

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Halle-Wittenberg.)

Einfluß der Hypophysenexstirpation und -Implantation auf die Phalangenausbildung der Molchextremität¹.

Von

Konrad Schaefer.

Mit 18 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 21. Juni 1934.)

Schon *Goette* gibt an, daß während der Metamorphose der Molche, besonders auffällig bei *Tr. cristatus cristatus Laur.*, die Larvenzehen gedrungener werden auf Kosten eines die Knorpelhülse der Endphalange distal überragenden Knorpelfadens, der durch Atrophie zugrunde geht. Diese Vorgänge sind bisher wenig bekannt, insbesondere fehlen Feststellungen, wie die endgültige Knochenkappe der Endphalange entsteht, so daß eine genauere Untersuchung lohnend erschien.

Während dieser Arbeit lenkte Herr Prof. *Klatt*² mein Interesse auf eine krankhafte Zehenverkürzung, die bei den von ihm hypophysektomierten Molchlarven (*Tr. taeniatus*) auftrat. Dadurch wurde die Zielsetzung der Arbeit erweitert.

Material und Technik.

Zur Untersuchung der Zehenverkürzung während der Metamorphose wurden in erster Linie *Tr. cristatus carnifex*-Larven benutzt, zum Vergleich auch solche von *Tr. taeniatus* und *Tr. alpestris* herangezogen. — Die hypophysektomierten *Tr. taeniatus*-Tiere gehören nicht einer Zucht an, sondern stammen aus verschiedenen Familien. Die Tiere kamen, sobald makroskopisch festgestellt war, daß sich bei ihnen Phalangenverluste in nächster Zeit einstellen würden (s. Symptome bei *Klatt* 1931), in meine Behandlung. Zur genauen Feststellung der zu erwartenden Veränderungen wurden zunächst die Beine der Tiere gezeichnet. Dazu wird das Tier in einer Petrischale in mit Chlorethonlösung versetztem Wasser narkotisiert, die Beine werden mit kleinen Glasplättchen festgelegt. Bei durchfallendem Licht kann man dann (schwache Vergrößerung) die Einzelheiten der Phalangen gut beobachten und mit Hilfe des *Abbéschen* Zeichenapparates leicht wiedergeben.

¹ Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät Halle.

² Herrn Prof. Dr. *B. Klatt*, dem ich das wertvolle Material verdanke, möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine Unterstützung danken, insbesondere auch dafür, daß ihm zufließende Mittel der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft für die Arbeit verwendet werden konnten.

Die zur histologischen Untersuchung abgetrennten Beine wurden meist fixiert in *Zenker-Formol* (*Helly*), entkalkt in 5%iger HNO_3 -Lösung, entsäuert in 5%iger Na_2SO_4 -Lösung, dann 24 Stunden fließendes Wasser, Alkoholreihe aufwärts, Methylbenzoat-Celloidin, Benzol, Paraffin. Schnittdicke $7,5\mu$, Schnittführung meist frontal, dorsal beginnend. Färbung Azan nach *Heidenhain* oder Hämalaun Chromotrop 2 R. Bei der Azanfärbung nach *Heidenhain* (s. *Romeis* § 1196) stellte es sich heraus, daß die mit *Zenker-Formol* nach *Helly* fixierten Knochen sich blau färbten. Der unverkalkte Knorpel färbt sich tiefblau, der verkalkte Knorpel ist schwächer bis blaßblau gefärbt. Die Hämalaun-Chromotrop 2 R-Färbung weist dieselbe Affinität des Knochens, der unverkalkten und der verkalkten Knorpelsubstanz für den sauren Farbstoff auf. Wurde der Knochen nur mit Formol fixiert, so zeigte sich, daß er, mit Azan gefärbt, das Azocarmin annahm, auch zeigte der Knorpel Basophilie. Nun gibt *Weidenreich* für die Azanfärbung nach *Heidenhain* an, daß sich der verkalkte Knochen tiefrot, die osteoide Substanz sich intensiv blau färben. Woran liegt diese Verschiedenheit in der Färbung bei ihm und bei mir? Ist das Fixierungsmittel schuld? Dies kann nicht der Fall sein, denn mit *Kolmer* fixierte Knochen färben sich genau so. Auch zu Vergleichszwecken entsprechend behandelte normale Urodelenknochen wie auch Froschknochen und Kaninchenknochen färbten sich in der gleichen Weise.

Das Zeichnen der Beine wurde in der Woche einmal, wenn nötig, zweimal wiederholt; dabei wurde nicht nur auf die Phalangenverluste geachtet, sondern auch auf die sich bildenden Regenerate, von denen ebenfalls verschiedene Entwicklungsstadien fixiert wurden. — Alle Tiere waren hypophysektomiert auf einer Größe von 20—22 mm Kopf-Schwanzspitzenlänge. Durch die Hypophysektomie werden die Larven gelblich bis fleischfarben mit Ausnahme weniger Exemplare, die schwarz werden (*Klatt* 1931). Durch die Pigmentlosigkeit der Haut wurden die Untersuchungen sehr begünstigt. Die Vergrößerung bei den Umrißzeichnungen der Beine lebender Tiere, mit Okul. 3 Obj. 1 * (*Leitz-Wetzlar*) vorgenommen, war 20fach, bei den histologischen Bildern wird die Vergrößerung jeweils angegeben werden. Es wurden nicht nur lebende, sondern auch bereits fixierte Tiere des *Klattschen* Materials verwandt, darunter auch solche, welche Zuchten der Art *Tr. alpestris* angehören.

Die Veränderung der Larvenzehen während der Metamorphose.

Die Metamorphose läßt bei den Molchlarven eine Reihe von Reduktionserscheinungen auftreten, deren bekannteste die Reduktion der Kiemen und des Flossensaumes und die des Spleniale sind. Eine weitere Rückbildung findet sich bei der Umbildung der Larvenzehe in die Molchzehe. Während der Larvenzeit besitzen die Molche schlankere Zehen als später nach der Metamorphose. Dieser Unterschied in der Form beruht in erster Linie auf dem der Endphalange der Larvenzehe distal aufsitzenden Knorpelstab.

Die Molchlarven besitzen an den Zehen der Hinter- und Vorderextremität bereits vor der Metamorphose ausgebildete Knochenschalen, auf deren Bau ich später eingehe. Die Dicke der Knochenschalen nimmt beim Vergleich der einzelnen Knochen untereinander distalwärts ab, was

dem Entwicklungsgang gleicht, so daß bei einer ausgewachsenen Larve zu Beginn der Metamorphose an der Endphalange sich erst die ersten Anzeichen einer Knochenbildung zeigen.

Wie Goette nun bereits für *Tr. cristatus* erkannte, atrophiert der die Knorpelhülse überragende Knorpelfaden. Noch deutlicher als bei diesem Molch fällt die Erscheinung bei dem nahen Verwandten *Tr. carnifex* auf. Die Larve dieser Unterart besitzt bizarr lange Zehen, während der metamorphosierte Molch dagegen „wurstförmige“ Zehen aufweist. Die gleichen Befunde treten beim *Tr. taeniatus* und *Tr. alpestris* in Erscheinung, jedoch nicht ganz so auffallend, was die Länge des überstehenden Knorpels angeht.

Wie alle Knochen der Extremität wird auch das letzte Zehenglied knorplig angelegt. Um diesen Knorpel liegt ein Perichondrium, das an der proximalen Hälfte der knorpligen Phalange stärker erscheint als an der distalen. Dadurch kann man bei der Vollarve sofort die spätere Endphalange unterscheiden von dem distalen Knorpelfaden. Der überstehende Knorpelstab besteht aus großen Knorpelzellen, die eine geringe Grundsubstanz abgeschieden haben. Anfänglich liegen noch mehrere Zellen nebeneinander; dem distalen Ende zu verändert sich dieser Aufbau, so daß schließlich die Zellen nur noch in einer Reihe hintereinander liegen. Der Knorpelfaden ist hier ein im wesentlichen durch Turgeszenz gesteiftes Element, da die Grundsubstanz nur auf schmale Wände beschränkt ist, welche die großen, für die Zellen ausgesparten Hohlräume umgeben. Während der Metamorphose treten an den äußersten Zehenspitzen starke Krümmungen auf, die nach einer gewissen Zeit verschwinden, um dann gelegentlich wieder aufzutreten. Hierbei wird jedesmal nekrotisch gewordene Epidermis abgestoßen, nach deren Abfallen die entsprechend kürzer gewordene Zehe wieder gerade erscheint.

Die Schnittuntersuchung zeigt, daß die Knorpelsubstanz im Gebiete der maximalen Beugung zurücktritt, d. h. sie ist färberisch kaum noch feststellbar. Dafür findet sich aber an der gleichen Stelle ein feines Faserwerk, das als bleibender Rest der Knorpelgrundsubstanz nach deren teilweiser Auflösung sichtbar geworden ist. Dieser Umbildungsvorgang schreitet proximalwärts weiter vor, bis der endständige Abschnitt schwindet, indem das in dieses Faserwerk umgewandelte Knorpelende sich auf den proximaleren Abschnitt der Zehe zurückklappt. Das so entstandene Faserwerk umschließt nach dem Umlappen noch weiterhin die Knorpelzellen, die nicht alle degenerieren, wovon das normale Chromatingerüst solcher Zellkerne zeugt. Hin und wieder läßt sich ein pyknotischer oder ein schon der Karyorrhesis verfallender Kern auffinden. Diese Degeneration tritt bereits vor der Knickung auf, was wohl mit dem Zerfall der Grundsubstanz in Beziehung zu bringen ist. — Gelegentlich kommt es auch vor, daß die Spitze in die Epidermis nach vorn hineindringt und durch diese abgeschnürt wird. Mit der abschilfernden Haut werden

dann das vormals knorpelige Faserwerk sowie dort liegende degenerierte Zellen abgestoßen.

Inzwischen ist der Umwandlungsprozeß schon bis in jene Region des Knorpelfadens vorgedrungen, wo mehrere Knorpelzellen nebeneinander liegen (Abb. 1). Diese behalten ihre Anordnung, sind aber nun gleichfalls statt von Knorpelsubstanz von Faserwerk umgeben. In dieser Form schreitet die Knorpelauflösung immer weiter vor, bis sie schließlich in die Diaphysennähe vorgedrungen ist. Hier wird nicht etwa Halt gemacht, sondern die Chondrolyse greift nun auch auf den vom distalen Diaphysenende umschlossenen Knorpel über. Zellen, welche die Chondrolyse dieses diaphysären Knorpels verursachen, sind auch hier nicht festzustellen. Es werden lediglich frei werdende und bereits ausgewanderte Knorpelzellen gefunden. Von der Knocheninnenfläche strahlt Faserwerk aus, das durch die Knorpelauflösung hervorgetreten ist. Auf diesem gleiten die Knorpelzellen (nach der Kernlage- rung zu urteilen) aus dem endständigen Diaphysenhohlraum heraus.

An der Spitze der Diaphyse liegen zu dieser Zeit noch Teile des aus der Grundsubstanz des Knorpelfadens herrührenden Faserwerks nebst Knorpelzellen. Diese Masse liegt an der Palmarseite, da ja der Faden nach dieser hin umklappte. In der Öffnung des Diaphysenhohlraums finden sich, wie aus der eben gegebenen Schilderung hervorgeht, die gleichen Elemente. Hier setzt nun die Verknöcherung der Phalangenkappe ein ².

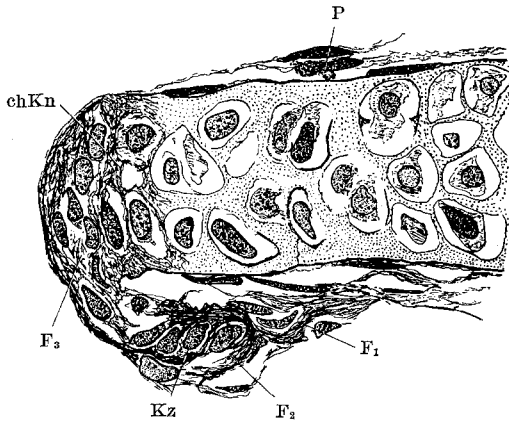


Abb. 1'. *Triturus carnifex*. Knorpelfaden der Endphalange in Verkürzung. Kollagenes Faserwerk umschließt nach dem Umklappen noch die Knorpelzellen. F₁, F₂, F₃ zu verschiedenen Zeiten entstandenes Faserwerk. 800fach red. auf $\frac{1}{10}$.

¹ Erklärung der Abkürzungen in den Abbildungen.

Blg Blutgefäß, p B periostales Blastem, r B Regenerationsblastem, E Epiphyse, Er Epiphysenrest, di E distale Epiphyse, pE proximale Epiphyse, Edz Endothelzelle, F Faserwerk, Fib Fibroblast, K Knorpel, chK chondrolytischer Knorpel, j K junger Knorpel, nK „Grenzlinie“, pe K periostaler Knorpel, v K verkalkter Knorpel, Kr Knorpelrest, Kz Knorpelzelle, f Kz freie Knorpelzelle, d Kz degenerierte Knorpelzelle, ench Kn enchondraler Knochen, Kn Knochen, Le Leukocyt (polymorphkernig), Ly Lymphocyt, Mes Mesenchymzelle, Ob Osteoblast, Oc Osteoclast, P Periost, f Pl fibrillärer Plasmasaum, Peri Pericyt, Plb Polyblast, R Regenerat, Ri Riesenzelle, Rib Riesenzellenbildung, a W amöboide Wanderzelle, r W ruhende Wanderzelle.

² Die Vorderbeine, die ja auch vor den Hinterbeinen sich entwickeln, gehen auch in dieser Hinsicht zeitlich den Hinterbeinen voraus.

Die noch in dem Faserwerk liegenden Knorpelzellen werden „eingemauert“. Eine Osteoblasteneinwanderung hat nicht stattgefunden, es handelt sich hier also um eine Bindegewebsverknöcherung, wie sie schon *Schaffer* bei den Wirbeltieren an den Endphalangen feststellte.

Aus den eingekapselten Zellen schloß er, daß es sich hier um eine metaplastische Tätigkeit des Periostes handle; ich glaube jedoch, daß es sich ursprünglich um Knorpel handelt, dessen kollagene Fasern nach seiner Auflösung schnell wieder verknöchern, so daß nicht einmal die netzartige Struktur des Faserwerks gestört wird, geschweige denn die Zellen die Maschen verlassen. *Dixey* und *Schäfer* stellten die Behauptung auf, daß die Nagelphalangen von der Spitze zur Basis verknöchern. Auf Grund meiner Befunde, die ich sehr wohl mit denen der höheren Wirbeltiere vergleichen zu können glaube, möchte ich behaupten, daß *Dixey* nicht die geeigneten Entwicklungsstadien benutzte, was er wiederum von *Kassowitz* sagt, der einen dem normalen ähnlichen Verknöcherungsgang bei den Endphalangen annimmt. Gestützt werde ich bei dieser Behauptung durch die Bilder *Dixey's*; jedenfalls ist diese Erscheinung bei den höheren Wirbeltieren noch nicht geklärt. Nicht ganz berechtigt scheint es mir, wenn *Dixey* zu seiner Behauptung den Proteus mit heranzieht. Ich habe Proteus vergleichsweise mit untersucht. Es ist sicherlich richtig, daß bei ihm der überstehende Knorpel nicht ausgebildet wird, also die Knochenkappe der Endphalange auch nicht knorpelig angelegt worden ist. Aber Proteus ist ja überhaupt eine so abweichende Form, wohl auf Grund des Versagens des endokrinen Systems, daß man ihn nicht als typischen Vertreter der Urodelen benutzen sollte. So fehlt bei ihm z. B. auch die enchondrale Verknöcherung.

Der der Zehe von *Tr. carnifex* im Larvenstadium ein so überschlanges Aussehen verleihende Knorpelstab der Endphalange wird also während der Metamorphose chondrolytisch völlig aufgelöst. Wo bleibt aber das hierbei entstandene Faserwerk samt den freigewordenen Knorpelzellen, soweit es nicht, wie oben beschrieben, zur Bildung der Knochenkappe benutzt wird? Eine Degeneration der Zellen findet sich, wie oben angegeben, nur gelegentlich; ein proximales Abwandern auch nicht, denn sonst müßten ja hier starke Anhäufungen von Zellen auftreten. An Hand der eingangs geschilderten Beobachtungen möchte ich behaupten, daß von Zeit zu Zeit mit der Epidermis der größte Teil dieser Massen abgestoßen wird. Der Grund für die Chondrolyse andererseits liegt vermutlich, wie auch *Böhmel* annimmt, in einem chemisch-fermentativen Prozesse, der wie bei der Trypsinverdauung des Knorpels seine fibrilläre Struktur hervortreten läßt. Zellen, die diesen Prozeß veranlassen könnten, habe ich nicht gefunden, weder Leukocyten¹ noch Riesenzellen. Wohl aber findet sich ein Blutgefäß, das dem Knorpelstab anliegt und zwar auf der Palmarseite. Für den von *Dixey* hypothetisch ausgesprochenen Satz, daß die distale Spitze der Phalange morphologisch der

¹ *Kremer, J.*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. 9, 99—233.

Diese Arbeit wurde mir bekannt während des Druckes, in ihr wird festgestellt, daß der Abbau der larvalen Gewebe ohne Mitwirkung von Leukocyten stattfindet; er geht unter Auflockerung und Aufquellung der Gewebe und durch Zerfall der Kerne vor sich. Diese Feststellung wird also durch meine Untersuchung erhärtet, wenn auch *Kremer* dies bei Anurenlarven feststellte.

Diaphysenmitte der anderen kurzen wie auch Röhrenknochen gleicht, spricht der von mir erhobene Befund, denn der Punkt der stärksten Verknöcherung ist tatsächlich die Mitte des ursprünglichen langen Knorpelstabes.

Das Ergebnis läuft also darauf hinaus, daß die Zehen absolut kürzer werden auf Kosten dieses überstehenden Knorpelstabes. Das Dickerwerden der Zehen erfolgt durch Zunahme der Muskulatur, Stärkerwerden des Bindegewebes und der Epidermis. — Bei der Regeneration eines in der Metamorphose abgetrennten Beines kommt es ebenso wie bei der vollmetamorphosierten Landform nicht mehr zur Ausbildung dieses überstehenden Knorpelstabes. Ein Knorpelkegel, der die Fortsetzung des diaphysären Knorpels bildet, tritt wohl auf, aber nicht in der extremen Form, wie wir dies bei der Larvenzehe finden. Das Regenerat des *Tr. taeniatus* wie auch des *Tr. alpestris* besitzt ebenfalls diesen Knorpel, aber auch in schwächerem Maße. So ist die bei der Regeneration vor sich gehende Entwicklung also keineswegs eine vollständige Wiederholung der ontogenetischen Entwicklung, wie *Fritsch* meinte. Es wird vielmehr das Entwicklungsstadium der anderen Beine angestrebt.

Der Aufbau der kurzen Knochen der hypophysektomierten Larven.

Die mir zur Verfügung stehenden operierten Tiere (30 Exemplare) besitzen im Durchschnitt eine Größe von 60—70 mm, so daß man wohl sagen kann, daß sie, obwohl Larven, fast die maximale Größe der Art erreicht haben. Mithin ist es nicht verwunderlich, wenn man an ihren *Metacarpalia* und *-tarsalia* schon eine Knochenschale findet, die zuweilen sogar stärker ist als die der ausgewachsenen Landtiere. Das die Knochenschale umgebende periostale Gewebe hat die gewöhnliche cellulläre Zusammensetzung. Wie schon *Wurmbach* erwähnt, ist bei Molchen von einer dicht gelagerten Osteoblastenschicht, von einer Fibroelastica und gar einer Adventitia nichts zu bemerken. Die Osteoblasten liegen verstreut auf der Oberfläche des Knochens. Das Protoplasma ist bei den von ihm angewandten Methoden (*Zenker-Eisessig*, *Flemmingsche* Lösung) schlecht zu erkennen. Dieser Feststellung kann ich mich völlig anschließen. Das Protoplasma ist nie so deutlich, wie es von mir bei der gleichen Fixierung an Kaninchenknochen gefunden wurde. Es erstreckt sich in der Längsrichtung der Periostfaser, der es fest anliegt, und in die es schließlich überzugehen scheint. Keine Belege habe ich gefunden für die Angabe von *Lubosch*, der die erste Entstehung des Knochengewebes bei *Rana* untersuchte und zu folgendem Ergebnis in bezug auf die Osteoblasten kam: die junge Knochengrundsubstanz sei metamorphosiertes Zellplasma des freien Endes der Osteoblasten, diese blieben also mit der Grundsubstanz in kontinuierlichem Zusammenhang.

Der bisher geschilderte Befund ist grundsätzlich der gleiche wie am nichtoperierten Tier. Wendet man sich dagegen der enchondralen

Verknöcherung zu, so kann man eine wesentliche Verschiedenheit feststellen. Diese Verknöcherung beginnt beim normalen Tier erst während oder nach der Metamorphose, und zwar so, daß der Eintritt der Blutgefäße durch die Knochenschale an der Stelle erfolgt, wo zuerst Knochensubstanz gebildet worden ist, oder wo der Knorpel zuerst verkalkt ist. *Wurm-bach* ist der Auffassung, daß die Degenerationserscheinungen des Knorpels, zu denen auch die Verkalkung gehört, die Ursache für seine Auflösung

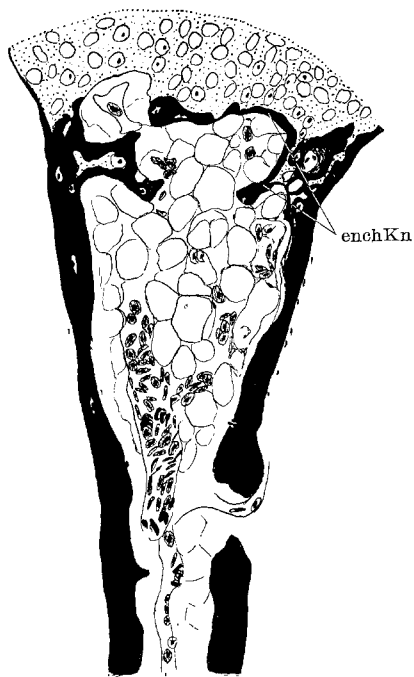


Abb. 2. *Tr. taeniatus*; normaler Molch von 10 cm Länge. 3. Zehe Metatarsale. Proximale Hälfte der Diaphyse mit dem Eintritt des Blutgefäßes. Einheitlicher Markraum mit Fettgewebe. 190fach red. auf $\frac{1}{2}$.

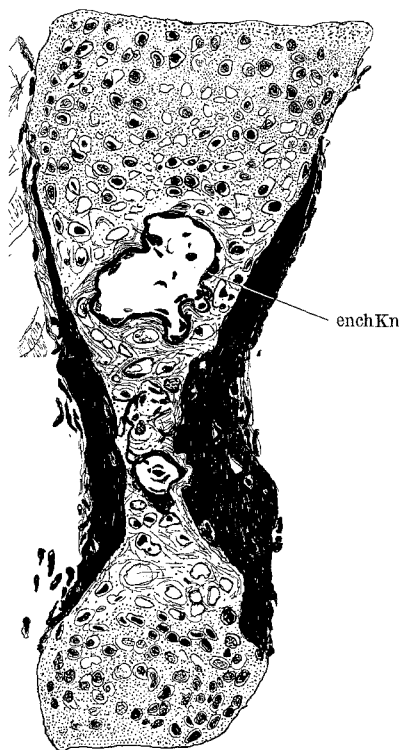


Abb. 3. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve. 3. Zehe Metacarpale. Auffällig ist die starke Knochenschale und die beiden Markhöhlen. 330fach red. auf $\frac{1}{10}$.

wie auch für das Eindringen der Blutgefäße sein dürften. Diese Ansicht wird auch von anderen Forschern vertreten, von denen ich noch *Hintzsche* und, bei diesem erwähnt, *Eckert-Möbius* anführen möchte. Nach letzterem ist die Anhäufung von Stoffwechsel- oder Zerfallsprodukten die Ursache für das Einwachsen der Gefäße, die Richtung, welche die Gefäße nehmen, ist durch chemotaktische Reize bedingt, die von dieser Knorpelzone ausgehen. — Bei den hypophysenlosen Tieren tritt nun, obwohl sie noch Larven sind, die enchonrdale Verknöcherung schon ein, aber die Gefäße nehmen nicht die Diaphysenmitte wie üblich als Durchbruchsstelle,

sondern sie dringen an den Stellen ein, wo die Epiphysen in die Diaphyse übergehen. So treten von den beiden Enden her 2 Hohlräume in der Diaphyse auf, anstatt wie normal, einer in der Diaphysenmitte (Abb. 2 und 3). Auch verschmelzen innerhalb der Diaphyse diese beiden Höhlen selten oder nie miteinander, sondern bestehen getrennt fort: Indem die Höhlen sehr bald mit enchondralem Knochen ausgekleidet werden, oder vielleicht auch die lösende Fähigkeit der Blutgefäße und des mit einwachsenden Bindegewebes zu gering ist, wird dem weiteren Abbau des Knorpels Einhalt geboten. — Riesenzellen treten bei der Einwanderung der Blutgefäße nicht auf, es sind lediglich bindegewebige Zellen von Mesenchymcharakter, die in Verbindung mit einer Blutgefäßschlinge den Knochen zum Schwinden bringen und in den Knorpel eindringen.

Diese Erscheinung, daß die Blutgefäße nahe den beiden Diaphysenden in diese eindringen, trifft auch für die *Phalangen* zu. Gelegentlich kommt es zwar auch vor, daß der Durchbohrungspunkt in der Diaphysenmitte liegt, aber es ist weit seltener.

Im Gegensatz zu der verfrüht einsetzenden — die hypophysektomierten Tiere sind ja noch Larven — enchondralen Verknöcherung bewahrt der Epiphysenknorpel dieser Tiere seinen infantilen Charakter. Wie schon häufig in der Literatur erwähnt, besitzen die Urodelen eine nie verkalkende Epiphyse. An dem Übergang der Epi- in die Diaphyse liegt in den Röhrenknochen die sog. Säulenknorpelzone, die besonders bei den höheren Wirbeltieren stark ausgeprägt ist. Die kurzen Knochen zeigen diese Reihenbildung der Knorpelzellen nur am proximalen Ende, wie schon *Dixey* feststellte. Bei dem normalen Teichmolch tritt nun diese Säulenzone ebenso wie die enchondrale Verknöcherung erst nach der Metamorphose auf. Bei den hypophysektomierten Larven bleibt diese Säulenknorpelbildung aus, obwohl, wie wir gesehen haben, die enchondrale Verknöcherung eintritt, die bei normalen Larven noch fehlt.

Makroskopische Veränderungen an den Extremitäten der erkrankten Tiere.

Das makroskopische Bild der Beine hypophysektomierter Larven ist zunächst das gleiche, wie es uns bei den normalen Larven entgegentritt. Die Zahl der Phalangen ist normal bis auf die erste Zehe am Vorderbein, wo immer nur eine (statt normal zwei) festgestellt werden kann. Die Endphalange aller Zehen trägt, wie oben für normale Tiere beschrieben, jene Knorpelkappe, die bei der Metamorphose verschwindet.

Bei den Tieren nun, die Phalangenverluste erleiden, wird zunächst das distale Ende der Zehen schmaler. Die Epidermis löst sich unter nekrotischen Erscheinungen ab. Der Knochen, der sich bereits um den Knorpelstab gebildet hatte, zeigt bei makroskopischer Betrachtung im durchfallenden Licht nicht mehr die Struktur, die er hatte, wie man leicht durch Vergleiche mit den proximalwärts folgenden Phalangen feststellen kann, bei denen der Prozeß noch nicht eingesetzt hat. Man kann

nicht mehr mit Bestimmtheit sagen, ob es sich um Knochen oder um weniger gut durchscheinenden Knorpel handelt. Erschwert wird die Durchsicht übrigens durch den sich bildenden „braunen Belag“ (tote *Leydig'sche Zellen* nach *Seeger*). Die Zehen nähern sich der Kegelform, und schließlich kommt es zu Phalangenverlusten¹. Während dieser Zeit ist die Durchblutung der Zehen normal oder sogar besser als gewöhnlich. — Das Tier scheint von dem Verschwinden seiner Zehen wenig Notiz zu nehmen, nur bei starken Phalangenverlusten läßt die Lebendigkeit des Tieres nach. — Dies ist das Verhalten beim Teichmolch. Beim *Tr. alpestris* führt die Krankheit nicht sehr lange nach ihrem Auftreten zum Tode. Die Tiere dieser Art sitzen still herum, verweigern die Nahrungsaufnahme und bewegen sich schwerfällig und widerwillig. Ein richtiger Phalangenverlust ist bei dieser Art übrigens bisher nicht festgestellt worden. Wie unten näher beschrieben, bleiben die Diaphysen erhalten, nur die Epiphysen zeigen krankhafte Veränderungen. Das Tier ist schlapp, seine Zehen sind völlig verbogen, es ist nicht mehr in der Lage, sie auszuspreizen; aber sie behalten bis zum nahen Tode ihre ursprüngliche Länge, nicht aber ihre Form (Abb. 8a). Es sei darauf hingewiesen, daß ganz allgemein, auch bei normaler Zucht *Tr. alpestris* als die hinfälligere Form bekannt ist.

Die histologischen Befunde an den Stummelbeinen.

a) *Bei Tr. taeniatus*. Das histologische Bild der erkrankten Beine ist recht eigenartig. Die Metacarpalia (-tarsalia) sind meist noch normal (im Sinne hypophysektomierter Larven), d. h. sie haben eine proximale und eine distale Epiphyse, und beide sind wenigstens an einigen Stellen mit der knöchernen Diaphyse verbunden, auch hat die enchondrale Verknöcherung durch Einwanderung zweier Blutgefäße schon eingesetzt. Der Aufbau ihrer Knochensubstanz ist völlig normal, es ist der typische Faserknochen der Amphibien, wie er von *Weidenreich* und *Lubosch* beschrieben wird. Auf die Metacarpalia folgt dann noch eine Phalange,

¹ Diese Darstellung basiert im wesentlichen auf dem Vergleich von Tieren, bei welchen das Krankheitsbild verschieden weit vorgeschritten war. Die Veränderung selbst bei ein und demselben Tier zeitlich hintereinander zu verfolgen wird erschwert — wie oben gesagt — durch die Ausbildung des Belags, der die Durchsicht mehr oder minder unmöglich macht. — Nur bei dem Tier 8, 23 hatte ich Gelegenheit, den fortschreitenden Verlust der Phalangen vor der Implantation genauer makroskopisch zu verfolgen. Am 18. 6. waren die Knochen noch gut zu erkennen. Am 22. 6. waren sie nur noch an wenigen Phalangen erkennbar. Vom 6. 7. verschwanden diese Reste immer mehr, so daß man am 20. 7. keine bestimmten Einzelheiten mehr erkennen konnte, die Zehen wurden dementsprechend kürzer. Infolge starker Durchblutung am 23. 7. blieben die Zehen in ihrer Länge konstant bis zum 29. 7. Mit dieser Durchblutung steht anscheinend ein Regenerationsprozeß im Zusammenhang, der jedoch am 4. 8. schon wieder im Abklingen war, was aus der Chondrolyse des jungen Knorpels und aus dem „trockenen“ Blastem (s. weiter unten S. 592) hervorgeht.

deren knöcherne Diaphyse häufig schon Defekte aufweist, so daß die Verbindung zwischen Diaphyse und distaler Epiphyse gelöst ist. Dieser Phalange sitzen dann bestenfalls noch eine zweite und im Höchstfalle Reste einer dritten auf. An jener sind die Krankheitssymptome schon weiter fortgeschritten. Die distale Epiphyse befindet sich in einer völlig abnormen Lage zur Diaphyse, soweit man hier überhaupt noch von einer Diaphyse sprechen kann. Häufig ist diese verschwunden, und nur die Epiphysen zeugen noch von einer früheren zweiten Phalange. Den distalen Abschluß einer solchen kranken Zehe bildet immer ein Haufen von Zellen, die regellos durcheinanderliegen. Zwischen diesen Zellen breitet sich ein mehr oder weniger feines Netz von Bindegewebsfasern aus, das nur bei genauer Untersuchung den Beweis für seine Herkunft zuläßt. — Von einer Hyperämie oder einer starken serösen Durchtränkung des Gewebes kann man nicht sprechen. Die Blutgefäße sind jetzt kaum mehr gefüllt als die der nichterkrankten Tiere. Die zellige Zusammensetzung dieses Gewebes ist im allgemeinen nicht abnorm, wenn man von den oben angeführten Zellhaufen absieht, die nicht hämatogenen Ursprungs sind. Es finden sich im Gewebe eine geringe Anzahl Leukocyten (polymorphkernige), Lymphocyten und deren Derivate, Polyblasten, ruhende Wanderzellen; weiterhin Mesenchymzellen und ausgebildete Fibrocyten. Auch Pericyten sind vorhanden, die rings um die Blutgefäße liegen und wohl zu den ruhenden Mesenchymzellen (*Maximow*) gerechnet werden können. Ihre Form ähnelt, wie auch *Maximow* angibt, andererseits stark den ruhenden Wanderzellen, die ja nach *Maximow* sowohl eine hämatogene wie histiogene Entstehung haben können. Daß Mastzellen und kontrahierte Pigmentzellen auch hier vorkommen, ist selbstverständlich, doch sind sie nicht charakteristisch für den cellulären Aufbau dieses Gewebes.

Oben wurde festgestellt, daß bei den nichterkrankten hypophysektomierten Larven der die enchondrale Verknöcherung einleitende Durchbruch der Blutgefäße nicht in der Diaphysenmitte vor sich geht, sondern daß zwei Durchbohrungspunkte, der eine proximal, der andere distal von der Mitte auftreten; ferner daß in der proximalen Epiphyse keine Säulenknorpelzone gebildet wird, sowie daß der Aufbau der Gewebe — Knorpel, Knochen, Periost und Bindegewebe — normal ist. Es wird sich im folgenden zeigen, daß bei den Phalangen der stummelfüßigen Tiere die enchondrale Verknöcherung meist unterblieben ist, im Gegensatz zu den Metacarpalia (-tarsalia). — Da die Erkrankung am distalen Ende der Extremität beginnt, empfiehlt es sich, mit dem noch am meisten normal gebliebenen Element, dem Metacarpus (-tarsus) zu beginnen. Als Beispiel möchte ich zunächst das von *Klatt* erwähnte Tier Mop 1 wählen (Photos der Extremitäten, s. *Klatt* 1931), weil es im Anfangsstadium der Krankheit sich befand, als ihm am 10. 4. 30 das linke Vorderbein abgeschnitten wurde. Die Metacarpalia dieses Beines (Abb. 4a) zeigen

im großen und ganzen das Bild, wie es bei nichterkrankten hypophys-ektomierten Tieren das normale ist. An dem Metacarpus der ersten Zehe ist noch kein Blutgefäß eingewandert. Etwas proximalwärts der Diaphysenmitte ist die Knochenschale von einem Osteoclasten durchnagt, der die Knorpelzellhöhlen zu eröffnen beginnt. Am Metacarpus der 4. Zehe ist es bereits zwei Blutgefäßen gelungen, die Diaphyse zu durchbrechen, natürlich an den anormalen Stellen, und ähnlich liegen die Verhältnisse an den größeren Metacarpalia der zweiten und dritten Zehe. — In der Gegend der beiden distalen Epiphysen dieser beiden Metacarpalia findet sich jedoch ein wichtiges neues Symptom. Am Rande der Knorpelwucherungsschicht zieht sich zwischen dieser und der Verkalkungszone eine feine Grenzlinie quer durch das Innere des Knochens, die erst bei

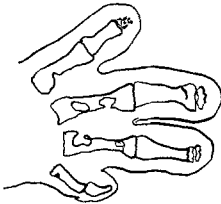


Abb. 4a. *Tr. taeniatatus*. Hypophysektomierte Larve Mop 1. Übersichts- und histologisches Bild des linken Vorderbeines. Markräume nach histologischen Bildern eingezeichnet. 20fach red. auf $\frac{2}{3}$.

eingehender Betrachtung der Schnitte auffällt. Etwas proximalwärts ist ringförmig um die Diaphyse herum die Knochensubstanz geschwunden, und es springt eine Furche in den Knorpel hinein vor. Zwischen den etwas abgehobenen Periostfasern und dem Knorpel liegt eine Riesenzelle von etwa 23μ Länge, die anscheinend diese Furche ausgefressen hat. Die Knorpelkerne längs der Grenzlinie sind sehr stark basophil, sonst ist die Beschaffenheit des Knorpels normal. — Eine etwas weitere

Entwicklung der Erkrankung finden wir an der ersten Phalange der 4. Zehe: Hier hat sich die distale Epiphyse von der Diaphyse losgelöst. Die Durchtrennung erfolgte längs der schon erwähnten Linie am Übergang des unverkalkten in den verkalkten Knorpel (Abb. 4b). Das Periost ist aufgequollen und hat seine ursprüngliche Faserstruktur aufgegeben. Zellen sind zu Riesenzellen (s. weiter unten S. 583) zusammengefloßen. Neben diesen stark basophilen Riesenzellen, die 5 bis 6 Kerne aufweisen, liegen noch in dichter Nachbarschaft Zellen von Mesenchymcharakter, die zu wandern scheinen. Dichter dem Knochen anliegend finden sich ein- und zweikernige Zellen, deren Plasma stark dem der Riesenzellen ähnelt. Die genannte Grenzlinie zwischen Diaphyse und Epiphyse ist hier durch stärkere Blaufärbung leichter sichtbar als an den Metacarpalia. Diese Erscheinung wird erklärt durch die Tatsache, daß sich hier die Knorpelsubstanz herauszulösen beginnt und dadurch die eingelagert gewesenen Bindegewebsfibrillen frei werden, die sich mit Azan stets stark blau färben. Unmittelbar vor und hinter dieser stark nekrotischen Knorpelschicht liegen pyknotische Kerne, die infolge der stattgehabten Knorpelnekrose degenerierten. Weiter distalwärts sind die Knorpelzellen durchaus gesund, wie die Zellkerne und die normale Färbbarkeit der Knorpelsubstanz anzeigen. — Auch die proximale Epiphyse zeigt Krankheitssymptome. An ihr können wir bereits erkennen,

daß sich hier bald die gleichen Vorgänge wie an der distalen Epiphyse abspielen werden; denn sie zeigt schon die Grenzlinie längs der Verkalkungszone, welche die folgende Epiphysenlösung vorbereitet. — An den ersten Phalangen der 2. und 3. Zehe hat die Auflösung der Phalange in ihre drei Bestandteile und weiter deren Auflösung nun noch

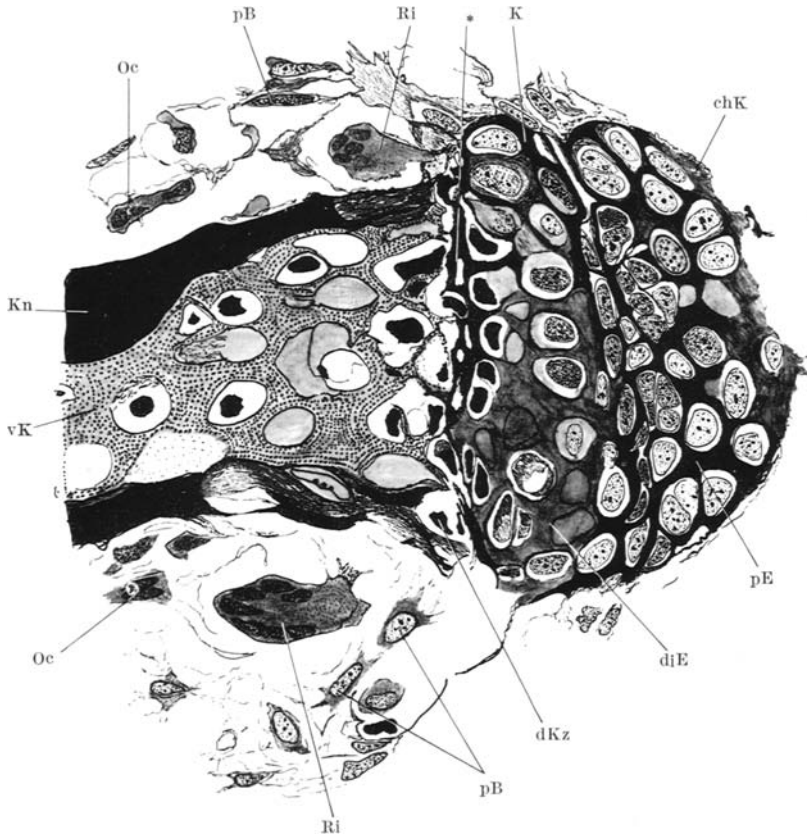


Abb. 4b. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve Mop 1. 4. Zehe distales Ende der 1. Phalange und proximale Epiphyse der 2. Phalange. Die distale Epiphyse hat sich abgelöst. * Die Grenzlinie. 800fach red. auf $\frac{1}{10}$.

stärkere Fortschritte gemacht. Die proximale Epiphyse hat sich fast selbständig gemacht. Zwischen ihr und der Diaphyse klafft ein breiter Spalt, in dem hier und da degenerierende Knorpelzellen liegen. Teilweise ist auch an diesem Ende die Knochenschale den Riesenzellen zum Opfer gefallen. Das distale Diaphysenende (Abb. 4c) bietet uns das gleiche Bild, aber es kommt noch hinzu, daß die Epiphyse seitwärts an der Diaphyse herabzurutschen beginnt. In dem ausgezackten Ende der Diaphyse liegen pyknotische Kerne, die Knochensubstanz fehlt zum

großen Teil schon. Mehrkernige Zellen vom Typus der Osteoclasten liegen dem Knochen an. Der Knorpel der herabrutschenden Epiphyse ist stark blau gefärbt; in der fast verschwundenen Grundsubstanz treten die Fasern deutlich hervor, die sich zu Bündeln zusammenlagern. Nach dem distalen Rande der Epiphyse zu nimmt die Färbbarkeit ab, die Faserstränge lösen sich hier in ein feines Netzwerk auf, in dessen Maschen

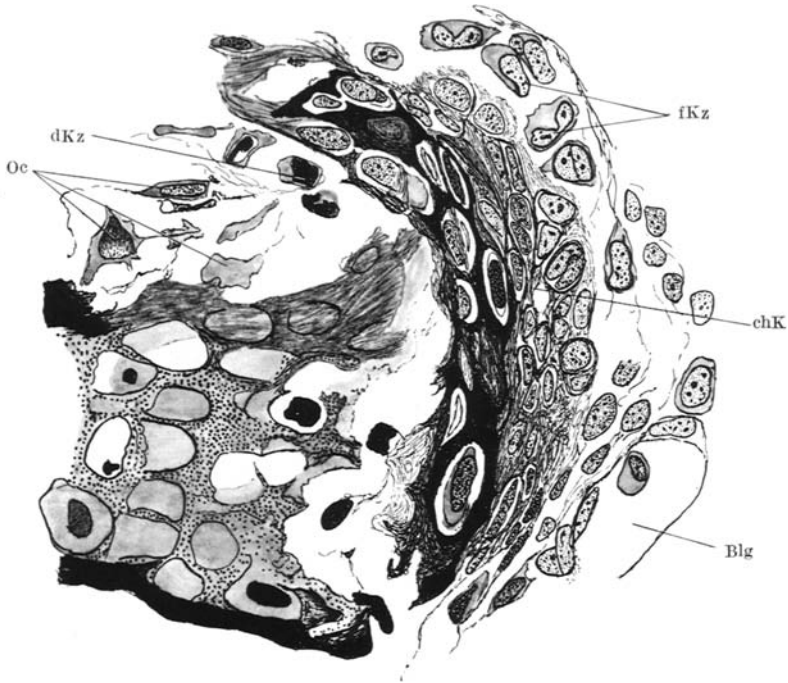


Abb. 4 c. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve Mop 1. 2. Zehe 1. Phalange distale Epiphyse. Die Epiphyse zergeht chondrolytisch, die Knochenschale ist schon zum Teil verschwunden. 800fach red. auf $\frac{1}{10}$.

die Knorpelzellen liegen. Die Kerne der Zellen nehmen an Färbbarkeit ab, sie treten schließlich aus dem Gewebe heraus und haben dann eine große Ähnlichkeit mit Mesenchymzellen. — Diesen Phalangenstümpfen der 2., 3. und 4. Zehe sitzen schließlich noch die zweiten Phalangen auf. Von ihnen ist nur noch wenig erhalten, nämlich die proximale Epiphyse und ein distalwärts vorgelagerter Zellhaufen, in dem sich geringe Knorpelreste finden (Abb. 4d). Die Epiphyse stellt sich uns als eine sehr stark blau gefärbte Knorpelmasse dar, die (außer proximalwärts) nach allen Seiten ausgefranst ist. In der Masse eingebettet sind Knorpelzellen, die an den Rändern auswandern. Sie zeigen keinerlei Degenerationserscheinungen und liegen später als stark fibrocytenähnliche Zellen im Gewebe verstreut. Wabenartige, mit Zellen angefüllte

Buchten in den Knorpelresten des vorgelagerten Zellhaufens machen es sehr wahrscheinlich, daß es sich bei ihm um die kümmerlichen Reste der an dieser Phalange nur rein knorpelig gewesenen Diaphyse handelt, die der Chondrolyse verfallen ist, und deren Zellen sich wieder rückdifferenziert haben und embryonalen Zellen gleichen.

Alle Angaben, die ich über Knorpelabbau gelesen habe, sagen aus (außer *Böhmel*), daß der Knorpel durch aktive Beteiligung von Zellen

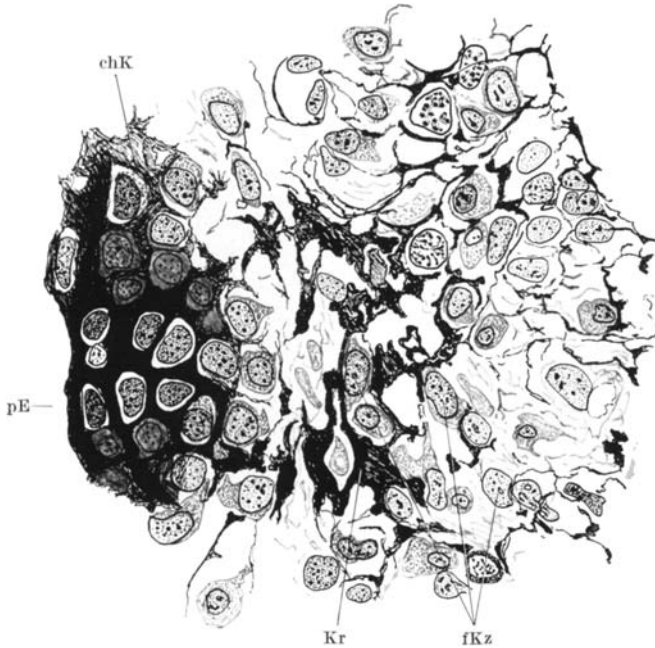


Abb. 4 d. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve Mop 1. 4. Zehe 2. Phalange. Proximale Epiphyse und Reste der knorpeligen Diaphyse. 850fach red. auf $\frac{6}{10}$.

resorbiert wird, dies trifft für verkalkten Knorpel zu; hier in diesem Falle, bei der *nichtverkalkten* Knorpelgrundsubstanz, handelt es sich wie bei der Auflösung des Knorpelfadens während der normalen Metamorphose um eine reine Chondrolyse, welche die kollagenen Fasern stärker hervortreten läßt, bis sie schließlich freigelegt werden. Bei dieser Chondrolyse habe ich mit seltenen Ausnahmen keine degenerierenden Knorpelzellen gefunden, lediglich in der Durchtrennungszone traten bei der Epiphysenlösung degenerierende Kerne auf, die anfangs pyknotisch werden und dann der Karyorrhexis verfallen. Es liegt nahe, diese Chondrolyse und ihre Erscheinungen mit den Ergebnissen der Gewebezüchtung in Beziehung zu setzen, wo man ja nach *A. Fischer* ganz ähnliche Bilder erzielt. *Fischer* spricht von einer Dedifferentiation der Knorpelzellen.

Leider wurde das Tier Mop 1 zu den *Klattschen* Implantationsversuchen (1931) mit herangezogen, so daß für das Studium der Krankheit

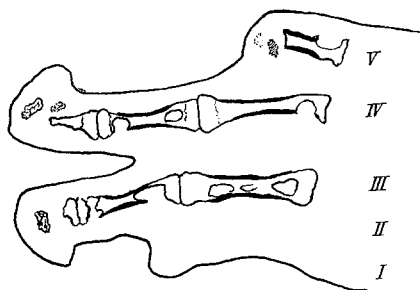


Abb. 5a. *Tr. taeniatatus*. Hypophysektomierte Larve 4, 21, rechtes Hinterbein. Übersichtsbild. Markräume nach histologischen Bildern eingezeichnet. 20fach red. auf $\frac{2}{3}$.

nur das vor der Implantation abgeschnittene Bein zur Verfügung stand. Es besteht jedoch kein Mangel an Tieren, bei denen man den Fortgang der Krankheit beobachten kann. Nachdem die distale Epiphyse sich völlig von der Diaphyse abgelöst hat, treten an dem Knochen viele Riesenzellen auf (Abb. 5a, b). Sie drängen sich zwischen Epiphyse und Diaphyse und beginnen von hier ihr Zerstörungswerk. Es gelingt ihnen schließlich auch, die Knochenschale

aufzufressen, so daß z. B. eine Phalange nur noch aus einem Knorpelkegel besteht, der distal zugespitzt ist und an allen Seiten von großen

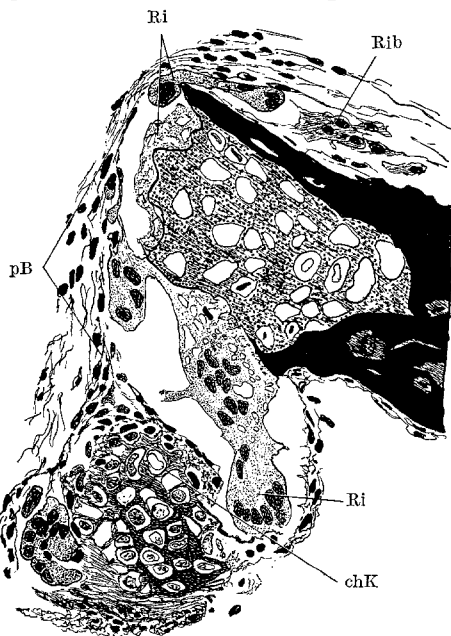


Abb. 5b. *Tr. taeniatatus*. Hypophysektomierte Larve 4, 21, rechtes Hinterbein. Metatarsus der 5. Zehe. Riesenzelle innerhalb periostaler Fasern zwischen distaler Epiphyse und Diaphyse. 330fach red. auf $\frac{2}{3}$.

Riesenzellen umlagert wird. Die Auflösung der abgetrennten Epiphyse ist auch fortgeschritten, so daß man von ihr nur noch ein zartmaschiges Faserwerk nachweisen kann. Die proximale Epiphyse, welcher der Knorpelkegel aufsitzt, trennt sich gerade von diesem Diaphysenrest, denn man findet hier die feine Grenzlinie, die ja das erste Anzeichen der Epiphysenlösung ist. Im Bereiche der Zerstörungzone liegen (Abb. 5c) polymorphkernige Leukocyten verstreut, die für die Beseitigung der Zerfallsprodukte sorgen. Der großen Schar der Riesenzellen gelingt es schließlich, die verkalkten Knorpelreste der Diaphyse völlig aufzufressen, so daß nur noch die Epiphyse

übrig bleibt, die dann ihrerseits der Chondrolyse verfällt. Man erhält dann Bilder wie folgendes: Große, runde Kerne mit fein verteiltem Chromatin

werden von Bindegewebsfasern eingeschlossen und zeigen somit an, daß sie ehemals einer Epiphyse angehörten. Diesem Zellhaufen sind dann die Riesenzellen vorgelagert, die meist schon zu einem Zellkomplex verschmolzen sind. In einem Falle fand ich zwischen diesen Riesenzellen ein Knochenstückchen, an dem noch verkalkter Knorpel hing. Mit zarten plasmatischen Pseudopodien treten die Riesenzellen an dieses Relikt heran, wie es ja von anderen Forschern ebenfalls beschrieben worden ist. Phagocytär eingeschlossene Knochenstückchen habe ich in den Riesenzellen nie gefunden.

Es stellt sich also heraus, daß die Knochenschale wie auch der verkalkte Knorpel von den massenhaft auftretenden Riesenzellen aufgezehrt werden, daß der nichtverkalkte Knorpel dagegen der Chondrolyse verfällt. Doch ist letzteres nicht bei allen erkrankten Tieren der Fall: so weist 8,23 an seinem linken Vorderbein z. B. sämtliche Epiphysen auf, die an einem normalen Vorderbein auftreten, während die Diaphysen bis auf die der Metacarpalia und die Reste der 1. Phalangendiaphyse verschwunden sind. Trotzdem erscheint das Bein verklumpt, weil nämlich die Epiphysen zusammengedrückt sind, nur einen kleinen Zwischenraum lassend, der von fibrocytenähnlichen Zellen (aus den Epiphysenrändern ausgetretene Knorpelzellen) ausgefüllt ist. Daß auch hier die

Diaphysen auf die gleiche Art verschwinden, mag die Photographie zeigen (Abb. 6). Man erkennt deutlich die distale Epiphyse der 1. Phalange mit der daransitzenden Diaphyse. Diese besitzt keinen Knochen mehr und ist von jener durch den nekrotischen Knorpelsaum getrennt. Wenn dieser hier gebogen erscheint — nicht als eine gerade Linie quer durch den Knochen wie oben beschrieben —, so kommt das wohl daher, daß infolge des Verlustes der Knochenschale der härtere verkalkte Knorpel in den weichen Epiphysenknorpel hineingepreßt wird, der sich an der Druckstelle einbeult. Der Diaphyse sind seitlich Riesenzellen angelagert, die, nachdem sie den Knochen aufgefressen haben, den verkalkten Knorpel annagen. Von der periostalen Faserschicht sind — wie überhaupt für alle Krankheitsbefunde zu erwähnen ist, bei denen es bereits zur massenhaften Riesenzellenbildung gekommen ist — nur noch zarte Fasern übrig, aber nicht die Zellen. Wo diese Zellen bleiben, ist eine wichtige Frage, die ich in einem späteren Kapitel beantworten werde.

Der Krankheitsprozeß beschränkt sich nicht immer auf die Phalangen, sondern er kann sehr wohl auf die Metacarpalia übergreifen, indem

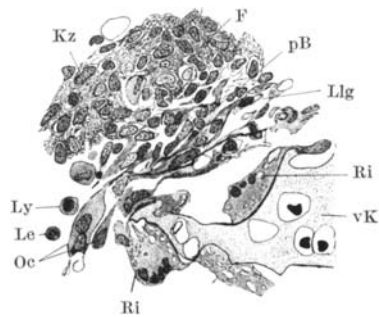


Abb. 5 c. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve 4, 21, rechtes Hinterbein. 2. Phalange der 4. Zehe. Distale Spitze der Phalange und die Reste der distalen Epiphyse. 800fach red. auf $\frac{2}{3}$.

hier der Prozeß mit den gleichen Symptomen beginnt. Der Abbau geht bei manchen Tieren soweit, daß von den Zehenknochen weder Knorpel

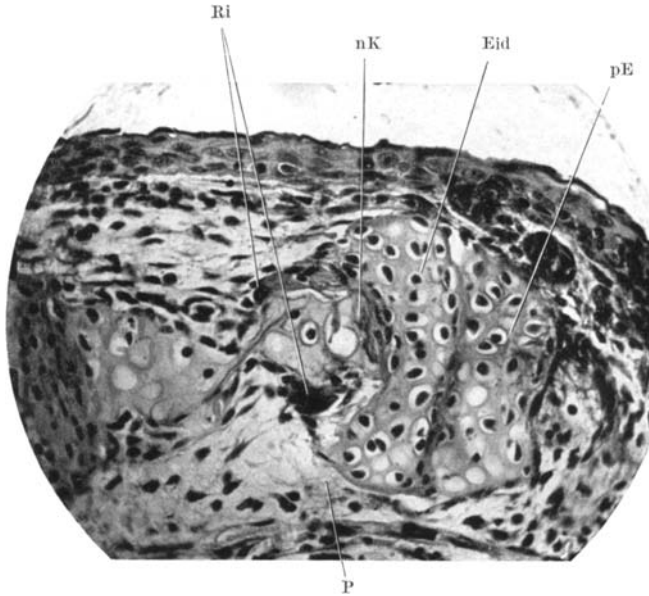


Abb. 6. *Tr. taeniatum*. Hypophysektomierte Larve 8, 23 linkes Vorderbein. 3. Zehe 1. Phalange. Diaphysenrest und distale Epiphyse, proximale Epiphyse der 2. Phalange. (Photo.) 210fach red. auf $\frac{1}{1}$.

noch Knochen vorhanden ist, und die distalen Epiphysen der Metacarpalia schon der Chondrolyse verfallen, und der Knochen von Riesenzellen zerfressen ist. Soweit auch die Krankheit geht, immer treten die gleichen Symptome auf.

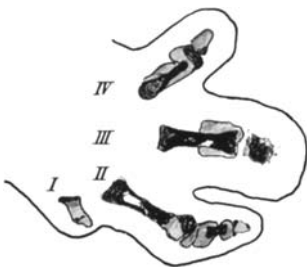


Abb. 7a. *Tr. taeniatum*. Hypophysektomierte Larve 5, 13 linkes Vorderbein. Übersichtsbild, Einzelheiten nach histologischen Bildern eingezeichnet, 20fach red. auf $\frac{2}{3}$.

Nur in einem Falle (Abb. 7a) habe ich Abweichungen von der Norm angetroffen. Makroskopisch betrachtet fallen die stark verklumpten Beine auf, die auf einen starken Phalangenverlust schließen lassen. Bei der histologischen Untersuchung stellte sich heraus, daß der Phalangenverlust gar nicht so erheblich ist, sondern daß zum Teil durch die verdickte Epidermis dieser Anschein erweckt wird. Die Phalangen sind fast in ihrer normalen Zahl vorhanden, nur ist ihr

Aufbau anormal; denn ihre Epiphysen sind chondrolytisch zergangen. Von ihnen findet man zwischen den ausgezackten Diaphysen nur noch geringe Reste. Die Diaphysen zeigen im Vergleich zu anderen Tieren

eine überaus starke Knochenschale und selten Markräume, die aber immer mit Knochensäumen ausgekleidet sind. Diese Tatsache trifft auch für die Unterarmknochen zu. Das Bild solcher Knochen wäre vergleichbar dem „Marmorknochen“ der menschlichen Pathologie (*Schulze*). — Es tritt bei dieser Krankheit auf Grund träger Osteoclastentätigkeit ein Abbaustillstand ein, während die Osteoblasten in der üblichen Art anbauen. So kommt es zu den starken Verknöcherungen, die bei den röntgenologischen Untersuchungen auffallen. Bei Beachtung der *Sick*-, *Lorey*- und *Laurell*

*Wallgrens*chen Untersuchungen kommt man

mit diesen Forschern zu dem Ergebnis, daß es sich hier um eine Kalkstoffwechselstörung handelt, hervorgerufen durch eine pluriglanduläre Erkrankung der endokrinen Drüsen. — Auffälligerweise kann man bei dem hier besprochenen Tier an den Zehen neuen Knorpel feststellen

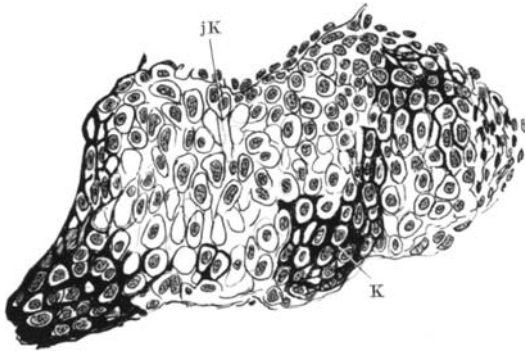


Abb. 7 b. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve 5, 13 linkes Vorderbein. 1. Zehe Metacarpale 330fach red. auf $\frac{2}{3}$.

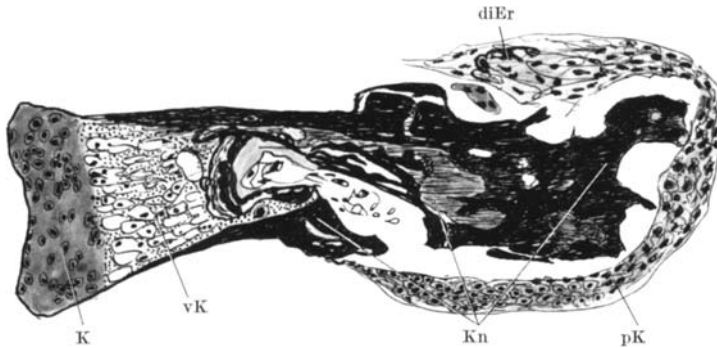


Abb. 7 c. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve 5, 13 linkes Vorderbein. 3. Zehe Metacarpale „Marmorknochen“ mit periostalem Knorpel. 190fach red. auf $\frac{2}{3}$.

(Abb. 7b). Am Metacarpus der 2. Zehe finden sich sogar weitere Anzeichen, die auf eine schon vorhergegangene Regenerationswelle schließen lassen, denn zwischen dem distalen Diaphysenende und der dazu gehörigen Epiphyse erstreckt sich eine beide verbindende Knorpelmasse, die in der Färbung leicht von dem interdiaphysären Knorpel wie auch vom epiphysären Knorpel zu unterscheiden ist, aber doch bereits verkalkt ist. Die jüngere Regenerationswelle hat sogar die periostalen Zellen zur Knorpelbildung gebracht (Abb. 7c), so zeigt sich auf den

epiphysenlosen Diaphysen eine schmale Knorpelhaube, während die endständigen Knorpelhaufen sich wieder zu Knorpelzellen rückdifferenzieren haben. Zur Zeit der Amputation beginnt der neue Knorpel sich schon wieder chondrolytisch aufzulösen. Dieser einzigartige Befund erklärt sich wohl daraus, daß bei diesem Tier, als ich es zur Beobachtung bekam, die Phalangenverluste bereits 22 Monate hindurch bestanden hatten, während alle anderen untersucht wurden, einige Wochen bis wenige Monate nach dem Auftreten der ersten Symptome. Auf die Tatsache, daß die Diaphysen nicht dem Abbau erlegen sind, werde ich beim Kapitel über die Riesenzellen eingehen.

b) *Tr. alpestris*. Wie oben erwähnt, unterscheiden sich die bei *Tr. alpestris* auftretenden Veränderungen von denen beim Teichmolch.

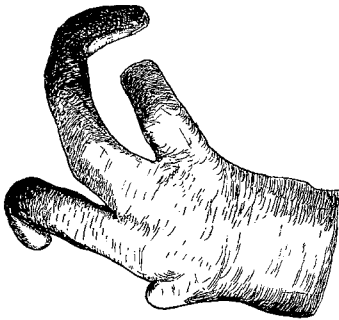


Abb. 8a. *Triturus alpestris*, erkrankte Beine. Rechtes Vorderbein von 34, 13. 20fach red. auf $\frac{2}{3}$.

Während beim Teichmolch die Diaphysen der Phalangen von Riesenzellen haufenweise umlagert werden und so der eigentliche Phalangenschwund zustande kommt, kann man bei *Tr. alpestris* keine Riesenzellen und demgemäß keine Veränderungen an den Diaphysen feststellen. Die Krankheit, die auch hier die distalen Teile früher als die proximaleren befällt, äußert sich nur in einer Epiphysenerweichung. Die ersten Symptome, wie man sie an den Metacarpalia beobachten kann, bestehen darin, daß an der Grenzlinie von Epi- und Diaphyse der Knorpel

sich stärker färbt. Es scheint so, als wolle sich die gleiche Chondrolyse, die weiter oben beschrieben wurde, entwickeln. Die Kollagenfasern erscheinen in der Grundsubstanz bei der Chromotrop 2 R-Färbung dunkelrot bis braun, wie das auch bei entsprechender Färbung bei *Tr. taeniatus* der Fall ist (vgl. auch *Hintzsche*). Darauf treten plötzlich innerhalb des Knorpels Granula auf, der Färbung und Größe nach könnte man fast an Kalkkrümel denken, was aber falsch ist, da die Grundsubstanz wie auch die kollagenen Fasern sich selber in diese Granula auflösen. Der kleine Herd greift weiter um sich, so daß schließlich der ganze Epiphysenknorpel bis auf eine schmale Randzone zerfällt. Zuweilen widerstehen kleine Knorpelpartien der Auflösung, sie ruhen dann gleich kleinen Inseln in der Granulamasse. Durch diese innere Zersetzung geht schließlich die Festigkeit der Epiphyse verloren. Der Muskelzug tut das übrige, und so entstehen Gebilde wie die in Abb. 8b wiedergegebenen, die Eisenbahnpuffern gleichen. Man sieht, daß die proximale Epiphyse der Mittelphalange der Zersetzung schon mehr anheim gefallen ist als die distale der Grundphalange. Auffällig ist, daß trotz dieser starken Degeneration die Knorpelzellen nicht alle nekrotisieren. Nur die Zellen, in deren Nähe

die Zersetzung beginnt, weisen pyknotische Kerne auf. Die epiphysenwärts liegenden Zellen des diaphysären Knorpels, die gewöhnlich die

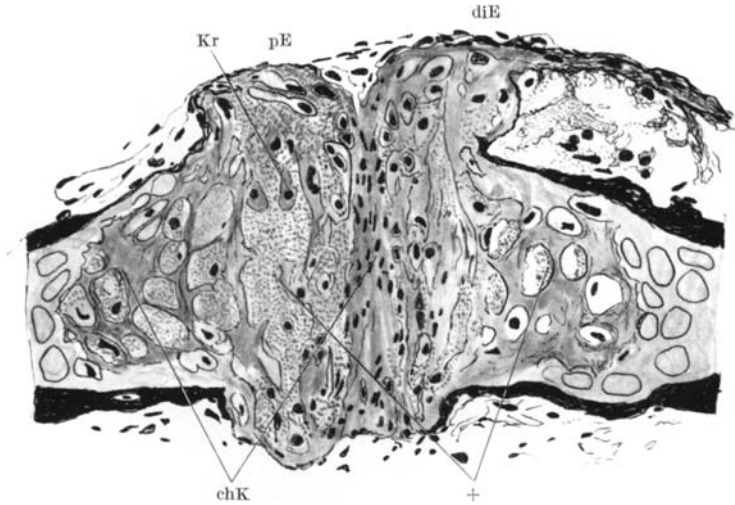


Abb. 8b. *Triturus alpestris*, erkrankte Beine. 2. Zehe, 1. und 2. Phalange von 36, 11. Epiphysen eisenbahnpufferartig. Kr. Knorpelinseln, + Granula. 330fach red. auf $\frac{2}{3}$.

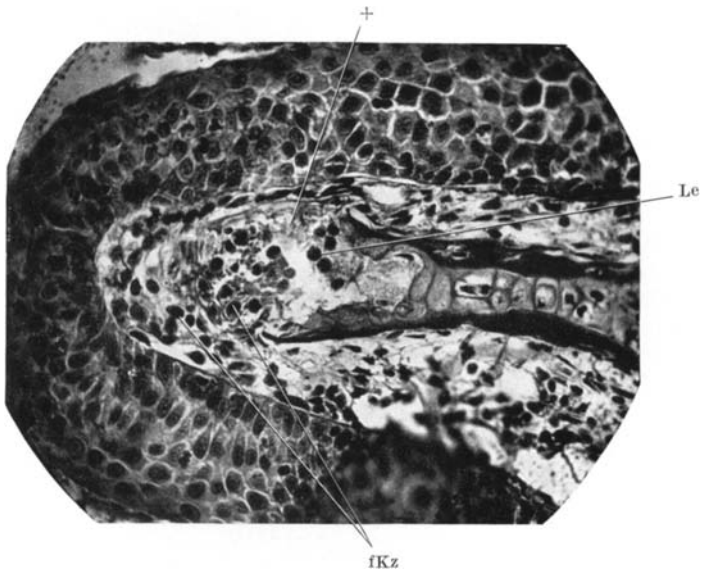


Abb. 8c. *Triturus alpestris*, erkrankte Beine. 5. Zehe Endphalange von 36, 11. Vollständige Knorpelauflösung. + Granula. (Photo.) 210fach red. auf $\frac{1}{2}$.

Proliferationsfähigkeit behalten, sind auch resistenter, und ihre Kerne haben das für Knorpelzellen normale Chromatingerüst. — Ein noch weiter

vorgeschrittenes Entwicklungsstadium der Krankheit zeigt die distale Epiphyse der Mittelphalange; sie ist kaum noch als solche zu erkennen, ihre Randpartien sind an der Diaphyse herabgezogen worden. Zwischen beiden Diaphysen liegen pyknotische Kerne, andere, die bereits zerfallen, normale Knorpelzellen und polymorphkernige Leukocyten, die Aufräumarbeiten zu verrichten scheinen. Ein solches Bild, noch klarer ausgeprägt, findet sich dann auch an der Spitze der fünften Zehe, wo die endständige Knorpelspitze in gleicher Weise zerfallen ist (Abb. 8c). Leider war es nicht möglich, weitere Beobachtungen anzustellen, da die erkrankten Tiere stets bald, nachdem die Krankheit festgestellt wurde, starben (s. *Klatt* [1933]).

Erscheinungen am Menschen, die vielleicht in naher Beziehung stehen, sind in einer Arbeit von *Lieck* behandelt. Sie betrifft jugendliche Patienten (Wachstumsalter), bei denen das Röntgenbild schon fortgeschrittene Stadien einer Epiphysenerweichung aufzeigt, wohl weil die Beschwerden zuerst gering sind, und die Erkrankten erst bei heftigen Schmerzen, also wenn die Krankheit sich schon weit entwickelt hat, den Arzt aufsuchen. Nach *Lieck* ist die Ursache dieser Erkrankung in innersekretorischen Störungen zu suchen.

Riesenzellen.

Über das Thema „Riesenzellen“ ist schon viel geschrieben worden. Ihr Aussehen ist lange bekannt, aber über die Frage, wie sie entstehen, herrscht noch keine Einigkeit. An Hand meiner Befunde scheint es mir möglich, die Riesenzellbildung klarzulegen. Auf die Literatur möchte ich nicht näher eingehen, zumal sie bei *Weidenreich* vollständig angeführt ist.

Wie bei Tier Mop 1 erwähnt ist, treten Riesenzellen zuerst dort auf, wo das Periost sich vom Knochen abhebt, also in der Höhe der nekrotischen Linie quer durch die Epiphyse (Abb. 9). Von diesem Stadium an nehmen die Riesenzellen stark an Zahl zu und fressen den Knochen wie auch den verkalkten Knorpel auf. Nachdem sich die periostalen Fasern von dem Knochen abgehoben haben, wird das Protoplasma der dazwischenliegenden Zellen, das bisher kaum zu sehen war, deutlich wahrnehmbar. Das Plasma zeigt eine stärkere Vorliebe für die basischen Farbstoffe, was auch *Maximow* und andere Forscher feststellen konnten; *Arey* behauptet auf Grund dieser Umfärbung, daß es sich hier um „depleted“ (erschöpfte) Osteoblasten handele. Die Zelle löst sich mehr und mehr von der Faser ab, an der sie bisher gelegen hatte. Der Zellleib rundet sich wie der Kern an den Enden stärker ab. Das Chromatin des Kernes behält seine Struktur bei, doch wird die Färbung des Kernes schwächer. Es ist in dem Kern weiterhin fein verteiltes Chromatin von einigen größeren Kernkörperchen deutlich zu unterscheiden. In diesem Stadium der Entwicklung fand ich häufig Mitosen in diesen

Zellen (Abb. 10). Der Mitose folgte dann die normale Entstehung von 2 Zellen, wie auch die Bildung einiger doppelkerniger Zellen, was jedoch seltener war. Im Anschluß an diese Zellteilung nehmen die Zellen ihre alte Gestalt wieder an, ohne jedoch ihre charakteristische Färbung zu verlieren. Das Plasma wird jetzt körnig und zeigt schwache Strukturen, die auch *Maximow* (1910) schildert. Jetzt erst setzen die Zellverschmelzungen ein (Abb. 10), die überall im periostalen Gewebe zu finden sind.

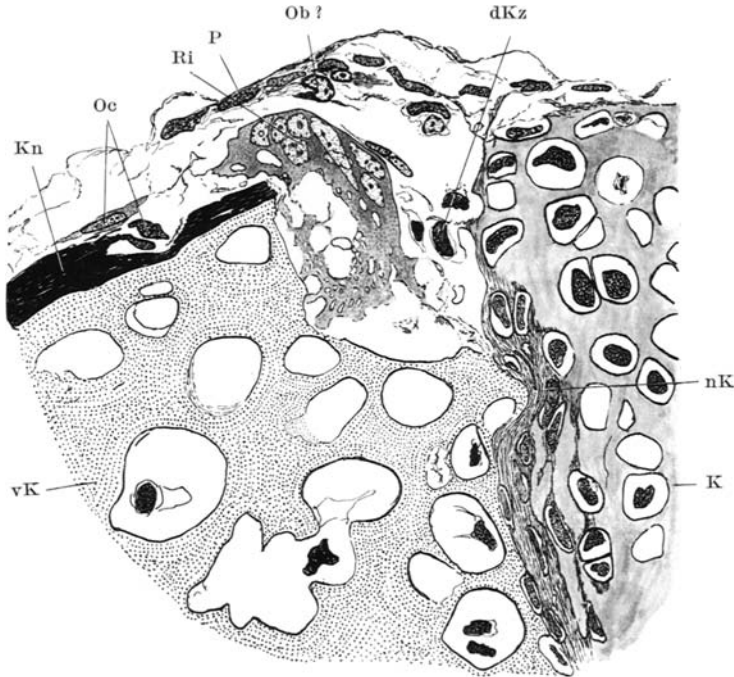


Abb. 9. Riesenzellenbildung in der Höhe der Grenzlinie. Ob? Osteoblast oder Periostzelle, deren Kern schon Veränderung des Chromatingerüsts zeigt. 800fach red. auf $\frac{1}{10}$.

Die zarten Plasmaausläufer legen sich aneinander, und so entsteht das Bild eines regelrechten Syncytiums. Die Kerne rücken näher aneinander, und die nunmehr zweikernige Zelle verschmilzt abermals mit einer weiteren. Es kommt auch vor, daß 4 oder 5 Zellen auf einmal verschmelzen. Somit hat die Riesenzelle bereits 5—8 Kerne; ist dieses Stadium erreicht, so wandert sie durch die Fasern hindurch dem Knochen zu. Auf diesem Wege verschmilzt sie mit anderen vielkernigen Riesenzellen, wodurch die Kernzahl stark zunimmt, und nicht selten hat eine solche Zelle Kernzahlen von 60—100 aufzuweisen. Das Plasma ist granuliert und weist ein deutliches Gerüst auf. Hat die Riesenzelle bereits ihr zersetzendes Werk begonnen, so treten Veränderungen innerhalb des Plasmas auf, Vakuolen bilden sich, das bisher kaum wahrnehmbare Netzwerk

im Plasma tritt stärker hervor. An der Oberfläche, mit der die Zelle den Knochen berührt, wird ein fibrillärer Saum im Plasma sichtbar

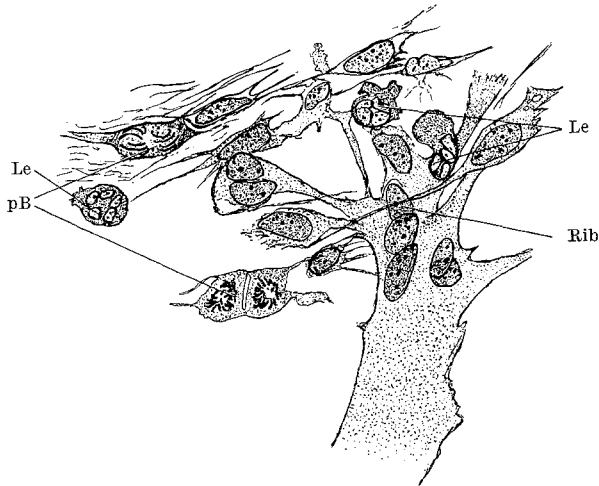


Abb. 10. *Riesenzellenbildung*. Flachschnitt durch das Periost. Mitosen und Verschmelzungen. 800fach red. auf $\frac{2}{3}$.

(Abb. 11). Die Kerne liegen wahllos im Plasma, jedoch nie dicht an der dem Knochen zugewandten Seite. Mit der Dauer der zerstörenden Tätigkeit nimmt die Zahl der Vakuolen zu. In der Nähe der Kerne ist die Zahl

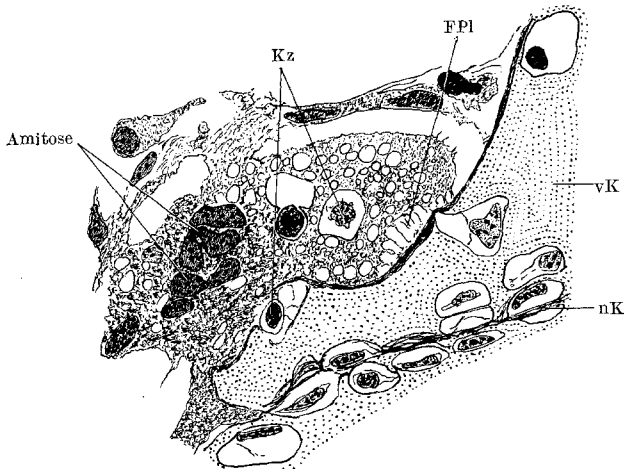


Abb. 11. *Riesenzelle mit Vakuolen und Amitosen*. 800fach red. auf $\frac{2}{3}$.

und Größe der Vakuolen geringer als in der Knochennähe, was sich auch darin äußert, daß die Riesenzelle in der Umgebung der Kerne dunkler gefärbt ist. Andere Zellen als mesenchymale Periostzellen und Osteo-

blasten werden in den Zellkomplex nicht aufgenommen. Der Umstand, daß es sich lediglich um Periostzellen handelt, die die Kernzahl der Riesenzellen ausmachen, ist vielleicht verwunderlich, zumal die Zahl dieser Zellen bei den Molchen nicht sehr groß ist, jedoch genügen meines Erachtens die der Riesenzellbildung vorausgehenden Zellteilungen zur Erklärung dieser Tatsache. Sobald 2 Kerne in einer Plasmamasse liegen, tritt keine Kernteilung mehr auf, weder amitotische noch mitotische. In einem Falle (Abb. 11) jedoch scheint es so, als lägen 2 Amitosen vor, was *Maximow* (1910, S. 18) bei Amphibien für möglich hält. Gesetzt der Fall, es handle sich hier tatsächlich um 2 Amitosen, so müssen sie doch sehr selten sein, denn bei allen meinen Untersuchungen habe ich streng darauf geachtet und niemals sonst Anzeichen gefunden, die für eine solche Kernvermehrung sprechen.

Wie schon erwähnt, sind Riesenzellen mit durchschnittlich 60 bis 100 Kernen keine Seltenheit. Die Ausdehnung der einzelnen Zellkomplexe ist recht verschieden, meist liegen sie längs des Knochens und erstrecken sich über mehrere Schnitte (je $7,5\mu$). In einem Falle fand ich sogar eine Zelle mit 512 Kernen, die sich auf 15 Schnitte verteilen, also eine Zelldicke von $112,5\mu$. Hier handelt es sich um eine Riesenzelle, die durch Zusammenschluß vieler entstanden ist, die in ihrer Gesamtheit 2 Zehen aufgefressen haben. Einige Kerne weisen eine überaus große Basophilie auf, was auf eine nahe Pyknose schließen läßt. Bilder, die für die häufig vertretene Ansicht von Einschmelzungen freigelegter Knochenzellen oder Knorpelzellen sprechen, habe ich nie gefunden, im Gegenteil fand ich oft phagocytär aufgenommene Knorpelzellen, deren Chromatingerüst von keinerlei Degeneration zeugte; es handelt sich hier um solche aus verkalktem Knorpel, da ja der andere Knorpel chondrolytisch zergeht. Ebenfalls sind Bilder mit phagocytierten Knochenzellen vertreten.

Über die Art und Weise, wie im einzelnen der Knochen und auch der verkalkte Knorpel abgebaut werden, ist näheres auszusagen nicht möglich. Diese beiden Substanzen verschwinden vollständig. Es geht dem keine Halisterese voraus, die Riesenzellen müssen also gleichzeitig den eingelagerten Kalk wie auch die organische Substanz lösen, was, wie auch *Böhmel* (aber nur für Knochenabbau) angibt, wohl ein chemisch-fermentativer Prozeß ist. „In betreff der Momente, die für die Entwicklung der Osteoclasten in Frage kommen, gelangte ich zur Übereinstimmung mit *Köllikers* Annahme, daß ein Druck das Protoplasma zur Entfaltung von osteoclastischen Eigenschaften reize, doch hielt ich mich für berechtigt, den Druck als eine örtliche Steigerung des Blutdruckes zu präzisieren, durch welche eine quantitativ-qualitative Änderung des Gewebes, das ist Ernährungsflüssigkeit, bedingt ist.“ Für diese Angabe *Pommers* (1882) könnte bei den Molchlarven mit starkem Phalangenschwund die Tatsache sprechen, daß im Beginn der Krankheit die Durchblutung der

Zehen häufig eine bessere als normal ist; aber daß dieser Blutandrang allein durch den Druck das Auftreten der Riesenzellen bzw. Osteoclasten bedingt, möchte ich nicht annehmen. Es ist mir wahrscheinlicher, daß die anormale Blutzufuhr schon eine Folgeerscheinung der ungenügenden Ernährung der Zehen ist, was begründet wird durch die bereits nekrotisch werdende Knorpelsubstanz. Nach *Müller* wird nun das enchondrale Knochenwachstum und damit die Markraumbildung durch Hyperämie gesteigert. Die starke Durchblutung kann also ein Mittel sein, um die versäumte, nämlich die normale enchondrale Verknöcherung bzw. Markraumbildung nachzuholen. Infolge des durch die Stauchung des Schaftes entstandenen Druckes auf das Periost und durch die plötzlich veränderten Ernährungsbedingungen desselben mag es zur „konzentrierenden und elektiven Tätigkeit“ (*Pommer*) des Osteoblastenprotoplasmas kommen, wodurch diese „knochenbildende Maschine umgekehrt gesteuert wird“ (*Weidenreich*), wofür auch die Zunahme der Basophilie spricht.

Über das Schicksal der Riesenzellen mag festgestellt werden, daß der größte Teil zugrunde geht. Die Kerne nehmen stark an Färbung zu und werden schließlich pyknotisch, das Protoplasma wird immer vakuolenreicher. Die Färbbarkeit der Plasmamasse nimmt ab und ändert sich, so daß man bei Azanpräparaten von einer schmutziggrauen Farbe sprechen kann. Schließlich tritt Karyorrhesis ein, während das Plasma eine unförmige Masse darstellt. Den endgültigen mutmaßlichen Abtransport durch Leukocyten habe ich mit Sicherheit nicht beobachtet. — Jugendliche Riesenzellen können sich, wie *Hellmich* feststellte und ich bestätigte fand, am Skelettaufbau beteiligen, indem ein Teil des Plasmas zerfällt; trotzdem ist es nicht angängig, aus dieser Tatsache zu schließen, daß es sich bei Riesenzellen um junge Knorpelzellen handle, wie es *Hellmich* auf S. 159, 160, 163 tut. An anderer Stelle sagt er übrigens auch: „Ich sah, wie in der Arbeit erörtert ist, in den Riesenzellen emigrierende Osteoblasten.“

Betreffs der Erkenntnis über die Herkunft der Riesenzellen stehe ich nicht allein mit meiner Ansicht, denn schon bei anderen Forschern findet man ähnliche Angaben (*Jordan*, *Arey*, *Wurmbach* und *Böhm*), wenn vielleicht auch die Befunde bei diesen nicht von gleicher Klarheit sind wie bei meinem Material. Ein überzeugender Beweis wird in dem eigenartigen Befund am Tier 5,13 erbracht. Bei diesem Tier traten die von mir bereits erwähnten „Marmorknochen“ auf, rund um diese fand sich neuer Knorpel, der, wie die Untersuchung zeigte, vom Periost herührt. Es war auffällig, daß hier der Knochen keinen Abbau zeigte. Aus dem obigen wird der Grund hierfür klar ersichtlich. Das bei allen Tieren die Riesenzellen bildende Periost hat hier Knorpel gebildet. Es konnte daher also keine Riesenzelle entstehen. Zur Zeit der Amputation zeigt der neugebildete Knorpel wie berichtet schon wieder Degenerationserscheinungen; dabei findet sich nun tatsächlich eine Riesenzelle

in Bildung, dies ist ja auch möglich, denn durch die Chondrolyse werden die Zellen wieder frei, sie, die ursprünglich Periostzellen waren, verschmelzen nun miteinander zu einer Riesenzelle. Zu erwähnen wäre noch, daß innerhalb des Markes ältere Riesenzellen gefunden werden, denn hier haben ja auch Osteoblasten zur Verfügung gestanden.

Regenerationsversuche.

Es war von Interesse, zu erfahren, wie die Regenerate der amputierten Beine sich entwickeln würden, und zwar:

a) *Bei hypophysektomierten Larven*, bei denen es nicht zur Bildung von Stummelbeinen gekommen war (etwa 10 Tiere untersucht). Diese Larven regenerieren die amputierten Beine in einer Art und Weise, die durch nichts von der bei gewöhnlichen Larven verschieden ist. Innerhalb einer Zeitspanne von 60—70 Tagen ist das Bein fertig durchgebildet, wobei ich die Beine als ausgewachsen betrachte, wenn an allen Phalangen sich eine Knochenmanschette angelegt hat. Tiere, deren Bein während des Auswachsens mehrere Male hintereinander amputiert wurde, brauchen längere Zeit zur Bildung des endgültigen Regenerats als solche, die nur einmal amputiert worden sind.

b) *Bei Larven mit Stummelbeinen*. Das Resultat dieser Versuche ist recht überraschend, denn die Stummelbeine werden nach der erfolgten Amputation völlig normal regeneriert (bei einem Tier fünfmal, bei einem Tier zweimal, bei einem Tier dreimal die gleiche Extremität hintereinander amputiert). Selbst in dem Fall, wo das rechte Hinterbein eines Tieres fünfmal hintereinander amputiert wurde, ist es schließlich doch in 70 Tagen wieder ausgebildet worden. Immer war die Entwicklung des Regenerats zur Zeit der Amputation ungefähr auf der gleichen Differenzierungsstufe wie das von gleich alten Stadien der Gruppe a.

c) *Bei Larven mit Stummelbeinen nach Hypophysenimplantation*. Durch die Implantation wird eine geringe Abkürzung der Regenerationsdauer bewirkt. Nach Ablauf von 52—56 Tagen ist die am Implantationstage abgeschnittene Extremität wieder soweit ausgebildet (je ein Bein von 3 Tieren) wie unter a) angegeben. Denselben Tieren, sowie zwei weiteren wurden in gewissen Zeitabständen nach der Implantation auch die übrigen Beine amputiert und bis zu dem als Kriterium gewählten Entwicklungsstadium ausgewachsen gelassen. Es ergibt sich, daß die Regenerationsdauer länger währt, je später der Amputationstag vom Implantationstage gewählt wurde, so daß schließlich die gleiche Zeit benötigt wird wie beim nichtimplantierten Tier. — Zu betonen ist, daß die Endphalange bei allen Regeneraten der Gruppen a—c ganz normal wie bei gewöhnlichen Larven von einer endständigen Knorpelkappe gekrönt ist.

d) *Regenerative Umbildung der Stummelbeine nach Implantation ohne vorherige Amputation*. Von besonderem Interesse ist, daß nach Implantation des Vorderlappens oder der ganzen Hypophyse eine regenerative

Umbildung der Stummelbeine in die normale Form eintritt, auch ohne daß die Extremität vorher amputiert wird, wie *Klatt* (1931) bereits in dem ersten bekannt gewordenen Fall feststellte, bei dem oben schon herangezogenen Tier Mop 1.

Dazu ist jedoch zu bemerken, daß gelegentlich auch schon ohne Implantation bei einigen stummelfüßigen Tieren sich deutliche Anzeichen

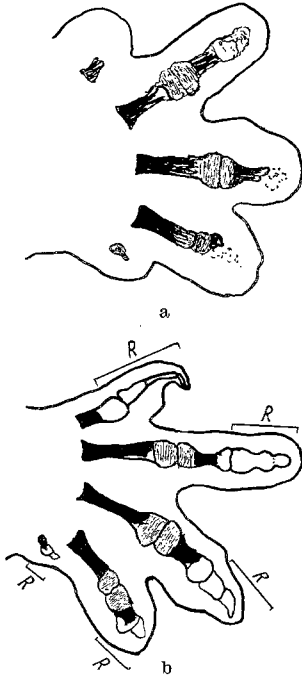


Abb. 12. *Tr. taeniatus*. Hypophysektomierte Larve 8, 53. Linkes Hinterbein. a) 6 Tage vor der Implantation. b) 19 Tage nach der Implantation. Einzelheiten nach mikroskopischen Bildern eingezeichnet. Weiße Knochenteile sind Regenerate. 20fach red. auf $\frac{2}{3}$.

regenerativer Vorgänge finden, wenn diese auch nicht zu einem normal geordneten Regenerat führen. Dies wurde schon für das Tier, welches „Marmorknochen“ aufwies, näher ausgeführt. Neubildungen von Knorpel an nichtimplantierten stummelfüßigen Tieren habe ich dann außerdem nur noch bei einem weiteren Tier, aber in weit geringerem Maße gefunden, sonst nicht.

Zu den hierher gehörigen Versuchen wurden außer Mop 1 (*Klatt*) noch weitere 6 Tiere des neuen *Klattschen* Materials benutzt.

Um die Stärke der Besserung, die durch die Implantation bedingt ist, richtig einzuschätzen, wurden von jedem Tier vor der Implantation genaue Zeichnungen der Beine angefertigt. Nach der Implantation wurden dann die Beine in kurzen Abständen gezeichnet, so daß dadurch eine Kontrolle gegeben war, wie das Auswachsen vor sich geht. Da durch die Hypophysenimplantation Dunkelfärbung auftritt, wodurch die Durchsichtigkeit der Zehen stark erschwert bzw. völlig unmöglich gemacht wird, mußte ich mich in den meisten Fällen mit Umrißzeichnungen begnügen. Einem Tier wurden 3 Vorderlappen eingepflanzt, um die Pigmentierung auszuschalten, doch war

es auch hier nicht möglich, die Knochengrenzen zu unterscheiden, dagegen waren bei zwei anderen Tieren die Knochen- bzw. Knorpelkonturen leidlich zu erkennen, da hier keine allzu starke Dunkelfärbung erfolgte (Abb. 12).

Im allgemeinen wurden bei allen Tieren nicht mehr als 2 Phalangen pro Zehe völlig wiederhergestellt. Es entsprach dies vielfach einer Wiederherstellung des für die Zehe normalen Bildes; nur bei Verlust sämtlicher Phalangen ergab sich, wie aus dem Obigen hervorgeht, nicht die normale Zahl, nämlich für jene Zehen, die normalerweise 3 Phalangen besitzen. —

Auffällig ist, daß alle Tiere in gleicher Weise reagieren, ob ihnen eine Hypophyse oder 3 Vorderlappen eingepflanzt wurden.

Die Versuchsanordnung war hier wie auch bei den anderen Versuchsgruppen folgende: Am Implantationstage wird ein Bein abgeschnitten, um an ihm den Grad der Krankheit auch histologisch genauer zu untersuchen; die Amputation der anderen 3 Beine folgte dann nacheinander

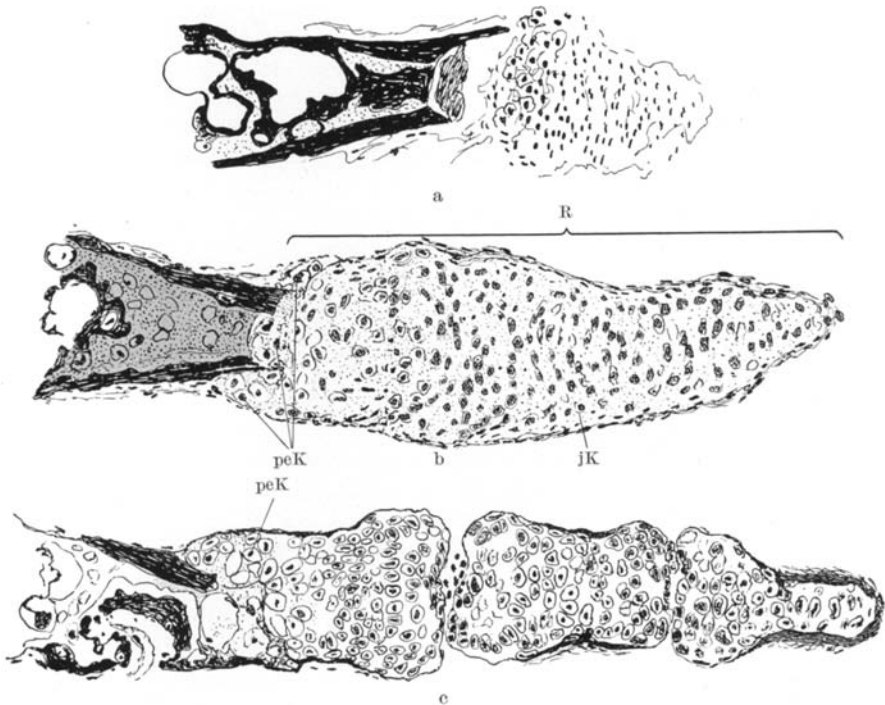


Abb. 13. *Tr. taeniatus*. Hypophysectomierte Larve 7, 30. a) Zehe mit Phalangenverlust vor Implantation. 190fach, red. auf $\frac{2}{3}$. b) 9 Tage nach Implantation. 190fach red. auf $\frac{2}{3}$. c) 17 Tage nach Implantation. 190fach red. auf $\frac{2}{3}$.

in größeren Abständen vom Implantationstage. Somit ist es möglich, den Regenerationsvorgang auch histologisch zeitlich zu verfolgen.

Wie bei jeder Regeneration eines amputierten Gliedes wird auch hier bei den Stummelfüßen auf den vorhandenen Resten der Extremität aufgebaut. Es werden also die proximaleren Teile zuerst differenziert. — Sind nur noch die Epiphysen der Metatarsalia vorhanden, so sammelt sich zwischen diesen das Regenerationsgewebe an, das sich aus ehemaligen, freigewordenen Knorpelzellen und aus Blastenzellen zusammensetzt. Die Differenzierungswelle (zuerst beobachtet 4 Tage nach der Implantation) geht von den Epiphysen aus, was man an Färbung und Struktur des Knorpels erkennen kann. An den Zehen, wo auch von den ersten

Phalangen noch ein schwacher Rest der proximalen Epiphysen vorhanden ist, wird auf ihm aufgebaut. Doch ist hier die Differenzierung noch nicht so weit fortgeschritten, denn die Regenerationszellen beginnen sich erst anzuordnen. — Bei anderen Tieren, wo noch Diaphysenstümpfe der Metacarpalia (-tarsalia) erhalten sind, wird natürlich auf ihnen aufgebaut (Abb. 13a, b, c). Das periostale Gewebe beginnt Knorpel zu bilden, der nur das Stumpfende einhüllt. Das distal vorgelagerte Regenerationsblastem hat sich nach Ablauf von 9 Tagen zu einem durchgehenden Knorpelstab entwickelt, der durch die Raumenge seitwärts gekrümmt ist und mit dem neuen Knorpel des Metacarpus noch zusammenhängt. Nach Verlauf von 17 bis 19 Tagen ist die distale Epiphyse des Metatarsale (-carpale) neu gebildet, indem der Gelenkspalt zwischen ihr und dem anschließenden Knorpelstab aufgetreten ist. Dieser selbst hat sich in zwei normale Phalangen untergeteilt, und um jeden dieser Teile hat sich eine wenn auch schwache Knochenschale abgeschieden. Auch an der Oberfläche des Callusgewebes, welches das Ende des Metatarsale bzw. -carpale umgibt, findet sich neugebildete Knochensubstanz, die in den Diaphysenknochen übergeht.

Um nun zu sehen, wie weit sich die Phalangen nach längeren Zeiträumen (ab Implantation) maximal differenzieren, wurden jedem Tier 1, selten 2 Beine belassen, die erstmalig nach einigen Wochen bis 11 Monaten amputiert wurden. So zeigte sich nach einer Zeit von 21 Tagen, daß die neuen Skeletteile eine Knochenschale ausgebildet haben. Bei einem anderen Tier liegt nach 30 Tagen der Befund ähnlich, jedoch ist hier an dem untersuchten Bein nicht nur das Metacarpale restituiert und eine Phalange neu geschaffen worden, sondern es sind 2 Phalangen neu gebildet worden, und um jede von diesen liegt ein Knochenmantel. Zu diesem Zeitpunkt beginnt auch schon die Bildung der Knochenendkappe der Phalangen, deren Entstehung sich nur dadurch von der während der Metamorphose unterscheidet, daß der überstehende Knorpelfaden vorher nicht angelegt wird. Wohl aber zergeht der Knorpel wie bei der normalen Metamorphose chondrolytisch, und das kollagene Bindegewebe verknöchert. — Bei 2 Tieren erfolgte die erstmalige Amputation bestimmter Beine genau 9 Monate nach der Implantation. Es war an diesen Beinen maximal nur eine Phalange pro Zehe regeneriert worden. Diese Phalange scheint nur sehr langsam gewachsen zu sein, der diaphysäre Knorpel ist verkalkt, aber die Knochen- und Markraumbildung ist nur wenig vorangekommen. Bei letzterer scheint es so, als käme das Gefäß, das ganz normal in der Diaphysenmitte eingedrungen ist, nicht weiter bei der Bildung der Markhöhle, denn die bereits in den Knorpel eingesenkte Lacune ist stark mit Knochen ausgekleidet, was sonst erst einsetzt, nachdem schon eine sehr große Markhöhle entstanden ist. Für diese Hypothese spricht, daß Knochenzellen bereits in der Knochenlamelle eingeschlossen liegen. Es handelt sich hier wohl um eine neu

eingetretene Ernährungsstörung, was auch dadurch wahrscheinlich gemacht wird, daß das Tier etwa 5 Monate nach der Implantation wieder heller zu werden begann, woraus man schließen kann, daß die implantierte Hypophyse degenerierte und somit an Wirkung verlor. Das rechte Vorderbein, das 11 Monate nach der Implantation amputiert wurde, läßt diese Symptome noch stärker hervortreten: die äußere Knochenschale ist stärker geworden, während die Markraumbildung aufgehört hat. — Das beste Ergebnis weist das eingangs erwähnte Tier Mop 1 auf. Das rechte Vorderbein wurde am Implantationstage photographiert, man erkennt deutlich an der Abb. 10 bei *Klatt* (1931) die Verluste an den Zehen (man vergleiche auch die Abbildung des linken Vorderbeines, hier Abb. 4a). 4 Monate später ist die normale Phalangenzahl wieder erreicht worden (Abb. 14), das Tier metamorphosierte und wurde dann fixiert. Bei der histologischen Untersuchung dieser nicht amputiert gewesenen Beine zeigen die neugebildeten Phalangen mit Ausnahme der Endphalangen im Aufbau dasselbe Bild wie die proximaleren Knochen. An den Metacarpalia ist es im Gegensatz zu dem Befund vor der Implantation (siehe oben S. 569) jetzt zur Ausbildung einer Säulenknorpelzone gekommen, was den Beweis erbringt, daß der Knorpel sich in normalem Wachstum befindet. Die Art der enchondralen Verknöcherung ist jedoch nicht normal im Sinne nicht hypophysektomierter Tiere. Man bemerkt deutlich, daß die Markhöhle nicht ein Raum ist, sondern, wie bei hypophysektomierten Tieren üblich (s. oben S. 569) aus 2 Höhlen besteht. Dagegen weisen die wieder neugebildeten Endphalangen einen einheitlichen Markraum auf. An den anderen, zum Teil auch neugebildeten Phalangen finden sich außer den sicherlich vor der Implantation vorhanden gewesenen zwei eingewanderten Gefäßen noch weitere Arrosionsgruben. Die Spitze einer neuen Endphalange krönt eine Knochenkappe von der bei normalen Molchen üblichen Beschaffenheit. An den vom Zeitpunkt der Implantation erhalten gebliebenen Endphalangen (s. Photo, *Klatt* 1931) der 1. und 4. Zehe ist dagegen die Endkappe noch nicht fertig ausgebildet.

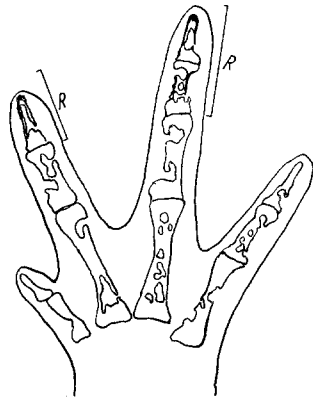


Abb. 14. *Tr. taeniatus*. Mop. 1. Rechtes Vorderbein. 4 Monate nach Implantation. Einzelheiten nach der mikroskopischen Untersuchung eingezeichnet. 20fach red. auf $\frac{1}{3}$.

Es werden also durch die Reimplantation einer Hypophyse regenerative Vorgänge veranlaßt, die beschädigten Phalangen werden wiederhergestellt und verloren gegangene wieder neugebildet. Ist die Wirkung der Hypophyse von längerer Dauer, so wird auch die normale Art der

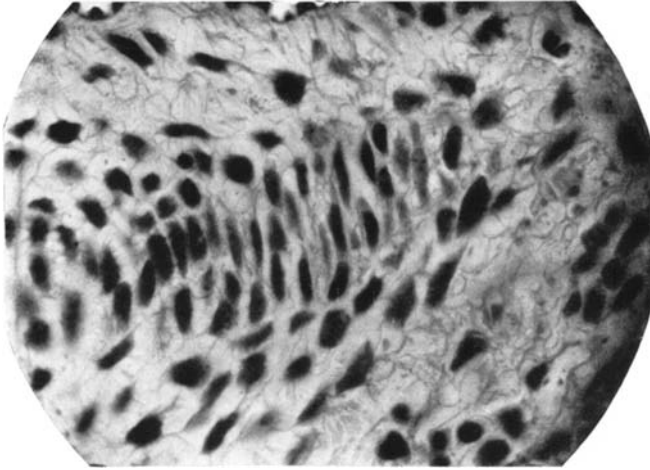
enchondralen Verknöcherung eingeleitet und sogar zu Ende gebracht (Mop 1 Endphalangen).

Wie erklärt sich nun, daß bei 2 Tieren auch ohne Implantation Regenerationsgewebe auftrat (s. oben S. 579)? Man muß dabei daran denken, daß die Tiere, welche Phalangenverluste zeigen, sich häufig im Stadium der sog. „Dauermetamorphose“ befinden, und daß *Klatt* (1933, S. 80/81) dieses Stadium erklärt durch die bei der Exstirpation stehen gebliebene Pars tuberalis der Hypophyse. Man könnte sich vorstellen, daß gelegentlich von diesem Rest des Vorderlappengewebes regenerative Vorgänge eingeleitet werden, die aber rasch wieder zum Stillstand kommen, da der stehen gebliebene Teil der Hypophyse ja sehr gering ist und keine starken Wirkungen herbeiführen kann. Übrigens zeigt dieses noch nicht unter dem Einfluß der Implantation zustande gekommene Regenerationsblastem nicht das für normale Regeneration bzw. für Regeneration unter Implantationseinfluß typische Bild der „saftigen“ Blastemzellen; ich möchte es im Gegensatz dazu als „trockenes Blastem“ bezeichnen (Abb. 15).

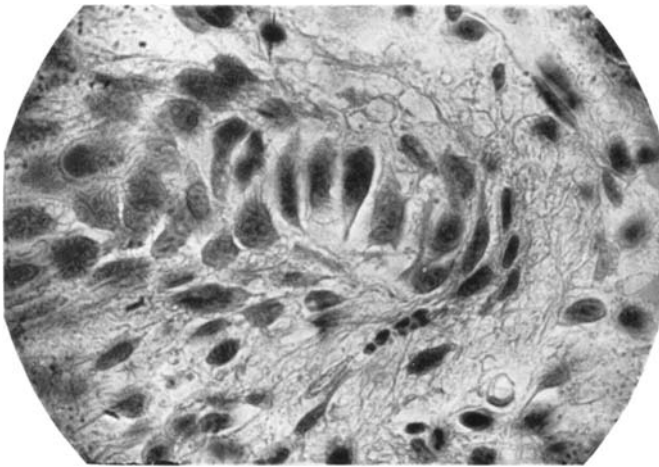
Was die feineren histologischen Vorgänge beim Ausheilen der Phalangenverluste nach Implantation angeht, so wird der Herkunft des Hauptteils des Regenerationsblastems im folgenden ein besonderer Abschnitt gewidmet. An dieser Stelle möchte ich nur kurz sagen, daß im allgemeinen die histologischen Vorgänge denen bei normaler Regeneration gleichen. Der Vorgang beginnt mit dem Auswandern periostaler Zellen, die den Knochenstumpf einhüllen und Knorpel bilden. Auf diese Weise wird die Verbindung mit der gelösten Epiphyse wiederhergestellt. Ist die Epiphyse wie in den meisten Fällen schon aufgelöst, bevor die Implantation erfolgte, so bildet der neue Knorpel, der dann jedoch nur zu einem geringen Teil aus Periostzellen entstanden ist, die Epiphyse, der Hauptteil entstammt dem Blastemgewebe. Auf jener Seite des Knochens, wo der Abbau geringer ist, bildet sich ebenfalls Knorpel aus periostalen Zellen. Bemerken möchte ich, daß ich nie Mitosen im periostalen Gewebe bei dem Regenerationsprozeß gesehen habe (ebensowenig *Wurmbach*), und daß sich bei allen von mir beobachteten Regenerationen (Ersatz amputierter Beine oder Umbildung von Stummelfüßen), entgegen den Angaben *Kasanzeffs*, die Osteoblasten genau so wie die anderen Zellen des Periosts an der Knorpelbildung beteiligen.

Wenn *Kasanzeff* weiterhin das gesamte Regenerationsblastem nur vom Periostgewebe der alten Extremität herkommen läßt, so kann ich mich damit nicht einverstanden erklären. *Kasanzeff* hat die Regenerationsvorgänge studiert, die sich nach künstlicher Abschnürung einer Extremität abspielen. Auf S. 673 spricht der Verfasser von der starken Zerstörungszone, die in der Höhe der Ligatur liegt: „In der nächsten Umgebung findet man dieselben Zellen in verschiedenen Stadien der Riesenzellbildung, von einem Periost oder einer Osteoblastenschicht an der Oberfläche solcher abgetrennter Knochenstückchen kann hier natürlich keine Rede sein.“ Dies soll soviel heißen, daß die Riesenzellen sich aus zuwandernden Zellen (Lymphocyten) bilden; Bildung aus Osteoblasten lehnt er ab. Auf S. 678 heißt

es: „Weiter distalwärts, wo die Bildung von Riesenzellen und die Zerstörung des Skeletstückes in vollem Gange sind, habe ich zu dieser Zeit (14 Tage nach dem Anlegen der Ligatur) keine Mitose beobachtet. An etwas späteren Stadien findet man



a



b

Abb. 15. „Trockenes“ (a) und „saftiges“ Blastem bei Tier 8, 23. a) vor Implantation, von einer abklingenden Regenerationswelle herrührend (Photo.) 510fach red. auf $\frac{1}{1}$. b) 4 Tage nach Implantation. (Photo.) 510fach red. auf $\frac{1}{1}$.

aber nicht selten auch hier Mitosen im Gewebe. Dieses stellt die direkte Fortsetzung des Periostes dar und entspricht zweifelsohne demselben.“ Diese Angaben widersprechen sich meines Erachtens. Einmal ist kein periostales Gewebe vorhanden, wenn es sich darum handelt, die Entstehung der Riesenzellen aus diesem Element abzulehnen; zum Beweis der hypothetischen Ansicht über die Blastembildung wird aber das Periost herangezogen. Ich halte die Zellen, die *Kasanzeff*

(S. 671) im veränderten Periost findet, mit rundem bis ovalem Kern, wenig Protoplasma, Zellen scharf abgegrenzt, lymphocytenähnlich, in unmittelbarer Nähe der in Auflösung begriffenen Knochensubstanz, für aktiv gewordene Osteoblasten bzw. Mesenchymzellen des periostalen Gewebes, zumal *Kasanzeff* an den Knochen nur „unbedeutende Reste der Osteoblastenschicht“ findet. Die neu auftretenden Mitosen können nach meiner Meinung eingewanderte Blastemzellen (amöboid gewordene Wanderzellen, Regenerationszellen) sein, unter denen sich noch vereinzelte Blastemzellen periostalen Ursprungs finden, aber nicht in so überwiegendem Maße, wie *Kasanzeff* angibt.

Woher kommen die Zellen des Regenerationsblastems?

Selbstverständlich ist es wohl, daß die von den „zergangenen“ Knorpel-epiphysen stammenden Knorpelzellen an Zahl bei weitem nicht ausreichen zur Regeneration, so daß noch anderes skeletbildendes Material

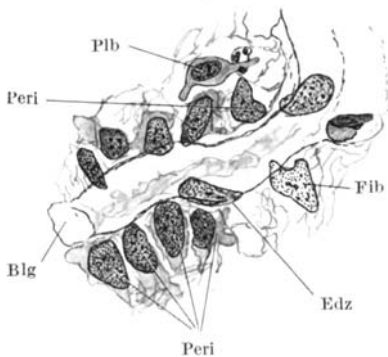


Abb. 16. Pericyten („Keimlager“) bei 8, 23 800fach red. auf $\frac{2}{3}$.

gebraucht wird. Der Ursprung dieses Materials liegt zum großen Teil in undifferenzierten, dem Mesenchym verwandten Zellen, die, wie *Maximow* (Handbuch) angibt, für das ganze Leben ihre embryonalen Potenzen beibehalten. Diese Zellen liegen im Bindegewebe verstreut, aber vornehmlich längs der Blutgefäße (Abb. 16). *Maximow* geht sogar so weit, daß er von „Keimlagern“ spricht (1926). Aktiviert beginnen diese Pericyten zu wandern und sehen so aus wie die Wanderzellen, die dem Regenerationsfeld zustreben.

Hier angelangt, hellt sich der Kern auf, und die Zelle beteiligt sich am Aufbau des Blastems. Dies wäre eine histiogene Wanderzelle. Eine andere Art von Wanderzellen, die sich ebenfalls im Regenerat finden, möchte ich direkt mit Lymphocyten in Verbindung bringen. An Hand unzweideutiger Präparate finde ich in der Umgebung von Blutgefäßen Lymphocyten und neben ihnen Zellen liegen, deren färberisches Verhalten (Plasma, Kerngröße, Chromatin) mir ein deutlicher Beweis ist, daß man sie von diesen ableiten kann. Die Lymphocyten beginnen, aus dem Gefäß ausgetreten, Pseudopodien auszustrecken (Abb. 18). Diese werden wieder eingezogen; nachdem sich der Kern und auch das Protoplasma schwächer gefärbt haben, weist die Zelle wie auch der Kern eine ovalere Form auf. Das Chromatingerüst erscheint in dem an Größe zunehmenden Kern lockerer. Der Kern nimmt schließlich Bohnenform an. Zuweilen treten im Plasma solcher Zellen 2—3 kleine Vakuolen und ein zartes Gerüst auf. Die Zelle streckt nun gleich einer Mesenchymzelle, der sie stark ähnelt, Fortsätze aus und kriecht, wie man es aus der Kernlage schließen kann, dem Regenerationsfeld zu.

Gleich der ruhenden Wanderzelle (Histiocyt) wächst auch die amöboide Wanderzelle, an Ort und Stelle angekommen, und beide stellen nun die von *Hellmich* beschriebenen Regenerationszellen dar. Diese Zellen haben im Vergleich zu den im Gewebe liegenden Mesenchymzellen, wie auch Fibrocyten, immerhin noch ein stark zusammengeballtes Chromatin, da auch ihr Kern kleiner ist. Das Plasma weist im Umriß wie in der Färbung Verschiedenheiten auf. Der Kern ruhender Wanderzellen, die

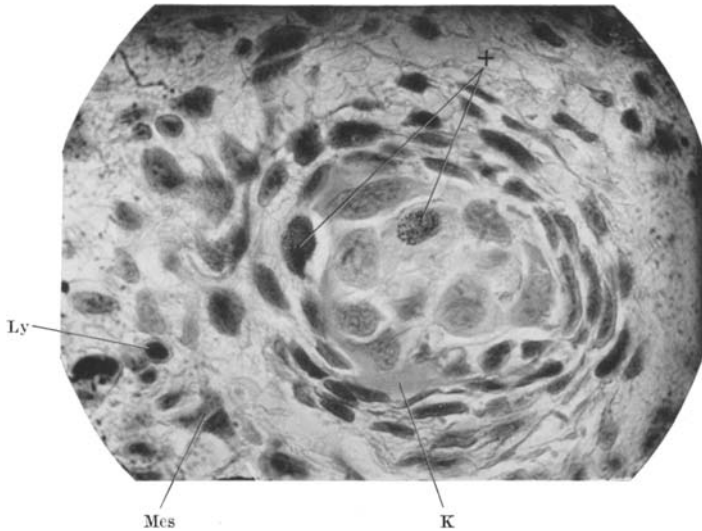


Abb. 17. *Regenerationszellen* im Begriff Grundsubstanz abzuscheiden bei 8, 23. + Zellen mit Pigmentkörnchen. (Photo.) 510fach red. auf $\frac{1}{4}$.

meines Erachtens aus den Pericyten hervorgehen, steht in der Größenordnung neben dem der Mesenchymzellen und unter dem der Fibrocyten. Die Pericyten entstehen nun wieder aus amöboiden Wanderzellen, nur daß sie eine Zeit der Ruhe und Entwicklung (Zunahme der Kerngröße, Auflockerung des Chromatins) in der Gefäßnähe verbracht haben. Dies erscheint daher erwiesen, weil bei Entzündungen diese Entwicklung sich auch in Gefäßnähe vollzieht, sogar vom Lymphocyten über den Polyblasten zur amöboiden Wanderzellen und weiter zur Regenerationszelle. Von einer Umwandlung der Fibrocyten in Histiocyten, Polyblasten und endlich Lymphocyten habe ich nie etwas bemerken können, wohl aber von einer Beteiligung der Fibrocyten am Skeletaufbau, wo die zuwandernden Fibrocyten an ihrem helleren Kern gegenüber den Regenerationszellen (verschiedenen Ursprungs) auffallen (Abb. 17). Diese Ansicht von der Entstehung des Regenerationsblastems aus histiogenen und hämatogenen Zellen ist schon von *Maximow* vertreten worden. In neuerer Zeit ist es *Vierling* (1926) sogar gelungen, Lymphocyten mit Carmin

zu speichern, die er später überall im Gewebe als Fibrocyten, als Knorpelbildner usw. wiederfand. *Stieve* (1929) und *Froböse* (1932) haben am Menschen- bzw. Kaninchenuterus festgestellt, daß eine Umwandlung der Lymphocyten in Histiocyten und weiter in Fibrocyten an dem Fruchthalter vorkommt. In der Gewebezüchtung steht es ja seit der *Carrel*- und *Ebelingschen* Arbeit (1922) fest, daß sich Fibroblasten aus mononucleären Leukocyten differenzieren. Einen weiteren Beweis meiner Behauptung finde ich in dem Auftreten von Knorpelzellen, in deren Plasma kleine Pigmentkörner zu erkennen sind. Nach *Maximow* (1906) und

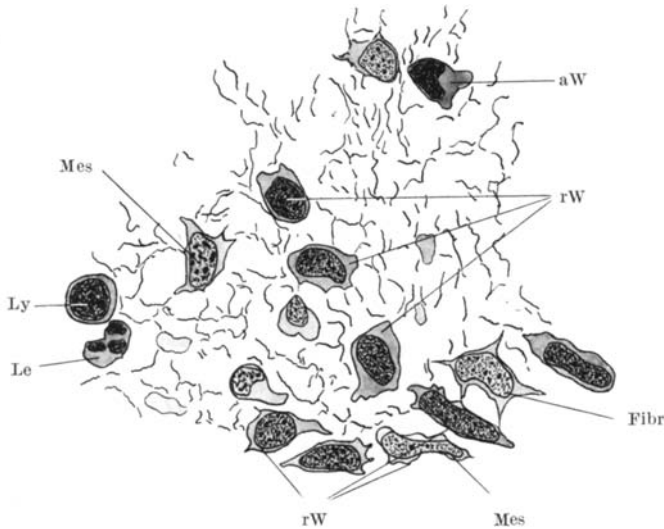


Abb. 18. Dem Regenerationsfeld zuwandernde Blastenzellen bei Tier 8, 23. 1450fach red. auf $\frac{2}{3}$.

Vierling (1926) treten solche Zellen als amöboide Wanderzellen im Gewebe auf und können weiter wachsend zu ruhenden Wanderzellen werden. Wenn nun diese Zellen im Regenerationsblastem und schon in Vorknorpelzellen differenziert aufgefunden werden, so steht damit der Beweis für die Tatsache fest, daß amöboide Wanderzellen, die ihrerseits wieder von Lymphocyten über Polyblasten abzuleiten sind, als hämatogene Zellen sich am Skeletaufbau beteiligen, ähnlich der Feststellung *Vierlings*. Die gesamten zugewanderten Regenerationszellen, Chondroblasten, legen sich dicht über- und nebeneinander, bleiben aber unabhängig voneinander. Von der Bildung eines Reticulums, von dem *Kasanzeff* zu berichten weiß, habe ich nie etwas bemerkt. Wohl liegen die Zellen zwischen zarten Bindegewebsfasern, in die sie ihre Knorpelsubstanz abzuscheiden beginnen, doch von einer plasmatischen Verbindung der Zellen untereinander konnte ich nie etwas bemerken. Dieser Knorpelbildung gehen jetzt erst zahlreiche mitotische Zellteilungen voraus,

wodurch der Chondroblastenhaufen zellreicher wird. Bei Beginn der Knorpelbildung sind keine Unterschiede, die auf den Ursprung einzelner Zellen deuten lassen, mehr vorhanden, lediglich die mit Pigmentkörnern versehenen Zellen treten deutlich hervor, haben aber sonst weiter keine unterschiedlichen Merkmale. Die Weiterentwicklung der Chondroblasten in Knorpel und die Ausdifferenzierung der einzelnen Skeletteile ist genügend bekannt, als daß ich auf sie noch einzugehen brauche.

Zusammenfassung.

Die Zehen der Molchlarven werden während der Metamorphose infolge einer chondrolytischen Atrophie des die Endphalange überragenden Knorpelstabes absolut kürzer. Die hierbei auftretenden Abbauprodukte werden durch Abschnürung mit der Epidermis abgestoßen.

Bei den hypophysektomierten, daher neoten gebliebenen Larven zeigt das Wachstum der kurzen Knochen Abweichungen von der Norm. Diese bestehen hauptsächlich in einer im Verhältnis zur Entwicklungsstufe (Larve!) verfrühten, im Verhältnis zur Tiergröße (bei normalen metamorphosierten Tieren 30 mm, hier 45 mm und mehr) verspäteten, aber anormalen enchondralen Verknöcherung. Eine Säulenknorpelzone wie bei metamorphosierten Tieren fehlt. Als Folge der Hypophysektomie kann es bei *Tr. taeniatum* zu Phalangenverlusten kommen, bei *Tr. alpestris* zur Epiphysenerweichung.

An den Phalangen derartiger stummelfüßiger Tiere treten viele Riesenzellen auf, die den Knochen wie auch den verkalkten Knorpel abbauen. Der nicht verkalkte Epiphysenknorpel dagegen löst sich chondrolytisch auf. Die Riesenzellen stammen vom periostalen Blastem wie auch von Osteoblasten ab. Amitosen konnten in den Riesenzellen nur in einem Falle, Mitosen überhaupt nicht festgestellt werden. Die Kernvermehrung erfolgt durch Verschmelzung von Zellen. Große und alte Riesenzellen degenerieren, während sich junge in einzelne Zellen auflösen und sich an der Regeneration beteiligen können. Der Knochenabbau geschieht lediglich durch lacunäre Resorption; eine „glatte“ oder „lineare“ Resorption (ohne Osteoclasten wie auch Lacunen) konnte nie beobachtet werden, ebenfalls keine der endgültigen Auflösung vorausgehende Veränderung der Knochensubstanz (Halisterese).

Die aus dem Epiphysenknorpel stammenden Zellen entwickeln sich zu mesenchymalen Zellen; die in dem verkalkten Knorpel liegenden Zellen werden von den Riesenzellen phagocytär aufgenommen.

Die nach der Amputation erfolgende Regeneration der Beine hypophysektomierter Tiere geht ebenso wie bei normalen Larven vonstatten. Sie braucht bei hypophysektomierten Tieren eine Zeitspanne von 65 bis 72 Tagen, auch bei den an Phalangenverlusten erkrankten Larven. Die Regeneration amputierter Beine nach Implantation einer Hypophyse in

die hypophysektomierte Larve erfolgt bei den implantierten Larven ein wenig schneller (52—56 Tage).

Nach einer solchen Reimplantation der Hypophyse bzw. des Vorderlappens wird in den Stummelfüßen durch regenerative Umbildung die Wiederherstellung der normalen Phalangenzahl angestrebt.

Ein großer Teil des Regenerationsblastems ist hämatogenen Ursprungs und hat sich aus Lymphocyten entwickelt.

Schrifttum.

- Arey*: Anat. Rec. **11** (1917). — *Böhmel*: Roux' Arch. **115**. — *Carrel and Ebeling*: J. of exper. Med. **36** (1922). — *Dixey and Schäfer*: Proc. roy. Soc. Lond. **31**. — *Fischer, A.*: Gewebezüchtung. München 1930. — *Fritsch*: Zool. Jb. **30** (1911). — *Froböse*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **30** (1932). — *Goette*: Entwicklung und Regeneration der Gliedmaßen bei den Molchen. Leipzig 1879. — *Hellmich*: Roux' Arch. **121** (1930). — *Hintzsche*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **12**. — *Kasanzeff*: Roux' Arch. **121** (1930). — *Liek, E.*: Arch. klin. Chir. **119** (1922). — *Lubosch*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **11, 12**. — *Klatt, B.*: Roux' Arch. **123** (1931). — Roux' Arch. **130** (1933). — *Jordan*: Amer. J. Anat. **24** (1918). — *Maximow*: Arch. mikrosk. Anat. **67** (1906). — Arch. mikrosk. Anat. **76** (1910). — Klin. Wschr. **5** (1926). — Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 2, T. 1. 1927. — *Müller, W.*: Normale und pathologische Physiologie der Knochen. Leipzig 1924. — *Pommer*: Virchows Arch. **92** (1882). — Z. Anat. **75**. — *Schaffer*: Arch. Entw.-mech. **5**. — *Schulze, Fritz*: Arch. klin. Chir. **118** (1921). — *Seeger*: Z. Zellforsch. **19**, H. 3 (1933). — *Stieve*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **16** (1929). — *Vierling*: Z. Anat. **81** (1926). — *Weidenreich*: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 2, T. 2. 1927. — *Wurmbach*: Z. Zool. **129**.
-