

Ueber das Eosin als Reagens auf Hämoglobin und die Bildung von Blutgefäßen und Blutkörperchen bei Säugethier- und Hühnerembryonen.

Von

Dr. N. Wissozky,

Docent der Kaiserl. Universität zu Kasan. (Russland).

Hierzu Tafel XXXI.

I.

Bei Gelegenheit meiner im anatomischen Institute zu Strassburg ausgeführten Untersuchungen über die embryonalen Gewebe habe ich unter Anderem die Thatsache beobachtet, dass ein neuerdings in Anwendung gebrachter Farbstoff, das Eosin¹⁾, ein spezifisches Verhalten gegen die rothen Blutkörperchen zeigt. Die rothen Blutkörperchen der Säugethiere (Mensch, Kaninchen, Meerschweinchen) nehmen nämlich bei der Behandlung mit Eosin eine eigenthümliche rosa-orange Färbung an. Bei denjenigen Wirbelthieren, deren Blutkörper Kerne enthalten (Hühner, Frösche), färbt sich durch das Eosin nur das Plasma der Körperchen, der Kern dagegen bleibt farblos.

Nach Feststellung dieser Thatsache musste sich die Frage aufdrängen, wovon die charakteristische Färbung der rothen Blutkörper abhängt, d. h. ob durch das Eosin das Stroma der Körperchen gefärbt wird oder das dieses durchdringende Hämoglobin.

Zur Entscheidung dieser Frage unternahm ich folgenden Versuch.

Ich brachte einen Tropfen Froschblut auf den Objectträger und beobachtete denselben unter dem Mikroskope nach Zusatz von Wasser. Nachdem das Wasser auf die rothen Blutkörper gewirkt hatte, d. h. ein Theil derselben sich in Folge der Auflösung des Hämoglobins mehr oder weniger entfärbt hatte, ersetzte ich das Wasser unter dem Deckgläschen durch eine Eosinlösung (Eosin und

1) Das Eosin wurde im vorigen Jahre von Dr. Fischer zur Färbung mikroskopischer Präparate vorgeschlagen. S. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII. Hft. 2. 1875. »Eosin, als Tinctionsmittel für mikroskopische Präparate, von Dr. med. E. Fischer (aus d. anat. Institute zu Strassburg) p. 531 u. ff.

Alaun, zu gleichen Theilen in 200 Theilen Alkohol). Nach einigen Minuten war die Mehrzahl der Körperchen durch Eosin gefärbt. Darauf entfernte ich den Ueberschuss des Farbstoffes mit Wasser und fügte zu diesem einen Tropfen Glycerin. Die Beobachtung der auf diese Weise behandelten rothen Blutkörperchen bei starker Vergrößerung (Oc. 3, 8 Syst. v. Hartnack) ergab Folgendes: In demjenigen Theile der Körperchen, welcher durch die Wirkung des Wassers weniger verändert war, nahm das Protoplasma die verschiedenen Schattirungen der rosa-röthlichen Färbung an, die Kerne dagegen blieben ungefärbt. Ausserdem nahmen sowohl die Kerne als auch das Protoplasma eine körnige Beschaffenheit an. Die durch das Wasser zum Theil entfärbten Blutkörperchen färbten sich durch Eosin nur in dem noch Hämoglobin enthaltenden Theile. Diejenigen Körperchen, welche vom Hämoglobin vollständig befreit waren, färbten sich auch durch Eosin gar nicht. Je grösser der relative Hämoglobingehalt war, desto intensiver färbten sich die Körperchen durch Eosin und desto mehr überwog die orange Färbung die rosa¹⁾. (S. Fig. 1, Nr. 1—8 und die darauf bezüglichen Erklärungen.)

In der Flüssigkeit zwischen den Körperchen waren reichliche feinkörnige Niederschläge bemerkbar von rosenrother Farbe mit einem Stiche in's Orange an den Stellen, wo dieselben in bedeutenderen Massen aufgehäuft waren.

Es unterliegt somit keinem Zweifel, dass das Eosin eine charakteristische Färbung des Protoplasmas der rothen Blutkörperchen durch irgend eine Verbindung mit dem Hämoglobin derselben hervorbringt.

Fügt man zu dem in der oben angegebenen Weise behandelten Präparate 1—2 Tropfen einer concentrirten Hämatoxylinlösung, so

1) Noch besser, gleichmässiger und deutlicher färbt sich das Protoplasma der rothen Blutkörperchen, wenn man einen frisch entleerten Tropfen Froschblut zuerst $\frac{1}{2}$ —1 Stunde der Einwirkung der Müller'schen Flüssigkeit unterwirft und darauf der doppelten Färbung auf die unten beschriebene Weise. Die auf diese Weise behandelten rothen Blutkörperchen sind abgebildet Fig. 9 derselben Taf. Alte Spiritus- und Chromsäurepräparate eignen sich weniger für unsere Behandlung. In solchen Fällen nehmen die rothen Blutkörperchen eine schmutzig gelbbraune Färbung an. Offenbar nach solchen Präparaten hat Fischer über die Einwirkung des Eosin auf die rothen Blutkörperchen geurtheilt. Anders lässt sich seine Angabe nicht erklären, dass »die Blutkörperchen eine dunkelbraune Farbe annehmen« (l. c. p. 351).

nehmen die Kerne der Körperchen eine violette Färbung an, welche um so deutlicher und reiner hervortritt, je vollständiger sich die Körperchen bei der vorhergegangenen Behandlung erhalten haben. Die Körperchen, aus welchen sämtliches Hämoglobin ausgetreten ist, erscheinen als durchsichtige, farblose Scheiben mit scharfbegrenzten violetten Kernen. Die Scheiben sind dermassen zart und durchsichtig, dass man ihre Contouren selbst bei starken Vergrößerungen kaum erkennen kann und es anfangs scheint, als ob im Gesichtsfelde blos die freien Kerne liegen.

Diese Beobachtung ist unter Anderem auch insofern von Interesse, als sie eine Verschiedenheit in dem Verhalten der Hauptbestandtheile der rothen Blutkörperchen, des Hämoglobins, des Stromas und des Kernes zu den Farbstoffen erkennen lässt und uns ein Mittel an die Hand giebt, sehr leicht und einfach die chemische Verschiedenheit dieser Bestandtheile zu demonstrieren.

Darauf wandte ich mich zu einer anderen Frage, nämlich der, wie sich die farblosen Blutkörperchen zum Eosin verhalten. Diese Frage in der früheren Weise an einem Blutstropfen von einem warm- oder kaltblütigen Thiere zu untersuchen, wo man farblose Körperchen nur sehr zerstreut und in geringer Menge antrifft, wäre unzweckmässig gewesen. Ich zog daher einen anderen Weg vor: die Beobachtung des entzündeten Mesenteriums von Fröschen, wo, wie bekannt, in gewissen Stadien des Entzündungsprocesses farblose Blutkörperchen in den Gefässen und den umgebenden Geweben in grosser Menge auftreten.

Zu dem Zwecke wurde einem Frosche durch einen kurzen Längsschnitt die Bauchhöhle geöffnet. Es traten aus derselben gewöhnlich von selbst oder bei geringem Drucke einige Darmschlingen hervor. In diesem Zustande verblieb das Thier 2—4 Tage, worauf die herausgetretenen Darmschlingen mit dem Mesenterium abgeschnitten und auf 24 Stunden in Müller'sche Flüssigkeit gelegt wurden. Nach Ablauf dieser Zeit wurde das Mesenterium von den Gedärmen getrennt, mit destillirtem Wasser gewaschen und auf 24 Stunden in eine verdünnte alkoholische Lösung von Eosin gelegt, darauf von neuem mit Wasser gewaschen, auf 5—15 Minuten (je nach der Concentration) in Hämatoxylinlösung gelegt, wiederum mit Wasser gewaschen und in Glycerin eingedeckt.

In den kleinen, wenig mit Blut gefüllten Gefässen, sieht man sehr scharf die rothen Blutkörperchen, deren Protoplasma deut-

lich durchscheinend rosa - orange gefärbt ist, die Kerne dagegen violett.

Zwischen den rothen Blutkörperchen trifft man eine Menge weisser, welche eine violette Färbung angenommen haben, ähnlich den Kernen der ersteren. Ebenso sind die Kerne der Gefässwände gefärbt und die Wanderzellen¹⁾.

Es steht somit fest, dass die farblosen Blutkörperchen, welche bekanntlich kein Hämoglobin enthalten, sich mit Eosin nicht färben²⁾.

Nach den neuesten Untersuchungen³⁾ ist das Hämoglobin ein im Thierreiche sehr weit verbreiteter Körper. Schon diese einfache Thatsache spricht für seine hohe physiologische Bedeutung.

Die wichtige Rolle, welche dem Hämoglobin beim Gaswechsel im Blute der Wirbelthiere zukommt, nöthigt uns, dasselbe als einen wesentlichen Körperbestandtheil zu betrachten. Unter den uns bisher bekannten Eigenschaften des Hämoglobins ist die Eigenthümlichkeit desselben hervorzuheben, nur mit gasförmigen Stoffen sich zu verbinden. Um so mehr ist es beachtenswerth, dass das Hämoglobin auch mit dem Eosin, einem nicht gasförmigen Körper, sich verbindet. Indessen will ich die Möglichkeit nicht ausschliessen, dass nicht das Hämoglobin selbst, sondern ein Spaltungsproduct desselben diese Verbindung eingeht. In Bezug auf die Anwendbarkeit des Eosin zum mikrochemischen Nachweis des Hämoglobin ist dieses gleichgültig.

Diese Thatsache verspricht eine umfassende Anwendung für die Zukunft. Wir haben also jetzt ein Mittel, unter dem Mikroskope die Anwesenheit von Hämoglobin in den geringsten Spuren nachzuweisen und werden dadurch vielleicht im Stande sein, in Bezug auf die Blutbildung und die Störungen derselben eine ganze

1) Die beschriebene Färbungsmethode erscheint daher sehr geeignet zur Erforschung des Entzündungsprocesses am Mesenterium des Frosches und der dort auftretenden Neubildung von Gefässen. Einige nicht uninteressante Resultate, welche ich in Bezug auf diese Frage erhalten habe, sollen demnächst mitgetheilt werden.

2) Dieser Umstand, dass die farblosen Blutkörperchen sich mit Hämatoxilin ebenso färben wie die Kerne der rothen, deutet auf eine gewisse Verwandtschaft dieser Gebilde. Diese Annahme findet, wie wir weiter unten sehen werden, auch in anderen Thatsachen eine Stütze.

3) Lankester, Ray, E., The Distribution of Haemoglobin in the animal kingdom. Proc. roy. Soc. Vol. N. 140. Waldeyer's Refer. im Jahresber. d. ges. Med. 1873. Bd. I. p. 50.

Reihe von Fragen sicher zu entscheiden, welche gegenwärtig mehr auf Grundlage indirecter Schlüsse als positiver Thatsachen beurtheilt werden. Der Art sind z. B. die Fragen nach der embryonalen Entwicklung des Blutes, nach dem Orte und der Art der Entwicklung der rothen Blutkörperchen im ausgewachsenen Organismus (Köl liker, Neumann, Bizzozero), nach den Veränderungen des Blutes bei den verschiedenen Formen der Leukämie, bei septischen Krankheiten (Hiller, Centralbl. f. Chirurgie, Septikämie u. Ichorämie) etc.

Vorläufig habe ich mich darauf beschränkt, die von mir aufgefundene Reaction auf Hämoglobin zur Untersuchung der mich schon lange beschäftigenden Frage über die Entwicklung des Blutes und der Gefässe bei den Warmblütern anzuwenden. Die Hauptresultate dieser Arbeit bilden den Inhalt der folgenden Abhandlung¹⁾.

II.

Der geeignetste Ort zur Erforschung der ersten Anlage und Entwicklung des Blutes und der Gefässe bei den Embryonen des Kaninchens ist der schmale Streifen der Eihäute am Rande der Placenta zwischen dieser und dem Sinus terminalis. Hier entwickeln sich die Gefässe verhältnissmässig spät, so dass man die erste Anlage derselben noch an Embryonen beobachten kann, bei welchen bereits in der Allantois ein mehr oder weniger vollkommener Kreislauf besteht.

Der beschriebene »Randstreifen« bei 1,5 Cm. langen Embryonen besteht ausser den ihn bedeckenden Epithelien aus zwei Schichten, welche sich nur mit grosser Mühe trennen lassen. Beide Schichten bilden durchsichtige, farblose Blätter, in welche die blutbildenden Elemente, die Hämatoblasten, eingebettet sind. Der einzige Unterschied dieser beiden Blätter unter einander besteht darin, dass in dem äusseren, der Höhle der Gebärmutter zugekehrten, der Process der Blut- und Gefässbildung früher beginnt, als in dem inneren der Placenta zugekehrten. Zu einer Zeit, wo man in dem äusseren Blatte bereits bis zu einem gewissen Stadium entwickelte Gefässe und Blutkörperchen wahrnimmt, bemerkt man in dem inneren nur vereinzelte oder in verschiedener Weise unter einander verbundene, im ersten Stadium

1) Beiläufig sei noch bemerkt, dass das Eosin bei Bindegewebszellen nur das Protoplasma, bei Epithelzellen dagegen nur die sie verbindende Kittsubstanz deutlich färbt. Ist Lapisbehandlung vorausgegangen, so wirkt Eosin nicht mehr, ebenso wenig wie Silber nach vorheriger Eosintinction.

der Entwicklung begriffene Hämatoblasten. Auf diese Weise können wir nicht selten an ein und derselben Hülle, wenn wir sie in die beiden sie zusammensetzenden Blätter spalten, die verschiedenen Entwicklungsstadien des Gefässsystems beobachten. Die Blätter sind so dünn und durchsichtig, dass sie sich bei den allerstärksten Vergrößerungen untersuchen lassen.

Weniger als dieser Randstreifen ist der übrige Abschnitt der Eihäute zur Beobachtung der ersten Entwicklung des Blutes geeignet, weil hier die dicken, die Blätter bedeckenden Epithelschichten mit grossen Kernen die richtige Auffassung des Bildes in hohem Grade stören. Diese Zellen sind so fest verwachsen, dass die Entfernung derselben in einer genügend grösseren Ausdehnung ohne Verletzung der Unterlage nur sehr selten gelingt.

Die Untersuchungen wurden an Häuten ausgeführt, welche in möglichst frischem Zustande in Müller'sche Flüssigkeit gelegt worden waren. Nach 24—48 Stunden wurden die Häute aus der Flüssigkeit herausgenommen und mit Wasser gewaschen. Die Epithelien wurden mit einem weichen Pinsel abgestreift. Darauf wurden sie der Färbung mit Eosin und mit Hämatoxylin unterworfen. Die beiden Blätter wurden von einander getrennt und in Glycerin untersucht.

An gelungenen Präparaten sieht man in der durchsichtigen, farblosen Grundsubstanz der Blätter die Hämatoblasten, welche mehr oder weniger scharf durch ihre Färbung gegen ihre Umgebung abstechen.

Die grosse Mehrzahl der Hämatoblasten bei Kaninchenembryonen von 1,5 bis 1,8 Cm. Länge erscheint als eine homogene, feinkörnige Protoplasmamasse, welche Kerne enthält.

Ausnahmsweise trifft man Hämatoblasten, welche keine Kerne enthalten. Diese letzteren sind offenbar nichts anderes als Protoplasmaklumpchen, welche sich von kernhaltigen Hämatoblasten abgetrennt haben.

Das Protoplasma der Hämatoblasten nimmt bei der Doppelfärbung eine mehr oder weniger hell-lila-rosaroth Farbe an, die Kerne dagegen eine violette. Im Uebrigen ist der Farbstoff im Protoplasma gewöhnlich sehr ungleichmässig vertheilt. Einige Stellen färben sich intensiver, deutlicher, andere heller. Am schwächsten gefärbt zeigt sich bald die Peripherie der Hämatoblasten, so dass die Contouren kaum zu unterscheiden sind von der umgebenden

farblosen Membran, bald finden sich solche blasse Theile in den Centren der Hämatoblasten, welche in Folge dessen auf den ersten Blick wie durchlöchert erscheinen. Diese ungleichmässige Vertheilung des Farbstoffes ist offenbar bedingt durch eine ungleichmässige Vertheilung des Protoplasma selbst. Auch bei der sorgfältigsten Untersuchung und mit den stärksten Vergrösserungen kann man keine Spur einer Hülle an den Hämatoblasten wahrnehmen.

Das Aussehen und die Grösse der Hämatoblasten sind unendlich verschieden. Trotz dieser Verschiedenheit lassen sich zwei Haupttypen unterscheiden. Der eine von ihnen charakterisirt sich durch seine verhältnissmässig geringe Grösse und vorwiegend rundlich ovale Form; der andere stellt Gebilde dar, welche bisweilen eine geradezu colossale Ausdehnung erreichen und bei welchen eine verästelte sternförmige Gestalt vorwiegt. Sie entsprechen wol den von Ranvier als »cellules vasoformatives« bezeichneten Gebilden, welche auch von Leboucq beschrieben worden sind.

Die kleinen Hämatoblasten sind rundlich-ovale, nierenförmige Anhäufungen des Protoplasma von 0,003 — 0,015 Mm., gewöhnlich mit einem Kern. Bisweilen läuft der Hämatoblast an der einen oder anderen Stelle in einen stumpfendigen Vorsprung aus, seltener sendet er einen einzelnen oder gabelförmig sich theilenden Fortsatz aus (vgl. Nr. 1, 2, 3, 4, 5 Fig. 2).

Die grossen, verzweigten Hämatoblasten erreichen bisweilen eine Länge von 0,21 Mm. und eine Breite von 0,045 und sind gewöhnlich mit 2, 3, nicht selten sogar mit 5, 6 Kernen versehen. Von dem den Kern umgebenden Protoplasma geht bald eine Masse langer flacher, Baumzweigen ähnlicher Fortsätze aus, bald sind diese Fortsätze dünn, fadenförmig und in ihrem Verlaufe mit knotigen Verdickungen versehen (vgl. 12 Fig. 2; einzelne Hämatoblasten bei 10 u. 11 derselben Fig. u. Fig. 3).

Zwischen diesen zwei Haupttypen giebt es eine Menge von Uebergangsformen.

Wir sehen erstens, dass die runden oder ovalen Hämatoblasten sich an einem oder zwei entgegengesetzten Enden ausziehen und dadurch eine kolbenförmige oder spindelförmige Gestalt annehmen. Durch die verschiedenartige Theilung und Verzweigung dieser Verlängerungen entstehen die sternartigen, verästelten Formen. Ausserdem kann man an den kleinen Hämatoblasten eine energische Vermehrung durch Theilung beobachten. Aus den kleinen runden

einkernigen Hämatoblasten gehen grössere zweikernige Formen hervor, ferner bisquitförmige Zellen, deren Hälften sich von einander entfernen und nur durch einen mehr oder weniger dünnen Faden verbunden bleiben. An beiden Hälften können darauf Theilungen, Ausendungen von Fortsätzen etc. vorkommen (vgl. No. 6, 7, 8 u. 9 Fig. 2). Auf diese Weise entstehen Zellennetze der verschiedenartigsten Gestalt und Grösse, welche sich zusammendrängen und zusammenfliessen und dadurch mehr oder weniger geschlossene Maschenwerke bilden.

Die charakteristische Eigenthümlichkeit dieser Netze besteht darin, dass das dieselben bildende Protoplasma sehr ungleichmässig vertheilt ist. Die Knotenpunkte — die Körper der Hämatoblasten — sind grösstentheils dick, massig, die sie verbindenden Fäden dagegen — die Auswüchse der Hämatoblasten — sind dünn und zart. Sowohl von den Körpern der Hämatoblasten als auch von ihren Auswüchsen gehen eine Menge seitlicher Sprösslinge und Fäden aus. Bisweilen zerfällt ein ganzer Bezirk von Hämatoblasten in solche kaum bemerkbare Fäden und Fäserchen, welche sich bald mit unsichtbaren Enden auf der Membran verlieren, bald in anderer Weise verlaufen, indem sie sich verflechten, mit einander verschmelzen und so ein äusserst zartes Flechtwerk bilden. Ich will es »das Netz der primitiven Hämatoblasten« nennen (vgl. Fig. 2 No. 10, 11 u. Fig. 3).

In dem Maasse als diese Netze sich entwickeln, verändert sich mehr und mehr ihre Gestalt. Diese Veränderungen bestehen im Wesentlichen darin, dass die Netze ihren ursprünglichen zelligen Charakter verlieren. Die Fäden, welche die Hämatoblasten verbanden, verdicken sich und die Unterschiede in der Dicke der Gebilde gleichen sich aus. Ausserdem verschwindet eine Menge von seitlichen Ausläufern, Fäden und Fäserchen. Auf diese Weise verwandeln sich die Netze der primitiven Hämatoblasten in ein Netzwerk unter einander anastomosirender Protoplasmastränge, Schnüre und Cylinder, mit einer grossen Zahl sehr unregelmässig darin vertheilter Kerne (Kerne der Hämatoblasten). Diese Netze will ich die »secundären Hämatoblastennetze« nennen (vgl. No. 1 u. 2 Fig. 4). Aus diesen Netzen entwickeln sich unmittelbar das Blut und die Gefässe.

Bevor wir aber zu diesen weiteren Umwandlungen übergehen, wollen wir ein wenig bei dem Gesagten verweilen und prüfen, in-

wiefern die von uns gesehenen Bilder eine Erklärung derjenigen Prozesse gestatten, welche der beschriebenen Umwandlung der Hämatoblasten in die primären und secundären Netze zu Grunde liegen.

Schon die Beobachtung der isolirten Hämatoblasten führt zu der Annahme, dass sie nicht fixe Gebilde darstellen, sondern Protoplasmanmassen, welche activer Bewegungen fähig sind. Die ungleichmässige Vertheilung des Protoplasma, die Abwesenheit der Membranen, die Menge der Auswüchse, Fäserchen und Füsschen, in welche die Hämatoblasten gleichsam zerfliessen, die Anwesenheit kernloser Massen zwischen denselben — dieses Alles wird völlig klar und verständlich, wenn man die ausgesprochene Ansicht acceptirt und sie als amöboide Körper ansieht.

So aufmerksam wir auch die Netze der primitiven Hämatoblasten beobachteten, haben wir doch niemals irgend welche Spuren einer Begrenzung der sie zusammensetzenden Elemente wahrnehmen können: eine Zelle vereinigt sich mit der anderen, ein Ausläufer mit dem anderen, als wenn sie mit einander zusammenflössen und verschmelzen. Es ist unmöglich anzugeben, wo der eine Hämatoblast beginnt, wo der andere aufhört. Das ganze Netz stellt eine einzige, wenn auch äusserst unregelmässig ausgebreitete Protoplasmanmasse dar, in welcher hin und wieder Kerne eingebettet sind.

Wenn wir ferner nach einer Erklärung suchen für den Process, welcher die Ausgleichung der primitiven Netze der Hämatoblasten zu Stande bringt und deren Umwandlung in die Netze der secundären Protoplasmacylinder, so wird uns auch hier die obige Hypothese die am meisten befriedigende Erklärung geben können. Wenn wir annehmen, dass zugleich mit dem Wachsthum des hämatoblastischen Materials eine gleichmässigerer Vertheilung seiner Theilchen und eine Einziehung der seitlichen Auswüchse und Fäden zu Stande kommt, so wird der Vorgang der Verdickung der Verbindungsfäden und das Verschwinden der Auswüchse vollkommen verständlich.

Ich wiederhole nochmals, dass diese Erklärungen nichts mehr sein sollen als eine wahrscheinliche Hypothese. Ich sehe sehr wohl ein, dass zur Erhebung derselben auf die Stufe einer Thatsache neue Beobachtungen erforderlich sind und neue Methoden der Untersuchung. Dennoch nehme ich gern diese Hypothese von der amöbenartigen Natur der Hämatoblasten an, da dieselbe alle bei der Entwicklung der Hämatoblasten beobachteten Erscheinungen in

befriedigender Weise verständlich macht. In dem Maasse als die secundären Netze sich bilden, gehen in denselben weitere Veränderungen vor, welche die ganze Masse der hämoblastischen Stränge und Cylinder in Blut und Gefässe umwandeln.

Diese Umwandlungen beginnen damit, dass aus den Strängen die embryonalen Blutzellen abgetheilt werden.

Die Bildungsweise der Blutkörperchen in den Embryonalhäuten der Kaninchenembryonen, sowie in der Allantois von Hühnerembryonen geschieht im Wesentlichen auf gleiche Weise. Der Gang dieses Processes, soweit es mir gelungen ist ihn zu verfolgen, erinnert an den Furchungsprocess der Eier höherer Wirbelthiere.

Die Blutkörperchen entwickeln sich in den erwähnten Häuten, wie gesagt, aus derselben allgemeinen blutbildenden Anlage, aus welcher sich auch die Wände der Blutgefässe bilden.

Gleich zu Anfang entstehen hier zweierlei Arten von Blutkörperchen. Die einen nehmen, mit Eosin behandelt, die charakteristisch rosa-orange Farbe an, enthalten folglich Hämoglobin — die rothen Blutkörperchen — während die andern sich nicht mit Eosin färben lassen, wohl aber die violette Farbe des Hämatoxylin annehmen, folglich kein Hämoglobin enthalten — das sind die farblosen Blutkörperchen.

Die Entwicklung der ersten Art von Blutkörperchen konnte ich am deutlichsten an der Allantois von Hühnerembryonen verfolgen. Sie geschieht auf folgende Weise. Ein gewisser Abschnitt des soliden hämatoblastischen Stranges nimmt eine rosa-orange Farbe an und es entstehen aus ihm die rothen Blutkörperchen.

Diese erscheinen zuerst wie aus dem Protoplasma mit einem Locheisen herausgeschlagene Stücke und liegen in den dadurch entstandenen Lücken, von deren Wänden sie sich durch durchsichtige und farblose Ringe abgrenzen. Die Wände dieser Lücken haben scharfe Ränder. An manchen Stellen gehen diese Ränder in zugespitzte Ausläufer über, welche frei in die hellen Räume zwischen den Blutkörperchen hineinragen. Zuweilen vereinigen sich die zugespitzten Ausläufer, welche von zwei gegenüberliegenden Wänden der Lücken ausgehen, miteinander wie durch einen feinen Faden (Fig. 5 Nr. 1).

Die Blutkörperchen liegen meistens vollständig getrennt von einander, selten sieht man sie paarweise vereinigt. Im ersteren Fall ist ihre Form eine rundliche, ovale, zuweilen sind die Enden

zweier nebeneinander liegender Körper ein wenig abgeplattet. Im zweiten Fall sind die mit einander vereinigten Blutkörperchen mehr weniger bisquitförmig. Die Grösse der Körperchen ist sehr verschieden. Die grössten von ihnen erreichen 0,015 Mm., die kleinsten gehen nicht über 0,006 Mm. hinaus (Oc. II. Lins. 7. Hartn.). Die Farbe der Körperchen erscheint ein wenig dunkler, als die Farbe des Mutterprotoplasma, da dieselben durch gröbere und dunklere Körnchen granulirt sind. Das Mutterprotoplasma erscheint überhaupt sehr feinkörnig, stellenweise sogar vollkommen homogen.

In einem Theil der Körperchen unterscheidet man deutlich Kerne und Kernkörperchen, welche sich durch scharfe und dunkle, gewöhnlich zackige Contouren auszeichnen. In andern Körperchen sind die Contouren der Kerne schwach angedeutet, und an Stelle des Kernkörperchens bemerkt man nur einen dunklen Punkt. Endlich beobachtet man an einigen Körperchen an Stelle des Kernes nur eine Anhäufung von mehr dunkel gefärbten Körnchen, als das Protoplasma des Körperchens. Wir können also annehmen, dass die Kerne und die Kernkörperchen der rothen Blutkörperchen sich erst bilden, nachdem die Körperchen aus dem sie bildenden Protoplasma entstanden sind. Zu Gunsten dieser Annahme spricht auch der Umstand, dass man nicht selten in dem Lumen der Embryonalgefässe neben vollständig ausgebildeten Embryonalblutkörperchen Bildungen von der gleichen Grösse und Farbe antrifft, die sich nur durch ihr homogenes Aussehen und durch die Abwesenheit jeder Spur eines Kernes unterscheiden.

Betrachten wir denjenigen Theil des blutbildenden Protoplasma, von welchem sich noch keine Blutkörperchen abgetheilt haben (Fig. 5 Nr. 1), so sehen wir, dass derselbe durch dunklere Linien in ein paar ungleiche Abschnitte getheilt ist. Auf unserer Zeichnung sieht man deutlich drei solcher Abschnitte: einen grösseren oberen und zwei kleinere untere. Ausserdem fängt der obere Abschnitt an sich in zwei zu theilen, durch eine sehr schwach angedeutete Linie. Alle diese Linien erscheinen mehr weniger bogenförmig. Das führt auf den Gedanken, dass die beschriebenen Linien die Grenzen der künftigen Lücken im Protoplasma vorstellen, während die durch dieselben getrennten Abschnitte die künftigen Blutkörperchen bilden. Die Thatsache, dass die Mehrzahl der Blutkörperchen von einander und von den Wänden der Lücken durch farblose und durchsichtige Ringe getrennt sind, lässt uns annehmen, dass die Körperchen sich aus

dem Mutterprotoplasma durch Verflüssigung gewisser Theile aussondern.

Die verschiedenen Stadien des Prozesses der Ausscheidung der Blutkörperchen lassen sich ziemlich leicht Schritt für Schritt verfolgen, sowohl an der Allantois der Hühner, als auch an der Allantois von Kaninchen, wenn man eine genügende Anzahl von Embryonen verschiedenen Alters untersucht.

An irgend einer Stelle des soliden hämatoblastischen Stranges erscheint zuerst ein durchsichtiger, farbloser Streifen, welcher gewöhnlich bogenförmig ist; dieser Streifen erweitert sich ferner, nimmt die Gestalt eines Halbmondes an, seine Enden nähern sich mehr und mehr, um endlich zusammen zu fließen. Auf diese Weise entstehen in dem Protoplasma der hämatoblastischen Stränge die beschriebenen Lücken, in welchen die embryonalen Blutkörperchen liegen, umgeben von durchsichtigen, farblosen Ringen.

Wenn ein gewisser Abschnitt des Protoplasmas eines Stranges in eine Anzahl von Blutkörperchen zerfällt, so verflüssigen sich auch die zwischen den Körperchen liegenden Reste des Protoplasma — die Wände der Lücken — und auf diese Weise entsteht in dem soliden hämatoblastischen Strange eine Höhle (Lumen), welche mit Blutkörperchen gefüllt ist (Fig. 5. 2).

Aus der Vereinigung dieser Höhlen entstehen die Canäle der embryonalen Blutgefäße, während die peripherischen Schichten des Protoplasma der Stränge sich in die Wandungen dieser Gefäße verwandeln. Die auf diese Weise entstandenen rothen Blutkörperchen erleiden im weiteren Verlaufe eine Reihe Veränderungen. Diese Veränderungen bestehen erstens in der Differenzirung ihrer Kerne und Kernkörperchen, zweitens in der Theilung der Körperchen, wodurch neue Generationen entstehen, wie das zuerst von Remak beschrieben wurde.

Die Differenzirung der Kerne und der Kernkörperchen zeigt sich dadurch, dass allmählich ihre anfangs kaum wahrnehmbaren Contouren schärfer und gleichmässiger werden; sowohl die Kerne als auch die Kernkörper nehmen die charakteristische blaue Färbung in Hämatoxylin an, wobei die ersteren sich gleichmässig und in einer mehr hellen Nüance färben, als die letzteren, die mehr dunkel und immer granulirt erscheinen. Bei Kaninchen zeigen die embryonalen Blutkörper keine Nucleoli.

Als erstes Merkmal der Theilung der rothen Blutkörperchen

erscheint das Verschwinden des Kernkörperchens, wie wenn es sich in der Masse des Kernes auflösen würde. Dabei vergrössert sich der letztere und stellt sich dann als hellviolette, homogenes Bläschen dar, welches den grössten Theil des Blutkörperchens einnimmt.

Das Körperchen selbst nimmt eine mehr rundliche Form an. Darauf wird der Kern oval; die ihn zusammensetzende Masse sammelt sich an den zwei gegenüber liegenden Enden des Ovals an, wodurch der Kern die Form eines Biscuits erhält; endlich sieht man im Blutkörperchen zwei Kerne. Dieselben liegen zuerst nahe beisammen, rücken aber dann auseinander und finden sich dann an zwei gegenüberliegenden Enden des Blutkörperchens. Darauf theilt sich das Blutkörperchen selbst. Seltener beobachtet man die Theilung des Kernes nicht in zwei, sondern in drei neue Kerne.

Die zweite Art der embryonalen Blutkörperchen, die sich nicht mit Eosin färben lassen, wohl aber mit Hämatoxylin — die farblosen Blutkörperchen — bilden sich auf dieselbe Weise wie die rothen, aber nur aus Abschnitten des hämatoblastischen Protoplasmas, welche kein Hämoglobin enthalten. Ein Theil der farblosen Blutkörperchen erscheint in der Form von rundlichen Häufchen eines gleichartig körnigen Protoplasmas, während der grösste Theil Kerne enthält, die eine dunklere violette Färbung annehmen.

Die Menge dieser Elemente vermindert sich nach und nach mit dem Gang der weiteren Entwicklung des Embryos, in Folge ihrer Verwandlung in rothe Blutkörperchen. Diese Verwandlung markirt sich dadurch, dass das Protoplasma der farblosen Blutkörperchen allmählich anstatt der violetten eine rosa-orangenartige Färbung annimmt, während die Kerne keine Veränderungen erleiden.

Diese Färbung zeigt sich anfangs gewöhnlich in Form eines oder einiger Punkte, welche in den peripherischen Theilen des Protoplasmas der Elemente erscheinen, sodann werden diese Punkte zahlreicher, die Färbung wird intensiver, mehr charakteristisch und verbreitet sich concentrisch bis zum Kern.

Weit seltener gelingt es, die direkte Entwicklung rother Blutkörperchen aus dem Protoplasma der primären Hämatoblasten zu beobachten, wie es auf Fig. 4, Nr. 2 a dargestellt ist. Die Kerne der Hämatoblasten gehen in die Kerne der embryonalen Gefässe über.

Sollen wir mit kurzen Worten die histologische Bedeutung der embryonalen Capillargefässe, wie sie sich nach unsern Erfahrungen

ergiebt, bezeichnen, so können wir keinen treffenderen Ausdruck wählen, als den von Stricker gebrauchten, sie seien »Protoplasma in Röhrenform«.

Aus dem Mitgetheilten geht hervor, dass unsere Untersuchungen über die embryonale Entwicklung der Blutkörperchen in einigen Punkten die Angaben früherer Autoren bestätigen, während sie in andern vollkommen von denselben abweichen. So können wir nicht mit der allgemein angenommenen Ansicht einverstanden sein, dass die ersten (primitiven) Blutkörperchen aus den embryonalen Bildungszellen sich entwickeln und dass die rothen Blutkörperchen sich immer aus den farblosen bilden¹⁾. Die Entwicklung der Blutkörperchen aus embryonalen Bildungszellen findet in den Embryonalhüllen der von uns untersuchten Säugethiere gar nicht Statt. Die Entwicklung der rothen Blutkörperchen aus farblosen geschieht auch hier ganz auf die Weise, wie es von Kölliker²⁾ beschrieben wurde, d. h. das farblose Blutkörperchen imbibirt sich mit Hämoglobin mit Ausnahme des Kernes, welcher in den Kern der embryonalen rothen Blutkörperchen übergeht.

Wenn aber ein Theil der rothen Blutkörperchen aus farblosen sich entwickelt, so zu sagen secundäre Formen darstellend, so geht ohne Zweifel ein anderer Theil unmittelbar aus dem Hämoglobin enthaltenden Protoplasma der hämatoblastischen Stränge hervor.

Vergleichen wir ferner die hier beschriebene Art der Entwicklung des Blutgefässsystems in den Hüllen der Kaninchen und Hühnerembryonen mit der von uns früher beschriebenen Entwicklung der Blutgefäße in dem Schwanz der Froschlarven³⁾, so sehen wir, dass die anfänglichen Stadien der Entwicklung hier wie dort vollständig die gleichen sind. Die primitive Anlage besteht in beiden Fällen aus verzweigten und sternförmigen protoplasmatischen Massen und Zellen, welche, mit einander zusammenfließend, Netze bilden, aus welchen sich dann die Blutgefäße und die Blut-

1) Dr. W. Erb, zur Entwicklungsgeschichte der rothen Blutkörperchen. Virchow's Archiv f. patholog. Anatomie. Bd. XXXIV.

2) A. Kölliker, über die Blutkörperchen eines menschlichen Embryo und die Entwicklung der Blutkörperchen bei Säugethieren. Zeitschr. f. ration. Medicin. IV. Bd. 1846, S. 113 u. ff.

3) Rudneff's Journal für normale und pathologische Histologie und klinische Medicin. Petersburg 1875. p. 493—532.

körperchen entwickeln. Die weiteren Verwandlungen dieser Netze aber zeigen bedeutende Verschiedenheiten.

So ist bei Froschlarven die Umwandlung der primären hämatoblastischen Netze in secundäre gar nicht zu beobachten. Bei ihnen werden die gefässbildenden Zellen und ihre Ausläufer nach deren Vereinigung zu Netzen sogleich canalisirt, deswegen haben die primitiven Blutbahnen fast gar keine Aehnlichkeit mit den ausgebildeten Blutgefässen. Das Blut circulirt in den Froschlarvenschwänzen ziemlich lange Zeit in einem System unregelmässiger Räume, einmal sich in grosse Hohlräume ergiessend, die aus den Körpern der gefässbildenden Zellen entstanden sind, das andre mal durch enge Communicationscanäle fliessend — Ausläufer der Zellen. Die gleichmässige Ausbildung der beschriebenen Räume und ihre Verwandlung in ein System regelmässiger Blutcapillaren vollzieht sich bei den Froschlarven nur allmählich und diese Capillaren tragen lange Zeit noch die Merkmale ihrer Entstehung aus gefässbildenden Zellen¹⁾. Wir haben ferner gesehen, dass die Entwicklung des Blutes und der Blutgefässe in den embryonalen Hüllen der von uns untersuchten Säugethiere aus ein und derselben allgemeinen hämatoblastischen Anlage hervorgeht, d. h. dass die Blutkörperchen sich in diesen Hüllen in loco entwickeln.

Von allen Autoren, welche die Frage nach der Entwicklung des Blutgefässsystems in den Froschlarvenschwänzen bearbeiteten, wie Kölliker²⁾, F. Meyer³⁾, A. Ecker⁴⁾, A. Golubew⁵⁾, M. Lavdowsky⁶⁾,

1) l. c. S. 497—500.

2) M. Kölliker, Notes sur le développement des tissus chez les Batraciens. Annales de Sciences naturelles. III. Serie. Zoologie. T. IV. Paris 1846.

3) Meyer, über die Neubildung von Blutgefässen in plastischen Exsudaten seröser Membranen und in Hautwunden. Annalen des Charité-Krankenhauses. 18. Jahrg. I. Heft. 1853. S. 95 u. ff.

4) Icones physiologicae. Erläuterungstafeln zur Physiologie und Entwicklungsgeschichte. Leipzig 1851—53.

5) A. Golubew, Beiträge zur Kenntniss des Baues und der Entwicklungsgeschichte der Capillargefässe des Frosches. Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. IV. 1860.

6) Journal für normale und pathologische Histologie, Pharmacologie u. klinische Medicin, herausg. von Prof. Rudnew, Bogdanowsky, Sabelin u. Sawarikin. T. I. Petersburg 1870. S. 35 u. ff.

Ch. Rouget¹⁾, L. Ranvier²⁾, Th. Billroth³⁾, beschreibt nur der letztere die Entwicklung des Blutes und der Gefäße aus einer allgemeinen blutbildenden Anlage. Alle andern nehmen an, dass das Blut in die sich entwickelnden Capillaren der Froschlarvenschwänze fertig aus vorher gebildeten Gefäßen sich ergiesse (art. et vena caudales, Kölliker). Aber auch die erwähnten Angaben Billroth's, wie ich in meiner oben citirten Arbeit genügend bewiesen zu haben glaube, beruhen auf einer unrichtigen Erklärung der Thatsachen, da Billroth die künstlichen Producte einer gestörten Blutcirculation in den Froschlarvenschwänzen für Erscheinungen einer normalen Entwicklung ansah. Auf die Weise, wie es Billroth beschrieben hat, entwickelt sich das Blut und die Blutgefäße bei den Froschlarven aus einer allgemeinen hämatoblastischen Anlage nicht. Darin besteht der zweite wesentliche Unterschied zwischen der Entwicklung des Blutgefäßsystems in den embryonalen Hüllen der Warmblüter und in den Schwänzen der Froschlarven.

Auf die vorläufigen Angaben von Leboucq, »Sur le développement des capillaires et des globules sanguins chez l'embryon« (Bull. de la soc. de méd. de Grand 1875), welche in einigen Punkten, sonamentlich in dem wesentlichen Umstande, dass Leboucq ebenfalls die Gefäße und die Blutkörperchen aus einer und derselben Anlage hervorgehen lässt, mit den meinigen übereinstimmen, in andern aber erheblich abweichen, kann ich zur Zeit, da eine ausführlichere Darstellung, so viel ich weiss, noch nicht vorliegt, nicht näher eingehen. Bildungen, wie sie H. D. Schmidt, On the origin and development of coloured Blood corpuscles in Man. Monthly micr. Journ. 1874. June and Januar 1875 beschreibt, habe ich niemals auffinden können. Es sei übrigens bemerkt, dass Verf. auch von einer endogenen Entstehung der rothen Blutkörperchen in Mutterzellen spricht; es wurde mir jedoch nicht vollkommen klar, wie Schmidt sich diese vorstellt. Eine Mittheilung Edw. Schäfers, worin von endogener Entstehung von Häoglobintropfen in besonderen Zellen des Unterhautbindegewebes bei

1) Ch. Rouget, Mémoires sur le développement, la structure et la propriété physiologiques des capillaires sanguins et lymphatiques. Archives de Physiologie normale et pathol. Paris 1873. Nr. 6. Novb. p. 603 et sq.

2) L. Ranvier, du développement et de l'accroissement des vaisseaux sanguins. Ebd. 1874. Nr. 4—5. p. 428 et sq.

3) Th. Billroth, Untersuchungen über die Entwicklung der Blutgefäße etc. Berlin 1856.

neugeborenen weissen Ratten die Rede ist, wurde mir nur aus einem kurzen Berichte in Monthly micr. Journ., June 1874, bekannt. Ich konnte hieraus über die Entstehung der rothen Blutzellen selbst ebenfalls nichts genaueres entnehmen; nur sollen, wie hier hervorgehoben werden muss, die Kerne der betreffenden Zellen bei der Blutkörperchenbildung nicht betheilt sein.

Erklärung der Figuren auf Tafel XXXI.

Alle Figuren wurden mittelst einer Oberhäuser'schen Camera clara aufgenommen.

Fig. 1. Nr. 1—8 stellen rothe Blutkörperchen des Frosches dar, welche anfangs mit Wasser, darauf mit Eosin behandelt sind. Das Protoplasma der Körperchen ist gefärbt, die Kerne sind ungefärbt geblieben.

1. Das Körperchen ist durch die Einwirkung des Wassers stark gequollen. Die schwache Färbung ist ziemlich ungleichmässig verbreitet. Es sind in der Nähe des Kernes und an der Peripherie farblose Stellen bemerkbar.

2 u. 3. Körperchen, deren Peripherie ungefärbt geblieben ist,

4 u. 5. Körperchen, welche sich nur zur Hälfte gefärbt haben.

6 u. 7. Körperchen, aus denen das Hämoglobin heraustritt, welches mit dem Eosin die charakteristische Färbung giebt.

8. Ein Blutkörperchen welches eine kaum bemerkbare rosaroth Färbung angenommen hat.

9. Blutkörperchen vom Frosche, welche mit Müller'scher Flüssigkeit und darauf mit Eosin und Hämatoxylin behandelt sind. Das Protoplasma hat sich durch ersteres, die Kerne durch letzteres gefärbt. Vergrösserung 400.

Fig. 2. Nr. 1—9. Kleine Hämatoblasten.

12. Riesenhämatoblast.

10 u. 11. Ketten von Uebergangsformen der Hämatoblasten.

1 u. 2. Kleine Hämatoblasten mit einem Kern.

3. Ein eben solcher Hämatoblast mit 2 Kernen und einem stumpf anliegenden Auswuchs.

4. Ein gleicher Hämatoblast, welcher sich nach links in einen stumpfen Auswuchs, nach rechts und oben in einen sich gabelförmig theilenden Fortsatz auszieht.

5. Spindelförmiger Hämatoblast.

6 u. 7. stellen die Theilung kleiner Hämatoblasten dar.

8 u. 9. Der Anfang der Bildung von Hämatoblastenketten, deren weitere Entwicklungsformen bei 10 und 11 abgebildet sind. Vergrösserung 300.

Fig. 3. Ein Netz von primitiven Hämatoblasten mit erweiterten soliden Knotenpunkten — den Körpern der Hämatoblasten — und feinen, communicirenden Fäden, — den Fortsätzen der Hämatoblasten. Hier sieht man, dass das Protoplasma in den Hämatoblasten sehr unregelmässig vertheilt ist. Wie an den Körpern der Hämatoblasten, so sieht man auch an ihren Fortsätzen kleine secundäre seitliche Sprösslinge und Fäden, welche entweder frei endigen, oder unter einander im untern Theile der Zeichnung zu den feinsten Netzen sich verflechten. Vergr. 300.

Fig. 4. Stellt verschiedene Stadien der Umwandlung der primitiven Hämatoblastennetze in die secundären dar.

1 a, a. Charakteristische Netze der primären Hämatoblasten. Bei b wandeln sie sich in solide Hämatoblastenstränge um. c Ein solcher Strang, welcher bereits in einem grossen Theile seiner Ausdehnung sich canalisirt und in ein embryonales Gefäss mit unregelmässig verstreuten Kernen e umgewandelt hat. In ihm liegen farblose (l) und rothe (r) Blutkörperchen. Bei r' ein rothes in der Theilung begriffenes zweikerniges Blutkörperchen. a', a' primäre Hämatoblasten, in Verbindung mit einem Gefässe.

2. Eine Schlinge von einem secundären Hämatoblastennetz aus einem späteren Entwicklungsstadium. Bei a sieht man einen primären Hämatoblasten mit den sich aus seinem Protoplasma entwickelnden rothen und farblosen Blutkörperchen. Er ist durch 3 Fäden mit dem Hämatoblastenstrange verbunden, welcher in seinem untern Theile e bereits hohl (canalisirt) erscheint, im oberen Theile dagegen noch solid. Im letzteren sind rothe (r) und farblose (l) Blutkörperchen bemerkbar. Bei d sieht man an dem Vereinigungspunkte zweier Stränge den Process der Canalisirung, als Folge der Aussonderung von Blutkörperchen (siehe d. folgende Figur). e Kerne des früheren Hämatoblasten. Vergr. 300. Fig. 1—4 stammen von Kaninchenembryonen verschiedener Entwicklungsstadien.

Fig. 5. Stellt den Vorgang der Canalisirung der Hämatoblastenstränge dar. Die Bilder sind nach Präparaten von der Allantois von Hühnerembryonen gezeichnet.

1. Bildung rother Blutkörperchen aus dem hämoglobinhaltigen Protoplasma eines Hämatoblasten. Die Blutkörperchen liegen in den Lücken des Protoplasma, umgeben von durchsichtigen Ringen. Im mittleren, soliden Theile erscheint der Strang mit dunklen Linien gefurcht.

2. Ein Strang, dessen centraler Theil sich in einen mit Blutkörperchen gefüllten Hohlraum umgewandelt hat, während die Peripherie solid geblieben ist.

Im unteren rechten Theile des Stranges sieht man ein im Entstehen begriffenes farbloses Blutkörperchen. Vergr. 500.

Fig. 1.

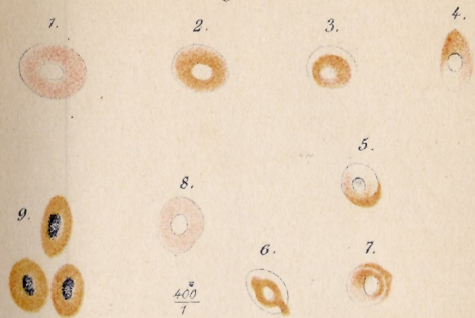
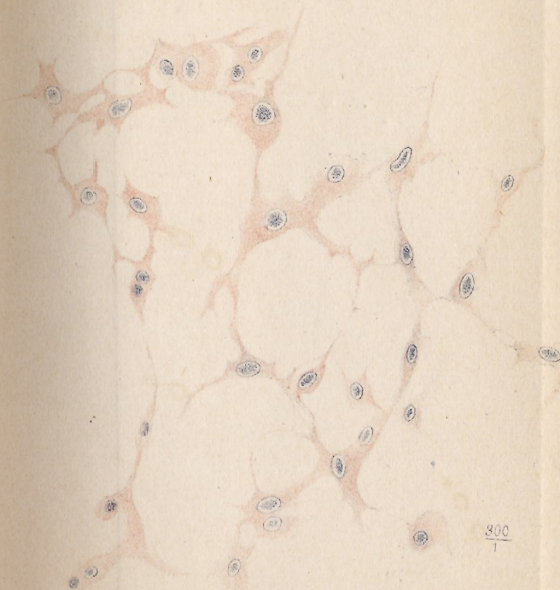


Fig. 3.



12

Fig. 2.

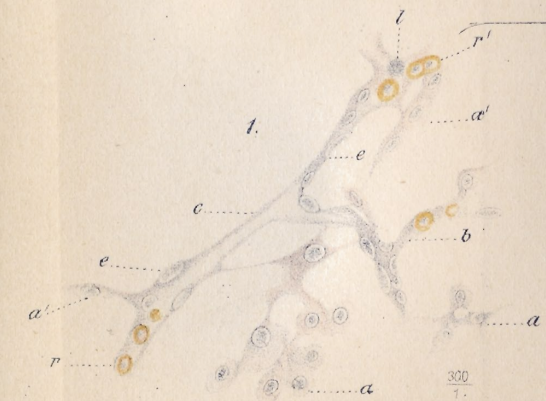
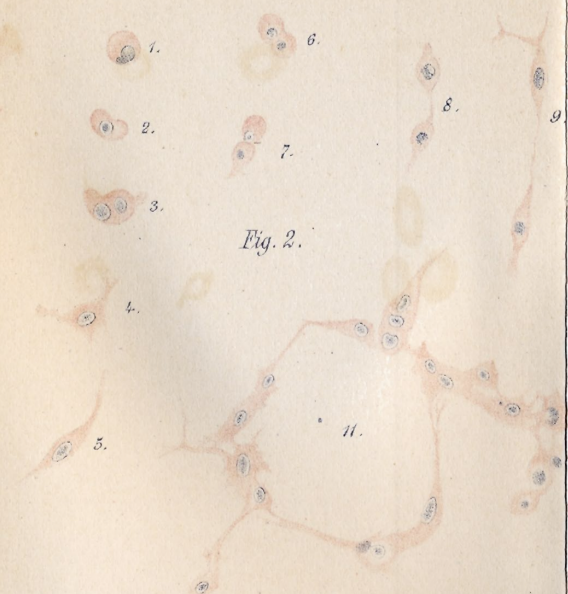
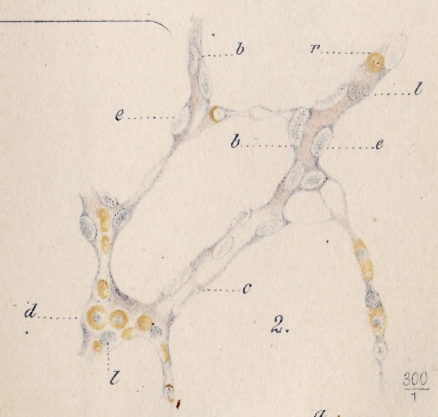
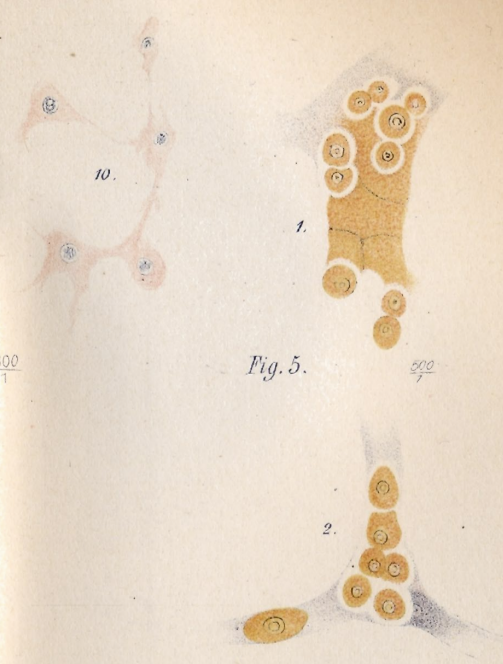


Fig. 4.



300
1

Fig. 5.



500
1