

# Über den feineren Bau und die Entwicklung des Knorpelgewebes und über verwandte Formen der Stützsubstanz.

II. Teil.

Von

Josef Schaffer (Wien).

Mit Tafel XII—XIV.

## 2. Das Knorpelgewebe und das knorpelähnliche, blasige Stützgewebe von *Myxine glutinosa*, nebst Bemerkungen zur Morphologie des Schädel skelettes dieses Tieres und einem Nachtrage über das harte Knorpelgewebe der Petromyzonten.

Unsre Kenntnisse über die Skelettgewebe von *Myxine* sind noch sehr dürftige. So viel ich aus der mir zugänglichen Literatur ersehen konnte, liegen genauere histologische Untersuchungen über diesen Punkt — mit Ausnahme der seither erschienenen Mitteilungen von STUDNICKA — überhaupt nicht vor.

J. MÜLLER<sup>1</sup> unterschied im Skelett der Myxinoiden »Knochen von sehr festem Gefüge und gelber Farbe« und »weichere, graue Knorpel«, die er auch als »zellige« bezeichnete.

VALENCIENNES<sup>2,3</sup> hat bereits erkannt, daß der gelbe Knorpel der *Myxine* eine höhere Entwicklungsstufe zeigt, als der von *Petromyxon*. Er bildet je einen Schnitt durch den Rand (3, Taf. XXIV, Fig. 3) und die Mitte (Fig. 4) »des Unterkiefers« von *Myxine* ab und bemerkt dazu, daß die »Zellen« am Rande nicht polygonal, sondern mehr rautenförmig oval sind, während die Mitte überhaupt keine Zellgrenzen mehr erkennen läßt.

<sup>1</sup> Vergleichende Anatomie der Myxinoiden. Abhandl. d. kgl. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1834. S. 113 u. 133.

<sup>2</sup> Recherches sur la structure et la nature du tissu élémentaire des cartilages. Compt. Rend. Acad. Sc. Paris. T. XIX. 1844.

<sup>3</sup> Recherches sur la structure et la nature du tissu élémentaire des cartilages des poissons et des mollusques. Arch. du Muséum. T. V. 1851. p. 505—528.

Etwas genauer, als J. MÜLLER, sonderte W. K. PARKER<sup>1</sup> die skelettbildenden Gewebe, ohne jedoch auf ihren feineren Bau näher einzugehen, in: 1) festen, grünlichen Knorpel, der nur bei diesen Fischen und bei *Petromyxon* vorkommt und als besondere Ablagerung in der weicheren Art auftreten soll, 2) weichen Knorpel, der farblos ist, wenig Zwischensubstanz besitzt und an manchen Stellen unmerklich, an andern plötzlich in den harten Knorpel übergeht, 3) ein elastisches, schwammiges Gewebe, erfüllt von großen Blasen, ein wenig dichter als das Gewebe der Chorda, und 4) ein weißes fibröses Gewebe, oft außerordentlich fest und derb, das PARKER als Faserknorpel (fibro-cartilage) bezeichnet.

KÖLLIKER<sup>2</sup> führt die gelben Knorpel von *Myxine* mit denen von *Petromyxon* als Beispiele für einen Knorpel an, in dem die Zwischensubstanz einzig und allein von den Knorpelkapseln aufgebaut wird.

BURNE<sup>3</sup> schildert die von ihm beschriebenen Knorpel an den Kiemenausführungsgängen als »schwach und weich mit spärlicher Kittsubstanz zwischen den Zellen« und er stellt dieselben dem Kiemenknorpel oder dem parachordalen Knorpel von *Petromyxon* gleich.

STUDNÍČKA<sup>4</sup> hat sich in seinen, nach Abschluß meiner Untersuchungen erschienenen Mitteilungen auch eingehender, als die bisherigen Autoren mit dem Knorpel- und Stützgewebe von *Myxine* beschäftigt. Die Anschauungen, zu denen er gekommen ist, weichen teilweise von den meinigen ab, wie ich bereits hervorgehoben habe<sup>5</sup>; ich habe daher — mit Ausnahme der später zu besprechenden Kapselfrage — keine Veranlassung, an den folgenden Mitteilungen wesentliche Änderungen vorzunehmen. Die wichtigsten Ergebnisse der Untersuchung STUDNÍČKAS seien jedoch hier kurz zusammengefaßt vorangestellt.

Wie ich bei *Ammocoetes*, so findet STUDNÍČKA auch bei *Myxine* zwei, durch ihr mikrochemisches Verhalten ziemlich deutlich voneinander abgegrenzte Arten von Knorpelgewebe: einen mit Hämalun, Hämatoxylin-Tonerde usw. sich intensiv färbenden, den er als »Parenchymknorpel« bezeichnet, und einen »gelben« Knorpel, der sich diesen Farbstoffen gegenüber ablehnend verhält und der gewöhnlich den Typus des Hyalinknorpels besitzt. Der blau sich

<sup>1</sup> On the Skeleton of the Marsipobranch Fishes. Philosoph. Trans. 1883. p. 375.

<sup>2</sup> Gewebelehre. 6. Aufl. I. Bd. 1889. S. 113.

<sup>3</sup> On the presence of a branchial basket in *Myxine glutinosa*. Proceed. Zool. Soc. London 1902. p. 708.

<sup>4</sup> Arch. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 606.

<sup>5</sup> Arch. mikr. Anat. Bd. L. S. 170.

färbende Knorpel zeigt nicht so rein den Typus des »Parenchymknorpels«, wie bei *Petromyxon*, indem die Grenzen der Kapseln nicht immer sichtbar sind, sondern öfter zu einem einheitlichen Septum verschmelzen. Auch geht dieser Knorpel oft in den »gelben« über; an einzelnen Stellen grenzt er direkt an die Füllgewebe des Körpers.

Im »gelben« Knorpel kann man von Knorpelkapseln gewöhnlich nichts wahrnehmen — seither hat sie auch STUDNICKA »an stärker gefärbten« Präparaten gesehen<sup>1</sup>. Daneben beschreibt er jetzt auch eine innerste, blau sich färbende Knorpelkapsel, die er in seiner ersten Mitteilung<sup>2</sup> irrtümlich mit der rot färbbaren inneren Zone der Knorpelkapsel, welche ich auf Grund ihres besonderen, mikrochemischen Verhaltens allein als »Knorpelkapsel« aufgefaßt hatte, identifiziert hat. Dieselbe soll hier fast überall deutlich zu sehen und viel stärker als bei *Petromyxon* sein. Was die topographische Anordnung der beiden Knorpelarten anlangt, so verweist STUDNICKA auf die Bilder von PARKER.

Außer diesen beiden Knorpelarten findet sich bei *Myxine* noch ein »Vorknorpel«, der einen ziemlich selbständigen Gewebetypus bildet, dem jedoch sowohl die morphologischen wie mikrochemischen Eigenschaften eines Knorpels vollkommen fehlen<sup>3</sup>. Er besteht aus einem »Perichondrium«, von dem senkrecht Fasern und dünne Platten in das Innere ziehen, zwischen denen große Zellen liegen. Diese Zellen bilden, »da sie immer eine festere Membran haben«, ein wirkliches Parenchymgewebe. Die Septen zwischen diesen Zellen scheinen STUDNICKA nur von einer einfachen Wand gebildet. Endlich findet sich bei *Myxine* im Kopfe weitverbreitet, besonders um die Basis der Tentakelknorpel ein lockeres Bindegewebe, das aus weit auseinander liegenden, verästelten, nackten Zellen mit feinen, fadenförmigen Ausläufern besteht, zwischen denen feine Bindegewebsfasern in verschiedenen Richtungen verlaufen. Dieses Gewebe stößt oft direkt an »blauen« Knorpel und seine Zellen können direkt verknorpeln. Vielfach gehen am Rande des *Myxine*-Knorpels faserige Gebilde in die Grundsubstanz desselben über.

Zu dieser Darstellung STUDNICKAS habe ich in der angeführten Mitteilung Stellung genommen, ohne selbst weiter auf den Gegenstand einzugehen.

Die in neuester Zeit erschienene Abhandlung von NEUMAYER<sup>4</sup> über das Kopfskelett von *Myxine glutinosa* ist rein morphologischer Natur und geht auf den feineren Bau der Skelettstücke nicht ein. Dagegen bemerken AYERS und JACKSON<sup>5</sup> bei Besprechung des dritten Abschnittes der »Basalplatte«, d. i. des Zungenbeinkieles von JOH. MÜLLER, daß derselbe (bei *Bdellostoma*) offenbar nicht ein echter Knorpel ist, sondern aus einer knorpelartigen Modifikation der Sehne

<sup>1</sup> Die Knorpelkapseln usw. Anat. Anz. XIV. Bd. 1898. S. 287.

<sup>2</sup> l. c. S. 616

<sup>3</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 638.

<sup>4</sup> Zur vergleichenden Anatomie des Kopfskelettes von *Petromyxon Planeri* und *Myxine glutinosa*. Münchner med. Abhandl. VII. R. 7. H. 1898.

<sup>5</sup> Morphology of the Myxinoidei. I. Skeleton and musculature. Journ. of Morphol. Vol. XVII. 1900.

des Musculus constrictor besteht. Er erscheint weiß an Formalinpräparaten und sticht so deutlich von den vorderen rötlichen Knorpelstücken ab. Histologisch besteht er aus einem sehr eigentümlichen Gewebe, welches viel eher an das der Chorda erinnert, als an das Knorpelgewebe des übrigen Skelettes.

Im folgenden gebe ich nun meine eignen Untersuchungen wieder, wie ich sie bereits vor dem Erscheinen der besprochenen Arbeit STUDNIČKAS niedergeschrieben und im Laufe der Jahre ergänzt habe<sup>1</sup>. Dieser lange Zeitraum, während welches ich genötigt war, meine Untersuchungen wiederholt zu unterbrechen und neu aufzunehmen, hat vielleicht eine gewisse Ungleichmäßigkeit in der Darstellung, sicher aber in den Abbildungen zur Folge gehabt, für die ich um Nachsicht bitten muß.

Untersucht man das Schädel- und Kiemenskelett von *Myxine* in ähnlicher Weise, wie ich dies bei *Ammocoetes* und *Petromyxon* getan habe, so findet man auch hier im wesentlichen drei verschiedene Arten von knorpeligem Stützgewebe, deren histologische und mikrochemische Verschiedenheit ähnlich, wie bei *Ammocoetes* in einer gewissen Beziehung zur Funktion der betreffenden Gewebe zu stehen scheint. Jedoch sind die Verhältnisse lange nicht so durchsichtig und einfach wie bei *Ammocoetes*. Wir kennen bis heute die Jugendstadien von *Myxine* nicht, sind daher auch nicht imstande die Entwicklung des Skelettes zu verfolgen, wie bei *Petromyxon*. Wohl aber können wir aus den histologischen Verhältnissen des fertigen *Myxine*-Skelettes einige bestimmte Rückschlüsse auf das Verhalten und die Bildung des Skelettes bei der unbekanntenen Jugendform machen, und da glaube ich vor allem behaupten zu können, daß das Skelett von *Myxine* aus einer ungleich größeren Anzahl getrennter Anlagen hervorgeht, als das von *Petromyxon*, und daß im Skelett der *Myxine*, im Gegensatz zu dem von *Petromyxon*, ein larvales Skelett nicht eingeschlossen ist.

Nicht unwahrscheinlich scheint mir endlich nach den histologischen Befunden, daß auch *Myxine* einst ein Kiemenskelett, ähnlich wie *Petromyxon* besessen hat, als dessen Überreste ich die Knorpelgerten des Gaumen-Schlundrahmens, sowie gewisse rudimentäre

<sup>1</sup> Das Material zu diesen Untersuchungen verdanke ich größtenteils der besonderen Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. GUSTAV RETZIUS, dem ich auch hier meinen herzlichen Dank dafür aussprechen möchte. Für einige kleinere Exemplare von *Myxine* bin ich Herrn Prof. H. BRAUS zu besonderem Danke verpflichtet.

Knorpelstückchen im Bereiche der jetzigen Kiemensäcke betrachten möchte. Jedenfalls zeigt das Skelett von *Myxine* viel bedeutendere Rückbildungen, als das der Petromyzonten. Eine nähere Einsicht in die Art dieser Rückbildungen können wir nur von der Kenntnis der Ontogenese und genauen Beobachtungen über die Lebensweise des Tieres erwarten, zwei Punkte, die bis jetzt noch in Dunkelheit gehüllt sind.

Seit ich diese Bemerkungen, die nur auf Grund des histologischen Vergleiches zwischen dem Skelette von *Petromyzon* und *Myxine* gemacht wurden, niedergeschrieben habe, ist die hochinteressante Mitteilung von G. C. PRICE, »Zur Ontogenie eines Myxinoiden (*Bdellostoma Stouti*, LOCKINGTON)« (Sitzungsber. d. k. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. XXVI. 1896. S. 69) erschienen. Dieser glückliche Fund dürfte viel zur Aufklärung der oben angeregten Fragen beitragen. Nach den Angaben von PRICE dürfen wir jetzt schon eine Rückbildung von Kiemensäcken in der jetzigen Region des Schlundrahmens bei *Myxine* annehmen, wodurch meine Vermutung über die ursprüngliche Bedeutung desselben eine Stütze erhalten würde. Weiters wird der, aus dem Mangel eines larvalen Skelettes zu ziehende Schluß, daß *Myxine* kein *Ammocoetes*-ähnliches Larvenstadium durchmacht, wie dies BEARD<sup>1</sup> aus Beobachtungen über den Zahnwechsel der Tiere schließen zu müssen glaubte, von PRICE ebenfalls, aber aus Gründen ontogenetischer Natur aufgestellt. An diese ersten Beobachtungen über die Ontogenese eines Myxinoiden schlossen sich seither eine Reihe anderer Mitteilungen an, unter denen die von B. DEAN<sup>2</sup> und C. v. KUPFFER<sup>3</sup> am bedeutungsvollsten sind. Die Befunde DEANS, ein Kiemenskelett betreffend, scheinen allerdings gegen meine oben ausgesprochene Vermutung zu sprechen, daß der Gaumenschlundrahmen als Rest desselben aufzufassen sei. DEAN fand vielmehr bei Embryonen von *Bdellostoma* zu keiner Zeit Bildungen, die unmittelbar mit Visceralbogen vergleichbar wären. »Die verschiedenen Skelettelemente, welche bei älteren Embryonen in der hinteren Kopffregion auftreten, sind wahrscheinlich Neubildungen, die in besonderer Beziehung zu den Muskeln der Tentakel und der Zunge stehen. Diese Elemente erscheinen sicher erst dann, wenn die Kiemenspalten aus ihrer Nachbarschaft vollkommen verschwunden sind.« Allerdings blieben dann noch die Knorpelstückchen in der Kiemensregion des erwachsenen Tieres, jene, die gemeinsamen Kiemenausführungsgänge nahe ihrer Mündung halbrinnenförmig umgreifenden Knorpel, welche bereits BURNE<sup>4</sup> genauer beschrieben und als unzweifelhafte Reste eines aufs Minimum reduzierten Kiemenkorb gedeutet hat. Weiters der bereits J. MÜLLER bei *Bdellostoma* bekannte, von BURNE auch für *Myxine* beschriebene Knorpel in der Wand des Ductus oesophago-cutaneus; ich konnte bei letzterer auch an der rechten

<sup>1</sup> Notes on Lampreys and Hags (*Myxine*). Anat. Anz. Bd. VIII. 1893. S. 59.

<sup>2</sup> On the embryology of *Bdellostoma stouti*. Festschr. f. C. v. KUPFFER. Jena 1899. S. 221.

<sup>3</sup> Studien zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte des Kopfes der Cranioten. 4. H. Zur Kopfentwicklung von *Bdellostoma*. München u. Leipzig 1900.

<sup>4</sup> 1. c. S. 706.

Seite des Oesophagus ein symmetrisch gelegenes Knorpelrudiment nachweisen. Endlich die von AYERS und JACKSON<sup>1</sup> bei *Bdellostoma* beschriebenen Knorpelreste in den Wänden der äußeren Kiemengänge, welche die Autoren als Homologa des Kiemenkorbcs der Petromyzonten auffassen. AYERS und JACKSON halten übrigens, auch auf Grund der Angaben von PRICE, das Schlundriemenwerk ebenfalls für das Skelett einer Reihe umgewandelter Kiemenbogen.

Zweifellos geht aus DEANS Untersuchungen auch hervor, daß ein *Ammocoetes*-ähnliches Larvenstadium bei den Myxinoiden nicht vorhanden ist.

### A. Das harte oder gelbe Knorpelgewebe.

Wie die Schädelknorpel von *Ammocoetes* wird bei *Myxine* das unbewegliche Stützgerüst des Schädels von einem festen, starren, und relativ an Grundsubstanz reichen Knorpelgewebe gebildet, das J. MÜLLER als »Knochen von sehr festem Gefüge und gelber Farbe« bezeichnet hat<sup>2</sup>.

Diese gelbe Färbung haftet, wie man sich an Durchschnitten überzeugen kann, nur an einer oberflächlichen Rindenzone und dürfte, wie ich dies für die Petromyzonten gezeigt habe<sup>3</sup>, von einer postmortalen Imbibition mit Blutfarbstoff herrühren, daher am frischen Knorpel fehlen.

Färberisch zeigt dieses harte Knorpelgewebe, ähnlich wie die Schädelknorpel von *Ammocoetes* und *Petromyzon*, eine, besonders im Vergleich mit dem weichen Knorpelgewebe sehr ausgesprochene Oxyphilie, und färbt sich bei der gewöhnlichen Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin lebhaft mit Eosin. Allerdings reicht diese Doppelfärbung in der Weise, wie sie gewöhnlich ausgeführt wird — Vorfärbung mit Hämalaun, starke Überfärbung mit Eosin und Entziehen des Überschusses mit 95%igem Alkohol — nicht aus, um über die Farbenaffinität der einzelnen Teile der Intercellularsubstanz Aufschluß zu geben.

Bei vorsichtig angestellten Färbeversuchen an uneingebetteten Schnitten des einfach in Alkohol erhärteten Knorpels zeigt derselbe ein Verhalten, welches mit meiner bisher vom harten Schädelknorpel der Petromyzonten gegebenen Schilderung nicht übereinstimmt.

Ich muß hier aber sogleich bemerken, daß eine erneute Untersuchung dieses Objektes mittels empfindlicher Methoden die prinzipielle Übereinstimmung im färberischen Verhalten zwischen hartem

<sup>1</sup> Morphology of the Myxinoidei. Bull. of the University of Cincinnati. S. II. Vol. I. Dec. 1900 und l. c.

<sup>2</sup> l. c. S. 105.

<sup>3</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 619.

Schädelknorpel der Neunaugen und dem von *Myxine* ergeben hat, worauf ich noch zurückkomme. Immerhin bleiben im einzelnen, besonders aber im feineren morphologischen Aufbau bedeutende Unterschiede gegenüber dem harten Knorpel der Petromyzonten bestehen, so daß die Zusammenstellung des harten Knorpelgewebes beider Tiergruppen als Typus eines Knorpels »ohne Grundsubstanz« kaum gerechtfertigt erscheint.

Leicht erkenntlich tritt die Übereinstimmung in färberischer wie morphologischer Richtung zwischen dem harten Knorpel von *Myxine* und dem, welchen ich an der Oberfläche der Flossenstrahlen von *Petromyzon marinus* beschrieben habe<sup>1</sup>, hervor; wie dieser bildet er eine Übergangsstufe zum typischen Hyalinknorpel der höheren Tiere. Diese Zwischenstellung des harten Myxinoidenknorpels hat bereits JOH. MÜLLER (1834) erkannt, indem er bei der Schilderung der Unterschiede zwischen hartem und weichem Knorpel hervorhebt, daß ersterer eine auf feinen Durchschnitten hyalinisch aussehende Grundsubstanz besitzt, in der ovale Knorpelkörperchen zerstreut sind<sup>2</sup>. Wie wir sehen werden, trifft dies nur für die oberflächlichen Lagen des harten Knorpels zu.

Bei aller Ähnlichkeit, welche der harte Knorpel von *Myxine* im Reichtum und der gleich zu besprechenden Gliederung seiner Grundsubstanz mit dem Hyalinknorpel höherer Tiere zeigt, läßt er aber seine tiefere Stufe noch an dem Verhalten der Zellen erkennen. Dieselben zeigen nicht den hohen und charakteristischen Grad von Empfindlichkeit gegenüber chemischen Reagentien; an Knorpeln, die in toto in Alkohol, Formalin oder MÜLLERScher Flüssigkeit konservierten Tieren entstammen, füllen die Zellen vielfach ihre Höhlen noch vollständig aus (Fig. 1, 2, 6).

Eine stärkere Loslösung von der Kapselwand glaube ich an Pikrinsublimatmaterial zu sehen. Das Protoplasma der Zellen zeigt einen ziemlich grobwabigen oder schwammigen Bau, mit teilweise radiär vom Kern gegen die Kapsel ziehenden Strängen oder flächenhaften, dann von zahlreichen kleinen und größeren Lücken durchbrochenen Bildungen, die besonders an Zellen im Beginne der chondromucoiden Umwandlung (siehe weiter unten) deutlich hervortreten (Fig. 9 *W*). Unabhängig vom Strang-Wabenwerk des Protoplasmas finde ich an Schnitten aus Alkohol, die mit Methylenblau (rectifiziertem oder polychromen, Toluidinblau, Methylviolett) gefärbt waren,

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 161 ff.

<sup>2</sup> l. c. S. 133.

stets eine geringere oder größere Anzahl feinster oder größerer basophiler Kügelchen im Zelleib zerstreut (Fig. 9, 10).

Der Kern oder die häufig doppelten Kerne besitzen bläschenförmige Gestalt, deutliche Kernmembran, und letzterer oder dem Kerngerüst angelagert eine wechselnde Anzahl von Chromosomen.

Betrachtet man einen Querschnitt durch den vorderen oder mittleren Teil des sog. Zungenbeins, welches die mächtigste Masse dieses harten Knorpels darstellt, und sich daher für die Untersuchung besonders eignet, so kann man an demselben eine mittlere, eine von derselben nicht scharf getrennte äußere, und eine ganz oberflächliche, dünne, Appositionszone unterscheiden. Für die Beschreibung scheint es mir zweckmäßig, diese drei Zonen zunächst gesondert zu besprechen.

Die Mitte findet man gebildet von sehr großen und verhältnismäßig dicht gedrängten Zellen, deren Form jedoch überwiegend eine ovale oder abgerundete ist, weshalb die zwischen ihnen gelegene Grundsubstanz auch nicht den Eindruck des regelmäßigen, starren Balkengerüstes mit polygonalen Maschenräumen macht, wie dies beim Schädelknorpel der Neunaugen der Fall ist (Fig. 23 *nK*). Dagegen erscheinen in diesen Mittelpartien die Grenzen der Zellhöfe und -bezirke oft ungemein scharf ausgeprägt, bereits am ungefärbten Schnitt deutlich als schwächer lichtbrechende schmale Scheidewände hervortretend, welche in den Knotenpunkten zu reichlicheren, zwickelförmigen Kittsubstanzmengen zusammenfließen (Fig. 1 *IT*). In den axialen Teilen der mächtigsten harten Knorpelstücke, z. B. der vorderen Seitenstücke des sog. Zungenbeins von größeren Exemplaren erreichen diese Zwickel eine ganz beträchtliche Größe und stehen untereinander durch breitere Züge in Verbindung, so daß diese interterritoriale Substanz die Hauptmasse der ganzen Grund- oder Intercellularsubstanz ausmacht (Fig. 2 *IT*). Sämtliche Scheidewände bilden wieder ein zusammenhängendes Alveolenwerk, in dessen Lücken die Zellen mit ihrer umgebenden, hyalinen Circumcellularsubstanz eingelagert erscheinen. Diese macht am ungefärbten Schnitt durch ihr stärkeres Lichtbrechungsvermögen den Eindruck mächtiger, dicker Kapseln (Fig. 1 *K* + *IAH*). Färbt man jedoch einen Freihandschnitt durch dieses Knorpelgewebe kurz (eine Minute) mit 1%iger wässriger Eosinlösung, so findet man nach Entwässerung mit Alkohol und Aufhellung mit Nelkenöl die scheinbare Kapsel zerlegt in eine wirkliche Kapsel (Fig. 5 *K*), welche intensiv rot gefärbt erscheint und in einen breiteren circumcapsulären Zellhof, der farblos geblieben ist

(Fig. 5 IAH) und durch die ebenfalls gefärbte interterritoriale Substanz *IT* von den benachbarten Zellhöfen getrennt wird. Diese Sonderung der Kapsel vom Zellhof mittels der raschen Eosinfärbung, welche ich bereits bei der Untersuchung des *Ammocoetes*-Knorpels verwendet habe<sup>1</sup>, tritt stets mit der Sicherheit und Schärfe einer chemischen Reaktion ein; bei lang dauernder Färbung mit Eosin färbt sich, wie schon erwähnt, die ganze Grundsubstanz rot, auch wenn der Knorpel mit Hämalaun vorgefärbt worden war. Bei der Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Pikrinsäure, besonders, wenn man nach der Vorfärbung mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde längere Zeit in Brunnenwasser auswäscht, nimmt die Grundsubstanz bis an die Zellen die Gelbfärbung mit Pikrinsäure an, und ebenso färbt sie sich gelb bei der Doppelfärbung mit Tropäolin-Methylviolett, blau in 5%igem indigschwefelsaurem Natron nach MÖRNER. Dieses Verhalten scheint nach der jetzt geläufigen Vorstellung die Annahme zu rechtfertigen, daß die gesamte Intercellularsubstanz, also auch die Kapsel im harten Knorpel von *Myxine oxyphil* sei. Dies habe ich auch so lange geglaubt<sup>2</sup>, als ich die Knorpel hauptsächlich an gefärbten Schnittserien untersuchte, weshalb ich auch die von STUDNICKA<sup>3</sup> beschriebene »blaue«, d. h. mit Hämatoxylin sich färbende Kapsel als eine regressive zu erklären versuchte<sup>4</sup>.

Weitere Untersuchungen haben mich jedoch zu der Überzeugung geführt, daß die der Zelle zunächst gelegene Schicht der Grundsubstanz im harten Knorpel der *Myxine* ein ganz eigentümliches Verhalten zeigt, so daß man je nach der Art der angestellten Färberversuche dieser Kapsel bald einen oxyphilen, bald einen basophilen Charakter zusprechen könnte.

Wie mit Eosin läßt sie sich bei kurz dauernder, regressiver Färbung auch mit andern sauren Anilinfarben scharf und isoliert hervorheben; so mit Säurefuchsin, Tropäolin 000, Goldorange, Metanilgelb, Methylblau, Bleu de Lyon usw.

Dasselbe gelingt aber auch, wie ich schon für den harten *Ammocoetes*-Knorpel bemerkt habe<sup>5</sup>, mit dem basischen Methylviolett und, wie ich jetzt sehe, mit einer Reihe andrer basischer Farben, wie z. B. mit Safranin, Anilinrot, Dahlia, Gentianaviolett, Diamantfuchsin;

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 621.

<sup>2</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. L. 1897. S. 176.

<sup>3</sup> Ebenda Bd. XLVIII. 1897. S. 615 u. Anat. Anz. Bd. XIV. 1898. S. 287 ff.

<sup>4</sup> Anat. Anz. Bd. XXIII. 1903. S. 536.

<sup>5</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 621.

am schwächsten — und das ist bemerkenswert — färbt sich bei dieser Methode die Kapsel mit Vesuvinbraun, Methylenblau, Toluidinblau und Thionin; mit diesem, welches nur in alkoholischer Lösung benutzt werden kann, stets auch verwaschen eine angrenzende Zone des Zellhofes. Die Technik dieser Färbung, welche mit den ersteren Farben sehr scharfe Bilder der Kapsel gibt, bleibt stets die gleiche; man bedient sich am besten 1%iger wässriger<sup>1</sup> Lösungen der Farbstoffe, bringt die uneingebetteten Schnitte von Alkoholmaterial auf 1 Minute bis  $\frac{1}{2}$  Stunde in dieselben und überträgt sie unmittelbar in 95%igen Alkohol, wo man sie so lange mit der Nadel schwenkt, bis keine gröberen Farbstoffwolken weggehen, hellt dann auf und schließt in Lack ein.

Das Ergebnis dieser Färbung sagt uns also nichts über den mikrochemischen Charakter, d. h. über die Säuren- oder Basenkapazität der Kapsel aus, man müßte ihr denn einen amphoteren Charakter zuschreiben. Die Färbbarkeit mit konzentrierteren sauren und basischen Farben scheint vielmehr nur auf einer besonderen physikalischen Beschaffenheit der Kapsel, nämlich darauf zu beruhen, daß sie als am wenigsten dichte Schicht den Farbstoff bei der kurzen Einwirkungsdauer am reichlichsten aufspeichert, während die übrige Grundsubstanz vermöge einer größeren Dichte in derselben Zeit keinen Farbstoff aufzunehmen vermag. Dafür spricht auch die geringe Widerstandsfähigkeit dieser Kapselfärbung gegen Alkohol. Besonders die Färbung mit basischen Farben ist in kurzer Zeit zerstört, die mit Eosin z. B. hält in Alkohol etwa 6 Stunden.

Um eine allenfalls vorhandene besondere Affinität der Kapsel zu Farbsalzen saurer oder basischer Natur festzustellen, habe ich daher in einer zweiten Versuchsreihe die Farben in stark dissociiertem Zustande, d. h. in starken wässrigen Verdünnungen durch längere Zeit auf die Schnitte einwirken lassen<sup>2</sup> und sowohl das Ergebnis

<sup>1</sup> Thionin muß in 50%igem Alkohol gelöst angewendet werden, da die wässrige Lösung mit den Knorpelschnitten zusammengebracht stets einen Niederschlag von spitzen Farbstoffnadeln gibt.

<sup>2</sup> Dafür, daß bei dieser Anwendungsweise der Farbstoffe chemische Vorgänge eine Rolle spielen, spricht folgende zufällige Beobachtung. Ich brachte Schnitte durch harten Knorpel in stark verdünntes Bleu II pour micrographie, einen sauren Farbstoff, den zuerst ZACHARIADES (C. R. de l'Assoc. des Anat. V. sess. Liège 1903, p. 74) für Bindegewebsfärbung empfohlen hat. Derselbe gibt eine scharfe, isolierte Färbung der Kapseln, wie ich schon erprobt hatte. In diesem Falle unterblieb auch nach dreitägigem Verweilen in der Flotte jegliche Färbung, obwohl die Flüssigkeit noch ihren bläulichen Ton hatte. Da entdeckte

dieser progressiven Färbung, als die Widerstandsfähigkeit derselben gegen Alkohol geprüft. Dabei ergab sich, daß sich die Kapsel auch durch die progressive Färbung mit vielen Anilinfarben, und zwar wieder sowohl mit sauren als basischen hervorheben läßt, nur erscheint sie nun nicht mehr allein gefärbt, sondern anschließend an die Kapsel, welche als stark gefärbter schmaler Saum erscheint, färbt sich meist eine breitere Zone des Zellhofs in schwächerem, nach außen sich allmählich verlierendem Tone mit. Dies ist der Fall mit Eosin, Bordeaux R, Thiazinrot, Thiazinbraun, Cörolein und Säurefuchsin; wenn man letzteres gleichzeitig mit Pikrinsäure anwendet, dann färbt sich die angrenzende Zone des Zellhofes ebenso stark, wie die Kapsel, so daß man an solchen Schnitten auffallend dicke Kapseln vor sich zu haben glaubt (Fig. 4). Die gelben Farbstoffe, Tropäolin, Orange G, Goldorange und Metanilgelb, sowie das indigschwefelsaure Natron färben den ganzen harten Knorpel nahezu gleichmäßig, ohne die Kapsel besonders hervortreten zu lassen.

Dagegen färbt Kongorot die Kapsel fast ohne Spur des angrenzenden Zellhofes; ebenso und noch schärfer das Methylblau. Diese letztere Färbung bleibt auch bei länger dauernder Alkoholbehandlung (18 Stunden) unverändert, so daß sie sich ausgezeichnet zur färberrischen Isolation der Kapsel eignet.

Deutlich tritt sie weiter hervor mit dem basischen Anilinrot, Dahlia, Gentianaviolett, Methylviolett, Chinolein, Rhodamin, Pyronin; nahezu vollkommen ablehnend verhält sich die Kapsel bei der progressiven Färbung mit Methylenblau, Thionin, Toluidinblau und Safranin; das sind gerade jene Farben, welche den Hyalinknorpel der höheren Tiere selbst bei stärkster Verdünnung stark und charakteristisch färben.

Dagegen färbt das polychrome Methylenblau (UNNA) progressiv den harten Knorpel grünblau, doch hängt das Farbenbild im einzelnen sehr von der Konzentration der Farbe ab.

Im allgemeinen benutzte ich zur Färbung Verdünnungen von einem Tropfen der  $\frac{1}{2}$ —1%igen wässerigen (bei Chinolein der alkoholischen) Lösung auf 10 cem Wasser bei den sauren, noch stärkere Verdünnungen bei den basischen Farben (bis 1:50 000); die Färbedauer muß wenigstens 24 Stunden betragen, wurde aber auch auf

---

ich, daß mir eine Spur von Zigarrenasche in die Flüssigkeit gefallen war; die alkalische Reaktion derselben hatte genügt die Färbung unwirksam zu machen. Dieselben Schnitte in reine, gleiche Lösung gebracht, gaben die gewohnte scharfe Färbung der Kapseln.

mehrere Tage ausgedehnt, wobei die Färbung an Stärke und Haltbarkeit zunahm. Was nun die Echtheit dieser Färbungen anlangt, so kann man ganz allgemein sagen, daß die mit den sauren Farben der Alkoholextraktion viel länger widerstehen, als die mit den basischen. Im einzelnen verhalten sich die Farben verschieden; jene, welche bei progressiver Anwendung die geringste Affinität zum harten Knorpel zeigen (Methylenblau, Thionin, Safranin und Toluidinblau), werden vom Alkohol in etwa 24 Stunden wieder vollkommen entzogen; am längsten haften sie — mit Ausnahme gewisser, nicht normaler Zellen — an der der Kapsel benachbarten Zone des Zellhofes. Diese innere Zone des Zellhofes hält andre Farben, wie z. B. Gentiana- und Methylviolett, Chinolein und das Blau aus polychromen Methylenblau sogar weit über 24 Stunden im Alkohol fest, während die Kapsel, der schmale, die Zellhöhle unmittelbar umschließende Saum lange entfärbt scheint.

Diese Feststellung ist allerdings wegen der an diesem kaum 1  $\mu$  breiten Saume auftretenden Lichtbrechungserscheinungen nicht leicht und nicht stets vollkommen sicher zu machen. Das stärkere Lichtbrechungsvermögen der Kapsel bedingt bei hoher Einstellung einen stärkeren Glanz (Spiegelfärbung), demnach auch Verdünnung der Farbe, umgekehrt bei tiefer; bei dieser wird außerdem um den dunklen Kapselsaum meist eine helle Lichtlinie sichtbar, welche wie eine entfärbte Zone imponiert. Ich versuchte mir in solchen zweifelhaften Fällen einmal durch die Untersuchung mit weit offener Blende zu helfen, wobei eine wirklich vorhandene Färbung der Kapsel wahrgenommen werden mußte, und dann dadurch, daß ich solche scheinbar entfärbte Kapseln nach der Methode der raschen, regressiven Färbung mit einer Kontrastfarbe gegen den benachbarten Zellhof abzugrenzen versuchte.

So gelingt es in der Tat an Schnitten, die z. B. nach progressiver Färbung mit polychromen Methylenblau, Chinolein oder Methylviolett 5 B 24 Stunden mit Alkohol behandelt worden waren, die Kapseln durch rasche Eosinfärbung gegen den blau gefärbten Zellhof hervorzuheben.

Versucht man diese Nachfärbung früher, bevor die Kapsel noch entfärbt ist, so erhält man keine reine Rotfärbung derselben, höchstens eine Mischfärbung.

Die Kapselfärbung mit Pyronin und Rhodamin endlich zeigte sich auch nach Behandlung mit 95%igem Alkohol über einen Tag fast ungeändert scharf erhalten.

Wie man sieht, sind auch die Ergebnisse dieser Färbungsversuche nicht zu verwerten, um der Kapsel einen bestimmten, mikrochemischen Charakter zuzusprechen.

Ich habe daher weiter eine Reihe verschiedener Doppelfärbungen versucht, die ja seit langer Zeit beim Studium der territorialen Gliederung der Knorpelgrundsubstanz eine große Rolle spielen.

Wie ich schon erwähnt habe, entfärbt sich die Kapsel bei manchen regressiven Färbungen früher, als der angrenzende Zellhof, und kann dann kontrastierend mit einer andern Farbe nachgefärbt werden.

In den oben angeführten Fällen geschah dies mit einer Farbe von entgegengesetztem chemischen Charakter, z. B. Methylviolett 5 B-Eosin. Man kann aber die entfärbte Kapsel auch mit einer Farbe vom gleichen chemischen Charakter nachfärben.

Färbt man z. B. 24 Stunden in 1%iger wässriger Safraninlösung vor, zieht dann ebenso lange in Alkohol aus, so entfärben sich die Kapseln mit den angrenzenden Zonen des Zellhofes, während die äußeren Zonen und die interterritoriale Substanz stark rot gefärbt bleiben. Färbt man nun mit Methylenblau nach, so erhält man die Kapseln blau gefärbt, die angrenzende Zone des Zellhofes fast farblos, die äußere stark rot.

Ähnlich kann man mit zwei sauren Farbstoffen die Kapsel vom Zellhof trennen, z. B. mit indigschwefelsaurem Natron progressiv vorfärben, 15 Stunden in Alkohol, rasch mit Eosin (1%) nachfärben: Kapsel rot, Zellhof blau, oder man färbt progressiv mit Methylenblau vor, ebenso mit Eosin nach. Kapsel blau, Zellhof rot; noch besser ebenso oder mit Bleu II pour Micrographie vorfärben, Alkoholbehandlung, Wasser; Nachfärben in stark verdünntem Pikrofuhsin: Kapsel blau, Zellhof rot, äußere Schicht gelb.

In ähnlicher Weise sind viele Knorpelfärbungen empfohlen worden; die angeführten Beispiele zeigen aber klar, daß solchen Färbungen in chemischer Hinsicht keine Bedeutung zukommen kann.

Besonders die regressiven Färbungen, zu denen z. B. auch die bekannten von MÖRNER gehören, können nur dazu verwertet werden, um in die physikalischen Verschiedenheiten der einzelnen Komponenten der Knorpelgrundsubstanz einen Einblick zu gewinnen.

Wertvoller sind progressive Doppelfärbungen mit einem sauren und einem basischen Farbstoff, da bei denselben auch verschiedene chemische Affinitäten zum Ausdruck kommen können. Auf diesem Wege gelingt es meist, die Kapsel mit der basischen, die angrenzende Zone des Zellhofes in einer Mischfarbe und die

äußere mit der sauren Farbe zu färben, vorausgesetzt, daß man den Überschuß an Vorfarbe durch längere Alkoholbehandlung entfernt hat.

Färbt man z. B. Schnitte durch den harten Knorpel 48 Stunden mit stark verdünnter Lösung von Tropäolin 000 (1 Tropfen der gesättigten Lösung auf 10 ccm Wasser) vor, überträgt auf 15 Stunden in 95 %igen Alkohol und bringt dann die Schnitte aus Wasser auf 48 Stunden in maximal verdünnte Lösung von Methylviolett 5 B, aus dieser wieder auf 15—18 Stunden in Alkohol, so erhält man scheinbar eine ziemlich scharfe Differenzierung der Kapsel vom Zellhof, überhaupt eine sehr deutliche territoriale Gliederung der ganzen Grundsubstanz: die Kapsel erscheint bei tiefer Einstellung auf dem Querschnitt dunkelblau, die angrenzende Zone des Zellhofes braunrot bis violett und ziemlich scharf gegen die gelb gefärbte äußere begrenzt. Die interterritoriale Substanz erscheint ebenfalls bräunlichviolett gefärbt.

Färbt man mit Eosin vorgefärbte Schnitte in ähnlicher Weise mit Dahlia nach und extrahiert dann lange, 24—36 Stunden, mit Alkohol, so tritt der Unterschied zwischen Kapsel und Zellhof nicht so scharf hervor; doch läßt sich wenigstens um eine Anzahl von Zellen auch ein dunkler, mehr blau gefärbter und nach der Zelloberfläche zu nicht ganz glatter Saum von dem tief rotviolett gefärbten angrenzenden Zellhof unterscheiden, welcher sich wieder sehr scharf gegen den farblosen, bzw. gelblichen äußeren Teil des Zellhofes abgrenzt. Die Zwischensubstanz erscheint bläulich- bis eosinrot; einzelne Höfe um degenerierende Zellen und der Inhalt solcher selbst ausgesprochen blau.

Auch die succedane progressive Doppelfärbung mit indigschwefelsaurem Natron und Anilinrot ergibt eine starke Rotfärbung der Kapsel, schwächere der inneren Zone des Zellhofes, während die äußere grünlichblau gefärbt hervortritt. Nur ist diese Differenzierung wenig alkoholecht, so daß zuerst die Kapsel entfärbt wird, bzw. wieder grünlichblau gegen die noch rot gefärbte innere Zone des Zellhofes hervortritt; bei fortgesetzter Alkoholbehandlung kann auch die Rotfärbung des Hofes schwinden und die ganze Grundsubstanz wieder grünblau gefärbt erscheinen. Es hängt so ganz von der Dauer der Einwirkung der Farbstoffe und der Differenzierung in Alkohol ab, welches Farbenbild man erhält.

Im allgemeinen kann man aber, wie gesagt, finden, daß bei dieser aufeinander folgenden Färbung mit einem sauren und einem basischen Farbstoffe die Kapsel den letzteren bevorzugt, während

der Zellhof in seinem äußeren Umfang ausgesprochen oxyphil ist, in seinem inneren, an die Kapsel grenzenden einen gemischten Charakter zeigt.

Daß es sich hier in der Tat um verschiedene chemische Affinitäten handelt, scheint daraus hervorzugehen, daß man ganz ähnliche Resultate erhält, wenn man mit sogenannten neutralen Farbgemischen, also mit einer sauren und basischen Farbe simultan färbt. Am bekanntesten ist das zuerst von ROMANOWSKY für Blutuntersuchungen empfohlene Gemisch von Eosin-Methylenblau, das seither Gegenstand zahlreicher Untersuchungen wurde<sup>1</sup>. Ich habe ein Gemisch von 100 cem 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> ige Eosinlösung und 88 cem 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> ige Methylenblaulösung (rektifiziert) zur Färbung benutzt. Die Mischung fluoresziert stark, bildete aber keinen Niederschlag. An Schnitten, welche tagelang (65 Stunden) in dieser Mischung gefärbt wurden, erscheint die Kapsel blau, der anschließende Zellhof lebhaft rot, der äußere Teil desselben blaßrosa gefärbt; diese Differenzierung bleibt auch nach 6 Stunden langer Alkoholbehandlung erhalten.

Ein ganz andres Ergebnis zeigt die Färbung mit dem nach LAURENT<sup>2</sup> von GRÜBLER & Co. in den Handel gebrachten neutralen Eosin-Methylenblaugemisch, welches bekanntlich eine Suspension des neutralen Farbstoffes darstellen soll. Kocht man einen Teil der gut aufgeschüttelten Suspension mit drei bis vier Teilen Wasser rasch auf, so entsteht eine tiefblaue Farblösung; in diese werden, nachdem sie etwas abgekühlt wurde, die Schnitte eingebracht. Ich habe sie bei Brütotemperatur mehrere Stunden belassen. Untersucht man nun die Schnitte, so erscheint die Kapsel im harten Knorpel rot gefärbt, die Zellhöfe grünlichblau, die interterritoriale Substanz wieder rot. Diese Färbung zeigt deutlich, daß man in der aufgekochten Suspension nicht mehr das Methylenblau als solches, sondern wahrscheinlich polychromes Methylenblau vor sich hat. Ganz denselben Färbungserfolg erhält man ja bei aufeinanderfolgender Färbung mit UNNAS polychromen Methylenblau und Eosin.

Diese Färbung kann also zur Entscheidung über den mikrochemischen Charakter der Kapsel nicht verwertet werden.

Dagegen erhält man ein mit dem Ergebnis der wirklichen Eosin-Methylenblaudoppelfärbung übereinstimmendes Bild bei Anwendung

<sup>1</sup> Man vgl. darüber den Artikel von ROSIN, Neutrale Farbstoffe und Farbgemische, in: Encyklopädie der mikr. Technik. II. Bd. S. 1032.

<sup>2</sup> Über eine neue Färbemethode mit neutraler Eosin-Methylenblau-mischung usw. Centralbl. f. allgem. Path. Bd. XI. 1900. S. 86.

des von JENNER<sup>1</sup> angegebenen Farbstoffes (ein Tropfen der 1<sup>0</sup>/<sub>10</sub>igen methylalkoholischen Lösung auf 10 ccm Wasser, 24 Stunden), nämlich eine stark dunkelblaue Färbung der Kapsel (und Zwickel), während die Zellhöfe, allerdings mehr gleichmäßig schwach rot gefärbt erscheinen. Weiter mit den Gemischen von Eosin-Methylviolett oder Orange G-Gentianaviolett.

Bringt man je einen Tropfen 1<sup>0</sup>/<sub>10</sub>iger Eosinlösung und gesättigter Lösung von Methylviolett 5B zusammen, so entsteht sofort ein dunkler Niederschlag, der sich in destilliertem Wasser nicht löst. Setzt man 10 ccm Wasser zu und kocht rasch auf, so löst sich der Niederschlag; färbt man in dieser Lösung eine halbe bis mehrere Stunden, so erscheinen die Zellkörper, besonders die Körnchen derselben, intensiv blau gefärbt, die Kapsel leuchtend rot bei hoher, tiefblau bei tieferer Einstellung, die angrenzende Zone des Zellhofes violett, die äußere Zone schwach rosa bis farblos, die Zwickel der interterritorialen Substanz fast eosinrot. Alkohol entfärbt die Zellen und zwar nur die normalen sofort, während die in Metamorphose befindlichen je nach ihrem Stadium lebhaft blau oder rot gefärbt hervortreten. Die Sonderung der Kapsel vom Zellhof erscheint nun noch schärfer.

Ganz andre Bilder erhält man, wenn man die Suspension filtriert und nun entweder mit dem bläulichroten Filtrat oder dem beim Aufkochen mit schön violetter Farbe sich lösenden Filtrerrückstand färbt. Im ersten Falle erhält man nach tagelanger Färbung (50 Stunden) und kurzdauernder Entwässerung fast eine isolierte Kapselfärbung in blau-stichigem Rot, eosinrot färben sich die Zwickel der interterritorialen Substanz und einige degenerierende Zellen, die Zellhöfe bleiben nahezu farblos. Eine ganz ähnliche Färbung gibt ein Gemisch von Säurefuchsin und Methylviolett. Bei Färbung im Rückstand (8 Stunden in der Wärme) kommt fast ausschließlich der violette Farbstoff zur Geltung, ohne daß jedoch auch lange fortgesetzte Behandlung mit Alkohol (16 Stunden) an der Färbung der Grundsubstanz wesentliche Änderungen hervorzurufen vermag. Die Kapsel erscheint tief rot violett bei hoher Einstellung, blau bei tiefer, der angrenzende Hof heller violett, die äußere Zone fast farblos, die interterritoriale Substanz wieder violett.

Bringt man je einen Tropfen der gesättigten wässerigen Lösungen von Orange G und Gentianaviolett in 10 ccm Wasser zur Mischung,

<sup>1</sup> The Lancet. 1899. No. 3937.

so entsteht auch ein ziemlich grobflockiger Niederschlag, die übrige Flüssigkeit bleibt braunrot. In dieser wird ohne zu filtrieren gefärbt. In 54 Stunden ist das Granoplasma der Zellen intensiv blauviolett, die Kapsel rotviolett, der angrenzende Zellhof braunrot, ebenso die oberflächliche Appositionszone und die größeren Zwickel, aber auch die feinen, interterritorialen Züge ungemein scharf gefärbt, während die äußere Zone der Zellhöfe leuchtend gelb gefärbt erscheint. Kurze Entwässerung mit 95%igem Alkohol entfärbt nun die normalen Zellen; länger dauernde (16 Stunden) entfärbt die Zwickel (selbstverständlich auch die zarten Züge der interterritorialen Grundsubstanz) und die oberflächliche Appositionszone, jedoch bleiben beide von schmalen, rotbraunen Säumen, letztere gegen die tiefere Lage, erstere ringsum gegen die begrenzenden Zellhöfe abgegrenzt. Diese Säume können um die Zellhöfe, deren äußere Zone lebhaft gelb gefärbt erscheint, eine neue Schicht vortäuschen. Die Kapsel zeigt nun einen bläulichen Ton, der manchmal sehr dunkel erscheinen kann, und der angrenzende Zellhof ist rotbraun gefärbt und gegen den äußeren, lebhaft gelb gefärbten Teil ziemlich scharf abgesetzt.

In allen diesen Fällen, in denen den Schnitten die Elektion gegenüber einem basischen und einem sauren Farbstoff gleichzeitig freigestellt ist, sehen wir also, daß die Kapsel sich mit dem basischen, die äußere Zone des Zellhofes mit dem sauren Farbstoffe färbt, während die innere gleichsam in einer Mischfarbe hervortritt.

Da diese Auswahl der Farben eine regelmäßige ist, die Färbung selbst dabei eine sehr widerstandsfähige, also echte, so darf man dieses Färbungsergebnis wohl mit einiger Berechtigung als Ausdruck einer Basophilie der Kapsel, einer Oxyphilie der äußeren Zone des Zellhofes und einer gemischten Natur der inneren auffassen. Damit stimmen auch Ergebnisse mit organischen Farben. Die Kapsel färbt sich auch mit Hämalaun deutlich, aber bei gewöhnlicher Färbdauer so schwach, daß eine nachfolgende Eosinbehandlung die Färbung vollkommen zu verdrängen vermag, wie schon erwähnt wurde. Umgekehrt kann man jedoch die Kapsel sich schwach violett färben sehen, wenn man mit Eosin vorgefärbte Schnitte mit Hämalaun nachfärbt.

Stärker färbt sich die Kapsel mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde, wobei aber nach außen von der Kapsel ein Teil des Zellhofes sich verwaschen mitfärbt. Durch Behandlung mit Essigsäure (5—10%) kann die Färbung aber nur auf die Kapsel beschränkt werden.

Ausgezeichnet scharfe Bilder der Kapsel erhält man, wenn man

mit Orange G oder Metanilgelb progressiv vorgefärbte Schnitte mit tief veilchenblauem DELAFIELDSchem Hämatoxylingemisch nachfärbt. Selbst bei 24 Stunden dauernder Nachfärbung färbt sich nur die Kapsel fast schwarzblau, während der Zellhof leuchtend gelb bleibt.

Die Kapsel färbt sich endlich auch mit saurer Orceinlösung stark, womit sich ja auch andre basophile Substanzen, wie z. B. verschiedene Schleimarten<sup>1</sup> elektiv färben. Progressiv, mit der Lösung von PRANTER<sup>2</sup>, färbt sich in 24 Stunden die Kapsel scharf und isoliert, die übrige Grundsubstanz nur ganz leicht und gleichmäßig bräunlich; tief dunkelbraun die degenerierenden Zellen, der weiche Knorpel und die elastischen Fasern des Perichondriums. Mit der Lösung nach UNNA-TÄNZER färbt sich schwach auch die innere Zone des Zellhofs und stark die Appositionszone.

Es wäre gewiß nicht der Mühe wert gewesen, alle diese Färbungsergebnisse aufzuzählen und noch weniger die weit zahlreicheren zeitraubenden Versuche anzustellen, wenn es sich nicht darum gehandelt hätte, an einem Knorpel mit deutlicher und leicht verständlicher territorialer Gliederung zu zeigen, von welchen Umständen die färberische Isolierung der einzelnen Komponenten der Intercellularsubstanz abhängt und wie sehr die vielfach herrschende Meinung, als besäßen wir in der Färbung eine einfache Methode, um verschiedene chemische Stoffe in der Knorpelgrundsubstanz nachzuweisen, kritischer Vorsicht bedarf. Ich konnte zeigen, daß sich die Kapsel durch kurze regressive Färbung in stärkeren ( $\frac{1}{2}$  — 1%) Lösungen sowohl mit sauren als basischen Teerfarben isoliert darstellen läßt. Bei langdauernder Einwirkung dieser Farben in stark verdünnten (1:20000—50000) Lösungen färbt sich die Kapsel ebenfalls intensiv mit beiderlei Farben, aber auch die angrenzende Zone des Zellhofes schwächer oder stärker. Man kann Kapsel und Zellhof aber auch durch Doppelfärbung trennen und zwar die Kapsel mit einer sauren, den Zellhof mit einer basischen Farbe, oder umgekehrt die Kapsel mit einer basischen, den Zellhof mit einer sauren Farbe, endlich beide mit kontrastierenden Farben derselben Klasse färben. Eine bestimmte

<sup>1</sup> So färbt es die Schleimkörnechen in den Kuppen der intraepithelialen Drüsenknospen im Kiemendarm von *Ammocoetes*, die oberflächlichen Zellen der Epidermis, sowie die Grundsubstanz des Schleimknorpels dieses Tieres. Weiter auch den Schleim in den buccalen Gaumen- und Uvuladrüsen, sowie der Becherzellen des Menschen. Man vgl. darüber die Anm. 1, S. 391 meiner »Beiträge zur Histologie menschlicher Organe«. Wiener Sitzungsber. Bd. CVI. 1897.

<sup>2</sup> Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. Bd. XIII. 1902. S. 292.

und wirklich gesetzmäßige Elektion, die auf verschiedene Säuren- und Basenkapazität der Kapsel und des Zellhofes hinzudeuten scheint, tritt nur bei gleichzeitiger Anwendung von sauren und basischen Farben ein, wobei aber die entstehende Neutralfarbe im Überschuß einer der Komponenten gelöst sein muß. Eine vollkommen konstante und verlässliche Differenzierung gibt auch die Pikrofuchsinfärbung.

Dieselbe scheint in der Tat auf gewisse chemische Verschiedenheiten der einzelnen Komponenten der Grundsubstanz bezogen werden zu können, andererseits kommen bei ihr zweifellos auch physikalische Verhältnisse in Betracht. Für die chemische Wirkung der Färbung spricht der Umstand, daß sie erst nach einer längeren Einwirkungs-dauer eintritt und dann, wenigstens was die Rotfärbung betrifft, unbeschränkt alkoholecht ist. Das Ergebnis der Färbung ist aber ein ganz konstant verschiedenes, je nachdem man das konzentrierte (0,1 Säurefuchsin auf 100 gesättigte, wässrige Pikrinsäure) oder stark verdünnte Farbgemisch (1 Tropfen auf 10 ccm Wasser) einwirken läßt. Im ersteren Falle färben sich nach 24 Stunden das Perichondrium und die oberflächlichste Lage der Appositionszone am stärksten (beide auch nach einer Minute), deutlich die Kapseln, einzelne Körnchen im Zelleib, schwächer die Appositionszone und einzelne Zwickel der interterritorialen Substanz rot, alles andre gelb. Im zweiten Falle ist die Rotfärbung der genannten Teile eine sehr intensive, außerdem färbt sich aber auch die Innenzone des Zellhofs, wie erwähnt, rot und die gesamte interterritoriale Substanz; leuchtend gelb die äußere Zone der Zellhöfe.

Fragen wir uns jedoch, ob die so auffallend beständige Rot- oder Gelbfärbung bestimmter Teile der Grundsubstanz im harten *Myxine*-Knorpel einen Schluß auf eine bestimmte chemische Natur dieser Teile zuläßt und welches diese chemische Natur ist, so stoßen wir auch hier wieder auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Daß die Gelbfärbung einen bestimmten Schluß nicht zuläßt, ist klar, da sich die verschiedensten Gewebe gelb färben können. Diese Färbung ist aber charakteristisch für den harten Knorpel der Cyclostomen, indem es mir bisher nicht gelungen ist, bei andern Wirbeltieren einen Knorpel zu finden, der mit Pikrinsäure eine ähnliche Färbungsreaktion geben, d. h. aus einer stark verdünnten Lösung die Pikrinsäure so fest binden würde<sup>1</sup>. Die Rotfärbung mit Säure-

<sup>1</sup> Die von WOLTERS (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVII, 1891, S. 492) angegebene Färbung mit konzentrierter alkoholischer Pikrinsäure ist eine rein

fuchsin wird jedoch in neuerer Zeit mit Vorliebe als spezifische »chemische« Methode für collagenes Gewebe angesehen<sup>1</sup>.

Da diese Methode allgemein unter dem Namen der »HANSENSchen« bezeichnet wird, erlaube ich mir — ohne das unzweifelhafte Verdienst HANSENS schmälern zu wollen — darauf hinzuweisen, daß ich zuerst<sup>2</sup> die bis dahin unbekannte Tatsache hervorgehoben habe, daß mittels der Pikrofuchsinfärbung eine ungemein scharfe Rotfärbung des Bindegewebes so elektiv eintritt, daß sie den Nachweis dünnster Fäserchen desselben gestattet. Weiter habe ich mich auch unabhängig von HANSEN mit der Methode beschäftigt, wie meine Ausführungen in dieser Zeitschrift (Bd. LXVI, 1899, S. 235 u.f.; vorläufige Mitteilung im Anat. Anz. Bd. XV, Sommer 1898 erschienen) bezeugen. Besonders möchte ich hervorheben, daß ich auf Grund von Versuchen zuerst auf die Alkalescenz des Glases als die Ursache des Verblässens der Fuchsinfärbung hingewiesen habe, und daß ich diesem Übelstande ebenfalls durch Ansäuerung der Präparate zu steuern versuchte. Dies gelingt am besten, wenn man die Schnitte mit salzsauren Lösungen von Orcein oder Resorein-Fuchsin vorfärbt, durch salzsauren Alkohol und schwach saures Wasser in die Pikrofuchsinlösung überträgt. Diese Färbung, welche ich schon seit Jahren bei histologischen Untersuchungen anwende, gibt eine scharfe Differenzierung des leimgebenden, elastischen und Muskelgewebes. In dieser Kombination hält sich die Rotfärbung mit S-Fuchsin jahrelang. Heute wissen wir ja den Grund des so oft beklagten Verblässens gewöhnlicher Pikrofuchsinfärbungen: durch das Alkali (des Glases) wird das gefärbte saure Salz der Rosanilindisulfosäure in das farblose neutrale umgewandelt<sup>3</sup>. Einer Zersetzung des Glases kann man, wie meine neueren Erfahrungen zeigen, aber auch vorbeugen, wenn man die Schnitte nicht in der gewöhnlichen Weise in flüssigen Balsam einschließt, sondern nach der Methode von NISSL in festes Kolophonium, was allerdings eine Erwärmung derselben erfordert. Übrigens scheint Kolophonium an und für sich sauer genug zu reagieren, um die Rotfärbung mit Säurefuchsin zu erhalten.

Wesentlich für diese Erhaltung ist jedenfalls, daß man das ätherische Öl, welches man zum Aufhellen benutzt hat, vor Zusatz des Einschlußmittels mit Benzol, Toluol oder Xylol entfernt. Darauf hat schon HANSEN hingewiesen, der Öl als Aufhellungsmittel geradezu vermieden haben will. Für Celloidinschnitte kann man es aber als zweckmäßiger ganz gut vor dem Xylol usw. anwenden.

Behält man dies im Auge, so gestaltet sich die Färbung auf das einfachste: Die Schnitte werden aus Wasser in das oben angegebene starke Farbgemisch auf 1 Minute oder beliebig länger eingetragen, ohne daß ein Säurezusatz nötig wäre. Dann werden sie mit der Nadel direkt in 95%igen Alkohol bis zur vollständigen Farblosigkeit des Celloidins geschwenkt, am Objektträger mit

mechanische Überladung der Grundsubstanz mit Pikrinsäure, die bei etwas längerem Verweilen in Alkohol wieder vollkommen verschwindet. Aus stark verdünnter Lösung nimmt der Hyalinknorpel des Menschen und der Säugetiere keine Spur von Pikrinsäure an.

<sup>1</sup> Vgl. z. B. LAGUESSE, Sur l'histogénèse de la fibre collagène etc. Arch. d'anat. micr. T. VI. 1903. p. 109.

<sup>2</sup> Wiener klin. Wochenschr. 1896. Nr. 45.

<sup>3</sup> MICHAELIS, Einführung in die Farbstoffchemie. Berlin 1902. S. 57 u.f.

## Über den feineren Bau und die Entw. des Knorpelgewebes usw. II. 175

Filterpapier niedergepreßt und mit Cajeputöl usw. aufgehell. Dieses ätherische Öl wird mit Benzol oder Xylol gründlich entfernt und in Kolophonium-Xylol eingeschlossen, wobei der Überschuß durch Aufdrücken des Deckglases zu entfernen ist; auch leichtes Erwärmen der Präparate ist sehr zu empfehlen.

So behandelte Schnitte bewahren die Rotfärbung, soweit ich sehe, jahrelang.

Was nun die Spezifität der Methode anlangt, so hat das Säurefuchsin in Verbindung mit Pikrinsäure in der Tat eine hochgradige Elektion für Bindegewebe, vorausgesetzt, daß die Methode richtig gehandhabt wird. Dazu gehört, daß die Farbflotte nicht zu viel Säurefuchsin enthält, daß die Schnitte, wie schon HANSEN betont, glatt und gleichmäßig sind und möglichst frisch, am besten in farblosen Flüssigkeiten, Alkohol, Formol, Sublimat fixiertem Material entstammen. Chromsaure Salze sind zu vermeiden.

Schon in VAN GIESONS Laboratorium ist zur Darstellung der Bindegewebsfibrillen nach einer Modifikation von FREEBORN eine Lösung mit nur sehr wenig Säurefuchsin (0,05%) seit langem in Gebrauch, während zur Färbung des Nervensystems eine solche mit dreifachem Gehalt an Säurefuchsin und der Hälfte an Pikrinsäure verwendet wird<sup>1</sup>. Ich benutze das von RAMÓN Y CAJAL empfohlene Gemisch von 0,1%igem Säurefuchsin auf 100 gesättigter, wässriger Pikrinsäure, was dem von HANSEN später angegebenen Mengenverhältnis entspricht. Makroskopische Versuche mit getrockneten und wieder aufgequollenen Sehnen haben gezeigt, daß diese imstande sind aus maximal verdünnten Säurefuchsinlösungen den ganzen Farbstoff an sich zu ziehen und denselben wochenlang in 95%igem Alkohol, ja sogar in konzentriertem Glycerin festzuhalten. Mikroskopisch kann mittels dieser Färbung alles leimgebende Bindegewebe, und meist nur dieses durch die charakteristische Rotfärbung aufgedeckt werden; so z. B. im Nackenband, in der Haut, im Gewebe der glatten und quergestreiften Muskeln. Diese Rotfärbung tritt in der Tat binnen Sekunden mit der Sicherheit einer Reaktion ein. (Sie tritt aber auch ein, wenn man maximal verdünnte Lösungen [1 Tropfen der angegebenen Pikrofuchsinmischung auf 10 ccm Wasser, das entspricht  $\frac{1}{200}$ %igem Säurefuchsin] 24 Stunden lang einwirken läßt. Nur färben sich dann auch andre Gewebe rötlich, die Spezifität der Methode wird herabgesetzt.) In diesem Sinne kann man die Färbung, wie auch ich es getan habe, als spezifische ansehen. Aber auch im centralen und peripheren Nervengewebe, wo sich nach VAN GIESON Ganglienzellen, Neuroglia und Achsenzylinder färben sollen, gibt die Methode, wie seither auch WEIGERT<sup>2</sup> gesehen hat, ausschließlich eine scharfe Rotfärbung des Bindegewebes, so daß die feinsten Capillarmhüllungen hervortreten; nur muß man Material aus Formol oder Alkohol wählen. Was endlich die im Knorpelgewebe auftretenden Färbungen anlangt, so lassen sich dieselben zum Teil durch den Gehalt der rotgefärbten Stellen an collagener Substanz erklären. Auch für das Hyalin collagenen Ursprungs scheint dasselbe zu gelten; ob auch epitheliales und hämatogenes Hyalin sich rot färbt, weiß ich nicht. Das Colloid der Schilddrüse färbt sich nicht.

So groß nach dem Gesagten die Spezifität der Methode für collagenes

<sup>1</sup> Nach einer freundlichen brieflichen Mitteilung J. VAN GIESONS aus dem Jahre 1899 an Herrn Dr. WATKINS in unserm Institut.

<sup>2</sup> Eine kleine Verbesserung der Hämatoxylin-VAN GIESON-Methode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XXI. 1904. 1.

Gewebe ist, so darf man heute noch nicht umgekehrt den Schluß ziehen, daß alles, was sich auf diese Weise rot färbt, auch wirklich nur leimgebende Substanz ist; denn es färben sich z. B. auch die Membranen der Chordazellen, der Fettzellen, das Sarkolemm, die Knorpelkapseln, über deren chemische Natur wir noch wenig wissen.

Die Ergebnisse der Pikrofuchsinmethode stimmen auch mit denen der meisten übrigen sogenannten spezifischen Bindegewebsfärbungen überein, von denen einzelne ja auch sehr gute Resultate in bezug auf Elektion geben. In dieser Hinsicht habe ich die Methoden von FREEBORN<sup>1</sup>, UNNA<sup>2</sup>, RIBBERT<sup>3</sup>, MALLORY<sup>4</sup>, PATELLANI<sup>5</sup> und DUBREUIL<sup>6</sup> verglichen.

Ich finde jedoch, daß sie alle an Schärfe der Differenzierung und Empfindlichkeit von der Pikrofuchsinmethode übertroffen werden, welche sie anderseits an Einfachheit der Anwendung und Dauerhaftigkeit nicht übertreffen. So ziehe ich die Pikrofuchsinmethode außer wegen der genannten Vorzüge wegen ihres scharfen Kontrastes zwischen rot und gelb, der empfindlicher ist als der zwischen blau und grün, sowie wegen der absoluten Farblosigkeit des Celloidins allen andern sogenannten spezifischen Bindegewebsfärbungen vor. Sie ist aber, was schon HANSEN<sup>7</sup> zugegeben hat, und auch MICHAELIS<sup>8</sup> betont, nicht spezifisch im chemischen Sinne.

Indem ich nach dieser etwas langwierigen Abschweifung auf technisches Gebiet, die mit der Wichtigkeit der Pikrofuchsinmethode entschuldigt werden möge, zur Besprechung der morphologischen Verhältnisse des harten Knorpels von *Myxine* zurückkehre, seien mir noch einige Worte über den feineren Bau der Kapsel gestattet.

Dieselbe stellt dort, wo sie ganz isoliert gefärbt hervortritt (z. B. nach der raschen Färbung mit Eosin, Anilinrot, Methylviolett, Safranin), einen anscheinend ganz glatten, ziemlich gleichmäßigen Saum

<sup>1</sup> Staining connective tissue with nigrosin (indulin, anilin, blueblack). Journ. R. micr. soc. 1889. p. 305.

<sup>2</sup> Die spezifische Färbung des Collagens. Monatsh. prakt. Dermat. Bd. XVIII. 1894. S. 503. — Neue Untersuchungen über Collagenfärbung. Ebenda. Bd. XXXIV. 1902. S. 359.

<sup>3</sup> Über die Anwendung der von MALLORY für das Centralnervensystem empfohlenen Farblösung auf andre Gewebe. Centralbl. allg. Path. 1896. Bd. VII. S. 427.

<sup>4</sup> A contribution to staining methods. I. A differential stain for connective-tissue fibrillae and reticulum. The Journ. of experim. med. Vol. V. 1900—1901. p. 15.

<sup>5</sup> Modificazione ad un metodo di MALLORY per la colorazione del tessuto connettivo. Gazz. d. osped. A. XXII. 1901. p. 993.

<sup>6</sup> Le Picro-Bleu. Note sur l'emploi de ce réactif pour la coloration spécifique des fibrilles conjonctives etc. Compt. Rend. de l'assoc. des Anat. VI. sess. Toulouse 1904. p. 62.

<sup>7</sup> Anat. Anz. Bd. XV. 1899. S. 151 u.f.

<sup>8</sup> l. c. S. 145.

von sehr geringer Dicke (0,8—1,0  $\mu$ ) um die ganze Zellhöhle dar. Bei jenen Färbungen, welche außer der Kapsel auch das Zellprotoplasma stark färben (Kongorot, Methylblau), erscheint die Kapsel gegen die Zelloberfläche körnig.

Diese Körnchen sind ungemein klein und nur bei scharfer Färbung und starker Vergrößerung als eine regelmäßig angeordnete Mikrosomenlage erkenntlich; wie Stellen, an denen die Zelle von der Wand sich zurückgezogen hat, zeigen, hängt sie fest mit der Kapsel zusammen. Manchmal erscheinen diese Körnchen kurz stäbchenförmig und radiär zur Zelloberfläche gestellt. Bei rascher Färbung mit Pikrofuchsin sah ich diese Mikrosomenlage oft allein gefärbt als feinsten roten Saum an der Oberfläche des Zellkörpers hervortreten.

Untersucht man die Flächenbilder der Kapseln an Präparaten mit scharfer Kapselfärbung, z. B. an solchen, die in maximal verdünntem Eosin-Methylenblau nach JENNER gefärbt wurden, so zeigen dieselben kein homogenes Ansehen, wie es bei Betrachtung der Profilbilder den Anschein hat. Das Flächenbild zeigt vielmehr eine Art Netzwerk oder Geäder, indem der blaugraue Grund von helleren Stellen in Gestalt von Kreisen und unregelmäßigen Figuren unterbrochen erscheint, so daß im ganzen ein ähnliches Bild entsteht, wie ich es von der Alveolenwand einer blasigen Zelle, die in Knorpel einbezogen wird, bei *Petromyxon fluviatilis* (diese Zeitschr. Bd. LXX, 1901, Taf. VIII, Fig. 23) abgebildet habe. Wahrscheinlich handelt es sich um einen Wechsel dichter und weniger dichter Stellen, vielleicht auch um eine Art von Relief, in dem die helleren Stellen seichte Vertiefungen darstellen, die auch leichter permeabel sind.

Wahrscheinlich ist diese eigentümliche Struktur der Grund einer sehr merkwürdigen optischen Erscheinung, welche man an ungefärbten oder auch gefärbten, in schwach lichtbrechenden Mitteln (Wasser, Alkohol) untersuchten Schnitten an der Kapsel wahrnehmen kann.

Geht man mit der Mikrometerschraube von einer mittleren Einstellung auf die Kapsel, bei welcher diese als einfacher Saum erscheint, in die Höhe, wobei man einen Teil der kugelig gewölbten Kapsel von der Fläche zu sehen bekommt, so treten sofort ungemein scharfe konzentrische Linien in mehrfacher Anzahl (drei bis fünf) nach innen von der Kapsel auf, so daß es den Anschein hat, als bestünde sie, von der Fläche gesehen, aus abwechselnd hellen und dunklen konzentrischen Ringen oder Ellipsen, deren Durchmesser gegen den Pol der Kapsel zu abnehmen.

Es kann sich hier, im Gegensatz zu der wirklich vorhandenen konzentrischen Schichtung nach außen von der Kapsel, die gleich besprochen werden soll, nur um eine Beugungserscheinung der durch das Objektiv nicht aufgelösten ziemlich regelmäßigen Struktur der Kapsel handeln. Dies geht unter anderm daraus hervor, daß diese concentrische Zeichnung in der gleichen Deutlichkeit auch noch an eben in Lack eingeschlossenen Schnitten sichtbar ist; mit der allmählichen Verdrängung des ätherischen Öls durch die Einschlußmasse wird sie schwächer, ohne jedoch gänzlich zu verschwinden.

Nach dem Ergebnisse mancher Färbungen, besonders jener, bei welchen die Kapsel und der innere Zellhof gleich gefärbt erscheinen und erstere nur beim Wechsel der Einstellung einen Farbenumschlag zeigt, könnte es zweifelhaft sein, ob dieser von mir als Kapsel gedeutete innerste Saum der Zellhöhle wirklich eine selbständige, morphologische Schicht darstellt. Der Beweis dafür kann aber, außer durch die erwähnten isolierenden Färbungen, auch durch die mechanische und chemische Isolierbarkeit der Kapsel erbracht werden.

An den Rändern sehr dünner Schnitte, welche mitten durch den Knorpel gehen, an denen also dünne Balken der Grundsubstanz zwischen eröffneten Zellhöhlen den Schnitttrand bilden, ragen die Kapseln manchmal auf kurze Strecken isoliert über diesen Schnitttrand vor. Besonders deutlich ist da die Kapsel als selbständige Schicht zu erkennen, wenn sie auch different vom Zellhof gefärbt ist (Eosin-Methylenblau). Auf die chemische Isolierbarkeit komme ich am Ende dieses Kapitels zurück.

Die zwischen den Kapseln gelegene übrige Grundsubstanz wird von den Zellhöfen und der dieselben verbindenden Kitt- oder (wie ich sie fortan nennen will) interterritorialen Substanz gebildet.

Beide zeigen in dieser mittleren Zone der massigsten harten Knorpelstücke nicht das regelmäßige Verhalten des vollentwickelten Knorpels, weil hier, wie gleich auseinandergesetzt werden soll, ausgedehnte Rückbildungserscheinungen Platz greifen. Im allgemeinen sei jetzt nur bemerkt, daß die Zellhöfe verhältnismäßig schmal, nur zwei- bis dreimal so breit als die Kapsel und von vorwiegend abgerundeter Gestalt sind, während die interterritoriale Substanz oft mächtig entwickelt sein kann (Fig. 2, 13).

Diese mittlere Zone geht nun in die äußere über, in welcher die Zellen an Größe abnehmen, während die Intercellularsubstanz an Masse zunimmt, so daß hier der Knorpel in der Tat, wie schon

JOH. MÜLLER bemerkte, das Aussehen eines grundsubstanzreichen Hyalinknorpels besitzt (Fig. 3—5).

Die Zunahme der Grundsubstanz ist hauptsächlich durch eine beträchtliche Verdickung der Zellhöfe bedingt, während die interterritoriale Substanz auf manchmal kaum wahrnehmbare Mengen reduziert ist.

In diesen Fällen (Fig. 3) und besonders an in Lack eingeschlossenen Schnitten erscheint dann die ganze Intercellularsubstanz wie eine einheitliche Masse; in andern konnte ich auch schon an einfach in Wasser untersuchten Schnitten, besonders deutlich bei schiefer Beleuchtung, diese grundsubstanzreiche äußere Zone durch ein zartwandiges, schwächer lichtbrechendes Fachwerk in vieleckige stark lichtbrechende Höfe oder Bezirke zerlegt sehen. Bei der raschen Färbung mit Eosin tritt dieses Fachwerk in Gestalt zart rosa gefärbter Kittlinien auch an Lackpräparaten hervor (Fig. 5 *IT*). Diese Färbung beruht aber wieder nur, wie bei den Kapseln, auf einer geringeren Dichte der interterritorialen Züge; wie die Färbungen mit Anilinrot, Methylviolett, Methylenblau und DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde ergeben, zeigt diese Kittsubstanz ebenfalls schwach basophilen Charakter.

Um die Kapsel herum erscheint die Grundsubstanz oft, besonders an Schnitten, die in schwach lichtbrechenden Mitteln (Alkohol) bei starker Beleuchtung (Sonnenlicht) untersucht werden, in einer Ausdehnung konzentrisch geschichtet, die weit über die eigentliche Kapsel<sup>1</sup> der Zelle hinausgreift (Fig. 3 *Z*), so daß der ganze Zellhof aus abwechselnd stärker und schwächer lichtbrechenden Kugelschalen zu bestehen scheint.

Die manchmal auffallende Zartheit und Regelmäßigkeit der Lichtlinien, welche bei einer bestimmten Einstellung am deutlichsten

<sup>1</sup> SOLGER (Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLII, 1894, S. 650, Anm. 1) versteht unter »Kapsel« stets nur die konzentrisch geschichtete Wandung der Knorpelzellohne, auch wenn diese Schichtung nur in Gestalt bogenförmiger Segmente ausgeführt ist, deren Schichtung schon am frischen Präparat hervortritt. Ich kann diese Schichtung nicht für gleichwertig mit der Kapsel halten und verstehe unter letzterer nur die unmittelbar um die Zelle gelegene Grundsubstanzschicht, welche durch ihr optisches und mikrochemisches Verhalten vom umgebenden Zellhof sich abgrenzen läßt. Auch der Auffassung STUDNICKAS gegenüber, welcher den mit Eosin usw. nicht färbbaren Teil, meinen Zellhof, ebenfalls zur Kapsel rechnet und so dieselbe als zweischichtig betrachtet, muß ich diese Definition festhalten. Man vergleiche übrigens in dieser Frage meine Mitteilung über Knorpelkapseln und Chondrinballen (Anat. Anz. Bd. XXIII, 1903, S. 533).

hervortreten, läßt bei oberflächlicher Betrachtung zunächst daran denken, daß man es hier, ähnlich wie das bei der Kapsel beschrieben wurde, mit einer rein optischen Erscheinung, etwa mit Diffractionslinien zu tun hat, wie sie um kugelige Körper von geringem Lichtbrechungsvermögen in stärker lichtbrechender Umgebung bei Verschiebungen der Mikrometerschraube zu sehen sind.

Man kann diese konzentrische Schichtung aber auch an in Lack eingeschlossenen, ungefärbten Präparaten, wenn auch weniger deutlich, sehen, wo dieselbe keine andre Deutung zuläßt, als daß es sich um eine Aufeinanderfolge verschiedener Schichten von Grundsubstanz handelt.

Jeder Zweifel an der realen Natur dieser Schichtung verschwindet jedoch, wenn man mit Pikrofuchsin gefärbte Präparate untersucht, an denen man schon bei etwa 300facher Vergrößerung deutlich sehen kann, daß die konzentrischen Schichten abwechselnd gelb und rot gefärbten Kugelschalen entsprechen (Fig. 4 und 15).

Aber auch mittels anderer Färbungen (progressive Färbung mit stark verdünntem polychromen Methylenblau, kurze Färbung mit 2% Säurefuchsin) tritt diese Schichtung um viele Kapseln in der äußeren Zone deutlich hervor, und die gefärbten Schichten zeigen meist einen feinkörnigen Bau, bestehen oft nur aus einer einzigen Lage kleinster Körnchen.

Es handelt sich demnach hier um eine zonale Gliederung der Grundsubstanz, ähnlich wie sie im Hyalinknopel höherer Tiere schon seit VOGELPOEL<sup>1</sup> und DEKHUYZEN<sup>2</sup> bekannt war und in neuester Zeit von HANSEN<sup>3</sup> wieder genauer beschrieben worden ist. Auf die Bedeutung und Ausdehnung dieser konzentrischen Streifung werde ich später noch eingehen; hier sei nur bereits hervorgehoben, daß dieselbe gelegentlich, besonders in den oberflächlichen Lagen, nicht um wohlerhaltene Zellen in ihren Höhlen, sondern um winzige, oft kaum mehr als solche erkennbare Zellreste als Mittelpunkt zu sehen ist, so daß man hier eine allmähliche Einengung und konzentrisch vorschreitende Verdrängung oder Umwandlung der Zelle annehmen muß (Fig. 3 Z<sup>2</sup> und 15).

Während der breite Zellhof bei der raschen Färbung mit sauren, wie basischen Farben im allgemeinen vollkommen ungefärbt erscheint (Fig. 5 IAH), lassen andre Färbungen deutlich erkennen, daß

<sup>1</sup> Onderzoek. Physiol. Laborat. te Leiden. 1879. S. 149.

<sup>2</sup> Weekbl. nederl. Tijdschr. voor geneeskunde. 1889. S. 260.

<sup>3</sup> Undersogelser over Bindevaevsgruppen. 1. Del. Kjöbenhavn 1900.

derselbe aus zwei, bald annähernd gleich-, bald verschieden breiten Schichten besteht, wovon die innere stets die Kapsel konzentrisch umschließt und wie diese die Form der Zelhöhle wiedergibt (Fig. 4 *IH*), während die äußere einen mehr oder minder ausgeprägt polygonalen Umriß besitzt (Fig. 4 *AH*), auch mehr als eine Zelle umschließen kann und an die interterritorialen Substanzscheidewände angrenzt.

Die Trennung dieser beiden Schichten, welche ich als inneren und äußeren Zellhof bezeichne, gelingt auf verschiedene Weise.

Wie schon erwähnt, zeigt der innere Zellhof bei progressiver Färbung mit vielen sauren, wie basischen Farben ein ähnliches Verhalten wie die Kapsel, nur färbt er sich meist mit geringerer und nach außen abnehmender Stärke, so daß die Grenze gegen den äußeren Zellhof dann eine mehr oder minder verwaschene ist.

So färbt er sich mit Eosin, Bordeaux R, Thiazinrot, Thiazinbraun, Cörulein S und Säurefuchsin; dann aber auch mit Anilinrot, Diamantfuchsin, Methylviolett, Gentianaviolett, Dahlia, Pyronin, Rhodamin, mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde und bei Überfärbung mit Hämalaun.

Färbt man den harten Knorpel mit einer der gelben Farben (Orange G, Tropäolin, Goldorange, Metanilgelb) progressiv vor, dann tritt bei gewöhnlicher Nachfärbung mit DELAFIELDS Hämatoxylin oder Hämalaun keine Färbung des inneren Zellhofes ein; er bleibt gelb wie der äußere.

Färbt man aber so vorgefärbte Schnitte progressiv mit einer blauen oder violetten basischen Farbe nach, dann zeigt der innere Zellhof eine sehr kräftige und haltbare Mischfärbung. Nahezu vollkommen isoliert kann man ihn darstellen, wenn man mit Gentiana-, Methylviolett, besonders aber Chinolein vorgefärbte Schnitte 24 Stunden lang mit Alkohol extrahiert; besonders fest hält er auch das Blau des polychromen Methylenblau.

Die schärfste und haltbarste, durch Alkohol überhaupt kaum mehr entfernbare Färbung des inneren Zellhofes gibt die progressive Färbung mit Säurefuchsin in Verbindung mit Pikrinsäure (Pikro-fuchsin).

Vollkommen ablehnend verhält er sich gegen Methylblau und Kongorot.

Wie man sieht, zeigt auch der innere Zellhof keine ausschließliche Färbbarkeit mit basischen oder sauren Farben, anscheinend eher noch mit letzteren die haltbarere Färbung. Doch muß hier erwähnt werden, daß um einzelne Zellen der innere Hof eine ganz

besondere Affinität zu basischen Farben (Methylenblau, Safranin, Gentanviolett) zeigt, so daß seine Färbung auch tagelanger Behandlung mit 95% Alkohol, wenn die ganze übrige Grundsubstanz schon wieder entfärbt ist, widersteht. Hier handelt es sich aber nicht mehr um normale Zellgebiete.

Die Breite des inneren Zellhofes läßt sich nur annähernd bestimmen und schwankt in dieser äußeren Zone zwischen 1 und 3,5  $\mu$ ; sie ist fast stets geringer, als die des äußeren; in der Mitte der Knorpel nimmt sie, wie erwähnt, beträchtlich ab, so daß man an Präparaten, an denen die Kapsel nicht färberisch von dem inneren Zellhof getrennt ist, diesen kaum als eigne Schicht erkennt, sondern einfach dickere Kapseln vor sich zu haben glaubt (Fig. 2 *KIH*).

Der äußere Zellhof (Fig. 2, 4, 13 *AH*) besitzt im harten Knorpel eine ganz entschiedene und einseitige Affinität zu gewissen sauren Farbstoffen, besonders zu den gelben. Er färbt sich lebhaft und haltbar mit Tropäolin, Orange G, Metanilgelb, Goldorange, Pikrinsäure; weiter mit indigschwefelsaurem Natron blau, mit polychromem Methylenblau grünlich. Manchen sauren Farbstoffen gegenüber erweist er sich als chromophob, wie z. B. gegen Säurefuchsin, Methylblau, Kongorot; zu andern (Eosin, Bordeaux R, Säuregelb) zeigt er nur geringe Affinität und seine schwache Färbung tritt erst bei der Kontrastfärbung mit einem basischen Farbstoffe hervor.

Die Form des äußeren Zellhofes ist in der oberflächlichen Zone, wo er am mächtigsten entwickelt ist, eine mehr oder minder polygonale; in der Mitte wird er abgerundet und nimmt ebenfalls an Breite ab.

Die Begrenzung gegen den inneren Zellhof ist oft eine sehr scharfe (Fig. 2 und 13); in andern Fällen vermittelt den Übergang eine verwaschene Zwischenzone, welche dann stets als aus dünnsten konzentrischen Lagen bestehend erkannt werden kann (Fig. 4).

Während im inneren Zellhof die basophilen oder erythrophilen Zwischenschichten an Masse überwiegen, nehmen diese nach außen hin immer mehr zugunsten der oxy- oder xanthophilen ab, bis endlich der äußere Zellhof, wenn er eine Schichtung noch erkennen läßt, nur mehr aus solchen besteht. Meist erscheint er vollkommen homogen, kann aber dann — wie noch gezeigt werden soll — durch chemische Mittel in konzentrische Lamellen zerlegt werden.

Nicht immer ist die Grenze zwischen innerem und äußerem Zellhof eine mit der Kapsel bzw. Zelloberfläche konzentrische Linie; manchmal erscheint die Zelle wie gegen einen Rand des inneren Zellhofes verschoben; in andern Fällen greift der oxyphile äußere

Zellhof an einer oder mehreren Stellen gleichsam in den inneren hinein, so daß dieser hier verschmälert erscheint und umgekehrt an den übrigen Stellen seines Umfanges mit verschieden großen Segmenten in den äußeren Zellhof vorragt.

Wie ich noch zeigen werde, geht der äußere Zellhof aus einer Umwandlung des inneren hervor. Die geschilderten Bilder machen nun ganz den Eindruck, als ob dort diese Umwandlung nicht ganz regelmäßig vor sich gegangen wäre.

In jenen Fällen, wo der innere Zellhof sehr schmal ist, erscheint der äußere am breitesten; an mit Pikrofuchsin gefärbten Schnitten kann man dann manchmal in einer gewissen Entfernung vom inneren Zellhof eine etwas stärkere, rot gefärbte Linie erhalten sehen, welche die einstige Ausdehnung des inneren Zellhofes angibt.

Nicht selten umschließt ein polygonaler äußerer Zellhof zwei abgerundete innere mit den zugehörigen Kapseln und Zellen; wir haben dann ein durch Teilung entstandenes Zellterritorium, einen Zellbezirk oder eine isogene Gruppe (RENAUT) vor uns (Fig. 6 und 13).

Bevor ich die Schilderung dieser oberflächlichen Zone verlasse, sei noch erwähnt, daß in derselben stets eine wechselnde Anzahl von Zellen und Höfen gefunden werden, welche dadurch auffallen, daß sie jegliche Färbung ablehnen. Im einzelnen bieten diese Gebilde ein sehr verschiedenes Verhalten, worauf ich noch später zurückkomme.

Die oberflächliche Appositions-Zone (Fig. 4, 5A) ist sehr schmal, deutlich nur bei Knorpeln größerer Tiere entwickelt, und, wie bei allen Knorpeln, durch stark abgeflachte Zellen ausgezeichnet, deren Längsachsen stets parallel dem Zuge der (hier) circular verlaufenden Bindegewebsbündel gerichtet sind. Sie grenzt sich an ungefärbten, in Alkohol untersuchten Schnitten (Fig. 3) nicht gegen die tiefere Schicht ab und läßt auch keine Abgrenzung von Zellhöfen erkennen; jedoch schon die einfache Durchtränkung des Schnittes mit einem ätherischen Öl genügt, um diese Schicht als scharf gegen die tieferen Lagen abgegrenzte Appositionszone zu erkennen, ein Verhalten, welches wohl nur durch die leichtere Durchdringbarkeit derselben für das ätherische Öl bedingt sein kann.

Dem entspricht auch ihr Verhalten bei kurz (eine Minute) dauernder regressiver Färbung mit concentrirteren (1%igen) basischen, wie sauren Teerfarben: sie erscheint in diesen Fällen, wie die Kapsel stark gefärbt und dadurch scharf abgegrenzt gegen die farblos bleibenden tieferen Lagen des Knorpels (Fig. 4 und 5A).

Dasselbe ist der Fall bei progressiver Färbung; folgt derselben nur eine kurze Entwässerung und Lackeinschluß, so kann die oberflächliche Appositionszone auch mit basischen und mit den meisten sauren Farben scharf gefärbt erhalten bleiben. Bei längerer Einwirkung des Alkohols jedoch hält sie nur gewisse saure Farbstoffe (Säurefuchsin, Bordeaux R, Cörulein, Thiazinrot, Methylblau, Indulin, Nigrosin u. a.) fest, während sie die gelben, sowie Eosin, indigschwefelsaures Natron und alle basischen Farbstoffe vollkommen an den Alkohol abgibt. Sie kann dann als farblose Zone sich ebenso scharf gegen die z. B. mit Tropäolin oder Indigkarmin gefärbten tieferen Partien abheben, wie vor der Alkoholbehandlung als stärker gefärbte.

Daß die oberflächliche Appositionszone eine geringere Dichtigkeit besitzt, als die älteren Teile des harten Knorpels, zeigt deutlich auch ihr Verhalten bei gewissen Beizfärbungen. Bringt man die Schnitte z. B. kurz (eine Minute) in 10%iges Eisenchlorid und überträgt sie nach flüchtigem Abspülen mit Wasser in Tannin oder rotes Blutlaugensalz, so färbt sich die oberflächliche Appositionszone stark; ähnlich die Kapseln und interterritorialen Zwickel, schwach die äußeren Zellhöfe. Beizt man dagegen lange in sehr verdünnter Eisenchloridlösung vor und wäscht dann aber gut aus, so färbt sich die Appositionszone wie die interterritoriale Substanz schwach, stark und gleichmäßig dagegen der innere Zellhof und die Kapsel, während der äußere Zellhof farblos bleibt.

Mit verdünntem Pikrofuchsin färbt sich die oberflächliche Appositionszone stark und alkoholecht rot. Sie färbt sich auch stark mit saurem Orcein und bei Überfärbung mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde. Nahezu keine Affinität zeigt sie bei progressiver Färbung zu Safranin, Thionin, Chinolein; mit Toluidinblau oder Methylenblau färbt sie sich nur schwach grünlich.

Was nun das feinere Verhalten dieser Appositionslage anlangt, so grenzt sie sich mit höchst unregelmäßigem, bei schwächerer Vergrößerung aber scheinbar scharfem Kontur gegen die tieferen Lagen ab, indem sie zacken- und zwickelförmige Vorsprünge gegen dieselben bildet.

Betrachtet man diesen scharf gezackten Rand, der wie eine Knochenresorptionslinie mit nach außen gewendeten Konvexitäten erscheint, näher, so entspricht derselbe nicht glatten, sondern feinzähnten oder körnigen Anlagerungsflächen (Fig. 4). Manchmal sieht man Teile dieser durch ihr färberisches Verhalten charakterisierten

Zone, durch die Tätigkeit in ihr gelegener Zellen, welche Höfe um sich erzeugen, nach innen verlagert, wo sie dann in Gestalt sphärischer Polygone zwischen den meist gegensätzlich gefärbten Zellhöfen liegen. Die Ränder dieser Zwickel zeigen meist ebenfalls ein unregelmäßiges, fein gezähntes oder gekörntes Aussehen; ja, manchmal scheinen sich von denselben körnchenartige Teile loszulösen und zu homogener Grundsubstanz zu verfließen. Möglicherweise gehört aber diese körnige Zone auch der Oberfläche der äußeren Zellhöfe an. In manchen dieser Zwickel kann man degenerierende Zellen oder in Umwandlung begriffene Zellreste eingeschlossen sehen (Fig. 4 bei Z').

Ein besonderes Verhalten zeigt ein schmalere oberflächlicher Saum dieser Appositionszone, welcher die Verbindung mit dem faserigen Perichondrium vermittelt (Fig. 4A').

Derselbe färbt sich auffallend stark mit Nigrosin, Indulin, Bleu de Lyon oder bleibt auch gefärbt, wenn sich die übrige Appositionszone nach längerer Alkoholextraktion entfärbt, wie z. B. nach Färbung mit den sauren gelben Teerfarben. Andererseits bleibt sie vollkommen farblos bei der progressiven Färbung mit polychromem Methylenblau und mit andern basischen Farben, welche die übrige Appositionszone färben. Dagegen färbt sie sich dunkelblau bei der simultanen Doppelfärbung mit Eosin-Methylenblau. An Querschnitten durch den harten Knorpel erscheint diese schmale Zone wie ausgefranst, indem in dieselbe sowohl collagene als auch elastische Fasern des Perichondriums einstrahlen und hier assimiliert werden.

Dies geschieht in derselben Weise, wie ich es bereits für den harten Knorpel der Flossenstrahlen von *Petromyzon marinus* geschildert habe<sup>1</sup>; nur sind die Bilder, welche man an günstig gefallenen und am besten mit saurem Orcein nach UNNA-TÄNZER gefärbten Tangentialschnitten beobachten kann, noch viel klarer, als an der genannten Stelle.

In Fig. 7 ist eine kleine Partie eines solchen Flachschnittes und zwar von der dem Knorpel zugewendeten Fläche aus gesehen dargestellt. Bei oberflächlicher Einstellung erschienen die Knorpelzellen KZ in homogene Grundsubstanz eingeschlossen; bei tieferer wurde eine eigentümliche Streifung oder Faserung der Grundsubstanz sichtbar. Die Streifen sehen stellenweise wie aus kürzeren, stäbchenartigen Gliedern, manchmal wie aus Körnern zusammengesetzt, aus,

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 137 u.f.

sind mit Orcein tief gefärbt und fassen feine, fast farblose Züge zwischen sich. Betrachtet man den Rand des Schnittes gegen die collagenen Faserzüge des Perichondriums hin, so sieht man letztere sich unmittelbar in die farblosen Züge fortsetzen, d. h. beim Eintritte der leimgebenden Bündel in die Appositionszone wird eine mit saurem Orcein stark färbbare Kittsubstanz in Gestalt unzusammenhängender Streifen abgelagert.

Während letztere naturgemäß die Verlaufsrichtung der Bindegewebsfasern einhalten, sieht man bei derselben oder bei noch tieferer Einstellung aber auch zahlreiche ganz unregelmäßig verlaufende, feine elastische Fasern, *E*, auftauchen. An andern Stellen (Fig. 8) kann man sehen, daß dieselben, *E*; in dieser Appositionsschicht zerbröckeln, zu Körnern oder Kügelchen zerfallen (*K*), welche sich Farben gegenüber zunächst ebenso verhalten, wie die interfibrilläre Kittsubstanz. An dieser Stelle sieht man auch, wie die ursprünglich (Fig. 7*K*) verhältnismäßig groben Züge der letzteren immer zarter werden (Fig. 8*F*), bis sie eben ganz verschwinden, d. h. eine mit Orcein, Hämalaaun usw. nicht färbbare Masse bilden, in welcher die leimgebenden Fibrillen unsichtbar eingeschlossen sind.

Es werden also in diese oberflächliche Appositionszone die leimgebenden und elastischen Fäserchen des Perichondriums unmittelbar aufgenommen; ich habe dieses Verhalten schon früher<sup>1</sup> und an andern Objekten<sup>2</sup> festgestellt. Seither wurde es von HANSEN<sup>3</sup> ganz allgemein bestätigt, und er hat für dieses Unsichtbarwerden der Bindegewebsfibrillen die Ausdrücke »Maskierung« oder »Hyalinisierung« des Collagen eingeführt.

Während nun die elastischen Fasern zerfallen und der Kittsubstanz beigemischt werden, ist das weitere Schicksal der leimgebenden Bündelchen nicht so sicher zu entscheiden. Daß sie in die oberflächlichste Zone ohne wesentliche Veränderungen eingeschlossen werden, scheint mir aus der Doppelbrechung dieser Schicht unter dem polarisierenden Mikroskop, welche vollkommen der Richtung der Bindegewebsbündel entspricht, hervorzugehen. Untersucht man einen Querschnitt z. B. durch das hintere Mittelstück des sog. Zungenbeins zwischen gekreuzten Nikols über einer Gipsplatte Rot I. O., so erscheint das Perichondrium und die oberflächlichste Partie des Knorpels in der zur Additionsrichtung parallelen Stellung in steigender

<sup>1</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. L. 1897. S. 187.

<sup>2</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901.

<sup>3</sup> Anat. Anz. Bd. XVI. 1899. S. 425.

Farbe, in der darauf senkrechten in sinkender. Nun läßt sich leicht nachweisen, daß die Fibrillenbündel des Perichondriums circular verlaufen, daß somit die positive Doppelbrechung der oberflächlichen Knorpelschicht offenbar auf die Aufnahme dieser Bindegewebsbündel — ein Vorgang, der an andern Knorpeln direkt nachgewiesen werden kann, und auch an den entsprechenden Stellen bei möglichst kleinen Exemplaren von *Myxine* unmittelbar zur Beobachtung kommt — zurückzuführen ist. Diese Doppelbrechung geht aber in den tieferen Lagen der Appositionsschicht verloren und tritt erst wieder im Innern der mittleren und oberflächlichen Zone auf; aber nun erscheinen die interterritorialen Grundsubstanzbalken, welche senkrecht zur Oberfläche stehen, bei der oben angegebenen Stellung in steigender, bzw. in sinkender, kurz in einer der Farbe des Perichondriums entgegengesetzten Farbe, d. h. die optische Achse liegt jetzt in der Längsrichtung der Grundsubstanzbalken, steht also senkrecht zu jener in der oberflächlichsten Lage des Knorpels.

Es fragt sich nun, ob diese Erscheinung einfach durch eine Umlagerung der leimgebenden Fasern im Innern des Knorpels erklärt werden kann, wie dies bei Knorpeln mit zweifellos fibrillärer Grundsubstanz, z. B. Rippen- oder Trachealknorpel, versucht worden ist.

Nun ist es mir mit keiner der gebräuchlichen Methoden gelungen, im harten Knorpel von *Myxine* — allerdings stand mir nur konserviertes Material zur Verfügung — Fibrillen nachzuweisen. Sollte ein solcher Nachweis auch an frischem Material nicht gelingen, was mir sehr wahrscheinlich erscheint, dann bliebe nur die eine Erklärung, daß in den von der Oberfläche entfernteren Lagen des Knorpels auch die leimgebenden Bündel aufgelöst und als amorphes Collagen der Grundsubstanz beigemischt werden. Die Polarisationserscheinungen würden sich dann einfach durch die Spannungsverhältnisse erklären.

Aber selbst in jenen Fällen, wo eine fibrilläre Struktur der Grundsubstanzbalken im Innern des Knorpels nachzuweisen ist, muß man es für wahrscheinlicher halten, daß diese Fibrillen neuentstandene, durch den orientierten Wachstumsdruck ausgeprägte sind, als daß es sich dabei um eine einfache Umlagerung der Faserbündel des Perichondriums handle. Gegen letztere Erklärung spricht schon der Umstand, daß die Fibrillen der Knorpelgrundsubstanz sich stets durch isolierten Verlauf und große Feinheit auszeichnen, während in die Appositionszone eines wachsenden Knorpels zunächst die zu dickeren Bündeln vereinigten Fibrillen des Perichondriums aufgenommen werden.

Diese oberflächliche Appositionszone umgibt nun die eingeschlos-

senen Zellen (Fig. 4 und 5 *OZ*) wie eine einheitliche Masse, setzt sich aber von den Spitzen der Zwickel und Zacken in Form zarter, nach rascher, regressiver Eosinfärbung rosa gefärbter Trennungslinien (Fig. 5 *IT*) zwischen die Zellhöfe und -bezirke der tieferen Lagen fort.

Sämtliche Färbeversuche ergaben ein vollständig übereinstimmendes Verhalten zwischen dieser oberflächlichen Lage und der interterritorialen Substanz im Innern des Knorpels; nur muß betont werden, daß die färberische Übereinstimmung hauptsächlich nur an den Zwickeln sinnfällig zur Beobachtung kommt. Die am Schnitte linienartigen Scheidewände (Fig. 5 *IT*) in der äußeren Zone zeigen nie eine scharfe Färbung, sondern sind oft nur durch ihr schwächeres Lichtbrechungsvermögen wahrnehmbar und dies auch nur dann, wenn sie durch den Schnitt rein senkrecht getroffen erscheinen. Vielfach schieben sich die Begrenzungsflächen der Zellhöfe schief übereinander; dann sind die dünnen, trennenden Lamellen überhaupt nicht wahrnehmbar.

Was ist nun die Bedeutung dieser zarten, interterritorialen Scheidewände und wie entstehen dieselben?

Wie schon erwähnt, erzeugen die ursprünglich ganz flachen Zellen der Appositionszone bei ihrem Wachstum hyaline Höfe um sich (Fig. 4 und 5 *H*), welche bei der raschen Eosinfärbung ungefärbt bleiben, mit Pikrofuchsin sich gelb färben und durch deren weiteres Wachstum die dazwischen gelegene Substanz in Gestalt von Zwickeln und immer dünner werdenden Scheidewänden nach innen verlagert wird. So bleibt zwischen den tiefer rückenden Zellhöfen und den aus diesen durch Teilung hervorgehenden Zellbezirken im Innern des Knorpels ein zartes Alveolenwerk leicht imbibierbarer Scheidewände, das demnach als Rest der Appositionszone anzusehen ist, mit der es unmittelbar zusammenhängt und das gleiche mikrochemische Verhalten teilt.

Dieselben Verhältnisse konnte ich schon an den Kopfkorpeln der Neunaugen feststellen<sup>1</sup>, nur sind sie bei *Myxine* noch viel klarer und ausgesprochener.

Es fragt sich nun aber, ob die gesamte Interterritorialsubstanz in ihrer Entstehung auf das Tieferrücken und Gedehntwerden dieser oberflächlichen Appositionslage im Verlaufe des Dickenwachstums des Knorpels zurückzuführen ist? Für das Zustandekommen der zarten interterritorialen Scheidewände in den peripheren Lagen des Knorpels muß man wohl auch die Möglichkeit einer sekundären Ab-

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 625.

grenzung wachsender und sich teilender Zellhöfe im Auge haben, da man nicht selten scharf begrenzte zweizellige Territorien sieht, in denen eine zarte, wie im Entstehen begriffene Scheidewand die zukünftige Sonderung in zwei selbständige, einzellige Bezirke ahnen läßt (Fig. 1I). Daß auf diese Weise in Zusammenhang mit den alten Scheidewänden neue im Innern des Knorpels entstehen, kann nach den Schilderungen, welche bereits VOGELPOEL<sup>1</sup> an andern Objekten gegeben hat, nicht bezweifelt werden.

Demnach müssen wir für die zarten interterritorialen Grundsubstanzzüge zwei verschiedene Entstehungsweisen annehmen, von denen die zweite allerdings nur eine untergeordnete Rolle spielt. Einmal wären sie als Reste der oberflächlichen, gemeinsamen Appositionslage (primärer Kitt- oder Grundsubstanz) anzusehen, und zweitens könnten sie durch eine eigentümliche Zustandsänderung aus der Substanz der äußeren Zellhöfe dort entstehen, wo sich ein zweizelliges Territorium in zwei einzellige teilt.

Daß an der Oberfläche der Zellhöfe eine eigentümliche Zerbröckelung oder körnige Beschaffenheit zu bemerken ist, habe ich schon erwähnt.

Während aber diese interterritorialen Scheidewände in den oberflächlichen Lagen meist so zart sind, daß sie nur bei schiefer Beleuchtung oder gewissen Färbungen hervortreten (Fig. 4 und 5IT), sind sie in den mittleren Partien des Knorpels breiter, besitzen mächtige Zwickel und sind daher schon am ungefärbten Objekt deutlich wahrnehmbar (Fig. 1IT). Es ergibt sich daher die weitere Frage, ob letztere Bildungen gleichwertig sind mit den zarten Alveolenwänden der primären Kittsubstanz in den oberflächlichen Lagen.

Wenn die hier entwickelte Vorstellung von dem Zustandekommen des größten Teils des zarten interterritorialen Alveolenwerks durch Dehnung und dadurch bedingte Verdrängung der oberflächlichen, reichlichen Kittsubstanzlage von seiten der wachsenden Zellhöfe richtig ist, so wird man die gestellte Frage von vornherein verneinen müssen, da ja der Wachstumsdruck in den mittleren Partien des Knorpels, wo die Zellen am größten sind, ebenfalls auch am größten sein muß. Demnach müßten hier die Scheidewände am dünnsten sein, wenn sie nicht eine Verstärkung von außen, entweder durch intussusceptionelles Wachstum oder auf andre Weise erhalten. Daß dies nun in der Tat der Fall ist, kann man am harten Knorpel von *Myxine*

---

<sup>1</sup> l. c.

durch direkte Beobachtung feststellen; so führt uns diese Frage zur Besprechung der Rück- und Umbildungserscheinungen in diesem Knorpelgewebe.

Bei der verhältnismäßig geringen Entwicklung der Grundsubstanz und der scharf ausgeprägten territorialen Gliederung in diesem Knorpelgewebe, ist die Tatsache, daß sich innerhalb desselben in ausgedehntem Maße Rückbildungsvorgänge abspielen, die stets von den Zellen ausgehen und sekundär auch auf die Grundsubstanz übergreifen, leicht festzustellen. Schwerer ist es, sich im einzelnen Falle ein klares Bild zu machen, wie diese regressiven Prozesse in ihren einzelnen Phasen sich aneinander schließen und ablaufen, da man hier auf die Kombination, die ja immer etwas Subjektives ist, angewiesen bleibt. Einzelne Bilder sind allerdings so eindeutig und klar, daß die Aneinanderreihung derselben zum physiologischen Vorgang sich dem Beobachter von selbst aufdrängt.

Zunächst findet man in den mittleren Partien sämtlicher harter Knorpel, besonders deutlich an Durchschnitten durch das »Zungenbein«, die Schädelbalken und durch jene isolierte Knorpelgräte, welche ventral zwischen den gespaltenen Wurzeln des großen Zungenlängsmuskels liegt<sup>1</sup>, an Stelle des kernhaltigen Zellkörpers eine stark lichtbrechende Masse von feinen oder gröberen Körnchen (Fig. 1 Z', Fig. 6 dK), welche die Zellhöhle vollkommen ausfüllt. Sie färbt sich intensiv mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde, aber auch mit Hämalaun; Färberversuche mit Anilinfarben ergaben im allgemeinen ein übereinstimmendes Verhalten dieser in Umwandlung begriffenen Zellen mit der oberflächlichen Appositionsschicht der primären Kittsubstanz; einige Reaktionen lassen jedoch auf das deutlichste einen Unterschied zwischen beiden Substanzen erkennen. So färbt sich mit rektifiziertem Methylenblau die Oberflächenzone grünlich, die körnige Masse der degenerierenden Zellen intensiv dunkelblau; legt man Freihandschnitte des in Alkohol gehärteten Knorpels auf 12—24 Stunden in 1%ige wässrige Safraninlösung und wäscht man längere Zeit in Wasser, das mit einem Tropfen Essigsäure versetzt worden war, oder auch einfach in 95%igem Alkohol aus, so erscheint die Oberflächenzone farblos, die Intercellularsubstanz mit Ausschluß der Kapseln intensiv scharlachrot und zwar am stärksten unmittelbar an der Oberflächen-

<sup>1</sup> Vgl. J. MÜLLER, l. c. 1834, S. 117. — AYERS and JACKSON, Journ. of Morphol. Vol. XVII, Taf. XXII, Fig. 6 *ci*. Diese Autoren bezeichnen dieses Stück aber nicht als Knorpel, sondern als blasiges Stützgewebe (l. c. S. 112); siehe weiter unten.

zone, die körnigen Massen dagegen metachromatisch dunkel- bis schmutzviolett gefärbt. Färbt man hingegen progressiv in stark verdünnter Safraninlösung (einen Tropfen einer 1%igen wässrigen Lösung auf 20 cem Wasser) 24 Stunden, so bleibt die Oberflächenzone farblos, die körnigen Zellmassen erscheinen braungelb bis orange gefärbt. Ähnlich erscheinen sie nach progressiver Färbung in stark verdünnter Thioninlösung (1:50000) metachromatisch rot gefärbt, die Appositionszone bleibt farblos. Bei der raschen Eosinfärbung, wobei die Oberflächenzone so scharf gefärbt erscheint, bleiben die körnig umgewandelten Zellmassen ungefärbt.

Dieselben metachromatischen Färbungen zeigt der später zu besprechende weiche Knorpel; da derselbe auch allen andern Färbungen gegenüber die gleiche Reaktion gibt, wie die in Umwandlung begriffenen Zellen, so darf man diese körnigen Massen wohl als vorwiegend aus Chondromucoid bestehend betrachten. Daß es sich nicht um eine schleimige Metamorphose schlechtweg, also um gewöhnliches Mucin handelt, beweist die Färbung mit Hämalau, der wohl Chondromucoid, nicht aber das Mucin der Becherzellen, der Schleimsäcke, der Sublingualis usw. färbt und das Verhalten gegen P. MAYERS Mucikarmin<sup>1</sup>, welches ein empfindliches Schleimfärbemittel ist, diese körnig degenerierenden Knorpelzellen jedoch ungefärbt läßt.

Sehr deutlich treten die degenerierten Zellen bei einer Doppelfärbung mittels Hämalau und Kongorot<sup>2</sup> hervor (Fig. 6), wobei der Körper der normalen Zellen braunrot, der der degenerierenden dunkelblau gefärbt erscheint, während die Grundsubstanz farblos bleibt bis auf die Kapseln und eine zarte Färbung des interterritorialen Alveolenwerkes. Auch Färbung mit saurem Orcein nach UNNA-TÄNZER u. a. hebt die fraglichen Zellen deutlich hervor.

Die körnige Metamorphose des Protoplasmas ist jedoch nicht das Primäre; die ersten Veränderungen spielen sich am Kern der Knorpelzelle ab. Am häufigsten verliert derselbe zuerst seine Kernmembran, der Inhalt derselben verdichtet sich und wandelt sich um in eine homogene, intensiv mit Kernfärbemitteln färbbare Masse,

<sup>1</sup> Über Schleimfärbung. Mittheil. aus der Zool. Station zu Neapel. XII. Bd. 2. Heft. 1896.

<sup>2</sup> Die Schnitte werden nach der Färbung in Hämalau gut ausgewaschen und kommen dann auf 2—3 Minuten in eine 1%ige wässrige Lösung von Kongorot. Aus diesem direkt in starken Alkohol und von da, wenn das Celloidin fast ganz entfärbt ist, auf den Objektträger zum Aufhellen. Alkoholmaterial eignet sich am besten; Überfärbung mit Hämalau beeinträchtigt das Bild.

wobei der ganze Kern kleiner wird (Fig. 9 *K* und 20 *dK*); endlich verliert er seine Färbbarkeit mit Hämalaun, nimmt dagegen Eosin, Kongorot lebhaft auf, bis er sich schließlich auflöst.

Im Protoplasma bemerkt man zunächst ein deutliches Hervortreten des Strang-Wabenwerkes, welches sich stark mit basischen Farben färbt — mit einzelnen derselben metachromatisch — und eine beträchtliche Vermehrung der basophilen Körnchen zeigt (Fig. 9), bis schließlich die Zelhöhle nur von einer Unmasse gröberer oder feinerer Körnchen, die, wie es in andern Fällen zu beobachten ist, schließlich zu einer homogenen Masse verfließen, erfüllt erscheint. Das weitere Schicksal dieser so veränderten Zellen gestaltet sich nun verschieden und ich muß betonen, daß jedes der untersuchten Exemplare von *Myxine* in dieser Hinsicht Besonderheiten gezeigt hat, so daß es fast den Eindruck macht, als hinge die Art und Weise der ferneren Umbildung der Zellen von der Größe bzw. dem Alter der Tiere ab. Die im folgenden zu beschreibenden Vorgänge wurden an vielen Hunderten von Schnitten, teilweise auch Serien verschiedener Exemplare erhoben.

Einmal kann der Verschleimungsprozeß, welcher die Zelle ergriffen hat, fortschreiten und die Kapsel (Fig. 1 *Z'*) endlich auch den inneren und äußeren Zellhof ergreifen. Diese Teile der Grundsubstanz können dabei, wie die Zelle, in einen Detritus stark basophiler Körnchen umgewandelt werden; an Freihandschnitten durch den Knorpel, bei denen diese weiche Ausfüllungsmasse leicht herausgerissen werden kann, findet man dann nicht selten Lücken in der Grundsubstanz, welche Größe und Form des eingeschmolzenen oder umgewandelten Zellbezirkes zeigen und von normalen Zellhöfen bzw. interterritorialen Scheidewänden begrenzt werden (man vgl. Fig. 18 *ZT*). Manchmal können solche Lücken eine auffallende Größe erreichen, wenn nämlich mehrere benachbarte Zellbezirke gleichzeitig eingeschmolzen werden, wobei dann meist auch die dieselben trennenden interterritorialen Scheidewände, wenigstens teilweise, schwinden. Solche Löcher erinnern dann mit ihrer buchtigen, etwas unregelmäßigen Begrenzung an kleine SHARPEYSche Räume im Knochen.

An Schnitten durch gut eingebetteten Knorpel findet man sie stets von den geschilderten chondromucoiden Körnchen oder Tröpfchen ausgefüllt, zwischen welche spangenartig Reste der interterritorialen Scheidewände hineinragen können (Fig. 12 *Sch*).

In andern Fällen zerfallen die Zellhöfe nicht körnig, sondern nehmen nur die intensive Färbbarkeit mit Hämalaun, saurem Orcein usw.

an, als ob sie von der flüssigen, chondromucoiden Masse durchtränkt würden.

Man findet dann zwischen Zellhöfen von normaler Färbbarkeit Partien der Grundsubstanz von der Form sphärischer Polygone (Fig. 6 *ZH* und 13 *ZW*), welche sich intensiv mit Hämalaun, saurem Orcein usw. färben. Auch bei der raschen Färbung mit Eosin oder Safranin treten diese Höfe hervor, während die Zellen bzw. die chondromucoiden Umwandlungsprodukte derselben farblos bleiben. Umgekehrt bleiben die homogenen Höfe ungefärbt bei der progressiven Färbung mit Thionin oder Methylenblau, während sich die in Metamorphose befindlichen Zellen lebhaft färben.

Diese Höfe erscheinen dann wie auffallend große Zwickel der interterritorialen Substanz, welche Zellreste verschiedener Form einschließen (Fig. 2 *ZR* und 14 *ZR*).

Sehr eigentümliche Bilder fand ich bei einigen Exemplaren von *Myxine* im hinteren Abschnitt des harten »Zungenbeins«; dieselben sind geeignet, die feineren Vorgänge bei der erwähnten chondromucoiden Metamorphose der Zellhöfe, besonders die Rolle, welche die Knorpelzellen dabei spielen, in überraschender Weise zu beleuchten.

Kurz gesagt, handelt es sich um das Austreten von chondromucoiden Massen in Form von Tröpfchen und aus solchen zusammengesetzten Fäden aus den umgewandelten Zellen durch die Kapsel in den Zellhof und Durchtränkung der letzteren mit diesen Massen.

Die Bilder, aus welchen auf diese Vorgänge geschlossen werden muß, sind auch in bezug auf die sog. Saftbahnfrage von Interesse, weil sie zeigen, daß diese Knorpelgrundsubstanz für flüssige Massen durchgängig ist, etwa wie das amorphe, schnittfähige, in 80% Alkohol erstarrte Celloidin, von dem ich<sup>1</sup> zeigen konnte, daß es außer für Alkohol auch für Wasser, Säuren und Salzlösungen ohne weiteres in jeder Richtung durchdringbar ist, ohne dabei irgendwelche wahrnehmbaren Veränderungen zu erleiden.

Daher sollen die genannten Bilder etwas eingehender beschrieben werden.

Da sei vor allem betont, daß diese Bilder nur durch ganz bestimmte Färbemethoden hervortraten, bei andern vollkommen unsichtbar oder wenigstens erst wahrnehmbar waren, als ich schon Kenntnis davon besaß.

Differenziert man einen mit wässriger Safraninlösung (1%, durch

<sup>1</sup> Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XIX. 1902. S. 462.

mehrere Stunden) gefärbten Schnitt längere Zeit (über Nacht) in mit Essigsäure angesäuertem Wasser, so entfärbt er sich ganz bis auf die in körniger, chondromucoider Metamorphose befindlichen Zellen. Diese zeigen eine violette metachromatische Färbung und treten dadurch sehr deutlich auf dem farblosen Grunde hervor. Untersucht man solche Schnitte in Glyzerin-Wasser, so zeigt ein Teil der in Metamorphose befindlichen Zellen scharfe, glänzende und anscheinend homogene Kapseln, welche vollkommen von der körnigen Masse ausgefüllt werden. Andre jedoch lassen körnige, an Pseudopodien erinnernde Fortsätze erkennen, welche in großer Zahl die Kapsel ihrer ganzen Dicke nach durchsetzen und über dieselbe hinaus noch in den Zellhof zu verfolgen sind. Hier lösen sie sich oft in einzelne oder zu Ketten lose vereinigte Körner oder Tröpfchen auf.

Während in den Anfangsstadien diese körnigen Fäden die Kapsel nur um ein Weniges überschreiten, findet man sie später oft einseitig das ganze Zellterritorium durchsetzen und bis an die begrenzende interterritoriale Substanz reichen. Dabei verbinden sie sich zu unregelmäßigen, knotigen Netzen. Leider sind solche Präparate nicht dauernd aufzubewahren; in Alkohol entfärben sich die geschilderten Bildungen und können nicht mehr wahrgenommen werden. Wohl aber gelang es mir, dieselben nach Färbung mit Methylblau (36 Stunden in maximal verdünnter oder kurze Zeit in 2%iger Lösung) durch Alkohol in Lack zu überführen.

Nach solchen teils in Dammarharz, teils in Kolophonium eingeschlossenen Präparaten sind die Fig. 10—12 gezeichnet, zu deren Erklärung mir einige Worte gestattet seien.

Fig. 10 stellt eine Zellhöhle aus der äußeren Zone des harten Knorpels dar, welche an Stelle der Zelle eine chondromucoide Masse *dZ* enthält, von der nach der einen Seite lange, knotige Fortsätze mit verbreiteter Basis ausgehen, welche fein zugespitzt enden (*KF*) oder sich in einzelne Tröpfchen (*T*) auflösen. Diese Fortsätze erscheinen ebenso stark gefärbt wie die Inhaltsmasse der Zellhöhle. Das Bild macht den Eindruck, als ob hier ein Ausströmen der chondromucoiden Substanz unter einem im Innern der Zellhöhle herrschenden gesteigerten Druck stattfände. An der gegenüberliegenden Seite ist die Kapsel *K* noch als heller Saum sichtbar; derselben liegt dicht der zu einem flachen Kugelschalensegment verdrückte Rest einer ebenfalls chondromucoid umgewandelten Schwesterzelle (*H*) auf.

Die nächste Fig. 11 zeigt eine größere solche Zellhöhle aus der Mitte des harten Knorpels. Die chondromucoide Masse dringt hier

an einem kleineren Teil des Umfangs in Gestalt kurzer, kegelförmiger Fortsätze *KF* in den Zellhof; im übrigen Bereiche der Oberfläche bildet sie ein teils weit-, teils engmaschiges Netz von höchst unregelmäßiger Gestalt. Die Fäden desselben erscheinen bald mit größeren, zusammenfließenden (*KN*), bald mit feineren Tröpfchen besetzt und hängen oft nur mehr durch dünne Brücken mit der Masse innerhalb der Höhle zusammen.

Fig. 12 endlich zeigt eine größere, chondromucoide umgewandelte Zellgruppe, in der die Scheidewände *Sch* besonders stark gefärbt, noch teilweise hervortreten. Die nach außen gedrungene chondromucoide Masse hat unmittelbar um die Zellgruppe ein homogenes Aussehen angenommen (*hH*) und färbt sich nicht mehr so stark wie die Masse innerhalb der Zellhöhlen. Weiter nach außen löst sich diese homogene Zone wieder in vorwiegend radiär gestellte knotige Fäden und einzelne Tröpfchen *T* auf, welche bis zu den nächsten interterritorialen Scheidewänden reichen.

Ich habe hier nur einige der markantesten Bilder beschrieben; dieselben, wie zahlreiche noch zur Beobachtung gelangende Zwischenstadien sprechen jedoch dafür, daß die oben erwähnten basophilen Zellterritorien in der Weise entstehen können, daß zuerst die Knorpelzelle als Ganzes eine chondromucoide Verflüssigung erfährt, dann diese Masse auch in die Nachbarschaft dringt und dieselbe bis zu den Grenzen des Territoriums zunächst in Gestalt einfacher (radiäre Fortsätze), dann komplizierterer Strömungsfiguren (Netze) durchsetzt.

Diese Netze verfließen dann zu homogener, die Zellhöfe gleichmäßig durchtränkender Masse, wodurch auch die Basophilie der ersteren bedingt erscheint. Diese ist aber beeinflusst von der Substanz der Zellhöfe selbst, wodurch die besprochene mikrochemische Verschiedenheit der chondromucoiden Masse innerhalb der Zellhöhle und der polygonalen Höfe um dieselbe leicht erklärlich scheint. So entstehen Bilder, wie sie in Fig. 6 *dK*, *ZH* dargestellt sind.

In andern Fällen kann aber auch, wie ich nochmals hervorhebe, der ganze Zellhof dieselbe chondromucoide Verflüssigung erfahren, wie die Zelle selbst (Fig. 18).

Verfolgt man das Schicksal der in chondromucoide Massen umgewandelten Zellen und der dieselben umgebenden erweichten basophilen Höfe weiter, so lassen sich bei Beachtung der verschiedensten Zwischenstadien zwei wesentlich verschiedene Vorgangsreihen feststellen, welche aber zu demselben Endergebnis, nämlich zur Umwandlung

der metamorphosierten Zellen oder des ganzen Zellterritoriums in Grundsubstanz führen.

Einmal kann man sehen, daß die basophilen Territorien samt ihren Zellresten durch den Wachstumsdruck der umgebenden normalen Zellgebiete eingeengt, kleiner werden, so daß sie wie zwickelartige Verbreiterungen der interterritorialen Scheidewände erscheinen (Fig. 13 *ZW*). Die chondromucoiden Massen der Zellreste werden ebenfalls kleiner, wie es scheint, durch allmähliche Umwandlung in Grundsubstanz; doch bewahren sie eine Zeitlang ihre rundliche Form innerhalb des basophilen Zellhofes oder Zwickels. Bei weiterem Vorschreiten der Assimilation stellen sie nur mehr kernähnliche Reste (Fig. 14 *ZR*) von feinkörniger Beschaffenheit und stärkerer Basophilie dar. Endlich verlieren sie auch diese und sind in den Zwickeln kaum mehr wahrnehmbar (Fig. 2 *ZR*); letztere selbst werden immer mehr zu einfachen, interterritorialen, aber besonders scharf hervortretenden Scheidewänden verdrückt (Fig. 1, 2, 13 *IT*).

Dieser Vorgang, bei dem also ganze Zellen mit ihren Höfen in interterritoriale Substanz umgewandelt werden, spielt sich hauptsächlich in den centralen Partien der Knorpel ab und hängt offenbar damit die hier zu beobachtende scharfe Abgrenzung der Zellbezirke zusammen.

Diese letztere war auch wohl der Grund, daß KÖLLIKER diesen Knorpel nur aus »Zellen« mit verdickten Wänden zusammengesetzt sein ließ.

Die in chondromucoide Masse umgewandelten Zellen können aber auch eine ganz andre Metamorphose erleiden, welche deshalb von besonderem Interesse ist, weil sie zeigt, daß im Knorpel amorphe, von Zellen gelieferte, aber auch durch Auflösung von Grundsubstanz entstandene Massen einer selbständigen Weiterentwicklung und mikrochemischen Umwandlung fähig sind.

Die chondromucoiden Körnchen oder Tröpfchen beginnen innerhalb der alten Zellhöhle oder, wenn auch die Kapsel und der Zellhof verflüssigt waren, innerhalb des alten Zellhofes und zwar meist von der Wandung der Höhle aus zu größeren Kügelchen und aus solchen zusammengesetzten Balken zusammenzufließen. Diese Kügelchen nehmen an Größe und Zahl immer mehr zu (Fig. 18, 19 *HK*), bis sie zuletzt nur mehr von dünnen Oberflächenschichten chondromucoider, d. i. mit Hämalan, saurem Oreein usw. färbbarer Substanz getrennt sind, während die Kügelchen selbst — und dies ist das Merkwürdigste — ihre intensive Färbbarkeit mit diesen

Farbstoffen, also ihren chondromucoiden Charakter, verlieren und allmählich Färbbarkeit und Aussehen der harten, oxyphilen Grundsubstanz annehmen<sup>1</sup>.

Man findet dann Zellterritorien oder Zellhöhlen von normaler Größe, welche von einem unregelmäßigen (Fig. 20*m*) oder von runden Lücken, die noch chondromucoide Masse enthalten, unterbrochenem Balkenwerk (Fig. 21*hB*) mehr oder minder vollkommen ausgefüllt werden.

Endlich schließen sich die Lücken des Balkenwerks (Fig. 21*R*, Fig. 22*H*) durch Umwandlung der letzten Chondromucoidkörner vollständig und an Stelle der früheren Zelle oder des Zellhofs findet man hyaline harte Grundsubstanz, welche sich zunächst noch durch einen zarten, stärker färbaren Kontur (Fig. 21*ZH*) gegen die Umgebung abgrenzt. Derselbe wird immer blässer und zarter (Fig. 22*IT*); schließlich schwindet diese Grenzlinie ganz und man findet ein großes zellenloses Feld hyaliner Grundsubstanz. Damit ist aber die Mannigfaltigkeit der sekundären Umwandlungsvorgänge, welche sich in diesem Knorpel abspielen, nicht erschöpft.

In den oberflächlichen Partien der harten Knorpel wandeln sich auch zahlreiche Zellen in Grundsubstanz um, ehe sie ein bedeutenderes Wachstum erreicht haben, indem Kern und Protoplasma zu einer homogenen, oft stark lichtbrechenden Masse werden, welche ebenso wie die Kapsel allmählich ihre Färbbarkeit verliert (Fig. 5*Z'*) und nach und nach der Grundsubstanz einverleibt wird. Dieser Vorgang unterscheidet sich von dem früher geschilderten hauptsächlich dadurch, daß an den Zellen keine so auffallenden Umwandlungen vorhergehen, wie es die chondromucoide Metamorphose ist, wenn sich im einzelnen die feineren Veränderungen auch verschieden gestalten können.

Der Kern kann nach Schwund seiner Membran zu einer netzförmigen, mit DELAFIELDS Hämatoxylinmischung schwach färbaren Bildung im Protoplasma sich auflösen oder man findet in letzterem noch ein oder das andre färbare Korn als Rest des Kerns (Fig. 20*a*). Weiter wird die Grenze zwischen Protoplasmakörper und Kapsel immer verwaschener, indem beide Bildungen das gleiche Lichtbrechungsvermögen annehmen und allmählich verfließen. Dieser

<sup>1</sup> Dieser Vorgang scheint ganz ähnlich dem zu sein, welchen HANSEN (Anat. Anz. Bd. XVI, 1899, S. 432) in Kehlkopf- oder Trachealknorpeln vom Kalbe schildert: »Es verwandelt sich dann ein Teil . . . des Chondromucoids . . . in einen unlöslicheren Eiweißkörper — in Albumoid (am häufigsten in Körnerform).«

ganze Prozeß kann am besten als ein Verdämmern der Zellen in der Grundsubstanz gekennzeichnet werden. Der Kern kann aber auch seine rundliche Form zunächst bewahren, nur verliert er jegliche Struktur und Färbbarkeit; dieselbe Veränderung zeigt das Protoplasma: die ganze Zelle scheint zu einer sklerosierten Masse zu erstarrten. So entstehen jene oben (S. 183) erwähnten Zellen in der äußeren Zone des Knorpels, welche jegliche Färbung ablehnen und schon dadurch deutlich zwischen den normalen hervortreten. Diese Gebilde sind es aber auch, welche an Alkoholknorpeln fast regelmäßig beim Lackeinschluß Luftansammlungen mit großer Zähigkeit festhalten. Diese offenbar bei der Entwässerung der Schnitte entstehenden Kunstprodukte sind insofern von einigem Interesse, als sie einmal auf die besondere Dichtigkeit der sie umschließenden Teile hinweisen und dann durch ihre verschiedene Form Struktureinheiten deutlicher hervorheben.

Oft scheinen diese Gasansammlungen als größere Blasen die ganze Zellhöhle zu erfüllen; in andern Fällen kennzeichnen sie als zarte dunkle Linien oder Bläschenreihen den Umfang der sklerosierten Zellmasse; endlich kann man in der Mitte eines Zellhofes von normaler Größe eine Gasansammlung in Gestalt unterbrochener sichelförmiger Segmente als letzte Andeutung der Zellgrenzen wahrnehmen. Fast stets decken diese Gasansammlungen auch einen wabigen oder feinporigen Bau der zu Grundsubstanz verdämmern Massen auf (Fig. 16).

Manchmal zeigen schon größer gewordene Zellen aber auch einen konzentrischen Schwund, indem sich auf ihre Kosten um sie eine zarte konzentrische Schichtung in der Grundsubstanz ausbildet (Fig. 3 Z<sup>2</sup>), welche den Zellrest immer mehr einengt, bis er ganz verschwindet. Nach Färbung mit Pikrofuchsin kann man dann ganz solide Zellterritorien sehen, deren centraler Teil eine konzentrische Schichtung von abwechselnd gelb und rot gefärbten Lagen zeigt.

Nicht selten sieht man nun auch zwischen diesen konzentrischen Schichten feinste Gasbläschen, ja selbst in den zarten interterritorialen Linien, welche das Territorium solcher verdämmern Zellen begrenzen. Auch hier decken diese Gasansammlungen wieder einen feinwabigen Bau auf (Fig. 16 *IT*).

In Fig. 15 habe ich einen sehr ausgesprochenen Fall eines solchen konzentrischen Schwundes einer Zelle im Anfangsstadium abgebildet. Die Zelle *KZ* zeigt zwei kleine kernartige Gebilde, welche sich aber nicht mehr deutlich färben. Die Kapsel *K* hat ihre

natürliche Spannung verloren und erscheint wie durch einen Druck von außen unregelmäßig eingestülpt und mit dem verbreiterten inneren Zellhof *IH* zusammengefloßen. Dieser, noch deutlicher aber der äußere *AH* zeigen eine konzentrische Schichtung, indem im letzteren zarte, mit Pikrofuchsin rot färbbare Linien mit breiteren gelb gefärbten Linien abwechseln.

Endlich kann der Schwund einzelner Zellen oder selbst größerer Zellgruppen durch den Wachstumsdruck der Umgebung gefördert werden.

Im ersteren Falle kann man sehen, daß eine Zellhöhle durch vordringende Grundsubstanz einseitig eingestülpt erscheint zu einem sichel- oder halbmondförmigen Spalte (vgl. Fig. 31 bei *G*, welche allerdings nicht den harten Knorpel betrifft); in der Regel wird die Zellhöhle samt Inhalt durch das energische Wachstum einer Nachbarzelle, die zugleich meist Schwesterzelle ist, zusammengepreßt und zum Schwunde gebracht (Fig. 4, Fig. 17 *H*).

In gewissen Stadien dieses Vorganges findet man dann der Kapsel (Fig. 10, 20 *H*) oder dem Zellhof (Fig. 14 *ZR*) normaler Knorpelzellen halbmond- oder calottenförmige Reste angelagert, die mir in Analogie zu stehen scheinen mit jenen von SOLGER in der Nasenscheidewand beim Schaf<sup>1</sup> und im Rippenknorpel des Menschen<sup>2</sup> beschriebenen Gebilden. Wenn SOLGER seine »Halbmonde« in die Wandung, d. h. Kapsel der Knorpelhöhle eingesprengt sein läßt, während ich sie der Kapsel aufsitzend finde, so beruht dies auf der abweichenden Auffassung SOLGERS von dem, was als Knorpelkapsel zu bezeichnen ist. Auf die Deutung, welche SOLGER seinen »Sicheln« gegeben hat, hoffe ich an andrer Stelle eingehen zu können.

Zuletzt sei noch eines eigentümlichen Beispielles Erwähnung getan, wie durch den Wachstumsdruck der Umgebung größere Zellmassen im harten Knorpel zugrunde gehen, ohne vorher eine chondromucoide Umwandlung erfahren zu haben.

An Querschnitten durch das vordere Seitenstück des sog. Zungenbeins (siehe weiter unten) fand ich wiederholt in der Mitte eine große Anzahl von Knorpelzellen auf dem Wege der Umwandlung in Grundsubstanz (Fig. 23 *hK*), wobei sie sämtlich zu länglichen Gebilden, senkrecht zur Oberfläche der Knorpelplatte abgeflacht erschienen.

<sup>1</sup> Über pericelluläre und intracelluläre Ablagerungen im Hyalinknorpel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIV. 1891. S. 408.

<sup>2</sup> Über Rückbildungserscheinungen im Gewebe des hyalinen Knorpels. Ebendort. Bd. XLII. 1893. S. 650 u.f.

Ein Teil der bereits flachgedrückten Zellen zeigte homogenisierte, stark färbare Kerne ( $dK$ ), die Mehrzahl ließ einen Kern überhaupt nicht mehr erkennen und grenzte sich auch gegen die Intercellularsubstanz nur mehr undeutlich ab ( $hK$ ). Auf diese Weise entstand in der Mitte dieses Knorpelstückes eine größere Masse von Grundsubstanz, in der Zell- und Kapselreste nur mehr schattenhaft wahrnehmbar waren.

Das Ganze erinnert einigermaßen an die Bilder, welche man z. B. gelegentlich an Querschnitten durch die Schädelechora von *Ammocoetes* sehen kann, wo es auch unter dem Wachstumsdruck der Umgebung zur Homogenisierung ganzer Zellen in der Achse und zur Zusammenpressung derselben zu einer Art soliden Chordastranges kommt. Man vergleiche in dieser Hinsicht auch die Textfig. 6, S. 443 bei STUDNIČKA<sup>1</sup>, welche ein ähnliches Verhalten in der Chorda von Aallarven darstellt.

Die Umwandlung von Protoplasma in Grundsubstanz ist bekanntlich zuerst von M. SCHULTZE<sup>2</sup> und E. BRÜCKE<sup>3</sup> nachdrücklich betont worden. Ersterer hat die konzentrischen Ringe um die Knorpelzellen, welche er bereits besonders schön im Kopfknochen der *Myxine* sah, sowie die Knorpelkapsel auf diese teilweise Umwandlung von Protoplasma zurückgeführt.

Auch BEALE<sup>4</sup> vertrat diese Ansicht, unabhängig von den deutschen Autoren, indem er seine »Keimsubstanz« (Protoplasma) sich in die »geformte Substanz« (Intercellularsubstanz) umwandeln läßt. Speziell im Knorpel<sup>5</sup> beschreibt er zwischen den normalen rundlichen Zellen solche von halbmondförmiger oder unregelmäßig knorrriger Gestalt, welche ganz unmerklich übergehen in Grundsubstanz. Diese Umwandlung in die durchscheinende, mit Karmin nicht färbare Masse, kann auch mitten im Protoplasma einer Zelle beginnen und zuletzt schwindet der letzte Rest, oder es deuten nur wenige Körnchen, um welche die Grundsubstanz eine konzentrische Schichtung zeigt, auf die stattgehabte Umwandlung von »Keimsubstanzen«.

Ohne hier näher auf die ungemein verwickelte Geschichte der Anschauungen über Knorpelgrundsubstanzbildung eingehen zu wollen, erinnere ich nur daran, daß HENLE und REICHERT der Auffassung dieser Autoren ziemlich schroff entgegengetreten; besonders letzterer<sup>6</sup> hält daran fest, daß die Grundsubstanz in

<sup>1</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903.

<sup>2</sup> Über Muskelkörperchen und das, was man eine Zelle zu nennen habe. Arch. f. Anat., Phys. u. wiss. Med. Jahrg. 1861.

<sup>3</sup> Die Elementarorganismen. Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien. Bd. XLIV. II. Abth. 1861. S. 381.

<sup>4</sup> On the structure and growth of the tissues. Arch. of med. Vol. II. 1861. Sect. VI. — Deutsche Übersetzung von V. CARUS. Leipzig 1862. S. 122 u. f.

<sup>5</sup> On the formation of the so called intercellular substance of cartilage and of its relation to the so called cells, with observations upon the process of ossification. Quart. Journ. micr. sc. N. S. Vol. III. 1863. Transact. N. S. Vol. XI. p. 95—104.

<sup>6</sup> Über die neueren Reformen in der Zellenlehre. Arch. f. Anat., Phys. u. wiss. Med. 1863. S. 125 u. f.

## Über den feineren Bau und die Entw. des Knorpelgewebes usw. II. 201

ursprünglich flüssiger Form aus den Zellen ausgeschieden werde. Dabei beruft er sich auf die hauptsächlich bei Selachiern erhobene Tatsache, daß entfernt von den Zellen eine Vermehrung der Grundsubstanz eintrete, und daß diese Zunahme eine sehr beträchtliche sein kann, während gleichzeitig auch die Knorpelzellen enorm an Größe zunehmen.

REICHERT wußte damals allerdings noch nicht, daß gerade die Selachier einen Modus der Knorpelentwicklung zeigen, der von dem bei den meisten übrigen Wirbeltieren abweicht. Bei den letzteren kann einem die Rolle, welche direkte Zell- d. h. Protoplasmaumwandlungen in der Grundsubstanzbildung spielen, nicht entgehen; andererseits ist aber auch das Vorkommen und die Bedeutung gewisser Abscheidungsvorgänge hierbei nicht zu verkennen.

R. HEIDENHAIN<sup>1</sup> beschreibt im Schwertfortsatz von Kaninchen und Meer-schweinchen, in älteren Rippenknorpeln usw. kleine Zellen mit mächtigen geschichteten »Kapseln«, die er als Beweis für eine Umwandlung des Zellkörpers in Grundsubstanz auffaßt.

Die Umwandlung ganzer Knorpelzellen in elastische Substanz hat schon DONDERS<sup>2</sup> erwähnt. Zweifellos nachgewiesen und auch bildlich dargestellt wurde dieselbe später von DEUTSCHMANN<sup>3</sup> und L. GERLACH<sup>4</sup>. Ersterer fand umgewandelte Knorpelzellen, deren Kapsel und Protoplasma feinkörnig war; diese Körnung setzte sich in die umgebende, hyaline Substanz fort; der Kern schien an sehr vielen Zellen zu fehlen. Wie GERLACH betont, wandeln sich solche Zellen nach Schwinden ihres Kerns vollkommen in elastische Faser-masse um.

Bilder, welche an die chondromucoide Metamorphose der Zellen im *Myxine*-Knorpel erinnern, hat FROMMAN<sup>5</sup> im Knorpel vom Salamander beschrieben.

Daß bei der ersten Knorpelentwicklung ganze Zellen in Grundsubstanz umgewandelt werden, hat bereits VÖGELPOEL<sup>6</sup> vermutet; er hielt es für möglich, daß die interterritorialen Zwickel aus zugrunde gegangenen Embryonalzellen entstehen, da im Embryo, wie sich VÖGELPOEL ausdrückt, keine Grundsubstanz vorhanden ist, und aus HARTINGS Untersuchungen hervorgeht, daß die Zahl der Zellen im entwickelten Knorpel viel kleiner ist als im embryonalen.

Daß bei der Entwicklung des Schwanzflossenknorpels von *Ammocoetes* schon frühzeitig ganze Zellen in Grundsubstanz umgewandelt werden können, habe ich<sup>7</sup> zuerst erwähnt und später<sup>8</sup> näher ausgeführt. Wenn die sog. Inter-

<sup>1</sup> Zur Kenntnis des hyalinen Knorpels. Studien des physiol. Inst. Breslau. II. H. 1863.

<sup>2</sup> Form, Mischung und Funktion der elementären Gewebeteile im Zusammenhang mit ihrer Genese. Diese Zeitschr. Bd. III. 1851. S. 358.

<sup>3</sup> Über die Entwicklung der elastischen Fasern im Netzkorpel. Arch. f. Anat., Phys. u. wiss. Med. 1873. S. 738.

<sup>4</sup> Über die Anlage und die Entwicklung des elastischen Gewebes. Morphol. Jahrb. IV. Bd. 1878. Suppl. S. 87—116.

<sup>5</sup> Über die Struktur der Knorpelzellen von *Salamandra maculata*. Sitzber. d. Jenaschen Ges. 24. Jan. 1879. S. 17.

<sup>6</sup> Over kern- en celdeeling. Onderzoek. Physiol. Laborat. te Leiden. V. 1879. S. 154.

<sup>7</sup> Der feinere Bau und die Entwicklung des Schwanzflossenknorpels von *Petromyzon* und *Ammocoetes*. Anat. Anz. Bd. XIX. 1901. S. 22.

<sup>8</sup> l. c. diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 131.

calarzellen verschwinden und die oxyphile, prochondrale Substanz in die chondromucoide protochondrale sich umwandelt, sieht man an Stelle mancher Intercalartzellen verbreiterte, zwickelartige Ansammlungen von Intercellularsubstanz, welche nach Lage und Anordnung als aus solchen in toto zu Grundsubstanz umgewandelten Zellen hervorgegangen aufgefaßt werden müssen.

Für das ausgebildete Knorpelgewebe hat SPINA<sup>1</sup> nachdrücklich darauf hingewiesen, daß die Knorpelgrundsubstanz nicht nur durch »chondrogene Metamorphose der Zelloberflächen«, sondern auch durch eine solche Umwandlung ganzer Zellen oder ganzer Zellenkomplexe gebildet wird. »Diese Zellen zeigen eine eigentümliche Trübung des Zelleibes, verschwommene Konturierung des Zellkerns und nehmen immer mehr die optischen Eigenschaften der Grundsubstanz an. In demselben Maße nimmt ihre Färbbarkeit mit Eosin ab und die mit Hämatoxylin zu. Es entstehen dann zellenlose Partien im Knorpel, welche sich nicht in Zellterritorien zerlegen lassen. FLESC<sup>2</sup> und SOLGER<sup>3</sup>, welcher letztere dem Untergang von Zellen im Innern sog. permanenter Knorpel ein eignes Kapitel gewidmet hat, konnten lediglich eben nur diesen Untergang feststellen; SOLGER stellt eine Beteiligung dieser zugrunde gehenden Zellen am Aufbau der Intercellularsubstanz geradezu in Abrede, obwohl man sich schwer vorstellen kann, wie Kern- und Protoplasmakörper einer Zelle spurlos verschwinden sollen.

In neuester Zeit hat F. C. HANSEN<sup>4</sup> eine Darstellung der Knorpelgrundsubstanzbildung gegeben, bei welcher ebenfalls der Umwandlung ganzer Zellen eine große Rolle zugeschrieben wird. »Das Endoplasma (d. i. die fertige Knorpelzelle) kann degenerieren; der Kern zerfällt chromatolytisch und schwindet zuletzt ganz, der Protoplasmakörper scheidet Albumoid- und chondromucoide Substanzen aus, oder verwandelt sich direkt in das, was alles zur Bildung von Bindegewebsfibrillen und ‚Grundsubstanzen‘ verwandt wird. Die ‚Zelle‘ wandelt sich ganz in Fibrillen um.«

Hier ist nicht der Ort, auf die Darstellung, welche HANSEN von dieser Fibrillenbildung gibt, einzugehen; ich möchte nur bemerken, daß manche der sonderbaren Bilder dieses Autors (z. B. Fig. 13) sehr an die von mir beschriebenen Metamorphosen der Zellen im harten *Myxine*-Knorpel (z. B. Fig. 11) erinnern. Diese Bilder haben aber nichts mit der typischen Grundsubstanzbildung zu tun; so scheint es mir auch besonders mit den von HANSEN als extracellulären Centren der Fibrillenbildung, seinen sog. fibrillogenen Sternen der Fall zu sein, die viel mehr an Reste noch nicht vollkommen metamorphosierter Zellen erinnern.

STUDNIČKA<sup>5</sup> nimmt ebenfalls auch im fertigen hyalinen Knorpel eine Umwandlung ganzer Zellen in Grundsubstanz an.

<sup>1</sup> Untersuchungen über die Bildung der Knorpelgrundsubstanz. Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien. Bd. LXXXI. 1880. S. 32 u.f.

<sup>2</sup> Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels. Würzburg 1880. S. 65.

<sup>3</sup> Über Rückbildungerscheinungen usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLII. 1893. S. 657.

<sup>4</sup> Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Anz. Bd. XVI. 1899. S. 417.

<sup>5</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 325.

Wie im vorstehenden gezeigt wurde, findet eine Umwandlung ganzer Zellen in Grundsubstanz zweifellos und in größerem Ausmaße im harten Knorpel von *Myxine* statt, jedoch nur neben der typischen Grundsubstanzbildung, bei der die Zellen selbst erhalten bleiben und an Größe zunehmen. Andererseits muß ich betonen, daß ich hier das Vorkommen nackter, wohlhaltener Kerne, die rings von Grundsubstanz umschlossen wären — welches von manchen Autoren z. B. DEUTSCHMANN<sup>1</sup>, FLESC<sup>2</sup> u. a. erwähnt wird — nicht beobachten konnte, womit ich diese Möglichkeit nicht auch für andre Knorpel in Abrede stellen will. Doch scheinen mir bei einer solchen Deutung Bilder zur Vorsicht zu mahnen, wie ich sie gelegentlich bei *Myxine* sah, wo ein Zellrest von der Größe eines Kernes und der Färbbarkeit desselben in einem interterritorialen Felde der Grundsubstanz, das durch Umwandlung eines Zellhofes samt Kapsel in der oben geschilderten Weise entstanden war, eingeschlossen erschien (Fig 14 ZR). Es ist dies ein Bild, das mit der Fig. 7, Taf. IV von FLESC große Ähnlichkeit besitzt.

Im vorstehenden wurde gezeigt, daß das harte Knorpelgewebe von *Myxine* eine sehr deutliche territoriale Gliederung besitzt, die teils unmittelbar wahrgenommen werden kann, teils bei Anwendung verschiedener Färbemethoden hervortritt.

Es ist nun von Interesse zu untersuchen, in wie weit sich diese territoriale Gliederung mit jener grundsubstanzreicher Knorpel höherer Tiere vergleichen läßt, die man seit MÖRNER bekanntlich in Beziehung zu bringen gesucht hat mit einer bestimmten Lokalisation der verschiedenen chemischen Stoffe, welche durch die eingehenden Untersuchungen der neueren Zeit als charakteristisch für das Knorpelgewebe erkannt worden sind.

Um einen solchen Vergleich mit Erfolg durchzuführen, müßte man allerdings in erster Linie eine chemische Untersuchung des harten *Myxine*-Knorpels vornehmen, die bis heute leider nicht vorliegt. Immerhin möchte ich hier noch einige Beobachtungen über das chemische Verhalten dieses Knorpels, soweit ich solche an meinen in Alkohol konservierten und an anders behandeltem Material machen konnte, mitteilen und daran einige Bemerkungen über die Bildungsvorgänge im harten *Myxine*-Knorpel knüpfen.

Die auffallende Festigkeit des harten Knorpelgewebes von *Myxine* wurde schon wiederholt hervorgehoben. Ihr entspricht auch eine

<sup>1</sup> l. c. S. 740.<sup>2</sup> l. c. S. 65.

große Widerstandsfähigkeit gegen Säuren, eine geringere gegen Alkalien. Stundenlanges Liegen von Schnitten aus Alkohol in konzentrierter Salpetersäure (spez. Gew. 1,4) verändert ihre Form wenig; sie werden nur etwas durchsichtiger und quellen ganz leicht. Wäscht man solche Schnitte sorgfältig aus und färbt sie dann in maximal verdünntem Pikrofuchsin, so findet man, daß sich nur noch vereinzelte äußere Zellhöfe gelb färben, alles andre rot.

Bei längerer Einwirkung der Säure (unter dem Deckglas in der feuchten Kammer) färbt sich der Knorpel grünlich, welche Farbe beim Auswaschen in lebhaftes Gelb (Xanthoproteinsäurereaktion) übergeht.

Erst nach 20—24stündigem Liegen in der feuchten Kammer treten Lösungserscheinungen ein, welche für das Verständnis des feineren Aufbaues dieses Knorpels von Interesse sind. Die Kapsel und die inneren Höfe blättern sich ab und zwischen diesen feinen Blättern treten kugelige Vacuolen in radiärer Anordnung auf; letzteres ist auch in der interterritorialen Substanz der Fall, so daß in gewissen Stadien die Zellhöfe oder Territorien wie durch Interzellularbrücken verbunden erscheinen. Die Vacuolen können stark an Größe zunehmen und die ganze Masse bekommt ein grobschaumiges Aussehen; am längsten widerstehen die äußeren Zellhöfe. Wäscht man einen solchen Schnitt gut aus und setzt unter dem Mikroskop schwache (0,1%ige) Natronlauge zu, so löst sich der ganze Rest zu einer orangerot gefärbten formlosen Masse auf.

Noch instruktiver gestaltet sich die Einwirkung starker Chromsäure. Der Versuch wurde in der Weise gemacht, daß die Schnitte abwechselnd, wie es MÖRNER empfohlen, in 30%ige Chromsäure und in Wasser getaucht wurden oder daß unter dem Deckglas die Chromsäure von Zeit zu Zeit durch Wasser ersetzt wurde. Nach etwa 5—10 Minuten tritt um die meisten Zellen der innere Zellhof außerordentlich scharf abgegrenzt hervor, so daß er wie eine sehr dicke Kapsel erscheint, etwa in der Ausdehnung wie an einem Pikrofuchsinpräparat (Fig. 4 *K + IH*). Gleichzeitig kann man an den dünnen Schnitträndern ein allmähliches Aufquellen der Grundsubstanz sehen.

Bei weiterer Einwirkung treten stärkere Quellungs- und Lösungserscheinungen an den inneren Zellhöfen auf, wobei die lamelläre Struktur der letzteren ungemein scharf hervortritt, so daß man die Lamellen leicht zählen kann. Ihre Anzahl beträgt in den breiteren Höfen in der Regel fünf bis zehn, was bei der oben angegebenen

Breite der inneren Zellhöfe eine Dicke von etwa  $0,1-0,3 \mu$  für die einzelnen Lamellen ergeben würde. Bei noch weiterer Einwirkung werden um einzelne Zellhöhlen deutliche und ungemein zierliche radiäre Streifungen sichtbar, welche einigermaßen an das keratoide Silberbild von FLESCH<sup>1</sup> erinnern und Kapsel wie Lamellen des inneren Zellhofes wie von feinsten radiären Kanälchen oder Strichelchen durchsetzt erscheinen lassen. Auch über die äußeren Zellhöfe bis an die interterritoriale Substanz setzen sich die radiären Streifungen fort, so daß schließlich ein ähnliches Bild entsteht, wie es FLESCH<sup>2</sup> als »radiäre Zerklüftung« nach Silberbehandlung abgebildet hat, nur daß im *Myxine*-Knorpel die radiären Streifen von konzentrischen Lamellen durchschnitten werden (Fig. 47).

Wäscht man in diesem Stadium den Schnitt gut aus, so verschwindet die radiäre Streifung nach einiger Zeit größtenteils wieder, aber die inneren Zellhöfe bleiben gelockert, d. h. aufgeblättert. Dabei findet man da und dort die innerste dieser Lamellen, d. i. die Kapsel, von der Innenwand der Zellhöhle vollkommen abgelöst und in enge, am optischen Durchschnitt krausenförmige Falten gelegt, was wohl als ein Ausdruck stärkerer Quellbarkeit dieser Lage betrachtet werden muß.

Durch diese Isolation der Kapsel wird ihre Bedeutung als selbständige Schicht am besten erwiesen. An Schnitten aus Formol, an denen die inneren Zellhöfe bei der Chromsäurebehandlung besonders scharf begrenzt hervortreten, können auch diese Zellhöfe sich von den starren Ringen der äußeren loslösen und man findet dann den inneren Zellhof unregelmäßig gefaltet innerhalb des äußeren gelegen.

Das Auftreten der Streifensysteme zwischen den Zellen, welches nicht bei jedem Versuch, sondern mehr gelegentlich zur Beobachtung kommt, das ich aber auch bei Einwirkung anderer Reagentien, z. B. einer etwa 30%igen Essigsäure, die 5% Kaliumferrocyanid enthält, zustande kommen sah, ist deshalb von Interesse, weil es zeigt, daß solche Trugbilder auch in Knorpeln ohne nachweisbare fibrilläre Struktur entstehen können. Es handelt sich da wahrscheinlich um orientierte Quellungserscheinungen, durch welche radiär zur Zelle rippenartige Erhebungen der erweichten Grundsubstanz entstehen, die dann Fasern oder Kanälchen vortäuschen können. Bei genügend lange fortgesetzter Einwirkung der Chromsäure, was bei  $15-20 \mu$  dicken Schnitten immerhin 2—3 Stunden beträgt, gehen endlich die

<sup>1</sup> Untersuchungen, 1<sup>e</sup> c. Taf. V, Fig. 2.

<sup>2</sup> Ebendort, Taf. III, Fig. 1.

Kapseln und inneren Zelhöfe in Lösung und es bleibt nur ein breites Balkenwerk mit scharfrandigen Lücken zurück (Fig. 48), welche in Form und Größe den inneren Zelhöfen entsprechen. Die äußere Zone des Knorpels widersteht am längsten, die mittlere Partie und die oberflächliche Appositionszone lösen sich zuerst.

In dem zurückbleibenden Balkenwerk kann man da und dort den Umriß einer verdämmernden Zelle wahrnehmen (Fig. 48 VZ), ein Beweis, daß sie sich schon in die schwer lösliche Grundsubstanz umgewandelt hat. Vor der gänzlichen Auflösung des Balkenwerks kommt es besonders dort, wo die interterritoriale Substanz größere Zwickel bildet, zur Lösung dieser letzteren, so daß die äußeren Zelhöfe, welche der Einwirkung am längsten widerstehen, teilweise vollkommen isoliert werden.

Auffallend widerstandsfähig ist der harte Knorpel gegen Salzsäure. Digeriert man Schnitte aus Alkohol 14 Tage bei 40° C. in einer  $\frac{1}{8}$  %igen Salzsäure, so erscheint ihre Färbbarkeit mit stark verdünnter Pikrofuchsinlösung fast unverändert, nur scheint die interterritoriale Substanz deutlicher rotgefärbt hervorzutreten. Setzt man zu solchen Schnitten 5% Natronlauge zu, so quellen sie etwas auf und zeigen ungemein deutlich die konzentrische Schichtung der Höfe; dieselben erscheinen fast bis an die interterritoriale Substanz in immer dünnere, endlich kaum mehr wahrnehmbare Lamellen zerlegt. Nach etwa 24stündiger Einwirkung der Lauge unter dem Deckglas löst sich der Schnitt bis auf die glänzenden Ringe der äußeren Zelhöfe, welche auf den ersten Blick für isolierte Kapseln gehalten werden könnten.

25%ige Salzsäure verändert die Schnitte auch bei zweitägiger Einwirkung nicht wesentlich; ja selbst konzentrierte Säure (spez. Gewicht 1,19) vermag sie (unbedeckt, im hohlen Objektträger) nach mehrtägiger Einwirkung nicht zu lösen. Erst durch wochenlanges Liegen oder wiederholtes Aufkochen in der konzentrierten Säure gelingt die Lösung der Intercellularsubstanz; bevor diese eintritt, bleibt ein stark lichtbrechendes, dünnwandiges Alveolenwerk zurück, das hauptsächlich aus den äußeren Zelhöfen besteht.

Geringer ist die Widerstandsfähigkeit gegen Natronlauge.

Digerieren dünner Schnitte in  $\frac{1}{10}$  %iger Lauge bei 40° C. durch 3 Tage verändert die Schnitte nicht wesentlich, nur verlieren sie jegliche Färbbarkeit mit Pikrinsäure, d. h. sie färben sich in stark verdünntem Pikrofuchsin stark und gleichmäßig rot. Dasselbe ist der Fall, wenn man Schnitte kurz mit 40%iger Lauge aufkocht, was sie

gut vertragen. Hingegen scheint wiederholtes Aufkochen in 5%iger Lauge die Pikrophilie zu erhöhen. Die Intercellularsubstanz quillt etwas auf und die Lamellen der inneren Höfe lockern sich etwas. Färbt man solche Schnitte nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser in stark verdünntem Pikrofuchsin, so erscheint der rot färbbare Hof um viele Zellen schmaler, um manche fehlt er ganz, während der äußere Zellhof sich besonders leuchtend gelb färbt und auch die dünnen interterritorialen Scheidewände lebhaft rot gefärbt hervortreten.

Längeres Liegen in 5%iger oder stärkerer Lauge führt allmählich (in 20—24 Stunden) zur Lösung der Kapsel und des inneren Zellhofes, nachdem die konzentrischen Lamellen des letzteren besonders scharf hervorgetreten sind. Die äußeren Höfe bleiben im Zusammenhang erhalten, zeigen nun aber auch eine Zerlegung in konzentrische Blätter (Fig. 49 A, AH), welche wie fein radiär gestrichelt erscheinen. Bevor die äußeren Höfe in Lösung gehen, löst sich auch die interterritoriale Substanz, so daß man vollkommen isolierte Zellhöfe leicht erhalten kann (Fig. 49); daß dies die äußeren sind, erkennt man an ihrer polyedrischen Form und den manchmal anhaftenden Resten der interterritorialen Substanz (Fig. 49 A, IT').

Sclerosierende Zellterritorien, d. h. solche, die durch Verdämmern sich in Grundsubstanz umwandeln, verhalten sich bei der Isolation durch Natronlauge in toto wie die äußeren Zellhöfe (Fig. 49 B).

Mit MILLONS Reagens, besonders schön mit dem nach der Angabe von MAGNUS<sup>1</sup> hergestellten, tritt an den harten Knorpelschnitten zunächst eine sehr deutliche Rotbraunfärbung der oberflächlichen Appositionszone und der interterritorialen Substanz, besonders der Zwickel, ein. Bei leichtem Erwärmen färbt sich aber auch die Kapsel und der innere Zellhof deutlich, während die äußeren Zellhöfe nahezu farblos bleiben. Die Reaktion gelingt besser an in Formol fixierten Objekten als an längere Zeit in Alkohol gelagerten.

Verdauung in 5%igem doppelkohlensauren Natron, dem Pancreatin (GRÜBLER)<sup>2</sup> zugesetzt wird, bewirkt nach 18 Stunden eine Lösung jener zarten Lamellen pikrophiler Substanz in den inneren Zellhöfen, welche sich im Übergangsteil zu den äußeren befinden. Färbt man solche Schnitte in maximal verdünntem Pikrofuchsin, so

<sup>1</sup> Encyklopädie d. mikr. Technik von KRAUSE u. a. I. Bd. S. 186.

<sup>2</sup> 5% Natrium bicarb. 100 + Pancreatin (GRÜBLER); vgl. FLINT, Arch. f. Anat. Phys. 1903. S. 64.

färben sie sich im ganzen viel stärker rot als gewöhnliche, indem die rot färbbaren Höfe auf Kosten der äußeren an Breite zugenommen haben, die nur mehr ganz schmale Ringe darstellen. Auch drei Tage lang fortgesetzte Verdauung hat keinen andern Erfolg. An 1½ Monate lang im Brutofen verdauten Schnitten treten bei Färbung in stark verdünntem Eosin-Methylenblaugemisch nur die Kapseln vollkommen isoliert, blau gefärbt, hervor, während die übrige Grundsubstanz nahezu farblos bleibt.

Kochen der Schnitte im zugeschmolzenen Glasrohr bei 110 bis 120°<sup>1</sup> verändert dieselben nach 3stündiger Dauer nicht wesentlich, doch erscheint das Perichondrium gelöst. Nach 5½stündiger Dauer erscheint die Intercellularsubstanz vollkommen gelöst. Bevor diese Lösung eintritt, sieht man, ähnlich wie bei der Chromsäurewirkung, eine Lösung der Kapseln und inneren Zellhöfe, so daß ein aus den äußeren und der spärlichen Interterritorialsubstanz gebildetes Balken- oder Alveolenwerk länger widersteht. Gibt nur stellenweise gute Bilder.

Zum Schluß noch einige Worte über den Einfluß der Vorbehandlung auf das färberische Verhalten des harten Knorpels.

Wie wiederholt hervorgehoben wurde, ist der Umstand sehr eigentümlich, daß der harte Knorpel, obwohl seine Kapseln und inneren Zellhöfe, teilweise auch die interterritoriale Substanz, eine gewisse Basophilie zeigen, sich fast ganz ablehnend gegen die charakteristischen Knorpelfärbemittel Thionin, Safranin, Toluidin u. a. verhält.

Dies bezieht sich jedoch nur auf den in Alkohol konservierten, also chemisch möglichst wenig veränderten Knorpel. Allerdings muß ich die Frage offen lassen, ob nicht sorgfältig in absolutem Alkohol fixierter Knorpel andre Färbungsergebnisse zeigen würde, als der den ganzen in Alkohol konservierten Tieren entnommene, wie er mir zur Verfügung stand.

Schnitte von in MÜLLERScher Flüssigkeit gehärtetem Knorpel geben in stark verdünntem Thionin oder Safranin eine diffuse rotviolette bzw. gelbe, metachromatische Färbung, die bis ans Perichondrium reicht und nur um die Zellhöfen etwas stärker erscheint. Ja die Gelbfärbung mit Safranin erscheint im harten Knorpel sogar

<sup>1</sup> Die Schnitte wurden von Zeit zu Zeit kontrolliert, indem das horizontal gelagerte Glasrohr so gedreht wurde, daß die an der oberen Wand flach anklebenden Schnitte unter dem Mikroskop betrachtet werden konnten.

stärker als im weichen, der doch, wie bekannt, reich an Chondromucoid ist.

Allerdings entzieht Alkohol und Nelkenöl dem harten Knorpel alle Färbung, während sie im weichen und in den degenerierenden Zellen des harten (ohne Metachromasie) erhalten bleibt. An Schnitten aus Formalin gibt maximal verdünnte Thioninlösung eine sehr schöne Gliederung der Intercellularsubstanz, welche vollkommen mit der durch andre Färbungen erzielten übereinstimmt. Die Kapsel färbt sich metachromatisch heliotrop, ebenso die zarten konzentrischen Zwischenlagen (Lamellen) des inneren Zellhofes, so daß dieser bei schwacher Vergrößerung auch heliotrop erscheint, während der äußere Zellhof farblos bleibt, bei starker Vergrößerung oft aber noch dünnste, nicht meßbare Schichten der basophilen Substanz, ebenfalls metachromatisch gefärbt erkennen läßt. Stark gefärbt erscheint auch die interterritoriale Substanz und die Zwickel, am stärksten die in chondromucoider Metamorphose befindlichen Zellen. Eine ähnliche metachromatische Färbung gibt Toluidinblau. Steigert man die Basicität der Farbe durch eine Spur Ammoniak, so färbt sich die ganze Intercellularsubstanz, die äußeren Zellhöfe allerdings am schwächsten.

Setzt man dagegen die Basicität durch schwachen Säurezusatz herunter — ich verwendete einen Tropfen des sauren Toluidinblau von LUNDVALL<sup>1</sup> auf 10 ccm Wasser —, so färben sich ausschließlich die degenerierenden Zellen und der weiche Knorpel. Diese Präparate sind deshalb sehr instruktiv, weil sie an der verschiedenen Intensität der Färbung die verschiedenen Stadien der Metamorphose der Zellen erkennen lassen. Wo bereits viele Kügelchen von harter (metachondraler) Substanz gebildet sind, stellt die chondromucoid zwischen derselben ein immer zarter werdendes, schwächer färbbares Netzwerk dar, das zuletzt eben ganz verschwindet. In maximal verdünntem Methylenblau färbt sich die Kapsel stark und behält diese Färbung auch bei nachfolgender Färbung in Pikrofuchsin; man erhält dann Kapsel blau, inneren Zellhof rot, äußeren gelb, Interterritorialsubstanz rot.

Überblickt man die im Vorstehenden aufgeführten Tatsachen, so kann einem die auffallende Ähnlichkeit zwischen der territorialen Gliederung des harten *Myxine*-Knorpels und der gewisser typischer

<sup>1</sup> 1/2%ige Lösung von Toluidin in 70%igem Alkohol, der 1% Salzsäure enthält (Anat. Anz. Bd. XXV. 1904. S. 221).

Hyalinknorpel der Säugetiere, wie sie durch die neueren Untersuchungen von MÖRNER<sup>1</sup>, HAMMAR<sup>2</sup>, TERRAZAS<sup>3</sup>, HANSEN<sup>4</sup>, MORAWITZ<sup>5</sup> u. a. bekannt geworden ist, nicht entgehen.

Ganz allgemein habe ich diese Analogie schon anzudeuten versucht, indem ich das Balkenwerk von MÖRNER mit der primären Kittsubstanz, d. i. der interterritorialen Substanz, die Chondrinballen MÖRNERs mit der sog. Kapselsubstanz, d. i. Kapsel + Zellhof in Parallele stellte<sup>6</sup>.

Im einzelnen lassen sich jetzt diese Analogien noch schärfer zum Ausdruck bringen, andererseits ergaben sich anscheinend wesentliche Unterschiede, zu deren befriedigender Erklärung weitere Untersuchungen des Hyalinknorpels nötig sind.

Im *Myxine*-Knorpel sieht man, wie HANSEN es im Hyalinknorpel beschreibt, unmittelbar um die Zelle eine stark basophile Zone (Kapsel), um diese eine schwächer basophile bzw. schwach oxyphile (innerer Zellhof). Beide zusammen lösen sich bei der Behandlung mit Säuren und Alkalien usw. früher als ein dieselben in seinen Lücken einschließendes Balkenwerk, wie dies MÖRNER und MORAWITZ von den Chondrinballen gezeigt haben. Somit darf man wohl die basophile Kapsel und den inneren Zellhof des harten *Myxine*-Knorpels mit den Chondrinballen homologisieren.

Dagegen spricht jedoch scheinbar der Umstand, daß sich nach MORAWITZ die Chondrinballen mit MILLONS Reagens nicht färben, während sich im harten *Myxine*-Knorpel Kapsel und innerer Zellhof wenigstens stellenweise deutlich färben. Der Behauptung von MORAWITZ steht allerdings die Angabe von MÖRNER gegenüber, daß auch das Chondromucoid bei dieser Behandlung eine deutliche Rotfärbung zeigen soll.

Das Balkenwerk jedoch, welches bei den Lösungsversuchen im *Myxine*-Knorpel zurückbleibt, ist viel breiter als das Netzwerk der interterritorialen Substanz, kann also dieser nicht gleichgesetzt werden; es umfaßt vielmehr interterritoriale Substanz + äußere Zellhöfe. Während das Balkenwerk der von den Autoren zumeist untersuchten

<sup>1</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XII. 1888. S. 396. — Skandinav. Arch. f. Phys. Bd. I. 1889. S. 210.

<sup>2</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIII. 1894. S. 813.

<sup>3</sup> Rivista trimestral micrograf. Madrid. Vol. I. 1896.

<sup>4</sup> l. c. und Anat. Anz. Bd. XVI. 1899. S. 417.

<sup>5</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. LX. 1902. S. 66.

<sup>6</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. L. 1897. S. 179.

Tracheal-, Kehlkopf- und Rippenknorpel der Hauptsache nach aus Collagen (maskiertem und unmaskiertem) besteht, in älteren Knorpeln aber auch vorzugsweise das Albumoid enthalten soll, spielt, wie wir gesehen haben, in der interterritorialen Substanz des harten *Myxine*-Knorpels das Collagen nur eine untergeordnete Rolle; dasselbe läßt sich histogenetisch wohl in der subperichondralen Lage nachweisen, die stärker entwickelten interterritorialen Scheidewände und Zwickel im Innern des Knorpels gehen jedoch größtenteils aus umgewandelten Zellen und Zellterritorien hervor.

Diese interterritoriale Substanz schließt auch, wie ich gezeigt habe, stets Zellen in verschiedenen Stadien ihrer Umwandlung ein, während nach MÖRNER, DANEO<sup>1</sup> u. a. in den Zügen des Balkennetzes keine einzige Zelle wahrzunehmen sei.

Diese Behauptung trifft aber nur für einzelne Partien des Balkennetzes zu, wo dasselbe, wie ich im Rippenknorpel sehe, dann auch nur ganz schmale Scheidewände mit zwickelartigen Verbreiterungen zwischen drei und mehr aneinander stoßenden Zellterritorien bildet. An andern Stellen, wo dieses Balkennetz zu breiteren Zügen entwickelt ist, erhält es, wie in Rippen- und andern hyalinen Knorpeln leicht nachgewiesen werden kann, ebenfalls reichlichen Zuschuß von seite in Grundsubstanz sich umwandelnder Zellen und Zellbezirke, so daß man hier, ganz wie im harten *Myxine*-Knorpel, Zellen in verschiedenen Stadien der Umwandlung im Balkennetz eingeschlossen finden kann.

Bleibt noch das Albumoid. Faßt man dieses als den schwer löslichen Eiweißkörper im Knorpel auf, so muß man dasselbe, nach den angeführten Versuchsergebnissen in die äußeren Zellhöfe des *Myxine*-Knorpels verlegen. Dieses Albumoid bliebe demnach hier räumlich getrennt von der eigentlichen interterritorialen Substanz, mit der zusammen es jedoch bei Einwirkung von Säuren oder beim Kochen als Analogon des Balkennetzes höherer Knorpel zurückbleibt. Das Balkennetz, welches MÖRNER und MORAWITZ durch Säure- und Laugenbehandlung isoliert haben, ist jedoch wahrscheinlich auch nichts Einheitliches, etwa ausschließlich die interterritoriale Substanz. Denn schon durch die ältesten Lösungsversuche, welche am Knorpelgewebe angestellt wurden (DONDERS<sup>2</sup>, HOPPE<sup>3</sup>, VIRCHOW<sup>4</sup>, FÜRSTENBERG<sup>5</sup>;

<sup>1</sup> Gazzetta med. di Torino. A. XLIII. 1892. p. 821.

<sup>2</sup> Holländ. Beitr. von DEEN, DONDERS und MOLESCHOTT, H. 1 und 2, 1846 und 1847.    <sup>3</sup> VIRCHOWS Arch. Bd. V. 1853. S. 176.    <sup>4</sup> Ebendort, S. 432.

<sup>5</sup> MÜLLERS Arch. 1857. S. 5.

vgl. auch ROLLETT<sup>1)</sup> wissen wir, daß sich die »Knorpelkapseln« isolieren lassen. Diese Kapseln entsprechen aber nicht dem, was ich als Knorpelkapsel bezeichne, sondern offenbar meinen äußeren Zellhöfen, denn ROLLETT bemerkt an der angeführten Stelle ausdrücklich, daß verdünnte Schwefelsäure, konzentrierte Salzsäure, anhaltendes Kochen zuerst die Zellhöfe, das ist Kapsel + innerem Zellhof (Chondrinballen), lösen, während die Kapseln, d. h. die äußeren Zellhöfe, am längsten widerstehen. Dies ist nur erklärlich, wenn sich die Kittsubstanz zwischen den »Kapseln«, d. i. die interterritoriale Substanz, früher löst.

Dies ist ja auch der Fall und wurde dieselbe daher von vielen älteren Autoren übersehen und das Knorpelgewebe daher auch nur aus Kapseln zusammengesetzt aufgefaßt. KÖLLIKER<sup>2)</sup> hat aber darauf hingewiesen, daß bei diesen Lösungsversuchen in vielen Fällen zwischen den einzelnen Zellgebieten eine Zwischensubstanz zurückbleibt, wie ich dies bei der Behandlung des harten *Myxine*-Knorpels mit Natronlauge gezeigt habe (Fig. 49 A, IT).

Ich glaube daher, daß in jenen Fällen, in welchen ein Balkennetz isoliert wird, dieses ebenfalls aus der eigentlichen interterritorialen Substanz und den äußeren Zellhöfen besteht. Möglicherweise sind die farblosen Ringe von »achromatischer Substanz«, welche MORAWITZ zwischen Chondrinballen und Balkennetz beschrieben hat, und die sich mit MILLONS Reagens ebenfalls nicht färben, diesen äußeren Zellhöfen zu vergleichen, wengleich ersteren die charakteristische Pikrophilie der letzteren fehlt.

Besonders an jenen Stellen, wo das Balkennetz im Rippenknorpel die erwähnten zarten Scheidewände bildet und durch die »farblosen Ringe« von MORAWITZ von den Chondrinballen getrennt wird, ist die Analogie eine vollkommene, so daß kaum eine andre als die versuchte Deutung möglich ist.

Bevor ich aus dem im vorstehenden mitgeteilten Beobachtungen einige allgemeinere Schlüsse auf die Entwicklung und das Wachstum des Knorpelgewebes ziehe, muß ich noch kurz auf das harte Knorpelgewebe der Petromyzonten zurückkommen. Wie ich am Eingange dieser Mitteilungen erwähnte, habe ich dieses Objekt einer neuerlichen Untersuchung unterzogen; dazu war ich genötigt, als ich mich von dem normalen Vorhandensein einer basophilen Kapsel im harten *Myxine*-Knorpel überzeugt hatte. Denn einerseits

<sup>1)</sup> STRICKERS Handbuch der Lehre von den Geweben. 1871. S. 75.

<sup>2)</sup> Handbuch der Gewebelehre. 6. Auflage. 1889. I. Bd. S. 113.

schien es mir nun schwer verständlich, daß *Petromyxon* im Gegensatz zu *Myxine* eine Kapsel von oxyphilem Charakter besitzen sollte, anderseits hatte bereits STUDNIČKA, nachdem er in seiner ersten Arbeit<sup>1</sup>, wie ich<sup>2</sup>, den harten Petromyzentenknorpel dadurch charakterisiert fand, daß Knorpelkapsel und Grundsubstanz sich nicht mit Hämatoxylin, Hämalaun und Methylenblau färben, in den centralen Teilen des Schädelknorpels von *Petromyxon* an der Innenseite der »Knorpelkapsel« eine mit Hämatoxylin blau sich färbende Schicht beschrieben<sup>3</sup>, die ich folgerichtig als die eigentliche basophile Kapsel auffassen mußte.

Untersuchungen mittels empfindlicherer Methoden haben nun ergeben, daß auch im harten Schädelknorpel von *Ammocoetes* und *Petromyxon* als innerste, die Zelhöhle unmittelbar begrenzende Schicht eine zarte, mit DELAFIELDS Hämatoxylingemisch blau färbare Kapsel nachweisbar ist.

Legt man Schnitte aus Alkoholmaterial auf 24 Stunden in maximal verdünnte Lösungen von Tropäolin oder Metanilgelb, so nehmen sie durch und durch eine gleichmäßige Gelbfärbung an. Färbt man mit DELAFIELDS Gemisch nach, so färbt sich im Ohrkapselknorpel von *Ammocoetes* ein zarter innerster Saum der Knorpelhöhlenwand violett.

Derselbe kann deutlich nur dort erkannt werden, wo sich die Zelle losgelöst hat, sonst kann er mit der Rindenzone der Zelle verwechselt und übersehen werden, wie es mir geschehen ist. Man vergleiche übrigens die Fig. 1 und 5, Taf. 30 in der ersten Arbeit STUDNIČKAS<sup>4</sup>, auf welche sich dieser Autor später<sup>5</sup> berufen hat, als er diese blau färbbare Kapsel beschrieb. Sie ist so dünn, daß er sie nur durch eine scharfe Linie an der Oberfläche des Plasmas dargestellt hat, so daß sie der Unbefangene sicher nur für den Kontur des Zelleibes halten wird.

Diese zarte basophile Kapsel ist auch durch die simultane, progressive Färbung mit Eosin-Methylenblau nachweisbar; mit stark verdünnter Pikrofuchsinlösung färbt sie sich rot, außerdem aber eine sich anschließende Zone des Zellhofes, so daß man an solchen Präparaten breitere Kapseln vor sich zu haben glaubt, als an den früher

<sup>1</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 615.

<sup>2</sup> Ebendort. Bd. L. 1897. S. 175 u.f.

<sup>3</sup> Anat. Anz. Bd. XIV. 1898. S. 286.

<sup>4</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897.

<sup>5</sup> Anat. Anz. Bd. XIV. 1898. S. 285.

besprochenen. Will man jedoch die Mitfärbung des Zellhofes bei der Pikrofuchsinfärbung vermeiden, so braucht man nur in der konzentrierten Lösung<sup>1</sup> zu färben; dann erhält man rotgefärbte Kapseln, die vollkommen den mit DELAFIELDS Hämatoxylingemisch oder Methylenblau in der oben angegebenen Weise gefärbten entsprechen.

Was nun die Kapsel im harten Knorpel von *Petromyxon (marinus)* anlangt, so muß man hier die großzellige Binnenzone und die kleinzellige Rinde auseinanderhalten.

Während die basophile Kapsel in der ersteren, wo sie STUDNIČKA, wie erwähnt, schon beschrieben hat, verhältnismäßig dick und stark färbbar ist, ist sie in der Rindenzone oft kaum nachweisbar, so daß sie STUDNIČKA<sup>2</sup> gewöhnlich fehlen läßt. In Wirklichkeit fehlt sie jedoch nur an eben erst eingeschlossenen, ganz oberflächlichen Zellen, die noch nicht begonnen haben die chondromucoide Lage um sich abzusondern, oder an Zellen im Wege der Rückbildung (Umwandlung), die hier, wie ich noch zeigen werde, ziemlich zahlreich sind; um die andern, normalen Zellen ist sie stets nachweisbar und färbt sich an Formolmaterial wie im *Myxine*-Knorpel mit Thionin auch metachromatisch.

Was die weitere Gliederung der zwischen den basophilen Kapseln gelegenen intercapsulären Substanz anlangt, so ist dieselbe wegen der großen Zartheit dieser Zwischenwände viel schwerer festzustellen, als beim *Myxine*-Knorpel. Dazu kommt noch — was ich hier wieder besonders betonen möchte —, daß einmal die Gliederung wirklich verschieden sein kann, je nach Alter und Art des Knorpels und daß verschiedene Färbemethoden eine verschiedene Gliederung vortäuschen können.

Schon bei der Besprechung des Schwanzflossenknorpels habe ich<sup>3</sup> auf den ersteren Umstand ausdrücklich hingewiesen und auch erwähnt, daß z. B. saures Orcein nach UNNA-TÄNZER in den basalen Abschnitten der Flossenstrahlen die Kapselsubstanz färbt, während die von MERK<sup>4</sup> angegebene verdünnte Lösung dieses Orceins die intercapsuläre Substanz färbt. So habe ich ja auch gezeigt, daß verdünnte und konzentrierte Pikrofuchsinmischung, kurze regressive Färbung mit konzentrierteren ( $\frac{1}{2}$ —1%) Anilinfarben und progressive Färbung mit starken Verdünnungen derselben Lösungen verschie-

<sup>1</sup> 0,1 Säurefuchsin auf 100 gesättigte, wässrige Pikrinsäure.

<sup>2</sup> Anat. Anz. Bd. XIV. 1898. S. 286.

<sup>3</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 154 u.f.

<sup>4</sup> Sitzungsber. kais. Akad. Wiss. Bd. CVIII. 1899. S. 341.

dene Bilder geben, indem sich je nachdem bald die Kapsel allein, bald mit ihr auch der innere Zellhof färbt. So kann man auch im harten Schädelknorpel von *Petromyxon* verschiedene Bilder erhalten, was geradezu verwirrend wirkt, wenn man nicht alle angegebenen Umstände auf das genaueste berücksichtigt.

Im Ohrkapselknorpel von *Ammocoetes* folgt auf die schmale basophile Kapsel ein breiterer Zellhof, der sich stärker mit Eosin oder mit verdünntem Pikrofuchsin rot färbt; daran schließt sich eine mit Eosin schwach gelbrötlich, mit verdünntem Pikrofuchsin stark gelbgefärbte interterritoriale Substanz.

Es ist nun sehr wichtig, die Bedeutung dieser letzteren richtig zu verstehen. Sie entspricht nicht dem, was ich im *Myxine*-Knorpel als interterritoriale Substanz bezeichnet habe, sondern vielmehr den zusammengeflossenen äußeren Zellhöfen, wie schon ihre Pikrophilie beweist.

An gewissen Stellen und zwar vorwiegend in den peripheren, subperichondralen Partien wird denn auch diese pikrophile Inter-capsularsubstanz durch mediane, zarte Scheidewände, welche von der primären Kittsubstanz, in die Bindegewebsfäserchen aufgenommen werden<sup>1</sup> oder von zugrunde gehenden Zellen herrühren, zerlegt und als äußere pikrophile Zellhöfe dem Zellterritorium zugeteilt, während die zarten Scheidewände die eigentliche interterritoriale Substanz darstellen.

An Tangentialschnitten durch diese äußere Zone<sup>2</sup> erhält man daher Bilder, welche vollkommen der territorialen Gliederung des harten *Myxine*-Knorpels entsprechen.

Das Verschwinden der zarten, interterritorialen Scheidewände im Innern des Knorpels erklärt sich durch ihre Umwandlung (Assimilation) in die harte, metachondrale Substanz.

Ähnlich sind die Gliederungsverhältnisse im centralen Teile des Ohrkapselknorpels von *Petromyxon marinus*, nur sind hier die Zellen um ein Mehrfaches größer, und die Intercellularsubstanz bildet im Durchschnitt verhältnismäßig dünne Balken.

Auffallend ist, daß dieser Binnenknorpel der Ohrkapsel, wie übrigens auch die centralen Teile der neuentstandenen harten Schädelknorpel bei starker Färbung mit DELAFIELDS Hämatoxylingemisch

<sup>1</sup> Man vgl. die Fig. 13 pK, Taf. XXVII in meiner ersten Abhandlung (diese Zeitschr. Bd. LXI, 1896).

<sup>2</sup> Man vgl. Fig. 7, Taf. XXVII in meiner ersten Abhandlung (diese Zeitschr. Bd. LXI, 1896).

oder mit dem verdünnten Eosin-Methylenblau, an Formolmaterial auch mit Thionin usw. sich so stark färben, daß man weichen Knorpel vor sich zu haben glaubt. Das hat darin seinen Grund, daß der an die basophile Kapsel sich anschließende Zellhof sich fast so stark wie diese färbt, so daß man, wie bei der Färbung mit verdünntem Pikrofuchsin, dicke Kapseln vor sich zu haben glaubt. Färbt man jedoch nicht zu stark mit DELAFIELDS Gemisch vor, entfärbt das Celloidin kurz mit Salzsäure-Alkohol und färbt dann kurz mit Eosin nach (am Objektträger mit 1% iger Lösung etwa eine Minute, gut mit Alkohol ausziehen), so erhält man um jede Zelhöhle eine feine, stark blau gefärbte Linie (Kapsel), nach außen davon eine breitere, glänzende Zone schwach eosinrot gefärbt, den inneren Zellhof und zwischen diesen Höfen eine fast ungefärbte, schwächer lichtbrechende, mit Pikrofuchsin sich lebhaft gelb färbende Zwischensubstanz. Während diese nun bei den neuentstandenen Schädelknorpeln (Deckplatten, Lippenring, Zungenknorpel usw., keine weiteren Trennungslinien wahrnehmen läßt (außer in der Übergangszone zum Rindenknorpel), glaube ich bei den originären harten Knorpeln in dieser Zwischensubstanz noch zarte Trennungslinien zu sehen, die mit stärkeren Ansammlungen in den Zwickeln, wo mehrere Zellen aneinanderstoßen, zusammenhängen. Dadurch entsteht dieselbe Gliederung, wie im harten *Myxine*-Knorpel, indem auf den inneren ein äußerer, pikrophiler Zellhof folgt und erst zwischen diesen letzteren die zarte interterritoriale Substanz.

Die Rindenzone zeigt in sämtlichen harten Schädelknorpeln von *P. marinus* denselben Bau. Die Zellen sind bedeutend kleiner und nicht mehr vieleckig, sondern wie im *Myxine*-Knorpel abgerundet. Die Intercellulärsubstanz ist reichlich entwickelt, indem sich um die basophile Kapsel aller Zellen ein innerer und ein äußerer Zellhof finden, wie im *Myxine*-Knorpel; diese Zellhöfe zeigen aber nur schwache Andeutungen einer konzentrischen Schichtung. Dagegen ist zwischen den Zellhöfen die interterritoriale Substanz reichlicher entwickelt, als im harten *Myxine*-Knorpel und schließt meist deutliche, collagene Faserbündel ein, die aus dem Perichondrium direkt aufgenommen werden. Dieselben färben sich teilweise stark mit DELAFIELDS Hämatoxylin, MALLORYS Bindegewebsfärbung, an Formolmaterial auch metachromatisch mit Thionin.

Man kann hier gut ihre allmähliche Auflösung und Umwandlung in die amorphe Interterritorials substanz wahrnehmen.

In dieser Rindenzone findet man aber auch eine große Anzahl

von Zellen in der Umwandlung zu Grundsubstanz begriffen und zwar meist auf dem Wege des Verdämmerns.

Da diese Zellen fast meist senkrecht zur Oberfläche abgeplattet sind, nimmt man sie am besten an Tangentialschnitten, parallel zur Oberfläche wahr. Oft sind sie nur mehr durch Luftansammlungen sichtbar, welche zwischen der verdämmernenden Zelle und der Kapsel auftreten und in Gestalt feiner, zusammenhängender oder unterbrochener Linien den Umfang der Zelle kennzeichnen. Die Kapseln dieser Zellen sind, wie sie selbst, durch ihre mangelhafte oder ganz fehlende Färbbarkeit ausgezeichnet, wie ich dies vom *Myxine*-Knorpel geschildert habe. Aber auch Zellen auf dem Wege der chondromucoiden Metamorphose trifft man an, die dann ganz ähnliche Bilder zeigen, wie ich sie bei *Myxine* beschrieben habe.

Aus dieser Darstellung ergibt sich bei aller Verschiedenheit im einzelnen die prinzipielle Übereinstimmung im territorialen Aufbau des harten Knorpels von *Petromyxon* und *Myxine*; aber auch die zwischen der Rindenschicht des Schädelknorpels von *Petromyxon marinus* und jener harten Knorpelrinde der Flossenstrahlen, in der ich die basophile Kapsel bereits beschrieben habe<sup>1</sup>.

Ich hoffe im vorstehenden überzeugend nachgewiesen zu haben, daß eine ziemlich einheitliche Auffassung der mannigfachen Formen des Knorpelgewebes möglich ist, wenn man von der klaren, leicht verständlichen territorialen Gliederung des harten Knorpelgewebes von *Petromyxon* und *Myxine* ausgeht.

Daher kann ich mit HANSEN<sup>2</sup> nicht ganz übereinstimmen, wenn er die Bedeutung der Zellterritorien gegenüber der fibrillären Struktur der Knorpelgrundsubstanz in den Hintergrund zu stellen versucht. Wenn er die Lehre von der Zusammensetzung des Knorpels aus »Zellterritorien« in ihrer gewöhnlichen Auffassung als durchaus irrig bezeichnet, so ist es nötig, diese »gewöhnliche« Auffassung zu kennzeichnen.

Versteht man darunter jene Darstellung, welche die Grundsubstanz lediglich aus »Zellkapseln« hervorgehen läßt, so stimme ich mit HANSEN vollkommen überein, indem ich die Grundsubstanz als ein kontinuierliches Produkt der Zellen betrachte, ganz ähnlich, wie bei andern durch reichliche und festere Intercellularmassen ausgezeichneten Bindesubstanzen. Nirgends aber tritt die Bedeutung der Zelle

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 162.

<sup>2</sup> Anat. Anz. Bd. XVI. 1899. S. 434, Anm. 1.

als plastischer Potenz so klar zutage, wie im Knorpel, wo man jede Zelle als Mittelpunkt einer unter ihrem unmittelbaren Einflusse stehenden Machtsphäre sieht, deren chemischer und physiologischer Charakter an die Intaktheit der Zelle gebunden ist und, wie ich im *Myxine*-Knorpel zeigen konnte, mit dem Aufhören der letzteren ebenfalls verschwindet. Daher wird ein genaues Verständnis der territorialen Gliederung auch wesentlich für das der Bildungs- und Wachstumsvorgänge im Knorpelgewebe sein und es scheint mir bedenklich, wenn HANSEN die Knorpelzelle dieser Bedeutung zu entkleiden sucht, indem er es als unnötige Annahme bezeichnet, daß die Stoffe zum Aufbau und zur Ernährung der Grundsubstanz vorher die Knorpelzelle passieren müssen. Er kehrt mit dieser Auffassung zu dem Standpunkte KÖLLIKERS<sup>1</sup> zurück, der die Intercellularsubstanz »in entfernter Linie von der alle embryonalen Gewebe tränkenden Ernährungsflüssigkeit« herleitet. Den Aufbau der spezifischen Knorpelgrundsubstanz kann ich mir nur durch die spezifische Tätigkeit der Knorpelzellen denken.

Diese Bedeutung der Zellterritorien wird auch durch den von HANSEN betonten Umstand, daß sie sekundäre Bildungen sind, nicht beeinträchtigt. Die einfachsten Formen des Knorpelgewebes, sowie die ersten Entwicklungsstadien desselben können aus einer ungegliederten, gleichartigen Grund- oder Intercellularsubstanz bestehen. Die territoriale Gliederung, welche in den meisten grundsubstanzreichen Knorpeln zu sehen ist, tritt aber nicht durch eine sekundäre Veränderung dieser ersten, protochondralen Intercellularsubstanz auf, sondern durch eine weitere, unmittelbare Tätigkeit der Zellen, welche in kontinuierlichem Zusammenhange mit der ersten Grundsubstanz weitere erzeugen, die aber von jener zunächst abgrenzbar bleibt.

Diese territoriale Gliederung kann wieder eine sehr verschiedene sein; im einfachsten Falle erscheinen die Zellen von der protochondralen Grundsubstanz durch einfache, dünne oder dickere Kapseln getrennt. In komplizierteren Fällen kann um die Kapsel ein besonderer Zellhof entstehen, der noch weiter selbst gegliedert sein kann.

Diese Territorien sind auch nicht nur der Ausdruck von chemischen Differenzen, sondern stehen offenbar auch mit der Funktion des Knorpels in genetischem Zusammenhange, ebenso wie die fibrilläre Struktur.

Wie die Verhältnisse im harten *Myxine*-Knorpel, in dem die

<sup>1</sup> Handbuch der Gewebelehre, 6. Aufl., 1889, I. Bd., S. 110 und 1. Aufl., 1858, S. 44.

territoriale Gliederung mangels einer fibrillären Struktur am reinsten zum Ausdruck kommt, erkennen lassen, scheinen sogar physikalische Vorgänge, nämlich Wachstumsdruck und Spannungen in den circumcellulären Schichten, diese chemischen Differenzen zu bedingen. Daher darf man auch durchaus nicht erwarten, daß bei verschiedenen Knorpeln die einzelnen Komponenten der Territorien dieselbe chemische Zusammensetzung haben.

Für die Anschauungen HANSENS war offenbar die Wahl seines ersten Untersuchungsobjektes bestimmend; er hat als Ausgangspunkt seiner eingehenden und vielfach aufklärenden Untersuchungen die Knorpel mit reichlicher Intercellularsubstanz und mehr oder minder deutlicher fibrillärer Struktur gewählt, in denen die Bedeutung der territorialen Gliederung viel schwerer zu erkennen ist. Daher hat HANSEN auch sein Hauptaugenmerk auf die Entstehung der Fibrillen gerichtet und die verschiedensten Vorgänge, welche sich an den Knorpelzellen und in der Grundsubstanz abspielen, mit dieser Fibrillenbildung in Zusammenhang gebracht. Auf die Anschauungen, zu welchen HANSEN über diesen Punkt gekommen ist, hoffe ich in einer folgenden Mitteilung eingehen zu können.

Die Beobachtung, daß bei der Entwicklung der Zwischenwirbelscheiben ästige Zellen unter Verbrauch ihrer Ausläufer zur Grundsubstanzbildung sich zu rundlichen Knorpelzellen umwandeln — eine Tatsache, die mir an andern, z. B. Gelenkknorpeln, bereits bekannt war —, hat HANSEN auch veranlaßt, die Knorpelgrundsubstanz ganz allgemein als eine Art von Ektoplasma, die Knorpelzellen als Endoplasma zu bezeichnen.

In dieser Vorstellung sollte, wenn ich HANSEN recht verstehe, nur die gewiß wichtige Tatsache zum Ausdruck kommen, daß die Knorpelgrundsubstanz zum Teil umgewandeltes Zellprotoplasma ist und, einmal von der Zelle abgesondert, noch in gewisser Hinsicht selbständige Lebens- und Wachstumserscheinungen zeigen kann, eine Vorstellung, für die auch ich eingetreten bin<sup>1</sup>. Daß HANSEN trotz dieser Vorstellung Ausscheidungs- oder Absonderungsvorgängen, welche sich an den Knorpelzellen abspielen, eine wesentliche Bedeutung für die Grundsubstanzbildung zuschreibt, muß aus zahlreichen Stellen seiner Mitteilungen geschlossen werden.

Eine ganz andre und wie ich glaube unhaltbare Auslegung hat STUDNIČKA der ganzen Frage zu geben versucht.

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901.

Nachdem auch er in seinen ersten Mitteilungen von einer Ausscheidung der Knorpelgrundsubstanz gesprochen hat, sucht er jetzt<sup>1</sup> die Grundsubstanz des Knorpels ausschließlich als umgewandeltes Zellprotoplasma, als eine einfache Verschmelzung zunächst individualisierter Exoplasmen hinstellen. Der Knorpelzelle käme nur der Wert einer Endoplasmazelle zu, während erst diese mit der ihr zugehörigen Grundsubstanz, dem Exoplasma, die »Gesamtzelle« darstellen soll.

Eine solche Vorstellung widerspricht meines Erachtens nicht nur dem Begriffe Exoplasma, sondern auch einer Reihe histologischer Tatsachen.

Der Begriff des Endo- und Exoplasmas ist der Protozoenkunde entnommen und bedeutet Exoplasma eine etwas festere Rindenzone des weichen, halbflüssigen Endoplasmas. Beide Substanzen bilden aber ein organisches Ganze und kann das Exoplasma nicht als zusammenhängendes Häutchen isoliert werden, wie dies wohl bei der kapselartigen, die Knorpelzelle unmittelbar umgebenden Grundsubstanzschicht der Fall ist. Allerdings könnte man den Begriff des Exoplasmas dahin erweitern, daß man sagt, dasselbe könne in gewissen Fällen eine festere, formbeständige Konsistenz erreichen, etwa im Sinne der Crusta von F. E. SCHULZE<sup>2</sup>.

Die Änderung des Begriffes Exoplasma darf aber meiner Meinung nach nicht so weit gehen, daß man das Wesentliche dieses Begriffes, den organischen, kontinuierlichen Zusammenhang mit dem Endoplasma außer acht läßt, mit andern Worten, daß man aus der Crusta eine Pellicula macht. Gegen die Deutung STUDNIČKAS, zu der ihn hauptsächlich ein etwas zu schematischer Vergleich der Knorpelkapseln mit den Exoplasmaschichten der Epithel- und Chordazellen geführt zu haben scheint<sup>3</sup>, spricht meines Erachtens schon

<sup>1</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903.

<sup>2</sup> Verhandl. Anat. Ges. 10. Vers. Berlin 1896. S. 30 u.f.

<sup>3</sup> Man vgl. auch STUDNIČKA Mitth. in: Anat. Anz. Bd. XXII, 1903, S. 543 u.f. So versucht STUDNIČKA (Anat. Hefte, l. c. S. 500) die von ihm selbst anerkannte Tatsache, daß im Cyclostomenknorpel (Schwanzflosse) die erste Grundsubstanz einheitlich ist und keine Differenzierung in einzelne Territorien zeigt, — die natürlich mit seiner Theorie der zunächst individualisierten Exoplasmen unvereinbar ist — so zu erklären, daß er diese primäre Intercellularsubstanz auf dieselbe Stufe stellt, wie die von ihm beschriebenen »einheitlichen« Scheidewände im jungen Chorda- und Epithelgewebe. Diese sind jedoch durchaus nicht gleichwertig mit den im Knorpelgewebe beobachteten, trotz der größten Ähnlichkeit an Schnittbildern. Chorda- und Epithelzellen lassen sich stets isolieren, ohne daß zwischen ihnen ein »Grundsubstanzzwebenwerk« übrig bliebe, wie dies beim Knorpel- und auch beim blasigen Stützgewebe der Fall ist.

die bekannte, ungemein leichte Loslösbarkeit der abgerundeten Knorpelzellen von ihrer Wandung. Bei echten exoplasmatischen Bildungen, wie es z. B. wohl die Membranen der Chorda- und der blasigen (vesiculösen) Zellen sind, zieht sich das Endoplasma nicht so leicht zurück. Dasselbe ist der Fall, worauf ich besonders hingewiesen habe<sup>1</sup>, bei den Zellen des prochondralen Gewebes. Daß hier bei der Bildung der ersten Knorpelgrundsubstanz eine unmittelbare Umwandlung von Zellprotoplasma die Hauptrolle spielt, habe ich schon früher gezeigt, indem ich diese erste Grundsubstanz als eine verdichtete und stärker lichtbrechende Rindenzone des Protoplasmas, also ein Exoplasma, bezeichnete, das »auch fernerhin an den Wachstumserscheinungen und Stoffwechselfvorgängen« des Protoplasmas teilnimmt<sup>2</sup>. Wenn ich mich an derselben Stelle wieder mehr für eine Ausscheidung der Grundsubstanz in flüssigem, plastischem Zustande aussprach, so sei dies dahin richtig gestellt, daß sich dies erst auf die weiteren Vorgänge der Knorpelgrundsubstanzbildung bezieht. Schon die Umwandlung dieser ersten exoplasmatischen Grundsubstanz in die protochondrale kann kaum anders verstanden werden, als daß von der Zelle aus spezifische Stoffe in die erstere geliefert werden, unter deren Einfluß sie die chondromucoide Umwandlung erfährt.

Die leichte Loslösbarkeit der Zellen unterbleibt auch dort, wo ästige Knorpelzellen durch Umwandlung ihrer protoplasmatischen Fortsätze in Grundsubstanz mit letzterer mehr oder minder kontinuierlich zusammenhängen, wie dies z. B. beim Discus intervertebralis (HANSEN), bei Gelenkknorpeln in den oberflächlichen Schichten und a. a. O. der Fall ist. Hierher gehört auch das von STUDNIČKA angezogene Beispiel des Knorpels von *Syngnathus*<sup>3</sup>. Wie ich bei Embryonen von 27 mm Länge sehe, besitzt hier die ganze sehr reichliche Intercellularsubstanz den Charakter einer prochondralen Grundsubstanz, ohne daß die Spur einer Kapselbildung oder andern territorialen Gliederung zu sehen wäre. Hier findet wie in den oben angeführten Fällen in der Tat Verbrauch von Protoplasma bzw. Umwandlung von solchem in Grundsubstanz statt; es handelt sich also um im gewissen Sinne exoplasmatische Bildungen. Sobald jedoch die Zelle innerhalb dieses »Exoplasmas« ihre spezifische Tätigkeit beginnt, durch welche die exoplasmatische, prochondrale Substanz

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 122.

<sup>2</sup> Ebendort, S. 165.

<sup>3</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 497 u.f.

erst zur Knorpelgrundsubstanz wird, zeigt die Zelle auch die leichte Lösbarkeit von ihrem Produkt, wie andre absondernde Zellen, z. B. die Schmelzzellen oder andre Epithelzellen, die eine Cuticula produzieren.

Bei den Zellen mit exoplasmatischen Membranen hört die Bildungsfähigkeit auf, sobald jene festere Umhüllung fertig ist; bei den Knorpelzellen hingegen geht die Bildung von Circumcellularsubstanz weiter, indem durch die erste exoplasmatische Lage Substanzen aus der Zelle nach außen dringen, hier als Höckerchen oder Tröpfchen sichtbar werden<sup>1</sup>, oder auch benachbarte Fremdgebilde assimilieren oder maskieren, hyalinisieren (HANSEN) können.

Diese Fernwirkung ist wohl kaum anders zu verstehen, als daß die Zellen Stoffe ausscheiden, welche erst den Charakter der Inter-cellularsubstanz bestimmen. In dieser Hinsicht scheinen mir die in den Zellen des harten *Myxine*-Knorpels beschriebenen basophilen Körnchen, sowie die an der Zelloberfläche oft in radiärer Anordnung nachweisbaren Mikrosomen von Bedeutung. Wenn es mir trotz aller Bemühung im *Myxine*-Knorpel nicht gelungen ist, ein Austreten dieser Mikrosomen in die circumcelluläre Substanz zu verfolgen, so kann dies in technischen Mängeln oder darin seinen Grund haben, daß dieser Austritt in Gestalt feinsten Flüssigkeitsströme geschieht und sich deshalb unsrer Beobachtung entzieht. Vielleicht ist in dieser Hinsicht der von mir beschriebene Austritt chondromucoider Substanz aus den sich metamorphosierenden Zellen in die Grundsubstanz nur der enorm gesteigerte Ausdruck eines normalen Vorganges. Auch diese Strömungsfiguren sind, wie ich erwähnte, nur bei bestimmten Färbungen sichtbar.

An andern Knorpeln deuten feinste Poren in der Kapsel, welche dieser oft ein radiär gestreiftes Ansehen verleihen, auf präformierte Wege dieses Stofftransportes.

Bemerkenswert scheint mir übrigens auch, daß die konzentrischen Lagen um die Kapsel im *Myxine*-Knorpel oft ein körniges Aussehen und ungleichmäßige Ansammlungen zeigen können (Fig. 16 A, IH). Für einen Ausscheidungsvorgang scheinen mir endlich noch jene Fälle zu sprechen, in denen die Grundsubstanz einseitig in größeren Massen angehäuft erscheint, ganz ähnlich, wie eine Cuticularbildung; z. B. die dicken Grundsubstanzsäume, welche die Oberfläche der Kiemenstäbe oder der Schwanzknorpelstrahlen bei *Ammocoetes* überziehen.

<sup>1</sup> Man vgl. die Fig. 37 b, f, Taf. XLIII, XLIV in der zitierten Abhandlung STUDNICKAS.

STUDNICKA<sup>1</sup> hat dieselben auch beschrieben, versucht sie aber als zusammengesetzt aus den verdickten Wänden der Randzellen zu erklären. Dagegen scheint mir zu sprechen, daß dieser Saum gleichmäßig alle Zwickel zwischen den abgerundeten Zellen ausfüllt, wie ein Erguß. Im harten *Myxine*-Knorpel entspricht diesen Säumen die oberflächliche Appositionszone; Lösungsversuche ergaben nun, daß sich dieselbe nur als zusammenhängende Masse isolieren und nicht in einzelne Territorien zerlegen läßt.

Noch viel deutlicher wird diese einseitig produktive Tätigkeit der Knorpelzellen im Scleralknorpel gewisser Tiere, bei welchen eine mittlere Zone typischen Hyalinknorpels von breiten Oberflächenzonen zellenloser Grundsubstanz überzogen wird, z. B. im Orbitalring von *Sepia*, Scleralknorpel vom Ochsenfrosch. Aber auch an den Schädelknorpeln von *Lophius*-Jungfischchen habe ich etwas Ähnliches gesehen.

Eine besondere Schwierigkeit für die Theorie STUDNICKAS scheint mir endlich die lamelläre Schichtung der Zellhöfe im harten *Myxine*-Knorpel, sowie die Tatsache zu bieten, daß die Größe der »Gesamtzellen« von außen nach innen gleichzeitig mit der der »Endoplasmazellen« zunimmt, während umgekehrt die Menge des »Exoplasmas« in dieser Richtung abnimmt.

Mit der lamellären Schichtung der Zellhöfe hat sich STUDNICKA nicht weiter beschäftigt; nur an einer Stelle<sup>2</sup> erwähnt er eine solche Schichtung an frei liegenden Knorpelzellen als besondere Eigentümlichkeit, »der man im zusammenhängenden Gewebe in der Regel nicht zu begegnen pflegt«. Er versucht dieselbe einfach durch eine nicht vollständige Hyalinisierung der Knorpelkapsel zu erklären. Ich halte diese Schichtung für eine prinzipiell wichtige Struktur, welcher dieses Gewebe seine auffallende Härte verdankt und möchte im folgenden dieselbe unter der Annahme periodischer Absonderungsvorgänge an der Oberfläche der Zellen zu erklären versuchen.

Die Zelle scheidet an ihrer Oberfläche, nicht immer ganz gleichmäßig, sondern manchmal auch in Form polarer Anhäufungen, eine Substanz in halbfüssigem Zustande aus, welche leicht färbbar, hauptsächlich aber basophiler Natur ist. Diese Substanz stellt jeweilig die schmale basophile Kapsel dar, die eine eigentümliche Struktur annimmt, indem sie aus schwerer und leichter durchdringbaren (färbbaren) kleinsten Teilen zu bestehen scheint. Die Zelle wächst,

<sup>1</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 611.

<sup>2</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 494.

wodurch diese weiche basophile Lage gedehnt wird. Diese Dehnung nimmt zu durch eine weitere Absonderung derselben Substanz an der Zelloberfläche, wodurch auch die erste Schicht von der letzteren abgedrängt wird. Durch diesen starken Spannungsdruck wandelt sich die zuerst abgeschiedene Lage teilweise, nämlich an ihrer Außenfläche in feste, oxyphile (metachondrale) Substanz um; der Rest der weichen Schicht, welcher bei weiterem Abrücken natürlich expansiv wachsen müßte, könnte weiterhin als Wachstumsquelle für die harte dienen, indem sie die von der Zelle ausgeschiedenen Stoffe assimiliert.

Mit zunehmender Entfernung von der Zelle wird der Stofftransport immer schwerer, daher die weichen Zwischenlagen dünner und allmählich ganz in harte Substanz umgewandelt, wodurch eine anscheinend einheitliche harte, oxy- oder pikrophile Masse, der äußere Zellhof, entsteht. Das anscheinend homogene Aussehen desselben ist offenbar durch die starke Aneinanderpressung, welche hier die dünnen Lamellen erfahren, bedingt; wie gezeigt wurde, tritt bei Behandlung mit Natronlauge usw. die lamelläre Struktur deutlich hervor.

Daß diese außer unmittelbarer Berührung mit der Zelle stehenden Schichten ein intussusceptionelles, zum Teil selbständiges Wachstum besitzen, geht am deutlichsten daraus hervor, daß die Zellen selbst, wenn sie durch irgendeinen Umstand ihren Turgor verlieren, durch dieses Wachstum konzentrisch eingeengt, zusammengepreßt werden können (Fig. 15).

Mit dieser Erklärung stünde im Einklang, daß wir als innerste Lage an normalen Zellen stets die basophile Kapsel sehen, welche auch immer breiter ist als die ebenfalls basophilen Zwischenlagen der Schichtung; noch weiter nach außen stellen letztere nur mehr Reihen feinsten Körnchen dar, bis sie endlich ganz verschwinden.

Der harte Zellhof wächst also auf Kosten des weichen, d. h. letzterer wandelt sich allmählich in den ersteren um.

Die ersten zarten Schichten der harten pikrophilen Substanz können durch künstliche Verdauung bzw. vorsichtige Behandlung mit Alkali ihrer Pikrophilie beraubt werden; wie wir sahen, färben sich an solchen Schnitten viel breitere Höfe mit verdünntem Pikrofuchsin rot; endlich bei stärkerer Einwirkung des Alkali verliert der ganze äußere Zellhof seine charakteristische Färbbarkeit mit Pikrinsäure und färbt sich rot wie der innere.

In den centralen Teilen des Knorpels muß die Ernährung bereits sehr erschwert und herabgesetzt sein; daher sehen wir hier die

Zellen am größten, ihr Territorium, das sie zu ernähren haben, am kleinsten, d. h. dünnsten. Trotzdem gehen hier viele Zellen, offenbar infolge dieser mangelhaften Ernährung, zugrunde und wandeln sich in die weiche, leichter durchdringbare interterritoriale Substanz um.

Nach der Meinung STUDNIČKAS<sup>1</sup> lassen sich in den peripheren Teilen der gelben Knorpel die Grenzen der »Gesamtzellen« in der Regel nicht erkennen und besteht hier dieser Knorpel nur aus verhältnismäßig kleinen »Gesamtzellen« und großen Massen von weiter nicht differenzierter Grundsubstanz.

Dies ist, wie ich gezeigt habe, wenigstens für den *Myxine*-Knorpel nicht zutreffend. Allerdings kann dieser Eindruck an ungefärbten oder mangelhaft gefärbten Schnitten entstehen (Fig. 3); mittels geeigneter Methoden lassen sich aber auch die oberflächlichen Partien — mit Ausnahme der schmalen Appositionszone — in scharf getrennte Territorien zerlegen (Fig. 4).

Vergleicht man diese mit denen in der Mitte des Knorpels (Fig. 2), so sieht man, daß die Dicke der »Exoplasmaschichten« um die kleinen, jüngeren Zellen am größten ist, während sie innen wesentlich abnimmt. Das kann aber hier, etwa nach der Theorie STUDNIČKAS, unmöglich so gedeutet werden, als ob in den oberflächlichen Schichten das Exoplasma auf Kosten des Endoplasmas sich verdickt hätte, denn es handelt sich da ja um jüngere Zellen, die weiterhin an Größe beträchtlich zunehmen, während gleichzeitig ihr »Exoplasma« an Dicke abnimmt.

Ich halte es für nicht unwahrscheinlich, daß die oberflächlichen jüngeren und besser ernährten Zellen am meisten Circumcellularsubstanz produzieren, während in der Mitte an der Oberfläche der Zellterritorien wieder eine Einschmelzung von Substanz stattfindet; dafür scheint mir auch die besonders an Formolpräparaten deutlich zu beobachtende körnige Beschaffenheit der äußeren Zellhöfe an ihren Berührungsflächen mit der interterritorialen Substanz zu sprechen.

Alles dies zusammengehalten, so scheinen mir für die Erörterung der Frage, ob die Knorpelgrundsubstanz durch Ausscheidung bzw. Absonderung von seiten der Knorpelzellen oder durch Umwandlung ihrer äußersten Plasmalage entsteht, noch immer die Gesichtspunkte maßgebend, welche F. E. SCHULZE<sup>2</sup> ganz allgemein über die Entstehungsweise der Zellmembranen entwickelt hat. Noch heute wissen

<sup>1</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 501, Anm. 1 und S. 499, Anm. 1.

<sup>2</sup> l. c.

wir über die zahlreichen Möglichkeiten, wie eine tierische Zellmembran entstehen kann, sehr wenig und wird es sehr schwer, ja geradezu unmöglich sein, die oben gestellte Frage mit Bestimmtheit nach der einen oder andern Seite zu entscheiden.

Die genaue vergleichende Verfolgung der Entwicklungs- und Wachstumsvorgänge des Knorpelgewebes ergibt aber Anhaltspunkte für jede der beiden Auffassungen und wie so oft, wird auch hier die Wahrheit in der Mitte liegen, d. h. die Natur wird sich des einen wie des andern Bildungsmodus bedienen, je nach Zweckmäßigkeit und Bedarf.

### B. Das weiche Knorpelgewebe.

Ich wende mich nunmehr der Beschreibung der zweiten Art von Knorpelgewebe bei *Myxine* zu, wie es im sog. weichen oder grauen Knorpel (JOH. MÜLLER) vorliegt.

Dieses weiche Knorpelgewebe entspricht ganz allgemein in mikrochemischer und mechanischer Hinsicht dem Gewebe, das den Kiemenknorpel von *Ammocoetes* bildet; es färbt sich im Gegensatz zu den harten Knorpeln vorwiegend mit Hämatoxylin-Tonerde, aber auch mit Hämalaun, enthält also den für die Knorpelgrundsubstanz charakteristischen schleimartigen Körper, das Chondromucoid<sup>1</sup>. Dem entsprechend ist es weich, biegsam und elastisch. Hier muß allerdings gleich bemerkt werden, daß sich der weiche *Myxine*-Knorpel im allgemeinen nicht so stark mit Hämalaun färbt, wie der von *Ammocoetes*; auch mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde färbt er sich später als der Inhalt der Schleimzellen in der Haut und in den Schleimsäcken. Eine Erklärung dieser Erscheinung soll später gegeben werden; teilweise kann sie auch mit der Beschaffenheit des Materials zusammenhängen, das ich nicht so frisch wie *Ammocoetes* erhalten konnte. Ähnlich den weichen *Ammocoetes*-Knorpeln erscheinen die weichen Knorpel von *Myxine* an Präparaten aus MÜLLERscher Flüssigkeit milchartig durchscheinend, im Gegensatz zum harten Knorpel, der eine gelbe Farbe zeigt. Spuren weichen Knorpels können daher bei der Präparation leicht übersehen werden und sind auch übersehen worden, wie noch gezeigt werden soll.

Geht man etwas näher auf das mikrochemische Verhalten des weichen Knorpels ein, so wird man bald sehen, daß die einfache Bezeichnung desselben als »basophil« gegenüber dem vorherrschend

<sup>1</sup> Über die Bedeutung der Hämalaunfärbung für den Nachweis von Chondromucoid vgl. meine Bemerkungen im Anat. Anz. Bd. XXIII, 1903, S. 527 u.f.

»oxyphilen« harten Knorpel nicht zutreffend ist, wengleich er sich mit einer Reihe sog. basischer Farbstoffe charakteristisch färbt und gewisse »saure« ablehnt.

Färbt man Freihandschnitte oder Mikrotomschnitte, an denen das Celloidin entfernt worden ist, mit 1% iger wässriger Safraninlösung und extrahiert dann längere Zeit in mit Essigsäure angesäuertem Wasser oder Salzsäure-Alkohol, so erhält man eine metachromatische Violettfärbung<sup>1</sup> des weichen Knorpels.

Färbt man hingegen progressiv in maximal verdünnter Safraninlösung (1 Tropfen der gesättigten wässrigen Lösung auf 50 Wasser), so färbt sich der weiche Knorpel, wie die in Metamorphose befindlichen Zellen des harten metachromatisch braun- bis orangegeb. Selbst bei tagelanger Extraktion in Salzsäure-Alkohol hält der weiche Knorpel die Safraninfärbung fest, doch geht natürlich die Metachromasie verloren.

Eine intensive metachromatische Rotfärbung zeigt der weiche Knorpel bei progressiver Einwirkung (24—48 Stunden) von stark verdünnter (1:50 000) Thioninlösung. Färbt man mit 1/2% iger Lösung fünf Minuten, so bleibt die Metachromasie bei rascher Alkoholbehandlung auch erhalten.

Weiter färbt sich der weiche Knorpel ähnlich metachromatisch mit Chinoleinblau, Toluidinblau und im polychromen Methylenblau (1 Stunde färben, 15 Stunden in Alkohol ausziehen), was im letzteren Falle gegenüber der grünlichen Färbung des harten Knorpels eine ungemein scharfe Differenzierung gibt. Bei progressiver Färbung in maximal verdünnter Lösung erhält man jedoch eine fast schwarzblaue Färbung. Stark färbt er sich auch mit Methylenblau, Diamantfuchsin, Vesuvinbraun; auch mit Anilinrot und Methylviolett (1:20 000), welche Färbungen auch der Alkoholextraktion eine Zeitlang widerstehen. Setzt man dieselbe genügend lange (18 Stunden) fort, dann werden diese letzteren Farben, wie auch das Chinolein, größtenteils wieder ausgezogen und zwar zuerst aus der Kapselsubstanz, so daß in einem gegebenen Zeitpunkt hauptsächlich die intercapsulären Scheidewände gefärbt erscheinen und deutlich hervortreten. Nach diesem Verhalten könnte man den weichen Knorpel für rein »basophil« halten, be-

<sup>1</sup> P. MAYER (Über Schleimfärbung. Mitth. a. d. Zool. Stat. Neapel, 1896, S. 316) sah diese Violettfärbung nach Differenzierung stark überfärbter Schnitte mit saurem Alkohol und fand dieses Violett so widerstandsfähig, daß es in Balsam gebracht werden kann. Das ist in der Tat der Fall; die Metachromasie nach Violett tritt aber auch bei einfacher, länger dauernder Alkoholextraktion auf.

sonders wenn man weiter erfährt, daß er sich vollkommen ablehnend gegen Eosin, Tropäolin, indigschwefelsaures Natron, Bordeaux R, Goldorange, Orange G, Metanilgelb und Säurefuchsin verhält.

Nun färbt er sich aber auch mit einer Reihe »saurer« Farbstoffe; so mit Methylblau, wasserlöslichem Anilinblau, Bleu de Lyon, Indulin und Nigrosin (sulfosauren Salzen basischer Induline) mit Thiazinrot, Thiazinbraun und Cörulein.

Während Säurefuchsin den weichen Knorpel vollkommen ungefärbt läßt, wird derselbe energisch rot gefärbt, wenn man das Säurefuchsin simultan mit Pikrinsäure einwirken läßt. Allerdings ist dieses Rot ein Rosarot, wie es auch das Bindegewebe zeigt, während der harte Knorpel sich scharlach- bis gelbrot färbt.

Färbt man in einem Gemisch von stark verdünntem Säurefuchsin und Methylviolett 5 B, so erhält man stellenweise die Kapselsubstanz rot, die intercapsulären Scheidewände blau gefärbt.

Der weiche Knorpel färbt sich auch lebhaft und haltbar mit saurem Orcein.

Färbt man längere Zeit (16 Stunden) in tief veilchenblauer, also stark verdünnter Lösung von DELAFIELDS Hämatoxylingemisch und behandelt dann solche Schnitte mit 5—10% iger Essigsäure ( $\frac{3}{4}$  Stunden), wobei im harten Knorpel eine fast reine Kapselfärbung in Blau auftritt, dann zeigt sich der weiche Knorpel deutlich metachromatisch rot gefärbt, eine Erscheinung, die mir auch von manchen Hyalinknorpeln des Menschen und höherer Wirbeltiere, aber auch vom Schleim gewisser Drüsen bekannt ist. Einige weitere Farbreaktionen sollen weiter unten besprochen werden.

Morphologisch zeigt der weiche Knorpel nicht überall das gleiche einfache Verhalten, wie der Kiemenknorpel von *Ammocoetes*; vielmehr kann man hier wieder auf das schönste die bei der Entwicklung der Schwanzflossenstrahlen von *Petromyxon* festgestellte Tatsache bestätigt finden, daß der feinere Bau des (weichen) Knorpels sich mit seiner funktionellen Inanspruchnahme ändert. Vollkommen mit dem weichen *Ammocoetes*-Knorpel stimmt er nur an wenigen Stellen und zwar meist dort überein, wo er in Gestalt rudimentärer Knorpelstückchen auftritt. In Fig. 25 ist eine solche Knorpelinsel von der rechten Seite des Oesophagus abgebildet; man sieht, daß auch hier die spärliche Intercellularsubstanz ein einfaches, zeltrennendes Wabenwerk, I, ohne Andeutung von Kapselbildung darstellt.

Hier möchte ich aber bemerken, daß im Gegensatz zum weichen Knorpel in den Kiemenstäben und Schwanzflossenstrahlen von *Ammo-*

*coetes*, bei denen die Grundsubstanzbalken eine Architektur zeigen, die deutlich ihre Beanspruchung auf Biegungeelastizität erkennen läßt, in diesen Knorpelresten von *Myxine* die Zellen und damit die Maschen der Intercellularsubstanz eine mehr rundliche Form besitzen. Noch ausgesprochener ist dies an Knorpelrudimenten, die nur aus wenigen Zellen bestehen, wie ich sie bei *Myxine* an manchen Stellen, z. B. zu beiden Seiten der schlitzartigen Mundöffnung (Fig. 24) oder zwischen den Schwanzflossenstrahlen finde.

Diese Abänderung der Form zeigt also wieder deutlich die geänderte mechanische Beanspruchung oder umgekehrt, man kann aus dieser Anordnung der Grundsubstanz den Schluß ziehen, daß diese Knorpelreste keine wesentliche mechanische Leistung zu vollführen haben, sondern nur als Zeugen einer stattgehabten Reduktion des *Myxine*-Skelettes unser Interesse verdienen. Denselben einfachen Bau, wie er in Fig. 25 dargestellt ist, findet man auch an den wachsenden Enden der weichen Knorpel bei jüngeren Exemplaren von *Myxine*, an den distalsten Teilen der Schwanzflossenknorpel und überall dort, wo massigere Stücke weichen Knorpels in ganz dünne Stäbe oder Platten auslaufen, in diesen letzteren.

An den meisten übrigen Stellen läßt die Intercellularsubstanz des weichen *Myxine*-Knorpels, wie ich schon an anderer Stelle bemerkt habe<sup>1</sup>, zweifellos eine Zusammensetzung aus interterritorialer Grundsubstanz (primärer Kittsubstanz) und sekundär eingelagerten Zellhöfen (Kapselsubstanz) erkennen. Trotzdem bleibt die gesamte Intercellularsubstanz stets spärlicher als im harten Knorpel und stellt dieselbe — mit Ausnahme der ebengenannten Stellen — vielfach ein Balkenwerk mit polygonalen Maschen dar (Fig. 26).

Untersucht man die morphologische Zusammensetzung der Intercellularsubstanz an mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde und Eosin doppelt gefärbten Präparaten genauer, so findet man Veränderungen im feineren Bau des weichen Knorpels stets auch von solchen in seinem färberischen Verhalten begleitet, ganz ähnlich, wie ich dies an den Schwanzflossenstrahlen von *Petromyxon* geschildert habe.

Während an den dünnsten und schwächsten Stellen des weichen Knorpels, wie schon erwähnt, die Intercellularsubstanz desselben aus einem einfachen Wabenwerk besteht, das sich stark mit DELAFIELDS Gemisch, Hämalan, saurem Orcein usw. färbt (Fig. 25 I), treten an etwas stärkeren und widerstandsfähigeren Stellen in den einheitlichen

<sup>1</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. L. 1897. S. 175.

Wabenwänden zarte Mittellamellen auf (Fig. 26 I), welche sich zunächst nicht mehr mit Hämalaun, aber auch kaum mit Eosin färben. Diese Mittellamellen können weiterhin, d. h. an andern Stellen, an Breite und an Färbbarkeit mit Eosin zunehmen, so daß man ein starkes, deutlich rot gefärbtes Balkennetz mit eingelagerten blau gefärbten Kapseln die Intercellularsubstanz zusammensetzen sieht.

Wo der weiche Knorpel am mächtigsten entwickelt erscheint oder stärkeren mechanischen Anforderungen ausgesetzt ist, kann die Kapselsubstanz aber weiter eine Zusammensetzung aus zwei konzentrischen Schichten, einer inneren mit DELAFIELDS Gemisch färbbaren Kapsel (Fig. 28 und 29 *K*) und einem äußeren, je nachdem, schwach oder nicht mit DELAFIELDS Gemisch, schwach oder stärker mit Eosin färbbaren Zellhof (Fig. 28 und 29 *H*) zeigen.

Im letzteren Falle, in welchem die Balken der Intercellularsubstanz eine beträchtliche Dicke erreichen können (bis zu 6,8  $\mu$ ), sehen wir die Hauptmasse derselben rot gefärbt, während nur eine schmale Kapsel um die Zelle stark, und ein anschließender verwaschener Zellhof schwächer blau gefärbt erscheint. Bei genauem Zusehen erscheint die Rotfärbung an vielen Stellen und zwar meist dort, wo der weiche Knorpel an harten stößt, am intensivsten in der Mitte der Grundsubstanzbalken, in zarten, scheidewandartigen Linien, welche hier in der Tat interterritoriale Grenzen darstellen (Fig. 30 *I*): An andern Orten gleichen diese interterritorialen Scheidewände kaum wahrnehmbaren, schwächer lichtbrechenden Trennungslinien. Mit der Ausbildung dieser erreicht der weiche Knorpel die höchste morphologische Differenzierung, welche in ihrer Gliederung vollkommen der im harten Knorpel entspricht. Ich muß hier aber sofort betonen, daß die Eosinfärbung nicht die Intensität und den Ton, wie im harten Knorpel erreicht, sondern meist — mit Ausnahme mancher inselartiger Stellen — eine bläulichrote Mischfarbe aufweist, während die kleinste Insel harten Knorpels ein leuchtendes Gelbrotes zeigt.

Aber auch einzelne kleine Partien im weichen Knorpel können anscheinend bis auf eine ganz schmale Kapsel stark und leuchtend rot gefärbt erscheinen, bleiben dann aber immer noch durch die eckige Form ihrer Zellen und den Mangel konzentrisch geschichteter Zellhöfe vom typischen harten Knorpel unterscheidbar.

Die zarten Mittellamellen oder interterritorialen Scheidewände, auf deren Entstehung ich gleich noch näher eingehen will, zeigen da und dort, ganz ähnlich wie im harten Knorpel, zwickelförmige Verbreiterungen (Fig. 28 und 29 *ZW*), welche meist mit Hämatoxylin

blau gefärbt erscheinen, aber manchmal sich auch mit Eosin färben.

Bei genauerem Zusehen erkennt man, daß dieselben ihre Entstehung auch hier der Metamorphose ganzer Zellen verdanken können; diese Zellen zeigen ganz ähnliche morphologische und mikrochemische Veränderungen, wie jene im harten Knorpel. Sie färben sich in den maximal verdünnten Schleimfärbemitteln (Safranin, Thionin, Toluidinblau, Chinolein usw.) zuerst und am stärksten, aber auch mit DELAFLIELDS Hämatoxylin-Tonerde, saurem Orcein und Hämalaun, nicht dagegen mit Mucikarmin.

Das weitere Schicksal solcher aus der Umwandlung ganzer Zellen hervorgegangener chondromucoider Massen gestaltet sich ebenfalls ähnlich, wie im harten Knorpel; sie werden entweder durch den Wachstumsdruck der Umgebung zu interterritorialen Scheidewänden gedrückt, bzw. letzteren beigemischt, wobei sie vorübergehend die geschilderten basophilen Grundsubstanzwickel darstellen, später aber in die oben erwähnten schmalen stark lichtbrechenden und intensiv mit Eosin färbbaren Scheidewände umgewandelt werden.

Sie können aber auch, zunächst ohne zusammengepreßt zu werden, eine allmähliche Umwandlung in die mit Eosin blaurot färbbare, härtere Grundsubstanz erfahren und stellen dann größere, zellfreie Zwickel dieser Substanz dar.

Ich kann mich hier mit Rücksicht auf die ausführliche Schilderung beim harten Knorpel und unter Hinweis auf die Fig. 27 und 31 wohl auf diese Andeutungen beschränken. Die oben geschilderten verschiedenen Abarten des weichen Knorpelgewebes kommen nun bei *Myxine* im Verlaufe eines und desselben Knorpelstückes anscheinend regellos neben- und durcheinander vor; besonders treten die härteren, mehr mit Eosin rot färbbaren Formen oft in Gestalt kleinster, nur wenige Zellgebiete umfassender Inseln mitten im blau färbbaren Knorpel auf. Dies ist z. B. deutlich im Knorpel der Riechkapsel und der Zunge der Fall.

Dieses auf den ersten Anblick schwer verständliche und anscheinend regellose Durcheinander wird uns begreiflich, wenn wir die klareren Verhältnisse an den Schwanzflossenstrahlen bei *Petromyzon*, denen übrigens auch die an genannter Stelle bei *Myxine* entsprechen, in Betracht ziehen, wo die Aufeinanderfolge der einzelnen Formen in gesetzmäßiger, von der in axipetaler Richtung allmählich gesteigerten, mechanischen Beanspruchung bedingter Weise stattfindet.

Die genannten weichen Knorpel von *Myxine* sind nicht, wie z. B.

die Kiemenstäbe von *Ammocoetes*, ausschließlich auf Biegungselastizität beansprucht, sondern müssen mit Biegsamkeit auch eine gewisse Festigkeit verbinden. So z. B. wird der Zungenknorpel beim Vorziehen aus der Mundöffnung zu einer ebenen oder sogar leicht konvexen Platte entfaltet, beim Zurückziehen zu einer stark konkaven Rinne aufgebogen oder eingerollt. Andererseits muß er, als Träger der Zahnplatten bei der raspelnden Bewegung derselben, wobei die Zunge stark gegen den Körper des Angriffsobjektes gedrückt wird, eine nicht geringe Druck- und Zugfestigkeit entwickeln.

Diesen beiden verschiedenen mechanischen Anforderungen scheint nun durch die geschilderte, inselweise Verstärkung der weichen Knorpelgrundsubstanz entsprochen zu sein.

Was nun die Entwicklung und das Wachstum des weichen Knorpels anlangt, so entsteht die einfachste Form desselben ganz in derselben Weise, wie ich es für den Kiemen- und Schwanzflossenknorpel des *Ammocoetes* geschildert habe.

Die höheren Formen können auf zweierlei Weise entstehen: entweder als weitere Modifikation dieses einfachsten Knorpelgewebes, ähnlich wie in den Flossenstrahlen von *Petromyzon fluviatilis* und *marinus*. Während ich jedoch in diesen letzteren selbst in den am weitesten entwickelten basalen Teilen nur eine einfache Kapsel um die Zellen und zwischen denselben eine intercapsuläre (territoriale) Substanz unterscheiden konnte (man vergleiche z. B. das Schema im Anat. Anz. Bd. XIX, 1901, Taf. I), kann es im weichen Knorpel der *Myxine* noch zur Ausbildung einer weiteren Schicht kommen, indem in der interterritorialen Substanz zarte, linienartige Scheidewände auftreten, welche nun ihrerseits die interterritoriale Substanz darstellen (Fig. 30, 31) und so der früher einfachen Kapselsubstanz jeder Zelle oder Zellgruppe noch eine äußere Zone, einen Zellhof (Fig. 30 H) zuteilen. Die Entstehung dieser neuen, interterritorialen Substanz muß man als eine eigentümliche Zustandsänderung in den am weitesten von den Zellen entfernten Teilen der alten, aus einer direkten Umwandlung der protochondralen Grundsubstanz hervorgegangenen Zwischensubstanz auffassen.

Hier kann man also in der Tat »doppelte« Kapseln (Kapsel + Zellhof) von einer »wirklichen Grundsubstanz« getrennt finden, wie dies STUDNIČKA<sup>1</sup> irrtümlich für den Schwanzflossenknorpel von

<sup>1</sup> Anat. Anz. Bd. XIV. 1898. S. 285.

*Petromyzon* behauptet hat, worüber man meine Bemerkungen an andern Orten<sup>1</sup> einsehen möge.

Oder aber der höher differenzierte Knorpel entsteht unmittelbar beim perichondralen Wachstum, ohne vorher das Stadium des Knorpels mit einfacher protochondraler Zwischenzellsubstanz zu durchlaufen.

So finde ich z. B. an dünnen Durchschnitten durch den weichen Zungenknorpel (Fig. 29) in der subperichondralen Lage eine mit Eosin sich stark färbende schmale Zone *A*, welche oft ein faserig-körniges Aussehen besitzt und welche wieder die jüngst abgelagerte Schicht von Knorpelgrundsubstanz darstellt, in welche auch Fasern des Perichondriums einbezogen erscheinen.

In diese jüngste appositionelle Schicht von Grundsubstanz (*A*), welche die Oberfläche des Knorpels gleichmäßig überdeckt, sind einzelne flache und unansehnliche Zellen des Perichondriums, Chondroblasten, eingeschlossen. Die Zellhöfe, welche sie bald um sich erzeugen, sind reich an Chondromucoid; sie färben sich blau mit Hämalaun und zwar am stärksten unmittelbar um die Zelle, der Kapsel entsprechend (*K*), schwächer gegen die Peripherie, dem Zellhof entsprechend (*H*), ohne daß sich jedoch bei dieser Färbung die Kapsel stets scharf absetzen würde. Dagegen hebt sich die mit Eosin lebhaft rot gefärbte Zwischensubstanz (*I*) scharf von diesen Höfen ab.

Inselweise kann weiter auch der Zellhof die Färbbarkeit mit Hämalaun verlieren und die mit Eosin annehmen; so entstehen zahlreiche scheinbar unmittelbare Übergänge des weichen Knorpels in eine Abart desselben, welche sich färberisch anscheinend wie der harte verhält.

STUDNIČKA hat in seiner Fig. 6 Taf. XXXI eine solche Insel abgebildet, jedoch ohne Berücksichtigung der territorialen Gliederung und bezeichnet sie kurzweg als »gelben«, d. i. harten Knorpel.

Es fragt sich nun, ob solche Übergänge gleichzusetzen sind jenem von mir<sup>2</sup> beschriebenen räumlichen Übergange des weichen Kiemenknorpels in den harten Schädelknorpel von *Ammocoetes*? Mit andern Worten, kann der weiche Knorpel genetisch unmittelbar in den harten übergehen, bzw. muß letzterer das Stadium des weichen Knorpels durchlaufen oder ist der harte Knorpel von Anfang an als typisch verschiedene

<sup>1</sup> Anat. Anz. Bd. XIX, 1901, S. 26 u.f. und diese Zeitschr. Bd. LXX, 1901, S. 157 u.f.

<sup>2</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 631.

Knorpelart aufzufassen, die sich auch noch von der ähnlichen harten Abart des weichen Knorpels unterscheiden läßt?

Diese Frage ist deshalb von Interesse, weil bei *Ammocoetes* die zwei Arten von Knorpelgewebe nur an einer einzigen Stelle ineinander übergehen, nämlich dort, wo das Kiemenskelett mit dem Schädel skelett sich verbindet. Wie ich weiter zeigen konnte, entsteht diese Verbindung erst sekundär, ist somit nicht auf einen genetischen, sondern nur auf einen räumlichen Übergang zurückzuführen.

Es läge nun nahe, dies auch für *Myxine* anzunehmen, bei der sich jedoch eine große Anzahl solcher Übergänge findet, indem der weiche Knorpel, außer daß er selbständige Skelettstücke bildet, auch noch vielfach die Rolle eines Bindemittels zwischen harten Knorpelstücken spielt. Daraus würde dann weiter hervorgehen, daß das Skelett von *Myxine* sich aus einer größeren Anzahl ursprünglich getrennter Anlagen entwickelt.

Eine sichere Entscheidung läßt sich in dieser Frage deshalb nicht treffen, weil wir die früheste Entwicklung des Knorpelskelettes bei *Myxine* nicht kennen. Ziehen wir jedoch die bekannten Verhältnisse bei den Neunaugen in Betracht, so möchte ich den weichen und harten Knorpel auch bei *Myxine* als zwei selbständige und voneinander unabhängige Gewebsarten auffassen, im Gegensatz zu STUDNIČKA<sup>1</sup>, welcher die Einteilung der Cyclostomenknorpel in zwei Typen nur als eine künstliche bezeichnet.

Ich erinnere hier an das Verhältnis zwischen dem Binnen- und Rindenknorpel der Schwanzflossenstrahlen von *Petromyxon marinus*<sup>2</sup>; ersterer besteht aus einer verhältnismäßig mächtigen, mit Eosin rot färbbaren intercapsulären Substanz und schmalen, mit Hämalaun blau färbbaren Höfen, während umgekehrt im harten Rindenknorpel die Kapselsubstanz die Hauptrolle spielt und die intercapsuläre Masse auf oft kaum nachweisbare Spuren reduziert erscheint.

Dieser letztere Knorpel, dessen Struktur ich nunmehr für vollkommen übereinstimmend mit der des harten Schädelknorpels halte, entsteht nun, wie ich gezeigt habe, sofort als ein Knorpel von besonderem Typus aus dem Perichondrium und nicht als eine weitere Modifikation des Binnenknorpels. Hier unterscheidet sich also der harte Knorpel deutlich sowohl genetisch, als auch strukturell von dem weichen.

<sup>1</sup> l. c. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 614.

<sup>2</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXX. 1901. S. 161.

Ähnlich verhält es sich nun bei *Myxine*; der weiche Knorpel kann durch besondere Beanspruchungen sich mikrochemisch und morphologisch sehr dem harten Knorpel nähern, nicht aber in einen solchen umwandeln.

Der typische harte Knorpel bleibt durch die abgerundete Form seiner Zellen, besonders aber durch die enge konzentrische Schichtung seiner Zellhöfe, welche geradezu der Grund der auffallenden Härte dieses Knorpels zu sein scheint und den meist größeren Reichtum an Intercellularsubstanz stets unterschieden auch von der harten Modifikation des weichen Knorpels.

Für die selbständige Natur des harten Knorpelgewebes läßt sich vielleicht noch die Tatsache ins Feld führen, daß es auch dort noch seinen besonderen morphologisch-mikrochemischen Charakter bewahrt, wo es nur als Überrest offenbar rückgebildeter Skeletteile gefunden wird und keine stützende Funktion mehr ausüben kann. So finde ich bei einer *Myxine* zwischen zweitem und drittem Kiemensack in der ventralen Mittellinie über der Muskulatur ein rundliches, beiläufig 0,2 mm messendes Rudiment aus hartem Knorpel, welches in blasiges Stützgewebe eingebettet ist.

Was nun die Verteilung und Anordnung des weichen Knorpelgewebes bei *Myxine* betrifft, so verweist STUDNIČKA<sup>1</sup> auf die Abbildungen W. K. PARKERS (l. c.), in welchen die beiden Knorpelarten durch verschiedene Farben hervorgehoben werden. Diese Darstellung ist nicht sehr genau, aber auch deshalb nicht zutreffend, weil das blasige Stützgewebe, wie es z. B. im Zungenbeinkiel vorkommt, einfach als weicher Knorpel behandelt erscheint.

Für die Verteilung des weichen Knorpels bei *Myxine* ist, wie bei *Ammocoetes* die funktionelle Verwendbarkeit dieses biegsamen und elastischen Gewebes maßgebend. Auch bei *Myxine* findet es sich als Stütze und Umhüllung beweglicher Teile des Schädels; so in den Tentakeln als Mundknorpel, im Nasenrohr und der Nasenkapsel, im subnasalen Stab, im knorpeligen Boden des Nasenrachenganges, im Zungenknorpel, um das vordere Chordaende, als Verbindungs- und Nahtknorpel zwischen den harten Schädelknorpeln an verschiedenen Stellen, die bei PARKER wiedergegeben sind; in den Nähten zwischen den hartknorpeligen Stücken des sog. Zungenbeins, wie auch des Zungenknorpels, worauf ich noch zurückkomme. Weiter besteht das ganze komplizierte Knorpelgerüst des Schlundkorbes und Schlundsegels

<sup>1</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 614.

aus weichem Knorpel; endlich findet er sich in Gestalt nur mikroskopisch wahrnehmbarer Überreste an den verschiedensten Stellen des Skelettes. So unter der Haut, zu beiden Seiten längs der schlitzförmigen Mundöffnung, über der zahntragenden Platte des Zungenknorpels in Gestalt isolierter, kurzer Knorpelstäbchen zwischen den zwei Zahnreihen, in der Wandung der Kiemensackausführungsgänge, als knorpelige Stütze des Ductus oesophago-cutaneus und endlich als Rudiment an der rechten Seite des Oesophagus, dort wo er hinter den Kiemen als geschlossenes Rohr beginnt.

Auch der Knorpel der Schwanzflosse ist weicher Knorpel, ebenso wie kleine, isolierte Inselchen, welche ich da und dort zwischen den Flossenstrahlen finden konnte.

Es würde hier zu weit führen, eine genaue, topographische Schilderung aller der kleinsten Knorpelinselchen zu geben; ich hoffe dazu an anderer Stelle Gelegenheit zu finden, da diese Reste insofern von Interesse sind, als sie wahrscheinlich auf im Laufe der Rückbildungsvorgänge, denen der Schädel von *Myxine* infolge seiner funktionellen Anpassung in höchstem Maße unterlegen ist, zugrunde gegangene Teile des Ahnenskelettes hindeuten. Ich wende mich nun zur Beschreibung der dritten Art von skelettbildendem Gewebe, das bei *Myxine* in größerer Verbreitung sich vorfindet.

### C. Das knorpelartige, blasige (vesiculöse) Stützgewebe.

An jener oben angeführten Stelle, an welcher J. MÜLLER den geweblichen Unterschied zwischen hartem und weichem Knorpel von *Bdellostoma* erläutert<sup>1</sup>, hebt er auch hervor, daß in den weicheren Knorpeln des Tieres die Zellenbildung so vorwiegt, daß die Zellen größer werden, als die Zwischenwände dick sind, so daß der Knorpel ganz cellulös erscheint, wie z. B. die Masse des knorpeligen Teiles des Zungenbeins.

Daraus geht hervor, daß J. MÜLLER den sog. Zungenbeinkiel für denselben weichen Knorpel gehalten hat, den ich im vorhergehenden geschildert habe.

PARKER<sup>2</sup> hinwiederum bezeichnet ihn als ein »fast fibröses Gewebe« und nennt ihn »weichen Faserknorpel«.

Ich war nun sehr überrascht, bei näherer Untersuchung zu finden, daß in Wirklichkeit keine dieser Schilderungen zutrifft und der

<sup>1</sup> l. c. S. 133 u. f.

<sup>2</sup> l. c. p. 382.

Zungenbeinkiel weder aus echtem Knorpel, noch aus gewöhnlichem, fibrösem Gewebe besteht, vielmehr ein Gewebe sui generis darstellt, für welches sehr zutreffend die Beschreibung ist, welche PARKER von der dritten Art des Skelettgewebes bei *Myxine* gibt, indem es in der Tat »ein elastisches, schwammiges Gewebe, erfüllt von großen Blasen, ein wenig dichter, als das Gewebe der Chorda« bildet.

Ich habe die Zellen dieses Gewebes, dessen Ähnlichkeit mit dem Sesamknorpel in der Achillessehne des Frosches ich zuerst erkannte, bereits anderwärts<sup>1</sup> näher beschrieben; an anderer Stelle<sup>2</sup> habe ich das Gewebe nach J. MÜLLER kurz als einen »Knorpel« bezeichnet, in dem die blasigen Zellen in ein dichtes Gerüstwerk bindegewebiger Platten und Faserzüge eingebettet erscheinen. Seither konnte ich einige weitere Mitteilungen über dieses Gewebe machen, indem ich die Beschreibung, die STUDNIČKA<sup>3</sup> davon gegeben hat, teilweise bestätigte, teilweise erweiterte. Besonders glaubte ich<sup>4</sup> gegen die von diesem Autor, auch neuestens wieder<sup>5</sup>, vertretene Bezeichnung des Gewebes als »Vorknorpel« Stellung nehmen zu müssen<sup>6</sup>.

Wenn ich nun nochmals des näheren auf eine Schilderung dieses Gewebes eingehe, so glaube ich dies mit dem Interesse, welches dasselbe in vergleichend histologischer, dann aber auch in morphologischer Hinsicht verdient, rechtfertigen zu können.

Das Gewebe findet sich nämlich an den verschiedensten Stellen im Schädelskelett von *Myxine*, teils im Anschluß an die Knorpel des letzteren, teils in Gestalt selbständiger Stücke und scheinbarer Reste, die oft noch Spuren echten Knorpelgewebes in sich einschließen können.

Bisher hat dieses knorpelartige Gewebe bei der Darstellung des Schädelskelettes von *Myxine* nicht die ihm gebührende Berücksichtigung erfahren; doch scheint mir dasselbe ebenso, wenn auch von anderer Bedeutung zu sein, wie der Schleimknorpel am *Ammocoetes*-Schädel, dessen Anordnung von mir<sup>7</sup> und GASKELL<sup>8</sup> näher beschrieben worden ist, oder wie die knorpeligen Teile am Wirbeltierschädel, die

<sup>1</sup> Über einen neuen Befund von Centrosomen in Ganglien- und Knorpelzellen. Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien. Bd. CV. Febr. 1896. S. 22.

<sup>2</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 642.

<sup>3</sup> Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII. 1897. S. 638 u.f.

<sup>4</sup> Ebendort. Bd. L. 1897. S. 184.

<sup>5</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 340.

<sup>6</sup> Anät. Anz. Bd. XXIII. 1903. S. 466 u.f.

<sup>7</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 642.

<sup>8</sup> Journ. Anat. Phys. Vol. XXXIV. 1900. S. 465.

bei der Maceration des knöchernen Schädels verloren gehen. So wenig wie heute eine vergleichende Morphologie des Schädelgerüsts ohne genaueste Berücksichtigung dieser seiner knorpeligen Teile denkbar ist, ebensowenig können bei einer vergleichenden Betrachtung des Schädels von *Myxine* die aus dem fraglichen Gewebe aufgebauten Teile unberücksichtigt bleiben. Bei dieser Gelegenheit muß ich auch kurz auf die Bedeutung des von J. MÜLLER als »Zungenbein« bezeichneten Skelettstückes in vergleichend-anatomischer Hinsicht eingehen, da es sowohl die größte Masse des fraglichen Gewebes enthält, als auch das vorzüglichste Objekt für die Untersuchung des harten Knorpels bildet.

Dieses mächtige Skelettstück hat von verschiedenen Autoren die verschiedensten Deutungen und Benennungen erfahren, so daß schon aus diesem Mangel an Übereinstimmung die zweifelhafte Stellung der *Myxine* im System deutlich zum Ausdruck kommt. Wie schon erwähnt, bezeichnete VALENCIENNES dasselbe als Unterkiefer, PARKER als vorderes und hinteres Basihyale, P. FÜRBRINGER als vordere und hintere Copularlamellen, POLLARD als MECKELschen Knorpel, AYERS und JACKSON als Basalplatte bzw. homologisieren diese Autoren<sup>1</sup> den vorderen Abschnitt mit den Basihyoidea und der Copula, den mittleren mit dem ersten und zweiten Kiemenbogen; NEUMAYER endlich bezeichnet dasselbe als mediales und laterales Basihyale.

Den hinteren »weichknorpeligen« Fortsatz hat J. MÜLLER bekanntlich als »Zungenbeinkiel« bezeichnet, PARKER als Pharyngobranchiale, P. FÜRBRINGER als Copulafortsatz, AYERS und JACKSON als hinteren Abschnitt der Basalplatte und NEUMAYER als Zungenknorpel.

Obwohl mir nun die Durchführung einer vergleichenden Deutung und Bestimmung der einzelnen Skelettteile am fertigen *Myxine*-Schädel mit Ausnahme der durch ihre Beziehungen zu den Sinnesorganen und der Chorda charakterisierten Stücke wegen der durchgreifenden sekundären Veränderungen und Anpassungen kaum möglich erscheint, möchte ich doch darauf hinweisen, daß jenes mächtige, seit J. MÜLLER als »Zungenbein« bezeichnete Skelettstück mit dem als »Zunge« gedeuteten Organ so gut wie nichts zu tun hat. Sein caudaler Abschnitt bildet eine Rinne, in der der Zurückzieher der Zunge schleift, während der rostrale Abschnitt, der aus bilateral symmetrischen, hartknorpeligen Stücken besteht, ebenfalls durch

<sup>1</sup> Morphology of the Myxinoidei. Bull. of Cincinnati Univ. S. II. Vol. I. 1900. Bull. 1.

einen Spaltraum vom dorsal gelegenen »Zungenkörper« vollkommen getrennt ist; letzterer ist in der hartknorpeligen Lade verschiebbar, etwa wie eine Vogelzunge im Unterkiefer, wenngleich der Mechanismus dieser Verschiebung ein ganz anderer ist.

Nun haben AYERS und JACKSON in ihren schönen Untersuchungen über den Schädel von *Bdellostoma* allerdings die Deutung ihrer »Zahnplatte« als Zunge nachdrücklich als undurchführbar hingestellt, weil kein Fisch eine Zunge besitze und die Muskeln dieses Organs vom Trigemini innerviert werden. Sie sehen in dem zahntragenden Skelettteil vielmehr einen umgewandelten Kieferapparat, bzw. den MECKELschen Knorpel, welcher durch die Vor- und Rückwärtsbewegung beim »Raspeln« die Verbindung mit der Quadratregion verloren hat.

So sehr ich mit den Autoren in den Schlußfolgerungen, welche sie aus diesen Anschauungen auf die systematische Stellung der Myxinoideen ziehen, übereinstimme, so wenig zwingend scheinen mir ihre Gründe für die Deutung der »Zunge«.

Ein Zungenrudiment in Gestalt eines »häufig nur durch den Schleimhautüberzug des Zungenbeinkörpers gebildeten, flachen Wulstes«, der häufig durch Zahnbesatz ausgezeichnet ist, kommt nach GEGENBAUR<sup>1</sup> auch den Fischen zu. Dieses Rudiment besitzt z. B. beim Aal an Stelle der Muskeln ein eigentümlich regelmäßig angeordnetes Fasergerüst, welches gegen die Schleimhaut ausstrahlt<sup>2</sup>. Ein ganz ähnliches Fasergerüst, zwischen dessen Balken ich auch vereinzelte Ganglienzellen sehen konnte, zeigt auch die Zunge von *Myxine*. Weiter besitzt sie eine wohlentwickelte Cartilago entoglossa, die aus einer vorderen, unpaaren, weichknorpeligen Platte (Fig. 33 *VW*) und zwei distalen, vorwiegend hartknorpeligen, in der Medianlinie durch weichen Knorpel (*N*) gelenkig verbundenen, stäbchenartigen Stücken *HH* besteht, also manche Analogie mit dem Zungenbein der Amphibien aufweist (vgl. z. B. das Zungenbein von *Bufo cin.* bei GEGENBAUR, l. c. Bd. I, Fig. 281). Wenn es mir somit gerechtfertigt erscheint, die bisher als »Zunge« bezeichnete Bildung bei *Myxine* auch fernerhin als solche aufzufassen, so liegt es nahe, den hartknorpeligen Apparat, welcher, nur von Haut und Muskeln bedeckt, an der ventralen Oberfläche des Schädels liegt, aber nicht nur die untere, sondern auch, wie bereits NEUMAYER bemerkt, die seitliche

<sup>1</sup> Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere. Leipzig 1901. II. Bd. S. 93.

<sup>2</sup> A. OPPEL, Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie. III. Bd. 1900. S. 129 u. f.

Begrenzung des Mundes bildet und so der Zunge zum Schutze dient, ohne nähere Beziehungen, wie man sie von einem Zungenbein verlangen müßte, mit ihr einzugehen, und welcher endlich an seinen distalen Enden durch zwei weichknorpelige Bogen beweglich mit der »Quadratregion« des Schädels verbunden ist, für das durch die sekundäre Anpassung stark modifizierte Homologon eines Unterkiefers bzw. MECKEL'Schen Knorpels zu halten. Dafür, daß es sich in *Myxine* um den Abkömmling einer ursprünglich gnathostomen Form handelt, sind schon mehrere Forscher, wie G. B. HOWES<sup>1</sup>, J. BEARD, H. AYERS<sup>2</sup>, POLLARD<sup>3</sup> u. a. eingetreten, und sprechen am deutlichsten die neuesten Angaben von B. DEAN<sup>4</sup> über die embryonale Entwicklung der Mundhöhle von *Bdellostoma*.

Die äußere Form dieses Unterkieferapparates (»Zungenbeins« J. MÜLLER) ist durch die älteren Beschreibungen von J. MÜLLER, P. FÜRBRINGER, und W. K. PARKER, sowie durch die neueren von NEUMAYER, besonders aber von AYERS und JACKSON bekannt. Ich muß hier jedoch auf dieselbe zurückkommen, um einige abweichende Befunde, wie sie sich aus der Rekonstruktion der Schnittserie ergeben haben, hinzuzufügen, hauptsächlich jedoch, um die gewebliche Verbindung der einzelnen Teile, welche bisher von keinem der Autoren eingehend untersucht worden ist, zu berücksichtigen.

Nach den Angaben von JOH. MÜLLER und PARKER besteht das sog. Zungenbein teils aus harten, teils aus weichen Knorpelstücken und zwar wird der rostrale Abschnitt aus zwei Reihen harter »Knochenstücke«, der caudale oder sog. Zungenbeinkiel aus weichem Knorpel gebildet. Die vorderste Reihe der hartknorpeligen Stücke, welche PARKER als front basihyal bezeichnet, soll aus vier getrennten bzw. durch Bandmasse verbundenen, die zweite Reihe, hind basihyal, aus zwei getrennten bzw. nach PARKER durch einen Streifen weichen Knorpels verbundenen Stücken bestehen. Zwischen erster und zweiter Reihe bleibt eine rhomboidale Lücke, die von Bandmasse ausgefüllt ist. An den rostralen Rand läßt JOH. MÜLLER<sup>5</sup> sich einen

<sup>1</sup> On the affinities, inter-relationships and systematic position of the Marsipobranchii. Trans. Biol. Soc. Liverpool. Vol. VI. 1892. p. 122.

<sup>2</sup> *Bdellostoma Dombeyi* Lac. A study from the Hopkins Marine laboratory. Biol. Lect. of Mar. Lab. Woods Holl 1893. Boston. p. 125.

<sup>3</sup> The oral cirri of Siluroids and the origin of the head in vertebrates. Zool. Jahrb. 1895. Abt. f. Ontogenie. Bd. VIII. S. 373.

<sup>4</sup> l. c. p. 272.

<sup>5</sup> l. c. S. 114.

Mundknorpel ansetzen und PARKER<sup>1</sup> außerdem die Mittelstücke mit einem verdickten, lippenartigen Saum eines nicht knorpeligen Gewebes abschließen. Die Mittelstücke der vorderen Reihe sollen außerdem durch Band dicht, aber doch einigermaßen beweglich verbunden sein. Aus der hinteren Ecke der zweiten Stücke entspringen ohne Unterbrechung das große und kleine »Zungenbeinhorn«.

Die Schilderung P. FÜRBRINGERS schließt sich im wesentlichen an die von J. MÜLLER an; sie entspricht den mit freiem Auge am präparierten Zungenbein wahrnehmbaren Verhältnissen. NEUMAYER hat bereits die Einheitlichkeit des vorderen Mittelstückes erkannt; seine weitere Darstellung entspricht jedoch nicht den Verhältnissen, wie sie das fertige Skelettstück darbietet.

Am eingehendsten ist die Darstellung, welche AYERS und JACKSON<sup>2</sup> vom Unterkiefer (basal plate) von *Bdellostoma* gegeben haben; aber auch diese zeigt einige Abweichungen von meinen Befunden bei *Myxine*.

Ich habe in Fig. 32 das freipräparierte Skelettstück in ventraler (*V*) und dorsaler (*D*) Ansicht dargestellt und die verschiedenen Gewebe farbig bezeichnet. Rot bedeutet hartes, blau weiches Knorpelgewebe, gelb knorpelartiges, blasiges (vesiculöses) Stützgewebe und farblos (bei *FN* und *L*) gewöhnliches Bindegewebe.

Wie man sieht, stellen die Mittelstücke der vorderen Reihe ein einheitliches hartes Knorpelstück, *VMS*, dar, welches caudad in zwei durch die »rhomboidalische Lücke« *L* gespaltene Schenkel ausläuft. Von der rostralen Spitze dieser Lücke zieht eine seichte Furche auf der dorsalen Fläche nach vorn, welche sich gegen den rostralen Rand *RR* verliert, aber bei Betrachtung mit freiem Auge eine Zweiteilung dieses vorderen Mittelstückes vortäuschen kann. Von einer quer, mit nach vorn gerichteter Konkavität über dieses Mittelstück verlaufenden Naht, wie sie AYERS und JACKSON beschreiben, ist bei *Myxine* nichts zu sehen.

Der vordere Teil des Mittelstückes, welcher mit einem konkaven, in zwei seitliche stumpfe Höcker auslaufenden Rand<sup>3</sup> abschließt, senkt sich etwas tiefer ventrad als die Seitenstücke *VSS* und ragt so, von der Seite gesehen, nach unten vor. Dadurch entsteht zwischen dem Mittelstück und den Seitenstücken jederseits eine Art flacher Rinne, in welcher die durch eine mediane Lücke gespaltene oder

<sup>1</sup> l. c. p. 392.

<sup>2</sup> Journ. of Morphol. Vol. XVII. 1900. p. 202.

<sup>3</sup> Vgl. NEUMAYER, l. c. Textfig. a.

gedoppelte Sehne des Vorziehers der Zunge schleift (Fig. 33 *PS*). Die hartknorpeligen Seitenstücke *VSS* überragen das Mittelstück nach vorn und sind von letzterem teils durch eine mit Bindegewebe erfüllte Naht *FN* getrennt, teils (im caudalen Abschnitt) durch blasiges Stützgewebe *VN* damit verbunden. Die vorderen Ränder der Seitenstücke und des Mittelstückes werden durch eine mächtige Masse blasigen Stützgewebes einheitlich verbunden. Dieses Gewebe bildet am rostralen Rand der Mittelplatte eine ventrad gekrümmte Lippe *R*, welche durch den Schlitz der Sehne des Zungenvorziehers durchgesteckt erscheint und die Rinne für diese Sehne vertiefen hilft. Von den vorderen Rändern der Seitenstücke setzt sich das blasige Stützgewebe bei *RR* als mächtige, am Querschnitt keilförmige Masse dicht unter der Haut des Mundschlitzes an der inneren Seite desselben fort, indem sie mit nach abwärts gerichteter Schneide die Muskeln von der Haut trennt. Von der obersten Ecke der Seitenstücke, bei *MK*, entspringt ein weichknorpeliger Stab, welcher sich in der äußeren oberen Schneide des Keiles von blasigem Stützgewebe nach aufwärts krümmend in zwei Tentakel spaltet.

Die Knorpel der zweiten Reihe *HMS* bilden ebenfalls ein einheitliches Stück, welches allerdings in der Medianlinie eine weichknorpelige Naht *N* besitzt, welche jedoch den rostralen Rand des hinteren Mittelstückes nicht erreicht. Dieser rostrale Rand erscheint an seinen Innenflächen, welche die caudale Begrenzung der »rhomboidalischen« Lücke bilden, mit dem vorderen Mittelstück kontinuierlich, aber biegungsbeweglich durch weichen Knorpel *KB* verbunden. Die äußere Fläche des rostralen Randes erscheint mit dem caudalen Ende der vorderen Seitenstücke teils durch blasiges Stützgewebe *VN*, teils durch ein derb-fibröses Gewebe mit verstreuten kleineren Gruppen blasiger oder Knorpelzellen verbunden. Von der oberen äußeren Ecke am caudalen Ende des hinteren Mittelstückes entspringt wieder ein weichknorpeliger Stab bei *H*, welcher sich bald in zwei spaltet und die bewegliche Verbindung des Unterkiefers mit dem Schädel herstellt.

Die caudalen Ränder des hinteren Mittelstückes weichen, ähnlich wie die rostralen, auseinander und gehen hier teils durch Vermittlung weichen Knorpels, teils unmittelbar in das blasige Stützgewebe des mächtigen, ausgehöhlten Kieles *K* über, welcher eigentlich nichts anderes als einen Muskelansatz darstellt.

Dieser »Zungenbeinkiel« besitzt in seinem rostralen Teil am Querschnitt eine U-förmige, im caudalen eine V-förmige Gestalt mit

dorsad gerichteter Konkavität. In seinem mittleren Abschnitt erscheint er auf kurze Strecke durch eine fibröse Haut zu einer vollkommenen Röhre geschlossen (Fig. 32 *D* und 35).

Nach diesen Bemerkungen über die äußere Gestalt des sog. Zungenbeins wende ich mich nunmehr zur Schilderung des histologischen Baues des »Zungenbeinkiels«. Aus derselben werden wir ersehen, daß die knorpelige Beschaffenheit eines Gewebes in rein physikalischem Sinne nicht genügt, um dasselbe auch histologisch als Knorpel bezeichnen zu können, eine Erfahrung, für welche bereits andre Beispiele in der Gewebelehre vorliegen, z. B. der sog. Lidknorpel des Menschen, die Rückensaite der Fische, der Sesamknorpel in der Achillessehne des Frosches u. a. m.

Die ganze knorpelähnliche Masse des »Zungenbeinkiels« wird von einer derben fibrösen Hülle umschlossen (Fig. 35 *iP*, *aP* und 37), von der aus gröbere Bindegewebssepten (Fig. 35 *S*) in radiärer Anordnung das Innere durchsetzen.

Die Ähnlichkeit dieser Umhüllung mit einem Perichondrium ist nicht von der Hand zu weisen, da sich zwischen den Faserbündeln da und dort auch platte, indifferente Zellen eingelagert finden; doch fehlen im allgemeinen die allmählichen Übergänge dieser flachen zu den für das fertige Gewebe charakteristischen Zellen, wie man das beim Perichondrium zu sehen gewohnt ist. Ich betone dies hier deshalb, weil STUDNIČKA<sup>1</sup> »überall da, wo dieses Gewebe für sich abgeschlossene Skelettstücke baut«, ein vollständiges Analogon eines Perichondriums findet, dessen Zellen allmählich in die des »Vorknorpels« übergehen; er hat dabei speziell die »Tentacularvorknorpel« einiger Knochenfische im Auge. Am Zungenbeinkiel der *Myxine* wird die Umhüllung auf lange Strecken hin von einem zellarmen oder vollkommen zellfreien Fasergewebe gebildet, ähnlich wie man es am »Perichondrium« gewisser Knorpel von Wirbellosen sehen kann. Die äußersten Schichten der fibrösen Umhüllung sind stets zellenhaltig und auch von zarten elastischen Fäserchen durchflochten.

Die erwähnte radiäre Anordnung der Bindegewebssepten am Querschnitt entspricht augenscheinlich am besten der mechanischen Leistung dieses Organs, ist also eine funktionelle Struktur und steht in Übereinstimmung mit der Anordnung der Spannungsachsen, wie sie das polarisierende Mikroskop im Knorpel aufgedeckt hat; sie erscheint besonders nahe der Medianlinie des Zungenbeinkiels, unmittelbar

<sup>1</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 356.

unter dem fibrösen Überzug scharf ausgeprägt, wo die Bindegewebsbalken mit dreieckig verbreiteter Basis demselben so aufsitzen, daß zwischen zwei benachbarten Balken längliche Nischen mit nach auswärts gerichteter Konvexität entstehen (Fig. 37 *n*). Wie Tangentialschnitte zur Oberfläche lehren (Fig. 36), entsprechen die Nischen Längsschnitten durch zylindrische oder unregelmäßig polygonale Säulen, welche voneinander durch ein Faserbalkenwerk getrennt werden, das dort, wo mehrere Säulen aneinander grenzen, am reichlichsten entfaltet erscheint, so daß es im Querschnitt zwickelartige Verbreiterungen (Fig. 36 *ZW*) bildet.

Gegen die Mitte der Querschnitte (Fig. 37 *K*) wird die radiäre Anordnung der Balken etwas verwischt dadurch, daß letztere sich in feinere Faserzüge aufspalten (*S'*), die ein nach allen Richtungen sich durchkreuzendes Flechtwerk bilden, dessen Alveolen nicht mehr, wie in den peripheren Teilen, von ganzen Zellgruppen (Säulen) (Fig. 38), sondern meist nur von einzelnen, zu bedeutender Größe — sie erreichen Durchmesser bis zu  $60\ \mu$  und mehr — gediehenen blasigen Zellen eingenommen werden (Fig. 37 *K*).

Während also in der Mitte der knorpelartigen Masse die größten Zellen liegen, nimmt ihre Größe gegen die Peripherie zu ab und damit die Anzahl der in einer Nische oder Säule vereinigten Zellen zu. Die unmittelbar an den Faserüberzug grenzenden Zellen sind meist in der Richtung senkrecht zu ersterem stark abgeplattet und den Kuppen der Nischen entsprechend schüsselartig nach außen gewölbt.

Bereits an Schnitten gewinnt man den Eindruck, daß gegen die Mitte der knorpelartigen Masse zu die gröberen Bindegewebsbalken sich fächerförmig verbreitern und zum Teil in membranöse Scheidewände mit faseriger Struktur übergehen (Fig. 37 *S'*). Daß dem in der Tat so ist, kann man leicht an Isolationspräparaten bestätigt finden.

Es kommt auch hier, wie ich dies für den Schleimknorpel von *Ammocoetes* beschrieben habe<sup>1</sup>, zur Bildung von Faserplatten, welche streckenweise ein mehr homogenes Aussehen annehmen können und welche mit den Faserbündeln sich an der Bildung des intercellulären Alveolenwerkes beteiligen. Auch hier besteht dieses Faserplattenwerk, wie bei *Ammocoetes*, aus echter leimgebender Substanz, wie man durch die Essigsäurereaktion nachweisen kann.

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. Bd. LXI. 1896. S. 637 u. f.

Diesen Bindegewebsbalken und -platten angelagert findet man kleine Zellkörper mit stark färbbarem Kern, welche oft, besonders an den verbreiterten Stellen des Fachwerkes, zu größeren Gruppen angesammelt erscheinen (Fig. 36 *ZW* und 37 *K'*) und sich durch die homogene Beschaffenheit ihres Kerns und den spärlichen Protoplasma-körpern wesentlich von den großen blasenförmigen Zellen, welche in den Alveolen und Nischen liegen, unterscheiden.

Teilweise stimmen diese Zellen in ihrem Aussehen vollkommen mit den Bindegewebszellen der fibrösen Umhüllung überein und erscheinen ihre Kerne stäbchenförmig verlängert in der Richtung der Bindegewebsbalken zwischen den blasigen Zellen; sie gehören demnach offenbar dem bindegewebigen Fachwerk selbst an und dies ist ein Unterschied vom »Pseudoknorpel« in der Achillessehne des Frosches, in welchem nach STADELMANN'S<sup>1</sup> Behauptung, die ich bestätigen kann, das Bindegewebe niemals eigne Zellen besitzt. Teilweise scheint es sich um eine Art von Reservezellen zu handeln, welche in der Entwicklung zurückgeblieben sind, aber sich gegebenenfalls in blasige oder andersartige Zellen umwandeln können.

STUDNIČKA<sup>2</sup> hat diese Zellen u. a. ebenfalls bei *Myxine* beschrieben und stellt sie in Analogie mit den von mir als Intercalarzellen bezeichneten Gebilden in frühembryonalen Knorpeln.

Was nun die blasigen Zellen anlangt, so verleihen sie dem Gewebe sein knorpelähnliches Aussehen und verweise ich betreffs ihres feineren Baues auf meine bereits an anderer Stelle gegebene Schilderung<sup>3</sup>. Sie erscheinen glasartig durchsichtig nach Behandlung mit Alkohol, Pikrinsublimat und Pikrinschwefelsäure, während sie nach Einwirkung von Chromsalzen eine körnige Trübung ihres Zelleibes zeigen, die besonders nach Färbung mit Kongorot, das sie bei Untersuchung in Glycerinwasser eine Zeitlang lebhaft festhalten, deutlich hervortritt (Fig. 39 *Z*).

Sonst nehmen sie Farbstoffe, besonders im Vergleich zu den Knorpelzellen, fast gar nicht an, entbehren stets der in letzteren beschriebenen basophilen Körnchen und erscheinen daher in der Regel, besonders die größten, ganz schwach gefärbt oder farblos und bis auf die sphärenartige Partie im Protoplasma glasartig homogen. Um so bemerkenswerter ist das allerdings seltene Vorkommen von

<sup>1</sup> Die Histologie des »Pseudoknorpels« in der Achillessehne des Frosches. Diss. Königsberg i. Pr. 1878.

<sup>2</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 367 u.f.

<sup>3</sup> Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien. Bd. CV. 1896. S. 22.

Mitosen in diesen Zellen (Fig. 34), die, wie schon bemerkt wurde, durch ungemein scharf hervortretende Spindelfasern ausgezeichnet sind. Der Protoplasmaleib solcher in Mitose befindlicher Zellen zeigt dann aber allerdings eine etwas dichtere, deutlich körnige Beschaffenheit. Daneben werden aber viel häufiger direkte Kernzerschnürungen gesehen, die zur Bildung zwei- und mehrkerniger Zellen führen.

Zerpupft man ein Stückchen des in MÜLLERScher Flüssigkeit gehärteten Gewebes in Wasser, so fallen viele Zellen aus ihren Nischen und gleichen dann oft ganz abgeflachten Epithelzellen. Man kann sich aber durch Rollen derselben unter dem Deckglase leicht überzeugen, daß es sich um kugelige oder polyedrische Gebilde handelt; die polygonalen Begrenzungsflächen treten besonders nach Färbung mit Kongorot deutlich hervor (Fig. 39). Bereits an Schnitten kann man erkennen, daß diese Zellen nicht unmittelbar in Lücken des bindegewebigen Platten- und Faserwerkes eingebettet sind, sondern daß um jede derselben ein gleichmäßiger zarter Kontur als Ausdruck einer dünnen Membran oder Kapsel sichtbar ist (Fig. 38 *M*).

An mit Kongorot gefärbten Isolationspräparaten aus MÜLLERScher Flüssigkeit in verdünntem Glycerin bekommt man leicht einzelne Zellgruppen mit den Membranen oder, da die Zellen leicht aus ihrer Umhüllung herausfallen, die Membranen allein zu Gesicht (Fig. 39 *A*). Niemals isoliert man die Umhüllung einer Zelle allein, sondern stets hängen mit derselben scheidewandartige Fortsätze zusammen, die sich zwischen die Nachbarzellen einschieben und so ein dünnwandiges intercelluläres Fachwerk darstellen, welches durch das ganze Gewebe zusammenhängt und in dessen Alveolen die Zellen eingelagert erscheinen. Es liegt demnach hier ein Verhalten vor, wie wir es beim Kiemen- und Schwanzknorpel von *Ammocoetes* und den diesen ähnlichen Knorpeln von *Myxine* kennen gelernt haben und wie es RENAULT<sup>1</sup> und STADELMANN<sup>2</sup> auch für das Sesamknötchen in der Achillessehne des Frosches nachgewiesen haben.

Diese strukturlose Membran ist zweifellos eine von den Zellen selbst gelieferte Oberflächenbildung, welche nach Art einer Intercellularsubstanz ausgeschieden bzw. von den Zelloberflächen differenziert wird.

Zwischen den Zellen einer Nische oder Zellsäule stellen diese Membranen die einzige Intercellularsubstanz dar (Fig. 38) und dringen

<sup>1</sup> Recherches sur la transformation vésiculeuse des éléments cellulaires des tendons. Arch. de physiol. T. IV. 1872. p. 285.

<sup>2</sup> l. c.

in dieselbe keine faserigen Bildungen ein. Selbst im »Zungenbeinkiel«, dessen Bindegewebsgerüst so reich entwickelt ist, vermögen die Bindegewebsfasern die dünnen Scheidewände niemals zu ersetzen und niemals werden, wie STUDNIČKA<sup>1</sup> meint, die Zellen ausschließlich durch die dickeren Bindegewebszüge oder Lamellen voneinander abgegrenzt.

Wir haben demnach hier ein Gewebe vor uns, welches manche Analogien mit der einfachsten Form echten Knorpelgewebes, wie es z. B. in den genannten Knorpeln von *Ammocoetes* und *Myxine* vorliegt, darbietet.

Hier wie dort sehen wir verhältnismäßig voluminöse Zellen, welche in ein Alveolenwerk dünnwandiger, membran- oder kapselartiger Grundsubstanz eingeschlossen erscheinen. Die durch diesen Bau bedingten physikalischen Eigenschaften des Gewebes stimmen mit denen echten Knorpels ebenfalls überein, so daß die ältere Auffassung desselben als einer Form des Zellknorpels verständlich erscheint.

Die genauere Untersuchung hat aber wesentliche Unterschiede vom echten Knorpelgewebe ergeben, so daß anderseits die Bezeichnung »Pseudoknorpel«, welche STADELMANN für dieses Gewebe im Sesamknötchen der Achillessehne des Frosches aufgestellt hat, als vollkommen gerechtfertigt bezeichnet werden muß.

Ich habe diese Unterschiede schon kurz erörtert und zu zeigen versucht, daß dieser Pseudoknorpel nur ein Glied in einer langen Reihe ähnlicher Gewebe bildet, welche ganz allmählich von der einfachsten Form der Stützsubstanz bei Wirbellosen zum typischen Knorpelgewebe der höheren Wirbeltiere hinüber führt<sup>2</sup>.

Damit ist auch auf eine genetische Verwandtschaft dieses Gewebes mit dem Knorpelgewebe hingewiesen, welche in mannigfacher Form zum Ausdruck kommt.

Da eine übersichtliche Darstellung dieser Gewebe, welche ich unter der Bezeichnung des vesiculösen oder blasigen Stützgewebes zusammengefaßt habe, den Gegenstand meiner nächsten Mitteilung bilden soll, sei hier zur Charakterisierung des Verhältnisses des den Zungenbeinkiel zusammensetzenden Gewebes zum echten Knorpelgewebe kurz folgendes bemerkt:

Abgesehen von den geschilderten morphologischen Verschiedenheiten zwischen den blasigen und echten Knorpelzellen, fehlt den

<sup>1</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 364.

<sup>2</sup> Anat. Anz. Bd. XXIII. 1903. S. 464.

ersteren eine Haupteigentümlichkeit der letzteren, nämlich die leichte Loslösung von ihrer Kapselwand unter Ausziehung spitzer Protoplasmafortsätze, wodurch die bekannten Bilder von »sternförmigen« Knorpelzellen entstehen.

Gerade jene Mittel, welche Knorpelzellen in der genannten Weise verändern, wie z. B. Alkohol, Formalin, MÜLLERSche Flüssigkeit, lassen die Zellen des »Zungenbeinknorpels« fast ganz unverändert. Es scheint mir im Gegenteil, daß die Zellen an Präparaten aus Pikrinsublimat oder Pikrinschwefelsäure häufiger von ihren Wänden losgelöst erscheinen; diese Loslösung ist aber stets eine flächenhafte und findet nie unter Bildung von zackigen Fortsätzen statt, die noch mit der Kapsel in Verbindung blieben.

Weiter hebe ich hervor, daß die blasigen Zellen mit der Bildung ihrer dünnen kapselartigen Intercellularsubstanz ihre Tätigkeit gleichsam erschöpft haben, worauf ja auch der Verlust einer eigentlichen Protoplasmastruktur ihrer Zellkörper hindeutet. Echte Knorpelzellen hingegen vermögen durch ihre »Kapsel«, d. h. durch die erste gebildete Lage von circumcellulärer Substanz hindurch auch auf benachbarte geformte Elemente (collagene und elastische Fasern) einzuwirken und dieselben entweder aufzulösen, zu assimilieren oder der von den Zellen erzeugten Grundsubstanz einzuverleiben, zu maskieren.

Nicht unwichtig scheint mir ferner eine Beobachtung, welche ich über das Verhalten der blasigen Zellen dort machen konnte, wo sie einer dauernden Reibung oder Abscherung ausgesetzt sind. Bekanntlich sind es gerade diese Faktoren, welche nach ROUX die Entstehung und Erhaltung des Knorpelgewebes bedingen. Mit dieser Anschauung in Übereinstimmung steht die von mir mitgeteilte Tatsache, daß das blasige Stützgewebe, wo es zur Gelenkbildung herangezogen wird, als solches zu bestehen aufhört und sich in Knorpel umwandelt<sup>1</sup>.

An der oben geschilderten Stelle nun, wo die Sehne des Vorziehers der Zunge um den rostralen Rand des sog. Zungenbeins geschlungen ist und auf dem hier befindlichen Kissen von blasigem Stützgewebe hin- und hergleitet (Fig. 32 *V* bei *R*, Fig. 33 bei *PS*), sieht man letzteres ebenfalls verschwinden bzw. in ein derbfaseriges lamelläres Bindegewebe umgewandelt, zwischen dessen Bündeln zahlreiche flache Zellen eingeschlossen erscheinen (Fig. 42 *B*). Die blasigen Zellen gelangen also hier gar nicht zur Entwicklung, sondern

<sup>1</sup> Anat. Anz. Bd. XXIII. 1903. S. 469.

erst allmählich wieder in einer gewissen Entfernung von der unmittelbar vom Sehndruck betroffenen Oberfläche (*BZ*). Von besonderem Interesse ist es, daß es mir gelungen ist, bei einem Tiere an dieser Reibungsstelle in dem derbfaserigen Gewebe einen winzigen Knorpelkern zu entdecken (bei *K*).

Aus diesen Beobachtungen scheint mir mit Sicherheit hervorzugehen, daß die Zellen des blasigen Stützgewebes auch eine etwas andre biologische Bedeutung besitzen als echte Knorpelzellen, oder daß wenigstens die mechanische Leistung des blasigen Stützgewebes nur teilweise jener des echten Knorpelgewebes entspricht. Damit haben wir auch die genetische oder besser gewebsbildende Verwandtschaft beider Gewebe berührt. Dieselbe findet darin ihren Ausdruck, daß gelegentlich Bildungszellen des blasigen Stützgewebes sich in echte Knorpelzellen umwandeln können.

So finde ich im fibrösen Überzug des sog. Zungenbeinkiels stellenweise einzelne Zellen des ersteren von einer dicken, stark färbaren »Kapsel« umgeben, während die Zellen selbst kleiner und dicht protoplasmatisch bleiben (Fig. 40 *KZ*).

Aber auch mitten im Gewebe des Zungenbeinkiels kann man gelegentlich einzelne Knorpelzellen oder kleine Gruppen von solchen beobachten, die dann aber stets aus den indifferenten Zellen des Fasergerüstes und nicht aus fertigen blasigen Zellen hervorgegangen sind, wie schon ihre Lagerung, sowie ihre wesentlich geringere Größe erkennen lassen.

Dieses geschilderte eigentümliche Gewebe, welches im sog. Zungenbeinkiel ein mächtiges Skelettstück bildet, das man vom histomechanischen und funktionellen Standpunkte aus ganz gut als Knorpel bezeichnen könnte, um so mehr, als es von einer derben Faserhaut, einer Art Perichondrium rings umschlossen wird, findet sich aber bei *Myxine* noch an andern Stellen als Skelettgewebe verwendet und zeigt die Art und Weise dieser Verwendung, ebenso wie der feinere Bau dieses Gewebes deutlich seine vermittelnde Stellung zwischen echtem Knorpel und faserigem Bindegewebe. So bildet es an der dorsalen, konkaven Fläche des rinnenförmigen »Zungenbeins« dort, wo es bereits hartknorpelig geworden ist, zwei dünne, leistenförmige Aufsätze (Fig. 32 *D*, *S*), welche von der Masse des Zungenbeinkiels entspringend, zunächst über den freien, dorsalen Rändern desselben verlaufen, dann in die Rinne des hartknorpeligen Zungenbeins hineintrücken und hier parallel gegen den rostralen Rand nach vorn ziehen, um sich dort miteinander und mit dem kissenartigen Überzug zu vereinigen

(Fig. 32 D). Sie dienen zur Vertiefung der Rinne, in welcher, wie in einer Schlittenbahn, die Sehne des Retractor linguae gleitet. J. MÜLLER<sup>1</sup> hat diese Lippen als »sehnenhäutige Vorsprünge« beschrieben. Da sie allseitig von einer Faserhaut umschlossen sind, können sie ebenfalls noch als selbständige Skelettstücke gelten. Als selbständige knorpelige Masse findet man dieses Gewebe weiter in Form eines horizontal und quer gelagerten Stäbchens vor und unter der vorderen Vereinigung der Gaumenleisten, welches sich caudad in zwei längliche, im Querschnitt rundliche Fortsätze gabelt; letztere umfassen die Basis des Gaumenzahns. Weiter in Form eines »vorn und hinten zugespitzten platten Knorpelschildes«<sup>2</sup> in der oberen Wand zwischen den gespaltenen Wurzeln des mächtigen Längens Muskels der Zunge, wo es Muskelfasern zum Ansatz dient.

Dann findet sich aber dasselbe Gewebe als Füll- und Übergangsgewebe zwischen hartem und weichem Knorpel oder zwischen Knorpel und Bindegewebe; so in der geschilderten Anordnung am rostralen, ausgehöhlten Rande, sowie zwischen den hartknorpeligen Stücken des sog. Zungenbeins (Fig. 32) und zwischen der vorderen Platte und den hinteren Knorpelbogen des Zungenknorpels (Fig. 33 Sp).

Schließlich findet sich das Gewebe aber auch als inselförmige Einlagerung im Sehngewebe und zwar im durchbohrten Teile der Sehne des M. retractor linguae bis zu seiner Ausstrahlung in den Körper der Zunge und im dorsalen Teil der Sehne des Vorziehers der Zunge bis an den rostralen Rand des Zungenknorpels.

Besonders an ersterer Stelle handelt es sich also um eine vollständige Analogie mit den Sesamknötchen in verschiedenen Sehnen bei Anuren und Reptilien und müssen hier diese blasenförmigen Zellen der *Myxine*, wie bei den genannten Tiergruppen, als eigentümlich metamorphosierte Zellen des fibrösen Gewebes angesehen werden.

Nicht an allen diesen genannten Stellen bietet das blasige Stützgewebe das gleiche Aussehen, wie ich es im »Zungenbeinkiel« beschrieben habe.

Abgesehen davon, daß an keiner Stelle das zierliche, stützende Balkenwerk, dessen tektonische Anordnung für den Zungenbeinkiel so bezeichnend ist, wiederkehrt, zeigen seine Zellen nur noch in den mittleren Partien aus diesem Gewebe gebauter, selbständiger Skelettstücke jene bedeutende Größe und glasartige Beschaffenheit, die

<sup>1</sup> Vgl. Anat. d. Myxinoïden, l. c. 1834, S. 117 und Taf. VI, Fig. 5 a.

<sup>2</sup> JOH. MÜLLER, l. c. S. 117.

Kerne das charakteristische lockere, wie aus isolierten Chromosomen bestehende Kerngerüst. Wo das blasige Stützgewebe an Knorpel stößt, werden die Zellen kleiner, ihr Protoplasma dichter und daher stärker färbbar, ebenso der Kern. Zwischen ihnen ist ein Flechtwerk einzelner, dünner Bindegewebsbündelchen, oder an manchen Stellen, wie z. B. in dem wulstartigen Überzuge am rostralen Rand des sog. Zungenbeins (Fig. 32 *RR*, Fig. 41), oder zwischen den hartknorpeligen Stücken der ersten und zweiten Reihe (Fig. 32 *VN*) vorwiegend elastische Fasern zu sehen.

Die elastischen Fasern, wie das elastische Gewebe von *Myxine* und *Petromyzon* überhaupt, zeigt in Hinsicht auf seine Färbbarkeit, ähnlich wie der Knorpel, ein ganz besonderes Verhalten. Bevor ich auf dasselbe eingehe, seien mir einige kurze Bemerkungen über die Verteilung des elastischen Gewebes bei *Myxine* gestattet.

Elastische Fasern finden sich in Gestalt ziemlich mächtiger, parallel laufender Züge im Perichondrium des sog. Zungenbeins, besonders an dessen inneren und vorderen Rändern. Weiter finden sie sich wohl entwickelt im Perichondrium der weichen Knorpel des Schlundgerüsts, besonders an ihrer Basis. Hier bilden sie mit leimgebendem Gewebe zusammen eine derbere Hülle um den Knorpel, durch welche die laterale Knorpelgerte von dem gleich zu besprechenden, eigentümlichen Stützgewebe getrennt wird. Elastische Fasern finden sich in der Sehnhenscheide des Retractor linguae, an der Außenfläche der das Rückenmark unmittelbar umschließenden Bindegewebschicht, in der häutigen Gehirnkapsel, spärlich in der äußeren lockeren Schicht der fibrösen Umhüllung des Zungenbeinkieles, in einzelnen Muskelsepten und Gefäßwänden. Ein mit zahlreichen starken elastischen Längsfasern durchsetztes Band schließt sich an den freien Rand der aus blasigen Zellen gebauten Streifen an, welche im sog. Zungenbein die Bahn der Retractorsehne bilden.

Was nun das Verhalten des elastischen Gewebes bei verschiedenen Färbungen anlangt, so war mir schon bei meinen ersten Versuchen (1895) aufgefallen, daß sich an Alkoholmaterial die *Elastica chordae* von *Ammocoetes* mit saurem Orcein nach UNNA-TÄNZER absolut nicht färbte, bei der Doppelfärbung nach MÖRNER mit Tropäolin-Methylviolett nahm sie die gelbe Farbe an, und bei Überfärbung mit verdünnter, wässriger Fuchsinlösung und Differenzierung mit 10/igem Salzsäurealkohol zeigte sie eine starke Rotfärbung; ebenso verhielt sich in allen diesen Fällen der harte Knorpel:

Die *Elastica* der *Myxine* färbt sich, wie die von *Ammocoetes*, bei Färbung mit konzentrierter Pikrofuchsin- oder Pikro-Methylblaulösung gelb; bei Anwendung maximal verdünnter Lösungen rot, beziehungsweise blau; bei simultaner Färbung in stark verdünnter Eosin-Methylenblaumischung blau, ebenso mit MALLORYS Anilinblau-Orange G-Oxalsäuregemisch und mit DELAFIELDS Hämatoxylin-Tonerde. Färbt man jedoch mit Metanilgelb oder Tropäolin vor, so bleibt die *Elastica* gelb, auch bei nachfolgender Hämatoxylinfärbung.

Ähnlich widersprechende Ergebnisse zeigen auch die Färbungen der elastischen Fasern. Sie färben sich sehr häufig mit sog. basischen Farben (Dahlia, Methylviolett, Methylenblau) und auch mit DELAFIELDS Hämatoxylin-

gemisch. Dann färben sie sich aber auch mit Indulin, Nigrosin, Methylblau, Bleu de Lyon und saurem Orceïn.

STUDNIČKA<sup>1</sup> versuchte diese »Basophilie« auf Verknorpelungsvorgänge zurückzuführen, was mir deshalb unzulässig scheint, weil die elastischen Fasern der *Myxine* diese Eigenschaft auch an jenen oben genannten vom Knorpelgewebe entfernten Orten zeigen. Mir scheint dieses Verhalten des elastischen Gewebes nur wieder ein Beweis dafür, daß die eingebürgerten Begriffe der Oxy- und Basophilie als feststehende chemische Eigenschaften bestimmter Gewebe nicht aufrecht zu erhalten sind.

Zur Besprechung der verschiedenen Formen des blasigen Stützgewebes bei *Myxine* zurückkehrend, bemerke ich, daß sich die bindegewebige Grundlage zwischen den blasigen Zellen gelegentlich so verdichten und vermehren kann, daß letztere zu kleinen Gruppen oder einzelnen Zellen zersprengt werden und ein faserknorpelartiges Gewebe entsteht, wie dies schon STUDNIČKA<sup>2</sup> erwähnt hat. Auch an solchen Stellen, die sich z. B. typisch zwischen dem hartknorpeligen Mittelstücke und den vorderen Seitenstücken des sog. Zungenbeins, am Ansatz des Zungenbeinkiels an den Knorpel usw. finden, erscheinen die blasigen Zellen durch ihre zarten Scheidewände, die um einzeln liegende Zellen einfach als Kapsel erscheinen, vom umgebenden fibrösen Gewebe getrennt.

Der mehr indifferente Charakter dieser kleinen Zellen mit dichtem Protoplasma wird dadurch besonders deutlich, daß in diesem dicht fibrösen Gewebe einzelne Zellen Knorpelgrundsubstanz um sich erzeugen können (Fig. 43 *KK*), so daß die Analogie mit einem Faserknorpel eine vollkommene wird.

Schließlich sind noch zwei eigentümliche Endglieder oder Abarten des blasigen Stützgewebes bei *Myxine* zu erwähnen.

Die eine findet sich um die lateralen Schlundrahmenknorpel (Seitenknorpel des Schlundsegels JOH. MÜLLER), die andre in der Nachbarschaft des Auges, bzw. zwischen diesem und der Nasenkapsel, an der caudalen, lateralen und ventralen Fläche der Ohrkapsel und unter der Haut längs der unteren, lateralen Ränder der Schnauze. An ersterer Stelle wird das Gewebe von zwei fibrösen, einem Perichondrium ähnlichen, Überzügen begrenzt, wovon der innere (Fig. 44 *KP*) gleichzeitig das Perichondrium der knorpeligen Gaumensegelstütze darstellt. Zwischen diesen Faserhäuten erscheinen lange Zellen in dichter, vorwiegend radiärer Anordnung ausgespannt. Sie zeigen an Schnitten

<sup>1</sup> Über verknorpelte Fasern usw. Sitzungsber. kgl. böhm. Ges. Wiss. Prag 1897. Nr. 45 und Anat. Hefte. Bd. XXI, 1903, S. 373 u. f.

<sup>2</sup> Anat. Hefte. Bd. XXI. 1903. S. 358.

ein längsfaseriges Aussehen (Fig. 44 *F'*) und weichen da und dort, besonders unter den Überzügen, zur Bildung von Lücken und Vacuolen auseinander (Fig. 44 *L*). Die Kerne dieser Zellen sind, ähnlich wie die der blasigen im Zungenbeinkiel, durch besonders deutliche Chromatinkörnchen ausgezeichnet, die oft zu quer zur Längsachse des Kerns gestellten Platten oder centralen Häufchen vereinigt erscheinen.

Isoliert man diese Zellen durch Zerzupfen, dann erweisen sie sich als lange Zellplättchen mit aufgesetzten Rippen und flügelartigen Leisten; letztere verleihen in ihrer Gesamtheit dem Gewebe das streifig-faserige Aussehen. Zwischen den Zellen finden sich allerdings auch zarte Bindegewebsbündelchen und feine elastische Fäserchen, welche von den Überzügen einstrahlen.

Dieses Gewebe färbt sich nicht mit sauren Anilinfarben, um den mittleren und distalen Teil der Knorpelgerte, welche es ringsum oder in mehr oder minder weitem Bogen umfaßt, aber auch nicht mit basischen. Gegen den proximalen hartknorpeligen Anfang der Schlundsegelstütze rückt es an die untere und äußere Fläche der senkrecht gestellten Knorpelplatte und geht hier in ein grundsubstanzreiches schleimknorpelartiges Gewebe über, das sich deutlich mit Schleimfärbemitteln färbt. Einzelne seiner spindel- oder plattenförmigen Zellen findet man hier stets in typische blasige oder auch in Knorpelzellen umgewandelt.

Ein ähnliches Gewebe mit reichlicher, deutlich mit DELAFIELDS Hämatoxylin färbbarer Grundsubstanz findet sich an den oben an zweiter Stelle angegebenen Orten (Fig. 45). Seine platten oder spindelförmigen Zellen (*SZ*) sind da und dort in blasige umgewandelt (*BZ'* und *BZ*).

Besonders in der Nachbarschaft des Auges zeigen die in den Lücken der schleimig-faserigen Grundsubstanz liegenden Zellen ganz das zerknitterte oder faltige Aussehen der von RENAUT<sup>1</sup> als Falten- oder Krausenzellen beschriebenen Gebilde an der Innenfläche des Perineuriums großer Nervenstämme beim Pferd, um die Retina des *Petro-myxon marinus*, des Chamäleons und an andern Orten (Fig. 46 *A, B*).

Durch diese Beschaffenheit sind diese Zellen von den blasigen Zellen in den von letzteren gebildeten selbständigen Skelettstücken wesentlich verschieden. Übergänge zwischen beiden Zellformen lassen aber deutlich die Verwandtschaft der Gewebe erkennen, welche bei

<sup>1</sup> Compt. Rend. de l'Acad. des sc. 1880. T. XC. p. 711.

*Myxine* deshalb ein besonderes Augenmerk verdienen, weil sie meist Stellen andeuten, wo nur mikroskopisch nachweisbare Reste von Knorpelgewebe gefunden werden; diese können aber bei der morphologischen und phylogenetischen Betrachtung des *Myxine*-Skelettes nicht außer acht gelassen werden.

Wien, im Januar 1905.

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel XII.

Fig. 1. Harter Knorpel von *Myxine*; aus der Mitte eines Querschnittes durch das hintere Mittelstück des sog. Zungenbeins. Alkohol und in Alkohol, ohne Färbung gezeichnet. Vergr. 500. *Z*, Zelle, ihre Höhle ganz ausfüllend; *K*, Kapsel; *LAH*, Zellhof; *IT*, interterritoriale Grundsubstanz; *I*, im Entstehen begriffene Scheidewand; *Z'*, Knorpelzelle in chondromuoider Umwandlung, welche auch bereits die Kapsel und teilweise den Zellhof ergriffen hat; letzterer zeigt einige konzentrische Schichten.

Fig. 2. Aus einem medianen Längsschnitt durch eine Hälfte des hinteren Mittelstücks. Alkohol; Färbung in stark verdünntem Pikrofuchsin. Kolophonium-einschluß. *KIH*, Kapsel und innerer Zellhof gleichmäßig stark rot gefärbt; *AH*, äußerer Zellhof gelb; *IT*, interterritoriale Substanz schwach rötlich; *ZW*, interterritoriale Zwickel stark rot; *ZR*, Zellrest in einem solchen; *K'*, Kapsel von der Fläche. Vergr. 500.

Fig. 3. Eine Partie von der dorsalen Oberfläche desselben Schnittes, von dem Fig. 1. Gleiche Behandlung und Vergrößerung. *P*, Perichondrium mit circular verlaufenden Bindegewebsbündeln und längsverlaufenden elastischen Fasern; *OZ*, oberflächlichste, stark abgeplattete Knorpelzellen; *Z*, Knorpelzellen mit konzentrisch geschichteten Höfen; *Z<sup>1</sup>* und *Z<sup>2</sup>*, verdämmernde Zellen; *G*, hyaline Grundsubstanz.

Fig. 4. Oberflächenpartie eines Querschnittes durch ein vorderes Seitenstück des sog. Zungenbeins. Alkohol; Färbung wie Fig. 2. *P*, Perichondrium; *A*, oberflächliche Appositionszone; *A'*, oberflächlichste, ausgefranste Zone derselben; *K*, Kapsel; *IH*, innerer, *AH*, äußerer Zellhof; *OZ*, flache Zellen in der Appositionszone; *H*, entstehende Zellhöfe; *Z'*, verdämmernde Zellen. Vergr. 400.

Fig. 5. Eine ähnliche Oberflächenpartie nach rascher Eosinfärbung und Aufhellung mit Nelkenöl. Bezeichnungen wie oben. Vergr. 365.

Fig. 6. Aus einem Frontalschnitt durch das hintere Mittelstück des sog. Zungenbeins. Alkohol; Färbung mit Hämalaun; Kongorot. Die normalen Zellen, ihre Höhlen teilweise vollkommen erfüllend, rotbraun. Die chondromuoid umgewandelten *dK* blau. *ZH*, mit Chondromuoid infiltrierte Höfe um dieselben; *IT*, interterritoriale Zwischensubstanz. Vergr. 365.

Fig. 7. Flächenschnitt durch die oberflächlichste Anlagerungszone des harten Knorpels (vorderes Mittelstück des sog. Zungenbeins, Alkohol, saures Orcein nach UNNA-TÄNZER) von der Fläche des fertigen Knorpels aus gesehen. Bei oberflächlicher Einstellung erscheinen die Knorpelzellen *KZ* in bereits homo-

## Über den feineren Bau und die Entw. des Knorpelgewebes usw. II. 255

gener Grundsubstanz, bei tieferer die Streifen *K*, stark gefärbte Kittsubstanzmassen, welche die Bindegewebsfibrillen *B* des Perichondriums einhüllen. *E*, gleichzeitig oder bei tieferer Einstellung erscheinende elastische Fasern. Vergrößerung 365.

Fig. 8. Ein ähnlicher Tangentialschnitt. Pikrinsublimat, Hämalaun-Eosin; dieselbe Vergr. Die Grundsubstanz größtenteils bereits homogenisiert; einzelne Partien (*F*) jedoch noch deutlich fibrillär. *E*, elastische Fasern; bei *K* solche in Zerfall befindlich.

Fig. 9. Eine Zelle aus dem harten Knorpel im Beginn der chondromucoiden Metamorphose (hinteres Mittelstück des sog. Zungenbeins, Mitte; Färbung mit stark verdünntem polychromen Methylenblau 36 Stunden). *K*, pyknotischer Kern; *W*, metachromatisch gefärbtes Strang-Wabenwerk mit zahlreichen basophilen Körnchen. Vergr. 720.

Fig. 10. Aus einem Querschnitt durch den hinteren Teil des sog. Zungenbeins. Alkohol. 36 Stunden in maximal verdünnter Lösung von rectifiziertem Methylenblau gefärbt. Alkohol, Cajeputöl, Benzol, Kolophonium. *dZ*, chondromucoid metamorphosierte Zelle; *K*, Kapsel; *H*, zusammengepreßter Zellrest; *KF*, lange knotige Fortsätze; *T*, verstreute Tröpfchen. Vergr. 720.

Fig. 11. Dasselbe Objekt. Minutenlange Färbung mit 2%igem rectifiziertem Methylenblau. *nK*, normale Knorpelzelle; *pK*, pyknotischer Kern einer Zelle im Beginn der Metamorphose; *dZ*, metamorphosierte Zelle; *KF*, kurze Ausströmungen derselben; *KN*, aus der Zellhöhle ausgeströmte chondromucoide Substanz in Form eines knotigen Netzes. Vergr. 720.

Fig. 12. Dasselbe Objekt, dieselbe Färbung und Vergr.; eine in Umwandlung begriffene Zellgruppe. *dZ*, mit chondromucoiden Massen erfüllte Zellhöhlen; *Sch*, Reste der Scheidewände zwischen den Zellen; *hH*, homogener chondromucoider Hof, der in den körnig infiltrierten *T* übergeht.

Fig. 13. Aus der Mitte eines Frontalschnittes durch das hintere Mittelstück des sog. Zungenbeins. Alkohol. VAN GIESONSche Färbung. *Z*, Zelle; *K*, Kapsel; *IH*, innerer, *AH*, äußerer Zellhof; *IT*, interterritoriale Substanz; *Z'*, in Metamorphose befindliche Zellen; *ZW*, in Grundsubstanz umgewandelte Höfe und Kapseln derselben. Vergr. 340.

Fig. 14. Aus einem Querschnitt durch das sog. Zungenbein. Pikrinsublimat, Hämalaun, Kongorot. *ZR*, körnige Zellreste in blau färbbaren Zwickeln *ZW*. Vergr. 500.

Fig. 15. Deutliche konzentrische Schichtung eines Zellhofes im Beginn des einfachen konzentrischen Zellschwundes. Färbung in sehr stark verdünntem Pikrofuchsin. *KZ*, verdämmernde Kerne der eingengten Zelle; *K*, verbogene, gequollene Kapsel; *IH*, innerer, *AH*, äußerer Zellhof; *IT*, interterritoriale Substanz. Vergr. 720.

Fig. 16. Zwei Zellbezirke aus dem harten Knorpel des Subocularbogens, an denen durch künstliche Luftfüllung die interterritoriale Substanz *IT*, sowie die konzentrische Schichtung der Höfe *H* und eine in Grundsubstanz sich umwandelnde Zelle *Z* deutlich hervortreten; *ZR*, eingengte, nicht mehr färbbare Zelle; *K*, gequollene Kapsel. Pikrinsublimat, Hämalaun, Mucikarmin. Vergr. 720.

Fig. 16A. Ein Zellterritorium mit deutlicher Gliederung. Vorderer Rand des sog. Zungenbeins. Formol; JENNERS Eosin-Methylenblau. *K*, Kapsel; *IH*, innerer Zellhof; die basophilen Lagen desselben teilweise in Körnchen aufgelöst, teilweise in größeren Massen angehäuft; *AH*, äußerer Zellhof deutlich gestreift; *IT*, interterritoriale Substanz; *ZW*, Zwickel derselben. Vergr. 720.

Fig. 17. Zwei Zellen aus einem Querschnitt durch das vordere Mittelstück des sog. Zungenbeins. Pikrinsublimat, Hämalaun, Kongorot. *H*, kugelschalentartig verdrückte Knorpelzelle mit pyknotischem Kern. Vergr. 500.

### Tafel XIII.

Fig. 18. Ein chondromucoid umgewandeltes Zellterritorium *ZT* aus dem harten Knorpel (Längsschnitt durch das hintere Mittelstück des sog. Zungenbeins. Alkohol, Eosin-Methylenblau; siehe Text S. 196). Beginn der Umwandlung der chondromucoiden Masse in harte Knorpelgrundsubstanz in Form von Kugeln (*HK*). Vergr. 720.

Fig. 19. Ein weiteres Stadium dieser Umwandlung. Zusammenfließen der mit Eosin gefärbten Kugeln *HK*; dazwischen chondromucoiden Körner. Flachschnittserie durch das sog. Zungenbein, DELAFLIELDS Hämatoxylin, Eosin. Vergr. 720.

Fig. 20. Aus demselben Schnitt, wie Fig. 14. *dK*, pyknotischer Kern einer Knorpelzelle im Beginn der chondromucoiden Umwandlung. *H*, halbmondförmiger Zellrest; *a*, einfacher Schwund einer Knorpelzelle; *m*, Ausfüllung einer Zellohülle mit harter Grundsubstanz. Vergr. 500.

Fig. 21. Ausfüllung eines chondromucoid umgewandelten Zellhofes, dessen Grenzen *ZH* scharf hervortreten durch Bildung harter Balken *hB*; *R*, Lücken mit Chondromucoidkörnchen. Alkohol, saures Orcein nach UNNA-TÄNZER. Vergr. 500.

Fig. 22. Aus demselben Schnitt wie Fig. 19. Ein vollkommen mit harter Grundsubstanz ausgefülltes Zellterritorium *HT*, das sich deutlich, bei *iT* gegen die Nachbarschaft abgrenzt. Daneben ein zweites, fast vollkommen ausgefülltes; *HT*, harte Grundsubstanz; *CH*, Reste chondromucoider Körnerchen in derselben; *H*, noch nicht ausgefüllte Lücke. Vergr. 720.

Fig. 23. Mittelpartie aus dem Querschnitt durch das vordere Seitenstück des sog. Zungenbeins. Pikrinsublimat, Hämalaun-Eosin. Homogenisierung der centralen Partie *hK* durch Umwandlung und Kompression der Zellen und ihrer Höfe. *dK*, pyknotische Kerne in Umwandlung begriffener Zellen; *nK*, normales Knorpelgewebe der Umgebung. Vergr. 270.

Fig. 24. Weichknorpeliger Rest aus dem Subcutangewebe längs des Mundschlitzes einer *Myxine*. *K*, eine einzelne Zelle mit Kapsel, bei *i* Verschmelzen der Kapseln zu Intercellularsubstanz. Vergr. 500.

Fig. 25. Weichknorpeliger Rest von der rechten Seite des Oesophagus. *I*, einfache Scheidewände der Grundsubstanz. Vergr. 500.

Fig. 26. Weicher Knorpel aus dem lateralen Labialtentakel. *K*, Kapsel im Profil; *K'*, von der Fläche; *I*, intercapsuläre Substanz; *I'*, einfache Scheidewände. Vergr. 500.

Fig. 27. Partie aus einem Sagittalschnitt durch die ventrale Knorpelplatte der Schwanzflosse. Alkohol, Pikromethylblau. *K*, Kapsel, blau; *I*, intercapsuläre Substanz, grüngelb; *ES*, einfache Grundsubstanzscheidewand; *ZM* und *ZM'*, in Metamorphose befindliche Zellen; letztere kugelschalentartig verdrückt. Vergrößerung 500.

Fig. 28. Weicher Knorpel aus der Naht zwischen den hinteren, harten Mittelstücken des sog. Zungenbeins. *P*, Perichondrium; *A*, oberflächliche Grundsubstanzlage; *ox*, abgefachte Zelle im Einschluß begriffen; *K*, Kapsel; *H*, Zellhof; *I*, interterritoriale Substanz; *ZW*, Zwickel derselben. Vergr. 500.

Fig. 29. Sehr dünner Querschnitt durch den Zungenbinnenknorpel, Ober-

flächenpartie. Pikrinsublimat, Hämalaun-Eosin. Vergr. und Buchstabenbezeichnung wie bei Fig. 28.

Fig. 30. Weicher Zungenbinnenknorpel, Flachschnitt durch die Mitte. *i*, im Entstehen begriffene interterritoriale Scheidewände. Übrige Bezeichnungen und Vergr. wie oben.

Fig. 31. Aus demselben Schnitt. Metamorphose eines Zellterritoriums. *I'*, scharf ausgebildete Grenze desselben, einer interterritorialen Scheidewand entsprechend, durch die der Zellhof zweischichtig wird. *ZH*, durch die vorwuchernde Grundsubstanz *G* komprimierte Zelhöhle. Vergr. 720.

Fig. 32. Das sog. Zungenbein (Unterkieferapparat) von *Myxine* frei präpariert, bei *V* in ventraler, bei *D* in dorsaler Ansicht. Die verschiedenen Gewebe, welche sich an der Zusammensetzung desselben beteiligen, sind durch verschiedene Farben gekennzeichnet und bedeutet rot den harten, blau den weichen Knorpel, und gelb das knorpelartige, blasige Stützgewebe. Die ungefärbten Stellen zeigen fibröses Gewebe an, wie in der Lücke *L* und in der Naht *FN*. *RR*, rostraler Rand; *R*, rinnenartige Stelle, über welche die Sehne des Vorziehers der Zunge gleitet; *VMS*, vorderes Mittelstück; *VSS*, vorderes Seitenstück; *HMS*, hinteres Mittelstück; *KB*, weichknorpelige Brücke zwischen vorderem und hinterem Mittelstück; *VN*, Naht zwischen vorderem Seiten- und hinterem Mittelstück aus blasigem Stützgewebe; *N*, weichknorpelige Raphe im hinteren Mittelstück. Bei *H* weichknorpeliger Ansatz der sog. Zungenbeinhörner; *K*, »Zungenbeinkiel«; *MK*, weichknorpeliger Ansatz eines Mundknorpels (Tentakels); *S*, Leiste aus blasigem Stützgewebe zur Führung der Sehne des Retractor linguae. Vergrößerung etwa dreifach.

Fig. 33. Freipräparierter Zungenknorpel (*Cartilago entoglossa*) einer etwa 30 cm langen *Myxine*. Die Farben haben dieselbe Bedeutung wie in voriger Figur. *PS*, rostraler Umschlagsrand der gespaltenen Sehne des Zungenvorziehers; *V*, ventraler Teil dieser Sehne; *VIV*, weichknorpelige vordere Platte des Zungenknorpels; *S*, Spalte in derselben von Bindegewebe erfüllt; *HH* und *HH'*, hintere, hartknorpelige Schenkel, median durch die weichknorpelige Naht *N* verbunden; *a*, weichknorpelige Insel; *Sp*, mit blasigem Stützgewebe ausgefüllte Spalte; *H*, weichknorpeliges, distales Horn des Zungenknorpels; *RS*, durchbohrte Sehne des Zurückziehers der Zunge. Die punktierte Linie *RR* zeigt den Umfang des unterliegenden Unterkieferapparates an. Vergr. etwa vierfach.

Fig. 34. Mitose (Äquatorialplatte) mit deutlicher Spindel in einer blasigen Zelle des Zungenbeinkiels. Pikrinsublimat, Hämalaun-Eosin. Vergr. 700.

#### Tafel XIV.

Fig. 35. Querschnitt durch den sog. Zungenbeinkiel. Pikrinschwefelsäure; Bindegewebsfärbung nach RIBERT (S. 176). *H*, Höhle, in welcher die Sehne des Zurückziehers der Zunge läuft. *M*, rostrales Ende des durchbohrten Muskelbauches; *N*, Nerv; *iP* und *aP*, innerer und äußerer Faserüberzug, von dem die radiären Septen *S* abgehen; *B*, blasige Zellen zwischen den Septen. Vergr. 27.

Fig. 36. Ein Tangentialschnitt parallel zur konvexen Oberfläche des »Zungenbeinkiels«. Die Septen *S* quergetroffen. *ZW*, zwickelartige Verbreiterungen derselben mit reichlichen Kernen; *n*, Gruppen blasiger Zellen. Alkohol, Hämalaun-Eosin. Vergr. 100.

Fig. 37. Partie eines Querschnittes durch den »Zungenbeinkiel«. 124fach vergrößert. Pikrinsublimat, Hämalaun-Eosin. *Pi*, dorsaler, *Pe*, ventraler, perichondriumartiger Faserüberzug; *S*, radiäre Bindegewebssepten; bei *S'* Auffaserung

derselben; *n*, oberflächliche Nische mit kleineren blasigen Zellen; *K*, große blasige Zellen der Mitte; *K'*, Gruppen kleiner Zellen in den Verbreiterungen der Septen.

Fig. 38. Eine periphere Nische *n* aus der vorigen Figur bei stärkerer (335facher) Vergr. *K*, große blasige Zellen, größtenteils von ihrer Membran *M* zurückgezogen.

Fig. 39. Eine solche Nische durch Zerzupfen mit Nadeln isoliert, mit Kongorot gefärbt und in Glycerinwasser untersucht. *Z*, blasige Zellen bei *A* aus ihren Alveolen herausgefallen, so daß hier die membranartigen Scheidewände isoliert zu sehen sind; *A'*, diese Wände im optischen Querschnitt.

Fig. 40. Oberflächliche Partie eines Querschnittes durch den »Zungenbeinkiel«. *P*, faseriges Perichondrium mit Zellen; *VZ*, blasige Zellen; *KZ*, Zellen mit dicken färbbaren Kapseln, knorpelähnlich. Vergr. 570.

Fig. 41. Blasiges Stützgewebe mit feinen und stärkeren elastischen Fasern, *E*, vom rostralen Rande des Unterkieferapparates. Alkohol, DELAFIELDS Eosin. *S*, membranartige Scheidewände im Profil; *S'*, in schräger Flächenansicht; *Z*, blasige Zellen. Vergr. 500.

Fig. 42. Überzug von blasigem Stützgewebe am rostralen Rande des Unterkieferapparates *KR* (und zwar entsprechend der Rinne *R* Fig. 32, in welcher die Sehne des Zungenvorziehers schleift) in frontalem Längsschnitte. *BZ*, blasiges Stützgewebe; *B*, lamelläres Fasergewebe; *K*, Knorpelkern in demselben; *BZ'*, Zwischenstufen zwischen den indifferenten und blasigen Zellen. Vergr. 150fach.

Fig. 43. Partie des Füllgewebes aus der Naht zwischen dem vorderen Seiten- und hinteren Mittelstück (vgl. *VN* der Fig. 32) des Unterkieferapparates. Aus einem Horizontalschnitt. *HK*, Rand des harten Knorpels; *F*, dicht faseriges Gewebe; *V*, Insel von blasigen Zellen zwischen denselben; *K*, Zellen mit deutlichen Kapseln; *KK*, Zellgruppe mit homogener Grundsubstanz um die Kapseln (Knorpelkern). Vergr. 270.

Fig. 44. Eine Partie des eigentümlichen Stützgewebes um die lateralen Schlundkiemenknorpel. *AP* und *KP*, äußerer und innerer perichondriumartiger Überzug; letzterer zugleich das Perichondrium des Knorpels; *F*, radiär gestellte Faserzellen; *L*, Lücken zwischen denselben. Vergr. 500.

Fig. 45. Eine Partie des schleimknorpelartigen Gewebes vom lateralen unteren Umfange der Ohrkapsel. *B*, Bindegewebsbündel desselben; *BZ*, blasige Zellen; *SZ*, platte Zellen; *BZ'*, Zwischenformen zwischen beiden; *L*, Lücken mit einer homogenen Masse gefüllt, die sich mit Schleimfärbemitteln färbt. Pikrinsublimat, Hämalaun, Eosin. Vergr. 500.

Fig. 46. Zwei blasige, zerknittert aussehende Zellen aus Lücken desselben Gewebes in der Nachbarschaft des Auges; *A* und *B* aus Sagittalschnitten durch Schädel verschiedener Myxinen. Vergr. 700.

Fig. 47. Harter Knorpel, etwa  $1\frac{1}{2}$  Stunden abwechselnd mit 30%iger Chromsäure und Wasser behandelt. *III*, lamellär aufgeblätterter und losgelöster innerer Zellhof; *AH*, radiär gestreifter äußerer; *IT*, interterritoriale Substanz. Vergr. 500.

Fig. 48. Rest eines Schnittes durch den harten Knorpel, der etwa 3 Stunden wie oben mit 30%iger Chromsäure behandelt wurde. *L*, Lücken, aus denen die inneren Zellhöfe ausgelöst wurden; *VZ*, verdämmernde Zellen. Vergr. 150.

Fig. 49. Durch 5%ige Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur isolierte Zellhöfe aus dem harten Knorpel. *A*: der äußere Zellhof, *AH*, ganz in Lamellen zerlegt, isoliert; bei *F* die innerste dieser Lamellen von der Fläche; *IT*, isolierte interterritoriale Substanz; *B*: ein ganzes, wahrscheinlich in Umwandlung zu Grundsubstanz befindliches Zellterritorium. Vergr. 720.

Fig. 1.

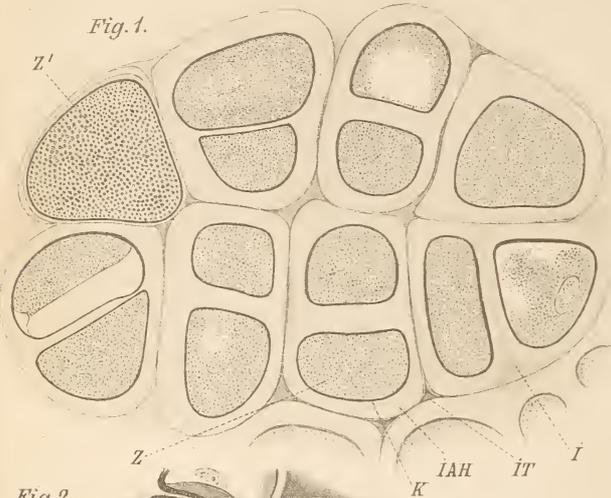


Fig. 2.

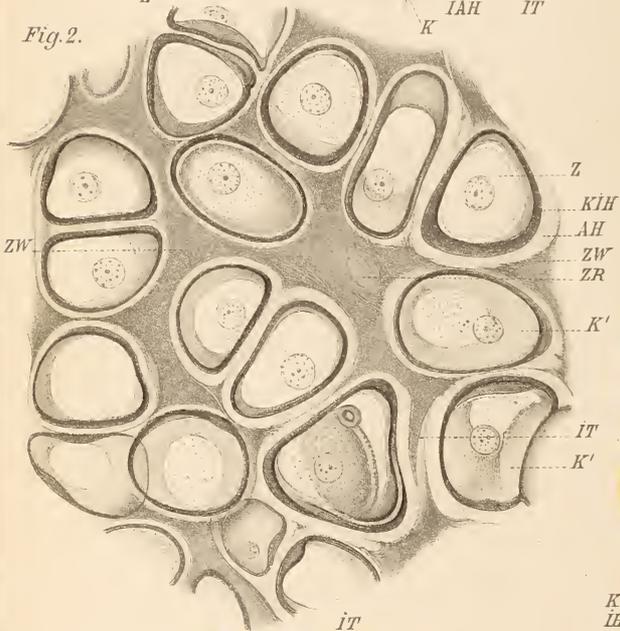


Fig. 3.

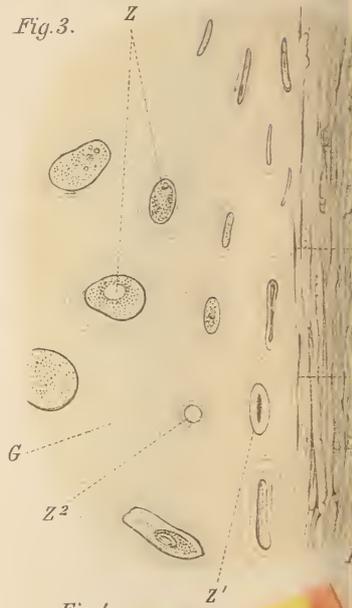


Fig. 4.

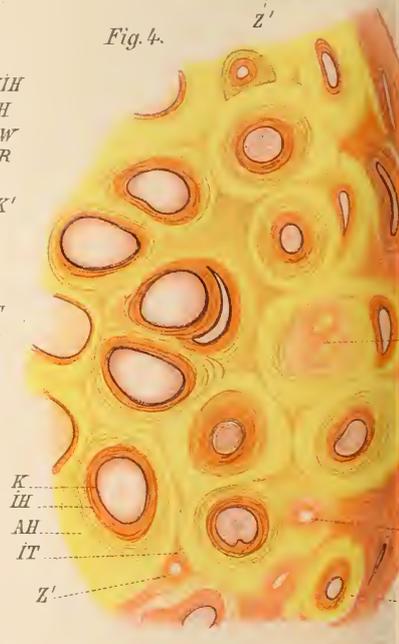


Fig. 6.

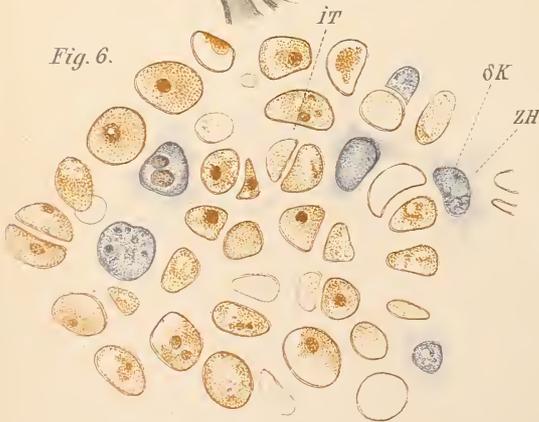
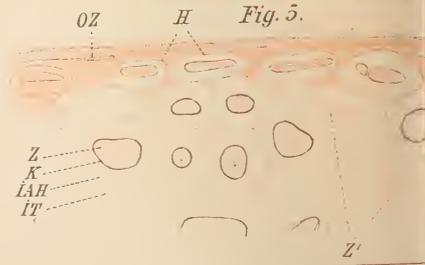
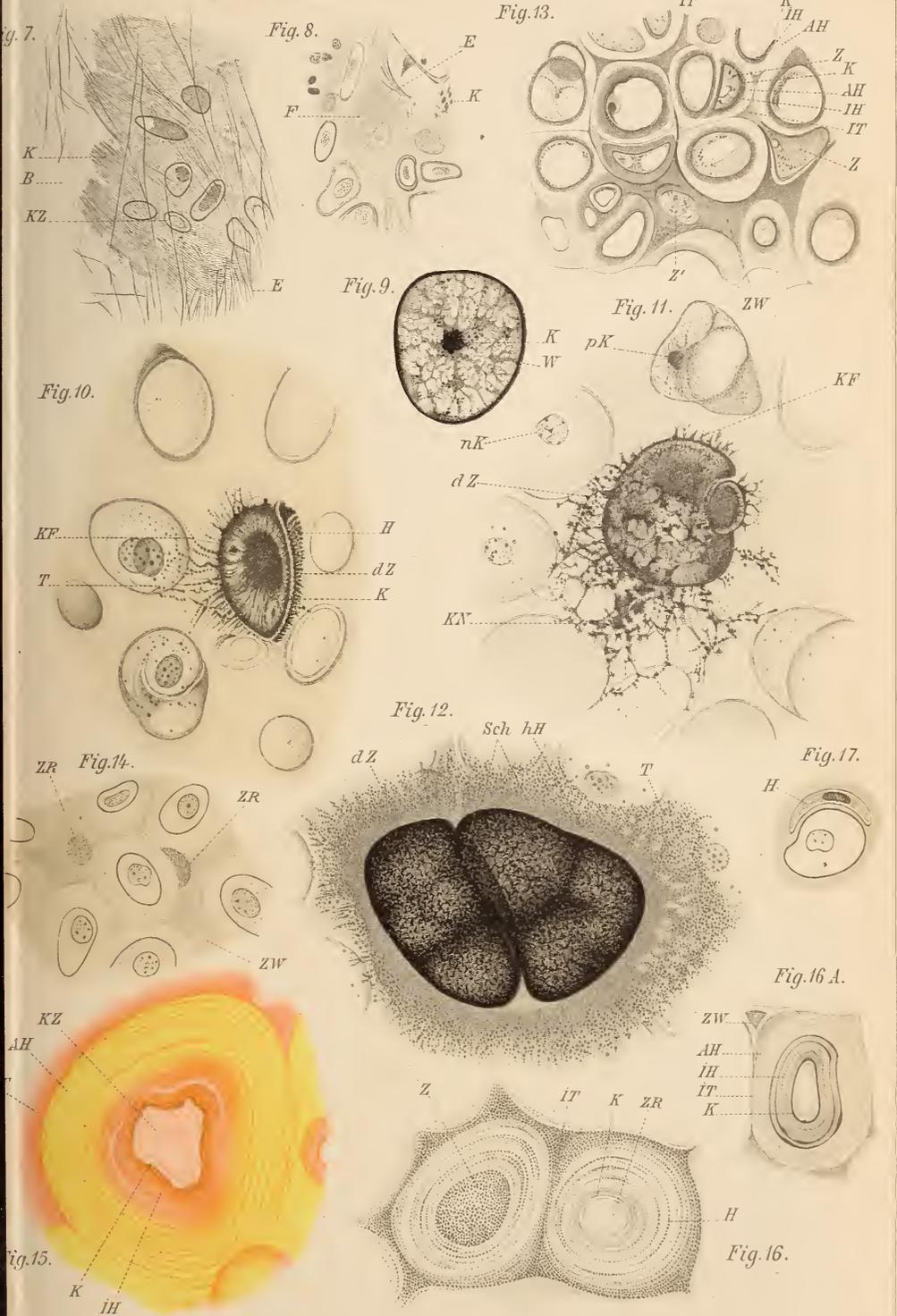


Fig. 5.





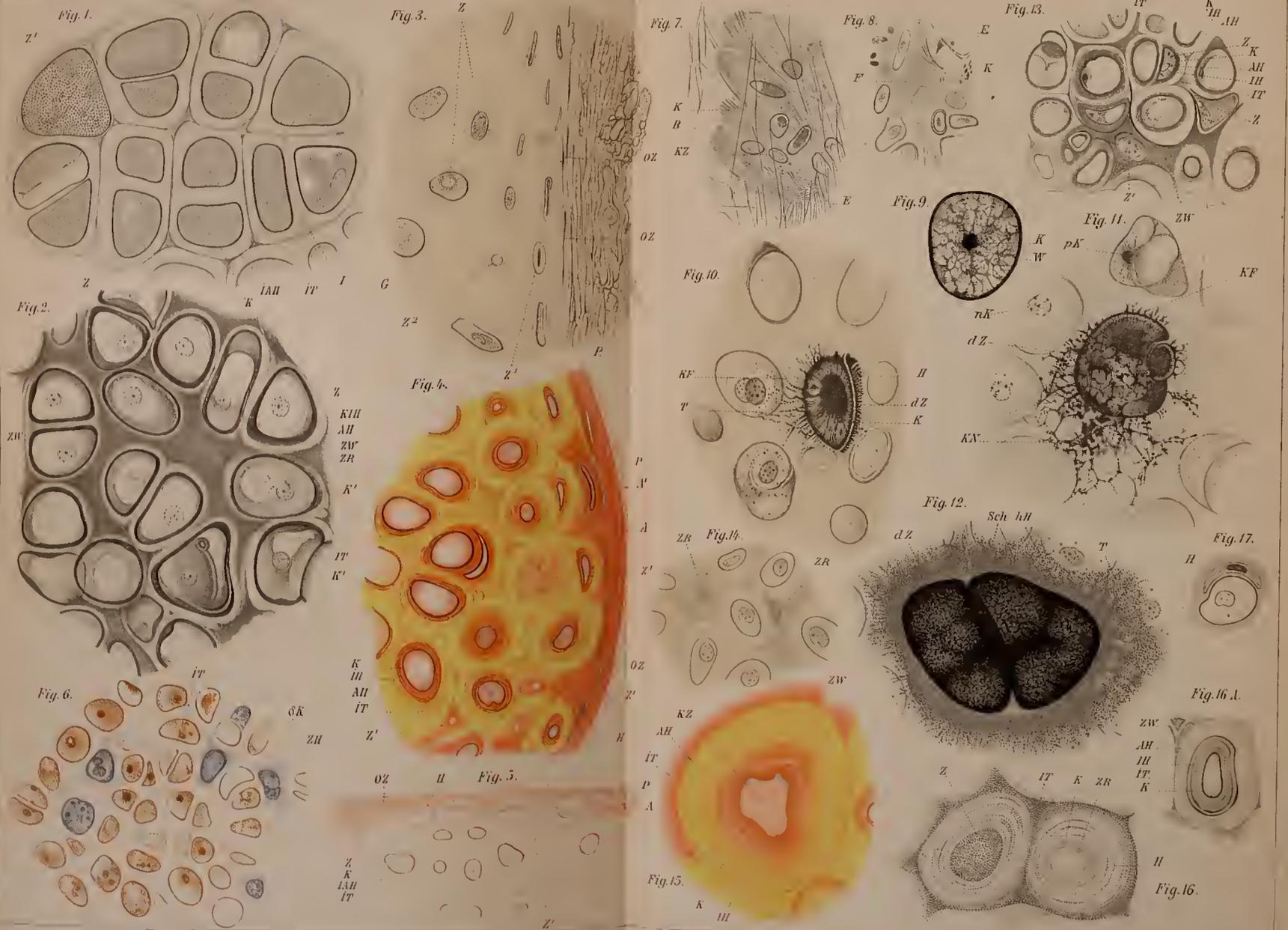


Fig. 18.

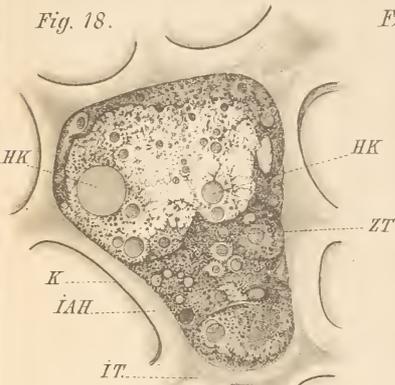


Fig. 19.

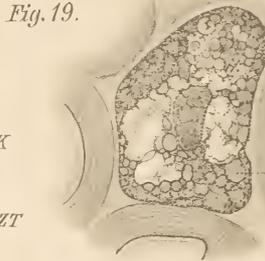


Fig. 20.



Fig. 22.

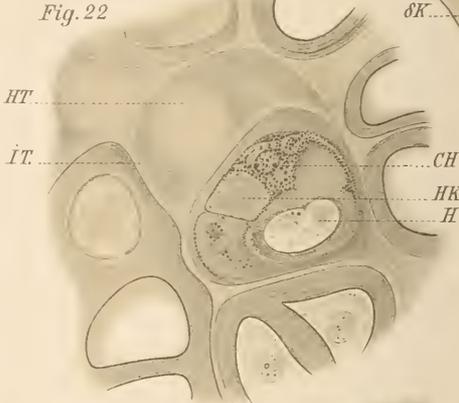


Fig. 21.

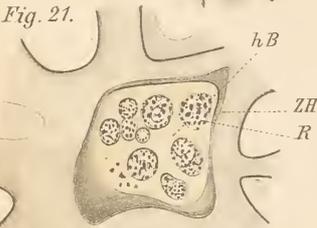


Fig. 29.

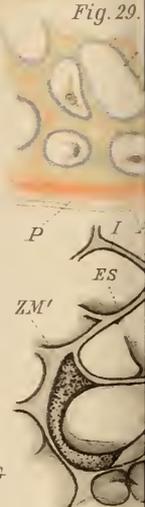


Fig. 23.

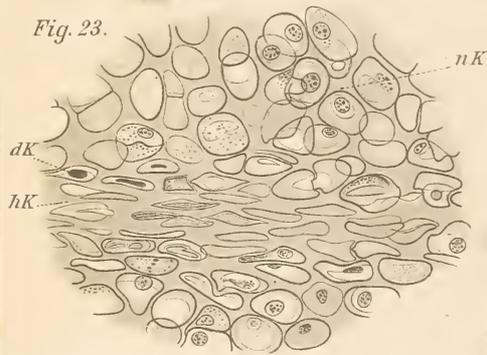


Fig. 31.

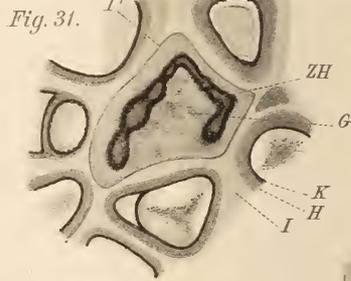


Fig. 24.

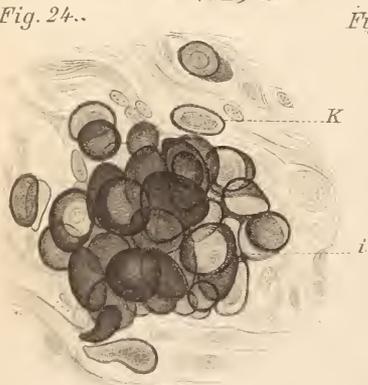


Fig. 25.

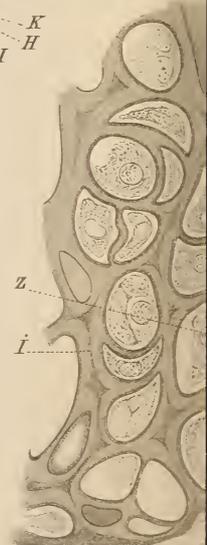
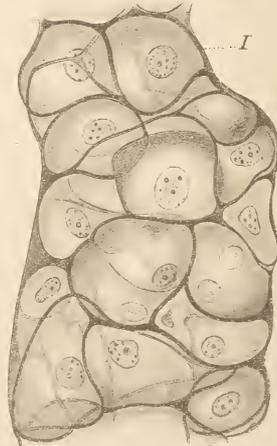


Fig. 26.

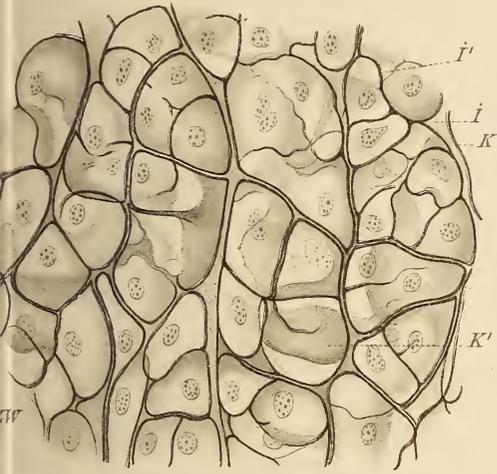


Fig. 30.

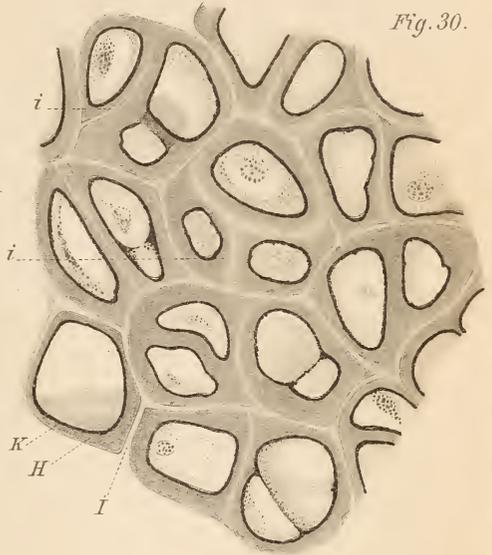


Fig. 27.



Fig. 32.

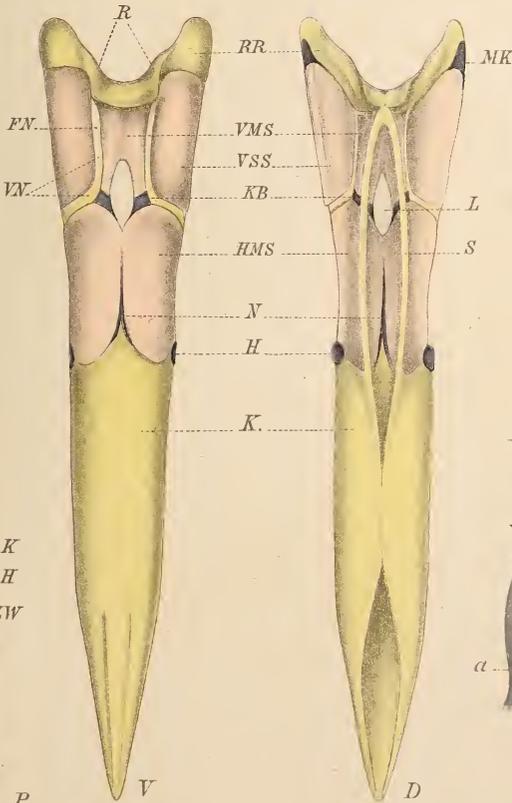


Fig. 34.

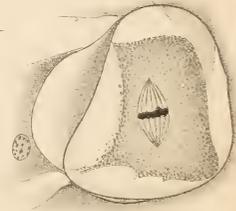


Fig. 28.

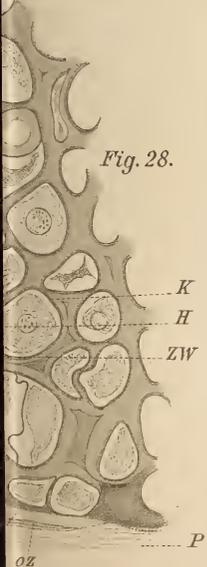
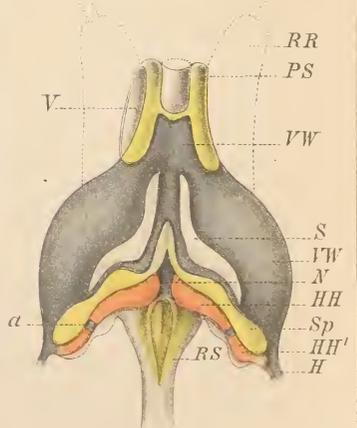
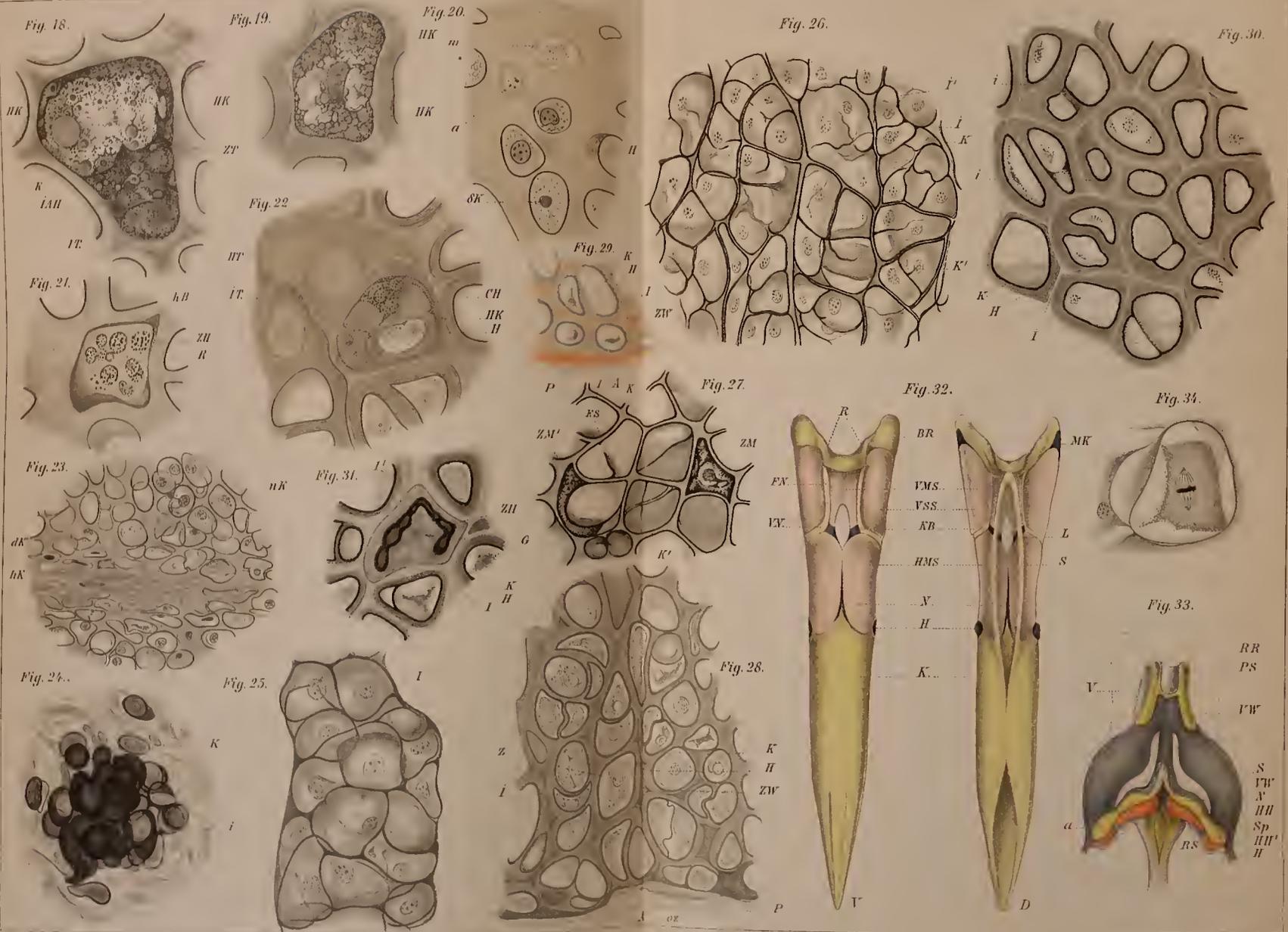


Fig. 33.





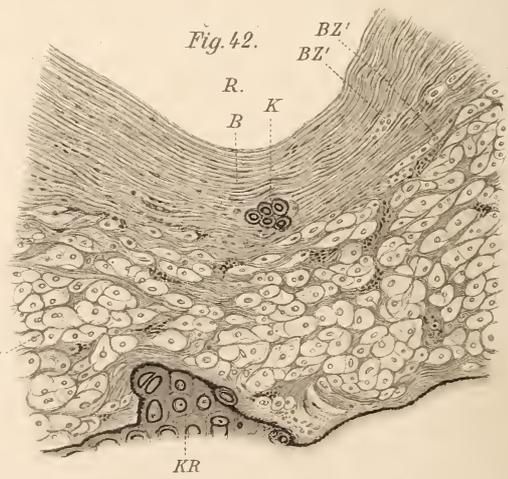
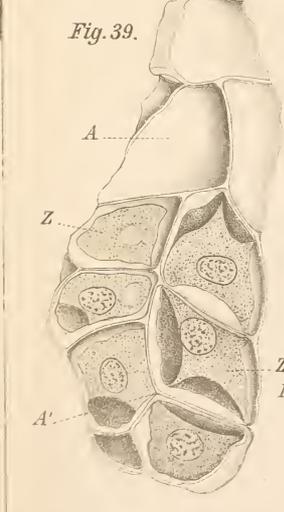
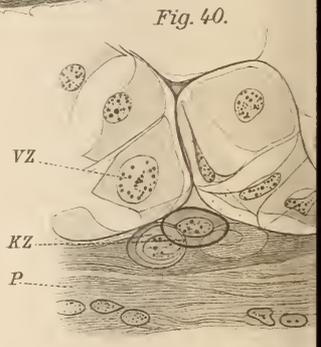
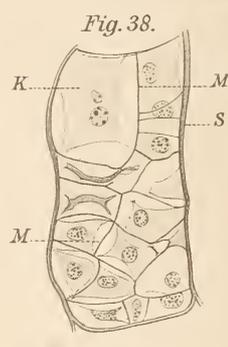
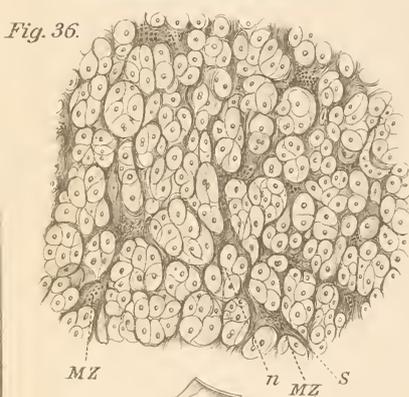
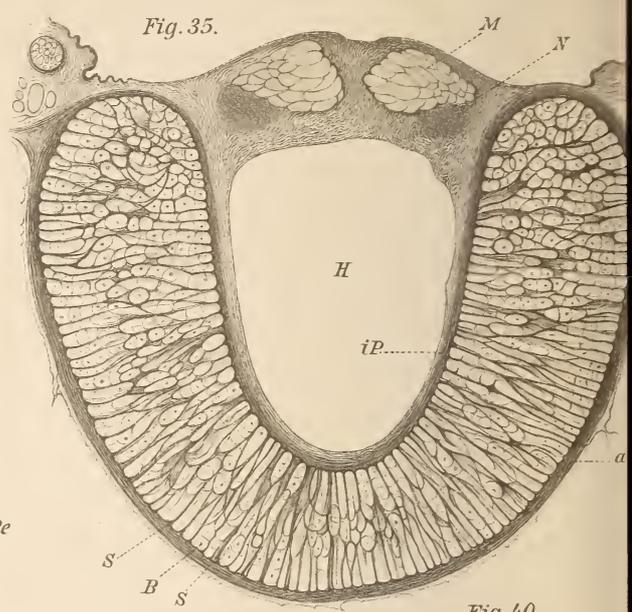
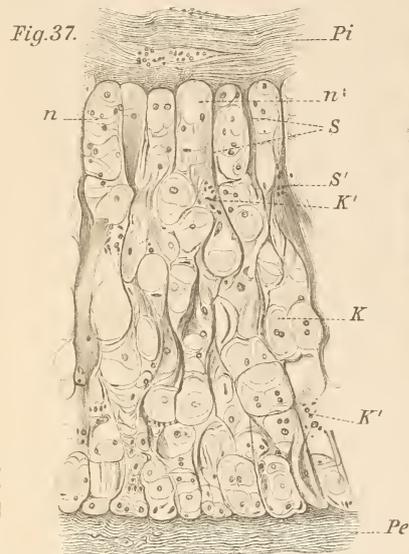


Fig. 41.

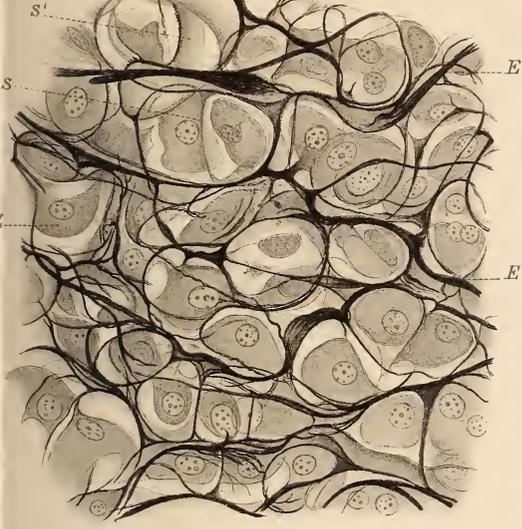


Fig. 43.

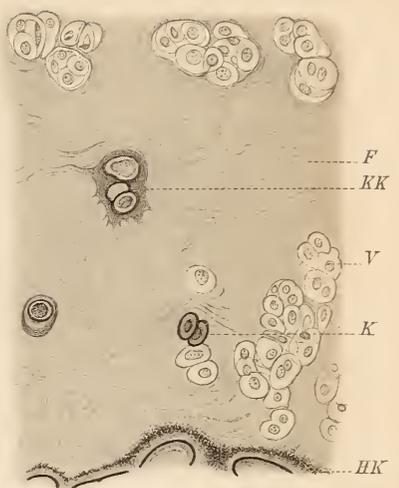


Fig. 45.



Fig. 44.

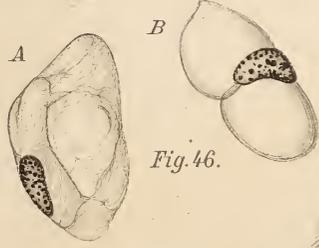
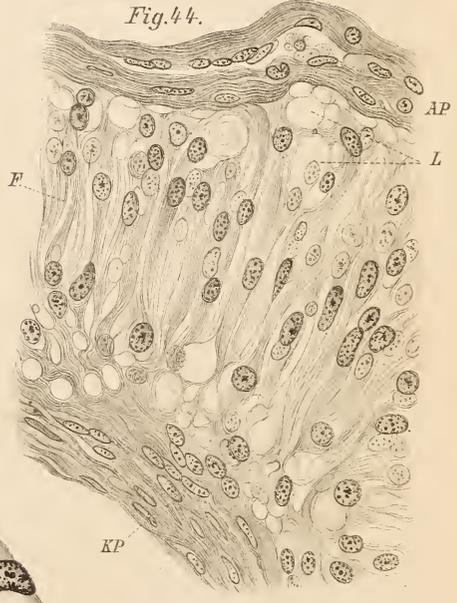


Fig. 46.

Fig. 49.

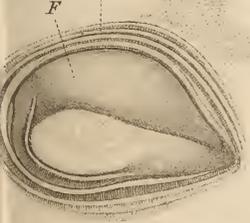


Fig. 47.

