

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin, Virusabteilung
(Direktor: Prof. Dr. G. HENNEBERG).

**Kritische Hinweise für die Beurteilung der Spezifität
histologischer Reaktionen der Chorio-Allantois-Membran
des Hühnchens im Rahmen der Virusdiagnostik.**

I. Mitteilung.

**Zur normalen Histologie und Histogenese der Chorio-Allantois
des Hühnchens.**

Von

HERBERT VOSS und BRUNHILD VAUCK.

Mit 22 Textabbildungen.

(*Ein gegangen am 26. Januar 1955.*)

Es hat sich in Virusinstituten als außerordentlich fruchtbar erwiesen, das anfallende Material wenn irgendmöglich auch histologisch auszuwerten. Das gilt in besonderem Maße für die extraembryonalen Hämäte des bebrüteten Hühnereies, schon allein deswegen, weil mit ihrer Vermittlung die meisten bekannten Viren in der Regel frei von bakteriellen Mischinfektionen anzüchtbar sind. So ist es verständlich, wenn eine große Zahl von Schriften sich mit der pathologischen Histologie der Chorio-Allantois-Reaktionen auf infektiöse Agentien befaßt, von denen eine Reihe auch in das deutsche Schrifttum gehört. Auf die Schwierigkeiten der Beurteilung dieser Veränderungen infolge einer nach unserer Meinung ungeeigneten Verarbeitungsweise des Materials wiesen wir an anderer Stelle (Voss 1954) bereits hin. Es wurde dort eine Technik angegeben, die es, wie wir glauben, gestattet, Fehldeutungen durch Schrägschnitte und Verwerfungen auf ein Mindestmaß zu beschränken. Wie sehr die Mißlichkeit der bisherigen Situation auch von anderer Seite empfunden wurde, geht z. B. aus der Darstellung von BEVERIDGE und BURNET (1946) hervor, die bei Anwendung des üblichen Verfahrens die Unmöglichkeit betonen, beginnende Virusreaktionen im Schnitt zu erfassen. Ein genaueres Literaturstudium sollte uns nun Aufschluß über die normalen histologischen Verhältnisse als Grundlage für die weitere Arbeit geben. Dabei zeigte es sich, daß wohl hinsichtlich der formalen Genese der Allantois, ihrer Differenzierung in ein inneres und äußeres Blatt und der Gefäßverteilung Einmütigkeit herrscht. Eingehende Darstellungen und Literatur finden sich für die älteren Arbeiten bei KEIBEL-ABRAHAM (1900) und für die jüngste Zeit bei PATTEN (1951) sowie LILLJE

(1952). Mit der normalen Histologie beschäftigen sich jedoch nur sehr wenige Beiträge, die sich auf zwei zurückführen lassen, einmal die sehr eingehende, leider unbilderte Dissertation von FÜLLEBORN (1895) und zum andern die kurze Darstellung von DANCHAKOFF (1917), deren Standpunkt anscheinend ohne Nachprüfung von allen anglo-amerikanischen Autoren und über diese auch von deutschen Wissenschaftlern übernommen wurde. Dabei sind die vorliegenden Arbeiten entweder dem Umfang nach oder in der technischen Durchführung nicht als ausreichend zu bezeichnen. Korrekt beobachtete Einzelbilder konnten so z. B. nicht richtig gedeutet werden, weil systematische Untersuchungen fehlten. Die mangelnde Intensität der Untersuchungen ist verständlich, da der histologische Aufbau des als Chorio-Allantois bezeichneten äußeren Blattes der Allantois auf den ersten Blick keinerlei Schwierigkeiten bietet. Durch Vereinigung der aus Entoderm und Mesenchym bestehenden Wand des embryonalen Harnsackes mit dem aus Ektoderm und wieder Mesenchym zusammengesetzten Chorion entwickelt sich zwischen dem 5. und 10. Tage der Bebrütung ein flächiges, vom letzteren Termin ab das ganze Schaleninnere auskleidendes Organ, das damit einfach aus allen drei Keimblättern, Ekto-, Meso- und Entoderm besteht. Das zahlreiche Gefäße tragende Mesenchym entwickelt nun aber einen gewöhnlich als respiratorisches Capillarnetz bezeichneten flächigen Blutraum, über dessen Beziehungen zum Ektoderm widersprechende Ansichten vorliegen. Nach FÜLLEBORN (1895) ist das Ektoderm von vornherein nur als flache einschichtige Zellage ausgebildet, welche allmählich immer schwerer und nach dem 10. Bruttag gar nicht mehr nachweisbar ist. Während der 2. Hälfte der Bebrütung liegt also nach seiner Darstellung der capilläre Blutsinus unmittelbar der Schalenhaut an. Eine ab etwa 12. Bruttag dem respiratorischen Capillarnetz entodermwärts anliegende kubische Zellschicht wird ohne weitere Begründung als mesenchymaler Natur angesehen. DANCHAKOFF bezeichnet demgegenüber die letztgenannte kubische Schicht als Ektoderm und erklärt die Entstehung dieses Bildes so, daß das zunächst der Schalenhaut anliegende nach ihr kubische Ektoderm aktiv von den Capillaren durchdrungen werde und sich nach Ausbildung der respiratorischen Schicht direkt an der Schalenhaut wieder, diesmal entodermwärts gelegen, zusammenschließe. Diese Darstellung wird nun mehr oder weniger allgemein übernommen, so von LILLIE (1952), PATTEN (1951), GOULSTON und MOTTRAM (1931), BURNET (1948) und anderen.

Unser Anliegen war es nun, durch eine systematische Untersuchung der normalen Histologie der Chorio-Allantois aller Stadien vom 6. bis zum 20. Bebrütungstage die Widersprüche zwischen den beiden Standpunkten nach Möglichkeit zu klären. Einzelne Präparate wurden auch

vom 5. Bruttagen gewonnen. Dabei ist folgende Einschränkung zu machen: Entsprechend der von uns für den Rahmen der Virusdiagnostik an der Chorio-Allantois-Membran angegebenen Methodik (Voss 1954) wurden lediglich die hier interessierenden zentralen Partien der Eihaut untersucht. Eine weitergehende Bearbeitung auch der Randteile etwa unter dem Gesichtspunkt des Gesamtkreislaufs der Allantois oder der Verschmelzung der äußeren Allantoiswand mit dem Chorion schien uns nicht erforderlich, da diese Verhältnisse durch die hierher gehörenden zahlreichen Arbeiten genügend geklärt sind. Bei den üblichen Verfahren der Beimpfung aber sind die Randteile der Chorio-Allantois gewöhnlich nicht von den Veränderungen mitbetroffen und fallen somit für die histologische Bearbeitung aus. Es dürften außerdem nach dem vorliegenden Schrifttum keine grundsätzlichen Unterschiede in der Reaktion zwischen Mittelpartie und Randteilen der Eihaut zu erwarten sein. Berücksichtigt wurden dagegen Abweichungen der normalen Chorio-Allantois-Membran, die auch ohne experimentelle Beeinflussung häufig anzutreffen sind.

Material und Methodik.

Untersuchungsgut. Zum Einspielen der von uns verfolgten Technik wurden zunächst Vorversuche an einigen 100 Bruteiern aller Stadien durchgeführt. Es wurden wie im Hauptversuch Eier mehrerer Hühnerrassen, u. a. Leghorn, Rohdeländer, Italiener und unterschiedlicher Gewichtsklassen verwertet. Wesentliche Abweichungen ergaben sich dabei nicht. Für den Hauptversuch wurden je 10 Eier des 6.—20. Bruttagen, insgesamt 150, ausgewertet.

Entnahmetechnik. Die offensichtlich vorteilhafte Fixation von Singvogeleiern *in toto* durch DUVAL (1884) sowie die von DANCHAKOFF (1917) bestätigte Verletzlichkeit des respiratorischen Capillarnetzes ließen ein Gelingen der Versuche nur dann als aussichtsreich erscheinen, wenn, wie auch von FÜLLEBORN (1895) ausdrücklich für die 2. Hälfte der Brutzeit als notwendig angegeben, die Chorio-Allantois zusammen mit der Schalenhaut verarbeitet wurde. Unsere ersten Versuche bestanden darin, ohne besondere Stütze die ausgeschnittenen Stückchen Eihaut zusammen mit der Schalenmembran zu fixieren und einzubetten. In gleicher Weise haben anscheinend auch GOULSTON und MOTTRAM (1932) sowie GOLDSWORTHY und MOPPETT (1935) ihre Präparate gewonnen. Ein kaum zu vermeidendes Einrollen der Gewebeteile mit fast regelmäßiger teilweisem oder vollständigem Ablösen der Chorio-Allantois von der Schalenhaut ließ uns aber nur zu unbefriedigenden Bildern kommen. Die außerordentlich störende Trennung der zarten Eihaut von der derben Schalenmembran zeigt sich auch in den Mikrophotographien von GOULSTON, MOTTRAM und GOLDSWORTHY, MOPPETT. Andererseits bietet jedoch die Untersuchung der abgelösten Chorio-Allantois ohne Schalenhaut, wie sie von DANCHAKOFF (1917), D'AUNOY und EVANS (1937), BEVERIDGE und BURNET (1946), BURNET (1948) und NAUCK und NASEMANN (1952) anscheinend ausschließlich geübt wurde, noch weit mehr Anlaß zu Kunstprodukten. Wir kamen aus diesen Gründen zu der 1954 angegebenen Technik, zu welcher hier nur ein kleiner Nachtrag gestattet sei. Dieser hat sich für die schwierigeren jungen Stadien und für die Verarbeitung von infizierten Bruteiern bewährt (Abb. 1). Zur Eröffnung der natürlichen Luftkammer am stumpfen Eipol wird lediglich ein etwa 5 mm hohes Segment

(Abb. 1a) ausgeschnitten. Eröffnet man nun die durch vorsichtiges Abziehen der weißen Schalenhaut am Boden der Luftkammer sichtbar werdende Allantoishöhle durch einen Scherenschlag, so dringt bei Durchtrennung der Eischale im Zuge der Linie *b* (Abb. 1) von rechts her mit Bildung einer schmalen Brücke vor dem Fenster Luft in die Allantoishöhle ein. Die Chorio-Allantois bleibt so fest an der Schaleninnenfläche haften und wird auch nicht durch den Zug des Embryos am Gefäßstiel herabgezogen, da dieser in seinem uneröffneten Amnion auf der Allantoisflüssigkeit schwimmt. Bei Bedarf kann der Gefäßstiel durchschnitten werden. Besser ist es aber, man kommt ohne das aus, weil ja sonst störende Blutungen entstehen. Ein wesentlicher Vorteil ist weiter, daß bei einigermaßen sauberem Vorgehen kein Eiinhalt abzufließen braucht und auf diese Weise eine Verschleppung von eventuell infektiösem Material zu vermeiden ist. Abtrennen des bereits halb gelösten Schalenstückchens durch Schnitt in der Linie *c* (Abb. 1) macht schließlich den Weg frei für das Anlegen der Glasklemme.

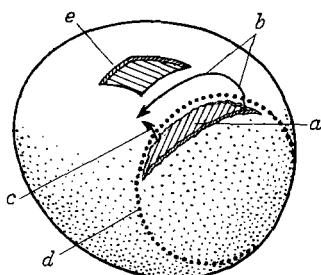


Abb. 1. Skizze zur Technik der Chorio-Allantois-Entnahme. Blick auf den stumpfen Pol eines schräg liegenden Eies. *a* Luftkammer durch Ausschneiden eines etwa 5 mm hohen Schalensegmentes eröffnet; *b* und *c* Schnittlinien zur Abtrennung eines Stückchens Schale mit anhaftender Chorio-Allantois-Membran nach Scherenschlag durch die Allantoiswand am Boden der Luftkammer. Der Schnitt in der Allantoiswand verlegt sich sofort durch Flüssigkeit. Luft dringt erst ein bei Durchtrennung der Schale in der Linie *b*. Zum Fenster hin bleibt ein schmaler Schalensteg stehen; *d* Kontur der natürlichen Luftkammer; *e* Schalenfenster für das Anlegen der Glasklemme.

Schalenhaut einerseits und der zu einer Loslösung der beiden Teile voneinander führte und dadurch eine einwandfreie Darstellung des respiratorischen Capillarnetzes unmöglich machte. Wir führten im Hauptversuch die Fixation aus diesen Gründen nur mit dem Susa-Gemisch durch.

Einbettung. Paraffin 56—58° C etwa 78%, Paraffin 68—72° C etwa 20%, gelbes Bienenwachs etwa 2%.

Färbung. Neben Hämalaun-(Ehrlich-)Eosin wurde gewöhnlich auch Azan gefärbt. Die van Gieson-Methode stellt auch in ihrer Modifikation nach DOMAGK das feine mesenchymale Faserwerk erst bei starker Überfärbung der übrigen Gewebeanteile in ausreichendem Maße dar. Wir wandten sie daher nur bei älteren Stadien an, welche einigermaßen brauchbare Bilder lieferten.

Mikrophotographie. Die beigegebenen Abbildungen wurden mit dem W-Stativ Zeiß-Opton und Photowechsler hergestellt. Als Kamera diente die Zeiß-Winkel-Aufsetzeinrichtung II mit Lichtmeßgerät und Leica.

Fixation. Die besten Ergebnisse hatten wir bei Verwendung des Susa-Gemisches zu verzeichnen. Die Darstellung von Plasma, Kernen und Fasergerüst des Mesenchyms und der Schalenhaut ist hier gleich gut. Die Fixationszeit ist bei jungen Stadien auf 15 min, bei älteren auf 25—30 min zu beschränken. Ein Nachteil ist jedoch nach ROULET (1949), daß nach Susa-Fixierung Bindegewebsversilberungen nicht gut gelingen. Wir versuchten daher auch das Pikrinsäuregemisch von Duboscq-Brasil und Formol. Das erste zeigte bei guter Wiedergabe aller Zelldetails eine so schlechte Bindegewebsfixation, daß wir darauf verzichteten. Ähnlich kommt es bei 10%igem Formol zu einer Vergrößerung und häufig zu einem Zusammenbrechen des mesenchymalen Fasergerüstes, während mit 4%igem Formalin die stark unterschiedliche Quellung der derben zarten Chorio-Allantois andererseits regelmäßig

Eigene Befunde.

Ihre Wiedergabe sei mit einer Abbildung der voll entwickelten Chorio-Allantois eingeleitet. (Abb. 2). Einzelheiten sind der Bildunterschrift zu entnehmen. Die durch Fusion der Allantoiswand mit dem Chorion entstehende Chorio-Allantois-Membran zeigt demgegenüber während ihres Flächenwachstums vom 5.—9. Bruttag etwa folgenden charakteristischen histologischen Aufbau (Abb. 3—5): Unmittelbar einer scharf gezeichneten, im Querschnitt strichförmigen Abschlußmembran der

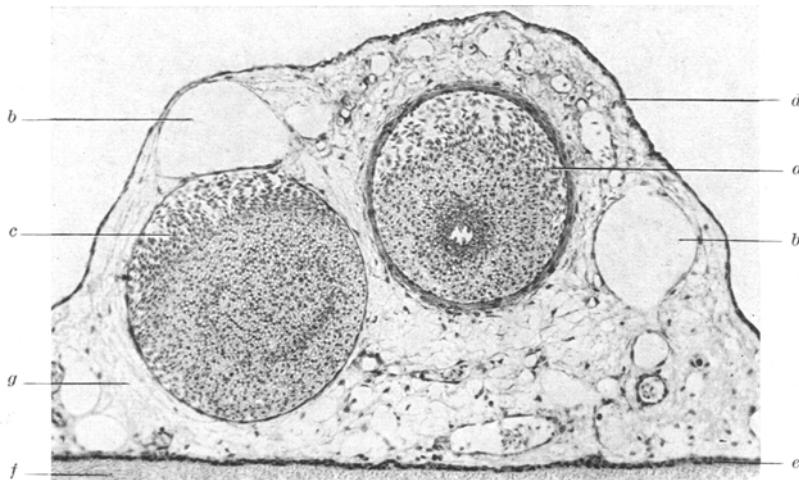


Abb. 2. Normale Chorio-Allantois-Membran des 14. Bebrütungstages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 130mal. *a* Arterie; *b* Lymphgefäß; *c* Vene; *d* Entoderm; *e* respiratorisches Capillarnetz; *f* Schalenhaut; *g* Mesenchym.

Schalenhaut anliegend, findet sich eine sehr flache einzellige Schicht, die als Ektoderm anzusprechen ist. Dieses Ektoderm nimmt nach unseren Präparaten im zentralen Bereich der Chorio-Allantois niemals kubische Gestalt an. Es zeigt sich besonders deutlich in den Fällen, wo es zu einer Loslösung der mit der Schalenhaut noch nicht fest verbundenen respiratorischen Capillarschicht gekommen ist (Abb. 5). Letztere bleibt dabei unverletzt, während das Ektoderm an der Schalenhaut haftet. Der dem Sauerstoffaustausch dienende flächenhafte Blutraum ist nun als Capillare leicht zu erkennen. Er enthält kernhaltige Erythrocyten und wird zu beiden Seiten von einem strichförmigen Endothel begrenzt, dessen Kerne im Querschnitt lang und schmal oder mäßig ausgebuchtet und chromatinreich erscheinen. Dieses Kernbild entspricht durchaus dem des Ektoderms und die Unterscheidung beider ist im Querschnitt nur dadurch möglich, daß an günstigen Stellen auf der Schalenseite der Capillare zwei, auf der Entodermseite nur eine Zellage

sichtbar sind (Abb. 3 und 4). Das respiratorische Netz zeigt sich nun bei den jungen Stadien in zweierlei Form. Einmal liegt eine durchgehende Capillare vor, die nur ab und an von schmalen Strängen oder Stütz-

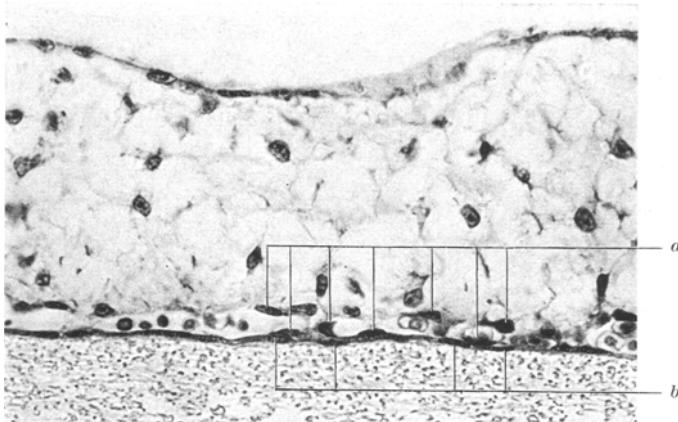


Abb. 3. Normale Chorio-Allantois-Membran des 6. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 440mal. Typisches Bild der frühen Bebrütungstage mit durchgehender Capillarschicht. *a* Endothelkerne; *b* Ektodermkerne. Entoderm teilweise in die Schnittebene umgeschlagen.

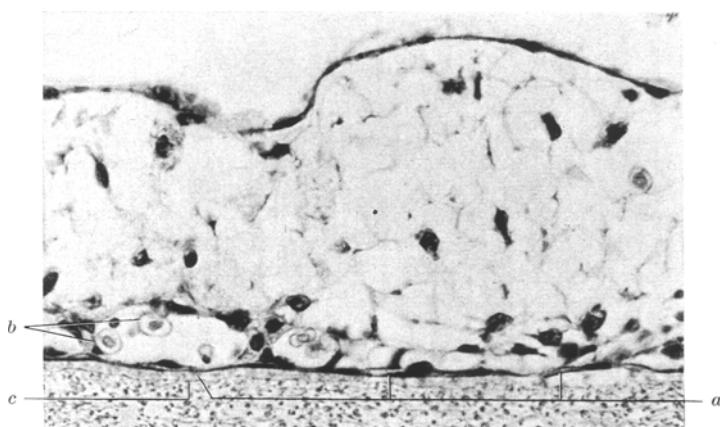


Abb. 4. Normale Chorio-Allantois-Membran des 6. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 440mal. Ektoderm mehrfach auf eine kurze Strecke vom Capillarendothel gelöst, liegt der Schalenhaut nicht unmittelbar an. Zwischenraum durch feinkörniges Material ausgefüllt. (Vergl. Abb. 12). *a* Ektoderm; *b* kernhaltige Erythrocyten; *c* Grenzlinie der Schalenhaut.

pfeilern unterbrochen ist (Abb. 3). In anderen Fällen sind ovale oder längliche Schlingenteile vorhanden, die von größeren Lücken unterbrochen sein können (angedeutet in Abb. 4). An den Schlingenrändern stellt man häufig offensichtlich ebenfalls dem Endothel zugehörige Zellen

fest, die rundlich oder oval geformte chromatinärmere Kerne mit deutlichem Nucleolus besitzen. An die Capillarschicht schließt sich sehr locker gebautes Mesenchym an. In seinem feinen Faserwerk liegen sternförmige Zellen mit großen hellen Kernen und 1—2 Nucleoli. Die schmalen Plasmazipfel gehen direkt in das Fasergerüst über. Den Abschluß zur Allantoishöhle bildet das einschichtige Entoderm. Es klappt häufig in die Schnittebene um und kann dann besonders in kleinen Falten auf eine kurze Strecke Mehrschichtigkeit vortäuschen. Auf das im Mesenchym

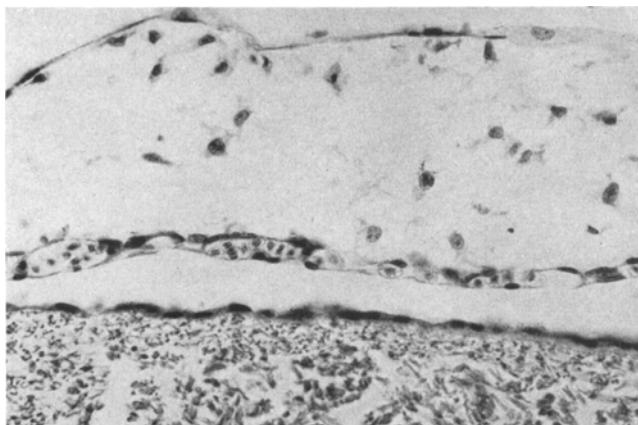


Abb. 5. Normale Chorio-Allantois-Membran des 7. Bebrütungstages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 330mal. Respiratorisches Capillarnetz von dem an der Schalenhaut haftenden Ektoderm spontan abgelöst. Capillare unverletzt. Keine Blutung! (Vgl. Abb. 11).

sich verteilende Gefäßsystem soll nun nicht eingegangen werden. Es sei vielmehr im weiteren dargestellt, welche morphologischen Vorgänge sich im Laufe der Bebrütungszeit am respiratorischen Capillarnetz abspielen, und der Versuch einer histogenetischen Deutung gemacht.

Der Gestaltwandel des respiratorischen Capillarnetzes.

Das geschilderte Bild des typischen histologischen Aufbaues der jungen Chorio-Allantois-Membran mit flachem einschichtigem Ektoderm, wie sonst üblich gestalteter Capillarschicht, lockerem Mesenchym und einschichtigem Entoderm erfährt etwa ab 9. Bebrütungstag eine Änderung. Zu diesem Termin wird es schon recht schwierig, ein getrenntes Ektoderm auf kurze Strecken nachzuweisen. Mit dem 10. Brutage gelingt es in der Regel gar nicht mehr, ohne daß man aber in der Lage wäre, in den Zwischenstadien deutliche degenerative Kernveränderungen an einem an sich klar abgrenzbaren Ektoderm aufzufinden. Man sieht vielleicht am 10. Bebrütungstag noch gelegentlich auf der Schalenhautseite doppelt liegende Kerne oder man hat den Eindruck, hier sei die

Kernzahl gegenüber der Entodermseite um ein Geringes höher. Häufiger aber liegt eine Capillarschicht vor, die keinerlei unterschiedliche Gestaltung aufweist. Typisch ist ferner, daß diese ohne trennende Zwischenschicht der Schalenhaut direkt anliegende Capillare besonders zahlreiche Endothelmitosen darbietet. Mit der Häufung der Zellteilungen um den 10.—11. Bruttag aber hängt es anscheinend zusammen, daß es einmal zu einer Dickenzunahme der das Capillarlumen begrenzenden Zellen und zum andern zu einer Vermehrung der Kernzahl in diesen nunmehr

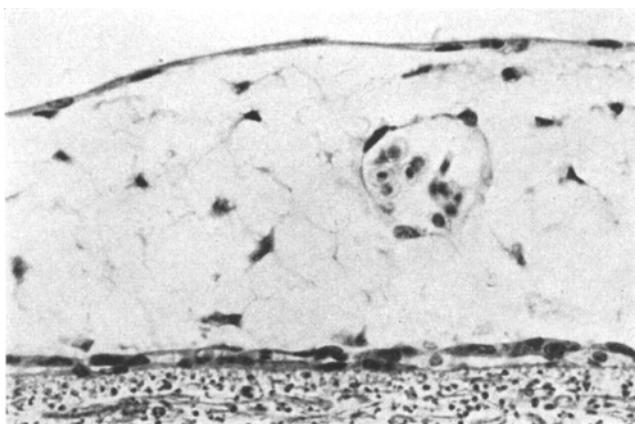


Abb. 6. Normale Chorio-Allantois-Membran des 10. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 550mal. Kubische Zellverbände wechseln zu beiden Seiten des respiratorischen Capillarraumes mit flachem Endothel ab.

kubische Gestalt annehmenden Zellgruppen kommt. Strecken mit flachem Endothel wechseln dabei zunächst willkürlich mit kubischen Zellverbänden ab (Abb. 6 und 7). Ebenso willkürlich reichen aber die Plasmaausläufer der Einzelzellen durch die bei Vorliegen solcher Bilder recht breiten Brücken von einer Seite der Capillarschicht auf die andere. Recht bald ordnen sich dann die kubischen Zellverbände jedoch ausschließlich auf der schalenfernen Seite des respiratorischen Capillarnetzes an, so daß schon vereinzelt am 11., in der Regel ab 12. Bruttag der Eindruck einer entodermwärts gelegenen, die Capillarschicht unmittelbar begrenzenden kubischen Zelllage entsteht. Der neugebildete Zellverband mutet wegen der kaum oder gar nicht erkennbaren Zellgrenzen und der völlig regellosen Lagerung der Kerne synzytial an. Eine gewisse Ordnung tritt allmählich dadurch ein, daß die der Capillarlichtung zu liegenden Kerne sich senkrecht zur Schnittebene einstellen und jetzt wie quer getroffenes Endothel erscheinen, während die übrigen in der Schnittebene liegenden Kerne mehr in gleiche Höhe rücken und einen epithelialen Charakter annehmen. Die Brücken- oder Pfeilerbildungen zur Schalenhaut werden wieder seltener und schmäler, die

schalenhautseitige Capillarwand ist auf weite Strecken von Kernen vollkommen entblößt (Abb. 8). Kerne in dieser Lagerung finden sich aber mit Regelmäßigkeit an solchen Stellen, wo das respiratorische Capillargeflecht in venöse, sinusartige Räume ausmündet (Abb. 9). Diese Bilder sind darum so interessant, weil bei ihnen zwar oft das Sinusendothel den kubischen Zellverband zu unterbrechen und in die dem Lumen der Capillarschicht unmittelbar anliegende Gruppe der quer getroffenen Kerne überzugehen scheint; ebenso häufig findet man aber auch einen direkten Übergang von Sinusendothelen in kubische Zellen.

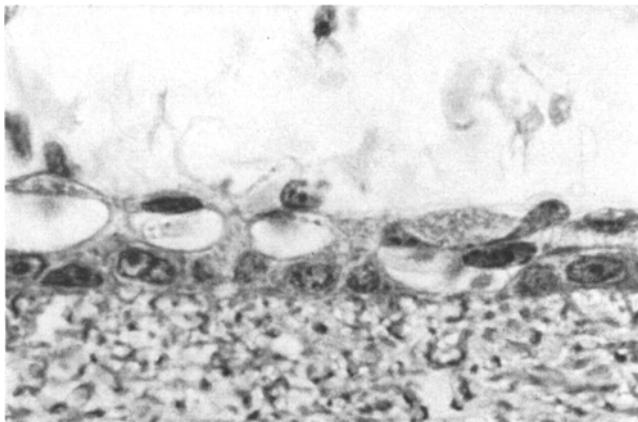


Abb. 7. Normale Chorio-Allantois-Membran des 11. Bruttages. Querschnitt. Paraffin-Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 1300mal. Kubische Zellen gehen von der Schalenhautseite der Capillare auf die Gegenseite über. Verschieden breite Brücken zwischen den Deckschichten des Capillarraumes.

An keiner Stelle, das sei nochmals betont, ist in diesen Stadien am alten Orte Ektoderm nachweisbar.

Das erreichte Zustandsbild gilt nun grundsätzlich für die ganze weitere Brutzeit. Im großen und ganzen nimmt dabei die Höhe der entodermseitigen Zellen an der Capillarschicht bis zum Schlüpfen des Hühnchens noch etwas zu. So können normalerweise in den letzten Bruttagen bis zu drei etwas ineinandergrifffende Kern-Etagen vorhanden sein. Vom 16. Bebrütungstag ab trifft man dann aber auch schon mehr und mehr auf regressive Veränderungen (Abb. 9—11). Zellen der kubischen Capillarbegrenzung zeigen eine Vacuolisierung des Plasmas in verschiedener Form. Entweder liegen pyknotische Kerne in hellen Höfen, die nur von dünnen Plasmasäumen umgeben sind. Oder die Zellränder werden durch schmale, netzartig angeordnete Stränge verbunden, an welchen der Kernrest haftet. Schließlich kann von der Zelle nur noch ein Randsaum erhalten sein, der mit einem oder mehreren Chromatinbrocken besetzt ist. Die Kerne degenerieren meist in Form der Pyknose.

Sie können dabei eine mehr acidophile Färbung annehmen und eine zackige Begrenzung aufweisen. Recht häufig sieht man auch eine Chromatolyse. Kernwandhyperchromatosen sind dagegen selten. Die



Abb. 8. Normale Chorio-Allantois-Membran des 11. Bruttagess. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 550mal. *a* Kernlage innerhalb der Pfeiler zwischen den Capillardeckschichten oder an der Brückenbasis. In der Schalenhaut tritt der Unterschied zwischen der feinfaserigen Innenschicht und der grobfaserigen Außenschicht klar zutage.

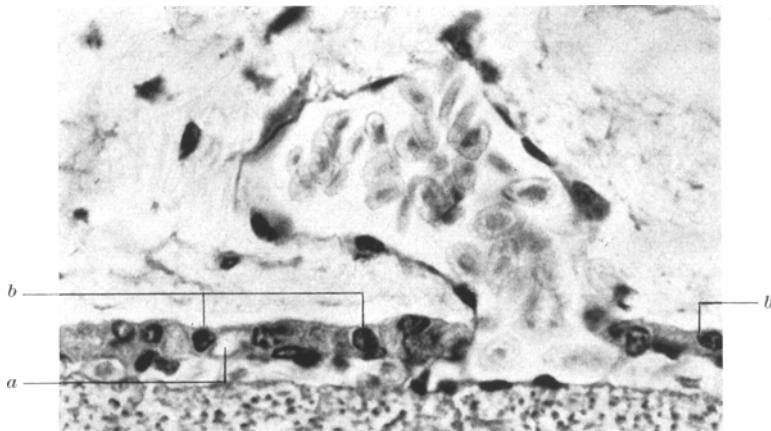


Abb. 9. Normale Chorio-Allantois-Membran des 16. Bruttagess. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. Ausmündung des Capillarlumens in einen venösen Sinus. Beginnende degenerative Veränderungen der kubischen Zellverbände. *a* Plasmavacuole; *b* beginnende helle Höfe um die schon etwas verdichteten Kerne.

Umrißlinien der Zellen werden zu dieser Zeit allgemein auffallend deutlich. Der Untergang ganzer Zellen führt im Spätstadium gelegentlich zu regelrechten Lückenbildungen im Capillarbesatz (Abb. 11). Werden diese Lücken jedoch zu groß, bilden sie eventuell zwei oder gar drei Etagen

und findet man in diesen wieder kernhaltige Erythrocyten, so liegen neben degenerativen Zellveränderungen Anschnitte benachbarter Schlingenkuppen durch nicht exakt senkrechte Messerführung vor. Für die Kennzeichnung des respiratorischen Capillarnetzes der älteren Stadien ist schließlich noch folgender Punkt wichtig: Vom 10. Bruttag ab wird seine Verbindung zur Schalenhaut fortschreitend inniger. Eine Ablösung der Chorio-Allantois-Membran von der Schalenhaut hat daher in der 2. Hälfte der Bebrütungszeit stets eine mit zunehmendem Alter der Membran stärker werdende Blutung zur Folge (Abb. 12, vgl. Abb. 5).

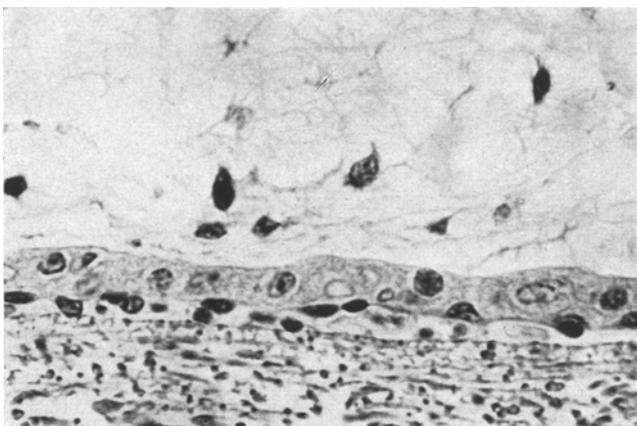


Abb. 10. Normale Chorio-Allantois-Membran des 17. Brutttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. Weitere regressive Veränderungen. Deutlichere Zellkontakte. Verschiedene Stadien der Karyolyse und der Kernpyknose.

Nach Schilderung der rein morphologischen Abläufe möchten wir versuchen, zu einer Deutung und Beurteilung der Umbauvorgänge namentlich um den 10.—11. Bruttag zu gelangen. Wir können dafür zunächst auf weiter oben wiedergegebene Beobachtungen zurückgreifen und diese in einigen Punkten ergänzen. Es wurde berichtet, daß die Schalenhautseite der Capillarschicht während der Entwicklung der kubischen Zellverbände und ihrer Verlagerung auf die Gegenseite an Kernen auffallend verarmt. Ferner wurde festgestellt, daß Plasmaausläufer epithelial anmutender Zellen einmal an zahlreichen Stellen das Capillarlumen durchqueren, um sich an der Schalenhaut zu verankern, zum andern jedoch diese Brücken deutlich verschmälert und an Zahl geringer werden. Diese Befunde können durch einen weiteren sinnvoll miteinander verknüpft werden. Die rundlichen oder ovalen, chromatinarmen Kerne der Brückenzellen, welche schon auf Grund ihrer Lagebeziehungen eindeutig als Endothelien bezeichnet werden müssen, weichen infolge der Verschmälerung der Pfeiler zur Seite aus. Sie liegen dabei noch längere Zeit an der Brückebasis (Abb. 8). Die erhebliche

Zunahme der Kernzahl auf der Entodermseite des Capillarlumens und ihre eindeutige Abnahme auf der Gegenseite im Verlaufe eines einzigen Bruttages beweisen unserer Meinung nach, daß der Mechanismus der Bildung des „epithelialen“ kubischen Zellverbandes aus ihrer Herkunft nach unzweifelhaft endothelialen Zellen zu einem wesentlichen Teil in der aktiven Verlagerung der Endothelkerne auf die Entodermseite der respiratorischen Capillare zu suchen ist. Die Kernverschiebungen erklären auch gut die wechselvollen Bilder der im folgenden kurz als

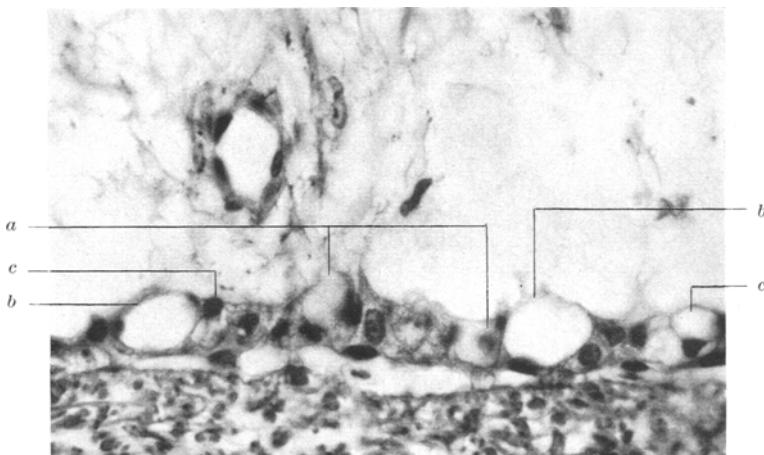


Abb.11. Normale Chorio-Allantois-Membran des 20. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. *a* Lückenbildung in den kubischen Endothelkomplexen durch Auflösung von Zellen; *b* Anschnitte senkrecht zur Bildebene liegender Capillaren; *c* vacuolierte Zellen mit an Plasmasträngen haftenden pyknotischen Kernen.

„kubischen Endothelverband“ bezeichneten schalenfernen Begrenzung des respiratorischen Capillarnetzes. Der Gedanke liegt nahe, daß der Vorgang im Sinne einer Verbesserung der Sauerstoffdiffusion zu verstehen ist, die für den um diese Zeit rasch wachsenden Embryo zu einer Lebensnotwendigkeit wird. Ein zweiter teleologischer Gesichtspunkt soll weiter unten nachgetragen werden. Hier ist zunächst noch auf andere Faktoren einzugehen, deren Beteiligung an den Umbauprozessen der Capillarschicht diskutiert werden muß.

Der erste betrifft die Tatsache, daß um den 10.—12. Bruttag nicht selten Mesenchymzellen den kubischen Endothelverbänden so dicht anliegen, daß sie nur auf Grund ihrer einseitig mit dem Faserwerk in Verbindung stehenden Plasmaausläufer als solche zu erkennen sind. Ob diese Zellen ganz in den Endothelverband einbezogen werden können, bleibe dahingestellt. Von großer Bedeutung für den Gestaltwandel der Capillarschicht ist aber zweifellos der ebenfalls bereits angeführte Mitoserichtum des respiratorischen Capillarendothels um den 10.—11. Brut-

tag. Um hier zu einer sicheren Beurteilung zu kommen, haben wir die Zellteilungen der verschiedenen Gewebeanteile der Chorio-Allantois-Membran ausgezählt in der Annahme, dadurch ein Abbild der bevorzugten Wachstumsorte zu gewinnen (Abb. 13). Die Zählungen wurden an 520 H.-E.-Schnitten des 6.—18. Bruttages, d. h. je Bruttag an 40 Schnitten, vorgenommen. Das Diagramm läßt nun folgende Schlüsse zu. Sichere Ektoderm-Mitosen sind nur bis zum 9. Bruttag und auch bis dahin nur sehr spärlich zu finden. Die anfänglich stark überwiegenden

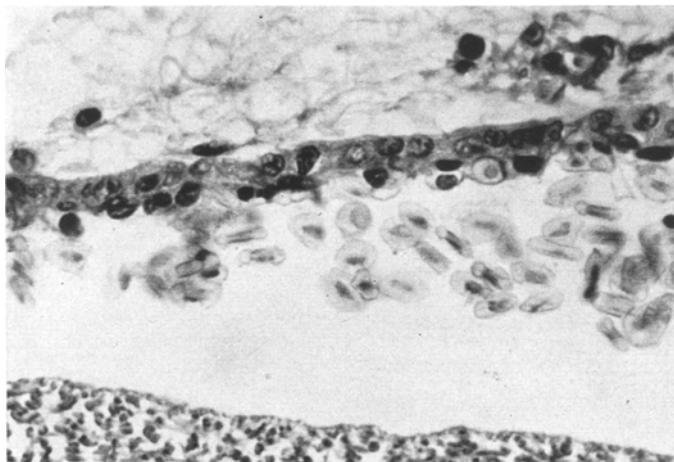


Abb. 12. Normale Chorio-Allantois-Membran des 18. Brutttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. Membran von der Schalenhaut abgelöst. Respiratorischer Capillarraum in breiter Fläche unter Blutung aufgerissen. (Vgl. Abb. 4).

mesenchymalen Zellteilungen erklären sich wohl aus dem rapiden Flächenwachstum des Allantoisbläschens unter dem Einfluß der gegen den 3. Bruttag einsetzenden Harnsekretion. Entsprechend wären auch die zu Beginn ebenfalls hohen Mitosezahlen des respiratorischen Capillarnetzes aus der Notwendigkeit rascher Flächenausdehnung zu deuten, bis am 10. Bebrütungstage das ganze Schaleninnere von der Chorio-Allantois-Membran ausgekleidet ist. Wenn nun zwischen dem 10. und 12. Bruttag trotz des Wegfalles des Flächenwachstums erneut ein Mitosegipfel in Erscheinung tritt, der den Anfangswert sogar noch übersteigt, dann dürfte dieser Befund neben der beschriebenen aktiven Verlagerung der Endothelkerne für die Erklärung der Umbauvorgänge am respiratorischen Capillarnetz vollkommen ausreichen. Die Intensität und Schnelligkeit, mit welcher der Prozeß offensichtlich abläuft, läßt vermuten, daß ein dringendes physiologisches Bedürfnis die treibende Kraft bildet. Der verbesserte Gasaustausch kann nach Erreichen der extremen Bedingungen einer unmittelbar unter der Schalenhaut in großer Fläche

frei liegenden Capillarschicht nicht mehr die alleinige Ursache sein. Der Verlust des schützenden Ektoderms im Dienste der Sauerstoffversorgung des Embryos läßt dagegen annehmen, daß mit größter Beschleunigung ein Organ der Abwehr äußerer Schädigungen aufgebaut werden soll, ob es nun solche physikalisch-chemischer Natur oder Infektionserreger

sind. Darauf soll in der Besprechung der Ergebnisse noch kurz zurückgekommen werden.

Die verstärkten kubischen Endothelverbände sind in der bisherigen Darstellung rein auf Grund ihrer Lagebeziehungen zum Capillarlumen in den verschiedenen Bebrütungsstadien als Endothel bezeichnet worden. Daneben haben wir aber natürlich auch die Bindegewebsfärbungen Azan und Domagk bzw. van Gieson dazu herangezogen. Sie ergeben folgenden Befund: Die Grenzmembran der Schalenhaut ist scharf azanblau gefärbt. Die anliegenden Capillarendothelien sind auf beiden Seiten von azanblauen Säumen eingefaßt. Der gleiche Befund gilt jedoch auch für die kubischen Zellverbände, wobei zu beobachten ist, daß die

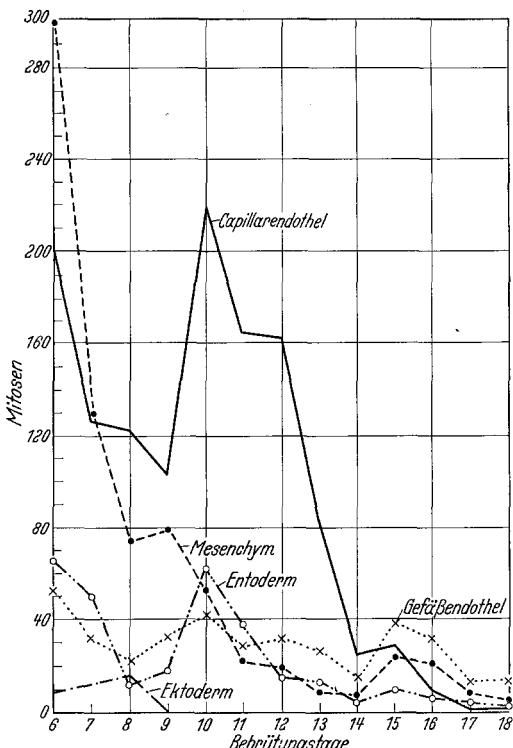


Abb. 13. Mitosezahlen der hauptsächlichsten Zelltypen der Chorio-Allantois-Membran nach Auszählung an 520 Hämalaun-Eosin-Schnitten, je 40 Schnitten des 6.—18. Bruttages. Unter Gefäßendothel sind die Endothelzellen aller arteriellen und venösen, auch der capillären Gefäße zu verstehen. Ausgenommen sind die abgekürzt als „Capillarendothel“ bezeichneten Endothelien des respiratorischen Capillarnetzes.

rein quer getroffenen Zellgruppen der kubischen Verbände, die dem Capillarlumen direkt anliegen, mitunter noch gesondert blau umsäumt sind. Entsprechende Ergebnisse hatten die von Gieson- bzw. die Domagk-Färbungen. Diese Färbungen sprechen unseres Erachtens nicht gegen die Zuordnung der kubischen Zellverbände zum Endothel. Versilberungen konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit aus oben näher gekennzeichneten Gründen leider nicht durchgeführt werden.

Die Besprechung der Befunde an der normalen Chorio-Allantois-Membran kann nicht abgeschlossen werden, ohne daß auf Abweichungen von dem geschilderten typischen Bild eingegangen worden ist.

Abweichungen vom typischen Bild der normalen Chorio-Allantois-Membran ohne experimentelle Beeinflussung.

Die hierher gehörenden Befunde sind geeignet, vor allzu leichtgläufiger Deutung aufgefunder Veränderungen als experimentell, eventuell sogar spezifisch bedingt, zu warnen. Hierher sind zunächst alle Artefakte

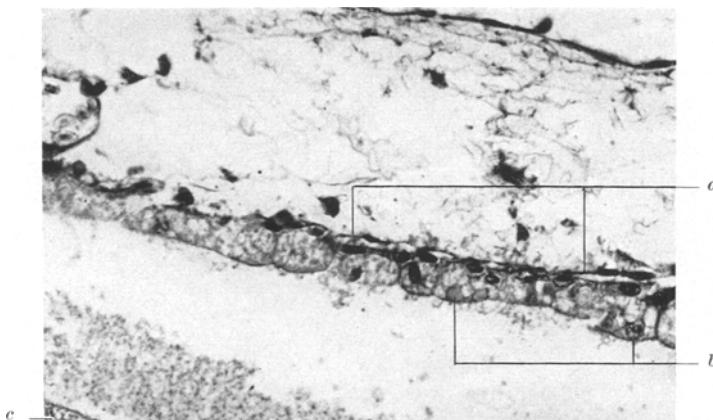


Abb. 14. Chorio-Allantois-Membran des 9. Bruttagtes. Ablösung von der Schalenhaut. Schrägschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 440mal. Ektodermzellen und Endothelien von feinkörnigem Schalenhautmaterial überdeckt, welches auch den Zwischenraum teilweise ausfüllt. *a* Respiratorisches Capillarnetz; *b* flach bzw. schräg geschnittenes Ektoderm; *c* Schalenhaut.

durch ungeeignete Technik zu rechnen. Hält z. B. das außerordentlich lockere und schwache mesenchymale Fasergerüst dem Druck des sich bei der Abkühlung zusammenziehenden Einbettungsmittels nicht stand, so resultiert daraus eine Abflachung, die sich in einer mehr oder weniger deutlichen Parallelstellung mesenchymaler Faserzüge zu erkennen gibt. Im Extremfalle ist vom Mesenchym nichts mehr zu erkennen und die aufeinander gepreßten Zellverbände sind nicht mehr zu differenzieren. Umgekehrt kann eine zu große Höhe der Chorio-Allantois-Membran durch Abreißen des Entoderms vom Mesenchym und Ausfüllung des Zwischenraumes durch bei der Fixation gelöste Eiweißsubstanzen vorgötäuscht werden.

Von erheblich größerer Bedeutung für die Entstehung von Kunstprodukten sind aber Schräg- und Flachschnitte. Sie führen namentlich an der abgelösten und in Falten liegenden Chorio-Allantois-Membran

sowie an den Schnitträndern zu vermeintlichen „Proliferationen“ des Entoderms oder des Ektoderms bzw. Endothels. Auch scheinbare Verdichtungen des Mesenchyms können so entstehen. Wie sehr die ge-

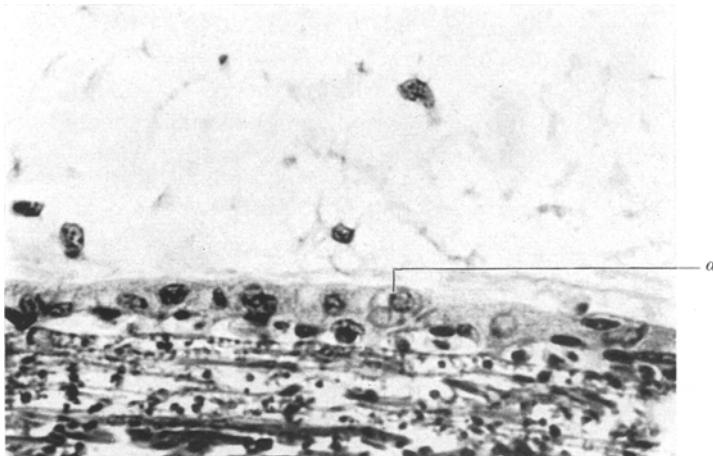


Abb. 15. Normale Chorio-Allantois-Membran des 17. Brutttages. Querschnitt. Paraffin-Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. Pseudoeinschlußkörper (a).

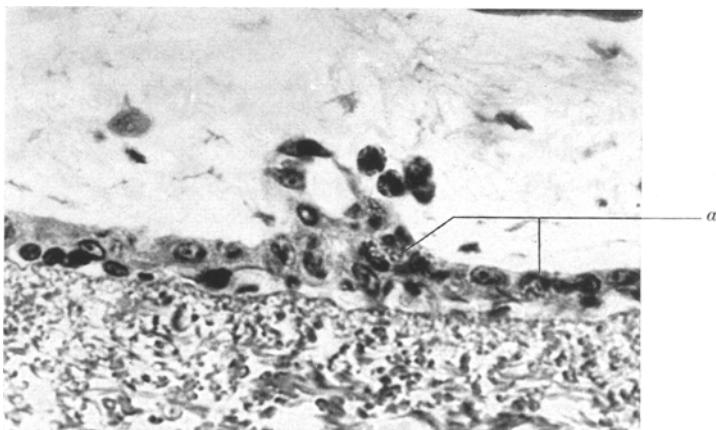


Abb. 16. Unbehandelte Chorio-Allantois-Membran des 16. Brutttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. Beginnende Infiltratbildung. a Durchwandernde eosinophile Leukocyten.

wohnten Verhältnisse unter diesen Bedingungen verfälscht werden können, dafür mag Abb. 14 ein Beispiel sein. Es wäre abwegig, etwa die an der Pfeilspitze bei *b* befindlichen Gebilde als intracytoplasmatische „Einschlußkörper“ zu deuten. Einen anderen Einschlußtyp zeigt Abb. 15. Es handelt sich hier um phagocytierte Erythrocytenbestandteile oder Fragmente benachbarter untergehender Zellen.

In der technisch einwandfrei bearbeiteten Chorio-Allantois-Membran müssen in der Hauptsache zwei Prozesse beachtet werden. Erstens finden sich auch schon in sehr frühen Stadien kleinere oder größere In-

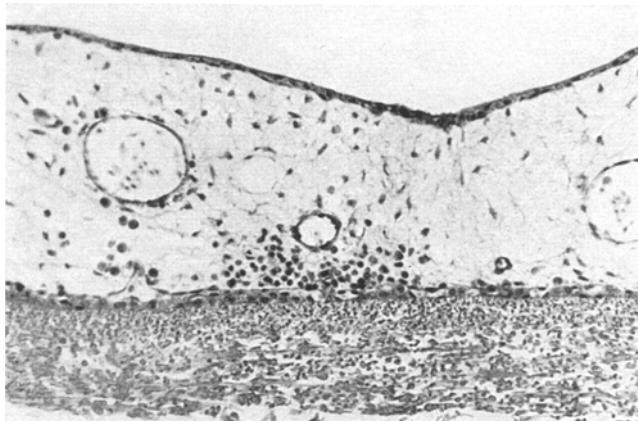


Abb. 17. Unbehandelte Chorio-Allantois-Membran des 11. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 175mal. Eosinophiles Infiltrat.

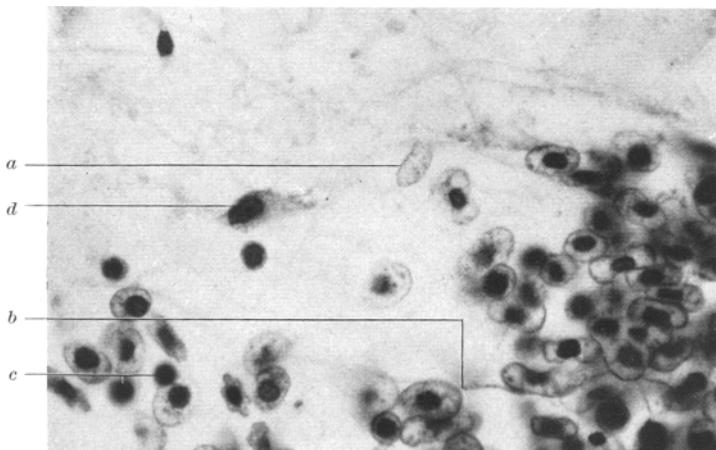


Abb. 18. Chorio-Allantois-Membran des 8. Bruttages. Vergr. etwa 830mal. Ausschnitt aus einer Blutung. *a* Kernloser Erythrocyt; *b* Rand des blutenden Gefäßes; *c* freie Erythrocytenkerne; *d* Mesenchymzelle.

filtrate (Abb. 16, und 17). Sie können gelegentlich ausgesprochen perivasculären Charakter aufweisen. In den meisten Fällen sind es eosinophile Leukozyten, die ja beim Hühnchen bei weitem überwiegen. Es kommen jedoch auch monocytiär-lymphocytäre Zellgruppen im Mesenchym vor. Zur Erklärung der Infiltrate wären einmal in der zweiten Hälfte der Brutzeit Ablagerungen von harnpflichtigen Substanzen, vorwiegend

Uraten, heranzuziehen. Die nach dem 16. Bruttag oft massiven Auf- und Einlagerungen werden aber bei der Einbettung herausgelöst und entziehen sich daher im Paraffinschnitt dem direkten histologischen



Abb. 19. Unbehandelte Chorio-Allantois-Membran des 20. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 175mal. Massive Blutung zwischen Schalenhaut und Membran und in die Chorio-Allantois-Membran selbst. Starke bindegewebige Reaktion. Infiltration mit Leukocyten.

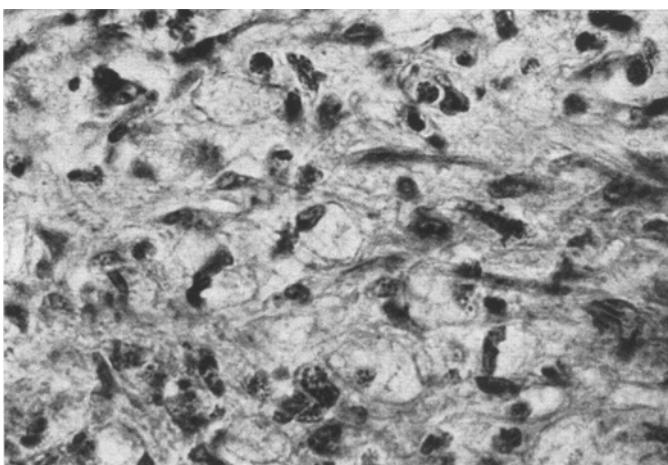


Abb. 20. Ausschnitt der Abb. 17 vom Rande der Blutung. Vergr. etwa 830mal. Junges neugebildetes Bindegewebe mit eingelagerten Leukocyten und zahlreichen Schaumzellen.

Nachweis. Andererseits wäre das Vorliegen latenter Infektionen zu diskutieren. Der zweite Punkt betrifft die ebenfalls in allen Stadien der Bebrütung anzutreffenden Blutungen. In den ersten Bruttagen handelt es sich meist nur um Austritte einzelner Erythrocyten ins Mesenchym. Diese zeigen dann eigenartige Entmischungserscheinungen in Form zahlreicher Vacuolen. Der Kern wird häufig ausgestoßen. Die Beseitigung

geschieht entweder durch direkte Auflösung oder durch phagocytierende Mesenchymzellen, die vereinzelt in fast allen Schnitten des 6.—9. Bruttagen mit solchen Trümmern beladen zu finden sind und nicht selten

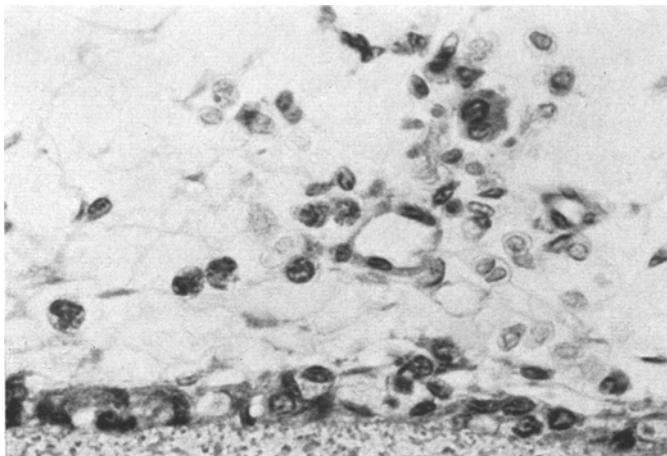


Abb. 21. Chorio-Allantois-Membran des 14. Bruttages. Querschnitt. Paraffin. Hämalaun-Eosin. Vergr. etwa 830mal. Mäßige Blutung um ein kleines Gefäß mit in Auflösung begriffenen und miteinander verbackenden Erythrocyten, Auswanderung von Leukocyten und Riesenzellbildung.

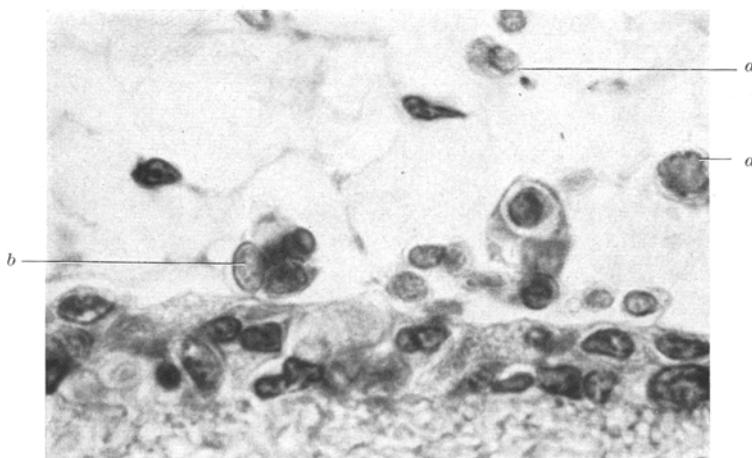


Abb. 22. Chorio-Allantois-Membran des 14. Bruttages. Ausschnitt. Vergr. etwa 1300mal. Kleinere Blutung am respiratorischen Capillarnetz. a Konglomeratbildung von Erythrocyten; b Phagocytose mehrerer Erythrocyten durch vielkernige Riesenzelle.

mehrere Kerne aufweisen (Abb. 18—22). In den späteren Stadien sind die Blutungen gewöhnlich größer, in den letzten Bruttagen eventuell massiv. Zerrungen durch den sich bewegenden Embryo und Gefäßveränderungen, die die Lösung vom Hühnchen beim Schlüpfen

vorbereiten, mögen die Ursache sein. Die Blutungen liegen jetzt entweder zwischen Schalenhaut und Chorio-Allantois-Membran und sind dann durch Zerreißungen im Bereich des respiratorischen Capillarnetzes bedingt, oder sie nehmen, aus größeren Gefäßen stammend, mehr oder weniger die ganze Membran ein. Besonders im letzteren Falle ist die nun stets anzutreffende bindegewebige Abgrenzung eventuell überraschend ausgedehnt und dicht. Das Fibroblastengeflecht ist von Leukozyten und voluminösen phagocytären Elementen durchsetzt (Abb. 20). Am Rande von Blutungen verkleben oft mehrere Erythrocyten miteinander und werden auch in Mehrzahl von Phagocyten endothelialer oder mesenchymaler Natur aufgenommen (Abb. 22).

Besprechung der Ergebnisse.

Sollen nun die beigebrachten Befunde in die Angaben der Literatur eingebaut werden, so ist zunächst zu klären, inwieweit dieses Schrifttum genügend fundiert erscheint. Die Methodik ist anscheinend bei FÜLLEBORN (1895) einwandfrei. Seine Darstellung entspricht weitgehend unseren Ergebnissen. Der Mangel an Abbildungen beeinträchtigt leider ihren Wert, und über das, was wir als „Umbau“ der Capillarschicht bezeichnen möchten, fehlen nähere Einzelheiten, obgleich gerade FÜLLEBORN selbst die unzureichende Beschäftigung mit dem respiratorischen Capillarnetz in der Literatur beklagt. Es wird lediglich die Meinung geäußert, die kubischen Zellverbände an der Capillarschicht seien mesenchymaler Natur. So erscheint fast der Vorwurf von DANCHAKOFF (1917) berechtigt, FÜLLEBORN seien wichtige Stadien in der Entwicklung des Capillarnetzes entgangen. Bei DANCHAKOFF wiederum wird anscheinend die Methodik nicht genügend berücksichtigt. Technische Daten fehlen. Es wird nur kurz angegeben, daß Stadien zwischen dem 6. und 21. Bruttag zur Untersuchung kamen, wobei ausdrücklich auf eine Darstellung der Entwicklung der respiratorischen Capillarschicht verzichtet wird. Die wenigen beigegebenen Zeichnungen lassen vermuten, daß ausschließlich Schnitte der aus dem Ei herausgenommenen Chorio-Allantois-Membran verwertet wurden. Damit aber ergeben sich sofort grundsätzlich andere Verhältnisse als *in situ* mit der Möglichkeit zahlreicher Artefakte. Als maßgebend für die Beurteilung werden anscheinend der 10. und 15. Bruttag angesehen. Dabei wird nicht bedacht, daß das entscheidende Ausgangsstadium früher liegt. Als Beweise für die ekto-dermale Natur der kubischen Zellgruppen werden aufgeführt: 1. Färberische Unterschiede zwischen Ektoderm und Endothel. Sie werden in der gleichen Arbeit weiter unten als nicht stichhaltig bezeichnet. 2. Die Entwicklung eines typischen mehrschichtigen Plattenepithels, die Bildung von Epithelperlen und Verhornungsvorgänge auf proliferative Reize hin. Dazu ist zu sagen, daß wir plattenepithelähnliche Bilder in

den entsprechenden Stadien nie gesehen haben; solche proliferative Zellvermehrungen bestehen immer aus mehr oder weniger gestreckten Zellen, die keinerlei Schichtenbildungen aufweisen, sondern sich regellos verflechten. Die „Epithelperlen“ sind entweder Flachschnitte, wie sie bei der von der Verfasserin geübten Technik unvermeidbar sind, oder es handelt sich um eindeutige Endothelproliferationen, die häufig gerade mitten im Mesenchym um kleine Gefäße herum angetroffen werden, wenn stärkere Reize einwirken. Die vermeintlichen Verhornerungen aber erweisen sich aus den eigenen Angaben von DANCHAKOFF über stets damit verbundene Vacuolen als degenerative Veränderungen. 3. „Solide Ektodermsprossen“, die in die Tiefe der Chorio-Allantois-Membran dringen und Anschluß an die dort gelegenen Gefäße suchen sollen. Derartige Bildungen sieht man tatsächlich sehr oft. Die Kontrolle mehrerer hintereinander liegender Schnitte zeigt aber sofort, daß es sich dabei um die zahlreichen zuführenden arteriellen sowie ableitenden venösen Verbindungen des respiratorischen Capillargeflechtes handelt, deren Lumen nur mehr oder weniger weit angeschnitten ist. Ziehen wir nun unsere Befunde heran, wonach das respiratorische Capillarnetz bis zum 10. Bruttage abgesehen von dem Verlust des Ektoderms grundsätzlich unverändert bleibt und danach innerhalb eines einzigen Bruttages durch Kernverlagerungen und schnell aufeinander folgende Zellteilungen es zu der geschilderten rapiden Umgestaltung kommt, so kann man kaum wie DANCHAKOFF (1917) oder GOULSTON und MOTTRAM (1932) von einer „intraektodermalen Lage“ der respiratorischen Capillaren oder einem „Durchwachsenwerden“ eines angeblich in keinem Stadium der Chorio-Allantois-Entwicklung fehlenden kubischen Ektoderms durch das Capillarnetz mit nachfolgender Neuordnung der Ektodermzellen zu einer Schicht sprechen. Wir möchten vielmehr mit FÜLLEBORN für einen allmählichen Untergang des Ektoderms in der ersten Hälfte der Bebrütungszeit eintreten und das charakteristische Bild der Capillarschicht nach dem 11.—12. Bruttage in der obigen Weise erklären; dann aber sind die kubischen Zellverbände dem Endothel zuzurechnen.

Wurde auf die Arbeit von DANCHAKOFF ausführlich eingegangen, so brauchen die von ihr wesentlich abhängigen Darstellungen anderer Autoren nur kurz gestreift zu werden. GOULSTON und MOTTRAM (1932) untersuchen lediglich Eihäute des 10.—13. Bruttages. Sie sprechen ebenfalls von teilweiser intraektodermaler Lage der Capillarschicht, verstehen darunter aber nach ihrer absolut korrekten Skizze 1 anscheinend fälschlich Ausmündungen in venöse Abflüsse. Die Notwendigkeit der kritischen Beurteilung etwaiger Artefakte zeigt, wie wir glauben, ihre bei gegebene Mikrophotographie, in der eine typisch zusammengebrochene Eihautpartie als atrophisch bezeichnet ist. Die breite Darstellung der methodischen Einzelheiten und die Betonung auch geringer Abweichungen

in der unbehandelten Chorio-Allantois-Membran scheint uns durch derartige Bilder gerechtfertigt und erforderlich. SCHÜRMANN (1952) übernimmt ohne eigene Stellungnahme den amerikanischen Standpunkt. Das von D'AUNOY und EVANS (1937) als Vergleich zu virusinfizierten Eihäuten beigebrachte Material betrifft allein zwar unbehandelte, jedoch aus dem Ei entfernte Membranen und läßt wie andere derartige Untersuchungen eine korrekte Auswertung nicht zu. Die Abbildungen zeigen groteske Faltungen der Eihäute mit Schnittrichtungen, die teilweise an unsere Abb. 12 erinnern, sie jedoch in ihrer Undeutbarkeit noch übertrifft. Daß in der letztgenannten Arbeit unspezifische Einschlüsse eine große Rolle spielen, nimmt nicht Wunder.

Unsere Auffassung der Endothelnatur der kubischen Zellverbände am respiratorischen Capillarnetz wird durch folgende von uns bestätigte Beobachtung gestützt. BEVERIDGE und BURNET (1946) geben an, daß jüngere Stadien, unserer Meinung nach entgegen aller Voraussicht, später eintretende und insgesamt geringere Reaktionen darbieten als ältere. Es muß allein danach zwischen den jungen und älteren Eihäuten ein wesentlicher Unterschied bestehen. Das sei hier nicht weiter ausgeführt. Angaben dazu wurden in einem Kurzreferat auf der 38. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie in Hamburg August 1954 gemacht.

Zum Abschluß möchten wir noch zur Frage der Notwendigkeit eines Organs der Infektionsabwehr für das Hühnchen drei Beiträge aus dem Schrifttum anführen. Nach JACOTOT (1953) sowie GOLDSWORTHY und MOPPETT (1935) ist die Infektionsmöglichkeit durch die Eischale hindurch grundsätzlich zu bejahen. Sie ist infolge der bei ROMANOFF und ROMANOFF (1949) zahlenmäßig belegten Zunahme der Porenzahl und -größe im Laufe der Brutzeit bei den älteren Stadien als erhöht zu bezeichnen. Der Verlust des Ektoderms bis zum 10. Bruttag zieht daher folgerichtig eine Verstärkung des allein noch vorhandenen Endothels in der Weise nach sich, daß sich daraus keine Behinderung für den Gasaustausch herleiten kann. Das aber bedeutet wieder die Entwicklung kubischer Zellverbände auf der Entodermseite des respiratorischen Capillarnetzes.

Zusammenfassung.

Die an 150 Bruteiern aller Stadien durchgeführten Untersuchungen bestätigen den von FÜLLEBORN angegebenen histologischen Aufbau der normalen Chorio-Allantois-Membran junger Stadien aus flachem, um den 10. Bruttag nicht mehr nachweisbarem Ektoderm, respiratorischem Capillarnetz, Mesenchym und Entoderm.

Das Bild der voll entwickelten Chorio-Allantois-Membran wird durch einen Umbau des Capillargeflechts im Interesse der verbesserten Sauerstoffdiffusion und Infektionsabwehr erklärt, für den die hohen Mitose-

zahlen des 10.—11. Bruttages und Kernverlagerungen auf die Entodermseite der Capillarschicht wertvolle Anhaltspunkte liefern. Die dem capillären Blutraum entodermwärts anliegenden kubischen Zellverbände müssen nach diesen Befunden verstärktes Endothel sein.

Auf Abweichungen der unbehandelten Chorio-Allantois-Membran und die Notwendigkeit einer korrekten Methodik wird hingewiesen.

Literatur.

- BEVERIDGE, W. I. B., and F. M. BURNET: The cultivation of viruses and rickettsiae in the chick embryo. Med. Res. Counc. Spec. Rep. Ser. 256, 1946. — BURNET, F. M.: In DOERR-HALLAUERS Handbuch der Virusforschung, S. 419—446. Wien: Springer 1948. — DANCHAKOFF, V.: Amer. J. Anat. **21**, 407—416 (1917). — d'AUNOY, R., and F. L. EVANS: J. of Path. **44**, 369—377 (1937). — DUVAL, M.: Anat. physiol., Paris **1884**, 201—241. — FÜLLEBORN, F.: Beiträge zur Entwicklung der Allantois der Vögel. Inaug.-Diss. Berlin 1895. — GOLDSWORTHY, N. E., and W. MOPPETT: J. of Path. **41**, 529—551 (1935). — GOULSTON, D., and J. C. MOTT-RAM: Brit. J. Exper. Path. **13**, 175—182 (1932). — JACOTOT, H.: Ann. Inst. Pasteur **84**, 614—617 (1953). — KEIBEL, F., u. K. ABRAHAM: Normentafel zur Entwicklung des Huhnes. Jena: Gustav Fischer 1900. — LILLIE, F. R.: Development of the chick, 3. Aufl. New York: Henry Holt & Co. 1952. — NAUCK, E. G., u. TH. NASE-MANN: Z. Tropenmed. **3**, 271—283 (1952). — PATTEN, B. M.: Early embryology of the chick, 4. Aufl. New York: Blakiston Comp. 1951. — ROMANOFF, A. L., and A. ROMANOFF: The avian egg. New York: John Wiley & Sons 1949. — SCHÜRMANN, R.: Virchows Arch. **321**, 395—410 (1952). — VOSS, H.: Zbl. Bakter. I Orig. **160**, 643—648 (1954).

Dr. HERBERT VOSS, BRUNHILD VAUCK, Robert-Koch-Institut, Berlin N 65,
Führer Straße 2.