



Ueber das erste Auftreten
des
Hämoglobins bei Hühnerembryonen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Anton Smiechowski.



Ordentliche Opponenten:

Pros. Dr. V. Schmidt. — Prof. Dr. D. Barfurth. — Prof. Dr. R. Kobert.



Dorpat.

Druck von C. Mattiesen.

1892.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Referent: Professor Dr. D. Barfurth.

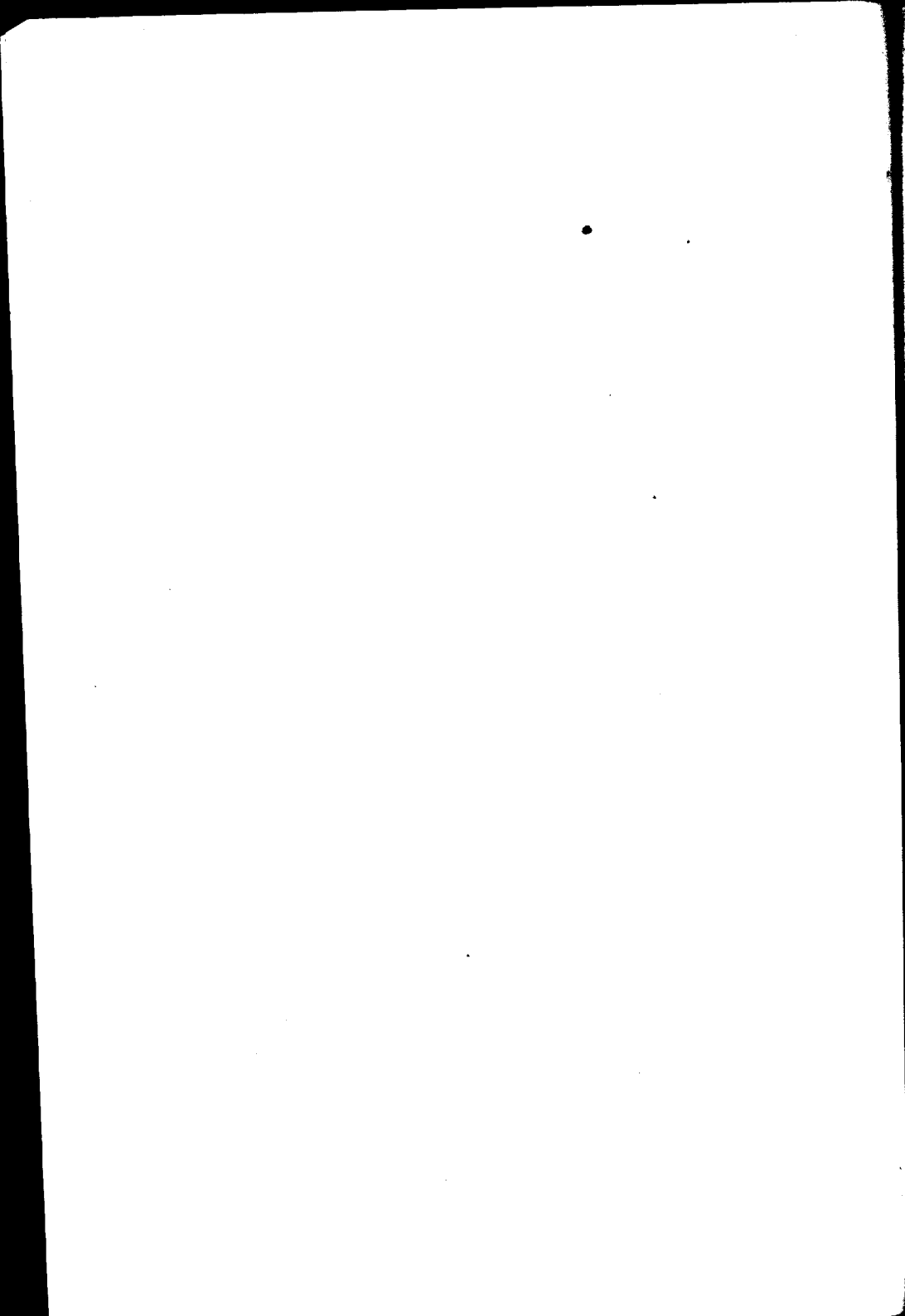
Dorpat, den 10. Februar 1892.

Nr. 103.

Decan: Dragendorff.

Meinen Eltern

gewidmet.



Allen den hochverehrten Herren, denen ich meine medicinische Ausbildung zu verdanken habe, spreche ich meinen tief empfundenen Dank aus.

Herrn Prof. Dr. D. Barfurth, dem ich das Thema zur vorliegenden Arbeit verdanke, bitte ich meinen wärmsten und herzlichsten Dank entgegennehmen zu wollen für das rege Interesse und die lebenswürdige Unterstützung die er mir stets zugewandt hat.

Es ist mir eine angenehme Pflicht Herrn Pros. Dr. V. Schmidt für die Lebenswürdigkeit, mit der er mir stets entgegengekommen ist, zu danken.



Einleitung.

Das Auftreten der ersten Blutkörperchen bei Embryonen war Gegenstand von zahlreichen Untersuchungen, die schon recht viele schöne Resultate zu Tage gefördert haben. Das erste Auftreten des Hämoglobins aber wurde bis jetzt speciell von Embryologen wenig berücksichtigt. Da die Bildungsweise der rothen Blutkörperchen in Knochenmark und Milz jetzt vielfach studirt wird und im Centrum des Interesses vieler Histologen, Physiologen und Kliniker liegt, habe ich auf Veranlassung von Prof. Dr. D. Barfurth mich bemüht der Frage näher zu treten und mit Hilfe der neueren Untersuchungsmethoden die Zeit des Auftretens und die Entstehungsweise des Hämoglobins genauer zu bestimmen.

A. Geschichtliches.

„Ex adipe vegetabili et animali globuli lactei procul dubio finguntur, ex istis globulos rubros parari non est improbabile, postquam cum ferro subacti fuerunt densatique“ sagt A. v. Haller⁵³⁾ (II. p. 156). Er ist der erste, welcher das allmähliche (per gradus) Gelbwerden (flavedinem) des Blutes beim Hühnchen gesehen hat und zwar immer nach der 36. Stunde (52 pag. 45).

Nach Pander¹⁰²⁾ (p. 14) löst sich um die dreissigste Stunde das Gefässblatt in ein netzartiges Gewebe auf, indem zwischen den Kügelchen durchsichtige, maschenartig sich verbindende Risse entstehen. Die hierdurch getrennten Kügelchen sammeln sich bald wieder zu Inseln, die zuerst gelblich, hernach roth werden, und so die von Wolff beschriebenen Blutinseln bilden.

Pfeil¹⁰⁵⁾ (p. 21) sah das allmähliche Dunklerwerden des Blutes; die ersten rothen Tropfen erschienen häufig in der Vena terminalis und zwar in der Gegend des Kopfes. Später färbten sich auch die hinteren und Seitengefässe, doch war die Reihenfolge nicht constant dieselbe. Er sah das Rothwerden nie vor der 36. Stunde und immer vor der 60. (pag. 20).

Nach Prévost und Dumas verdickt sich von der 30. Stunde der Betrübung an die Gefässhaut an gewissen Stellen, die anfangs eine schöne gelbe Farbe haben, welche aber bald orangengelb, dann blutroth wird, und endlich von der 40. Stunde an kann man die Circulation ganz genau

beobachten wegen des bestimmten (décidé) Farbentones, welchen die Blutkugeln angenommen haben (106 p. 101).

Ferner sagen die genannten Autoren ¹⁰⁷⁾ (p. 323), dass in dieser Epoche die Blutkugeln kreisförmig und abgeplattet sind und unterscheiden sich hierdurch von denen erwachsener Hühner; sie fangen an elliptisch zu werden erst am 6. Tage und alle unterliegen dieser Umwandlung nie vor dem 9.

Der geniale Dorpater Gelehrte, K. E. v. Baer ⁵⁾ äussert sich folgendermassen in seiner für die ganze Embryologie classischen Schrift „Ueber die Entwicklungsgeschichte der Thiere. Beobachtung und Reflexion“ (p. 31).

„Ich kann über die Blutbildung nur sagen, dass in dem Gefässblatte am ersten Tage Bläschen entstehen vom Bildungsgewebe zusammengehalten, dass etwas später dunkle Körner sich zeigen, dass dann zwischen diesen Körnern Risse sich bilden, welche die Körner wie Maschen umgeben. Der Inbegriff der Körner, welche von einer solchen Masche umgeben sind, ist eine Insel. In den Rinnen erkennt man bald eine Strömung, welche ich jedoch nur im durchsichtigen Fruchthofe sehen konnte, da der Gefässhof zu dunkel ist um so zarte Strömungen erkennen zu lassen. Im Gefässhofe sieht man vielmehr eine Flüssigkeit in grossen Massen sich ansammeln, sich röthen und dem blossen Auge als Blutstropfen erscheinen, und zwar sah ich im Gefässhofe schon Blutinseln, wenn ich im Fruchthofe noch keine Strömung entdecken konnte. Dagegen ist das, was im Fruchthofe zuerst fliesst, ungefärbt, und es bilden sich in demselben gar keine Blutstropfen.“

Ausser seiner Entwicklungsgeschichte, hat v. Baer noch eine „Geschichte des Hühnerembryo“ in Burdach's Physiologie ¹¹⁾ geschrieben (1828). Hier äussert er sich p. 250, dass das Nerven- und Blutsystem in der zweiten Hälfte des zweiten Tages zur Ausbildung kommt; pag. 260 wiederholt er das in seiner Entwicklungsgeschichte Gesagte.

Burdach sagt (l. c.), dass das rothe Blut um die Mitte des 2. Tages bei Hühnerempryonen entsteht (pag. 513).

Nach Baumgärtner⁸⁾ besteht die den Dotter umschliessende Haut aus rundlichen Kugeln, die entweder einfach, oder aus kleineren Kügelchen zusammengesetzt sind. Ein Theil derselben verwandelt sich in die Organenmasse, ein anderer wird zu Blutkörperchen.

Nach Joch. Müller⁹⁾ (l. p. 143) liegt zwischen dem serösen und dem Schleimblatte eine Körnerschicht, welche sich bald in körnige, dichte Inseln und durchsichtige Zwischenräume zertheilt, in denen sich eine zuerst gelbliche, dann rothe Flüssigkeit, das zuerst in der Area vasculosa deutliche Blut, ansammelt.

Valentin¹⁴⁷⁾ beobachtete die Differenzierung von Blutkörperchen aus kugligen oder länglichen Körperchen, welche ohne zu unterscheidender Grenzen in einander übergeben. Die Körperchen sind rund und röthen sich, während die umgebende Masse flüssig wird (p. 289). Er leugnet jede Entstehung durch direkte Metamorphose der Dotterkugeln.

Der Begründer der Zellentheorie Schwan¹³⁶⁾ äussert sich auch über die Entstehung des Blutes (p. 187). Er hat um die 36. Stunde die Bildung von rothem Blut gesehen. Ausserdem sind ihm gelb-röthliche, sternförmige Zellen aufgefallen, die mit Capillargefässen zusammenhängen und die er für im Entstehen begriffene Capillargefässzellen hält.

Nach Reichert¹¹⁸⁾ (p. 144) ist festzuhalten, dass sämtliche Blutzellen zu Anfange von den ersten feinen Zellen aller übrigen Systeme in Nichts verschieden sind; sie entstehen auch ebenso, wie letztere, durch Entwicklung junger Generation in den vorhandenen Dotterzellen der embryonischen Anlagen und zwar auf Kosten des kugligen Nahrungs-Inhaltes. Ihre Mutterzellen (p. 139) sammeln sich zuerst in dem Keimhügel an.

Bischoff¹⁶⁾ giebt an, dass die ersten und grössten Blutkörperchen, für welche er sehr energisch die Dignität

von Zellen vindicirt, zuerst ganz blass, ja wahrscheinlich gar nicht roth sind (p. 284).

Kölliker⁷⁴⁾ (p. 124) meint, dass, so lange farblose mit Körnern erfüllte Körperchen im Blute sich befinden, man vollkommen berechtigt ist anzunehmen, die erste Bildung der Blutkörperchen sei noch nicht beendet. Dasselbe ist in der Arbeit Fahrner's³⁴⁾ ausgesprochen.

Remak¹¹⁹⁾ sah schon am Ende des ersten Tages eine mattröthliche Färbung im sinus terminalis (p. 15). Am zweiten Tage sah er verschieden stark gefärbte Blutzellen in den Gefässen (p. 21), mit farblosen angefangen, mattgefärbte, und schon völlig ausgebildete. Die Verwandlung farbloser in gefärbte vollzieht sich während des zweiten Tages, und am dritten gelingt es schon kaum farblose Zellen aufzufinden (p. 63).

Der bekannte Chirurg Th. Billroth hat seine classischen Untersuchungen über die Bildung von Gefässen auch auf Hühnerembryonen ausgedehnt²⁰⁾. Bei der Gelegenheit hat er bemerkt, dass die Blutkörperchen sich um die Mitte des zweiten Tages röthen; dabei soll die makroskopisch sichtbare Färbung oft mikroskopisch unsichtbar sein; sie ist erkennbar durch den matten Glanz und die Homogenität des Inhalts der Blutzellen (p. 5).

Rathke¹¹⁴⁾ beobachtete bei allen Wirbelthierclassen, speciell aber beim Hühnchen, zuerst farblose, dann gelbröthliche Blutkörper (p. 42).

In der ersten Auflage seiner Vorträge über Entwicklungsgeschichte schreibt Kölliker⁷⁵⁾ (p. 90), dass er den Beginn der Färbung der Blutzellen schon am Ende des ersten Tages der Bebrütung gesehen hat.

Afanasieff²⁾ fand den Stich in's Gelbröthliche, nachdem schon recht viele Blasen mit Blutkörperchen aufgetreten sind.

Die ersten genaueren Angaben über das Auftreten des Hämoglobins finden sich in der Arbeit von His⁶¹⁾. Im Verlaufe des vierten und fünften Stadiums fängt der Ge-

fässhof an sich zu färben. Anfangs wird eine sehr diffuse, hellgelbrothe Zeichnung in ihm sichtbar, die später scharfer sich abgrenzt, und zugleich an Sättigung zunimmt. Man sieht nun, dass die gefärbte Substanz in rundlichen oder verzweigten Flecken auftritt. Dieselben sind im inneren Theil des Gefässhofes nur klein und stehen vereinzelt; nach aussen nimmt ihre Menge und ihre Mächtigkeit zu, und sie verbinden sich an der Peripherie des Gefässhofes zu netzförmig zusammenhängenden Massen. Diese gefärbten Substanzanhäufungen sind das, was Wolff und Pander als Blutinseln bezeichnet haben. Zeitpunkt und Grad der Färbung variiren innerhalb gewisser Grenzen, was von der Bruttemperatur abhängt.

Klein⁷¹⁾, welcher unter Stricker's Leitung über die Entwicklung der Gefässe und des Blutes gearbeitet hat, unterscheidet vier Möglichkeiten (p. 371—373).

1) Die *Area opaca* eines in der ersten Hälfte des zweiten Brüttages geöffneten Eies wird durch eine gelbröthliche Linie, den *Sinus terminalis*, scharf in zwei Regionen getheilt: die *Area vasculosa* innen und den *Dotterhof* aussen. Im Gefässhof, zuweilen auch schon im hellen Fruchthof, zeigen sich verschieden grosse, dichter oder entfernter liegende, gelblich gefärbte Inseln, die besonders in den hinteren $\frac{2}{3}$ der Keimscheibe zahlreich anzutreffen sind.

2) In vielen anderen Fällen bemerkt man selbst um die Mitte des zweiten Tages von einem gelbröthlichem *Sinus terminalis* nichts, sondern die *Area vasculosa*, und zum Theil auch die *Area pellucida* erscheint mit zahlreichen blassen oder deutlich gelblichen Inseln besetzt, die an der Grenze der *Area pellucida* und *Area opaca* ganz auffallend gross sind, von da aber nach aussen schnell an Grösse abnehmen, bis sie durch eine Reihe relativ weit von einander abstehender, aber deutlich in einer Kreislinie situirter sehr grosser Inseln abgegrenzt erscheinen. Die kreisförmige Zone, in der

diese äusserste Reihe grosser Inseln gelegen ist, entspricht, dem *Sinus terminalis* anderer Keimscheiben.

3) In einer noch anderer Reihe von Fällen erkennt man in der betreffenden Bebrütungszeit in der ungewöhnlich grossen *Area pellucida* eine ganz ausserordentliche Menge von theils blassen, theils gelblichen verschiedenen grossen Inseln, die in den hinteren Abschnitten der *Area pellucida* und zwar an der Grenze derselben und der *Area opaca* sehr dicht liegen, im vorderen Drittel jedoch seltener anzutreffen sind. Die *Area opaca* zeigt nur in ihrem innersten Abschnitte einige kleinere, gelbröthlich gefärbte Inseln.

4) Endlich in einer vierten Reihe von Fällen ist um dieselbe Bebrütungsstunde der *Sinus terminalis*, ein vollständiges Gefässnetz in der *Area vasculosa* und ein eben solches arterielles Gefässsystem in der *Area pellucida*, sowie ein pulsirendes Herz, kurz eine vollständige Circulation ausgebildet.

Balfour⁶⁾ hat das erste Auftreten von Blutkörperchen bei 5 Urwirbeln gesehen (p. 281). Die Rothfärbung der Blutinseln tritt zuerst auf⁷⁾ (p. 67), wenn sich die einzelnen Zellen zu Blutkörperchen differenzirt haben, und zwar vom Centrum aus.

Schenk¹³¹⁴⁾ (p. 57) sah die charakteristische Färbung von dem *Sinus terminalis* ausgehen und gegen den Embryo vorschreiten.

Ranvier¹¹³⁾ beobachtete auch die Verstärkung der gelblichen Farbe der Blutinseln (p. 636).

Wissoczky¹⁵⁸⁾ untersuchte die Blutbildung bei Kaninchenembryonen und in der Allantois von Hühnerembryonen, also in einem viel älteren Stadium, wo das Hämoglobin schon längst vorhanden war.

Die zweite Auflage des Lehrbuches von Kölliker⁷⁶⁾ enthält nichts neues über die Hämoglobinbildung.

Romiti¹²⁵⁾ (p. 120) sah das Blut sich färben am Ende des zweiten Tages.



C. F. Wolff¹⁵⁹⁾, J. Döllinger¹⁶⁰⁾, E. H. Weber⁶⁰⁾, G. Carus²¹⁾, C. H. Schultz¹³⁵⁾, S. Stricker¹⁴²⁾, A. Goette⁴⁷⁾, A. Rauber¹¹⁶⁾, J. Disse²⁷⁾, J. Kollmann⁷⁷⁾, J. Janosik⁶⁵⁾, N. Uskow¹⁴⁶⁾ und O. Hertwig⁵⁹⁾ in seiner Entwicklungsgeschichte, haben über Blutbildung bei Hühnerembryonen geschrieben, aber die Frage vom Auftreten des Hämoglobins nicht besonders berücksichtigt.

Es haben in neuester Zeit die Blutbildung untersucht: H. Gensch^{44. 45)}, K. F. Wenckebach¹⁶⁷⁾ und H. E. Ziegler¹⁶⁴⁾ bei Knochenfischen, J. Rückert^{128. 129)} bei Selachiern, M. v. Davidoff²⁵⁾ und Schwink¹³⁷⁾ bei Amphibien, H. K. Corning²³⁾ bei Reptilien; keiner dieser Autoren hat etwas über das Auftreten des Hämoglobins mitgetheilt.

Es haben ferner ausser den schon citirten Forschern Fahrner³⁴⁾ und Kölliker⁷⁴⁾ über Blutbildung in der embryonalen Leber gearbeitet: E. H. Weber¹⁵⁶⁾, E. Neumann⁹⁶⁾, Drummond²⁹⁾, Milne Edwards¹⁹⁰⁾, P. Foa et G. Salvioli³⁹⁾, M. Löwit⁸³⁾, Renaut¹²⁰⁾, O. vander Stricht¹⁴¹⁾, P. Kuborn⁷⁸⁾ etc.

Ranvier¹¹³⁾ untersuchte die Blutbildung im grossen Netze des Kaninchens, Schaefer im Unterhautzellgewebe der Ratte, ihre Befunde wurden von Leboucq⁸⁰⁾ bestätigt.

Ausser diesen embryologischen Forschern haben sich mit der Frage der Blutbildung und Blutregeneration noch viele andere beschäftigt.

v. Recklinghausen¹²²⁾ war der erste, welcher experimentell den Uebergang weisser Blutkörperchen in rothe nachweisen wollte. Seine Befunde wurden bestätigt von Golubew⁴⁸⁾ und Vulpian¹⁵³⁾. Ferner sprechen sich für den Uebergang von weissen Blutkörperchen in rothe aus: Erb³³⁾, Klebs⁶⁹⁾, Eberth^{31. 32)}.

A. Schmidt¹³²⁾ und G. Semmer¹³⁸⁾ haben im normalen Blute der Säugethiere Körnerkugeln gesehen,

welche sie als Uebergangsformen zwischen weissen und rothen Blutkörperchen aufgefasst haben.

Ferner berichten über diesen Uebergang in den blutbildenden Organen: Neumann⁹⁵⁾, Bizzozero^{11 12)} im Knochenmark, E. Funke⁴³⁾ in der Milz. Von Rindfleisch¹²³⁾ wurde der Ausdruck Hämatoblasten für die Zwischenform eingeführt und aus dieser Uebergangsform sollen rothe Blutkörperchen entstehen nach Obrastzow¹⁰⁰⁾, Feuerstack³⁶⁾, Gibson, J. Lockhart⁴⁶⁾.

Neumann⁹⁸⁾ war der erste, welcher die von Klebs⁶⁹⁾ bei Embryonen beschriebenen grossen Zellen mit runden Kern und hämoglobinhaltigem Protoplasma im Knochenmark gefunden hat. Dieselben wurden auch von Bizzozero¹³⁾ gesehen. Foa und Salvioli³⁹⁾ beschrieben ähnliche Gebilde in der Leber, der Milz, dem Knochenmark und den Lymphdrüsen von Embryonen.

Die Betheiligung weisser Blutkörperchen an der Bildung hämoglobinhaltiger wird bestritten von E. Funke⁴³⁾, Bizzozero und Torre¹⁵⁾ Bizzozero und Salvioli¹³⁾, Löwit⁸³⁾, Denys²⁶⁾, Cuénot²⁴⁾, H. Fr. Müller⁹²⁾ etc. Sie führen den Ursprung der rothen Blutkörperchen von den in karyokinetischer Theilung begriffenen Hämatoblasten in der Milz und im Knochenmark.

Die von Aebly¹⁾ vermuthete Neubildung der rothen Blutkörperchen am Oksificationsrande der Knorpel wurde bestätigt von C. Heitzmann^{56. 57. 58)}, Schöney¹³⁴⁾, Kassowitz⁶⁰⁾, Bayerl⁹⁾ etc. Nach Heitzmann soll jedes junge Protoplasma die Fähigkeit haben, nachdem es freigeworden ist, sich in Hämatoblasten umzuwandeln und direkt die Bildung rother Körperchen zu bewirken. Hier kann die Theorie der Bildung der rothen Blutkörperchen aus Riesenzellen angereicht werden, wonach ein Kernspross und ein Protoplasma Klümpchen sich in rothe Körperchen umwandeln. Diese Theorie vertreten Neumann^{95 96)}

Foa und Salvioli³⁹⁾, Arndt³⁴⁾, Malassez⁸⁷⁾, Vasiliev¹⁴¹⁾, Renaut¹²¹⁾ etc.

Bisher ist noch keine Einigung der Anschauungen über die Bildung der rothen Blutkörperchen eingetreten. Ich habe mich bemüht das in neuester Zeit gar nicht berücksichtigte allererste Auftreten von Hämoglobin bei Hühnerembryonen zu untersuchen und auf diesem Wege zur Lösung der Frage beizutragen.

B. Eigene Untersuchungen.

1. Methode der Untersuchung.

Die Untersuchungen wurden vorgenommen an frisch gelegten Hühnereiern während der Monate September 1891 bis Januar 1892. Enteneier, die sich zu diesen Untersuchungen besser eignen sollen, waren in genügender Menge nicht zu bekommen.

Da es in dieser Zeit unmöglich war, eine brütende Henne zu erhalten, wurde Anfangs eine Ente dazu verwandt; sie erwies sich aber als untauglich und ich musste mich eines Brüttofs bedienen. Als solcher wurde benutzt ein gewöhnlicher Thermostat, in welchem eine constante Temperatur von $39\frac{1}{2}^{\circ}$ C. unterhalten wurde. Die Tagesschwankungen betrugen höchstens 1° . Die meisten untersuchten Eier stammen von *crève-cœur*-Hühnern, welche trotz der Kälte Eier legten, während die meisten anderen Hühner vollkommen zu legen aufgehört hatten. Die Eier wurden auf Watte gelegt und mit Watte zugedeckt, damit sie beim öffnen des Thermostaten vor zu grossem Temperaturwechsel geschützt blieben.

Zum Öffnen der Eier erwies sich die von der Stricker'schen Schule benutzte Methode als die beste. Die Schale wird an einem Pol senkrecht zur Längsachse abgeschlagen und der Inhalt in ein breites flaches Gefäss ausgegossen. Die Dotter bebrüteter Eier lagern sich dabei flach auf dem Boden, während unbebrütete mehr die Kugelform beibehalten.

Falls zufälliger Weise die Keimscheibe nicht oben liegt, kann man sie leicht mit Hülfe eines breiten Spatels oder eines Uhrglases auf die Oberfläche bringen, ohne die Dotterhaut dabei zu zerreißen.

Die Dotterhaut wurde dann mit einer feinen Scheere um die Keimscheibe herum durchgeschnitten und der herabschwimmende Embryo sammt dem aufliegenden Theile der Dotterhaut und einem Theile des unterliegenden Dotters in die Fixierungsflüssigkeit gebracht; hier wurde die Keimscheibe vom Dotter und der Dotterhaut durch flottirende Bewegungen befreit. Die Flüssigkeit wurde mehrmals gewechselt. Zum Verhüten jedes auch noch so kleinen Verlustes von Hämoglobin wurde selbst die Vermittelung der indifferenten physiologischen Kochsalzlösung vermieden. Als Fixierungsflüssigkeit wurde in erster Linie die von Bizzozero¹⁴⁾ (p. 424) zur Hämoglobinfixirung empfohlene gesättigte Sublimatlösung in 1 % Kochsalzlösung benutzt. Dieselbe erwies sich aber als für embryonales Hämoglobin untauglich. Man konnte bei der weiteren Behandlung nach Bizzozero mit einem Gemisch von 96 % Alkohol und 1 % Kochsalzlösung aa, (gleichgültig ob man das Kochsalz vorher zum Vertreiben des Wassers gegläht hat, oder nicht) direct das Abblassen der die Anwesenheit von Hämoglobin charakterisirenden Gelbfärbung des Sinus terminalis beobachten. Bei directer Uebertragung aus der Sublimatlösung in 96 % oder absoluten Alkohol liess sich das Hämoglobin später in den Schnitten auch nicht nachweisen. Ausserdem trat eine Schrumpfung der ganzen Keimscheibe ein, die Zellgrenzen konnte man nur mit Mühe und gutem Willen unterscheiden; nur die Zellkerne waren bei einer Einwirkung während 10 Minuten gut fixirt. Auf die Schrumpfung und das Undeutlichwerden der Zellkontouren bei dieser Fixierungsflüssigkeit haben schon Rabl¹¹²⁾ (p. 127) und mein Freund Klecki⁷⁰⁾ (p. 42) aufmerksam gemacht. Ich glaube, dass die Ursache davon in der Bildung des leicht

löslichen Quecksilber-Chlor-Natrium-Albuminats liegt. Ferner wurde die von Denys²⁶⁾ empfohlene 1 % Sublimatlösung in 0,6 % Kochsalzlösung angewandt; die von Bizzozero (l. c.) ihr gemachten Vorwürfe erwiesen sich als gerechtfertigt, denn weder Hämoglobin, noch Structur liessen sich gut fixiren, und Schrumpfungen traten ebenfalls ein.

Es wurden ferner Ueberosmiumsäure 0,5 %, Pikrinsäure, Pikrin-Schwefelsäure; Kali bichromium 2 % gebraucht. Aeltere Embryonen mit ziemlich grossen Gehalt von Hämoglobinhaltigen Blutkörperchen liessen sich leidlich fixiren in conc. wässriger Pikrinsäurelösung, aus welcher sie nach $\frac{1}{2}$ —1 stündiger Einwirkung in 96 % Alkohol übergetragen wurden. Nach 3 tägigem Verweilen im oft gewechseltem Alkohol in der Wärme (auf dem Paraffinofen) waren sie vollkommen entfärbt und konnten weiter behandelt werden. In Pikrin-Schwefelsäure schrumpfen die Blutkörperchen sehr stark und nehmen gezackte Formen an. Kali bichromicum fixirt zwar das Hämoglobin, mit welchem es eine in Wasser unlösliche Verbindung bildet; Hämoglobin liess sich aber nur nachweisen, wenn es schon in grösserer Menge vorhanden war. Ich konnte aber bei keiner Art der Nachbehandlung deutliche Bilder von Zellen bekommen, wie man sie nach Behandlung mit anderen Fixirungsflüssigkeiten zu bekommen gewohnt ist. Die Präparate verweilten in der 2 % sehr oft gewechselten Lösung 3—15 Tage, wurden später 3 bis 18 Stunden in Wasser ausgewaschen und mit Alkohol von steigender Stärke behandelt; oder sie wurden aus der Flüssigkeit direkt in 96 % Alkohol gelegt¹⁵¹⁾; die ganze Procedur geschah in undurchsichtigen Porcelangefässen, trotzdem aber sahen die Kerne stets wie runde homogene Klumpen aus.

Es wurde ferner die sogenannte Pacini'sche^{41, 79)} Flüssigkeit verwendet. Dieselbe soll 3 Monate vor dem Gebrauch reifen. Da ich nur frische Lösung anwenden konnte, erhielt ich schlechte Resultate.

Das von Hayem ⁵⁴⁻⁷⁹⁾ vorgeschlagene Gemisch trägt die Nachbehdnung von 96 % Alkohol insofern, als es das Hämoglobin fixirt; die Zellen schrumpfen aber sehr stark und die Kerne nehmen eine homogene stäbchenförmige Gestalt an. Um die Nachwirkung des Alkohols zu vermeiden und Schnitte direkt aus der Fixierungsflüssigkeit untersuchen zu können, wurde der Versuch gemacht einen auf Hollundermark befestigten Embryo direct aus der Fixierungsflüssigkeit zum Gefrieren zu bringen und mit dem Gefriermikrotom in Schnitte zu zerlegen. Es konnte aber der Zutritt des hämoglobinlösenden Aethers nicht vermieden werden und der Versuch misslang.

Da alle diese Methoden den Nachweis der Existenz des Hämoglobins nicht zu liefern vermochten, da eine Gelbfärbung des Sinus terminalis ohne jede Behandlung beim Betrachten durch das Mikroskop gleich nach der Herausnahme des Embryo sichtbar war, in fertigen Schnitten aber sich auf keine Weise auffinden liess, habe ich die von Ranvier warm empfohlene und von Hoppe-Seyler angegebene Methode des Spektroskopirens der frischen Objecte anzuwenden versucht.

Die Untersuchung wurde mit dem Sorby-Browning'schem Mikrospektroskop, welches mir bereitwilligst von Herrn Prof. Dr. Dragendorff zur Verfügung gestellt wurde, ausgeführt. Dabei erwies sich, dass eine deutliche Gelbfärbung im Sinus terminalis keine Absorption verursachte; nur eine leichte Verdunkelung von der Linie D an bis zum Anfang der grünen Strecke war bemerkbar; die Farbentöne und Uebergänge konnte man aber deutlich unterscheiden. Entweder war also die Hämoglobinmenge zu klein um eine Absorption hervorzurufen, oder das so junge Hämoglobin hat noch nicht die Eigenschaft Absorptionsspekttra hervorzurufen. Das hätte sich feststellen lassen durch Extraction mit CO₂ haltigem Wasser einer grösserer Anzahl von Keimscheiben aus einem so frühen Stadium der Entwicklung, da hierbei das ganze Hämoglobin

in Lösung übergehen muss. Leider fehlte mir das Material zu diesem Versuche.

Die Versuche, T e i c h m a n n'sche ¹⁴⁵⁾ Hämkristalle darzustellen misslangen, wahrscheinlich in Folge der störenden Wirkung der frischen, resp. in absolutem Alkohol fixirten Embryotheile, die man von den Gefässen nicht los-trennen konnte und die die Einwirkung des Kochsalzes und der Eisessigsäure nicht in vollem Maasse gestatteten.

Die besten Resultate wurden erhalten durch Fixirung der Keimscheiben in einer 3 % wässrigen Sublimatlösung ohne irgend welche Zusätze. Die Flüssigkeit wurde mehrmals gewechselt; die Keimscheibe verblieb in ihr 15—25 Minuten; die Wirkung des Sublimats äusserte sich in einem Weisswerden der ganzen Keimscheibe.

Aus der Sublimatlösung wurde die Keimscheibe auf 5 Minuten in 70° und daraus auf 36 Stunden in 96° Alkohol gebracht; der Alkohol wurde in beiden Fällen noch einmal gewechselt; zuletzt kam das Object auf 12 Stunden in absoluten Alkohol. Aus diesem wurde der Embryo auf 20 Minuten bis eine Stunde in Origanumöl gelegt, daraus in ein Gemisch von gleichen Theilen von überhitzten Paraffin nach Graf S p e e ¹³⁹⁾ und gewöhnlichen weissen Paraffin von 58° Schmelzpunkt übergeführt. (Der Schmelzpunkt des Gemisches lag bei ca. 55° C.). Die übliche Durchtränkung mit Chloroform statt des Origanumöls ist zu vermeiden wegen seiner Fähigkeit das Hämoglobin aufzulösen.

Die so vorbereiteten Keimscheiben wurden jetzt auf einem T h o m a - J u n g'schen Mikrotom in Schnitte von 5 μ Dicke zerlegt und auf Objektträger mit S c h ä l l i - b a u m'schen ¹³¹⁾ Collodium - Nelkenöl, Eiweiss nach P. M e y e r ⁸⁹⁾ oder 50° Spiritus aufgeklebt.

Was die Färbung anbetrifft, so wurde stets ein Kernfärbungsmittel mit einem Azofarbstoff verbunden, da nach E h r l i c h die Azofarbstoffe als gute Reagentien für Hämoglobin dienen. Es wurde also z. B. eine Färbung von

Delafield'schem Hämataxylin⁴⁹⁾ combinirt mit Gelbfärbung in pikrinsäurehaltigem Alkohol nach Bizzozero¹⁴⁾, oder mit Rothfärbung in Fischer'schem³⁷⁾ Eosin. Gute Resultate gab auch die Färbung mit Hoyer'schem Picrocarmin. Es wurde auch die von Noris und Shakespeare⁹⁹⁾ empfohlene Doppelfärbung mittelst Indigocarmin, Boraxcarmin mit Entfärbung in Oxalsäure verwendet. Es hat sich aber bei meinen Versuchen herausgestellt, dass diese Methode für mein Object sich weniger gut eignete und habe ich sie deshalb nur zur Controle angewandt.

Ich fand, dass die Empfindlichkeit des Indigo eine viel geringere, als die des Eosins und der Pikrinsäure oder des pikrinsauren Ammoniums ist, da Spuren von Hämoglobin eine deutliche Reaktion mit den letzten Farbstoffen schon geben, während Indigo in der genannten gelungenen Mischung keine Spur von Grün- oder Blaufärbung hervorruft. Die mit dem Ehrlich-Biondi'schem Dreifarbgemische angestellten Versuche zeigten eine sehr geringe Farbenbeständigkeit dieser Flüssigkeit. (Zusammensetzung vid. Heidenhain⁵⁵⁾ p. 40). Eine Lösung des von Grübler bezogenen trockenen Gemisches 1:3000 Wasser gab schöne Tinction, die aber nach einigen Stunden abblasste und nach einigen Tagen verschwand. Dasselbe hat Lövit⁸⁵⁾ in seiner neuesten Arbeit (p. 278) auch mitgetheilt.

2. Mikroskopische und mikrochemische Befunde.

Da die meisten Autoren darin übereinstimmen, dass Blut am Ende des ersten und am Anfange des zweiten Tages der Bebrütung zu finden ist, wurden die Eier von der 16. Stunde der Bebrütung an der Untersuchung unterworfen. Es erwies sich jedoch, dass die Furcht, schon zu weit vorgeschrittene Entwicklungsstadien anzutreffen, unbedeutend war. Selbst im September konnte man nach 24

Stunden weder Blutkörperchen noch Gefässanlagen auffinden.

Die durch v. B a e r ausgesprochene Vermuthung, dass Wintereier sich langsamer entwickeln, wie solche die im Frühling und Sommer gelegt waren, wurde vollkommen bestätigt. Dasselbe hat neulich auch Felix³⁵⁾ mitgetheilt. Die von den Autoren gesehene Gelb-, resp. Rothfärbung der Blutkörperchen wurde im Oktober, November und der ersten Hälfte December nie vor 43 Stunden beobachtet, in der zweiten Hälfte December und im Januar, konnte man dagegen diese Erscheinung schon nach 40 Stunden der Bebrütung beobachten. Wenn aber, wie Felix meint, es wichtigere Momente für die Altersbestimmung giebt, als die Zahl der Ursegmente, nämlich der Schluss des Medullarrohrs etc., so kann ich leider für meine Zwecke diese Bestimmung nicht verwenden, da das Medullarrohr noch nicht geschlossen ist, wenn die Färbung der Blutkörperchen schon eingetreten ist. Da kein anderes Maassstab für das Alter aufzufinden war, wurde in Analogie mit den Säugethieren die Zahl der Ursegmente als alterbestimmend angenommen.

Die Thatsache der langsameren Entwicklung der Wintereier kann man noch dazu verwenden, dass man die verschiedenen Entwicklungsstufen an ihnen leichter studiren kann, als an den sich verhältnissmässig viel schneller entwickelnden Sommereiern, ohne sich den Vorwurf zuzuziehen, dass man vielleicht doch mit pathologischen Zuständen zu thun hat, was man der K ö l l i k e r'schen Bebrütung bei niedrigen Temperaturen immer vorwerfen kann⁷⁶⁾ (p. 98—99), (K o l l e r'sche protrahirte Bebrütung^{72 u 73)} p. 318).

Ausser der langsameren Entwicklung wurde noch beobachtet die recht geringe Resistenzfähigkeit gegen Temperaturschwankungen; besonders oft starben die sich wohl entwickelnden Embryonen ab, als der wenig geschützte Incubator den Nachtfrosten am Ende September und An-

fang October ausgesetzt war. Die mit einem Maximum- und Minimumthermometer gemessene Temperaturdifferenz betrug höchstens 4° und doch waren keine lebendigen Embryonen zu bekommen, bis der Incubator in einen vor Zug und Temperaturwechsel geschütztem Saal aufgestellt wurde.

Ferner wurden 6 mal auf ca. 500 untersuchte Eier zwei Dotter in einer Eischale gefunden, alle während grosser Fröste am Anfang December, als nur einzelne Eier und auch diese nicht alle Tage zu bekommen waren.

Die ersten Spuren einer Gelbfärbung, die auf Vorhandensein von Hämoglobin hinweisen, traten nie deutlich vor der Bildung von 12 Ursegmenten auf, und zwar immer am hinteren Theil des Embryo im *Sinus terminalis*. In manchen Fällen waren auch einzelne Blutinseln, die im Gefässhof lagen, gefärbt, aber immer begann die Färbung in der Schwanzgegend, wo die *Sichel*, oder der *Urmund* lag.

Bei Fixirung der Keimscheiben mit 3% Sublimatlösung in der oben angegebenen Weise konnte man mit den üblichen Farbenreactionen das Hämoglobin auch in den Blutzellen nachweisen; dabei erwiesen sich in Keimscheiben von 12 Urwirbeln nur die untersten dem Hypoblast am nächsten gelegenen Blutzellen im *sinus terminalis* hämoglobinhaltig. Die weiter nach oben zum Epiblast gelegenen, so wie jene aus anderen Gefässen zeigten spärliche, hämoglobinhaltige Körperchen, in den der *Axe* am nächsten gelegenen, waren gar keine aufzufinden. Bei Embryonen mit mehr Ursegmenten trat das Hämoglobin ebenso von unten und der Peripherie zum Centrum hinauf.

Da, wie oben erwähnt wurde, die *Bizzozero'sche* und *Denys'sche* Methoden im Anfange hauptsächlich angewandt waren, konnte das Hämoglobin durch die üblichen Farbenreactionen nicht nachgewiesen werden, dafür färbten sich mit Eosin, Pikrinsäure, pikrinsaurem Ammonium, Orange (mit Indigo — blau, nach Osmiumsäure — grün) Gebilde die von *Reichert*¹¹²⁾ und *Balfour*⁶⁾ weisser Dotter genannt

werden, von Peremeschko¹⁰³⁾ grosse granulirte Kugeln, Bildungselemente des mittleren Keimblattes, von Götte⁴⁷⁾ Dotterzellen (ohne Kern), von Disse²⁷⁾ durch Chromsäure erzeugte grob-granulirte Dotterkugeln, von Ranvier¹¹³⁾ (p. 222) boules de segmentation und von His⁶²⁾ megasphären (p. 145). Diesen letzteren Namen werde ich in der nachfolgenden Auseinandersetzung anwenden. Das Verhalten der Megasphären Farbstoffen gegenüber war äusserst auffallend, indem gleichzeitig die Blutkörperchen sich ausschliesslich und sehr intensiv nur mit dem Kernfarbstoff imprägnirten. Ich war geneigt anzunehmen, dass das Hämoglobin aus den Blutkörperchen weggeschwemmt war und sich in den Megasphären niedergelassen habe. Diese Ansicht war aber nicht richtig.

Wie schon Haller genau wusste, war der Hauptbestandtheil des Hämoglobins Eisen. Alle quantitativen Hämoglobinbestimmungen, die von Chemikern ausgeführt wurden, stützen sich auf die Bestimmung des Eisengehalts und sein Verhältniss zum Hämoglobinmolekül.

Da das Eisen ein so integrierender Bestandteil des Hämoglobins ist, lag der Gedanke nahe, das letztere mittelst der Eisenreaction mikrochemisch aufzusuchen und nachzuweisen.

Die von Grohe⁵¹⁾, Perls¹⁰⁴⁾ Nasse^{93, 94)} Quincke^{109, 110)}, und Vossius¹⁵²⁾ angegebenen Reactionen, die neulich von Zaleski¹⁶³⁾ ergänzt und in vereinfachter Methode publicirt wurden, sind sehr empfindlich.

Die Keimscheiben habe ich frisch oder fixirt durch absoluten Alkohol, Platinchlorid nach Rabl¹¹¹⁾ Chromessigsäure nach Flemming³⁸⁾ oder eine der oben angegebenen Flüssigkeiten, und Nachhärtung in Alkohol der Eisenreaction unterworfen. Das Sublimat liess sich durch den Alkohol sehr leicht und schnell entfernen. Man kann sich davon sehr leicht überzeugen, indem man einen Tropfen Jodtinctur zusetzt. Dieselbe wird nicht entfärbt, was bei

der Bildung von Quecksilberjodür sicher vorkommen würde, auch bildeten sich nie Krystalle von Quecksilberjodid.

Ebenso wurden aufgeklebte Schnittserien der Reaction unterworfen. Nur mit Spiritus von 50° aufgeklebte Schnitte lassen sich bei der Eisenreaction conserviren, Collodium wird von den Reagentien aufgelöst, Eiweiss stört die Reaction und das von Ciaglin'ski²²⁾ empfohlene Aufkleben mit Wasser erwies sich für die dünnen Schnitte unpraktisch. Zur Reaction habe ich verwendet 1½ bis 3% Ferrocyankaliumlösung und officinelle verdünnte Salzsäure zu gleichen Theilen. Natürlich wurde der Gebrauch von Eiseninstrumenten möglichst vermieden; Glasnadeln und feines Papier diente als Spatel; kurze Berührung mit dem Mikrotommesser hat, wie Zaleski nachwies, keinen Einfluss. Die Anwendung einer 2% alkoholischen Salzsäurelösung nach der Imprägnation mit Ferrocyankalium, die der letztgenannte Autor empfiehlt, hat eine krystallinische Ausscheidung des sogar in 60° Alkohol unlöslichen Blutlaugensalzes zur Folge und verdirbt das Präparat vollkommen.

Das Resultat der Reactionen war ein äusserst merkwürdiges. Die Megaspähren, welche sich so auffallend mit den Azofarbstoffen imprägnirten, zeigten auch eine sehr deutliche Eisenreaction. Dieselbe war in frühen Entwicklungsstadien auf sie allein beschränkt, zeigte sich aber nach der Bildung von 12 Ursegmenten und nach zweckmässiger Fixirung (3% wässrige Sublimatlösung, Hayem'sche Flüssigkeit) auch in den Blutkörperchen. Fig. 4 der Tafel ist ein Querschnitt durch eine Keimscheibe mit 10 Urwirbeln, wo die Eisenreaction auf die Megaspähren beschränkt bleibt, während Fig. 7 die Reaction in den Megaspähren und den Blutzellen bei einem Embryo mit 14 Ursegmenten zeigt. Noch merkwürdiger ist, dass dieselbe Eisenreaction ausschliesslich auf Megaspähren beschränkt

bei unbebrüteten Keimscheiben vorkommt. Fig. 1 und 2 zeigen Reaction solcher Objecte.

Bei der Besichtigung mit blossen Auge von oben erscheint die Blaufärbung hauptsächlich in der Keimwallgegend, auf dem Querschnitt unter dem Mikroskop erweist sie sich localisirt in den Megasphären. Beide Präparate waren mit Platinchlorid 0,1% fixirt, wodurch man eine vollkommene und leichte Trennung der Keimscheiben von den Elementen des gelben Dotters erreicht. Gelber Dotter allein, fixirt oder auch frisch in einer dünnen Schicht auf ein Gläschen aufgetragen, zeigt keine Eisenreaction, während frischer weisser Dotter, mit einer fein zugespitzten Glasspipette ausgezogen, die Reaction in den Megasphären sofort aufweist. Die Reaction gelingt bei allen Arten der Fixirung, nur ist sie schwerer zu erhalten und nicht so schön nach Einwirkung von Chromsäure oder chromsauren Salzen.

Roth es Blutlaugensalz lieferte keine Reaction, die Eisenverbindung ist also als Oxyd in den Megasphären abgelagert; Rhodankalium wurde nicht angewandt wegen der grossen Löslichkeit des Rhodaneisens und der Unbeständigkeit der Reaction, Schwefelammonium gab bei weitem nicht so schöne Bilder, wie das gelbe Blutlaugensalz.

Was sind nun die Megasphären?

Hier war der erste, welcher diesen Namen angewandt hat.

In seinen „Neuen Untersuchungen über die Bildung des Hühnerembryo“ äussert er sich folgendermassen (p. 145): „Es sind dies grosse Kugeln von 40—60 μ , welche von scharfen Contouren umgrenzt und von gröberen und feineren Dotterkörnern dicht erfüllt sind. Sie haben die Eigenschaften der grossen körnerhaltigen Kugeln des weissen Dotters, und stehen zu ihm in inniger Beziehung. Nur darüber ist Discussion zulässig, ob es sich um ächte Keim-

zellen handelt, welche sich mit Dotterkörnern erfüllt haben, oder um unveränderte Keimwallkugeln, oder endlich um Keimwallkugeln mit einer Rinde archiblastischen Protoplasmas. Um eine indifferente, der Discussion Raum bietende Bezeichnung zu haben, nenne ich sie vorläufig *Megasphären*. Es sind dieselben Elemente, welche seit Peremeschko's Arbeit von der Stricker'schen Schule als Bildungselemente des mittleren Keimblattes in die Literatur eingeführt und als Vorgebilde des mittleren Keimblattes gedeutet worden sind.“

Aber nicht nur Peremeschko hat diese Kugeln gesehen. Schon vor ihm waren sie beschrieben. Schon Reichert¹¹⁸⁾ spricht von dem in der Peripherie liegenden „kugligen Nahrungsinhalt“ (p. 116).

Remak¹¹⁹⁾ sah (p. 15—16) die Keimhöhle den Rand des Fruchthofes überschreiten und in das Dottergelb eindringen. Er nennt diese Uebergangsstelle *Dotterrinde* und sieht in ihr runde und ovale Körper, Kugeln.

His beschreibt kleinere von den Elementen als *Parablasten*, grössere, wie oben citirt, nennt er *Megasphären*. Er will den weissen Dotter, *Parablast*, von Zellen des mütterlichen Organismus, *Leucocyten*, welche noch vor der Befruchtung durch active Wanderung in das Eierstocksei gelangen und dort sich in *Dotterzellen* = *Parablastzellen* umwandeln, abstammen lassen. Er hält sie für Zellen, und will den Inhalt als Kerne deuten⁶³⁾ (p. 72).

Peremeschko¹⁰³⁾ hat den grossen granulirten Kugeln am Boden der Keimhöhle Contractionsfähigkeit und active Wanderungsfähigkeit zugeschrieben.

In einem 1869 publicirten Artikel kann Waldeyer nicht entscheiden, ob die fraglichen Gebilde vom weissen Dotter oder von Furchungskugeln abstammen (p. 161).

Oellacher¹⁰¹⁾ leitet die Kugeln von Segmentationskugeln ab; Goette⁴⁷⁾ nennt sie *Dotterzellen*,

und denkt sie sich durch Segmentation des Dotters am Boden der Keimböhle entstanden; indem er ihnen active Wanderungsfähigkeit absagt, will er sie in Folge mechanischer Vorgänge den Keimwall passiren und in den Embryo hineingelangen lassen. Von Kernen hat er keine Spur gesehen. Foster und Balfour⁴⁰⁾ nennen die Gebilde weissen Dotter und schreiben ihnen Zellennatur zu.

H. Virchow¹⁵⁰⁾ hält sie ebenso wie Kölliker für Dotterkugeln und lässt sie einer Verdauung durch das Dottersackepithel unterliegen. Dasselbe finden Janosik⁶⁵⁾ und Kollmann⁷⁷⁾. Disse²⁷⁾ beschreibt die Gebilde ausserst genau, hat auch ihr Verhalten Pikrinsäure gegenüber beobachtet, hält sie aber dennoch für durch Chromsäure erzeugte Kunstproducte. Die His'schen Parablastelemente hat er auch an unbefruchteten und unbrüteten Eiern gefunden, Kerne aber in ihnen nie gesehen.

Ranvier¹¹³⁾ hält sie für Segmentationskugeln (pag. 228).

Nach Rauber¹¹⁶⁾ (pag. 29) entsteht das Organ des Blutes aus Furchungskugeln, nicht aus weissem Dotter, ihre Localisation aber und Beschreibung ist nicht näher angegeben in jener vorläufigen Mittheilung.

In einer anderen Mittheilung¹¹⁷⁾ wurden die genannten Gebilde von Rauber — Keimplasmodien genannt (p. 23) und für Nahrungsmaterial bildende Dotterzellen, die nicht zum Aufbau des Körpers direkt dienen, gehalten (p. 21). Die Keimplasmodien sind Protoplasmareste die einer Zerklüftung in Einzelzellen nach vollendeter Furchung nicht unterlagen, während die Kerne sich gleichzeitig vermehrten. (Beobachtet an Knochenfischen).

Dasselbe hat für das Hühnchen W. Wolff¹⁶¹⁾ gefunden (p. 55).

Waldeyer's¹⁵⁵⁾ „Parablast“ entspricht den „subgerminalen Fortsätzen“ von His; es ist das Endproduct der secundären Furchung. Der weisse wie der gelbe Dotter haben nur nutritive Bedeutung.

Strahl¹⁴⁹⁾ sah bei der Eidechse ähnliche Gebilde von Segmentationskugeln abstammen und fand Kerne in ihnen (pag. 291.), welche jedoch schwer nachzuweisen waren.

U s k o w¹⁴⁶⁾ (pag. 21) hält diese Kugeln für einen Rest von Eiprotoplasma, welches keine Kernsubstanz erhalten hat und von der Segmentation übrig geblieben ist. (pag. 70.)

Es ist nun möglich, dass eine Beziehung, (vielleicht genetischer Art) besteht zwischen den Megasphären und den Kerngebilden die bei Selachiern, Knochenfischen und Vögeln gefunden worden sind. Das sind die Merocyten und die Dotterkerne. Manche Autoren z. B. K a s t s c h e n k o^{67, 68)} M e h n e r t¹⁶⁸⁾, H. E. und F. Ziegler¹⁶⁶⁾ machen keinen Unterschied zwischen Megasphären und Merocyten. R ü c k e r t¹²⁸⁾ unterscheidet bei Selachiern Megasphären von Merocyten (pag. 98) bezeichnet später aber die Merocyten als die Urform der Megasphären.

Es sind jedenfalls noch weitere Untersuchungen nöthig, ehe man über die Beziehung der genannten Gebilde zu einander näheres aussagen kann.

R ü c k e r t^{127, 128, 129)} der früher die Parablastkörperchen als Furchungsproducte auffasste, die nur unter dem Einflusse des Nahrungsdotters eine secundäre Modification erlitten haben, hat neulich¹³⁰⁾ die Merocytenkerne als Umwandlungsproducte der Spermatozoöncöpfe gedeutet. Sie wären darnach väterlichen Ursprungs.

K a s t s c h e n k o^{67, 68)} hat die Kerne der Megasphären bei Selachiern vor der Furchung entstehen sehn, da die Theilung des ersten Furchungskerns bedeutend der Furchung der Keimscheibe vorausgeht. Er hat auch die Abwesenheit der Kerne in reifen unbefruchteten Eiern constatirt.

H. E. Ziegler¹⁶⁵⁾ hat dieselben Kerne bei Knochenfischembryonen gesehen und neulich im Verein mit F. Ziegler¹⁶⁶⁾ bei Selachiern.

B a r f u r t h⁷⁾ hat im degenerirten Eierstocksfollikeln der unbefruchteten Bachforelle Gebilde gesehen, deren Be-

schreibung und Abbildung genau mit den Megasphären sich decken, konnte in ihnen keinen Kern nachweisen und wollte ihnen deswegen eine Zellennatur nicht zusprechen. Er hielt es für wahrscheinlich, dass es degenerierte Granulosa-Zellen waren.

Wenn man die Gebilde, welche His Megasphären genannt hat, einer genauen Untersuchung unterzieht, so findet man (Fig. 5) dass sie aus zweierlei Substanzen bestehen: einem Gerüst und grösseren und kleineren Kugeln innerhalb des Gerüsts; in den Kugeln ist das Eisen abgelagert. Gerüst verhält sich Farbstoffen gegenüber genau so wie die ihn ausfüllenden Kugeln, färbt sich z. B. intensiv mit Pikrinsäure und Eosin, enthält aber augenscheinlich kein Eisen. Nach ausgeführter Eisenreaction wird es durch Boraxcarmin roth gefärbt. Durch einen sehr kräftigen Wasserstrahl kann man das Gerüst von den Dotterkugeln die es ausfüllen befreien (Fig. 6). Nach Behandlung der Präparate mit Platinchlorid tritt es deutlicher hervor. Bilder desselben, wie das von mir gegebene, gleichen den von His in seiner Monographie (Taf. VI) von Archiblastischen Zellen gezeichneten. Weder im Gerüst, noch in den Körnern konnte ich je einen Kern auffinden. In den Körnern finden sich zuweilen braungelbe Körnchen, die wie Pigment aussehen (Fig. 8), jedoch keine Eisenreaction geben. (Hämatin? [Bunge¹⁸] p. 93]). Diese Körnchen treten bei jeder Fixierungsmethode, mit und ohne Färbung, manchmal in auffallend grosser Zahl auf.

Was die Gestalt der Megasphären anbetrifft, so sind sie meistens nicht kuglige, sondern elliptoidische und cylindrische Gebilde; bei Untersuchung einer 5 μ dicken Schnittserie konnte ich eine Megasphäre durch 27 Schnitte verfolgen.

Dass es sich hier um protoplasmatische Gebilde handelt unterliegt keinem Zweifel. Nach der Analogie mit Knochenfischen und Selachiern könnte man schliessen, dass sie Kerne enthalten und W. Wolff giebt auch

an die gesehen zu haben. Ich konnte sie auf keine Weise auffinden; die von P e r e m e s c k o gesehenen Contractionen und Wanderung habe ich nicht studirt, weil mir ein heitzbarer Objecttisch fehlte. Da die Stadien, die ich zur Untersuchung bekam, verhältnissmässig alt waren, kann ich mich über die Entstehung der Megasphären nicht äussern, jedoch wären in Bezug auf ihre Genese folgende Möglichkeiten zu erwägen. Man könnte ihren Ursprung herleiten von:

- 1) Furchungskugeln im unbefruchteten Ei (D u v a l).
- 2) Furchungskugeln des befruchteten Eies.
- 3) Eingewanderten Leucocyten } Mütterlicher
- 4) Eingewanderten Granulosazellen } Ursprung.
- 3) Eindringenen Spermatozoen. Väterlicher Ursprung.
- 6) Bei der Furchung zurückgebliebenen Protoplasmareste, die von Haus aus ohne Kern waren, oder deren Kern sich auflöste (austrat?).

Was die physiologische Bedeutung der Megasphären betrifft, so weisen die Untersuchungen von K ö l l i k e r, H. V i r c h o w, R a u b e r, J a n o s i k, K o l l m a n n u. a. darauf hin, dass sie als Nahrungsmaterial für den Embryo dienen. Nach meinen Beobachtungen liefern sie ausserdem den wichtigsten Bestandtheil für das Blut, nämlich das Eisen. Es ist wenigstens wahrscheinlich, dass dieses Eisen zur Bildung des Hämoglobins der embryonalen Blutkörperchen verwandt wird.

Wie gross das Bedürfniss von Eisen im Hühnerembryo ist, glaube ich aus einem Versuche von R o u x ¹²⁶⁾ schliessen zu dürfen. Er spritzte Hühnerembryonen zwischen die Keimhäute Berlinerblau ein und konstatierte, dass bei weiterer Bebrütung vom Farbstoffe nichts mehr aufzufinden war; nur die Einstichstelle zeigte eine intensive Gelbfärbung, so dass anzunehmen war, dass das eisenhaltige Material zu einem gelben Farbstoff umgewandelt worden war.

In Fig. 8 ist die Aufnahme einer mit den genannten Körnchen gefüllten Megasphäre durch eine Hypoblastzelle

gezeichnet. Man sieht, wie sich um den Kern herum Kügelchen angehäuft haben, die sich mit Alauncarmin intensiv gefärbt haben, während die Megaspäre vollkommen frei von Carmin blieb und nur die Eisenreaction aufweist.

Inwiefern die schon von Stricker aufgestellte Analogie zwischen Megaspären und Colostrumkörperchen auch durch die Eisenreaction etwa bestätigt werden könnte, habe ich aus äusseren Gründen nicht mehr prüfen können.

Auf welche Weise das von den Hypoblastzellen aufgenommene Eisen zu den Blutkörperchen gelangt, konnte mit Sicherheit nicht ermittelt werden; jedenfalls kann man aber die auffallend schwächere Reaction in den Megaspären sofort constatiren, wenn die Blutkörperchen anfangen Hämoglobin zu bilden.

Die von mir angestellten Eisenreactionen ergaben Spuren von Eisen in den Blutkörperchen, sobald auch andere Reactionen auf Hämoglobin in denselben hindeuteten. Die Eisenreaction machte sich nicht nur im Protoplasma, sondern auch im Kern bemerkbar. Dass Schneider bei seinen Studien an Proteus das Eisen hauptsächlich oder ausschliesslich im Kern fand, erklärt sich vielleicht aus der von ihm angewandten Methode, über die nichts näheres mitgetheilt ist.

Resumé.

Wenn man die Resultate der vorliegenden Arbeit kurz zusammenstellt, so erweist sich folgendes:

1. Das Hämoglobin lässt sich optisch und chemisch erst in den Blutzellen bei Embryonen nachweisen, die schon 12 differenzierte Ursegmente besitzen.
2. Das beste Mittel zur Fixirung von Hämoglobin bei Hühnerembryonen ist eine 3 % wässrige Sublimatlösung.
3. Das Undeutlichwerden der Zellgrenzen bei Fixirung in einer Sublimatlösung mit Zusatz von Kochsalz beruht auf der Bildung von löslichen Quecksilber-Chlor-Natrium-Albuminat.
4. Das ganze eisenhaltige Material des Dotters ist nur im weissen Dotter abgelagert.
5. Im gelben Dotter lässt sich mikrochemisch kein Eisen nachweisen.
6. Das Eisen im Dotter bildet eine Oxydverbindung, ist also wahrscheinlich diejenige organische Eisenverbindung, die Bunge als Hämatogen dargestellt hat.
7. Die Megaspähären von His bestehen aus einem Gerüst, in welchem die eisenhaltigen Kügelchen des weissen Dotters eingelagert sind. Das Gerüst verhält sich Farbstoffen gegenüber wie Zellprotoplasma; Kerne konnte ich nie sehen.
8. Die Megaspähären sind meistens keine Sphären (Kugeln), sondern ellipsoidische oder cylinderförmige

Gebilde, die ursprünglich unter dem *Hypoblast* gelegen sind, und erst später in ihn hinein und zwischen *Hypoblast* und *Epiblast* gelangen.

9. Die *Megasphären* lagern sich mit Vorliebe in der Nähe der Gefäße, obwohl sie in frühen Stadien hauptsächlich im Keimwall liegen.
10. Die *Megasphären* werden von den *Hypoblastzellen* aufgenommen in der Art, wie *Amoeben* Nahrung aufnehmen. Die aufgenommene Substanz dokumentirt sich optisch in Form von Körnchen, die sich im den Kern lagern und sich mit Kanfärbemitteln intensiv färben.
11. Mit dem Auftreten der Eisenreaction in den Blutzellen wird dieselbe in den *Megasphären* schwächer; dass die *Megasphären* allmählig zerfallen und kleiner werden, wurde schon von anderen Autoren beobachtet.

Corrigenda.

Pag. 8 Zeile 4 von unten Bebrütung, nicht Betrübung.

" 10 " 2 " oben Hühnerembryonen, nicht Hühnerempryonen.

" 15 " 10 " unten Ossificationsrande, nicht Oksificationsrande.

Literaturverzeichniss.

- 1) Aebv, Chr. Ueber die Symphysis oss. pubis der Menschen nebst Beiträgen zur Lehre vom hyalinem Knorpel und seiner Verknöcherung. — Zeitschrift für rationelle Medicin. 1857. 3. Reihe, Bd. 4 pag. 1—78.
- 2) Afanasieff. Ueber die Entwicklung der ersten Blutbahnen im Hühnerembryo. — Sitzungsberichte der mathem. naturwissensch. Classe der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien. 1866. Bd. 53. Abth. II Heft 4, pag. 560—569.
- 3) Arndt, R. Untersuchungen an den rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere I. — Virch.-Arch. 1879, Bd. 78 pag. 1—24.
- 4) Arndt, R. Untersuchungen an den rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere. II. Virch.-Arch. 1881, Bd. 83, pag. 15—41.
- 5) v. Baer, K. E. Ueber die Entwicklungsgeschichte der Thiere. Beobachtung und Reflexion. Königsberg 1828, I.
- 6) Balfour, F. M. The development of the bloodvessels of the chick. Monthly Journal of microscopical Science 1873. vol. XIII, pag. 280—290.
- 7) Barfurth, D. Biologische Untersuchungen über die Bachforelle. Separat-Abdruck aus dem Archiv für mikrosk. Anatomie. 1886. Bd. 27.
- 8) Baumgärtner, K. H. Beobachtungen über die Nerven und das Blut. Freiburg 1830, pag. 79.
- 9) Bayerl, B. Die Entstehung rother Blutkörperchen im Knorpel am Ossificationsrande. Archiv für mikroskopische Anatomie. Bd. 23, pag. 30. 44.
- 10) Behrens, W., Kossel, A. und Schiefferdecker, P. Die Gewebe des menschlichen Körpers. I und II, 1. Braunschweig, 1889—91.
- 11) Bizzozzero, G. Sulle celle globulifere del midollo delle ossa. Gaz. medic. Lombarde 1869, Nr. 2 und 24.
- 12) Bizzozzero, G. Sulla funzione ematopoetica del midollo delle ossa. Gaz. medic. ital. Lombarde 1868, ref. Med. Centralblatt 1869, p. 273.
- 13) Bizzozzero und Salvioli. Die Milz als Bildungsstätte rother Blutkörperchen. Mittheilung im Medicinischen Centralblatt. 1879. pag. 273.

- 14) Bizzozzero, G. Neue Untersuchungen über den Bau des Knochenmarkes bei Vögeln. Archiv für mikroskop. Anatomie. 1890. Bd. 35, pag. 424.
- 15) Bizzozzero und Torre. Citirt nach ¹⁴¹⁾.
- 16) Bischoff, Th. L. W. Entwicklungsgeschichte der Säugethiere und des Menschen. Leipzig 1842, pag. 277—284.
- 17) Bunge, G. Ueber die Assimilation des Eisens. Zeitschrift für physiologische Chemie 1885. Bd. 9, Heft I, pag. 49—59.
- 18) Bunge, G. Lehrbuch der Physiologischen und Pathologischen Chemie. Leipzig 1887.
- 19) Burdach, K. F. Die Physiologie als Erfahrungswissenschaft. Bd. II. Leipzig 1828, pag. 239—370.
- 20) Billroth, Th. Untersuchungen über die Entwicklung der Blutgefäße. Berlin 1856.
- 21) Carus, C. G. System der Physiologie. Dresden 1839. Bd. II, 36—63.
- 22) Ciagliniski, A. Ein Beitrag zur mikroskop. Technik bei der Untersuchung des Rückenmarks und der peripheren Nerven. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 1891. Bd. VIII, p. 19—29.
- 23) Corning, H. K. Zur Frage der Blutbildung aus dem Entoderm. Arch. f. mikr. Anat. 1890. Bd. 36, p. 516—527.
- 24) Cuénot, L. Sur le developpement des globules rouges du sang. Comptes rendus 1888. Bd. 106, Nr. 10, p. 673—675.
- 25) v. Davidoff, M. Ueber die Entstehung der rothen Blutkörperchen und des Parablast von Salamandra maculosa. Zool. Anzeig. 1884. Bd. VII, Nr. 174, p. 453—457.
- 26) Denys, J. La structure de la moëlle des os et la genèse du sang chez les oiseaux. La Cellule 1887. T. IV, F. 1.
- 27) Disse, J. Die Entstehung des Blutes und der ersten Gefäße im Hühnerei. Archiv für mikr. Anat. 1879. Bd. 16, 545—596.
- 28) Doellinger, J. Vom Kreisläufe des Blutes. Denkschriften der Akademie zu München. 1821. Bd. VII, p. 169—228.
- 29) Drummond. On the development of Blood and Blood-Vessels. Edinburgh Monthly Journ. of. med. science 1854.
- 30) Duval, M. De la formation du blastoderme dans l'oeuf d'oiseau. Ann. des sciences nat. zoolog. 1884. VI sér. T. 18, Juli—October.
- 31) Eberth, C. J. Zur Histologie des Blutes. Virch. Arch. 1868. Bd. 43, p. 8—14.
- 32) Eberth, C. J. Ueber die Vermehrung der rothen Blutkörperchen. Fortschritt. d. Medic. 1885. Bd. III, Nr. 1.
- 33) Erb, W. Zur Entwicklungsgeschichte der rothen Blutkörperchen. Virch. Arch. 1865. Bd. 34, p. 138—193.
- 34) Fahrner, J. C. De globulorum sanguinis in mammalium embryonibus atque adultis origine. Turici 1845.

- 35) Felix, W. Die erste Anlage des Excretionssystems des Hühnchens. Festschr. für v. Nägeli u. v. Kölliker. Zürich 1891. cit. in Ztschr. f. wiss. Mikrosk. 1891. Bd. VIII, 3, p. 368.
- 36) Feuerstack, W. Die Entwicklung der rothen Blutkörperchen. Ztschr. für wiss. Zoologie. 1888. Bd. 38., p. 136 bis 163.
- 37) Fischer, E. Eosin als Tinctionsmittel für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. 1876. Bd. 12, p. 349—352.
- 38) Flemming, W. Zellsubstanz, Kern- und Zelltheilung. Leipzig 1882. p. 382.
- 39) Foa, P. und Salvioli, G. Origine dei globuli rossi del sangue. Nota preventiva. Archivio per le scienze mediche. Vol. IV. Citirt nach Hoffmann-Schwalbe. Jahresbericht 1879. p. 49.
- 40) Foster, M. und Balfour, F. M. Grundzüge der Entwicklungsgeschichte der Thiere. Deutsche Ausgabe von Kleinenberg. 1876.
- 41) Frey, M. Das Mikroskop und die mikroskopische Technik. Leipzig 1886, p. 151.
- 42) Funke, O. Lehrbuch der Physiologie. Leipzig 1860. Bd. I, p. 162.
- 43) Funke, E. Ueber die Theilung rother Blutkörperchen bei Hühnerembryonen. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. Nr. 41, p. 754—756.
- 44) Gensch, H. Die Blutbildung auf dem Dottersack bei den Knochenfischen. Arch. f. mikr. An. 1881. Bd. 19, p. 144—146.
- 45) Gensch, H. Das secundäre Entoderm und die Blutbildung beim Ei der Knochenfische. Königsb. 1882.
- 46) Gibson, J., Lockhart. The Bloodforming Organs and Bloodformation. Journ. of anat. and physiol. 1886. Vol. 20, p. 100—113. p. II, pag. 324—353. p. III, pag. 456—474.
- 47) Goette, A. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Wirbelthiere. Arch. f. mikr. Anat. 1873. Bd. X, p. 145—199.
- 48) Golubew, A. Ueber die Erscheinungen welche elektrische Schläge an den sog. farblosen Bestandtheilen des Blutes hervorbringen. Sitzungsber. der math.-naturw. Cl. der Wiener Academie. 1868. Bd. 57, Abth. II, H. 4, p. 555—572.
- 49) Grenacher, H. Einige Notizen zur Tinctionstechnik, bes. zur Kernfärbung. Arch. f. mikr. Anat. 1878. Bd. 16, p. 463 bis 471.
- 50) Grünberg, M. Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Blutkörperchen in den Lymphknoten. Arbeiten aus dem vergl. anat. Institute in Dorpat 1891.
- 51) Grohe. Zur Geschichte der Melanämie nebst Bemerkungen über den normalen Bau der Milz und Lymphdrüsen. Virch. Arch. 1861. Bd. 20 pag. 306.

- 52) v. Haller, A. Sur la formation du coeur dans le poulet. Lausanne 1757 pag. 45.
- 53) v. Haller, A. Elementa physiologiae corporis humani. Lausanne 1766. Bd. II.
- 54) Hayem, G. Du sang et de ses altérations anatomiques. Paris 1889. Citirt nach Zeitschr. f. wiss. Mikr.
- 55) Heidenhain, R. Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Pflüger's Archiv für die ges. Physiologie 1888. Suppl. zu Bd. 43. pag. 1—103.
- 56) Heitzmann, C. Studien am Knochen und Knorpel. Mediz. Jahrbücher d. k. k. Gesell. d. Aerzte. Red. v. Stricker. Wien 1872, pag. 339—366.
- 57) Heitzmann, C. Ueber Rück- und Neubildung von Blutgefäßen im Knochen und Knorpel. Med. Jahrbücher d. k. k. Gesell. d. Aerzte. Wien 1873. pag. 178—198.
- 58) Heitzmann, C. Untersuchungen über das Protoplasma. Sitzungsber. d. math.-naturw. Cl. der Wiener Akademie 1873. Bd. 67, Abth. III, H. 4, pag. 100—115, H. 5, pag. 141—160, Bd. 68, Abth. III, H. 6, pag. 41—50, H. 7, pag. 56—67 und 87—104.
- 59) Hertwig, O. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte. Jena 1890.
- 60) Hildebrandt, F. Handbuch der Anatomie des Menschen, herausgegeben von E. H. Weber. Braunschweig 1830—32. Bd. IV, pag. 475—479.
- 61) His, W. Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbelthierleibes I. Leipzig 1868.
- 62) His, W. Neue Untersuchungen über die Bildung des Hühnerembryo. Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgeschichte von His u. Braune 1877, pag. 112—187.
- 63) His, W. Die Lehre vom Bindesubstanzkeim (Parablast.) Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1882. pag. 62—108.
- 64) Hoppe-Seyler, F. Handbuch der physiol. u. patholog.-chem. Analyse. Berlin 1883. pag. 237, 297, 427.
- 65) Janosik, J. Beitrag zur Kenntniss des Keimwulstes bei Vögeln. Sitzungsber. der math.-naturw. Cl. der Akad. zu Wien. 1881, Bd. 84, Abt. III, H. 4, p. 511—524.
- 66) Kassowitz. Die normale Ossification und die Erkrankungen der Knochen bei Rachitis und hered. Syphilis. Med. Jahrbuch. Red. von Stricker. Citirt nach ¹⁴⁾.
- 67) Kastschenko, N. Zur Frage über die Herkunft der Dotterkerne im Selachierei. Anat. Anzeiger 1888. Bd. III, Nr. 9, pag. 253—257.
- 68) Kastschenko, N. Zur Entwicklungsgeschichte der Selachierembryonen. Anat. Anzeig. 1888. Bd. III, Nr. 16, pag. 445—467.
- 69) Klebs, E. Ueber Kerne und Scheinkerne der rothen Blut-

- körperchen der Säugethiere. Virch. Arch. 1866. Bd. 38 pag. 190—220.
- 70) Klecki, C. Experimentelle Untersuchungen über die Darmmuskulatur der Raubthiere. Dorpat 1891.
 - 71) Klein, E. Das mittlere Keimblatt in seinen Beziehungen zur Entwicklung der ersten Blutgefäße und Blutkörperchen im Hühnerembryo. Sitzungsber. der math.-naturw. Cl. der k. Akademie in Wien 1871. Bd. 63, Abth. II, H. 3, pag. 339—391.
 - 72) Koller, C. Beiträge zur Kenntniss des Hühnerkeims im Beginne der Bebrütung. Sitzungsber. der k. Akademie in Wien 1879. Bd. 80, Abth. III, H. 9, pag. 316—329.
 - 73) Koller, C. Untersuchungen über die Blätterbildung im Hühnerkeim. Arch. f. mikr. Anat. 1882, Bd. 20, p. 174—211.
 - 74) Kölliker, A. Ueber die Blutkörperchen eines menschlichen Embryo und die Entwicklung der Blutkörperchen bei Säugethieren. Zeitschr. für ration. Medic. 1846, Bd. IV, pag. 112—159.
 - 75) Kölliker, A. Entwicklungsgeschichte des Menschen und der höheren Thiere. Leipzig 1861.
 - 76) Kölliker, A. Entwicklungsgeschichte des Menschen und der höheren Thiere. Leipzig, II. Aufl. 1876—79.
 - 77) Kollmann, J. Der Randwulst und der Ursprung der Stützsubstanz. Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1884, pag. 341—434.
 - 78) Kuborn, P. Du developpement du sang dans le foie de l'embryon. Anat. Anzeig. 1890, Bd. V, Nr. 10, p. 277—282.
 - 79) Landois, L. Lehrbuch der Physiologie des Menschen. Wien 1891, pag. 23.
 - 80) Leboucq. Sur le developpement des vaisseaux et des globules sanguins dans les tissus normaux et pathologiques. Gand. 1876. Citirt nach 113).
 - 81) Leepin, R. Quantitative Hämoglobinbestimmungen nach Fleischl an Thieren unter der Einwirkung pharmakologischer Agentien. Dorpat 1891.
 - 82) Lindgreen, H. Ueber das Vorhandensein von wirklichen Porencanälchen in der zona pellucida des Säugethiereies u. über die von Zeit zu Zeit findende Einwanderung der Granulosazellen in das Ei. Arch. f. Anat. und Entwicklungsgesch. 1877. pag. 334—370.
 - 83) Löwit, M. Ueber die Bildung rother und weisser Blutkörperchen. Sitzungsberichte der wien. Akad. math.-naturw. Cl. 1883. Bd. 88, Abth. 3, pag. 356—400.
 - 84) Löwit, M. Die Umwandlung der Erythroblasten in rothe Blutkörperchen. Sitzungsber. der k. Akadem. math.-naturw. Cl. Wien 1887. Bd. 95, Abth. 3, H. 3, pag. 129—172.
 - 85) Löwit, M. Ueber Neubildung und Beschaffenheit der

- weissen Blutkörperchen. Arbeiten aus dem patholog. Institut. in Innsbruck in Ziegler's Beiträgen zur path. Anat. 1891. Bd. X, H. 2 u. 3, pag. 211—297.
- 86) Löwit, M. Die Anordnung und Neubildung von Leukoblasten und Erythroblasten in den Blutzellen bildenden Organen. Arch. f. mikr. Anatom. 1891. Bd. 38, p. 524—612.
 - 87) Malassez, L. Sur l'origine et la formation des globules rouges du sang dans la moëlle des os. Arch. de la physiol. norm. et pathol. 1882. T. 9, Nr. 1, pag. 1—47.
 - 88) Metschnikow, E. Zur Entwicklungsgeschichte der rothen Blutkörperchen. Virchow's Arch. 1867, Bd. 41, pag. 223—225.
 - 89) Meyer, P. Aus der Mikrotechnik. Internation. Monatschrift für Anat. u. Physiol. 1887, Bd. IV, pag. 42.
 - 90) Milne-Edwards, H. Leçons sur la physiologie et l'anatomie comparée de l'homme et des animaux. Paris 1857. T. I, pag. 339.
 - 91) Müller, Joh. Handbuch der Physiologie. Koblenz 1834. Bd. I, pag. 141—145.
 - 92) Müller, H. Fr. Zur Frage der Blutbildung. Sitzungsberichte der Wiener Akademie 1889. Bd. 98, Abth. III, H. 6, pag. 219—294.
 - 93) Nasse. Ueber Vorkommen eisenhaltiger Körner im Knochenmark. Sitzungsberichte der Masburger naturforsch. Gesellsch. 1877, Nr. 3. Citirt nach 162).
 - 94) Nasse. Ueber den Eisengehalt der Milz. Sitzungsber. der Gesell. zur Beförder. der ges. Naturwissen. zu Marburg 1872, Nr. 2. Citirt nach 162).
 - 95) Neumann, E. Ueber die Bedeutung des Knochenmarks für die Blutbildung. Arch. d. Heilkunde 1869, Bd. X, pag. 68—102. Auch Centralblatt für die med. Wissen. 1868, pag. 680.
 - 96) Neumann, E. Neue Beiträge zur Kenntniss der Blutbildung. Arch. der Heilkunde von Wagner. 1874, Bd. 15, pag. 441—476.
 - 97) Neumann, E. Die Heitzmann'schen Hämatoblasten. Arch. f. mikr. Anat. 1875, Bd. 11, pag. 169—175.
 - 98) Neumann, E. Knochenmark und Blutkörperchen. Arch. f. mikr. Anat. 1876. Bd. 12, pag. 793—796.
 - 99) Norris, W. F. and Shakespeare E. O. A new method of double Staining Americ. Journ. of the medic. Science 1877 January. Citirt nach 50).
 - 100) Obrastzow, W. Zur Morphologie der Blutbildung im Knochenmark der Säugethiere. Diss. St. Petersburg. 1880. med. Centralbl. 1880 pag. 433—435 und Virch. Arch. Bd. 1884 pag. 358—415.
 - 101) Oellacher, J. Untersuchungen über Furchung und

- Blätterbildung im Hühnerei. Studien aus dem Institute für experim. Pathol. in Wien, herausgeg. v. Stricker. I. 1870 p. 54—73.
- 102) Pander, Chr. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Hühnchens im Eye. Würzburg 1817.
 - 103) Peremeschko. Die Bildung der Keimblätter im Hühnerei. Wiener Sitzungsberichte. Math.-naturw. Cl. 1868. Bd. 57, Abth. II, H. 3, pag. 499—516.
 - 104) Perls. Nachweis von Eisenoxyd in gewissen Pigmenten. Virch. Arch. 1867. Bd. 39. pag. 42.
 - 105) Pfeil, C. De evolutione Pulli in ovo incubato. Berlin 1823. p. 21.
 - 106) Prévost et Dumas. Developpement du coeur et formation du sang. Ann. des sciences natur. 1824. sér. I. T. III, p. 96—107.
 - 107) Prévost et Dumas. Ueber die Bildung des Blutes. Erörtep's Notizen zur Natur und Heilkunde. 1824. Nr. 175. pag. 321—326.
 - 108) Prévost et Lebert. Mémoires sur la formation des organes de la circulation et du sang. dans les batraciens. Ann. des sciences nat. 1844. sér. III, T. I, pag. 205.
 - 109) Quincke, H. Ueber perniciöse Anämie. Sammlung klinischer Vorträge von Volkmann. 1876. Nr. 100.
 - 110) Quincke, H. Ueber Siderosis Eisenablagerung in einzelnen Organen des Thierkörpers. Festschrift zum Andenken von A. v. Haller. Bern 1877. pag. 41.
 - 111) Rabl, C. Ueber Zelltheilung. Morpholog. Jahrbuch 1885. Bd. X. pag. 214—330.
 - 112) Rabl, C. Theorie des Mesoderms. Morpholog. Jahrbuch. 1889. Bd. 15. pag. 113—253.
 - 113) Ranvier, L. Traité technique d'histologie. Paris 1875—79.
 - 114) Rathke, H. Entwicklungsgeschichte der Wirbelthiere. Leipzig 1861. pag. 41—50.
 - 115) Rauber, A. Ueber die Stellung des Hühnchens im Entwicklungsplan. Leipzig 1876.
 - 116) Rauber, A. Ueber den Ursprung des Blutes und der Bindesubstanzen. Sitzungsber. der Naturf.-Ges. zu Leipzig. 1877. Nr. 5, 6, 7.
 - 117) Rauber, A. Ueber die Entwicklung des Säugethierkörpers und die histologischen Systeme. Sitzungsberichte der Naturf.-Ges. zu Leipzig. 1883. pag. 13—38.
 - 118) Reichert, K. B. Das Entwicklungsleben im Wirbelthierreich. Berlin 1840. pag. 137—149.
 - 119) Remak, R. Untersuchungen über die Entwicklung der Wirbelthiere. Berlin 1850—1855.
 - 120) Renaut. Recherches sur les éléments cellulaires du sang. Arch. de physiol. 1881. T. 8, Nr. 5, pag. 649—671.

- 121) Renault. Traité d'histologie pratique 1889. pag. 149.
- 122) v. Recklinghausen, F. Ueber die Erzeugung der rothen Blutkörperchen. Arch. f. mikr. Anat. 1866. Bd. II. p. 137—139.
- 123) Rindfleisch, E. Ueber Knochenmark und Blutbildung. Arch. f. mikr. Anatomie 1879. Bd. 17, I, pag. 1—11 und II, III, p. 21—24.
- 124) Rollet, A. Entwicklung der Blutkörperchen. Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben. Wien 1871. pag. 303—305.
- 125) Romiti, G. Lezioni di embriogenia umana e comparata dei vertebrati. Siena 1881. pag. 118.
- 126) Roux, W. Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo. Zeitschr. für Biologie. 1885. Neue Folge. Bd. 3. pag. 435.
- 127) Rückert, J. Zur Keimblattbildung bei Selachiern. München 1885.
- 128) Rückert, J. Ueber die Anlage des mittleren Keimblattes und die erste Blutbildung bei Torpedo. Anat. Anzeig. 1887. Nr. 4 p. 97—112 u. Nr. 6 p. 154—176.
- 129) Rückert, J. Ueber die Entstehung der endothelialen Anlagen des Herzens und der ersten Gefäßstämme bei Selachierembryonen. Biolog. Centralbl. 1888. Bd. 8. Nr. 13.
- 130) Rückert, J. Zur Befruchtung des Selachiereies. Anat. Anzeig. 1891. Bd. 6. Nr. 11. p. 308—322.
- 131) Schällibaum, H. Beiträge zur mikrosk. Technik. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 1886. Bd. III, 2. pag. 209.
- 131 a) Schenk. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte. Wien 1874.
- 132) Schmidt, Al. Ueber die Beziehungen des Faserstoffes zu den farblosen und rothen Blutkörperchen und über die Entstehung der letzteren. Pflüger's Arch. 1874. Bd. 9. pag. 353—358.
- 133) Schneider, R. Neue histologische Untersuchungen über die Eisenaufnahme in den Körper des Proteus. Sitzungsberichte der Königl. preuss. Akademie 1890. II. p. 887—897.
- 134) Schöney, L. Ueber den Ossificationsprocess bei Vögeln und die Neubildung von rothen Blutkörperchen an der Ossificationsgrenze. Arch. für mikrosk. Anat. 1876. Bd. 12. pag. 243—253.
- 135) Schultz, C. H. Das System der Circulation in seiner Entwicklung. Stuttgart 1836. pag. 29—35 und 187—191.
- 136) Schwann, Th. Mikroskopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Structur und dem Wachsthum der Thiere und Pflanzen.
- 137) Schwink. Untersuchung über die Entwicklung des En-

- dothels und der Blutkörperchen bei Amphibien. *Morphol. Jahrb.* 1891. Bd. 17. pag. 312—333.
- 138) Semmer, G. Ueber die Faserstoffbildung im Amphibien- und Vogelblut und die Entstehung der rothen Blutkörperchen der Säugethiere. *Dorpat* 1874.
- 139) Spee, F. Graf. Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter lückenloser Schnittserien mit Hülfe von Schnittbändern. *Zeitschrift für wiss. Mikrosk.* 1885. Bd. II. pag. 7—12.
- 140) Strahl, H. Die Dottersackwand und der Parablast der Eidechse. *Zeitschr. für wiss. Zool.* 1887. Bd. 45. pag. 282 bis 307.
- 141) Stricht, O. van der. Le développement du sang dans le foie embryonnaire. *Arch. de biologie* 1891. T. 11. F. 1. pag. 19—113.
- 142) Stricker, S. Bau und Leben der capillaren Blutgefässe. *Sitzungsberichte der K. Akad. der Wissensch.* Wien 1866. Bd. 52, Abth. II, H. 8, pag. 379—394.
- 143) Stricker, S. *Handbuch der Lehre von den Geweben.* Wien 1871. p. 1218—1221.
- 144) Swaen, A. Etude sur le développement des fouilles et des premiers ilots sanguins dans le blastoderme de la torpille. *Bulletins de l'académie de Belgique* 1885. 3me sér. pag. 385—414.
- 145) Teichmann, L. Ueber die Krystallisation der organischen Bestandtheile des Blutes. *Zeitschr. für ration. Medic.* 1853. Neue Folge. Bd. III. p. 375—388.
- 146) Uskow, N. Die Blutgefässkeime und deren Entwicklung bei einem Hühnerembryo. — *Mémoires de l'acad. imp. de sciences.* St. Petersburg. 1887. T. 35.
- 147) Valentin, G. Zur Entwicklung der Gewebe des Muskels des Blutgefäss- und des Nervensystems. *Archiv für Anatomie und Physiologie von Müller.* 1840. p. 194—235.
- 148) Valentin, G. *Handbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen.* Berlin 1835. pag. 278—298.
- 149) Vasilin, C. Sur la moëlle osseuse comme organe de formation des globules rouges du sang. — *Analyse d'une thèse de Bucarest dans Journ. de l'anat. et de la physiol.* 1883. T. 19 Nr. 6. pag. 239.
- 150) Virchow, H. Ueber das Epithel des Dottersackes im Hühnerci. *Berlin* 1885.
- 151) Virchow, H. Ueber die Einwirkung des Lichtes auf Gemische von chromsauren Salzen etc. *Arch. f. mikr. Anat.* 1885. Bd. 24. p. 117—119.
- 152) Vossius. Mikrochemische Untersuchungen über den Ursprung des Pigments in den melanotischen Tumoren des Auges. *Graefe's Arch. f. Ophthalm.* 1885. Bd. 31. pag. 161—204.

- 153) Vulpian. De la régénération des globules rouges du sang. chez les grenouilles, à la suite d'hémorrhagies considérables. Comptes rendus 1877. Bd. 84. Nr. 33. pag. 1279.
- 154) Waldeyer. Bemerkungen über die Keimblätter und den Primitivstreifen bei der Entwicklung des Hühnerembryo. Zeitschr. für rationelle Medic. 1869. 3te Reihe. Bd. 34. pag. 159—178.
- 155) Waldeyer, W. Archiblast und Parablast. Arch. für mikr. Anat. 1883. Bd. 22. pag. 1—77.
- 156) Weber, E. H. Ueber die Bedeutung der Leber für die Bildung der Blutkörperchen der Embryonen. Brief an Kölliker. Zeitschr. f. ration. Med. 1846. Bd. IV. p. 160—167.
- 157) Wenckebach, K. F. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Knochenfische. Archiv f. mikr. Anat. 1886. Bd. 28. pag. 225—257.
- 158) Wissozky, N. Ueber Eosin als Reagens auf Hämoglobin und die Bildung von Blutgefässen und Blutkörperchen bei Säugethier- und Hühnerembryonen. Arch. f. mikrosk. Anatomie 1877. Bd. 13. pag. 479—497.
- 159) Wolff, C. Fr. Theorie von der Generation. Berlin 1764. pag. 263.
- 160) Wolff, C. Fr. Theoria generationis. Halle 1774. p. 103.
- 161) Wolff, W. Ueber die Keimblätter des Huhnes. Arch. f. mikr. Anat. 1882. Bd. 21. pag. 45—64.
- 162) Zaleski, S. S. Studien über die Leber. I. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1886. Bd. 10. H. 6. p. 453—502.
- 163) Zaleski, S. S. Die Vereinfachung von makro- und mikrochemischen Eisenreactionen. Zeitschr. für physiol. Chemie. 1890. Bd. 14. pag. 274—282.
- 164) Ziegler, H. E. Die Entstehung des Blutes bei Knochenfischembryonen. Arch. f. mikr. Anatomie 1887. Bd. 30. pag. 596—665.
- 165) Ziegler, H. E. Die Entstehung des Blutes der Wirbelthiere. Berichte der Naturforsch.-Ges. zu Freiburg 1889. Bd. IV, H. 5.
- 166) Ziegler, H. E. und Ziegler, F. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von Torpedo. Arch. f. mikrosk. Anat. 1892. Bd. 39. pag. 56—101.
- 167) Zinoffsky, O. Ueber die Grösse des Hämoglobinmoleküls. Dorpat 1885.
- 168) Mehnert. Entwicklungsgeschichte der Emys lutaria taurica. Schwalbe's anat. Arbeiten. 1891.

Erklärung zu den Abbildungen.

- Fig. 1.** Unbebrütete Keimscheibe vom Huhn. Nat. Grösse. Ansicht von oben. PtCl_4 0,1%. Eisenreaction. *ap.* = Area pellucida; *kw.* = Keimwall; *s* = durchsichtiger Saum um den Keimwall herum.
- Fig. 2.** Längsschnitt (7,5 μ dick) durch eine unbebrütete Keimscheibe. PtCl_4 0,1%. Eisenreaction. Hartnack Obj. II Oc. 1. *ok.* = obere Keimschicht; *kw.* = Keimwall; *m* = Megasphären.
- Fig. 3.** Keimscheibe 40 Stunden bebrütet von oben gesehen. Nat. Grösse. Eisenreaction des frischen Präparates. Glycerineinschluss. Embryo mit 10 Ursegmenten. Die *Venae omphalo-mesentericae* sichtbar. *ap.* = Area pellucida; *av.* = Gefässhof; *kw.* = Keimwallgegend; *es.* = Ectodermsaum.
- Fig. 4.** Querschnitt durch eine Keimscheibe mit 10 Ursegmenten, 39½ Stunden bebrütet. Pikrinsäure, Eisenreaction. Hartnack Obj. II, Oc. 1. *b* ist die direkte Fortsetzung von *a*. *Mr.* = Medullarrinne; *ch.* = Chorda; *u.* = Urwirbel mit Seitenplatte; *a.* = Aorta; *ec.* = Epiblast; *en.* = Hypoblast; *g.* = Blutgefässe; *b.* = Blutzellen; *m.* = Megasphären; *kw.* = Keimwall; *gd.* = gelber Dotter.
- Fig. 5.** Typische Megasphäre. *k.* = Kügelchen, die Eisenreaction aufweisen; *st.* = Gerüst. Leitz Obj. VII, Oc. 3.
- Fig. 6.** *a.* und *b.* Schnitte durch das isolirte Gerüst. Leitz Obj. III, Oc. 3. *a.* Der 4. Schnitt (5 μ Dicke) vor *b.* PtCl_4 0,3%.
- Fig. 7.** Aus einer Keimscheibe mit 14 Ursegmenten, 41 Stunden bebrütet. 3% HgCl_2 -Lösung; Eisenreaction in den Megasphären und den Blutkörperchen. Reichert, Obj. IV *b.*, Oc. 4. *g.* = Blutgefässe; *b.* = Blutkörperchen; *b'* = Blutkörp. mit Eisenreaction; *m.* = Megasphären; *en.* = Hypoblastzellen.
- Fig. 8.** Blutgefäss mit Hypoblastschicht aus einer 44½ Stunden bebrüteten Keimscheibe. Pikrinsäure. Eisenreaction. Alauncarmin. Leitz, Obj. VII, Oc. 3. *m.* = Megasphären mit den braungelben Körnchen; *me.* = Megasphäre, die von einer Hypoblastzelle aufgenommen wird. Um den Kern herum viele mit Karmin gefärbte Körnchen; *b.* = Blutkörperchen; *bm.* = Blutkörp. in Theilung begriffen; *e.* = Endothelzellen; *en.* = Hypoblastzellen mit Fortsätzen.

Alle Schnitte wurden mit dem Zeichenapparat von Nachet in der Höhe des Objekttisches gezeichnet.

Fig. 1.



Fig. 2.

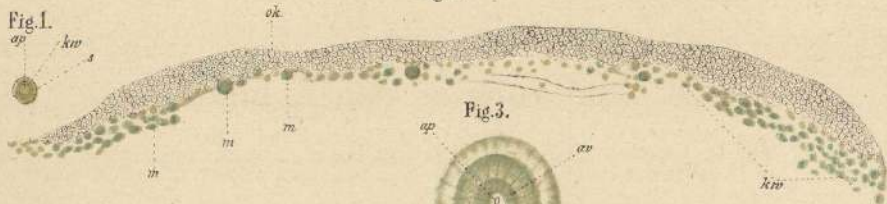


Fig. 3.



Fig. 4.

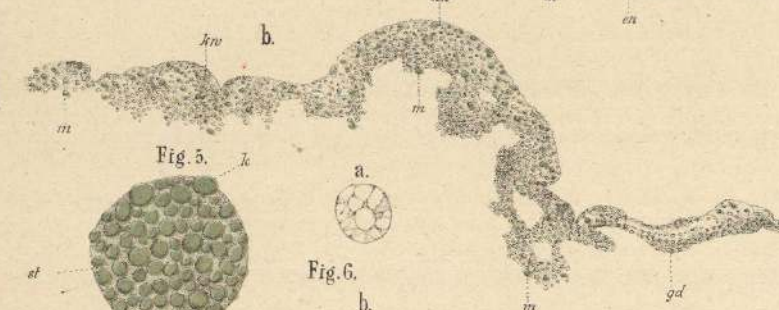


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 8.

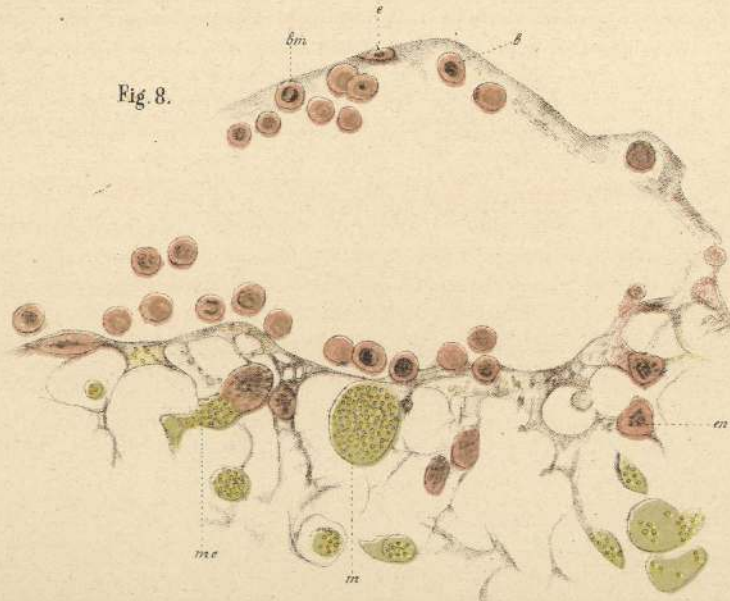


Fig. 7.



Inhaltsverzeichnis.

Einleitung	7
A. Geschichtliches	8
B. Eigene Untersuchungen:	
1. Methoden der Untersuchung	17
2. Mikroskopische und mikrochemische Befunde	22
Résumé	34
Literaturverzeichnis	36
Erklärung der Abbildungen	48
Thesen	48

Thesen.

1. Die Megaspähren (His) haben eine Beziehung zur Blutbildung.
2. Die Theorie eines specifischen Ursprungs der verschiedenen Gewebsarten verliert fortwährend an Boden.
3. Es giebt keine Kriterien zur Bestimmung des Alters von Hühnerembryonen in frühen Stadien der Entwicklung.
4. Vor dem Beginn einer Chloroformnarkose ist die Auskultation der Lungen wichtiger, als die des Herzens.
5. Der Mangel von Findelhäusern ist Ursache der sog. Engelfabrikation.
6. Die rudimentäre Entwicklung der weiblichen Brustdrüse beruht auf einer vererbten Inactivitäts-Atrophie.



12703