Zwischengewebe einzeln gesondert ausgeschnitten, wobei das durch die künstliche Lücke gegebene Mißverhältnis ausgeschaltet wurde.

Die Entstehung solcher Lücken ist nicht immer zu verhindern. Besonders ist das bei Rattenhoden der Fall, die nach verschiedenen experimentellen Eingriffen ödematös geschwollen sind. Da aber die Lückenbildung für die zeichnerische Methode nicht von Nachteil ist, haben wir meistens vorgezogen, die gewöhnliche Fixationsmethode anzuwenden, wie die von *Tellyesnitzky*, *Bowin*, *Zenker*, *Flemming*, *Carnoy* und „*Susa*“ u. a. Unabhängig von den angewendeten Fixationsverfahren

¹ *Stieve*: Arch. mikr. Anat. u. Entw.mechan. **99**, 426 (1923), Abb. 10.

erhielten wir stets annähernd das gleiche Ergebnis. In einer kleineren Zahl unserer E-Avitaminosehoden war die Lückenbildung durch keine der Fixationsmethoden zu vermeiden. In diesen Fällen handelte es sich um das sog. „Oedema e vacuo“ das merkwürdigerweise nur bei Ratten vorkommen soll und vor allem von *Romeis* beschrieben worden ist. Auch *Schinz* und *Slotopolky* fanden diese Ödembildung bei infolge von Samenleiterunterbindung atrophierter Rattenhoden. Die Ödemflüssigkeit



Abb. 1. Parazentral im Gesichtsfeld sieht man ein quer getroffenes breites Gefäß. Die Zwischenzellen sind verhältnismäßig spärlich vertreten.

drängt die Samenkanälchen auseinander; man suchte diese seröse Flüssigkeit von den Hoden zu entfernen, indem man die Albuginea durchtrennte oder den ganzen Hoden durchschnitt. Es zeigte sich dabei, daß durch diese Maßnahme die Hoden mehr als die Hälfte ihres Gesamtgewichtes verlieren. Jedoch nicht nur bei dem wässerig durchtränkten, sondern auch bei dem normalen Hoden wird man die Lückenbildung schwer verhindern können. Es wurde angenommen, daß diese Lückenbildung auf Schrumpfungsvorgänge zurückzuführen sei, die vor allem die Samenkanälchen betreffen, die eben saftreicher und zarter sind, als das feste Zwischengewebe. Daß die Lückenbildung tatsächlich durch eine derartige Schrumpfung der Kanälchen verursacht wird, geht daraus klar hervor, daß, wie dies von *Schinz* und *Slotopolky* gezeigt worden ist, in

Hodenpräparaten mit Lückenbildung die Kanälchen einen geringeren Durchmesser haben als diejenigen ohne Lücken.

Es haben schon mehrere Untersucher sich mit der Frage abgegeben, wie man bei der Berechnung der Mengenverhältnisse diese Lücken berücksichtigen soll. Die ersten, u. a. *Bergonié* und *Tribondeau* haben die Lücken, auch wenn sie räumlich nicht unbedeutend waren, dem Zwischengewebe zugerechnet, was selbstredend zu groben Fehlern führen

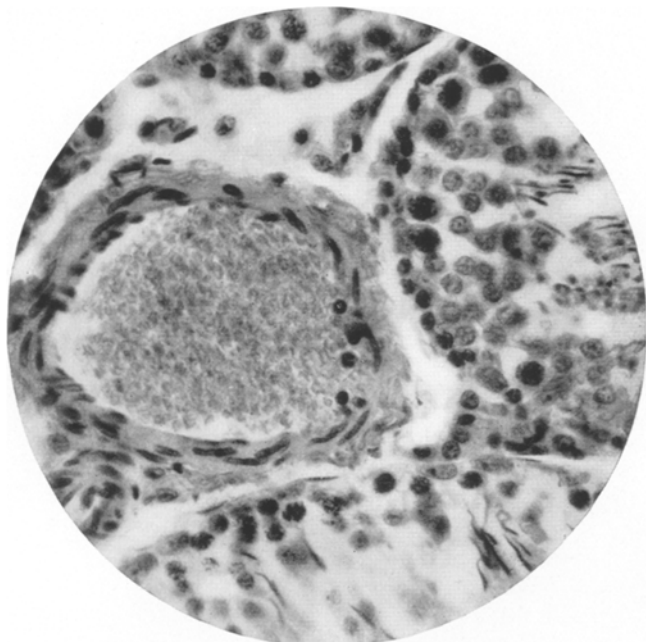


Abb. 2. Gefäß aus der Abb. 1, stärker vergrößert.

mußte. *Romeis* empfahl die Lücken gesondert aufzuzeichnen und auszuschneiden. *Stieve* suchte endlich — wie schon erwähnt — die ganze Frage der Lückenbildung durch die angegebene Fixationsmethode, bei der diese Lücken gar nicht auftreten, vollkommen auszuschalten. Für uns kam dies Verfahren aus 2 Gründen nicht in Frage:

1. Da in unseren atrophischen Hoden, wenn auch selten, eine stärkere Lückenbildung aufgetreten war.

2. Weil besonders bei den normalen Hoden, nach der *Stieveschen* Fixation, in Ermangelung größerer Zwischenkanälchenräume die zeichnerische Isolierung und Ausschneidung des Zwischengewebes allzu schwierig oder gar unmöglich wurde. Wenn man ein Bild der aufgezeichneten Kanälchenumrisse eines lückenlosen Präparates betrachtet, so erhält man Klarheit über die Schwierigkeiten, die sich bei der Ausschneidung der einzelnen Gewebsteile ergeben.

Gegenüber der Berechnung der Mengenverhältnisse bleibt uns immerhin die Tatsache bedenklich, daß, während die Kanälchen und das Gesamtgewicht des Hodens durch die Fixation einer nicht unbedeutenden Veränderung unterworfen sind, die Zwischenzellen in ihren Mengenverhältnissen durch die Fixation scheinbar unverändert bleiben. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß bei der Berechnung durch die Veränderungen

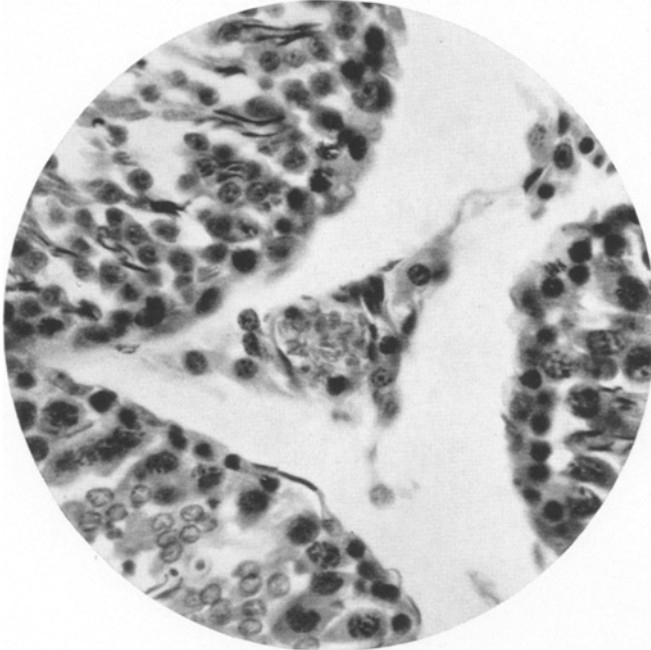


Abb. 3. Ein kleines Gefäß im Interstitium; um dieses herum sind einige Zwischenzellen gruppiert.

der ersten auch eine Wertverschiebung der letzteren, d. h. des Zwischengewebes vorgetäuscht wird. Immerhin bleibt dies eine Annahme, die wir im folgenden zu beweisen suchen werden.

Bekanntlich besteht der Hoden außer den Samenkanälchen und Zwischenzellen noch aus interlobulärem Bindegewebe, aus der Albuginea mediastina und Rete testis; hierzu kommt noch das faserige Bindegewebe zwischen den Kanälchen.

Es liegt auf der Hand, daß die Albuginae nicht zugunsten des Zwischengewebes gerechnet werden dürfte. Sie wird daher in der Zeichnung von den Zwischenzellen abgesondert. Schwieriger ist die Frage betreffs des Zwischenbindegewebes. Nur ist diese Frage für uns, die wir vor allem an Rattenhoden gearbeitet haben, weniger von Belang, da bekanntlich die Nager überhaupt keine Bindegewebssepten in ihren Hoden aufweisen,

während diese bei den Wiederkäuern und beim Menschen stark entwickelt sind. Anders verhält sich das Bindegewebe zwischen den Kanälchen. Bei den Nagern sind die Bindegewebszellen im Zwischengewebe nur spärlich vorhanden und die faserige Intercellularsubstanz fehlt fast vollständig. Die Armut der normalen Rattenhoden an Bindegewebe erleichtert bedeutend die Gewebsmengenzergliederung, da sie

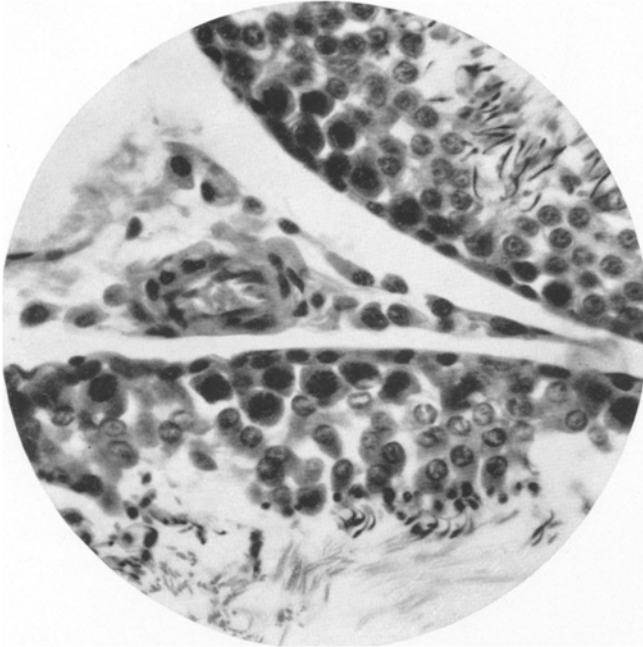


Abb. 4. Ein ganz kleines Gefäß mit mehreren Zwischenzellen.

eventuell vernachlässigt werden darf. Dies ist z. B. bei den menschlichen Hoden nicht der Fall, da bei diesen das faserige Bindegewebe reichlich vertreten ist und in den Zeichnungen unbedingt gesondert abgemessen werden muß. Da, wie gesagt, das Zwischengewebe in den Nagerhoden fast ausschließlich aus Zwischenzellen besteht und faseriges Bindegewebe nur spärlich vorhanden ist, konnten die Untersucher nicht umhin, das Bindegewebe mit den Zwischenzellen zusammen zu berechnen. Während aber einerseits die Gleichsetzung von Zwischengewebe und Zwischenzellen von *Stieve*, *Benoit*, *Wagner*, *Lipschütz* u. a. bemängelt worden ist, waren *Schinz* und *Slotopolsky* der Meinung, daß „die schwächtigen und spärlichen Bindegewebszellen den ungleich voluminöseren Zwischenzellen gegenüber in den einschlägigen Fällen gar keine Rolle spielen“. Diese beiden Forscher halten die Absonderung der Zwischenzellen von Bindegewebe für überhaupt unmöglich. In den röntgenatrophischen

Kaninchenhoden „mit Hypertrophie des Zwischengewebes“ fanden sie die Bindegewebszellen „so eng beieinanderliegend und durcheinandergewürfelt, daß es unmöglich war, sie voneinander zu trennen“.

Nach unseren Erfahrungen ist dieses Zusammenwerfen der voneinander ganz verschiedenen Gewebsteile unzulässig, besonders bei den Untersuchungen pathologisch veränderter Hoden, wo das Bindegewebe



Abb. 5. In der Mitte ein quer getroffenes Gefäß. Eine Grenze zwischen Gefäß und *Leydig*-Zellen ist bei schwacher Vergrößerung kaum zu ziehen. Dies gelingt bei starker Vergrößerung (Abb. 6) auch bloß unter dem Mikroskop.

eine so starke Zunahme erfahren kann, daß seine Vernachlässigung zu größeren Irrtümern führen muß. Eine starke Zunahme des Zwischenbindegewebes z. B. in den E-Avitaminosehoden wurde unter anderem von *Mattil* und *Mason* beschrieben.

Die größte Schwierigkeit liegt in der Berechnung der Blutgefäße. Es hat vor allem *Benoit* Bedenken dagegen erhoben, daß man die Gefäße in die Zwischenzellgruppe hineinrechnet. Die andern Verfasser schienen diese Bedenken nicht teilen zu wollen. *Schinz* und *Slotopolsky* sprechen sich zu dieser Frage folgendermaßen aus:

„Größere Gefäße, die im Gesichtsfeld auftreten, kann man aus der Berechnung ausschalten oder, wenn man will, dem intertubulären Bindegewebe zurechnen. Die kleineren präcapillären und capillären Gefäße

in den Zwischenzellgruppen kann man bei den üblichen Vergrößerungen von diesen nicht trennen und muß sie wohl oder übel diesen zurechnen.“

Aber auch diese Forscher erkennen an, daß unter bestimmten Bedingungen das Gefäßnetz einer Volumenveränderung unterworfen sein kann. Z. B. in der Brunstzeit, wo „bei Eintritt der Brunst das Gefäßnetz eine wesentliche Erweiterung erfährt“. Eine derartige Verschiebung der Mengenverhältnisse des Keimteils und des Zwischengewebes während

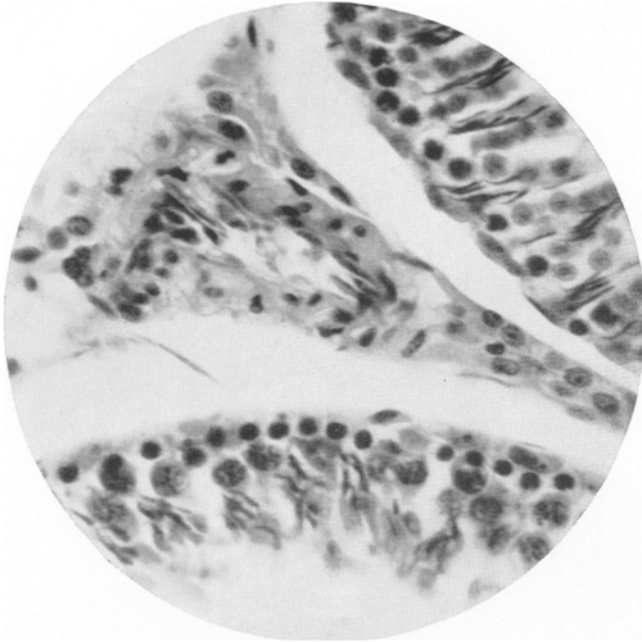


Abb. 6. Das zentrale Gefäß aus Abb. 5, stark vergrößert.

der Brunstzeit hat auch *Stieve* beschrieben. Er findet in der Geschlechtsruhe das Verhältnis 3 : 1, in der Vorbrunst 15 : 1, in der Brunst 38 : 1, gegen Ende der Brunst 52 : 1, in der Nachbrunst 10 : 1. Diese Angaben wurden an Hoden der Gans gewonnen; bei der Dohle wird während der Brunst ebenfalls eine Erweiterung des Zwischengewebes auf das 10fache gefunden. Bei allen diesen Zunahmen der Zwischengewebsmenge handelt es sich vor allem um die Erweiterung der Blutgefäße. Während bei der Dohle die Zwischenzellen an Menge unverändert bleiben, sollen diese bei der Gans während der Brunstzeit tatsächlich zunehmen und zwar um das 5—6fache.

Bei Nagern wird eine von der Brunst abhängige Veränderlichkeit des Zwischengewebes nicht beobachtet. Die Frage bleibt jedoch nicht beantwortet, inwieweit Veränderungen im Volumen der sonst auch so elastischen Gefäße die Mengenwerte des Zwischengewebes beeinflussen

können. Bekanntlich reagieren die Gefäße nicht bloß auf pathologische, sondern auch auf physiologische Reize. Noch mehr ist also zu erwarten, daß bei krankhaften Zuständen eine Gefäßreaktion eintreten wird.

Das Zwischengewebe ist in den Rattenhoden ein zwischen die Kanälchen gelagertes drei- bis viereckiges Gebilde. Die Zellen sind immer um ein Gefäß herum angeordnet. Bei der histologischen Bearbeitung des Hodens erfährt vor allem das saftreiche Kanälchen eine Schrumpfung,

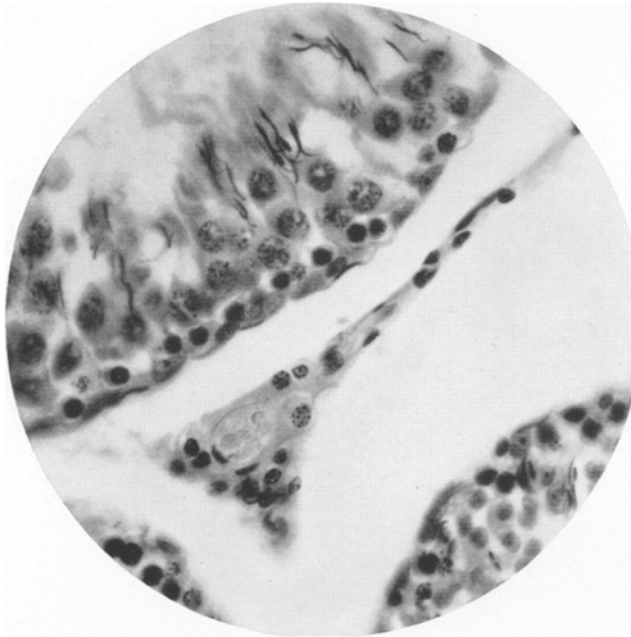


Abb. 7. Kleines Gefäß mit mehreren Zwischenzellen. Das Zwischengewebe ist eine kompakte Masse.

viel weniger das dünnere, mit festerer Wandung ausgestattete Gefäß. In diesem Falle entsteht die Lückenbildung in erster Linie auf Kosten der Kanälchen; durch die Lücke werden die verschiedenen Gewebsbildungen des Hodens auseinandergedrängt, sie verlieren die Berührung zueinander. Die Zwischenzellen bleiben um die Gefäße herum gruppiert, sie haften scheinbar an diesen, während sich die Grenzen der geschrumpften Kanälchen zurückziehen, sich von den übrigen Gewebsbestandteilen entfernen. Das in seiner Mitte ein Gefäß enthaltende Zwischengewebe bleibt ein zusammenhängendes Gebilde, das für sich den Eindruck einer ziemlich festen Masse macht. Es ist verständlich, daß die mit den *Bergonié-Tribondeauschen* Verfahren arbeitenden Forscher gar nicht versucht haben, die zwei grundverschiedenen Gebilde, wie Zwischenzellen und Gefäße, voneinander zu trennen. Wenn *Benoit* diesbezüglich Bedenken hegt,

lehnen dieses *Schinz* und *Slotopolsky* ab, indem sie sagen: „Man darf schließlich nicht vergessen, daß es sich hier um biologische und nicht physikalische Untersuchungen handelt. Die Ergebnisse, auf die es hier ankommt, werden durch die Fehler von solchen Größenordnungen nicht tangiert. Einzig in bestimmten Fällen von Brunstveränderungen des Hodens, wo bei Eintritt der Brunst das Gefäßnetz eine wesentliche

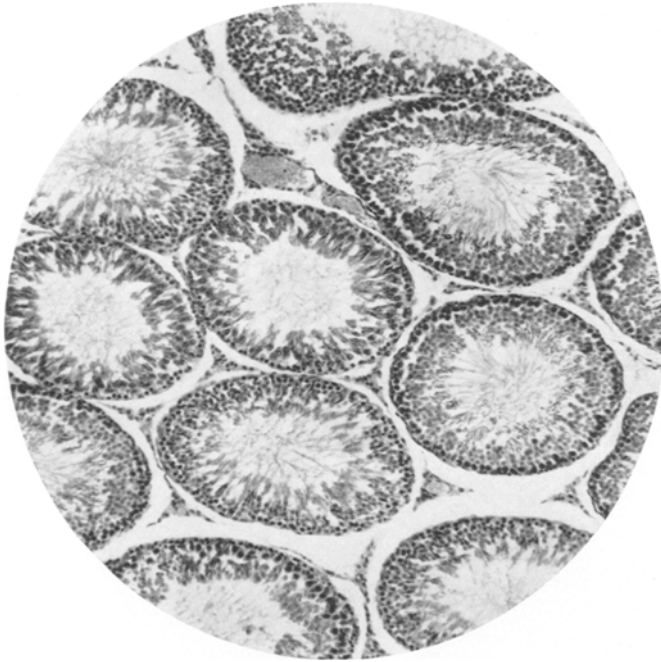


Abb. 8. Im Gesichtsfeld oben sieht man ein zweimal getroffenes, leicht isolierbares Gefäß, mit einer größeren Gruppe von Zwischenzellen. Die Zwischenzellgruppe ist jedoch bloß an der einen Seite eine beträchtliche.

Erweiterung erfährt, spielt der genannte Punkt eine ernstere Rolle.“ Bei Kaninchen und Ratten wäre diese Schwankung der Gefäßmengen noch vernachlässigbar. Eine Zunahme des Zwischengewebes während der Brunstzeit, vor allem bei der Gans und der Dohle, ist, wie schon erwähnt, bekannt; was aber für diese charakteristisch ist, sagt nichts für die Ratte aus. Man würde erwarten, daß diese Vernachlässigung der Gefäße zu Irrtümern innerhalb der Fehlergrenze führen könnte. Dies ist jedoch nicht der Fall. Wir haben mit dem gleichen Verfahren von *Bergonié* und *Tribondeau* das Mengenverhältnis zwischen Gefäß- und Zwischenzellen zu bestimmen versucht. Dies ist bei starker mikroskopischer Vergrößerung gar nicht schwierig, wenn man jedes Zwischen- gewebe gesondert aufzeichnet. Daß dies tatsächlich zutrifft, ist aus unseren Abbildungen zu ersehen: Man kann sogar nach den mikrophoto-

graphischen Abbildungen eine genaue Trennung der beiden Gewebsanteile vornehmen; an dem unter dem Mikroskop betrachteten Bild ist diese Trennung in der Zeichnung selbstredend noch einfacher. Aus unseren Abb. kann man klar erkennen, daß sich sehr oft um ganz große Gefäße nur vereinzelte Zwischenzellen anordnen, deren Flächeninhalt gegenüber dem des Blutgefäßes verschwindend klein ist. Je kleiner das Blutgefäß ist, desto mehr verschiebt sich das Mengenverhältnis zwischen Blutgefäß und

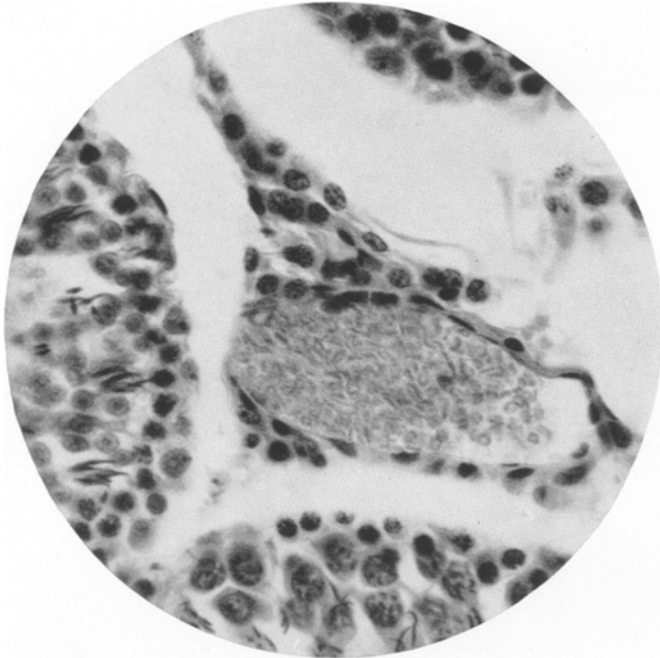


Abb. 9. Das große Gefäß aus Abb. 8 stärker vergrößert.

Zwischenzellen zugunsten dieser. Während sich nämlich bei den größten Gefäßen ein Verhältnis 5 : 95 und darüber zugunsten des Gefäßes feststellen ließ, haben wir bei den kleinsten Gefäßen ein entsprechendes Verhältnis von 30 : 70 im Durchschnitt auf die Seite der Zwischenzellen bestimmen können. Wenn wir aber unabhängig von der Breite des Blutgefäßes das Verhältnis im Flächeninhalt zwischen den beiden Gewebsteilen ausrechnen, so bekommen wir auch ein zahlenmäßiges Verhältnis, in dem die Gefäße in ihrer Menge überwiegen, nämlich etwa 70 : 30 zugunsten der Gefäße. Nun haben aber die früheren Untersucher versucht, die durch Einrechnung der größeren Gefäße bedingte Fehlermöglichkeit dadurch zu beseitigen, daß sie diese in der Zeichnung abgetrennt haben. Sie geben jedoch selber zu, daß dies nur bei den allergrößten Gefäßen möglich ist, was ungefähr bedeuten soll, daß in einem Schnittpräparat etwa

2—3 solcher Gefäße abgesondert werden. Wir haben selber versucht eine größere Anzahl von Gefäßen in gleicher Weise abzusondern, nur leuchtete uns nicht ganz ein, wo die Grenze zwischen den großen und kleinen Gefäßen zu ziehen ist.

Wenn wir unsere Abb. 1 betrachten, so sehen wir neben der Mitte des Gesichtsfeldes ein breites Gefäß, dessen Abtrennung offensichtlich auch bei der üblichen Vergrößerung gelingen sollte. Um dieses Gefäß herum sind nur verhältnismäßig wenige Zwischenzellen geordnet und wir zeigen eben jene Seite dieses Gefäßes in der nächsten Abbildung, an welche die meisten dieser Zellen gelagert sind. Es wird bei der starken Vergrößerung nicht allzu schwer sein, diese Gefäße genau zu trennen, ohne jedoch die Gefahr sicher ausschließen zu können, einige abgesprengte *Leydig*-Zellen zu verlieren. Schon schwieriger, ja fast unmöglich ist die zeichnerische Trennung der beiden Gewebsanteile im Falle der Abb. 5, wo das Gefäß quer getroffen wurde und der Unterschied zwischen den einzelnen Bestandteilen nur unter dem Mikroskop bei starker Vergrößerung zu erkennen ist.

In den folgenden Abbildungen haben wir eine Reihe von Fällen zu zeigen versucht. In der Mitte des Zwischengewebes sehen wir überall verschieden weite Gefäße und es ist ersichtlich, daß die Beurteilung der Mengenverhältnisse zwischen dem Flächeninhalt des Gefäßes und der *Leydig*schen Zellen keine allzu großen Schwierigkeiten machen würde, wenn dies schon in den Abbildungen selber als möglich erscheint. Wir haben unsere Messungen zum Teil mit dem Verfahren von *Bergonié* und *Tribondeau*, zum Teil einfach planimetrisch durchgeführt und das Verhältnis im Flächeninhalt der beiden Gewebsanteile, Gefäße und Zwischenzellen, in einer langen Reihe von Schnittpräparaten zu bestimmen versucht. Wir kamen zu folgendem Ergebnis: Wenn man die größten Gefäße von der Berechnung ausschaltet, bleibt das Verhältnis bei normalen Rattenhoden 55 : 45—60 : 40 zugunsten der Gefäße.

Wir entnehmen von *Schinz* und *Slotopolsky*, daß bei normalen, d. h. Vergleichshoden von Ratten, deren andere Hoden unterbunden wurden, folgende Werte der einzelnen Gewebsteile zu ermitteln waren:

In Hundertzahlen ausgedrückt, wurden also bei *Slotopolsky* und *Schinz* Mengenwerte für die Zwischenzellen von 6,8, 9,0, 6,6 bzw. 6,0 erhalten. Wenn wir aber bedenken, daß nahezu 55 % dieser Werte oder sogar noch darüber, zugunsten der Ge-

Tabelle 1. Nach *Schinz* und *Slotopolsky*.

	Samen- kanälchen	Lücken und Ödem	Zwischen- zellen
Ratte A . .	79,7	13,5	6,8
„ B . .	70,6	20,4	9,0
„ C . .	63,4	30,0	6,6
„ E . .	80,0	14,0	6,0

fäße abzuschreiben sind, so erhalten wir, gleichfalls in entsprechenden Hundertwerten ausgedrückt, 2,72, 3,6, 2,64 und 2,4 %. Das zeigt,

daß die Vernachlässigung aller anderen Gewebsanteile, oder ihre fehlerhafte Berechnung bedeutende Wertverschiebungen zu Ungunsten der so sehr gering vertretenen Zwischenzellen vortäuschen wird. Entsprechend dieser Berechnung wird auch die absolute Menge der Zwischenzellen eine verhältnismäßig kleinere, oder genauer gesagt, um 55 % und darüber, geringere, sein. An diesem Ergebnis ändert die Wahl der Meßmethode nichts, d. h. ob sie planimetrisch vorgenommen wurde, oder ob man das Ergebnis mittels Aufzeichnung auf Kartons, die dann ausgeschnitten wurden, gewann.

Die folgende Tabelle zeigt uns eine Reihe von Rattenhoden, bei welchen die Verhältniszahlen zwischen Flächeninhalt der Zwischenzellen und der Gefäße unter engen Grenzen schwankten:

Tabelle 2.

Ratte	Gefäße	Zwischenzellen	Ratte	Gefäße	Zwischenzellen
1	56	44	5	52	48
2	62	38	6	60	40
3	54	46	7	66	34
4	56	44	8	51	49

Bei diesen 8 Hoden wurden stets mehrere Schnitte untersucht und es wurden alle Zwischengewebe gesondert aufgezeichnet und gemessen. Die Schnitte wurden stets, auch bei den später erwähnten Untersuchungen,

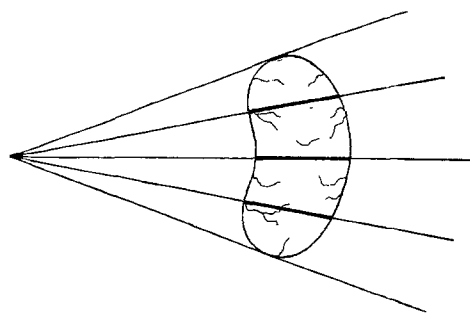


Abb. 10.

gleichmäßig hergestellt (Abb. 10). Es wurde ein Winkel von 40° auf einen Karton aufgezeichnet, der wiederum mit 3 Halbstrahlen auf 4mal 10° gradige Winkel aufgeteilt wurde. Wie Abb. 12 zeigt, wurde der zu untersuchende Hoden zwischen den 2 Armen der 40° gradigen Winkel gefaßt und in der Richtung der 3 inneren Strahlen auf 3 Stücke

geteilt. Somit erhielt man 3 voneinander gleichmäßig entfernte Schnittflächen, von welchen je eine für die Messung herangezogen wurde.

Nun wollten wir aber bestimmen, ob unter unphysiologischen Bedingungen die erhaltenen Verhältniszahlen die gleichen sind. Zu diesem Zwecke nahmen wir erst eine Reihe von E-Avitaminosehoden in verschiedenen Perioden der Karenz. Wie die folgende Tabelle zeigt, hat das relative Verhältnis zwischen Gefäß und Zwischenzellen in diesen Hoden zugunsten der Zwischenzellen zugenommen.

Tabelle 3.

Ratte	Dauer der Karenz in Wochen	Gefäße in %	Zwischen- zellen in %	Ratte	Dauer der Karenz in Wochen	Gefäße in %	Zwischen- zellen in %
1	12	44	56	8	16	35	65
2	12	40	60	9	18	32	68
3	14	35	65	10	20	30	70
4	14	38	52	11	20	28	72
5	14	32	68	12	20	34	66
6	16	38	62	13	20	32	68
7	16	28	72	14	22	30	70

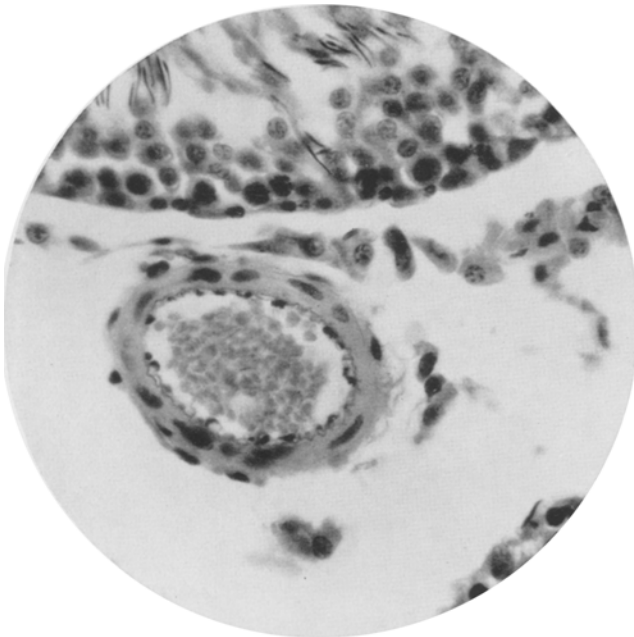


Abb. 11. Bei der mangelhaften histologischen Bearbeitung des Präparates verloren die Zwischenzellen den Zusammenhang mit dem Gefäß und erweitern die Flächenausdehnung des Zwischengewebes im histologischen Präparat.

Wenn man diese Statistik für sich allein betrachtet, so wird man zu dem Gedanken verleitet, daß es sich um eine Zunahme der Zwischenzellen handelt. Dem ist jedoch nicht so. Wir haben in den ersten Berichten unserer Mitteilungen über die bedingte Blutarmut der Hoden in der fortgeschrittenen Avitaminose schon hingewiesen. Daß die Ursache dieser Wertverschiebung zwischen beiden Mengenverhältnissen tatsächlich allein auf die Blutarmut zurückzuführen ist, erhellt aus 2 Tatsachen, wenn man das Gewebsbild allein nicht als ausschlaggebend anerkennen will. Vor allem haben wir bei der Berechnung der absoluten Zwischen-

zellenwerte (s. weiter unten) in diesem Hoden keine Zunahme gefunden. Noch wichtiger erscheint uns jedoch die Tatsache, daß bei den E-Avitaminoseratten, die nach einer Karenzzeit mit E-vitaminreicher Kost ernährt werden, die Mengenverhältnisse zwischen Gefäß- und Zwischenzellen sich in umgekehrter Richtung, auf die Seite der Gefäße, verschieben.

Stieve, Schinz und *Slotopolsky* u. a., obwohl sie die Lehre von der inneren Sekretion der Zwischenzellen bekämpften und in ihren Arbeiten nachweisen wollten, daß nach Röntgenbestrahlung oder Samenstrangunterbindung eine so außerordentliche Zunahme der Zwischenzellen, wie das von den früheren Untersuchern vermutet wurde, nicht stattfindet, kamen dennoch zum Ergebnis, daß eine Zunahme, wenn auch geringeren Grades, verzeichnet werden kann. Wir können auf die Kritik dieser Ergebnisse nicht näher eingehen, da uns die persönliche Erfahrung hierzu fehlt. Die beiliegende Tabelle (Tabelle 4) zeigt Zahlenangaben über das Zwischengewebe bei normalen und bei röntgenatrophischen Kaninchenhoden nach *Schinz* und *Slotopolsky*. Wir haben aus ihren Niederschriften nur die etwa 1 Jahr alten Tiere ausgewählt, damit der Vergleich die Verhältnisse besser zum Ausdruck bringt.

Tabelle 4. Nach *Schinz* und *Slotopolsky*.

Tier	Gesamtgewicht des Hodens in g	Generat. Gewebe in %	Zwischengewebe in %	Absolute Menge des generat. Gewebes in g	Absolute Menge des Zwischengewebes in g	Absolute Zunahme des Zwischengewebes in %
Vergleichstiere:						
A rechts . . .	1,7	95	5	1,615	0,085	—
A links	1,75	95	5	1,662	0,087	—
Bestrahlte Tiere:						
10 links	0,72	60	40	0,432	0,288	235
15 rechts . . .	0,44	68	32	0,3	0,14	63
16 links	0,32	40	60	0,128	0,192	124
21 links	0,38	60	40	0,228	0,152	77

Romeis, der bei Kaninchen eine geringere Massenzunahme der Zwischenzellen fand, nämlich eine absolute Vermehrung um 7 bzw. 15%, meint, die ganze Erscheinung der Zunahme durch einfache Vergrößerung der bereits vorhandenen Zwischenzellen erklären zu können. Während aber eine Größenzunahme der einzelnen Teile um 7% nicht besonders fraglich erscheint, sind die Zunahmewerte von *Schinz* und *Slotopolsky* auf diesem Wege nicht zu erklären. Die von ihnen gefundene Zunahme müßte entweder durch tatsächliche Vermehrung der Zwischenzellen bedingt sein, oder diese Zunahme ist einfach eine Täuschung.

Aus unserer folgenden Tabelle (Tabelle 5) geht klar hervor, daß nach Unterbrechung der Karenz wiederum eine relative Verschiebung im

Flächeninhalt zwischen Gefäß und Zwischenzellen zugunsten der ersten stattfindet. Diese Verschiebung könnte entweder durch Abnahme der Zwischenzellen, oder durch Vergrößerung der Gefäße bedingt sein. Wir haben andererseits schon erwähnt, daß nach einer Karenzzeit die Wiederversorgung des Rattenorganismus mit E-Vitamin in den schon atrophischen Hoden eine Ersatzneigung erweckt. Die Hoden zeichnen sich in diesen Fällen durch eine starke Blutfülle aus, die wochenlang andauert. Daß die genannte Verschiebung der Verhältniswerte tatsächlich auf diese „Hyperämie“ des regenerierenden Hodens zurückzuführen ist, beweisen uns die Messungen der absoluten Werte. Aber nach 5—7 Wochen besteht wieder einigermaßen ein Gleichgewicht und wenn wir jetzt Messungen vornehmen, so finden wir das Mengenverhältnis zwischen Gefäß und Zwischenzellen zur Norm zurückgekehrt.

Tabelle 5.

Ratte	Wochen der Karenz	Wochen der Vitaminzufuhr	Gefäße in %	Zwischenzellen in %
1	15	1	65	35
2	15	2	74	26
3	15	2	64	36
4	18	2	75	25
5	18	3	72	28
6	20	3	77	23
7	20	3	65	35
8	20	3	70	30
9	20	4	68	32
10	20	4	59	41

Die Tabelle 6 zeigt die entsprechenden Verhältnisse nach 7 bis 9wöchiger Vitaminzufuhr:

Aus diesen Untersuchungen geht klar hervor, daß 1. die Gefäße keinesfalls vernachlässigbare Werte darstellen, 2. daß ihre Mengenwerte Schwankungen ausgesetzt sind, die Wertverschiebungen zu Lasten der Zwischenzellen vortäuschen. Deshalb ist die von *Bergonié* und *Tribondeau* zu-

Tabelle 6.

Ratte	Wochen der Karenz	Wochen der Vitamin- zufuhr	Gefäße in %	Zwischen- zellen in %
1	16	7	46	34
2	16	8	64	26
3	20	8	56	44
4	20	9	58	42
5	20	9	55	45
6	20	9	58	42

erst angewendete Methode der Gewebsmengenzergliederung, abgesehen von den schon erwähnten Schwierigkeiten und Fehlerquellen, wenigstens für Messungen an Objekten in nicht physiologischem Zustande, oder auch bei starken physiologischen Schwankungen (Oestrus), abzulehnen. Daran ändert die von *Stieve* angegebene verfeinerte Technik

nicht im geringsten. Das von *Hammar* zuerst für die Gewebsmengenzergliederung bei der Thymusforschung erdachte Verfahren ist für die Verhältnisse des Hodens nicht unter allen Umständen anzuwenden. Wir wollen noch darauf hinweisen, daß bei den atrophischen Hoden die Anwendung dieser Methode durch weitere störende Umstände erschwert wird, auf die wir schon früher hingewiesen haben. Unter allen Gewebsanteilen des Hodens — namentlich Samenkanälchen, intercanaliculären

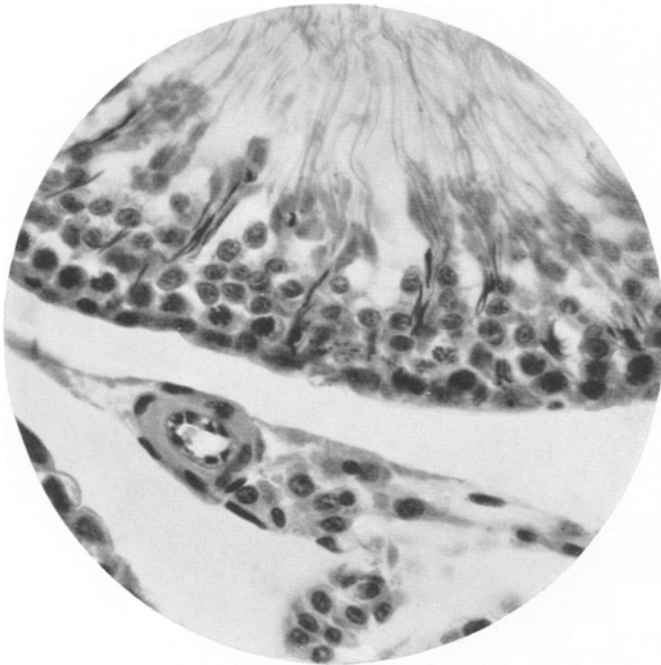


Abb. 12. Kleines Gefäß, verhältnismäßig viel Zwischenzellen.

Hohlräumen und Ödem, den Gefäßen und den Zwischenzellen — bleiben aus rein räumlichen Bedingungen die Mengenverhältnisse der Zwischenzellen im Flächeninhalt mehr oder weniger unveränderlich, während die der übrigen Gewebsanteile größeren Schwankungen unterworfen sind. Die Samenkanälchen schrumpfen, die Gefäße reagieren mit Erweiterung oder Verengerung ihres Kalibers auf physiologische und pathologische Reize, die Hohlräume verändern sich nach der Art der histologischen Bearbeitung und die Menge des entstehenden Ödems ist überhaupt nicht zu berechnen. Gegenüber diesen Schwankungen aller Gewebsanteile, außer den Zwischenzellen, weisen diese eine weitgehende Beständigkeit auf; sie bleiben noch lange eine zusammenhängende, feste Masse, wenn die Kanälchen schon beträchtlich geschrumpft sind. Da aber die *Leydigschen* Zellen nur einen geringen Hundertsatz der ganzen

Menge an Flächeninhalt ausmachen, werden bei ganz geringen Verschiebungen der anderen Gewebsanteile auch Verschiebungen auf Kosten *Leydig*scher Zellen vorgetäuscht. Wir haben deshalb unser Meßverfahren dahin zu gestalten gesucht, daß wir die Mengenbestimmung der *Leydig*-schen Zellen unabhängig von den anderen Gewebsanteilen durchführen können, also ohne auf die anderen bezug zu nehmen. Bevor wir aber auf diese Messungen übergehen, wollen wir noch auf eine weitere Tatsache hinweisen, die die Gewebsmengenzergliederung nach *Bergonié* und

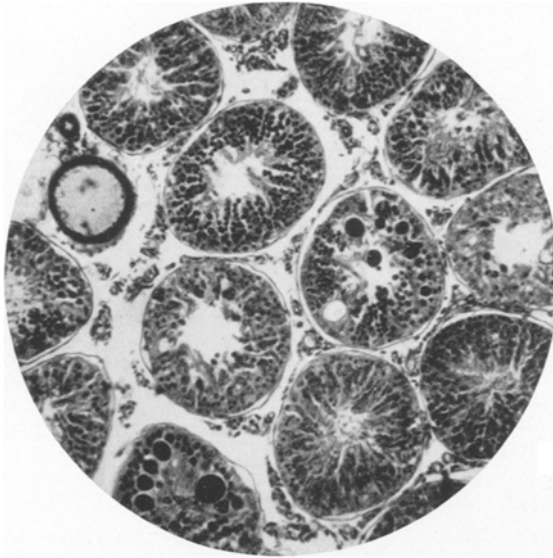


Abb. 13. Fortgeschrittene Hodenatrophie in E-Avitaminose. Die einzelnen Zwischenzellgruppen bilden umschriebene Inseln, die noch als kompakte Masse erscheinen.

Tribondeau in pathologischen Zuständen, namentlich in der fortgeschrittenen E-Avitaminose, beträchtlich erschwert.

Je mehr nämlich der durch die Avitaminose bedingte hypobiotische Vorgang fortgeschritten ist, desto mehr nimmt das Volumen der Samenkanälchen ab, sie schrumpfen, ihre früher pralle Wandung wird schlaff, runzelig, gefaltet. Dies entsteht zum Teil wegen der starken Verflachung der Keimlinie durch Absterben aller Zellen des Keimanteils im Samenepithel, zum Teil aber durch die Verödung der Kanälchenlichtungen. Durch diese Schrumpfung der Kanälchen entsteht zwischen den einzelnen Kanälchen ein leerer Raum, der in verschiedenem Grade von Flüssigkeit erfüllt wird. Eine starke wässrige Durchtränkung gehört jedoch zu den Seltenheiten, so daß die Hoden in fortgeschrittenem Avitaminosezustand meistens zusammenfallen, weich werden, ihre ursprüngliche Spannung ganz verlieren. Bekanntlich enthält das Zwischengewebe der Rattenhoden sehr wenig Bindegewebe, das in den atrophischen Hoden nur

ausnahmsweise eine besonders starke Zunahme erfährt. Deshalb ist es selbstverständlich, daß in den geschrumpften Hoden die zwischen den Zellen gelegene Kittsubstanz zwischen den einzelnen *Leydig*schen Zellen gelockert wird, die Zellen erfahren eine räumliche Verschiebung, sie entfernen sich voneinander, der feste Zusammenhang dieser Zellen geht zum Teil verloren und es wird große Schwierigkeit bereiten, in der Zeichnung das gesamte Zwischengewebe in eine zusammenhängende Masse zu trennen. Wenn dies jedoch nach langen Bemühungen gelingt, erhält man eine verhältnismäßig breitere Fläche, als die gleichen Teile

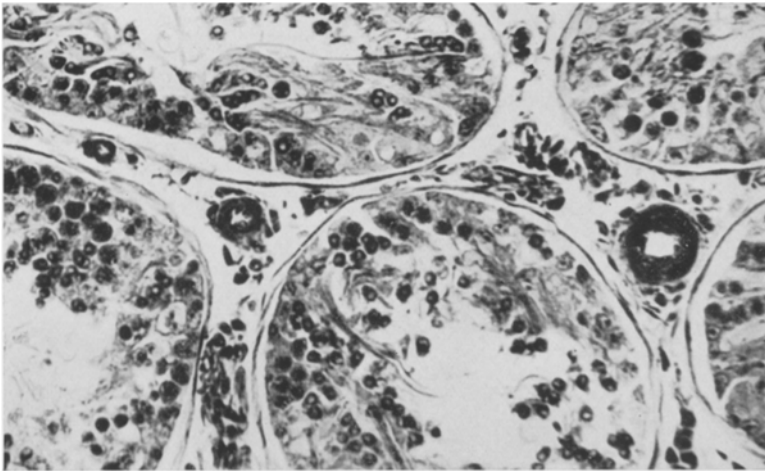


Abb. 14. Schwere Hodenatrophie in E-Avitaminose. Der Zusammenhang zwischen den einzelnen Bestandteilen wird locker, ihr genaues Umgrenzen erschwert.

unter normalen Umständen Platz einnehmen würden. Der Flächeninhalt nimmt also zu, ohne die Zahl aller Bestandteile erhöhen zu müssen.

Beim hypobiotischen Hodenvorgang leiden vielleicht auch die Zwischenzellen; jedenfalls soll ihr Protoplasma in den Röntgenhoden größer, breiter werden, was nach *Romeis* allein genügen sollte, die Zunahme des Zwischengewebes zu erklären. Ob auch in unseren E-Avitaminosehoden eine ähnliche Größenzunahme der Zwischenzellen, gleich ob auf Grundlage physiologischer oder pathologischer Vorgänge, stattfindet, wie in den Röntgenhoden, wäre noch zu prüfen.

Auf Grund dieser Erfahrungen schien uns bei den weiteren Messungen als Anhaltspunkt für die Mengenverhältnisse der Zwischenzellen nur die Anzahl ihrer Kerne dienen zu können. Wir haben uns deshalb die Aufgabe gestellt, statt Messung des Flächeninhaltes sämtliche Kerne der *Leydig*schen Zellen einzeln und nacheinander zusammenzuzählen. Selbstredend ebensowenig, wie Ausmessen des Flächeninhalts an jedem histologischen Schnittpräparat, war es notwendig, die Kerne aller Schnitte

zusammenzuzählen. Wir haben, wie das in Abb. 12 gezeigt wurde, die Hoden in 4 gleiche Teile geteilt und von jeder der 3 Schnittflächen je ein histologisches Präparat, zum Zwecke der Auszählung der Kerne, hergestellt. Der Einfachheit halber haben wir den Hoden als geometrisch einfaches Gebilde betrachtet; wir rechneten den Durchschnittswert der Zahl aller Kerne in den 3 Schnittpräparaten aus und multiplizierten den erhaltenen Mittelwert einfach mit der Länge des Hodens in Millimeter. Selbstredend ist dieses Verfahren etwas drastisch, da es die tatsächlichen Verhältnisse einigermaßen mißachtet. Da aber die Form der Hoden sehr selten sich merklich ändert, bedeutet diese Vereinfachung in der Auffassung der Verhältnisse keine weitgehende Nichtachtung der tatsächlichen Verhältnisse. Wir schätzen die durch diese Vereinfachung bedingten Fehlergrenzen auf etwa 10%, was in Anbetracht unseres Problems nicht von weitgehender Bedeutung ist. Diese Verringerung der rechnerischen Schwierigkeiten diente uns zuerst als einleitender Versuch zur Bestimmung der Grenzen der Möglichkeiten, die durch dieses Verfahren geboten werden. Eine weitere Ausarbeitung unseres Verfahrens ist noch erwünscht, doch scheint uns jetzt schon, daß als rechnerische Grundlage die Auszählung aller Kerne weitaus größere Gewähr für Ausschaltung aller Fehlerquellen bietet als die Messung der Flächengröße. Auch gibt unsere Mengenzergliederung keinesfalls die wirkliche Zahl der *Leydigschen* Zellen, nur eine annähernd genaue Vergleichszahl, deren Wert eben in der Gleichung zu suchen ist. Um absolute Werte zu erhalten, wollen wir unser Verfahren, insofern unsere Angaben eine Bestätigung finden, noch weiter ausgestalten; in der vorliegenden Arbeit kam es uns lediglich nur darauf an, nachzuweisen, ob weitgehende Veränderungen in der Zahl dieser Kerne bei den E-Avitaminosehoden tatsächlich nachzuweisen sind. Um diese Frage zu beantworten, reichten uns die durch dieses Verfahren gewonnenen Vergleichswerte vollständig aus, wie das aus den beiliegenden Tabellen zu ersehen ist.

Das Auszählen sämtlicher Kerne in einem Hoden, oder besser gesagt, das Gewinnen absoluter Werte bereitet keine besonderen Schwierigkeiten. In einem Hoden, dessen Vergleichswert nach unserer Berechnung z. B. 150 000 Kerne ergeben hat, finden sich etwa 30 000 000 Kerne, wenn der gewonnene Wert aus 5 μ dicken histologischen Schnitten ermittelt worden ist. Daß hierbei nur eine sehr ungefähre Zahl gemeint ist, braucht nicht betont zu werden. In der vorliegenden Arbeit legen wir auch keinen besonderen Wert auf eine genau gemessene Zergliederung. Wir sind uns dessen bewußt, daß diese Berechnung schon deshalb unzureichend ist, weil wir den Hoden als einen geometrisch idealen Zylinder aufgefaßt haben, während der Hoden keinesfalls ein solcher ist. Die verschiedene Breite des als Zylinder aufgefaßten Hodens der verschiedenen Querschnitte wird rechnerisch durch die ideale Verteilung der 3 ausgewählten Schnittflächen und Errechnung der Mittelwerte zur Geltung gebracht.

Nicht berechnet wird das durch die Zuspitzung des Hodens an den beiden Polen entstehende Mißverhältnis gegenüber dem ganzen Zylinder. Dabei ist auch nicht zu vergessen, daß die Kanälchen der Albuginea unmittelbar anliegen; Zwischenzellen finden sich zwischen Albuginea und Kanälchen nur äußerst spärlich. Nur an der Innenfläche dieser Randkanälchen liegt normales Zwischengewebe an. Dadurch mußte wiederum ein Rauminhalt von dem zu einem Zylinder vereinfachten Hodenvolumen abgerechnet werden, dessen Höhe der Dicke der Albuginea nebst des wandständigen Kanälchens entspricht.

Im großen und ganzen scheinen diese Mängel der Berechnung nicht unbesitigbar zu sein; keinesfalls sind sie aber so hohen Grades, daß sie zu gewaltigen Fehlrechnungen führen würden und mehrfache Wertungen des eigentlichen Wertes vortäuschen könnten.

Im Rahmen einer folgenden Mitteilung wollen wir auf alle diese Einzelfragen näher eingehen. Die Brauchbarkeit des von uns angegebenen Verfahrens gegenüber der zeichnerischen Gewebszergliederung kann bloß auf Grund von vergleichenden Untersuchungen bestimmt werden. Derartige Untersuchungen an E-Avitaminosehoden liegen hier vor und die Ergebnisse lassen den Vorzug rechtfertigen. Ob die vergleichenden Untersuchungen an anderen Hoden, vor allem aber an Röntgenhoden ähnlich günstig ausfallen werden, müssen unsere zukünftigen Messungen erweisen.

Um die Frage zu beantworten, ob die Menge der *Leydigschen* Zellen in der E-Avitaminose sich verändert habe, haben wir eine Anzahl von jungen Männchen an eine E-vitaminfreie Kost gesetzt, und zwar unter den gleichen Bedingungen, wie wir das in unseren früheren Mitteilungen eingehend beschrieben haben (Tabelle 7). Wir verwendeten in einer Versuchsreihe Männchen aus mehreren Familien, in der Weise, daß die eine Hälfte der Geschwistertiere in den Versuch einbezogen wurde, die andere Hälfte zum Vergleich diente. Der Versuch dauerte 5 bzw. 6 Monate. Am Ende der Versuchszeit wurden sowohl Versuchs- als auch Vergleichstiere getötet, die beiden Hoden histologisch verarbeitet und die Kerne der Zwischenzellen an stets je 3 Schnittpräparaten unter den gleichen Bedingungen ausgezählt. In dieser ersten Reihe unserer Versuche verwendeten wir 12 Rattenmännchen aus 3 Familien (A, B und C) von je 4 Geschwistertieren, von welchen 2 als Versuchstiere, die 2 anderen als Vergleichstiere gedient haben. Bei allen Versuchsratten erhielten wir Veränderungen, die als typische Mangelercheinungen aufzufassen waren, auch wenn der Fortschrittsgrad des hypobiotischen Vorganges nicht bei allen der gleiche war. Eine derartige mengenmäßige Ungleichheit der einzelnen Ratten gegenüber Mangel an E-Vitamin haben wir und auch andere Forscher beobachten können. Eine Zunahme der Kerne, außerhalb der Grenze der Fehlermöglichkeit bei der Auszählung, wurde nicht beobachtet, ja eher eine Abnahme, wenn auch der Grad dieser

Verminderung der Kernzahl so gering war, daß wir sie nicht außerhalb der Fehlergrenze liegend betrachten möchten. Wir können diese Ergebnisse dahin zusammenfassen, daß die Zwischenzellen in E-Avitaminose nicht zunehmen, wenn wir auch nicht ausschließen wollen, daß nicht-spezifische Zellen dieses Gewebes, also vor allem Bindegewebe, unter Umständen stark zunehmen können. Was aber die Zahl der *Leydig*schen Kerne anbelangt, so war eine Vermehrung ihrer Kerne bei allen 6 Versuchsratten vermißt worden. Diese Ergebnisse stehen in offenem Widerspruch zu den Ergebnissen jener Forscher, die eine angebliche, nicht unbeträchtliche Zunahme des Zwischengewebes in den atrophischen Hoden ermittelt haben. Jedenfalls ist bei jenen Verfassern (u. a. *Stieve*, *Schinz* und *Slotopolsky*) nie genau beantwortet worden, welche Teile an der von ihnen gefundenen Zunahme beteiligt sind, da sie Gefäße, Zwischenzellen und Bindegewebe nicht voneinander getrennt haben. Noch weiter entfernt sind diese von uns gefundenen Werte von den Angaben jener Untersucher, die eine auffallend starke Zunahme der Zwischenzellen nachgewiesen zu haben glaubten. Wenn *Stieve*, *Schinz* und *Slotopolsky* u. a. diese ungewöhnliche Zunahme der *Leydig*schen Zellen geleugnet haben, wollten sie immerhin die Tatsache einer nicht unbeträchtlichen Zunahme zugeben. Wir wollen hier nur darauf hinweisen, daß auch diese Zunahme durch die unzureichende Meßmethode vorgetäuscht wurde, da auf Grund unserer Untersuchungen eine solche überhaupt nicht stattfindet. Gegen diese Auffassung könnte eingewendet werden, daß alle genannten Forscher an anderem Forschungsobjekt gearbeitet haben als wir, daß sie nie den E-Avitaminosehoden in den Kreis ihrer Untersuchungen einbezogen haben, während wir selber nie an Röntgen- oder kryptorchen Hoden z. B. gearbeitet haben. Dieser Einwand kann nicht damit widerlegt werden, daß wir bei allen Hodenatrophien eine Ähnlichkeit erkennen wollen; wir werden uns bequemen müssen, unsere Messungen auch an Röntgenhoden zu wiederholen. Es besteht tatsächlich zwischen Röntgen- und E-Avitaminosehoden ein Unterschied, auf den wir schon hingewiesen haben, nämlich daß der E-Avitaminosehoden, gegenüber dem Röntgenhoden eine sehr chronische Form der Hodenatrophie darstellt. Dieser Unterschied würde jedoch zugunsten unserer Auffassung sprechen, da bei der langsamen Verödung der Hodenkanälchen das Zwischengewebe mehr Zeit hat, seine Gewebsreaktion ausgiebig zu entfalten.

In einer nächsten Versuchsreihe haben wir 30 Tage alte Rattenmännchen einseitig kastriert, auf unsere E-vitaminfreie Grundkost gesetzt und das Tier erst nach einer 5 monatigen Karenzzeit getötet (Tabelle 8). Bei dieser Versuchsreihe verwendeten wir ebenfalls 6 einseitig kastrierte Männchen aus 3 Familien (D, E und F) und ihre 6 Geschwistertiere zum Vergleich. Bei diesem Versuch war zu erwarten, daß nach Entfernung des einen Hodens der in seiner Lage gelassene Hoden für beide ersetzend

eintreten wird, wie das normalerweise bei der einseitigen Kastration beobachtet wird. Nur war aber zu erwarten, daß diese ersetzende Vergrößerung des zurückgelassenen Hodens, wenigstens was die Kanälchen anbelangt, ausbleiben wird, da diese im Laufe des Karenzversuches der Atrophie anheimfallen. Nur blieb die Möglichkeit bestehen, daß in den nicht betroffenen Zwischenzellen, die nach den Untersuchungen von *Schinz* und *Slotopolsky* sich als sehr reaktionsfähig erwiesen haben sollten, durch die einseitige Kastration ein weiterer Antrieb zu der Gewebszunahme erhalten wurde; durch die Zusammenwirkung beider Wucherungsreize (ersetzendes Eintreten und die von den genannten Forschern beschriebene Zunahme des Zwischengewebes bei den Hodenatrophien) eine nicht unbeträchtliche Zunahme der Zahl der *Leydig*-Zellen zu erwarten war. Auch diese Erwartung blieb unerfüllt. Wie aus der Tabelle 8 hervorgeht, war bei den einseitig kastrierten jungen Rattenmännchen nach 5 monatiger E-Avitaminose eine Vermehrung der Zwischenzellen nicht zu vermerken. Dieses Ergebnis eröffnet nun wiederum

Tabelle 7.

Versuch			Vergleichstier	
Ratte aus Familie	Monate der E-Avitaminose	Mittlerer Kernwert der <i>Leydig</i> -Zellen beider Hoden	Ratte aus Familie	Mittlerer Kernwert der <i>Leydig</i> -Zellen beider Hoden
A ₁	5	230 000	A ₃	245 000
A ₂	5	245 000	A ₄	230 000
B ₁	5	215 000	B ₃	190 000
B ₂	5	195 000	B ₄	190 000
C ₁	6	270 000	C ₃	310 000
C ₂	6	275 000	C ₄	260 000

Tabelle 8.

Versuch			Vergleichstier	
Ratte aus Familie	Monate der E-Avitaminose	Mittlerer Kernwert der <i>Leydig</i> -Zellen der in situ gelassenen Hoden	Ratte aus Familie	Mittlerer Kernwert der <i>Leydig</i> -Zellen beider Hoden
D ₁	5	180 000	D ₃	200 000
D ₂	5	220 000	D ₄	190 000
E ₁	5	215 000	E ₃	195 000
E ₂	5	235 000	E ₄	105 000
F ₁	5	195 000	F ₃	210 000
F ₂	5	180 000	F ₄	200 000

ein neues Problem: Wie verhält sich das Zwischengewebe des in seiner Lage gelassenen Hodens bei einseitiger Kastration? Bekanntlich erfährt dieser Hoden unter normalen Bedingungen eine Gewichtszunahme und scheinbar auch eine Funktionssteigerung, durch welche er für die Leistungen beider Hoden eintreten kann. Ist in diesem Falle eine gleichlaufende absolute Zunahme beider Gewebsanteile, der Kanälchen und der Zwischen-

zellen, zu verzeichnen, oder erfolgt die Zunahme nur zugunsten des einen von den beiden? Alles Fragen, deren Beantwortung nur auf dem Wege des Versuches möglich ist. Insofern bleibt für uns die Tatsache bestehen, daß bei einseitig kastrierten Rattenmännchen eine Zunahme der Zwischenzellen in E-Avitaminose vermißt wurde.

Tabelle 9.

Versuch				Vergleichstier	
Ratte aus Familie	Monate der E-Avitaminose	Wochen der Vitaminzufuhr	Mittlerer Kernwert der Leydig-Zellen beider Hoden	Ratte aus Familie	Mittlerer Kernwert der Leydig-Zellen beider Hoden (gleichzeitig mit Versuchstier getötet)
G ₁	5	1	285 000	G ₃	260 000
G ₂	5	6	260 000	G ₄	275 000
H ₁	5	2	215 000	H ₃	245 000
H ₂	5	10	235 000	H ₄	210 000
I ₁	5	4	195 000	I ₃	225 000
I ₂	5	14	225 000	I ₄	220 000
K ₁	5	10	310 000	K ₃	225 000
K ₂	5	19	275 000	K ₄	260 000

In einer dritten Versuchsreihe haben wir Rattenmännchen nach 5monatiger Karenz auf eine E-vitaminreiche Kost gesetzt und entnahmen die Hoden entsprechend der Tabelle 9 nach 1—19 Wochen der erneuten Vitaminzufuhr. Der Zweck dieser Untersuchungen war, zu bestimmen, ob die in der Tabelle 5 nachgewiesenen Wertverschiebungen im Flächeninhalt der Zwischenzellen auf tatsächlicher Vermehrung, bzw. Verminderung der Zahl der Zellen beruht, oder ob diese Zahl eher unveränderlich ist, nur bedingen die Volumenschwankungen der Gefäße, wie wir das früher auseinandergesetzt haben, Änderungen in den Mengenverhältnissen. Wir haben auch in dieser Versuchsreihe als Vergleich stets Geschwistertiere aus dem gleichen Wurf verwendet, so daß ein entscheidender Vergleich möglich war. Die Vergleichstiere bekamen in der ganzen Versuchszeit normales Futter, sie wuchsen normal und die bei allen Tieren ständig geführten Gewichtsmessungen zeigten keine pathologischen Schwankungen. Es ist fast überflüssig zu erwähnen, daß Tiere mit interkurrenten Krankheiten, oder sonstigem ungewöhnlichem Verhalten, sowohl vom Versuch, als auch von dem Vergleich ausgeschlossen waren.

Wie aus der Tabelle 9 wiederum klar hervorgeht, haben wir auch bei diesen absoluten Mengenbestimmungen der Leydigschen Zellen weder eine Zunahme, noch eine Abnahme nachweisen können. Die Zahl dieser Zellen schwankte beim Versuchs- und Vergleichstier in Grenzen, die augenscheinlich den der Fehlergrenzen entsprechen. Bei diesem, sozusagen vereinfachten Berechnungsverfahren mußte mit einer Breite der Fehlergrenze von nahezu 50% gerechnet werden, die bei den von uns gefundenen Schwankungen nicht erreicht wurde. Eine erwartete Zunahme auf

das Mehrfache der ursprünglichen Menge, oder eine Abnahme in entsprechend hohem Maße wurde nicht gefunden.

Die mit diesen Messungen gleichzeitig vorgenommene Gewebsmengengliederung nach dem zeichnerischen Verfahren hat sehr widersprechende Ergebnisse vermittelt. Meistens schien eine Zunahme des Zwischengewebes vorgetäuscht zu sein. Jedoch schwankten dessen Werte in den atrophischen Hoden zwischen 60—190% der bei normalen Hoden gefundenen Werte. Besonders bei den stark fortgeschrittenen Hodenatrophien sind diese Ergebnisse ganz irreführend, da eine richtige Umschreibung des Zwischengewebes kaum mehr gelingen kann (Abb. 14). Aus diesem Grunde wollen wir auf eine statistische Auswertung dieser Ergebnisse verzichten, dagegen sollen im Rahmen einer anderen Mitteilung, die den Wert der alten und der von uns angegebenen Gewebsmengengliederung, unabhängig von der E-Avitaminose, an normalen und pathologisch veränderten Hoden (vor allem aber auch an Röntgenhoden) ermessen soll, alle diese Fragen besprochen werden.

Das Ergebnis dieser recht langwierigen und mühevollen Messungen kann in einen einzigen Satz zusammengefaßt werden: Eine Zunahme der Zwischenzellen in den E-Avitaminosehoden findet nicht statt; sie bleibt auch dann aus, wenn vor Beginn des Avitaminoseversuches das Tier einseitig kastriert wurde. Unverändert bleibt die Menge dieser Zellen in der Zeit des Wiederersetzens nach Unterbrechung der Karenz. Diese Ergebnisse stehen mit allen bisherigen durch Messung oder Schätzung ermittelten Angaben über das Verhalten des Zwischengewebes in den atrophischen Hoden in offenem Widerspruch. Die Frage, ob das Zwischengewebe nach einseitiger Kastration unter sonst normalen Bedingungen eine Mengenzunahme erfährt, bleibt offen; soviel geht aus unseren Versuchen hervor, daß im Falle, daß diese Zunahme bewiesen werden sollte, dies für die E-Avitaminosehoden nicht zutrifft. Man würde eventuell gezwungen sein anzunehmen, daß diese Zunahme durch die Karenz verhindert wird.

Wichtig erscheint uns, darauf hingewiesen zu haben, daß die frühere Gewebsmengengliederung mit großen Fehlermöglichkeiten belastet war und man gezwungen ist, sich nach anderen Verfahren umzusehen, die von diesen soweit als möglich frei sind. Ein solches Verfahren suchten wir in der vorliegenden Versuchsreihe auszuarbeiten. Es waren dies die ersten Probeversuche, die wir bewußt einfach gestaltet haben. Wir glauben aber, daß ein Verfahren auf Grundlage der Auszählung aller Zellkerne noch weiter ausgearbeitet werden kann, besonders in Hinsicht auf die rechnerische Auswertung der Ergebnisse; eventuell wird sich die Notwendigkeit erweisen, die Berechnungen jedem Sonderfall entsprechend anzupassen.

Über die Mengenverhältnisse in den E-Avitaminosehoden finden wir einige Angaben von anderen Forschern. So findet z. B. *Mason* weder eine Vergrößerung des Zwischengewebes, noch eine Zunahme seiner Teile.

Nur da, wo die Kanälchen entartet sind, soll dieses Gewebe im Präparat stärker zum Vorschein treten; eine absolute Zunahme seiner Teile hat er nicht feststellen können, nur eine relative, im Vergleich zum ganzen Hoden. Diese Bestandteile zeigen die Neigung, in großen Massen sich zu verklumpen, was wahrscheinlich durch den von den zwischen den Kanälchen vorhandenen Flüssigkeit ausgeübten Druck bedingt wird. Diese Ergebnisse stimmen mit den unsrigen vollkommen überein, doch können wir sie nicht verwenden, da sie nicht durch eine Mengenanalyse ermittelt worden sind, sondern lediglich auf Schätzung beruhen.

Diesen Ergebnissen widerspricht die von *Mattil* und Mitarbeitern mitgeteilte Vermehrung des Zwischengewebes, die jedoch deshalb schon außer acht gelassen werden darf, da es nicht wahrscheinlich erscheint, daß in diesen Versuchen die reine Form der E-Avitaminose erhalten wurde; aus der Beschreibung dieser Ergebnisse geht dies nämlich klar hervor. Andererseits ist auch diesen Verfassern der gleiche Einwand, wie für *Mason*, entgegenzuhalten, daß seine Angaben einfach durch Schätzung ermittelt wurden.

Zusammenfassung.

Bei dem Versuch einer Mengenbestimmung des Zwischengewebes in den E-Avitaminosehoden wird die Brauchbarkeit des zuerst von *Bergonié* und *Tribondeau* angegebenen, später von *Stieve* ausgearbeiteten Verfahren der Gewebsmengenzergliederung in Frage gestellt. Es erscheint bei Anwendung für nicht physiologische Objekte mit allzuviel Fehlermöglichkeiten behaftet. Zur Ausschaltung der Fehlerquellen wird ein neues Verfahren der Mengenbestimmung angegeben, das in erster Linie auf der einfachen Auszählung der Kerne der Zwischenzellen beruht. Auf Grund derartiger Messungen ergibt sich, daß in den atrophischen Hoden E-vitaminfrei ernährter Ratten keine Zunahme der Zwischenzellen stattfindet. Diese Zunahme bleibt auch aus, wenn die Rattenmännchen vor dem Versuch einseitig kastriert werden. Ebenfalls unverändert bleibt die Zahl der *Leydig*schen Zellen nach Unterbrechung der Karenz in der Zeit der Neubildung der Hodenkanälchen.

Schrifttum.

Benoit: C. r. Soc. Biol. Paris 87, 1385 (1922). — *Bowin* u. *Ancl*: Archives de Zool. 1, 437 (1903). — *Evans* u. *Burr*: The antisterility vitamin fat soluble E. Univ. of California Press, Berkeley 1927. — *Hammar*: Z. angew. Anat. 1, 311 (1914). *Heberg*: Anat. Anz. 29, 49 (1906). — *Jäger*: Arch. f. Psychiatr. 54, 261 (1914). *Juhász-Schäffer*: Virchows Arch. 281, 3 (1931); 282, 662 (1931). — *Lipschütz*: Die Pubertätsdrüse und ihre Wirkungen. Bern 1919. — *Mason*: J. Nutrit. 1929, 1. Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 1925, 11. — *Mattil* u. *Conklin*: J. of biol. Chem. 1920, 44. — *Romeis*: Münch. med. Wschr. 1921, 600. — *Saller*: Z. Anat. 80, 579 (1926). *Schinz* u. *Slotopolsky*: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden 1927. Abt. V., T. 3 B, S. 497. — *Slotopolsky* u. *Schinz*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 2, 225 (1925); Virchows Arch. 257, 294 (1925). — *Stieve*: Arch. Entw.mechan. 45, 455 (1919); Arch. mikrosk. Anat. 99, 390 (1923).