

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin
[Direktor: Prof. Dr. R. Rössle].)

Über die Pigmentbildung in den Zellkernen melanotischer Geschwülste.

(1. Beitrag zur Pathologie des Zellkernes.)

Von

Dr. med. habil. Kurt Apitz,

Oberassistent am Institut.

Mit 5 teils farbigen Abbildungen im Text.

In den Ansichten, welche über die Entstehung des Melanins entwickelt worden sind, hat ein halbes Jahrhundert cytologischer Forschung seinen Niederschlag gefunden. Die zunehmende Kenntnis vom Feinbau der Zellen war von Kontroversen begleitet, deren schärfste Exponenten zwar verstummt sind, die sich aber in Teilgebieten wie dem hier behandelten noch heute auswirken. Daher werden die weit auseinandergehenden Auffassungen der Melanogenese nur bei einer historischen Betrachtungsweise und bei Berücksichtigung ihrer engen Verknüpfung mit der Entwicklung der allgemeinen Cytologie verständlich.

Abgesehen vom *Golgi*-Apparat gibt es keine morphologisch nachweisbare Struktur der in Betracht kommenden Zellen, welche man nicht zur Melaninbildung in Beziehung gesetzt hätte. Ein Überblick über die bisherigen Theorien der Melanogenese ordnet sich daher am besten nach der Art der Zellgebilde, die das Pigment nach Ansicht der Untersucher bilden sollen.

Abgabe der Pigmentvorstufe durch den Kern. Die Bildung des Melanins aus Stoffen des Zellkernes wurde zwar schon von *Mertsching* und *Jarisch* vertreten, erhielt aber stärkeren wissenschaftlichen Rückhalt erst durch die Chromidienlehre. *R. Hertwig* beobachtete bei Aktinosphärien die Entstehung von Pigment aus Substanzen, die die Färbbarkeit des Chromatins besaßen und nach seiner Auffassung aus dem Kern stammten. Die Anwendung der Chromidienlehre auf den Pigmentierungsvorgang in menschlichen Zellen wurde von *Rössle* durch folgende Beobachtungen begründet: Anschwellung der Nucleolen vor der Pigmentbildung, Heranrücken derselben an die Kernmembran mit Bildern von tröpfchenartigen Durchtritten, häufige Anlagerung der neugebildeten Pigmentkörnchen an den Kern. *Staffel* bestätigte *Rössles* Befunde an der Haut, ebenso *Meirowsky* an bestrahlter und während der Bräunung ausgeschnittener menschlicher Körperhaut. Der letztere Untersucher ersetzt den Ausdruck Nucleolen durch „pyrenoide Substanz“ und legt besonderen Wert

auf Übergangsbilder, aus denen die fortschreitende Pigmentierung der ausgetretenen Substanzteilchen hervorgehen soll. Auch *v. Szily* fand Nucleolenausstritte am Melanosarkom des Auges, ähnlich noch in letzter Zeit *Ludford* am Melanosarkom des Pferdes und *Graupner* und *Fischer* (1) sowie *Graupner* am Tintendrüsenepithel bei *Sepia*.

v. Szily hat außerdem den Übergang von Kernchromatin in Melanin beschrieben. Stäbchenförmige Auswüchse, „ausgeströmtes“ Chromatin, ganze Chromosomen und degenerierende Kerne sollen — auch bei der Entwicklung der Retina des Hühnchens — in Pigment überführt werden; *Jeliaskowa* bestätigt diese Befunde, während *Rényi* sie am selben Objekt nachgeprüft und auf färberische und optische Täuschungen zurückgeführt hat. Andererseits war es vielen späteren Untersuchern auch nicht möglich, Nucleolenausstritte während der Pigmentbildung zu erkennen; nach den zahlreichen vorliegenden Angaben können derartige Vorgänge heute jedenfalls nicht mehr als unerläßliche Begleiterscheinungen der Melanogenese angesehen werden. Daß der Kern trotzdem — in einer „unsichtbaren“ Weise — am Melaninbildungsprozeß teilhat, ergab sich für *Hooker* sowie *Graupner* und *Fischer* (2) aus Zeichen der Kernaktivität wie Größenzunahme, Nucleolenschwellung, Chromatindispersion und der Lokalisation der ersten Melaninkörnchen in Kernnähe. Allerdings sind auch all diese Befunde nicht unwidersprochen geblieben. *Graupner* spricht in einem bestimmten Falle direkt von der Abgabe „flüssiger Stoffe“ durch den Kern, geht aber nicht näher darauf ein, welche Beobachtungen er in dieser Weise deuten zu müssen glaubte. Den neueren Anschauungen von Stoffaustausch zwischen Kern und Protoplasma [*G. Hertwig* (1)] würde eine Kernsekretion, welche unter gewöhnlichen Umständen unsichtbar bleibt, am besten entsprechen. In der Mehrzahl der Fälle hat sich der früher so häufig angenommene Austritt geformter Kernbestandteile als Täuschung oder Kunstprodukt erwiesen [*G. Hertwig* (2)]. Selbst wenn also die Melanogenese nicht notwendig mit sichtbaren Kernstoffaustritten verbunden sein sollte, wäre dadurch eine Beteiligung des Kernes an der Melaninbildung nicht widerlegt.

Intranucleäre Melaninbildung. Zugunsten der Abstammung des Melanins aus dem Zellkern werden öfter Angaben älterer Untersucher angeführt, welche Melanin im Zellkern selbst gesehen haben. Die Nachprüfung der zum großen Teil bei *Rabl* zitierten Beobachtungen ergibt allerdings, daß einwandfreies Kernmelanin bisher nur von zwei Untersuchern festgestellt wurde. Die Beobachtung *Leydigs* betrifft Pigmentzellen eines Knochenfisches, diejenige *Maurers* Epithelzellen von *Pleurodeles*, einer ausländischen tritonähnlichen Art. *Fischer* (1) glaubt in den Nucleolen der atretischen Follikel von *Triton alpestris* vereinzelte Pigmentkörnchen gesehen zu haben; auch *Goda* gibt Pigmentbildung in Nucleolen an. Die Angaben von *Ajello* betreffen Leber- und Nierenzellen von Versuchstieren, haben also mit Melaninbildung vermutlich

nichts zu tun ¹. *Rosenstadt* will Kernpigment in der Nickhaut des Frosches und in der Anlage des sogenannten Eizahnes beim Hühnchen gesehen haben; doch fehlen Abbildungen und nähere Angaben. *Lukjanow* hat in einem Melanosarkom des Menschen „an Stelle der Kerne verschieden große, unregelmäßige Pigmentschollen“ wahrgenommen. *Steinhaus* hat am gleichen Material Kerneinschlüsse gesehen und abgebildet, die wohl mit Sicherheit als Melanin anzusprechen sind; allerdings hat er sie nicht unter dem Gesichtspunkt des Problems der Melanogenese gewürdigt, sondern die Frage aufgeworfen, ob es sich bei den Einschlüssen um intracelluläre Parasiten handeln könne. Bei der Beschreibung eines Melanosarkoms des Pferdes erwähnte *Ludford* in Vakuolen der Kerne gelegenes Pigment. Von den älteren Beobachtungen, die also mit Zurückhaltung zu beurteilen sind, kann nur diejenige von *Steinhaus*, von den neueren die Beobachtung *Ludfords* als sicherer Nachweis von Kernmelanin anerkannt werden.

Entstehung des Melanins aus farblosen Zellgranula. Ähnlich wie die Chromidienlehre *Hertwigs* von der Beobachtung eines Pigmentierungsvorganges ihren Ausgang nahm, ist auch *Altmanns* Granulalehre im Anschluß an die Zergliederung des Feinbaues der Melanoblasten entstanden. *Altmann* verglich die Pigmentkörner mit den ungefärbten Granula anderer Zellen. *Reinke* machte dann die Beobachtung, daß im Zellprotoplasma eine ungefärbte Vorstufe des Pigmentes in granulärer Form zu finden ist. Die Existenz dieser „Propigmentgranula“, wie sie *J. Fischer* (2) neuerdings treffend genannt hat, wurde von *Lubarsch* bestätigt. In einer Reihe von Mitteilungen (*Galeotti, Fischel, Smith* u. a.) wurde die jetzt allgemeine Annahme vertreten, daß der Melaninbildung die Entstehung ungefärbter Granula vorausgeht. Allerdings wird die Bezeichnung dieser Granula als „Melaninbildner“ nicht dem Umstand gerecht, daß mit der Ausbildung der Granula der wesentliche Prozeß der Melaninbildung bereits vollzogen ist und nur noch ein modifizierender Einfluß, vielleicht die Wirkung von Oxydasen, den Übergang in die gefärbte Form herbeiführt. Die Beschreibung der Granula hat also nur den letzten Akt des verwickelten Melaninbildungsprozesses aufgedeckt. Doch muß der Prozeß nicht in allen Fällen über eine ungefärbte Vorstufe führen. *Hueck* (S. 421) hat ferner betont, daß die Bleichung fertigen Melanins nur in einem Teil der Fälle Propigmentkörnchen aufzudecken vermag.

Melaninbildung durch die Mitochondrien. Nachdem im weiteren Ausbau der Granulalehre die Mitochondrien als regelmäßige Zellbestandteile erkannt waren, wurde ihnen bald die Funktion der Pigmentbildung zugeschrieben. In diesem Sinne verwertete man Formähnlichkeiten

¹ Ebenso sind die Beobachtungen von *Browicz* und *Berg* an Leberzellkernen nicht hergehörig, da das betreffende Kernpigment offenbar Lipofuscin ist.

und Übergänge zwischen neuentstandenen Melanin und den Mitochondrien, den direkten Zerfall der Mitochondrien in Pigmentkörner, sowie Vitalbeobachtungen (*Prenant, Asvadourova, Luna, Busacca, Turchini, Rényi, Voinov*). Damit war ein scharfer Gegensatz der neuen Beobachtungen zur alten Auffassung des Melanins als Kernprodukt eingetreten. *Wassermann* (2) suchte ihn durch den Hinweis zu mildern, daß nach seinen (1) und *Schreiners* Arbeiten Plasmosomen durch den Zellkern gebildet werden können. Gegebenenfalls könnte auch der für die Melaninbildung verantwortliche mitochondriale Apparat aus dem Kern stammen.

Melaninbildung durch die Lipochondrien. Von *Ries* sind die von ihm als „Lipochondrien“ bezeichneten Gebilde des Protoplasmas mit der Pigmentbildung in Zusammenhang gebracht worden. *Ries* (1) vertritt die Ansicht, daß „außer den Mitochondrien in den Lipochondrien noch ein weiteres ständiges cytoplasmatisches Organell vorhanden ist, das sich in seinem typischen Zustand am sichersten durch die elektive Vitalfärbung mit basischen Farbstoffen nachweisen läßt“. Weitere wichtige Eigenschaften sind nach *Ries* die Osmierbarkeit infolge Fettgehaltes und die besondere Speicherefähigkeit dieser Gebilde. An einem klassischen Objekt der Melaninforschung, der Tintendrüse von *Sepia*, hat *Ries* (2) Befunde erhoben, welche den früheren Angaben von *Turchini* sowie *Graupner* und *J. Fischer* nicht entsprechen. Die Chromidienbildung bei der Melaninproduktion sowie sonstige Zeichen von Kernaktivität sollen mit Sicherheit auszuschließen sein; die von den früheren Untersuchern als Chondriom angesehene Struktur soll zum großen Teil aus dem Ergastoplasma in der für eine Drüsenzelle typischen Gestalt bestehen. Die Lebendbeobachtung der Melaninentstehung sowie die Schnittuntersuchung melaninbildender Zellen führen *Ries* zu folgendem Ergebnis: „Die Bildung der Pigmentkörner geht von typischen Lipochondrien aus, die sich vergrößern und reich zerteilen, wobei das Pigment zunächst in der Rindenzone der Abschnürungsgranula in Form von Kappen, Buckeln und aufsitzenden Körnern erscheint. Die Lipochondrien sind osmiophil und basisch vital färbbar.“ Ähnlich lautet die Beschreibung, welche *Ries* (1, S. 168) von der Melaninentstehung bei *Gastrobusta* auf Grund gemeinsamer Untersuchungen mit *Schölzel* gibt: „Bei der Meduse ist vor allem die Pigmentbildung innerhalb vergrößerter Lipochondrien bemerkenswert. Die Pigmentbildung ist verbunden mit dem allmählichen Verlust des Fettgehaltes und der Vitalfärbbarkeit, während wenigstens vorübergehend Eiweißstoffe angereichert werden. Die Leukomethylenblaumethode ergibt eine ausgesprochene elektive Oxydation zu Methylenblau in den entstehenden Pigmentgranula. Die Pigmentbildung ist also innerhalb der Lipochondrienabkömmlinge mit Oxydationsprozessen verbunden.“ In einer neuen ausgedehnten Untersuchung hat *J. Fischer* (2) ¹ mittels der Gewebezüchtung die Pigment-

¹ Dankenswerterweise wurde mir Einsicht in das Manuskript gewährt.

bildung des Irisepithels vom Hühnchen untersucht. Auch an diesem Objekt ergab sich eine melaninbildende Funktion der Lipochondrien im Sinne von *Ries*. Doch konnten außerdem Mitochondrien, welche vorher fettige Stoffe aufgenommen hatten, Pigment bilden. „Der Kern ist bei der Pigment- und Propigmentgranulabildung in keiner Weise beteiligt, wenigstens haben wir dafür keine morphologischen Anhaltspunkte.“ Nach *J. Fischer* ist die gemeinsame Melanisierung der verfetteten Mito- und der Lipochondrien „vor allem durch die besondere Eigenschaft der Irisepithelzelle, bestimmte lipoidhaltige Körper in Melanin zu verwandeln bzw. in lipoidhaltigen Substraten Melaninvorstufen anzureichern bedingt“. „Treten diese lipoidhaltigen Körper nun in verschiedenen Strukturen in besonders konzentrierter Form auf, so erfolgt die Melaninbildung eben an diesen verschiedenen Strukturen, denen aber sonst in der Zelle sowohl in morphologischer wie in funktioneller Hinsicht durchaus eine verschiedene Bedeutung zukommen kann.“

J. Fischer läßt also die Alternative offen, ob die chemische Bildung des Melanins oder aber nur seine Anreicherung sich im Bereich der genannten Zellorganellen vollzieht. Daraus geht hervor, daß auch durch die schönen neuen Untersuchungen der Ort der Pigmentbildung nicht eindeutig bestimmt ist, während das erste *sichtbare Auftreten* zweifellos im allgemeinen im Cytoplasma unabhängig vom Kern erfolgt. Mit anderen Worten, *die Frage der ersten Erscheinung des Melanins muß vom Problem der Bildung des Melanogens gesondert betrachtet werden.*

Eine Reihe von Umständen spricht dafür, daß die Rolle der Lipo- und Mitochondrien bei der Melaninbildung eher eine passive als eine chemisch tätige ist. Aus sonstigen cytologischen Untersuchungen ist die Neigung dieser Zellorganellen zur Speicherung ergastischer Zellstoffe bekannt. Ferner ist die regelmäßige Verknüpfung der Melaninbildung mit dem Vorkommen von Lipoiden in den genannten Beobachtungen aufschlußreich; denn aus weiteren Untersuchungen geht die Fähigkeit der Lipoiden zur Aufnahme von Melanin hervor, während eine chemische Überführung der Lipoiden in Melanin nicht erwiesen und wenig wahrscheinlich ist.

Die Rolle der Lipoiden bei der Melaninbildung. *Kreibich* hat den Pigmentierungsvorgang der Haut, der Haare, der Naevi, der Melanosarkome und in der Retina untersucht und eine maßgebliche Mitwirkung doppelt brechender sudanophiler Stoffe festgestellt. „Beim Entstehen des Pigmentes unterscheidet man eine lipoiden und melanotische Komponente; je nach dem Stadium, nach der Art und dem physiologischen Zweck der Pigmentation prävaliert die eine oder andere Komponente; jedes Stadium kann durch längere Zeit andauern oder der Übergang erfolgt rasch.“ *Hueck* (S. 422) hat sich allerdings mit Recht dagegen verwahrt, daß *Kreibich* die Melanine den Lipochromen gleichsetzt und darauf hingewiesen, daß ein chemischer Übergang von Lipoid in Melanin

nicht bewiesen ist. Untersuchungen von *Mulon* beziehen sich auf Pigmente, die dem Melanin zwar nahe stehen, aber vielleicht nicht mit ihm identisch sind. Doch sind sie geeignet, auf das Verhältnis zwischen Pigment und Lipoid im allgemeinen ein bezeichnendes Licht zu werfen. An verschiedenen Organen (atretischen Gelbkörpern, Hodenzwischenzellen, der Nebennierenrinde und interstitiellen Eierstockszellen des Kaninchens) hat *Mulon* nur aus lipoidhaltigen Zellen pigmenthaltige hervorgehen sehen. Der Pigmentbildung im Bereich von Mitochondrien ging gewöhnlich Verfettung voraus. Um zu bezeichnen, daß die Pigmente nicht aus Lipoiden gebildet, sondern an sie gebunden werden, hat *Mulon* den treffenden Ausdruck „Pigmentopexie“ geprägt. Auch *Voinov* und *Goda* betonen die enge Verknüpfung der Lipoid- mit der Melaninablagerung in der Zelle.

Die Beobachtungen über die Rolle der Lipide bei der Melaninbildung sprechen also durchaus im Sinne der passiven Speicherung von Pigment durch verfettete Lipo- und Mitochondrien. Die Überführung des Propigments in die gefärbte Form wird vielleicht durch ein dort lokalisiertes Oxydationsvermögen der Zelle begünstigt, wie es von *Ries* u. a. für bestimmte Fälle nachgewiesen wurde.

Extracelluläre Melanogenbildung. Während alle bisher genannten Untersucher die Melaninvorstufen in der Zelle entstehen lassen, wird von anderer Seite ihre Herkunft aus dem Blut behauptet. *Bloch*, welcher die Bedeutung oxydierender Fermente für die Melaninbildung am nachdrücklichsten vertreten hat, lehnt die intracelluläre Bildung des Melanogens überhaupt ab; in ähnlichem Sinne spricht sich *Miescher* aus. Es ist nicht erforderlich, hier auf die chemischen Grundlagen solcher Anschauungen näher einzugehen¹. Andere Untersucher (*Thannhauser* und *Weiss*, *Moncorps*, *Gans* und *Lutz*) gehen nicht ganz so weit wie *Bloch*. Sie verlegen zwar den letzten Akt der Melaninbildung in die Zelle, glauben aber, daß normale Spaltprodukte des intermediären Eiweißstoffwechsels zu seinem Aufbau verwendet werden. *Meirowsky* (2) hat eine Reihe von Gründen dagegen angeführt; auch die neueren Ergebnisse der Gewebezüchtung sind mit *Blochs* Annahme nicht vereinbar. Die Arbeiten von *Doljanski* und anderen haben gezeigt, daß die Pigmentbildung auf einer spezifischen Fähigkeit von Zellen beruht; sie wird zwar von den Wachstumsverhältnissen und der Dauer der in vitro-Züchtung beeinflusst, ist aber nicht von der Zufuhr irgendwelcher besonderen Substanzen mit dem Nährmedium abhängig.

Unter pathologischen Bedingungen, z. B. bei *Addison*scher Krankheit oder Arsen- bzw. Teerzufuhr, treten melaninartige Farbstoffe auf, deren extracellulärer Ursprung aus manchen Gründen angenommen wird. Es ist jedoch nicht sicher, ob diese Pigmente mit Melanin chemisch

¹ Übersichtliche Darstellungen der Chemie des Melanins und seiner Vorstufen geben *Fürth* sowie *Jacobsen*.

identisch sind. Auch wenn die extracelluläre Herkunft sowie ihre chemische Gleichheit mit Melanin bewiesen würden, wäre damit noch nicht gesagt, daß das physiologische Melanin den gleichen Ursprung wie ein solcher unter pathologischen Bedingungen entstandener Farbstoff haben muß.

Fragestellung der vorliegenden Arbeit. Aus der kritischen Würdigung der bisherigen Untersuchungen ergibt sich also ein noch unvollkommenes Bild der Melanogenese. Das häufige Auftreten ungefärbter körniger Pigmentvorstufen im Zelleib ist sichergestellt. Das Melanin bzw. das Propigment erscheint in der Zelle in innigem örtlichem Zusammenhang mit den Mito- und Lipocondrien. Die Rolle der Lipotide besteht wahrscheinlich in „Pigmentopexie“. Es ist nicht erwiesen, daß der Erscheinungsort des Pigmentes in der Zelle mit seinem Bildungsort zusammenfallen muß. Vielmehr werden über den Bildungsort drei miteinander nicht verträgliche Theorien vertreten, nämlich die Herkunft des Melanogens aus dem Kern, aus den Plasmaorganellen oder aus dem Blut.

Da sämtliche bisherigen Untersuchungen sich auf die Entstehung des protoplasmatischen Melanins beziehen, waren von einer Untersuchung der im Kern erfolgenden Pigmententstehung neue Aufschlüsse zu erwarten. Der Verfasser hat die zufällige Beobachtung von Melanin in Naevuszellkernen, welche bisher nicht beschrieben wurde, zum Anlaß genommen, die Entstehung des Kernmelanins zu erforschen. Dabei stellte sich heraus, daß Melanosarkome gelegentlich in reichem Ausmaß bestimmte Kernveränderungen zeigen, welche schließlich zur Pigmentanhäufung innerhalb des Kerns führen. So beziehen sich die im folgenden wiedergegebenen Beobachtungen auf diese beiden melanotischen Geschwulstarten, wobei sich Melanosarkome für die Untersuchung cytologischer Feinheiten aus technischen Gründen als geeigneter erwiesen haben.

Ohne im Gegensatz zu den neueren Befunden über die Rolle der Cytoplasmaorganellen zu stehen, führen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit dazu, den Zellkern in Bestätigung der früher entwickelten Auffassung von Rösle und Meirowsky als den Entstehungsort des Melanogens zu betrachten.

Eigene Beobachtungen.

Material und Methoden. Die vorliegenden Untersuchungen stützen sich auf die eigene histologische Verarbeitung von 12 Pigmentnaevi der Haut und 4 Sektionsfällen von Melanosarkomen. Ihre Ergebnisse wurden am chirurgischen Einlaufmaterial des Instituts der letzten 5 Jahre nachgeprüft, wobei Paraffinschnitte von 21 weiteren Pigmentnaevi und 29 Melanosarkomen durchgesehen wurden.

Das gesamte Material war formalinfixiert. Möglichst dünne Paraffinschnitte wurden unter anderem nach folgenden Methoden behandelt:

1. Hämatoxylinfärbung:
 - a) ohne, b) mit Eosinfärbung,
2. Färbung mit Methylgrün-Pyronin,
3. Versilberung nach *Masson* in der vereinfachten Modifikation von *Hamperl*, mit folgenden Nachfärbungen:
 - a) Hämatoxylin, b) Hämatoxylin-Eosin, c) Methylgrün-Pyronin,
4. Bleichung mit H_2O_2 , Nachfärbung mit Hämatoxylin.

Außerdem wurde an Gefrierschnitten nach Gelatineinbettung mit Scharlachrot bzw. Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Der Gebrauch von Eosin ist nur dann ratsam, wenn durch eine vorausgehende einwandfreie Versilberung alles vorhandene Pigment tiefschwarz dargestellt ist; denn kleinere Pigmentmengen in nativem Zustand werden vom Eosin verdeckt. Als beste Färbemethode haben sich 1a und 3c herausgestellt. Eine schwache Kernfärbung mit Hämatoxylin läßt auch das nicht versilberte Pigment gut hervortreten (1a). Durch 3c werden Chromatin, Nukleolen und Pigment in elektiver Weise dargestellt. Allerdings ist es mir nicht gelungen, die Färbung auch in den stärker pigmentierten Bezirken einwandfrei zu erreichen; es tritt hier eine leichte diffuse Bräunung des Gewebes durch die Silberlösung ein, welche das Angehen der Nachfärbung benachteiligt. Befunde an solchen Tumorteilen müssen sich auf die einfache Methylgrün-Pyroninfärbung (2) stützen.

Beobachtungen an Melanosarkomen.

1. *Analyse der Kernveränderungen.* Die hier zu behandelnden Kernveränderungen wurden in der Leistendrüsenmetastase eines Melanosarkoms in reichem Ausmaß gefunden. Bei diesem Falle (S. 193/37, P. I. d. Univ. Berlin) hatte ein Melanosarkom der Ferse trotz starker örtlicher Einschmelzung durch Bestrahlung zum Tod an ausgedehnter Metastasierung geführt. Die Ausbreitung der Geschwulstzellen erfolgte lymphogen in die angrenzende Haut sowie in die zugehörige inguinale und in die paraaortalen Lymphdrüsen, auf dem Blutwege als kleinknotige Aussaat in Lungen, Leber und Wirbelsäule. Eine etwa walnußgroße Leistendrüse war makroskopisch größtenteils braunschwarz gefärbt, zum kleineren Teil weißlich und markig. Die histologische Untersuchung dieser Drüse ergab folgendes:

Das Tumorgewebe ist zu etwa $\frac{2}{3}$ pigmentiert. Die Grenze zwischen den pigmentfreien und den pigmenthaltigen Bezirken ist ziemlich unscharf. Die Geschwulstzellen haben im allgemeinen epithelähnlichen Charakter bei großer Vielfalt der Formen. Die Kerne haben ein ziemlich grobbalkiges, aber weitmaschiges Chromatingerüst und Kernmembranen, die sich scharf gegen das Kerninnere absetzen. Meist enthält jeder Kern nur eine Nukleole, die naturgemäß in dünnen Schnitten nicht immer getroffen ist. Mehrfache Nukleolen findet man vorwiegend in Riesenkernen. Die Nukleolen haben zum Teil beträchtliche Größe. Jedoch werden auch die ganz großen, nahezu den Zelleib ausfüllenden Formen fast nie vacuolär. Die am stärksten

pigmentierten Bezirke der Geschwulst sind stellenweise nekrobiotisch oder ganz zerfallen.

Schon bei schwachen Vergrößerungen fallen in der Mehrzahl der Geschwulstzellen eigentümliche Kernveränderungen auf, die von kleinen vacuolären Bildungen bis zu starker Entstellung der Kerne durch verschiedenartige Einschlüsse führen. Im folgenden werden die Kernanomalien in der Reihenfolge ihrer vermutlichen Entwicklung dargestellt. Die Angaben über das färberische Verhalten beziehen sich auf Methylgrün-Pyroninfärbung, mit oder ohne vorausgehende Versilberung.

Das kleinvacuoläre Stadium. Die häufigste Kernveränderung in wenig pigmentierten Gebieten besteht in kleinen bläschenförmigen Gebilden von etwa 1—2 μ Durchmesser. Sie verursachen meist feine Auftreibungen des Chromatingerüstes oder der Kernmembran, da sie stets inmitten des Chromatins zu entstehen scheinen. Eine recht dichte und gleichmäßige Umhüllung mit Chromatin ist vorhanden; für einen Verbrauch des Chromatins bei der Entstehung der Gebilde besteht kein Anhaltspunkt. Auch bei Entwicklung zahlreicher Bläschen — es können bis zu 10 in einem Kern gefunden werden — ist von einer Abnahme des Chromatins nichts zu bemerken. Der Inhalt der Bläschen ist homogen und hat einen gelbbraunlichen Farbton. Je größer die Bläschen sind, um so deutlicher tritt eine rötliche Färbung ein, die der des Protoplasmas ähnlich ist. Jedoch besitzt sie meist nicht die gleiche Dichtigkeit. Dieser rötliche Farbton ist gewöhnlich erreicht, wenn die Vakuolen etwa die gleiche Größe wie in Abb. 4a erlangt haben.

Scheinbarer Austritt von Vakuoleninhalt aus dem Kern. Vakuolen, die in nächster Nähe der Kernmembran entstehen, buchten sich häufig halbkugelig in das Plasma über die Höhe der Kernmembran hinaus vor. Eine solche Bildung ist am oberen Rand des Kernes c der Abb. 1 zu erkennen. Offenbar entstehen in diesen Fällen die Bläschen innerhalb der Kernmembran, wobei letztere gewissermaßen gespalten wird und der Vakuoleninhalt die beiden Blätter auseinanderdrängt. Dafür spricht die Entstehungsart der Gebilde, welche stets inmitten von Chromatin auftreten. Dadurch, daß zuweilen eine Abgrenzung des Vakuoleninhalts gegen das Protoplasma zu fehlen scheint, entstehen auffällige Bilder. Auf den ersten Blick sieht es so aus, als ob die Kernmembran an der Stelle der stärksten Vorwölbung geschwunden sei. Würde das zutreffen, so wäre dann ein Mechanismus des Kernstoffaustrittes gegeben, bei welchem die Kontinuität der Kernmembran nicht unterbrochen würde. Der Kern d der Abb. 1 z. B. könnte in diesem Sinne gedeutet werden.

Nun gelingt es aber doch, an den meisten derartigen Vakuolen eine feinste strichförmige, plasmawärts gelegene Chromatinumhüllung zu erkennen. Dieselbe liegt an der Grenze der optischen Darstellbarkeit. Aber auch bei jenen Bläschen, die eine solche feinste Umhüllung nicht

erkennen lassen, setzt sich der Bläscheninhalt mit kugeliger Oberfläche scharf gegen das Protoplasma ab. Niemals werden Mischung oder Ausströmung der unterschiedlich gefärbten Stoffe beobachtet. Bei der Feinheit der in Frage stehenden Veränderungen sind die Verhältnisse allerdings nicht an allen Kernen übersichtlich. Wo aber gute Beobachtung möglich ist, habe ich mich nie von echten Kernstoffaustritten

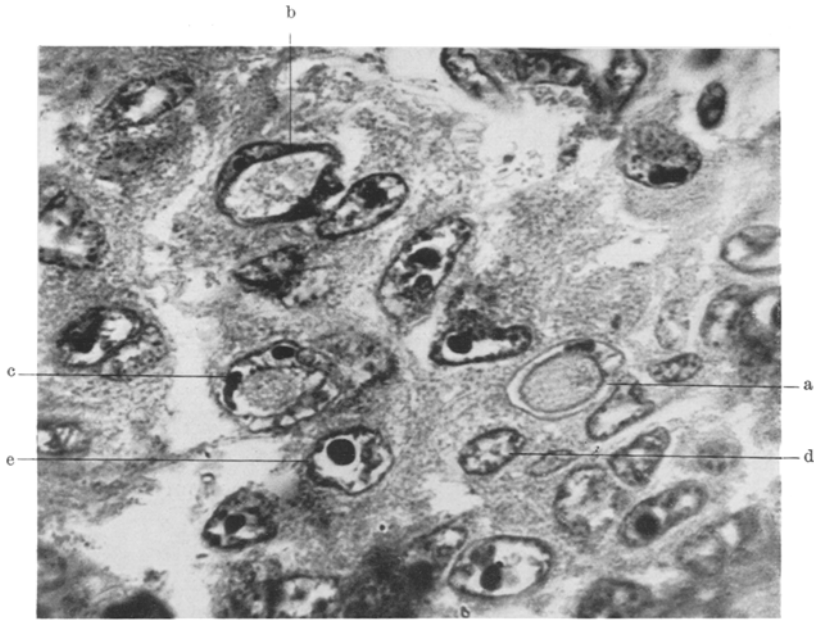


Abb. 1. S.N. 193/37, Vergr. 1:1150, Färbung mit Methylgrün-Pyronin nach Versilberung nach *Masson Hamperl*. Vacuoläre Kernveränderungen: a, b, c Kerne mit großen chromatinumsäumten Vacuolen und deutlich erkennbaren, unveränderten Nukleolen, keine Pigmentbildung. In c kernrandnahes Bläschen, in d das gleiche mit scheinbarer Öffnung in das Plasma; e geblähter Nucleolus mit Zurückweichen des Chromatins.

überzeugen können. Es war auch niemals zu beobachten, daß in der Nachbarschaft der am Kernrand gelegenen Bläschen Pigmentierungsvorgänge einsetzten. Man darf also annehmen, daß die am Rand liegenden Bläschen zu erheblichen Verdünnungen der Kernmembran, oft bis unter die Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit, führen. Aber ein Beweis für die freie Ergießung ihres Inhalts in das Plasma ist nicht zu erbringen.

Großvacuoläres Stadium. Ich kehre nun zum Schicksal der Vakuolen innerhalb des Kerns zurück. Ihre Vergrößerung geht zum Teil durch Ausweitung der einzelnen Vakuolen, außerdem durch Verschmelzung mehrerer Bläschen vor sich. Abb. 4a zeigt zwei kleine Bläschen, deren Lichtungen bereits in Verbindung stehen. Die Färbbarkeit des Vakuolen-

inhalts gleicht sich derjenigen des Protoplasmas an; sie hat aber niemals etwas mit den Nukleolen gemeinsam. Während die letzteren tiefdunkelrot sind, bleibt der Vakuoleninhalt stets heller und mehr violett getönt. Die Farbunterschiede bei Hämatoxylin-Eosinfärbung sind nicht ganz so scharf. Der Bläscheninhalt wird hier mehr blaßrötlich, die Nukleolen dunkelrötlich. Farbübergänge zwischen beiden Bildungen habe ich nicht gesehen; auch konnten niemals Zweifel über die Zugehörigkeit rötlich gefärbter Kerninhalte zu Nukleolen einerseits, Vakuolen andererseits auftauchen.

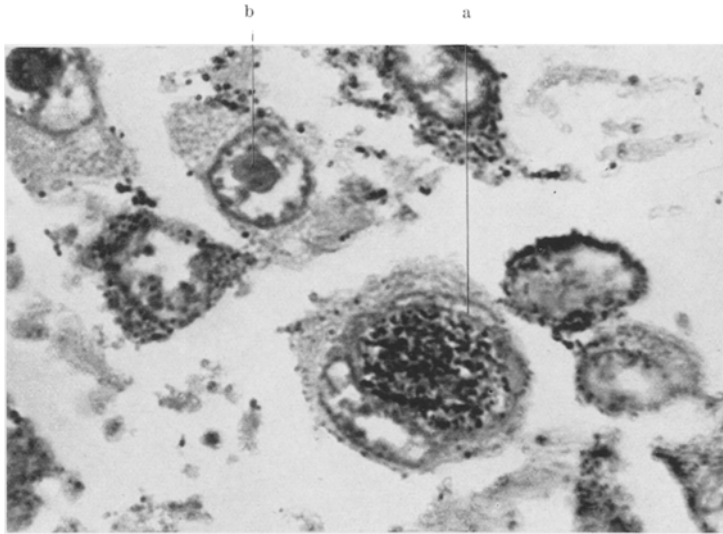


Abb. 2. Gleiches Material wie Abb. 1, *Masson-Hamperl*, Hämatoxylin. Vergr. 1:1700. a zahlreiche Pigmentkörner in einer Kernvakuole, deren Chromatinsäumung am Ende des Hinweisungsstriches gut erkennbar ist; im Plasma nur vereinzelte Körner. b großer Nucleolus, beginnende Pigmentierung des Plasmas.

Auch bei der weiteren Größenzunahme bleiben die Vakuolen stets von einem Chromatinmantel umhüllt, welcher die gleiche Dichtigkeit wie die Kernmembran besitzt. An Nukleolen kann man eine derartige Erscheinung niemals beobachten. Im Gegenteil gewinnt man bei geblähten Nukleolen eher den Eindruck eines unregelmäßigen Zurückweichens des Chromatins in Richtung auf die Kernmembran (Abb. 1e u. 2b). Die Vakuolen nehmen so sehr an Größe zu, daß sie fast den ganzen Kern einnehmen. Gewöhnlich liegen sie zentral, und es ziehen dann von ihrer Chromatinsäumung zur Kernmembran speichenartige Chromatinfäden. Zwischen diesen Fäden liegen die Nukleolen, welche zwar mechanisch verdrängt sind, im übrigen aber an dem ganzen Prozeß unbeteiligt bleiben. Ihre Substanz ist auch bei der Gegenwart übergroßer Vakuolen nicht vermindert (Abb. 1a, b u. c u. 4b u. c). Es kann

vorkommen, daß in größeren Vakuolen der Inhalt bedeutend heller als das Protoplasma wird (1b), körnig fädig ausfällt oder sich in netzartigen Figuren durch den Hohlraum spannt (Abb. 4d).

Vacuoläre Kerndegeneration. Bei stärkstem Wachstum der Vakuolen verschmilzt ihre Wand mit der Kernmembran. Häufig findet man auch dann noch in den zusammengedrückten Chromatinresten den erhaltenen Nucleolus (Abb. 4d). Schließlich aber scheint dieser hohe Grad der

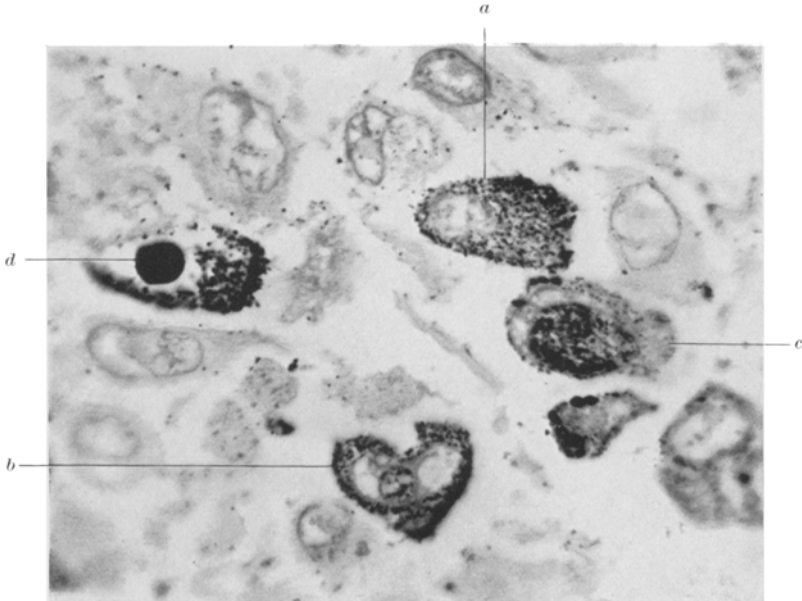


Abb. 3. Aus dem gleichen Schnitt wie Abb. 2. Vergrößerung 1:1550. *a* rein protoplasmatische Melaninbildung. *b* kleine, *c* große pigmenthaltige Kernvakuole mit wechselndem Melaningehalt des Plasmas. *d* stärkst pigmentierte Kernvakuole bei intensiver Plasmapigmentierung und Zelltod.

Kernveränderung zum Zelltod zu führen. Denn im Gerüstgewebe oder zwischen den Tumorzellen liegen ballonartig geblähte Kerne, deren Vakuolen optisch leer und deren Protoplasma und Nukleolen geschwunden sind. Das sind offenbar Zelleichen, die nur an den eigentümlich gestalteten Chromatinresten zu erkennen sind. Der degenerative Charakter der vacuolären Kernumwandlung wird durch ihr Vorkommen bewiesen.

Pigmentbildung im Zellkern. Gewöhnlich aber erreicht die Vakuolenbildung nicht so hohe Grade, daß sie zum Zelltod führt. Viel öfter schließt sich anderes ein Ereignis an, nämlich Melaninbildung im Vakuoleninhalt. Dieser Vorgang ist auf unregelmäßig verteilte kleine Bezirke und ganz verstreut liegende einzelne Zellen beschränkt.

Als regelmäßige Vorbedingung körniger Pigmentbildung findet man in den silberbehandelten Schnitten einen deutlichen Farbumschlag des Vakuoleninhalts, welcher nun statt des rötlich-violetten einen rein grauen Farbton zeigt. Der Farbübergang ist ein ganz allmählicher, so daß man bei manchen Zellen zweifelhaft sein kann, ob sie noch dem Stadium der Abb. 4c oder schon der Abb. 4e entsprechen. Am Protoplasma konnte auch im Beginn der Melaninbildung ein derartiger Farb-

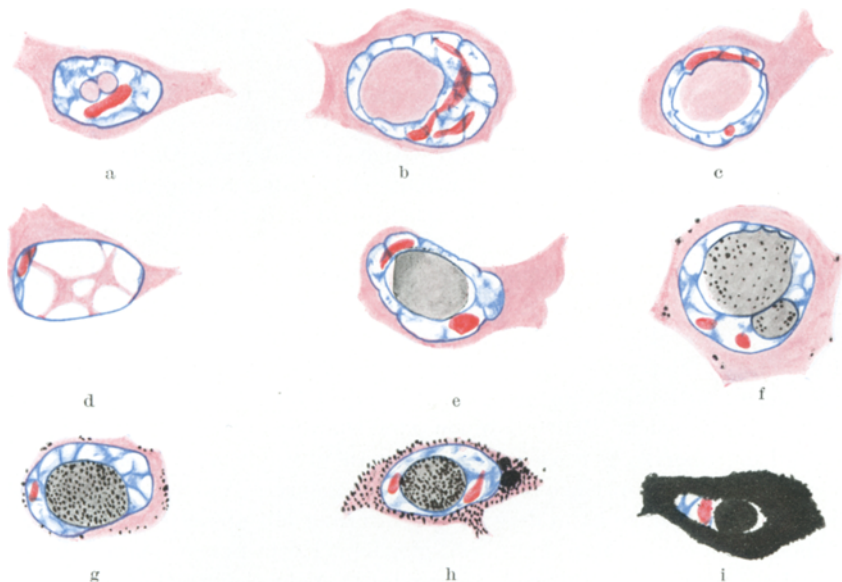


Abb. 4. Aus dem gleichen Schnitt wie Abb. 1. Zeichnung mit dem ABBÉschen Apparat, Vergr. 1 : 1350. a, b, c verschiedene Grade der Kernvakuolenbildung; d vacuoläre Kerndegeneration; e Farbumschlag des Vakuoleninhalts; f bis i verschiedene Grade der körnigen Pigmentablagerung in Kern und Plasma bei guter Erhaltung der Nukleolen.

umschlag nicht beobachtet werden. Die diffuse Graufärbung des Vakuoleninhalts kann mehr bräunlich erscheinen, wenn die Schnitte zu stark mit Thiosulfat behandelt worden sind. In nicht mit Silber behandelten und einfach mit Hämatoxylin gefärbten Schnitten erkennt man zuweilen gleichfalls eine feinste diffuse gelbliche Tönung. Es ist anzunehmen, daß diese nicht körnige Melanindurchtränkung der Ausflockung des Farbstoffs vorausgeht und durch die Versilberungsmethode nur deutlicher dargestellt wird. Andererseits ist die Möglichkeit nicht ganz auszuschließen, daß es sich dabei um die Färbung von Pigmentvorstufen im Sinne von *Schreiber* und *Schreiner* handelt.

In den so veränderten Vakuolen erscheinen Pigmentkörnchen, zunächst vereinzelt und unregelmäßig verteilt (Abb. 2a, 3c u. 4f). Sie nehmen an Dichtigkeit zu, wobei die Gestalt der Zelle, insbesondere ihre Chromatinhülle, keine Veränderung erleidet. Gleichzeitig

verdichtet sich meistens das Pigment im Protoplasma, welches auch in scholligen Massen auftreten kann (Abb. 4g u. h). Die Färbung mit Scharlachrot ergibt keinen Anhaltspunkt für das Vorkommen von Fettstoffen in Kernvakuolen, gleichgültig, ob in den Kernen Melanin enthalten ist oder nicht. Die echte Melaninnatur des Kernpigments wird durch Bleichung mit H_2O_2 und Schwarzfärbung bei Versilberung nach *Masson-Hamperl* erwiesen.

Große zusammenhängende Melaninmassen, welche keine Körnelung mehr erkennen lassen und die frühere Vakuole als grober Klumpen ausfüllen, werden nur selten beobachtet. Gewöhnlich ist dann auch das gesamte Protoplasma stark von Melanin erfüllt (Abb. 3d u. 4i). In diesem Endstadium kann man häufig noch Chromatinreste und intakte Nukleolen erkennen. Irgendeine sonstige Veränderung des Chromatins oder der Nukleolen während der Entstehung des Kernpigments habe ich nicht gesehen. Insbesondere ist innerhalb der Nukleolen niemals Melanin aufgetreten.

Die Beziehung der protoplasmatischen zur nukleären Melaninbildung. Die gewöhnliche Art der Melaninbildung ist auch in dem hier beschriebenen Tumor die protoplasmatische; sie überwiegt die intranukleäre bei weitem. Betrachtet man aber nur die Zellen, welche Kernvakuolen enthalten, so besteht ein gewisses „Primat“ der Melaninentstehung im Kern. Denn solche Zellen können zwar häufig nur im Kern Pigment enthalten, aber so gut wie nie findet man protoplasmatisches Pigment bei freigebliebenen Kernvakuolen. Sind mehrere Vakuolen in einem Kern vorhanden, so kann deren Pigmentierung mit ungleicher Geschwindigkeit ablaufen. Man kann im gleichen Kern neben pigmentfreien deutlich, wenn auch schwach pigmentierte Vakuolen treffen.

Das Kernpigment ist besonders in solchen Gebieten aufzufinden, wo zwei Vorbedingungen zutreffen, nämlich Häufigkeit vacuolärer Kernveränderung und protoplasmatischer Pigmentbildung. Das Zusammenreffen dieser beiden Faktoren scheint das Auftreten von Kernmelanin im Melanosarkom weitgehend zu bestimmen.

Der sichtbare Austritt von Kernteilen in das Plasma. Eine Verwandlung von Chromatin in Melanin ist niemals nachzuweisen. Öfter sieht man Nucleolarsubstanz aus dem Kern in das Plasma hineinragen oder dort liegen. Aber diese Bilder sind Kunstprodukte. Durch Spielen mit der Mikrometerschraube läßt sich leicht feststellen, daß die in das Plasma vorstoßenden Nukleolen über die Ebene der Kernmembran gehoben worden sind. Ganz vereinzelt sieht man Zerreißen der Membran mit Durchtritten des Nucleolus an diesen Stellen. Diese Durchtritte erfolgen alle in der gleichen Richtung, was schon dafür spricht, daß sie durch das Mikrotommesser bewirkt sind. Daß es sich nur um Artefakte handelt, geht weiter aus dem Befund von Nukleolen hervor, welche in die freien Spalträume zwischen den Zellen verschleppt sind.

Die bisherigen Befunde lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: *In den Kernen der hier beschriebenen melanotischen Geschwulst kommt es zur Entstehung echten Melanins, ohne daß Nukleolen oder Chromatin dazu verbraucht werden, ohne Mitwirkung der Strukturen des Cytoplasmas und in Abwesenheit von fettigen Stoffen. Die Melanogenese des Zellkerns ist mit der protoplasmatischen in räumlicher und zeitlicher Hinsicht eng verbunden. Aber dieser Parallelismus beruht nicht auf einer im Mikroskop sichtbaren Ausstoßung des fertigen Pigments oder körniger Vorstufen in das Protoplasma.*

2. *Häufigkeit der Kernveränderungen in Melanosarkomen.* Die Melanosarkome des chirurgischen Einlaufs des Path. Instituts aus den Jahren 1932—1936 wurden auf das Vorkommen der eben beschriebenen Kernveränderungen hin geprüft. Die Schnitte von 29 Melanosarkomen waren nach Paraffineinbettung mit Hämatoxylin-Eosin, zum Teil außerdem mit Kernechtrot gefärbt. Naturgemäß ist ein derartiges histologisches Material in technischer Hinsicht nicht geeignet, um genaue Angaben über feinere Zellveränderungen zu machen. Doch darf man annehmen, daß Kernveränderungen und Pigmentbefunde, die an solchen Schnitten erhoben werden, eher einen zu niedrigen Wert als einen zu hohen ergeben.

Die vacuolären Kernveränderungen haben sich in 9 Melanosarkomen mühelos nachweisen lassen; in 5 weiteren Fällen gelang es, bei längerem Suchen einzelne größere Kernvakuolen zu finden. Das Auftreten der Vakuolen zeigte keinen Parallelismus zum Pigmentgehalt der Tumoren. Dagegen kam Kernmelanin nur in solchen Geschwülsten zur Beobachtung, die auch sonst zur Pigmentbildung neigten. Es wurde in 4 von den untersuchten 29 Sarkomen nachgewiesen, davon 1 mal allerdings nur in ganz vereinzelter Zellen.

3. *Die Kernveränderungen in Leukometastasen.* Mehrere Sektionsfälle boten Gelegenheit, das Verhalten der Kerne in pigmentfreien Metastasen zu untersuchen.

S.-Nr. 387/37 (P. I. d. Univ. Berlin). Bei einem 64jährigen Rentner war 2 Jahre nach der Verätzung eines Hautnaevus ein kleines Melanosarkom in der Narbe entstanden. Von hier aus erfolgte schwerste kleinknotige Metastasierung in die Subcutis der Rumpfhaut, in die Körpermuskulatur, Lymphknoten, seröse Häute usw. Sämtliche Metastasen waren unpigmentiert. Histologisch bestanden sie aus einer ganz gleichmäßigen Zellbrut, großen, stark anaplastischen, am ehesten epithelähnlichen Zellen mit sehr spärlichem Stroma und wenig deutlicher alveolärer Anordnung. Vereinzelter, unregelmäßig verstreuter Zellen zeigten die typischen Kernvakuolen der gleichen Art, wie sie in Abb. 4b und c dargestellt sind. Melanin war weder im Kern noch im Plasma nachzuweisen. In dem stark anaplastischen und dadurch diagnostisch schwierigen Tumor verrieten also die Geschwulstzellen lediglich durch die eigentümliche Kernveränderung ihre Herkunft.

S.-Nr. 360/37 (P. I. d. Univ. Berlin). Die Autopsie einer 60jährigen Frau ergab eine massenhafte Aussaat von Geschwulstknoten, deren Ausgangspunkt zunächst unklar blieb. Neben zahllosen kleinknotigen Tochtergeschwülsten im Zentral-

nervensystem, im Skelet, der Körpermuskulatur usw. bestanden große Drüsenpakete der Gekrösewurzel und im Epigastrium. Mit freiem Auge war nirgends eine Pigmentierung zu erkennen. Größere Hautnaevi waren nicht nachzuweisen. Histologisch ergab sich in allen Knoten ein ähnliches Zellbild wie im vorhergehenden Fall, indem die Geschwulstzellen stark entdifferenziert waren, sich etwas epithelähnlich anordneten und nur spärliches Stroma besaßen. Aber im Drüsenpaket des Mesenteriums und einem Teil der Metastasen waren vereinzelte Zellgruppen oder kleinere nekrobiotische Bezirke deutlich pigmentiert. Durch Versilberung nach *Masson-Hamperl*, fehlende Nachweisbarkeit freien Eisens und Bleichbarkeit mit H_2O_2 war das Pigment als Melanin gekennzeichnet. In allen Geschwulstknoten konnten ziemlich zahlreiche Kernvakuolen der typischen Art nachgewiesen werden. Im Kern hatte sich Melanin nur ganz vereinzelt entwickelt, und zwar nie in Leukometastasen, sondern nur bei gleichzeitiger Pigmentierung des Protoplasmas.

S.-Nr. 565/37 (P. I. d. Univ. Jena). Die histologischen Schnitte einer Melanosarkomatose, welche der Verf. früher in Jena seziiert hatte, zeigten hinsichtlich des Verhaltens der Leukometastasen den deutlichsten Befund und sollen daher kurz besprochen werden. In diesem Falle lag die Enuclation eines Bulbus wegen Melanosarkom jahrelang zurück. Bei der Autopsie bestanden kräftig pigmentierte Tumoren der Leber neben zahlreichen völlig pigmentfreien großen Knoten der Pleurahöhlen. Histologisch erinnerte der Bau beider Metastasen stark an Carcinom. Deutliche Kernvakuolen in mäßiger Anzahl waren sowohl in den schwarzgefärbten wie in den weißen Metastasen zu finden. In den pigmentierten Leberknoten war reichlich Kernpigment nachzuweisen. Es fehlte dagegen vollständig in der Leukometastase der Pleurahöhle.

Aus diesen 3 Beobachtungen ergibt sich also, daß die Leukometastasen des Melanosarkoms zwar die typischen vacuolären Kernveränderungen aufweisen können; zur Melaninbildung im Kern sind sie aber nicht befähigt, selbst wenn in pigmentierten Metastasen des gleichen Falles Kernmelanin gebildet wird.

Ferner ergibt sich, daß die Kenntnis der vacuolären Kernveränderung diagnostisch wertvoll sein kann. Man kennt allgemein die Schwierigkeiten, welche die Beurteilung stark anaplastischer bösartiger Geschwülste bietet, die im histologischen Bild an der Grenze von Sarkom und Carcinom stehen. Zu dieser Gruppe gehören unter anderem die unpigmentierten Metastasen von versteckten Melanosarkomen. Die charakteristischen Kernveränderungen, welche in einem Teil der Leukometastasen auftreten können, kommen in anderen anaplastischen Geschwülsten in gleicher Art nicht vor. Man wird daher — auch nach eigener Erfahrung — in manchen Fällen den Befund der chromatinumgrenzten Kernvakuolen in der Tumordiagnostik verwerten können.

Masson hat als Merkmal mancher Melanosarkome in ihren unpigmentierten Metastasen eine Hypertrophie des Nucleolus erwähnt, deren Beschreibung den hier behandelten Kernvakuolen ungefähr entspricht. Es ist möglich, daß auch *Masson* diese Art der Kernveränderung zur Erkennung von Melanosarkomen verwertet.

Beobachtungen an Pigmentnaevi.

Die vorliegende Untersuchung des Kernmelanins ist zwar von Beobachtungen an Pigmentmälern ausgegangen; doch sind die Tumoren

der Haut zum Studium der Entstehung des Kernpigments weniger geeignet als Melanosarkome. Abgesehen von den größeren technischen Schwierigkeiten für feinere cytologische Untersuchungen, findet man pigmenthaltige Kerne stets nur in sehr beschränkter Zahl.

Der erste Naevus, an welchem der Verfasser Kernpigment beobachtete, war klein und papillär gebaut. Nach Versilberung und Gegenfärbung mit Hämatoxylin waren im ganzen Schnitt etwas über 25 melaninhaltige Kerne zu sehen. Die vacuolären Vorstadien des Pigments waren reichlicher vertreten.

Um einen Eindruck von der Häufigkeit des Kernmelanins in Hautmälern zu erhalten, sind 11 weitere, größtenteils an der Leiche excidierte Naevi mit den eingangs angegebenen Färbemethoden an Paraffinschnitten untersucht worden. Es ist dazu erforderlich, jeweils den ganzen Schnitt am Kreutztisch systematisch abzusuchen. In 8 dieser 11 Naevi wurden Kernvakuolen und in 7 Fällen Kernpigment gefunden. Die Zahl der pigmentierten Kerne ist meist sehr klein. Für die eben erwähnten 7 Fälle lauten die entsprechenden Werte: 16, 8, 5, 3, 3, 2 und 1 Kern.

Die Beschreibung der Bildung des Kernmelanins in Naevi kann kurz gehalten werden, denn es bestehen nur einige leichte Unterschiede gegenüber Melanosarkomen. So enthalten die Naevuszellkerne gewöhnlich nur eine, seltener zwei etwa gleich große Vakuolen. Die Pigmentierung erreicht häufig eine solche Stärke, daß im Kern nur noch eine tiefschwarze homogene Kugel erkennbar ist. Der auffälligste Unterschied gegen Melanosarkome besteht im Freibleiben des Protoplasmas von Melanin, auch wenn der Kern reichlich Farbstoff enthält. Ein sicheres Vorkommen gleichzeitiger Pigmentierung von Kern und Plasma wurde nicht beobachtet.

Im übrigen aber unterscheidet sich die Entwicklung des Kernpigments in keiner Weise von der schon geschilderten. Sie geht ohne Beteiligung der Nukleolen vor sich und führt gleichfalls über ein vacuoläres Stadium, wobei die Vakuolen die gleiche deutliche Chromatiumgrenzung wie im Melanosarkom aufweisen. Abb. 5 zeigt eine Gruppe pigmenthaltiger Kerne, an denen der Prozeß gut zu verfolgen ist: in Zelle a zwei Vakuolen, von denen die eine gar kein, die andere wenig Melanin enthält. In Zelle b dichte Körnelung mit Pigment und schließlich im Kern c ein homogener Melaninbrocken von kugelige Gestalt.

Die Verteilung pigmentierter Kerne in den Mälern läßt keinerlei Regelmäßigkeit erkennen. Lediglich in den basalen Partien der Geschwülste, wo die Naevuszellen durch kollagene Fasern auseinandergedrängt werden und spindelige Gestalt annehmen, wird kein Kernpigment mehr gefunden.

Eine Durchsicht des Einlaufmaterials des pathologischen Instituts aus den letzten 5 Jahren, welches 21 weitere Naevi enthielt, ergab bedeutend spärlichere Befunde als die vorhin genannten. 9 dieser 21 Pigment-

mäler wiesen Kernvakuolen auf und 5 davon Kernpigment, zum Teil allerdings in sehr zahlreichen Kernen. Aus denselben Gründen, die bei der Besprechung der Einlaufschnitte von Melanosarkomen angeführt wurden, darf angenommen werden, daß bei zweckentsprechender Verarbeitung und Färbung des gleichen Materials Kernpigment viel öfter gefunden worden wäre.

Die *Befunde an Pigmentmäälern* lassen sich dahin zusammenfassen, daß in einem großen Prozentsatz Melaninbildung im Kern beobachtet

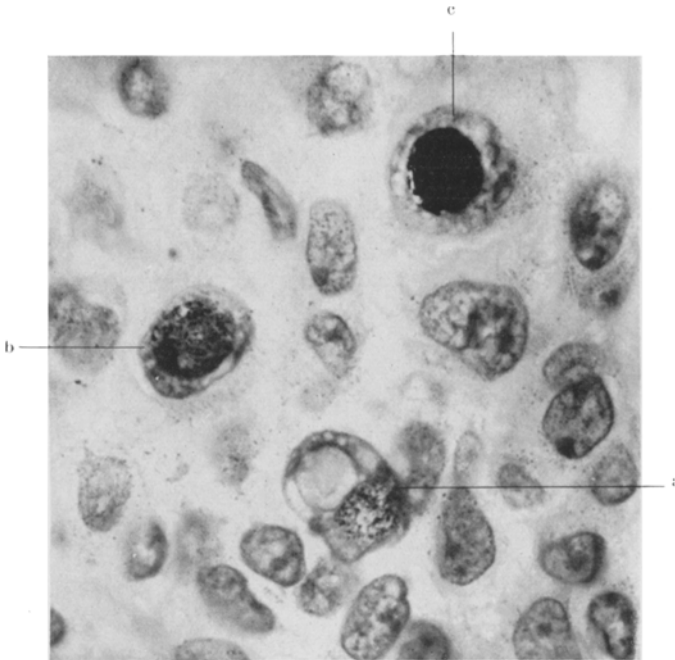


Abb. 5. Aus einem pigmentierten Hautnaevus. Vergr. 1:1675. Färbung *Masson-Hamperl*, Hämatoxylin. Pigmententwicklung in Kernvakuolen bei pigmentfreiem Protoplasma. a Kern mit 2 Vakuolen, davon der eine nicht, der andere wenig pigmentiert, gut sichtbare Chromatinmembran der nicht pigmentierten Vakuole; b mäßige, c vollständige Pigmentumwandlung des Vakuoleninhalts.

wurde, allerdings jeweils nur in einer sehr beschränkten Zahl von Zellen. Die Entwicklung und der feinere Bau der pigmentierten Kerne stimmen mit den Befunden am Melanosarkom überein. Die wichtigste Abweichung besteht im völligen Mangel gleichzeitiger Pigmentierung des Protoplasmas.

Besprechung.

Die Melaninbildung im Zellkern ist rein quantitativ unbedeutend und wird im geschlossenen Epithelverband, z. B. bei *Addison*scher Krankheit oder in pigmentierten Warzen, überhaupt nicht gefunden. Vielmehr ist

sie eine seltene Besonderheit melanotischer Geschwulstzellen. Trotzdem wurde in der vorliegenden Arbeit die Entstehung des Kernmelanins einer genauen Analyse für würdig gehalten, weil sie für die Klärung der Melanogenese und auch für das Verständnis des Stoffaustausches zwischen Kern und Plasma im allgemeinen neue Aufschlüsse versprach.

Die Möglichkeit, im Zellkern Melaninbildung ohne Mitwirkung protoplasmatischer Strukturen zu verfolgen, gestattet ein Urteil über die Herkunft des Kernmelanins und seine Beziehung zu Chromatin und Nukleolen. In der folgenden Besprechung soll zunächst die Natur der Mutterstoffe des Kernmelanins erörtert werden. Anschließend soll die Identität des nucleären mit dem protoplasmatischen Melanin dargelegt werden. Am Schluß läßt sich dann auf Grund dieses neuen Beobachtungsmaterials und einer Nachprüfung früherer Angaben eine neue Anschauung vom Wesen der physiologischen Melanogenese entwickeln.

Der Ursprung des Kernmelanins. Die Kernvakuolen, welche den Ort für die spätere Melaninbildung darstellen, sind keine Einstülpungen oder Einschlüsse von Protoplasma in den Kern. Es ist gezeigt worden, daß die Vakuolen sich innerhalb des Kerns und in räumlicher Beziehung zum Chromatin aus kleinsten Bläschenbildungen entwickeln. Sie unterscheiden sich hinsichtlich der Pigmententwicklung und Färbbarkeit häufig stark vom Protoplasma. Auch wären Bilder einer fast vollständigen Ausfüllung des Kerninneren, wobei nur die Kernmembran erhalten bleibt, als Einstülpungen nicht zu verstehen. Schließlich ergibt sich die Verschiedenheit der Kernvakuolen von Plasmaeintritten in den Kern durch Vergleich mit den Zellen der tieferen Schichten der Körperhaut und von Basalzellkrebsen. Hier kann man oft tiefe napfförmige Eindellungen der Kerne durch das Plasma sehen und sie leicht von echten Vakuolen unterscheiden. Eine Mitwirkung der Organellen des Cytoplasmas an der Entstehung des Kernmelanins ist also abzulehnen.

Es besteht nun noch die Möglichkeit, daß lösliche Stoffe des Plasmas in den Kern diffundieren und dort zur Bildung des Melanins beitragen. Für die Oxydase, welche nach *Bloch* nur im Plasma angetroffen wird, wäre eine solche Möglichkeit denkbar. Jedoch kann sie für das Melanogen nicht vertreten werden, weil dann in Pigmentmälern gleichzeitig mit dem Kernmelanin protoplasmatisches auftreten müßte, was nicht der Fall ist.

Ebensowenig wie das Cytoplasma Melanogen enthält, sind Chromatin oder Nukleolen der direkten Umwandlung in Melanin fähig. Das Chromatin bildet einen Grenzwall zwischen den Kernvakuolen und dem übrigen Kerninhalt, der auch dann unvermindert erhalten bleibt, wenn in der Vakuole Pigment entsteht.

Die Nukleolen gehen innerhalb des Kerns niemals direkt in Pigmente über. Aber auch eine Beteiligung von Nucleolarstoffen an der Bildung der Vakuolen ist aus mehreren Gründen abzulehnen. Solche Gründe sind:

1. Die unterschiedliche Färbbarkeit der Nukleolen und Vakuolen.
2. Die Entstehung der Vakuolen ohne örtlichen Zusammenhang mit Nukleolen inmitten des Chromatins.
3. Das unterschiedliche Verhalten des Chromatins, welches gegen Nukleolen indifferent ist, aber die Vakuolen membranartig umsäumt.
4. Die Fähigkeit der Vakuolen zur Melaninbildung, welche den Nukleolen nicht zukommt.
5. Das unbeteiligte Erhaltenbleiben der Nukleolen auch bei starker Vakuolisierung des Kerns.

Auch eine Beteiligung von Lipoiden an der Bildung des Kernmelanins war nicht nachzuweisen.

So findet man in den eingangs wiedergegebenen Theorien über die Entstehung des Melanins im Plasma keine Erklärung für das Auftreten des Kernmelanins. Weder die Überführung von Mito- oder Lipochondrien, noch diejenige von Chromatin, Nukleolen oder Lipoid in Pigment spielt hier eine Rolle. Vielmehr entsteht vor der Pigmentbildung im Kern ein neuartiger Stoff, der eiweißartige Eigenschaften besitzt, das Melanogen enthält und als *ein metabolisches Produkt des Kerns* anzusehen ist. Für die degenerative Umwandlung von Kernteilen in Melanin hat sich kein Anhaltspunkt gefunden.

Die Identität von Kern- und Plasmamelanin. Nachdem durch das Studium des Kernmelanins die Fähigkeit des Kerns zur Melanogenbildung erwiesen ist, erhebt sich die Frage nach der Beziehung der Kernpigmentierung zu dem gewöhnlichen, im Protoplasma ablaufenden Pigmentierungsvorgang. 2 Möglichkeiten sind denkbar:

Erstens könnte man annehmen, daß Melanin in Geschwulstzellkernen ein pathologisches Produkt ist, aber bei der physiologischen Melanogenese ganz unabhängig vom Kern und nur im Plasma gebildet wird. Hiergegen läßt sich anführen, daß man bei Geschwulstzellen zwar vielfache Leistungsminderungen und Stoffwechselstörungen kennt, jedoch kaum ein Beispiel der Mehrleistung einer Zelle in funktioneller Hinsicht. Dadurch wird die Ausdehnung der melaninbildenden Funktion des Plasmas auf den Kern in Geschwulstzellen unwahrscheinlich gemacht. Außerdem ist bekannt, daß die Leistungen des Kerns und des Plasmas in der Zelle scharf getrennt sind; sowohl das Ionenmilieu wie die chemische Beschaffenheit des Zelleiweiß sind zu beiden Seiten der Kernmembran ganz verschieden. Der Nachweis einer spezifischen Leistung des Zellkerns unter bestimmten Bedingungen darf darum so gedeutet werden, daß auch in den normalen Mutterzellen solcher Geschwülste dem Kern eine ähnliche Funktion zufallen wird, wie sie im Tumor zum Ausdruck kommt.

Die zweite Möglichkeit, die Bildung des Kernmelanins zu erklären, liegt in der Annahme einer Sekretverhaltung im Kern. Unter physiologischen Bedingungen würde das gleiche Kernsekret an das Plasma

abgegeben und dort in Melanin verwandelt werden. Zugunsten dieser Deutung lassen sich verschiedene Momente anführen.

Bei Tumorzellen sind Sekretretentionen häufig, was die Abgabe von Stoffen aus dem Plasma in das Gewebe anlangt; so würde ihr Vorkommen auch im Stoffaustausch zwischen Kern und Plasma verständlich erscheinen.

Die Melaninbildung im Kern und im Plasma ist eng verknüpft. Leukometastasen von Melanosarkomen bilden auch im Kern kein Melanin. Das Vorkommen von Kernmelanin in Melanosarkomen wiegt in den pigmentierten Bezirken stark vor. Soweit vakuolenhaltige Kerne in Betracht kommen, bestand in allen vorliegenden Beobachtungen ein „Primat“ des Kerns in der Pigmentierung; denn Kernmelanin ohne gleichzeitiges Plasmamelanin ist häufig, nur ganz selten aber kommt das umgekehrte Verhalten zur Beobachtung. Diese Beziehungen lassen sich wohl nur so deuten, daß der Kern neben seinem eigenen Pigment auch die Pigmentvorstufe für das plasmatische Melanin geliefert hat.

Auch in mikrochemischer Hinsicht sind das Melanin des Kerns und das des Plasmas identisch. Beide können durch H_2O_2 gebleicht werden und lassen sich durch Silbernitrat elektiv darstellen.

Diese Verhältnisse bestimmen die Auffassung, daß Kernmelanin durch die *Verhaltung eines physiologischen Kernsekretes* gebildet wird. Der Retention liegt eine Kernkrankheit zugrunde, bei welcher die Vorgänge, die normalerweise erst im Plasma ablaufen, schon im Kern einsetzen. Erst durch diese Störung im Stoffaustausch zwischen Kern und Plasma wird die Rolle des Kerns bei der gewöhnlichen Melaninbildung aufgedeckt.

Die Form der physiologischen Melanogensekretion aus dem Kern. Nachdem die Rolle des Kerns bei der Melaninbildung erkannt war, wurde in der vorliegenden Untersuchung darauf geachtet, ob sich die gewöhnliche Melanogenausscheidung aus dem Kern morphologisch nachweisen läßt. Eine Ausstoßung granulärer oder feintropfiger Pigmentvorstufen konnte an den hier untersuchten Objekten nicht beobachtet werden. Man sah zwar scheinbare Nukleolenaustritte, die sich aber als Kunstprodukte nachweisen ließen. Damit soll nicht gesagt sein, daß die Beobachter, welche derartige Vorkommnisse beschrieben haben, Täuschungen erlegen sind. Der sichtbare Nukleolenaustritt ist jedoch offenbar keine wesentliche Bedingung der Melanogenese. Selbst wenn er wirklich zustande kommt, kann er eher als ein Zeichen von Zellreizung und -schädigung gedeutet werden, wie das schon *Meirowsky* getan hat, welcher den gleichen Vorgang auch an nichtpigmentbildenden Zellen sah.

Vielleicht liegen den Angaben über Kernstoffaustritte auch andersartige Beobachtungen zugrunde, deren Deutung schwieriger ist, weil sie sich an den Grenzen der optischen Auflösbarkeit abspielen. Es handelt

sich dabei um die Entstehung der kernrandnahen Bläschen und ihre scheinbare Öffnung in das Protoplasma.

Berg und *Meyer* haben ähnliche Bilder an Leber- bzw. Pinealzellen gesehen und als Ausstoßung von Kernstoffen in das Plasma gedeutet. Beide Untersucher beschreiben die Bildung bläschenförmiger, chromatinumgrenzter, kleiner Vakuolen, die von den Nukleolen abstammen sollen. Diese Kernbläschen sollen an die Kernmembran rücken, an der Berührungsstelle mit ihr verschmelzen und zu kugeligen Vorwölbungen der Kernmembran führen. Schließlich soll es zum Schwund der plasmawärts gelegenen verdünnten Membran kommen und der Bläscheninhalt, welcher neben Eiweiß auch Pigment, Fett oder Glykogen enthalten kann, in das Cytoplasma entleert werden. Der Vorgang wurde als „Schleusenmechanismus“ bezeichnet, weil durch seine Hilfe eine Ausstoßung von Kernstoffen ohne Öffnung der Kernmembran vor sich gehen kann.

Wegen der Ähnlichkeit der Befunde von *Berg* und *Meyer* liegt auch die Übertragung ihrer Deutungen auf die hier gesehenen Bilder nahe. Jedoch ist aus mehreren Gründen eine solche Ausschleusung von Kernstoffen, also eventuell von Melanogen, höchst unwahrscheinlich:

1. Die randnahe Lage der Bläschen ist durch ihre Entwicklung im Bereich des Chromatins bedingt. Es liegt kein Grund vor, eine Wanderung von Kernbläschen in Richtung auf das Protoplasma anzunehmen.

2. Die Vorwölbung der Bläschen führt zu einer so hochgradigen Verdünnung der plasmawärts gelegenen Kernmembranteile, daß die Grenze der mikroskopischen Auflösbarkeit überschritten werden kann.

3. Ein Ausströmen des Bläscheninhalts in das Plasma war nicht zu erkennen. Vielmehr blieb die Grenze zwischen den beiden verschieden gefärbten Stoffen stets scharf.

Zwar kann die Möglichkeit, daß randnahe Bläschen gelegentlich platzen und sich in das Plasma ergießen, nicht kategorisch abgelehnt werden. Jedoch sind Bilder, die eindeutig diesen Vorgang zeigen, nicht beobachtet worden. Es kann also die Bläschenruptur höchstens eine mehr zufällige Begleiterscheinung der Entstehung randnaher Kernvakuolen bedeuten. Über die Gültigkeit der von *Berg* entwickelten Anschauungen für andere Objekte soll damit nicht geurteilt werden.

Ein sichtbarer Austritt von Kernstoffen in das Plasma ist also zur Melaninbildung nicht erforderlich. Ein solcher Austritt war auch als Begleiterscheinung nicht nachzuweisen. Da aber durch die vorliegende Untersuchung die Beteiligung des Kerns an der protoplasmatischen Melaninbildung als erwiesen gelten kann, muß der Schluß gezogen werden, daß der Kern Melanogen in unsichtbarer Form an das Protoplasma abgibt.

Die Annahme einer unsichtbaren Kernsekretion in Melanoblasten steht in guter Übereinstimmung mit den neueren Anschauungen der allgemeinen Cytologie. Gegenüber den früher vielfach beschriebenen

corpusculären Kernstoffaustritten ist jetzt eine größere Zurückhaltung eingetreten. *Tischler* möchte in keinem Falle und *G. Hertwig* nur in ganz vereinzelt Beispielen Nukleolenaustritte bzw. Chromidienbildung als bewiesen gelten lassen. Andererseits herrscht Übereinstimmung, daß der Ruhekern einen maßgeblichen chemischen Einfluß auf die Funktion, Regeneration und andere Lebensäußerungen des Plasmas ausübt. Dieser Einfluß geht durch die Abgabe von Stoffen durch die intakte Kernmembran hindurch vor sich und kann von Gestaltänderungen des Kerns begleitet sein. Viele spezifische Zelleistungen werden erst durch eine solche unsichtbare Kernsekretion ermöglicht, wie aus experimentellen und morphologischen Befunden hervorgeht. Die Verhältnisse bei der Melaninbildung ordnen sich also gut in die neueren cytologischen Ergebnisse ein.

Theorie der Melanogenese. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stehen keineswegs im Gegensatz zu den Befunden anderer Untersucher, welche sich mit der ersten Erscheinung des Melanins im Plasma befaßten. Es kann hier an die kritische Würdigung des Schrifttums angeknüpft werden, die auf S. 95 zusammengefaßt ist. Es hatte sich dort als notwendig erwiesen, zwischen dem Bildungsort des Melanogens und dem Erscheinungsort des Melanins scharf zu unterscheiden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit beweisen die Notwendigkeit einer solchen Trennung. Denn es hat sich gezeigt, daß dem Kern die Bildung des Melanogens obliegt, während im Plasma das Pigment in körniger Form erscheint, wobei die Rolle der Plasmaorganellen aus den neueren Arbeiten, besonders unter Benützung der Vitalfärbung, erhellt. Zum Abschluß soll eine Beschreibung der physiologischen Melanogenese gegeben werden, wie sie sich hinsichtlich der Rolle des Kerns aus der vorliegenden Arbeit und bezüglich der Rolle des Plasmas aus dem Schrifttum ergibt:

Der Zellkern bildet die Muttersubstanz des Melanins. Sie tritt durch die intakte Kernmembran in morphologisch nicht nachweisbarer Form in das Protoplasma über. Hier verdichtet sich das Kernsekret (Melanogen) zu körnigen Gebilden in enger örtlicher Beziehung zu den Mito- und Lipochondrien, wobei die Speicherfunktion dieser Gebilde und die Pigmentopexie durch Lipotide begünstigend wirken. Die Überführung der körnigen ungefärbten Vorstufe (Propigmentgranula) in Melanin geht wahrscheinlich unter dem Einfluß von Oxydasen vor sich.

Zusammenfassung.

1. Das Vorkommen von Melanin in den Zellkernen von Pigmentmälnern und Melanosarkomen wird beschrieben.

2. Die Entstehung des Kernmelanins geht innerhalb von Vakuolen infolge der Retention eines physiologischen Kernsekrets vor sich.

3. Die protoplasmatische Melaninbildung beruht auf der Überführung eines flüssigen unsichtbaren Kernsekrets (Melanogens) in Pigment und erfolgt im Bereich der Organellen des Cytoplasmas.

4. Für die Erkennung unpigmentierter Melanosarkommetastasen kann der Nachweis chromatinumsäumter Kernvakuolen von Wert sein.

Schrifttum.

- Ajello*: Zit. nach *Rabl*. — *Altmann*: Die Elementarorganismen usw., 2. Aufl., S. 48. Leipzig 1894. — *Asvadourova*: Archives Anat. microsc. **15**, 153 (1913). — *Berg*: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **38**, 644 (1935). — *Bloch*: Zbl. Hautkrkh. **8**, 1 (1923). — *Browicz*: Virchows Arch. **168**, 1 (1902). — *Busacca*: Ric. labor. Anat. Roma **17**, 15 (1913/14). — *Doljanski*: C. r. Soc. Biol. Paris **105**, 343 (1930). — *Fischel*: Arch. mikrosk. Anat. **47**, 719 (1896). — *Fischer, J.*: (1) Z. mikrosk.-anat. Forsch. **31**, 521 (1932). (2) Erscheint im Arch. Zellforsch. — *Fürth*: Melanine usw. Handbuch der Biochemie, Bd. 1, S. 944. Jena 1924. — *Galeotti*: Internat. Mschr. Anat. u. Physiol. **12**, 473 (1895). — *Gans u. Lutz*: Erg. Anat. **26**, 55 (1925). — *Godá*: J. faculty Sci. imp. Univ. Tokyo, Sect. 4, Zool. **2**, 52 (1928/31). — *Graupner*: Zool. Anz. **7**, Suppl., 16 (1934). — *Graupner u. Fischer*: (1) Z. Zellforsch. **21**, 329 (1934). (2) Z. Zellforsch. **22**, 434 (1935). — *Hampertl*: Virchows Arch. **286**, 811 (1932). — *Hertwig, G.*: (1) Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, herausgeg. von *Bethe* und *Bergmann*, Bd. 1, S. 586. Berlin: Julius Springer 1927. (2) Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 1/II, S. 591. Berlin: Julius Springer 1929. — *Hertwig, R.*: Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. München **18**, 77 (1902). — *Hooker*: Anat. Rec. **9**, 393 (1915). — *Hueck*: Die autogenen Pigmente. Handbuch der allgemeinen Pathologie, herausgeg. von *Krehl-Marchand*, Bd. 3/II, S. 396. 1921. — *Jacobsen*: Arch. of Path. **17**, 391 (1934). — *Jarisch*: Arch. f. Dermat. **24**, 223 (1892). — *Jeliaskowa-Paspalewa*: Z. Zool. **137**, 365 (1930). — *Kreibich*: Arch. f. Dermat. **118**, 837 (1913). — *Leydig*: Zool. Jb., Anat. u. Ontogen. Tiere **8**, 19 (1894). — *Lubarsch*: Anat. Anz. **13**, 88 (1897). — *Ludford*: J. roy. microsc. Soc. **1924**, 13. — *Lukjanow*: Grundzüge einer allgemeinen Pathologie der Zelle, S. 186. Leipzig 1891. — *Luna*: Arch. ital. Anat. **18**, 146 (1920). — *Masson*: Les Tumeurs. Paris: Maloine 1923. — *Maurer*: Die Epidermis und ihre Abkömmlinge. Leipzig 1895. — *Meirowsky*: (1) Über den Ursprung des melanotischen Pigments usw. Leipzig: Klinkhardt und Biermann 1908. (2) Zbl. Hautkrkh. **8**, 97 (1923). — *Mertsching*: Virchows Arch. **116**, 484 (1889). — *Meyer*: Z. Zellforsch. **25**, 83 (1936). — *Miescher*: Arch. mikrosk. Anat. **97**, 326 (1923). — *Moncorps*: Arch. f. Dermat. **148**, 2 (1925). — *Mulon*: C. r. Soc. Biol. Paris **74**, 1023 (1913). — *Prenant*: C. r. Soc. Biol. Paris **74**, 926 (1913). — *Rabl*: Erg. Anat. **6**, 439 (1896). — *Reinke*: Arch. mikrosk. Anat. **43**, 377 (1894). — *Rényi*: J. Morph. a. Physiol. **39**, 415 (1924). — *Ries*: (1) Verh. dtsch. zool. Ges. **1933**, 160. (2) Z. Zellforsch. **25**, 1 (1936). — *Ries u. Schölzel*: Z. Zellforsch. **20**, 523 (1934). — *Röfle*: Z. Krebsforsch. **2**, 291 (1904). — *Rosenstadt*: Zit. nach *Rabl*. — *Schreiber u. Schneider*: Münch. med. Wschr. **1908 II**, 1918. — *Schreiner*: Arch. mikrosk. Anat. **89**, 79 (1917). — *Smith*: Bull. J. Hopkins Hosp. **31**, 239 (1914). — *Staffel*: Münch. med. Wschr. **1906 I**, 285. — *Steinhaus*: Zbl. Path. **2**, 593 (1891). — *Szily, v.*: Arch. mikrosk. Anat. **77**, 87 (1911). — *Thannhauser u. Weiß*: Verh. inn. Med. **34**, 156 (1922). — *Tischler*: Allgemeine Pflanzenkaryologie, S. 139. Berlin: Gebr. Bornträger 1921/22. — *Turchini*: Archives Anat. microsc. **18**, 328 (1922). — *Voinov*: Archives de Zool. **67**, 223 (1928). — *Wassermann*: (1) Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. **32**, 2 (1920). (2) Handbuch der mikroskopischen Anatomie, herausgeg. von *W. v. Möllendorff*, Bd. 1/II, S. 591. Berlin: Julius Springer 1929.