

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE.

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

N° 9.

Novembre

1904.

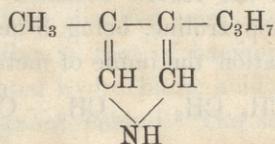
- Sommaire:** 37. MM. J. BURACZEWSKI et L. MARCHLEWSKI. Recherches sur la matière colorante du sang.
38. M. JOSEPH NUSBAUM. Recherches sur la régénération de quelques Polychètes.
39. MM. L. BYKOWSKI et J. NUSBAUM. Contributions à la morphologie du téléostéen parasite *Fierasfer* Cuv.
40. M. W. GADZIKIEWICZ. Sur la structure histologique du coeur chez les Crustacés décapodes.
41. M. ADAM WRZOSEK. Recherches sur le passage des microbes du sang dans la bile dans les conditions normales.

Séance du lundi 7 Novembre 1904.

PRÉSIDENTE DE M. E. GODLEWSKI.

37. MM. J. BURACZEWSKI et L. MARCHLEWSKI m. t. **Studia nad barwieniem krwi. III.** (*Studies on the blood colouring matter. III preliminary note*). (*Recherches sur la matière colorante du sang*).

The most important problem, bearing on the constitution of haemin and chlorophyll, is at present the constitution of haemopyrroline, obtained by the action of reducing agents on haemin or phyllocyanine¹). The discoverers of haemopyrroline, Nencki and Zaleski²), discussed several possible formulae for this substance, amongst others the following one:

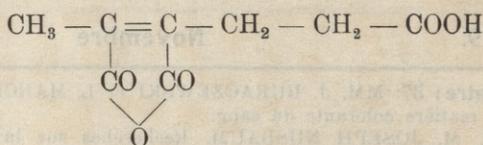


according to which haemopyrroline is a methyl-propyl-pyrroline. The question whether the propyl group contains a normal carbon chain or the iso-chain the authors named have left unsolved, whereas

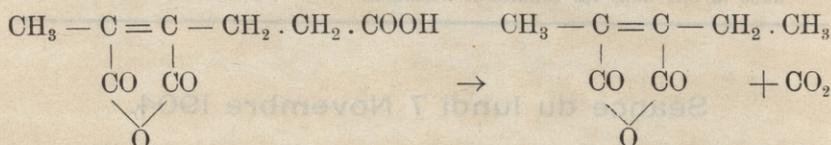
¹) This Bulletin, 1901, 277.

²) This Bulletin, 1901, 217.

Küster¹⁾ gave a proof for the preexistence of a normal chain which seemed to be unchallengable. This author has found that the anhydride of the so called threebasic haematic acid possesses the formula:



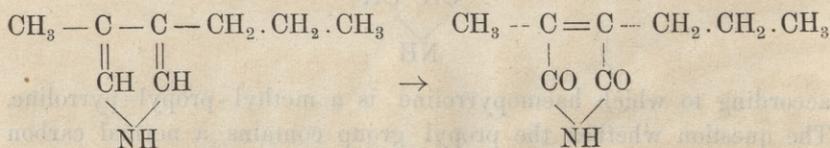
on account of it being able to produce on oxidation succinic acid $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$. The conversion of the anhydride of the threebasic haematic acid into the anhydride of the bibasic acid must therefore be formulated as follows:



the more so as the latter substance proved identical, according to Mr. Galler²⁾, with the synthetically prepared methyl-ethyl-maleic anhydride.

So far the facts agree exceedingly well with the assumption that haemopyrroline is 3-methyl-4-n-propyl-pyrroline.

The latest researches of Küster and Haas³⁾ seem however to call into question the above view. These authors prepared synthetically, according to the well known method of Michael and Tissot, methyl-propyl-maleic anhydride and then the corresponding imide, and compared it with the oxidation product of haemopyrroline. Based upon the results obtained by Plancher⁴⁾ one must expect that haemopyrroline, being 3-methyl-4-n-propyl-pyrroline will yield on oxidation the imide of methyl-propyl-maleic acid:



¹⁾ Ber. **35**, 2948 (1902).

²⁾ Ber. **35**, 2948 (1902).

³⁾ Ber. **37**, 2470 (1904).

⁴⁾ R. Accademia dei Lincei vol. XII, 1^o sem., serie 5 a, fasc. 1^o. 10.

However the comparison of the oxidation product of haemopyrroline with the synthetically prepared imide showed that they are not identical — their melting points differ not inconsiderably (the difference amounts to 7° C). The authors named were not able however to analyze the acid obtained from haemopyrroline and the results, it may be hoped, are not absolutely binding.

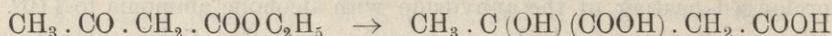
In view of the great probability of the haemopyrroline formula as given above, and having started synthetical experiments with the view to prepare artificially haemopyrroline at the same time as Küster, and in any case independently from this author, we have decided to test the said formula by a method differing from the one followed up by Küster. *Our idea was to reduce the imide of methyl-n-propyl-maleic acid and compare the product obtained with haemopyrroline, formed by haemin.*

The preparation of methyl-n-propyl-maleic anhydride does not offer any difficulties: propylacetoacetic ether is condensed with prussic acid, the product obtained saponified and the methyl-propyl malic acid produced distilled. The reaction takes place smoothly, exactly in accordance with other similar synthesis described by Michael and Tissot. The properties of the anhydride agree in general with the description given by Küster and Haas and we may pass over at present any details. The imide we obtained by prolonged heating of the anhydride with alcoholic ammonia to 110°. Whereas Küster and Haas describe crystals of this substance we never were so fortunate as to get it in the crystalline state. The imide we tried to convert into haemopyrroline in exactly the same manner as Bell converted succinic imide into pyrroline, viz. we heated it with a large excess of zinc dust in the presence of hydrogen. There distilled very soon a thick liquid which possessed a smell similar to that of haemopyrroline, and which on being treated with diluted hydrochloric acid dissolved partly, leaving a brown, greasy substance behind. The solution in dilute hydrochloric acid gave, on being left over night in the presence of air, a reddish brown precipitate, which dissolved easily in alcohol with a brownish red colour; this solution showed an absorption spectrum similar to that of urobilin and gave with ammoniacal zinc chloride a fluorescent (greenish) liquor, showing a spectrum similar to that of zinc urobilin. In other words, the reduction product of methyl-n-propyl-maleic imide yields under the influence of oxygen of the

air a colouring matter, showing properties very much akin to those of urobilin¹). Whether these two colouring matters are really identical or not, we are at present unable to say; the optical properties of urobilin are not sufficiently characteristic for the purpose of identification. We must therefore also defer any assumption concerning the nature of the first reduction product of methyl-*n*-propyl-maleic imide.

Presuming that Küster will follow up his former researches, we will not of course trespass upon his field of researches, but we shall endeavour to find out new means of identifying the reduction product of methyl-*n*-propyl-maleic acid and study the behaviour towards reducing agents of other homologues of maleic imide.

The chief reaction on which all the above experiments are based, the production of homologs of maleic acid by the elegant synthesis, discovered by Michael and Tissot, is cleared up in all its details. The first stage leads to the formation of hydroxycyanides which on being saponified lead to homologs of hydroxysuccinic acid. The latter containing one or two, as the case may be, of asymmetrical carbon atoms must be liable to splitting up into optical isomers. These views are completely in agreement with facts, as we were able to ascertain. The combination product of acetoacetic ether with hydrocyanic acid yields after being saponified a methyl-malic acid:



which, containing only one asymmetrical carbon atom, must exist in two optical isomeric modifications. We succeeded in isolating one of them, the dextro-rotatory antimer, in the pure crystalline state, whereas the other, laevo rotatory, we could not up to the present obtain in crystals. The splitting up of the racemic acid takes place easily by fractional crystallisation of its strychnine salt. The combination of the dextro-antimer being less soluble crystallises first in the form of fine white needles, which are laevorotatory. By the action of sodium hydrate this salt is decomposed in the usual way, and the recovered acid crystallised from acetic ether. Its melting point is 108°—109° and $[\alpha]_D^{20} = +22.83^\circ$ ($c = 1.5$).

¹) The fumes of the distilled artificial colour produce upon a piece of resinous pine-wood a red colouring.

38. M. JOSEPH NUSBAUM m. c. O regeneracyi kilku wieloszczetów (Polychaeta) sztucznie zranionych. (*Über die Regeneration einiger Polychaeten nach künstlichen Verletzungen*). (*Recherches sur la régénération de quelques Polychètes*).

Im Winter 1904 studierte ich an der Zoolog. Station in Neapel die Regenerationsprocesse bei einigen Polychaeten, und zwar die Regeneration des vorderen und hinteren Körperabschnittes nach künstlichem Abtragen derselben. Ich experimentierte mit *Amphiglene mediterranea* Leyd., *Nerine cirratulus* Delle Ch., *Nereis cultrifera* Gr., *Dasychone lucullana* Delle Ch. Am geeignetsten erwiesen sich *Amphiglene* und *Nerine*. Als Hauptobjekt diente mir *Amphiglene* und die folgende Beschreibung bezieht sich hauptsächlich auf diese Spezies, teilweise aber auch auf die letztere. Es ist überhaupt merkwürdig, dass, obgleich die Oligochaeten in dieser Hinsicht in den letzten Jahren vielfach untersucht worden sind, die Polychaeten im Gegenteil sehr wenig hinsichtlich der Regeneration bearbeitet worden sind, obwohl sie eine so artenreiche und so höchst mannigfaltige Gruppe darstellen, denn ausser den Untersuchungen von Michel (1898) und seinen älteren Vorgängern, E. Schultz (1899) und Iwanow (1904), gibt es keine wichtigeren, neueren Arbeiten auf diesem Gebiete.

Bei allen Exemplaren von *Amphiglene*, deren Hunderte von mir operiert worden sind, regenerierten sich alle, nachdem ihnen die 10 bis 15 hintersten Körpersegmente abgeschnitten worden sind, während bei *Nerine* und anderen erwähnten Arten ein gewisser Teil der operierten Exemplare immer zu Grunde ging.

Drei bis sechs Stunden nach der Operation ragt bei *Amphiglene* der durchschnittene Darm durch die Wunde nach aussen heraus, wobei der frei hervortretende Darmabschnitt sehr bald einer Umstülpung unterliegt, so dass die innere, bewimperte Fläche desselben nach aussen gekehrt wird; es bildet sich auf diese Weise ein bewimpertes Schildchen am hinteren Ende des operierten Wurmes, wobei die freien Ränder des Schildchens gegen die Peripherie sich verbreiten. Gleichzeitig verengt sich die Öffnung der durchschnittenen Körperwand und die Leibeshöhle kommuniziert mit der Aussenwelt mittelst eines engen, kreisförmigen Schlitzes, welcher sich zwischen den Rändern des Schildchens und dem Wundrande befindet. Sehr bald schliesst sich der Schlitz provisorisch, und zwar durch eine Art Pfropfen, der aus heraustretenden Leukocyten, durchschnittenen Muskelfasern und teilweise aus den von durchschnitt-

nen Geschlechtsdrüsen zahlreich hervortretenden Sexualelementen besteht. Das erwähnte Schildchen besteht aus einer Schicht von hohen bewimperten Zylinderzellen und ist in der Mitte durch die provisorische Analöffnung durchbrochen; und da die Ränder des Schildchens während der zwei oder drei ersten Regenerationstage noch weiter gegen die Peripherie wachsen, wird der bei weitem grösste Teil der Wundfläche durch dasselbe bedeckt. Endlich kommt es zur definitiven Verwachsung des erwähnten Schildchens mit dem Rande der Körperwand. Somit wird die Wunde vollkommen geschlossen, wobei die Grenze zwischen dem entodermalen und ektodermalen Abschnitte des Epithels am hinteren Ende des Wurmkörpers noch eine längere Zeit sichtbar ist, und zwar infolge gewisser Färbungsdifferenzen beider Abschnitte, obwohl die Wimpern an den peripherischen Teilen des Schildchens früh zu grunde gehen. Die beschriebenen Verhältnisse, welche ich sowohl bei *Amphiglene* wie auch bei *Nerine* gesehen habe, wurden von keinem meiner Vorgänger beobachtet; alle beschreiben eine einfache Verlötung des durchschnittenen Darmes mit dem Wundrande.

Nach einiger Zeit, und zwar in 8 oder 9 Tagen, manchmal noch früher, stülpt sich das entodermale Schildchen ein; es bildet sich namentlich eine ringförmige Vertiefung an der Grenze zwischen dem entodermalen und ektodermalen Teile der Wundfläche, und zwar so, dass nicht nur ein Teil des Entoderms, sondern auch ein kleiner Abschnitt des Ektoderms miteingestülpt wird und die mittlere Partie des Schildchens, wo die primäre Analöffnung sich befindet, eine gewisse Zeit als ein kleiner Kegel nach aussen aus der Tiefe hervorragt. Im weiteren Verlaufe der Regeneration wird der Kegel immer niedriger, er stülpt sich ein, es erfolgt eine vollkommene Ausgleichung der Hinterdarmwand und die definitive, viel grössere Analöffnung wird somit von einem Rande ektodermaler Herkunft begrenzt. Während die primäre Analöffnung (am Gipfel des Kegels) ganz hinten liegt, verändert sich die Lage des definitiven Afters, indem derselbe an der Ventralseite zu liegen kommt, und zwar infolge eines ungleichmässigen Wachstums des hinteren Körperendes. Es ist interessant, dass in der Lage des Afters im Regenerate eine grosse Verschiedenheit zwischen *Amphiglene* und *Nerine* besteht, und zwar öffnet sich der After bei *Nerine* ähnlich wie bei *Amphiglene* zuerst ganz hinten, später aber geht er bei *Nerine* auf die Dorsalseite über, was auch durch ungleichmässiges

Wachstum des hinteren Körperendes (aber in anderer Richtung) bedingt ist. Das sich sehr früh differenzierende Analsegment ist fast kugelförmig und besteht aus sehr hohen, zylindrischen Epithelzellen mit hellem, reich vakuolisierten Plasma und verhältnismässig kleinen Kernen.

Während die Analöffnung im Regenerate von Anfang an offen bleibt, wird die Mundöffnung eine gewisse Zeit verschlossen und tritt erst sekundär zum Vorschein. Schon in der ersten Stunde nach dem Abtragen des Kopfes samt 3 bis 5 Körpersegmenten bemerkt man eine energische Zusammenziehung der Wunde, durch die Kontraktion der zirkulären Körpermuskulatur bedingt, und ein Hinausragen eines Teiles des durchschnittenen Darmes, welcher sich auch hier ähnlich wie im Hinterregenerate umstülpt und ein bewimpertes Schildchen bildet. Sehr bald nun verengt sich der Darm halsförmig hinter diesem Schildchen und verliert sein Lumen, wodurch die Kommunikation des Darmlumens mit der Aussenwelt zeitweise aufgehoben wird. Zwischen den Rändern des Schildchens und der Körperwand bleibt auch hier während einer gewissen Zeit ein ringförmiger Schlitz offen, welcher sich zuerst provisorisch durch Leukocyten, Blutkörperchen und durchschnittene Muskelfasern verschliesst und endlich infolge des Zusammenwachsens der Ränder des Schildchens mit der Körperwand definitiv geschlossen wird (im 2 bis 3 Regenerationstage). Am dritten Regenerationstage, manchmal noch früher, stülpt sich nun das Schildchen ein, wobei infolge eines weiteren, ungleichmässigen Wachstums der Körperwand am vorderen Ende des Regenerates der sich einstülpende Teil mehr auf die Ventralseite übergeht. Der alte Darm ist mit seinem blinden Ende vorn gegen die erwähnte Einstülpung gerichtet und mit derselben durch einen soliden Zellenstrang verbunden, der aus der halsförmigen Verengung des Darmes hervorgegangen ist. In diesem Strange bildet sich dann (im 4 Regenerationstage) ein sekundäres Lumen aus und so kommt es zur definitiven Kommunikation des Vorderdarmes mit der Aussenwelt. Endlich erscheint in innigem Zusammenhange mit der Ausbildung der kimentragenden Kopflappen eine ektodermale Einstülpung, so dass es eine Art Mundbucht rein ektodermalen Ursprunges zustande kommt; eine nähere Beschreibung dieses letzteren Processes lässt sich nicht ohne Abbildungen klar darstellen, weshalb dieser Punkt in der ausführlichen Arbeit näher besprochen sein wird. Die beschriebene Regeneration des Vorder-

darmes habe ich bei *Amphiglene* studiert; bei *Dasychone lucullana* fand ich viele Bilder, welche auf eine ähnliche Art und Weise der Darmregeneration hinweisen.

Die Regeneration des Nervensystems ist mit derjenigen des Muskelsystems in vieler Hinsicht innig verbunden, was ich auch in meinen Studien über die Regeneration der *Enchytraeiden* nachgewiesen habe.

Was die Regeneration der Gehirnganglien anbelangt, so findet man am dritten Tage nach der Operation bei *Amphiglenen*, denen 3 bis 5 vorderste Körpersegmente abgeschnitten worden sind, ein Heraustreten zahlreicher Zellen aus dem neugebildeten Ektoderm, die oberhalb des Vorderdarmes eine lose Zellenanhäufung bilden. Ein Teil dieser Zellen bekommt nun ein mesenchymatisches Aussehen; die Zellen werden teils spindelförmig, teils sternförmig, sind mit Ausläufern versehen und bilden an einigen Stellen eine Art retikulären Gewebes, indem sie sich hier und da miteinander verbinden. Diese Zellen bilden die Anlagen des Bindegewebes und der Muskelemente des Regenerates. Ein anderer Teil der Zellen der erwähnten Anhäufung bleibt eine längere Zeit mit dem Ektoderm verbunden und bildet in der Masse, als sich die Kopfklappen differenzieren, paarige, kompakte Zellenanhäufungen, welche die Anlagen der Gehirnganglien und der Schlundkommissuren darstellen. Während die Zellen der Gehirnganglien längere Zeit eine mehr rundliche Gestalt aufweisen, werden die Zellen der Schlundkommissuren sehr bald zum grössten Teil verlängert, werden spindelförmig, bipolar und laufen an beiden Polen in feine Fasern aus.

Die Regeneration des Bauchmarkes steht in innigem Zusammenhange mit der Ausbildung eines Teiles des Muskelsystems, und zwar der longitudinalen Muskulatur der Körperwand. Am 5—6. Regenerationstage sieht man einen Zusammenhang zwischen dem Ektoderm der Wundfläche und dem hinteren Ende des durchschnittenen Bauchmarkes, und zwar erfolgt an dieser Stelle eine rege Zellvermehrung im Ektoderm, wobei die aus diesem letzteren heraustretenden Zellen in das alte Bauchmark hineindringen; viele dieser Zellen nehmen dabei eine spindelförmige, bipolare Gestalt an, indem sie sich in Nervenfasern verlängern. Im alten Bauchmarke habe ich niemals eine Zellvermehrung beobachtet; es ist aber möglich, dass Nervenfasern aus dem alten Bauchmarke in das Regenerat eindringen, wie ich es bei den *Enchytraeiden* konstatieren konnte. Wenn sich das

halbkugelförmige Analsegment differenziert hat, findet sich die erwähnte Proliferationsstelle des Ektoderms unmittelbar vor dem After und in der Masse, als der Regenerationskegel wächst, treten hier immer neue Zellen aus dem Ektoderm heraus, verschieben sich nach vorn und bedingen somit das Längswachstum des Bauchmarkes. Ausserdem treten aber in das sich auf diese Weise regenerierende Bauchmark noch viele neue Zellelemente hinein, und zwar vom Ektoderm der Ventralseite, längs des ganzen Regenerationskegels, segmentweise, entsprechend der Lage der künftigen Scheidewände (Septa) der Leibeshöhle.

An Querschnitten durch den Regenerationskegel von *Amphiglene* 23 bis 30 Tage nach der Operation sieht man, dass median an der Ventralseite die Bauchmarkanlage mit dem Ektoderm zusammenhängt und dass sie aus sehr regelmässig angeordneten, fast senkrecht zur Körperoberfläche gestellten Zellsäulen besteht. In der Mitte der Bauchmarkanlage sieht man sowohl bei *Amphiglene* wie auch bei *Nerine* eine Gruppe von sehr hohen, zylindrischen, basal etwas verbreiteten Zellen, die im Ektoderm liegen, mit ihren basalen Abschnitten zur Körperoberfläche reichen und an den inneren, etwas verengten Enden in eine Anzahl sich verästelnder Fortsätze übergehen, welche in die sich paarig anlegende „Punktsubstanz“, d. h. in das Neuropilem der Bauchmarkanlage hineindringen. Solche Zellen hat auch Eugen Schultz bei den von ihm untersuchten Formen gesehen und sie als „Neurogliazellen“ bezeichnet.

In innigem Zusammenhange mit der Bauchmarkanlage, namentlich aus den Ektodermportionen, die beiderseits in unmittelbarer Nachbarschaft dieser Anlage sich befinden, entstehen die longitudinalen Muskelfassern, und zwar so, dass in einem gewissen Stadium diese Muskelanlagen und die Bauchmarkanlage ein fast zusammenhängendes Ganzes bilden, obwohl von Anfang an eine Grenze zwischen beiden Bildungen durchführbar ist. Am 35. Regenerationstage sind schon beide Anlagen voneinander ganz getrennt.

Die longitudinale Muskulatur bildet bekanntlich zwei Paare bandförmiger Muskelmassen, die ventral und dorsal verlaufen. Es ist nun sehr interessant, dass in der hintersten Abteilung des Regenerationskegels unmittelbar an der Grenze der halbkugelförmigen Analsegmente von den erwähnten, im Zusammenhange mit dem Bauchmarke sich entwickelnden Anlagen der longitudinalen Ventralmuskulatur jederseits eine Zellengruppe sich abtrennt

und an die Dorsalseite übergeht, wo sie die Anlage der dorsalen, longitudinalen Muskelmassen bildet. Ich konnte diesen genetischen Zusammenhang sowohl bei *Ampiglene* wie auch bei *Nerine* (am 30. Tage nach der Operation) konstatieren und in dieser Hinsicht stimmen meine Beobachtungen mit denjenigen *Iwanows* überein, obwohl er die Entwicklung der ventralen Muskelmassen ganz falsch beschreibt.

Sehr interessant ist die Art und Weise der Entwicklung der longitudinalen bandförmigen Muskelmassen aus den betreffenden Zellenanlagen. Die Zellen vermehren sich sehr energisch und, wie es scheint, ausschliesslich auf mitotischem Wege. Sie verlängern sich dann und stellen sich mit der langen Achse senkrecht zur Körperwand, wobei der Kern dem proximalen Pole der Zelle sich nähert und endlich ganz polständig wird. Die Zelle wird seitlich komprimiert und bekommt einen proximalen, den Kern enthaltenden, dickeren, etwa birnförmigen Pol und einen dünnern, der distal gerichtet ist (also in der Richtung gegen die Körperwand). Dann wird der Kern birnförmig und ein Teil der Chromatinsubstanz sammelt sich an seinem verengten, distalen Pole, um hier einen keilförmigen, sich stark tingierenden Fortsatz zu bilden. Solche Zellen ordnen sich stellenweise in longitudinalen Reihen an und, indem die proximalen, birnförmigen, kernhaltigen Abschnitte dieser Zellen frei bleiben, verschmelzen die distalen Abschnitte in lange, plasmatische, seitlich komprimierte Bänder, in welchen dann die Muskelsubstanz zum Vorschein kommt. Andere Zellen verschmelzen nicht miteinander, sondern verlängern sich in der Richtung der langen Körperachse und, indem der Mutter-Kern sich vermehrt, bleiben die Tochter-Kerne am proximalen Rande der Zelle in birnförmigen Ausbuchtungen des Plasmas liegen, wo sie auch die erwähnten Chromatinfortsätze bekommen, während der distale, seitlich komprimierte Zellenabschnitt kernlos bleibt und in demselben die Muskelsubstanz erscheint. In den distalen seitlich komprimierten Zellenabschnitten erscheint peripher an den seitlichen Flächen die Muskelsubstanz, und zwar in Gestalt von zwei Lamellen, deren distale Ränder miteinander zusammenhängen, die proximalen dagegen frei bleiben. Beide Lamellen sind durch eine dünne Schicht Sarkoplasmas geschieden, welches zentral in dem Bande verläuft und mit dem Sarkoplasma der freien, birnförmigen Zellenabschnitte direkt zusammenhängt, wobei die erwähnten, keilförmigen Chromatinfortsätze der

Kerne tief in diese zentrale Sarkoplasmaschicht zwischen die beiden Lamellen hineindringen. Die lamellosen Anlagen der Muskelsubstanz erscheinen zuerst homogen; erst später zerfallen sie in viele parallel verlaufende Fibrillen und in eine interfibrilläre Substanz. Eine weitere Differenzierung besteht darin, dass sich die birnförmigen, distal gelegenen Zellabschnitte sehr stark in proximo-distaler Richtung verlängern, so dass dünne, plasmatische Fäden entstehen, die proximal mit den Kernen, von dünner Plasmaschicht umgeben, zusammenhängen, distal aber mit der bandförmigen Abteilung sich verbinden, in welcher sich, wie erwähnt, die kontraktile Substanz an den lateralen Flächen inzwischen ausgebildet hat. Wir haben es hier also nicht mit geschlossenen, röhrenförmigen Muskelfasern zu tun, sondern mit halbröhrenförmigen, im Querschnitte V-förmigen, die proximal offen sind, wo mit denselben das die Kerne enthaltende Sarkoplasma kommuniziert.

Was die Regeneration der zirkulären (Amphiglene) oder schief verlaufenden (Nerine) Körpermuskulatur anbetrifft, so kann ich in dieser Hinsicht meine früheren, an Enchytraeiden angestellten Beobachtungen bestätigen, und zwar insofern, als auch bei Polychaeten die betreffende Muskulatur sich nicht aus Zellen regeneriert, die aus dem Ektoderm heraustreten, wie dies z. B. bei der Neubildung der longitudinalen Muskulatur stattfindet, sondern *in situ* im Ektoderm selbst, in seiner tiefsten Schicht. In dieser Hinsicht war mein Vorgänger C. Michel der Wahrheit sehr nahe, indem er sagte: „Les fibres musculaires surtout transverses sont en connexion avec les cellules épidermiques.... leur dérivation ectodermique est plus manifeste“.

Die erwähnte, tiefere Epidermisschicht konnte ich besonders klar im Regenerationskegel der Nerine beobachten, und zwar sieht man hier unter der Schicht des hohen Zylinderepithels ovale Kerne in einer Plasmaschicht eingebettet und mit den langen Achsen parallel zur Körperoberfläche gerichtet; die Grenzen zwischen den einzelnen Zellen sind unsichtbar. In dieser Schicht entwickelt sich nun die zirkuläre Muskelfaseranlage des Regenerates.

Wir gehen endlich zur Regeneration des Coeloms und der Scheidewände (Septa) über. In sehr frühen Stadien treten aus dem regenerierten Ektoderm der Wundfläche viele Zellen heraus, die die Peritonealauskleidung der Leibeshöhle liefern; diese Zellen besitzen anfangs ein mesenchymatisches Aussehen, sind mit Fortsätzen ver-

sehen und stellenweise miteinander verbunden. Es bilden sich aus diesem Gewebe: 1) das parietale Blatt des Peritoneums, 2) das viscerale Blatt desselben, 3) die Mesenterien und 4) teilweise die Scheidewände (Septa) der Leibeshöhle. Im Hinterregenerate bleibt dieses Gewebe vor dem Analsegmente liegen und bildet an der Bauchseite, zu beiden Seiten des Darmes zwei Zellenstreifen, welche ich Mesodermstreifen nennen werde. Eine Proliferationstelle dieses Gewebes findet sich eine längere Zeit hindurch unmittelbar vor dem Analsegmente; indem sich dasselbe nach vorne verschiebt, unterliegt es zuerst im vordersten Abschnitte des Regenerates weiteren Differenzierungen ähnlich wie bei der ontogenetischen Entwicklung so dass, während vorne in den beiden Mesodermstreifen die Coelomhöhlungen und die Scheidewände zum Vorschein kommen, die hinteren Abteilungen derselben noch eine längere Zeit undifferenziert bleiben und zu beiden Seiten der jungen Bauchmarkanlage samt der Anlage der Longitudinalmuskulatur mit dem Ektoderm verbunden sind. Da die hauptsächlichliche Proliferationsstelle des erwähnten Gewebes unmittelbar vor dem Analsegmente sich befindet, rückt dasselbe nach hinten in dem Masse, als neues Zellmaterial für die Mesodermstreifen hinzutritt und der ganze Regenerationskegel wächst; das Analsegment ist also das erste sich differenzierende Segment des Regenerates und es kann allen anderen Segmenten gegenübergestellt werden, von welchen sich die unmittelbar dem alten Körperteile anliegenden Segmente zuerst und die folgenden sukzessive erst später differenzieren. Die Art und Weise der Differenzierung einzelner Segmente und der entsprechenden Dissepimente werde ich in der ausführlichen Arbeit näher beschreiben. Im vorderen Regenerate ist die Aufeinanderfolge der sich differenzierenden, einzelnen Segmente (in innigem Zusammenhange mit der Ausbildung eines Gewebes von ektodermalem Ursprunge, welches den Mesodermstreifen des Hinteregenerates entspricht) eine ganz analoge; das Kopfsegment ist hier das erste sich differenzierende Segment, und die jüngsten, am wenigsten differenzierten Segmente des Körpers folgen unmittelbar hinter dem Kopfsegmente, wo die hauptsächlichliche Proliferationstelle für das erwähnte Gewebe sich befindet.

Die alten mesodermalen Gewebe spielen eine sehr untergeordnete Rolle bei der Regeneration derjenigen neuen Gewebe, welche der Kategorie der Mesodermgebilde angehören, z. B. der Muskeln und der Peritonealbildungen. Das alte Peritoneum beteiligt sich nur

wenig an der Bildung des neuen und was die alte Muskulatur anbelangt, so konnte ich konstatieren, dass nur ein kleiner Teil der longitudinalen Muskelfasern des Kopfregenerates vom Sarkoplasma der alten Fasern sich regeneriert.

Die Frage über die Regeneration der Kiemen, der Blutgefässe und mancher anderen Organe sowie einige theoretische Erwägungen werden in der ausführlichen, mit vielen Abbildungen versehenen, demnächst zu erscheinenden Arbeit besprochen werden.

-
39. MM. L. BYKOWSKI et J. NUSBAUM m. c. **Przyczynki do morfologii ryby pasożytniczej kostnoszkieletowej Fierasfer Cuv. (Beiträge zur Morphologie des parasitischen Knochenfisches Fierasfer Cuv.). Contributions à la morphologie du téléostéen parasite Fierasfer Cuv.).**

(Planche XI).

I. Die Schwimmblase mit besonderer Berücksichtigung der Gasdrüse derselben.

Während meiner Studien an der Zoolog. Station zu Neapel im Winter 1904 habe ich eine grössere Anzahl von Exemplaren des in Holothuriern temporär parasitierenden Fisches Fierasfer (*F. acus* Kaup. und *F. dentatus* Cuv.) von verschiedenem Alter konserviert, und zwar zum Zwecke einer näheren Untersuchung mancher Bauverhältnisse, welche in der bekannten Monographie von Prof. C. Emery (Fauna und Flora des Golfes von Neapel. II. Monographie. Fierasfer, 1880) eine nicht genügende Bearbeitung gefunden haben. Ausserdem hat mir Prof. B. Grassi in Rom eine sehr schöne Sammlung von älteren und jüngeren Exemplaren dieser Fische (in Formalin konserviert) in liebenswürdigster Weise zur Bearbeitung überlassen, welche er hauptsächlich in der Umgebung von Messina gefischt hatte. Im Besitze eines so reichlichen und ziemlich seltenen Materials (was besonders die Art *F. dentatus* anbelangt) konnte ich, und zwar unter Mitwirkung meines Schülers, des Herrn L. Bykowski in mancher Hinsicht die Beobachtungen Emerys ergänzen. Ich beginne mit der Schwimmblase.

Die äussere Form der ansehnlichen Schwimmblase beider Arten hat Emery in genügender Weise beschrieben; was aber den histologischen Bau der Schwimmblasenwand anbelangt, so kann ich in vielen Punkten die Beschreibung Emerys vervollständigen.

Von unten und zum kleinen Teil seitwärts ist die Schwimmblase vom Peritoneum bedeckt, welches hier reich an Pigmentzellen ist. In der Wand der Blase selbst unterscheiden wir: 1) eine äussere, grobfaserige, bindegewebige Membran, 2) eine darunter liegende dünne, derbe elastische Membran, 3) eine innere feinfaserige, lamellöse, bindegewebige Membran, 4) eine das Lumen der Blase auskleidende Epithelschicht.

Die sehr dicke äussere Membran enthält sehr dicht nebeneinanderliegende, grobfaserige Bündel, die mehr oder weniger wellig verlaufen. Sie bilden verschiedenartige Schichten. An manchen Stellen verlaufen fast alle Bündel parallel zur Längsachse der Blase; an anderen bilden die zirkulär verlaufenden Faserbündel eine äussere Lage, die longitudinalen eine innere, wieder an anderen besteht im Gegenteil die innere Lage aus zirkulär verlaufenden Bündeln. An denjenigen Stellen, wo die Wand der Blase besonders dick ist, und zwar hauptsächlich in der hinteren Abteilung derselben, verlaufen die Bündel so, dass die longitudinalen zwei Schichten bilden, eine äussere und eine innere, die zirkulären dagegen eine mächtige mittlere Lage bilden, welche hier und da sehr scharf von den longitudinalen sich abgrenzt, so dass zuweilen ansehnliche Schlitzze zwischen denselben hervortreten. Zwischen den Fasern liegen sehr viele Zellen, und zwar äusserst lange, spindelförmige, gewöhnlich mit stäbchenförmigen oder länglich ovalen Kernen, welche reich an Chromatinkörnchen sind. Emery bezeichnet alle Fasern dieser Membran als elastische. Das ist aber nicht richtig. Die Fasern bestehen aus einer kollagenen Substanz; bei der Tinktion mit Hämatoxylin-Eosin oder mit der Van Giessonschen Flüssigkeit nehmen sie eine intensive rötliche Färbung an. Erst die Färbung mit Weigertschem Fuchsin-Resorcin überzeugt uns, dass ausser diesen Fasern noch einzelne, feine, an manchen Stellen reichlich vorhandene elastische Fasern in dieser Membran sich befinden. Nach innen von dieser Bindegewebsschicht folgt eine sehr derbe, obwohl dünne Membran, welche aus sehr dicht sich durchflechtenden, dicken, elastischen Fasern besteht, die zum grössten Teil zirkulär, aber auch teilweise longitudinal und schief verlaufen, sich vielfach verästeln und netzartig sich verbinden; in dieser Membran findet man zwischen den Fasern viele spindelförmige Zellen mit stark verlängerten, stäbchenförmigen Kernen.

Nach innen von dieser Membran folgt die innere bindegewebige

Schichte, welche einen sehr eigentümlichen Bau aufweist. Sie besteht aus vielen, parallel, wellenförmig in longitudinaler Richtung verlaufenden, sehr dünnen und feinen Fäserchen, die stark lichtbrechend und etwas opalisierend sind und aus einer ganz eigentümlichen Substanz bestehen; sie färben sich weder mit Orcein oder Fuchsin-Resorein (sind also nicht elastischer Natur), noch mit denjenigen Farbmitteln, welche die grobfaserigen, typisch kollagenen Elemente der äusseren Membran intensiv tingieren; sie bleiben immer äusserst schwach gefärbt; mit Haematoxylin-Eosin tingierten sie sich schwach bläulich, mit Eisen-Haematoxylin, kombiniert mit Nachfärbung mit Rubin S, färben sie sich hell-bläulich, an Präparaten, die nach der Van Giessonschen Methode tingiert waren, erscheinen sie entweder ganz ungefärbt oder nehmen eine schwache rötlich-bläuliche Farbe an. Die Fäserchen sind so verteilt, dass sie einige lamellöse Schichten bilden, die sehr locker miteinander verbunden sind; zwischen den Fäserchen liegen viele Zellen, welche stark verlängert, an den Enden zugespitzt, spindelförmig sind und den Fäserchen parallel verlaufen. Sie bestehen aus einem fein granulierten Plasma und enthalten längliche, oft stäbchenförmige Kerne mit vielen sich intensiv tingierenden Chromatinkörnchen. Ausserdem findet man in diesem Gewebe viele Leukozyten. An manchen Stellen, besonders aber in der vordersten Abteilung der Blase ist dieses Bindegewebe sehr stark entwickelt. Es ist noch zu bemerken, dass in der Nachbarschaft des hinteren Gefässorgans das lamellöse Bindegewebe in ein gewöhnliches, lockeres fibrilläres Gewebe sich umwandelt, was schon Emery richtig beobachtet hat. In demselben verlaufen die Gefässe der Blasenwand, wobei in der nächsten Umgebung der Gefässe viele Zellenanhäufungen zu sehen sind. Wie die Färbungen nach der Weigertschen Methode uns gezeigt haben, befinden sich auch in diesem zarten Gewebe hier und da feine elastische Fasern, besonders aber kommen sie reichlich in der Nachbarschaft der Gefässe vor. Die innere, also zum Blasenlumen gerichtete Oberfläche dieser Schicht ist von einer Lage platter, polygonaler Epithelzellen mit ansehnlichen Kernen bedeckt.

Wir gehen jetzt zur Beschreibung eines wichtigen Organs der Schwimmblase über, nämlich zur Beschreibung des „roten Körpers“ („organo rosso“, „organo vascolare“ C. Emerys) und des innig

mit ihm zusammenhängenden Epithelkörpers oder der „Gasdrüse“ (Jäger).

An zwei Stellen der Schwimmblasenwand sind die Blutgefäße besonders stark entwickelt, indem sie hier die Gefässorgane bilden. Eine dieser Stellen befindet sich in dem mittleren Abschnitte der Schwimmblase, an der ventralen Wand derselben, die andere im hintersten, blind geschlossenen Teile des hinteren Abschnittes (diese Abschnitte entstehen in der Blase dadurch, dass an zwei Stellen die Blasenwand verengt ist und somit in drei Räume oder Kammern, die miteinander in offener Kommunikation stehen, geteilt wird). Die Lage des vorderen Gefässorganes entspricht ganz genau der Lage desselben bei manchen anderen Knochenfischen, wo es von Corning (1888), von Vincent et Barnes (1896) und von A. Jäger (1903) untersucht worden ist, das hintere entspricht wohl dem dorsal bei diesen Fischen gelegenen Gefässorgan, welches Corning als „Oval“ bezeichnet hat. Wir müssen uns vorstellen, dass das beim Fierasfer am hinteren, blinden Ende der Blase gelegene Organ, bei anderen Knochenfischen mehr nach der Rückenseite verschoben wird.

Beide Gefässorgane, wie es Emery richtig beobachtete, erhalten ihr Blut von einem Aste der A. coeliaca, indem dieser Ast auf der Höhe des vorderen Gefässorganes zusammen mit der Vene die Schwimmblasenwand durchbohrt und sich hier in zwei Äste teilt, in einen vorderen, der sich zum vorderen Gefässorgane richtet und in einen hinteren, viel längeren, der längs der Mittellinie der Blasenwand nach hinten sich hinzieht, bis er das hintere Gefässorgan erreicht.

Das vordere Gefässorgan, wie es Emery richtig beschrieben hat und was ich bestätigen kann, besteht aus einem arteriellen und venösen Wundernetze, von welchem die Blutgefäße des diskoidalen, in das Lumen der Blase hineinragenden Epithelorgans den Anfang nehmen. Den Bau dieses Wundernetzes beschreibt Emery folgendermassen: die Arterie teilt sich momentan in sehr zarte Ästchen, welche parallel nach vorne verlaufen, das vordere Ende des Gefässorgans erreichen und hier sich wieder vereinigen, indem sie kleine Stämme bilden; einen ähnlichen Verlauf zeigen die Venen, aber in entgegengesetzter Richtung, indem sie sich hinten zu einem einzigen venösen Stamm verbinden, welcher durch dieselbe Öffnung die Schwimmblase verlässt, durch welche die Arterie hineintritt. Meine

Beobachtungen bestätigen diese Anordnungsweise der genannten Gefässe.

Es ist nun die Frage zu beantworten, in welcher Schicht der Blasenwand dieses Wundernetz liegt? Wir wissen, dass zwischen dem das Lumen der Schwimmblase auskleidenden Epithel und der äusseren, grobfaserigen Bindegewebsschicht samt der elastischen Membran eine Lage von feinfaserigem, blättrigen Bindegewebe vorhanden ist, welche die Blutgefässe führt. Da das Epithel nach innen vom Wundernetze eine mächtige, solide, mehrschichtige Lage, d. h. den Epithelkörper (Gasdrüse) bildet, möchte man meinen, dass das Wundernetz in dem unterliegenden, blättrigen Gewebe seine Lage hat. Es ist aber anders; dieses Gewebe liegt hier unter dem Wundernetze, wo es eine äusserst dünne Lage bildet, das Wundernetz bildet dagegen eine selbständige, mächtige Lage, eine Art Blutgefässgewebes, wie man es nennen könnte. Die Gefässe des arteriellen und die des venösen Wundernetzes sind durch keine Spalten und durch kein interstitielles Gewebe voneinander geschieden; unmittelbar zwischen den benachbarten arteriellen Gefässen verlaufen die venösen und hängen mit diesen direkt zusammen, so dass sich ein kontinuierliches, spongiöses Blutgefässgewebe bildet.

Ein sehr interessantes Bild zeigt ein Querschnitt (Fig. 1) durch das betreffende Wundernetz einer älteren Larve von *Fierasfer dentatus* von circa demselben Alter, wie diejenige, welche Emery in Fig. 4, Tafel I seiner Monographie dargestellt hat. Wir erblicken hier ein Netz, welches aus zusammenhängenden arteriellen und venösen Kapillaren besteht, und zwar sind die ersteren mit etwas dickeren, die letzteren mit dünneren Wänden versehen. Beide Gefässarten liegen mehr oder weniger reihenartig angeordnet, so dass sie auf einem Querschnitte durch das ganze Wundernetz 8 bis 10 Reihen bilden, eine unter der andern, wobei in jeder Reihe arterielle und venöse Gefässe intermittierend liegen und gewöhnlich gegenüber je einem arteriellen Gefässe ein venöses in der unmittelbar benachbarten, oberen und unteren Reihe zum Vorschein kommt; nicht immer ist jedoch diese Anordnung so regulär.

Die Wände der nebeneinander parallel verlaufenden Gefässe, sowohl der arteriellen wie auch der venösen, hängen so innig zusammen, dass zwischen denselben die Grenze nur in Gestalt eines sehr dünnen Konturs erscheint, stellenweise aber ganz verwischt ist. Die Wand eines jeden Gefässes besteht aus einer Plasmaschicht,

in welcher ovale oder rundliche Kerne eingebettet liegen, was besonders klar in den dickeren, arteriellen Gefässen zu sehen ist. Wegen des Mangels an ganz frischem Material konnte ich mich nicht überzeugen (durch die Silbernitratmethode), ob zwischen den Zellen Kittlinien existieren; es scheint mir aber, dass die Gefässwände nur aus einer kontinuierlichen Plasmaschicht mit Kernen, also aus einer Art Syncytium bestehen. Im Lichte der Gefässe sind zahlreiche Blutkörperchen vorhanden.

Es ist jedenfalls vom histologischen Standpunkte interessant, dass wir es hier mit einem ansehnlichen Gebilde zu tun haben, welches einzig und allein aus vielen zusammenhängenden Blutgefässen besteht, ich möchte sagen, aus einem „Blutgefässgewebe“ zusammengesetzt ist.

Bei ausgewachsenen Exemplaren von *Fierasfer acus* besteht das Rete mirabile aus einer grossen Anzahl von in gleicher Weise direkt miteinander zusammenhängenden Kapilargefässen, die ebenfalls ganz parallel verlaufen und an Querschnitten durch das ganze Gebilde ein höchst interessantes Netz von miteinander verbundenen und die rundlich-polygonalen Lumina begrenzenden Gefässwänden darstellt. Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir bei der dem *Fierasfer* sehr nahestehenden Form *Ophidium barbatum*, bei welcher im mittleren Teile der Bauchwand der Schwimmblase ebenfalls ein Rete mirabile existiert, mit dem ein Epithelorgan zusammenhängt. An einem Querschnitte (Fig. 2) zeigen hier die Gefässe ein kontinuierliches, zusammenhängendes Plasmanetz mit darin eingebetteten Kernen; dasselbe ist im Längschnitte in Fig. 3 dargestellt. Auf den Querschnitten unterscheiden wir bei *Ophidium* grössere und kleinere Gefässlumina, wobei ein jedes grössere Gefäss von einer Anzahl kleinerer Gefässe umgeben ist. Die grösseren, dünnwandigeren stellen venöse, die kleineren, dickwandigeren, arterielle Gefässe dar. Ganz ähnliche Bilder finden wir beim ausgewachsenen *Fierasfer*, nur ist hier die Differenz zwischen den venösen und arteriellen Gefässen eine nicht so klare und stellenweise kann man der Grösse nach beide Gefässarten gar nicht voneinander unterscheiden.

Von dem beschriebenen Wundernetzorgane, und zwar von dem vorderen Ende desselben entspringen in radiärer Richtung zahlreiche arterielle und venöse Gefässe und dringen in das Epithelorgan (Gasdrüse) hinein, wo sie in feinste Kapillaren übergehen, die zwischen den Epithelzellen verlaufen.

Das Epithelorgan oder die Gasdrüse stellt beim Fierasfer ein rundliches Schildchen dar, welches in das Lumen der Schwimmblase hineinragt und in seiner Mitte das Vorderende des Wundernetzorganes besitzt, wovon, wie erwähnt, die Gefässe für das Schildchen entspringen. Die vordere Hälfte des Schildchens liegt also ausserhalb des Wundernetzes, vor demselben, direkt auf dem lamellos-fibrillären, opalisierenden Gewebe der Blasenwand, die hintere Hälfte dagegen ruht zum Teil direkt auf dem Wundernetzorgane, zum Teil aber, und zwar lateral, gleicherweise auf dem erwähnten Gewebe.

Emery gibt eine Abbildung der injizierten Gefässe des Epithelorganes (Gasdrüse) und beschreibt die allgemeine Anordnung der grösseren Gefässstämmchen desselben, was ich vollkommen bestätigen kann, folgendermassen: „Die Arterien sind enger und an Präparaten, wo nur diese injiziert sind, sehen sie aus, als hätten sie Kapillarschleifen gebildet, von welchen die Venen den Anfang nehmen; viele breiteren Venen verbinden sich in Bögen, in welche noch feine Venen sich ergiessen, die von den mehr vom Zentrum entfernten Kapillaren stammen“. Die Figg. 71 bis 74 in der Monographie Emerys veranschaulichen gut die etwas zu knappe Beschreibung. Was nun den Bau des Epithelorganes anbelangt, so gibt zwar der italienische Forscher eine detaillierte Beschreibung desselben, aber vom histologischen Standpunkte ist diese sehr ungenügend.

Ich werde zuerst das Epithelorgan einer älteren Larve von *F. dentatus* beschreiben (dieselbe entspricht dem Alter nach derjenigen Larve, welche Emery in Fig. 4 abgebildet hat). Das Organ ist ein schildförmiges Gebilde, dessen Ränder dünn sind und allmählich in das das Lumen der Blase auskleidende, einschichtige Plattenepithel übergehen; in der Mitte ist das Organ am dicksten und besteht hier aus sehr grossen, polygonalen Epithelzellen, die in zwei oder drei Schichten angeordnet sind, während am Rande das Epithel einschichtig und allmählich ganz platt wird.

Die Epithelzellen sind auf den Querschnitten grösstenteils unregelmässig pylogonal; die längste Achse der grössten Zellen beträgt circa 65μ , die kleineren Zellen, besonders die dem Rande des Epithelorgans naheliegenden, haben $5-6 \mu$ lange Achsen und zwischen diesen maximalen und minimalen Grössen weisen die verschiedenen anderen Zellen alle möglichen Übergänge auf. Die Kerne sind verhältnismässig gross (manche erreichen 10 bis 12μ

Länge), sind rundlich oder oval, bläschenförmig, mit grossem, kugeligem Nucleolus und verhältnismässig mit nicht reichlich entwickelten Chromatinkörnchen versehen, welche gewöhnlich unter der Kernmembran und um das Kernkörperchen am meisten angehäuft sind. In manchen Zellen sind zwei Kerne vorhanden.

Sehr interessant ist das Verhältnis der Blutgefässe zu den Epithelzellen. Die von dem unter dem Epithelorgane sich befindenden Wundernetze entspringenden Blutgefässe dringen in sehr grosser Anzahl zwischen die Epithelzellen hinein; die etwas grösseren arteriellen Stämmchen dringen in radiärer Richtung in das Organ ein und in derselben Richtung kehren die venösen Stämmchen aus dem Organe in das Wundernetz zurück; die Kapillaren sieht man aber in allen möglichen Richtungen zwischen den Epithelzellen verlaufen. Immer fand ich in der endothelialen Wand selbst der feinsten Gefässe Kerne, während Emery an seinen betreffenden Figuren kernlose Gefässwände darstellt. Es ist nun höchst interessant, dass die Kapillargefässe nicht nur zwischen den benachbarten Epithelzellen verlaufen, sondern auch in die Zellen selbst an vielen Stellen hineindringen, und zwar oft so tief, dass das blinde Ende des Gefässes fast bis zum Zellenkerne reicht. Dieses Eindringen hat Emery nicht beobachtet. Sehr interessant ist auch die charakteristische Streifung des Protoplasmas rings um die Blutgefässe, was Emery zwar mit paar Worten erwähnt, aber weder näher beschreibt noch deutlich abbildet; ich kehre darauf unten zurück.

Beim Eindringen des Gefässes in eine Epithelzelle beobachtet man immer, dass dasselbe blind im Plasma endet und sackförmig erweitert wird, wobei das Gefässlumen ausserhalb der Zelle sehr oft stark verengt erscheint; die Bedeutung dieser Tatsache wird unten näher besprochen werden. Solche eingedrungenen Gefässe sehen wir z. B. in Fig. 4, 6, 7. Man könnte annehmen, dass es sich hier nur um intercelluläre Gefässe handelt, die passiv buchtenartige Vertiefungen in den benachbarten Zellen hervorrufen. Solche Vertiefungen existieren wirklich an vielen Orten, aber die Tatsachen, dass: 1. das Blutgefäss oft fast bis zum Kerne der grossen Zelle reicht, wie es z. B. die Fig. 4 zeigt (in Fig. 6 ist der Kern nicht dargestellt, da er erst am folgenden Schnitte zu Gesicht kommt) und dass 2. das Gefäss sich gewöhnlich im Inneren der Zelle sackförmig oder blasenförmig erweitert (Fig. 6), beweisen, dass wir es hier wirklich mit dem Eindringen der Blutgefässe in das Zellen-

plasma zu tun haben. Die Gefässe bilden zwar niemals Schlingen, welche die Zellen durchdringen, sondern stellen nur, so zu sagen, blind endigende Ausstülpungen der intercellulären Gefässe in das Innere des Zellenplasmas dar; jedenfalls aber haben wir es hier wirklich mit einem Gefässeindringen zu tun, wobei man sehr schön im Plasma der kolossalen Epithelzellen die kleinen Endothelelemente der Gefässwand und Blutkörperchen (Fig. 4, 6) im Lichte des Gefässes sieht, was, so weit es mir bekannt ist, noch niemals, wenigstens so unzweideutig, in den Epithelzellen überhaupt beobachtet worden ist.

Eine weitere, äusserst interessante histologische Tatsache ist das erwähnte Verhalten des umgebenden Plasmas rings um die Gefässe, und zwar zeigt das direkt anliegende Plasma sowohl dann, wenn das Gefäss intercellular verläuft, wie auch im Falle eines intracellulären Verlaufes desselben, ausnahmslos eine sehr deutliche radiäre Körnchenstreifung; es bildet sich um die endotheliale Gefässwand ein dicker Saum (bis zu 7, 5 μ Dicke), der aus regulär und sehr dicht angeordneten und gegen das Gefäss zentrierten Körnchenreihen besteht; an manchen Orten geht der Saum in eine sehr feine radiäre Streifung auch im übrigen Teile des Zellenplasmas über, die fast bis zur Peripherie der Zelle reicht (Fig. 7).

Bei ganz ausgewachsenen Exemplaren von *Fierasfer acus*, bei welchen das Epithelorgan in der Mitte, wo es mit dem Wundernetzorgane innig zusammenhängt, aus 5 bis 8 Zellschichten besteht und am Rande wie auch in der nächsten Nachbarschaft der inneren Oberfläche viel kleinere Zellen als an anderen Stellen enthält, kann man folgende interessante Veränderungen beobachten. Was zunächst die Zellen selbst anbelangt, so unterliegt in vielen derselben der Kern einer Schrumpfung, verliert das Kernkörperchen, bekommt an der Peripherie eine Anzahl Fortsätze und zerfällt dann in einige Stücke von unregelmässiger Gestalt, welche immer blasser werden und endlich in Körnchen zerfallen, die vollkommen in dem immer blasser und vakuolenreicher werdenden Zellplasma zu Grunde gehen.

Die beschriebenen Veränderungen habe ich nur bei solchen Individuen gesehen, bei welchen das Epithelorgan oder die Gasdrüse in voller Tätigkeit war, d. h. gasförmige Ausscheidungen in grossem Masse produzierte.

Alfred Jäger (Die Physiol. u. Morphol. der Schwimmblase der Fische. Pflügers Archiv f. die gesamte Physiol. 1903) hat bei dem Tiefseefisch *Sciaena aquila* die Gasausscheidung in der Gasdrüse der Schwimmblase untersucht; er hält das Gas für Sauerstoff. Jäger sah in der Drüse Hohlräume, gewöhnlich in Gestalt von etwas in die Länge gezogenen Ballons, welche blasige Auftreibungen von präformierten Gängen darstellen, von zartem Epithel begrenzt, sehr den Blutkapillaren ähnlich sind, intercellulär verlaufen und sich hier und da in das Lumen der Schwimmblase öffnen. Die Genese dieser Hohlräume ist ihm jedoch unbekannt geblieben; er hält sie für Gasreservoirs, von welchen das hier gebildete Gas in das Lumen der Schwimmblase hineindringt. Jäger sah keine Gasblasen im Inneren der Epithelzellen. Auf Grund meiner Untersuchungen an Fierasfer habe ich mich überzeugt, dass ein Teil der Gasblaschen in den Drüsenzellen selbst entsteht, ein anderer in einer Weise, die der von Jäger beschriebenen ähnlich ist, zustande kommt.

Was die Entstehung der Gasblaschen im Plasma der Drüsenzellen anbelangt, so kann ich folgendes mitteilen. In der Nähe des Kernes erfolgt in vielen Zellen eine lokale Plasmenverdichtung (Fig. 8), welche sich intensiver als der Rest des Plasmas färbt. Im Zentrum dieser verdichteten Plasmakugeln erscheint bald ein helles Feld, welches sich allmählich vergrößert; das Plasma wird hier immer blasser, netzförmig (alveolär) und mit feinen Körnchen versehen, während die umgebende Mantelschicht dünner, aber dichter wird und endlich sich in eine membranartige, feine, aber resistente Hülle verwandelt. Der Inhalt sammelt sich dann in Gestalt einer sehr feinen Körnchenmasse direkt unter der Hülle, während das Lumen der so gebildeten, kugelförmigen Bläschen ganz inhaltslos wird und in Präparaten vollkommen leer erscheint, woraus ich den Schluss ziehe, dass die Bläschen sich mit Gas füllen. Ähnliche Verhältnisse beobachtete ich bei *Ophidium barbatum* (Fig. 9). Die obige Annahme stützt sich auf folgende Erwägungen: 1. sollten die Bläschen irgendwelche seröse, schleimige oder andersartige Flüssigkeit enthalten, so würde sich bei Anwendung verschiedenartiger Farbstoffe (Thionin, Mucikarmin, Haematoxylin-Eosin u. A.) irgend etwas im Lumen der Bläschen mitfärben; sie erscheinen aber ganz leer, 2. erscheinen die Wandungen der Bläschen, welche sehr regulär kugelförmig sind, so prall, als unterlägen sie einem

starken Drucke von Innen her, was bei Anwesenheit eines gasförmigen Inhaltes ganz verständlich wäre.

Man findet grössere und kleinere derartige Bläschen im Plasma der Epithelzellen (vergl. die Fig. 7, 9, 10). Was die mikrochemische Natur der homogenen Wandungen dieser Bläschen anbelangt, so ist dieselbe schwer zu bestimmen; bei Färbungen mit Mucikarmin oder mit Thionin blieben sie ganz ungefärbt, mit Eosin färben sie sich schwach rötlich und an Präparaten, welche nach der Van Giessonschen Methode gefärbt worden sind, haben sie eine gelbliche Farbe angenommen. Bei Individuen, bei welchen die Drüse augenscheinlich in voller Tätigkeit war, waren an manchen Stellen die Bläschen so zahlreich, dass zwischen den Blutgefässwandungen und den noch unveränderten Zellplasmapartien der direkt anliegenden Zellen, dort, wo in früheren Stadien der streifige Saum sich befand, die Bläschen in grosser Anzahl nebeneinander angehäuft waren und durch den gegenseitigen Druck hier und da rundlich polygonal erschienen (Fig. 13, H). An manchen Stellen, besonders nahe der inneren, dem Schwimmblasenlumen zugekehrten Oberfläche der Drüse war bei solchen Individuen fast das ganze Plasma der Epithelzellen mit solchen Bläschen ausgefüllt, welche schon fast frei nebeneinander lagen, wobei der Kern der Zelle in Körnchen zerfallen war. Ein Teil solcher Bläschen befand sich auch im Lumen der Schwimmblase (Fig. 14) in der nächsten Nachbarschaft der Drüse, wobei manche derselben ganz prall waren, andere wie geborsten erschienen, mit vielen Faltungen in der Hülle, unter welcher feine Körnchen — Residua des plasmatischen Inhaltes — sich befanden. Alle diese Tatsachen führen mich zu dem sehr wahrscheinlichen Schlusse, dass wir es mit Gasbläschen zu tun haben, welche den gasförmigen Inhalt der Schwimmblase abgeben. Das Gas befindet sich in den Zellen unter einem hohen Drucke, der durch das Vorhandensein einer zwar dünnen, aber resistenten Hülle bedingt ist, und eben infolge dieser Druckdifferenz zwischen dem Gasinhalte der Bläschen und demjenigen der Schwimmblase kann es in das Schwimmblasenlumen übergehen. Einen damit verknüpften Gedanken hat Jäger ausgesprochen, indem er sagt: „Der rote Körper stellt eine Sauerstoffdrüse dar, die die Aufgabe hat, den Sauerstoff zu verdichten und ihn nach dem Binnenraume der Schwimmblase überzuführen, entgegen einem weitaus höheren absoluten Partialdruck dieses Gases“.

Die Gasproduktion der Drüse erfolgt auch auf einem anderen Wege, welcher an diejenigen Verhältnisse erinnert, welche Jäger bei *Sciaena* beschrieben hat. Er hat nämlich Gänge und Hohlräume (Blasen) zwischen den Epithelzellen der Drüse gesehen, die in das Lumen der Schwimmblase sich öffnen. Er hat zwar weder einen direkten genetischen Zusammenhang zwischen diesen Höhlen und den Blutkapillaren gesehen, noch sich in dem Sinne ausgesprochen, dass vielleicht diese Hohlräume Produkte der blind geschlossenen Gefässabschnitte sind, er hat aber wahrscheinlich daran geglaubt, indem er einerseits sich äusserte: „Die Wandungen der Gänge gleichen so überaus den Wänden der Blutkapillaren, dass es schwer zu entscheiden ist, was Gang, was Blutgefäss ist“, andererseits aber beobachtete er, dass in den Blutkapillaren der Gasdrüse rote Blutkörperchen (infolge eines besonderen toxischen Einflusses der Epithelzellen) in grossem Masse zu Grunde gehen, wobei er an einer seiner Abbildungen einen in das Schwimmblasenlumen sich öffnenden Gang darstellt, in welchem augenscheinlich die Zerfallsprodukte der Blutkörperchen sich befinden!

Nun kann ich mit aller Bestimmtheit sagen, dass beim *Fierasfer acus* diese Hohlräume, wenn nicht alle, so wenigstens sehr viele derselben, den Blutkapillaren ihre Entstehung verdanken. Wir haben oben gesagt, dass an manchen Stellen die Gefässwandungen sehr verengt sind, und zwar am meisten vor den blasenförmigen Auftreibungen der Gefässe sowohl in den Zellen wie auch zwischen den benachbarten Zellen der Drüse; an solchen Stellen legen sich die Wandungen der Kapillaren ganz dicht aneinander und trennen somit die mehr peripheren Partien der Gefässe von den mehr zentral liegenden ab, so dass in den ersteren die Blutzirkulation ganz aufgehoben wird. Solche Bilder sehen wir z. B. in Fig. 4, 6, 7, 10. Die abgetrennten Gefässabschnitte sind sackförmig aufgetrieben und liegen entweder intercellulär oder intracellulär. An den verengten Stellen verschwindet bald der streifige Saum um die Gefässe; etwas später verschwindet auch der Saum um die abgegrenzten, blind geschlossenen, blasigen oder sackförmigen Gefässabschnitte. In diesen letzteren fallen dann die Endothelzellen in das Lumen hinein und unterliegen hier einer Degeneration; gleicherweise zerfallen auch die Blutkörperchen, welche im Lumen der Auftreibung vorhanden waren, und zwar sehr wahrscheinlich infolge eines toxischen Einflusses der Drüsenzellen, wie es Jäger in seinem Falle

angenommen hat, wofür die erwähnte Zentrierung der Plasmakörnchen um die Gefäße spricht, welche auf Vorhandensein gewisser Diffusionsströmungen im Plasmaleibe der umgebenden Drüsenzellen hinweist. Den Zerfall der Blutkörperchen habe ich genau studiert. Der Kern tritt aus den Erythrocyten heraus (Fig. 12), indem er oft eine längere Zeit am Pole des Erythrocyten haften bleibt; die freigewordenen Kerne zerfallen dann in Körnchen, das Plasma der kernlosen Blutkörperchen wird immer blasser und vakuolenreicher und verliert seine charakteristische Tinktionsfähigkeit (z. B. mit Eosin). Endlich verschwinden die Erythrocyten und es bleibt nur eine körnige Masse übrig (Fig. 7. *H.* links), welche der homogenen, dünnen Wand des Sackes oder der Blase als eine dünne Schicht eine gewisse Zeit anliegt; später wird auch diese unsichtbar und die Auftreibungen stellen sich an Schnitten als ganz leere Ballons dar (Fig. 10 *H.*), indem sie sehr wahrscheinlich mit gasförmigem Inhalte sich füllen. Sehr interessant ist die Fig. 5, da an derselben verschiedene Übergangsstadien zu sehen sind, und zwar sehen wir in *H* einen Hohlraum, der noch sehr an ein Gefäß erinnert, namentlich ist er von einem plasmatischen Saume umgeben wie die Blutgefäße und enthält Produkte des Blutkörperchenzerfalls, in *H'* ist schon der Raum nur teilweise von einem solchen Saume umgeben, wobei in demselben die radiäre Körnchenanordnung nicht zu Gesicht kommt. In *H''* ist ein Raum dargestellt, der vom plasmatischen Saume nicht mehr umgeben ist; auch hier findet man viele, sich sehr schwach tingierende Körnchen als Produkte des Zerfalls der Blutkörperchen. Die Ballons eröffnen sich hier und da in enge, ebenfalls leere Gänge, die intercellulär verlaufen (Fig. 10, *H'*) und, was höchst wichtig ist, an manchen Stellen in das Lumen der Schwimmblase zwischen den Epithelzellen sich öffnen, wie dies z. B. in Fig. 11, *g* zu sehen ist. Diese Gänge kann man als Ausführungsgänge der Drüse bezeichnen; in dieselben gelangt sehr wahrscheinlich teilweise auch der Inhalt der intracellulären Bläschen.

In manchen intercellulären oder intracellulären Räumen sieht man eine besondere, homogene oder feinkörnige Masse (Fig. 7, *H* rechts) im Zentrum liegen, die sich mit Eosin rötlich tingiert und auch Kernreste enthält. Ich meine, dass diese Massen denjenigen entsprechen, welche Jäger in der Gasdrüse bei *Sciaena* als „flockige Massen“ bezeichnet, und sie als Produkte der unter dem Einflusse der Drüsenzellen zu Grunde gegangenen Leukocyten-

anhäufungen angesehen hat. Beim Fierasfer sind aber überhaupt solche Massenanhäufungen in viel geringerer Anzahl entwickelt. Meiner Meinung nach sind es ebenso temporäre Zerfallsprodukte der Blutkörperchen in den blasenförmig sich umgestaltenden Gefäßabschnitten. Übrigens ist mir dieser Punkt noch unklar geblieben.

Ich muss endlich noch eine interessante histologische Tatsache erwähnen. An Präparaten, die in Formalin gehärtet worden sind, habe ich beim ausgewachsenen Fierasfer *acus* im Plasma der Epithelzellen der Gasdrüse viele gruppenweise liegende, sich mit Haematoxylin und besonders intensiv mit Eisenhaematoxylin färbende Filamente beobachtet, wie es in Fig. 10 zu sehen ist. Das ist deshalb interessant, weil in den letzten Zeiten auch in manchen anderen Drüsenzellen, z. B. in den Pankreaszellen (Mathews) und Milchdrüsenzellen (Limon) u. s. w. ganz ähnliche faserige Elemente beschrieben worden sind. An Präparaten, welche in Sublimat mit Essigsäure fixiert worden sind, habe ich solche Filamente nicht gesehen.

Von der vorderen Wand der Schwimmblase entspringen zwei starke Muskeln, welche nach vorn ziehen und sich seitlich an dem Parasphenoid, direkt hinter dem Bulbus oculi befestigen. Diese Muskeln haben bei Fierasfer *acus* eine sehr interessante Struktur, auf welche Emery seine Aufmerksamkeit gelenkt hat. Er beobachtete richtig, dass die beiden Muskeln in ihrem Verlaufe gewissermassen spiralförmig gewunden und an ihren Vorderenden nach innen gebogen sind, und ausserdem, dass die Fibrillenbündel der einzelnen Muskelfasern alle zusammen in jeder Muskelfaser wie Fasern eines Strickes spiralförmig gewunden sind. Eine solche Struktur ist sowohl an frischem wie auch an konserviertem Materiale ausnahmslos sichtbar, weshalb Emery ganz richtig bemerkt, dass diese eigentümlichen Verhältnisse „non può dipendere da torsione accidentale“.

Nun kann ich in einigen, nicht unwesentlichen Punkten diese interessanten Beobachtungen vervollständigen. Der Muskel besteht aus Fasern von sehr verschiedener Dicke, von 5 μ bis 20 μ im Durchmesser (bei einem jungen Exemplare von *F. acus*). Während nun in den dünneren Fasern die einzelnen Fibrillen, ohne distinkte Bündeln zu bilden, mehr oder weniger gleichmässig im Sarkoplasma verteilt sind, bilden sie in den dickeren Fasern sehr distinkte durch helles Sarkoplasma voneinander geschiedene Bündel, welche so an-

geordnet sind, dass sie auf einem Querschnitte durch die Faser ein schön spiralförmig gewundenes Band bilden, in welchem die einzelnen Bündel reihenartig nebeneinander stehen, wobei in jedem Fibrillenbündel die einzelnen Fibrillen in einigen regulären Querreihen angeordnet erscheinen (Fig. 16). Die Kerne befinden sich nur in der peripherischen Schicht des Sarkoplasmas einer jeden Faser. Im Zentrum der Faser tingiert sich auf Querschnitten ein Gebilde stärker, welches auf den ersten Blick für einen Kern angesehen werden könnte, es ist aber lediglich ein zentrales Fibrillenbündel, in welchem die Fibrillen sehr dicht angehäuft sind und eine etwas differente Tinktionsfähigkeit aufweisen; sie färben sich z. B. besonders stark mit Eisenhaematoxylin. Während nun alle anderen Fibrillenbündel der Faser wie die Drähte eines Kabels alle zusammen spiralförmig gewunden sind, verläuft das zentrale, axiale Bündel ganz gerade. (Fig. 15, r).

Jeder der beiden vorderen Schwimmblasenmuskeln ist bei jungen Exemplaren von einer dünnen bindegewebigen Hülle locker umgeben, unter welcher ein ansehnlicher Lymphraum sich befindet. Die Hülle befestigt sich einerseits (von unten) an der Niere, anderseits ganz vorne an dem Basisoccipitale und Petrosum, welche hier sehr stark ventralwärts ausgebuchtet erscheinen und sehr dünn in denjenigen Abschnitten sind, wo sie das Gehörlabyrinth umgeben. Die eigentümliche Struktur der erwähnten äusserst kräftigen Muskeln lässt mich annehmen, dass bei der Kontraktion derselben starke Erschütterungen der benachbarten Teile zustande kommen und dass sehr wahrscheinlich die Muskeln eine ähnliche Rolle spielen, wie die Weberschen Gehörknöchelchen, welche sich an der Verbindung der Schwimmblase mit den das Gehörorgan umgebenden Teilen bei vielen Knochenfischen beteiligen.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Querschnitt durch einen Teil des Wundernetzorganes aus dem roten Körper der Schwimmblase eines jugendlichen *Fierasfer dentatus* a — arterielle, v — venöse Gefässe. (Oc. 4. S. Homog. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss, Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 2. Querschnitt durch einen Teil des Wundernetzorganes aus dem roten Körper der Schwimmblase von *Ophidium barbatum*; a — arterielle, v — venöse Gefässe. (Oc. 4. S. Homog. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss, Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 3. Dasselbe im Längsschnitte. (Dieselbe Vergrößerung).

Fig. 4—7. Querschnitte durch die kleinen Abschnitte der Gasdrüse aus der Schwimmblase des jugendlichen *Fierasfer dentatus*. C. g. — Kapillarblutgefässe,

S — Saum im Plasma der Drüsenzellen, *n* — Kerne der Drüsenzellen, *H*, *H'*, *H''* — Hohlräume im Inneren oder zwischen den Drüsenzellen, *B* — Blutkörperchen. (Oc. 4. S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss., Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 8. Ein Teil eines Sagittalschnittes durch die Gasdrüse aus der Schwimmblase eines erwachsenen *Fierasfer acus*; *A* — verdichtete Plasmaanhäufung, *C. g.* — Kapillarblutgefäße. (Oc. 4. S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 9. Ein Teil eines Querschnittes durch die Gasdrüse aus der Schwimmblase von *Ophidium barbatum*. (Oc. 4. S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat n. Zeiss). Bezeichnungen wie in Fig. 4—7.

Fig. 10. Ein Teil eines Querschnittes durch die Gasdrüse aus der Schwimmblase von *Fierasfer acus*; ein in Formalin fixiertes Präparat (alle anderen hier abgebildeten Präparate waren in Sublimat mit 5% Eisessig fixiert); *C. g.* — Kapillarblutgefäße, *n* — Kerne der Drüsenzellen, *H* — Hohlraum im Innern einer Drüsenzelle, *H'* — intercelluläre Gänge (Oc. 4. S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 11. Ein Teil des Querschnittes aus demselben Präparate, aus der dem Schwimmblasenlumen zugekehrten Drüsenpartie; *g* — ein in das Schwimmblasenlumen führender Gang (Oc. 4, S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 12. Blutkörperchen im Degenerationszustande in einem abgetrennten Blutgefäßabschnitte, aus der Gasdrüse v. *Fierasfer acus*. (Oc. 4 S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat n. Zeiss).

Fig. 13. Ein Teil eines Querschnittes durch das Drüsenorgan aus der Schwimmblase von *Fierasfer acus*; *C. g.* — Kapillarblutgefäß, *n* — degenerierende Zellenkerne, *H* — bläschenförmige Hohlräume. (Oc. 2. S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat n. Zeiss).

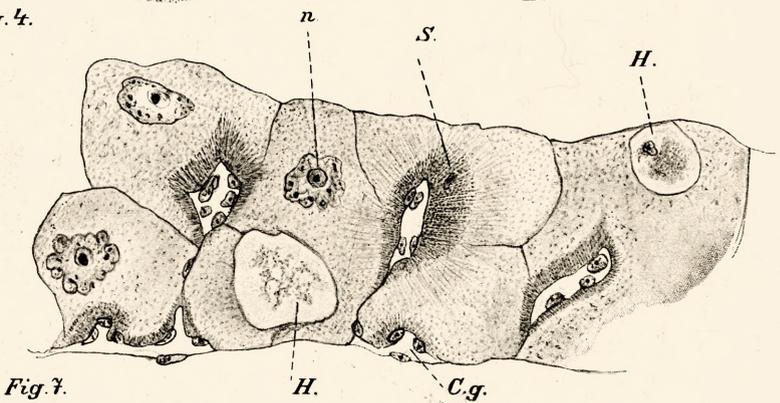
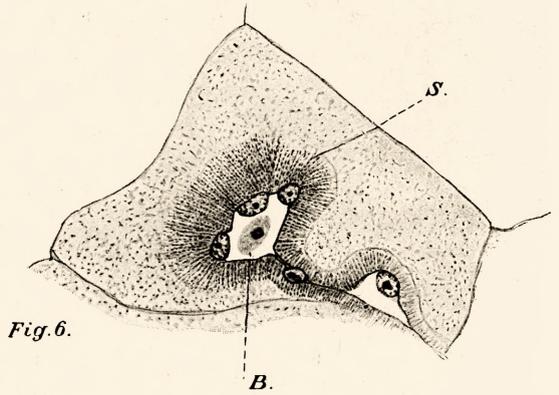
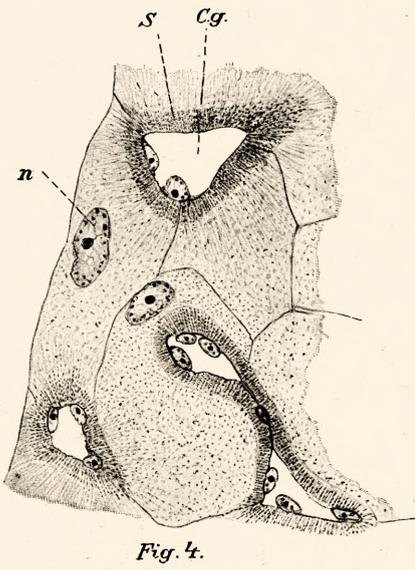
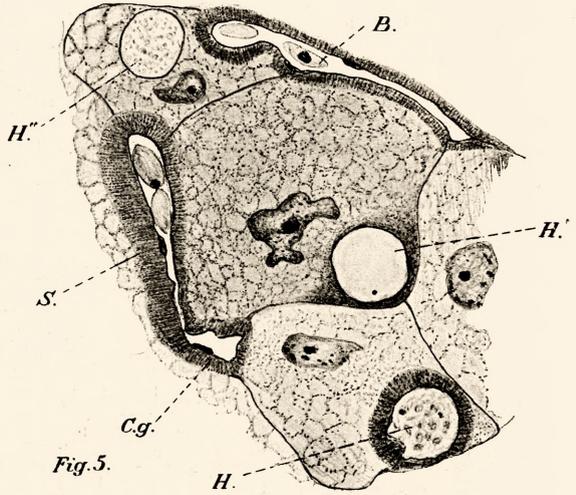
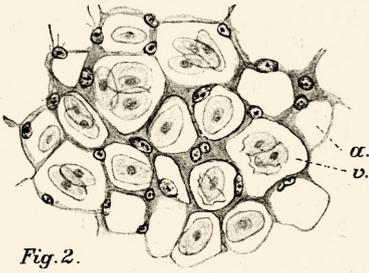
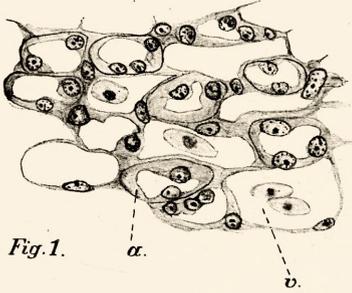
Fig. 14. Einige Gasbläschen mit den feinen Hüllen aus dem Schwimmblasenlumen von *Fierasfer acus*. (Oc. 4. S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenapparat v. Zeiss).

Fig. 15. Ein Teil einer dicken Muskelfaser aus dem vorderen Schwimmblasenmuskel von *Fierasfer acus*, *s* — spiralförmig verlaufende Fibrillenbündel, *r* — ein mittleres nicht spiral verlaufendes Fibrillenbündel, *p* — äussere Sarkoplasmaschicht mit Kernen. (Oc. 4. S. E. Zeichenprisma v. Zeiss).

Fig. 16. Querschnitte durch einige Muskelfasern aus dem vorderen Schwimmblasenmuskel eines jungen *Fierasfer acus*. Die Bezeichnung der Buchstaben wie in Fig. 15. (Oc. 4 S. Hom. Imm. $\frac{1}{12}$ Zeiss; Zeichenprisma n. Zeiss). Eisenhaematoxylinpräparat.

-
40. M. W. GĄDZIKIEWICZ. O histologicznej budowie serca u dziesięcionogich skorupiaków. (*Über den histologischen Bau des Herzens bei den dekapoden Crustaceen*). (*Sur la structure histologique du coeur chez les Crustacés décapodes*). Mémoire présenté par M. C. Kostanecki m. t.

Die folgende Arbeit ist eine Fortsetzung meiner früheren Arbeit: „Über den feineren Bau des Herzens bei Malakostraken“, in welcher ich die Dekapoden nicht berücksichtigt hatte.



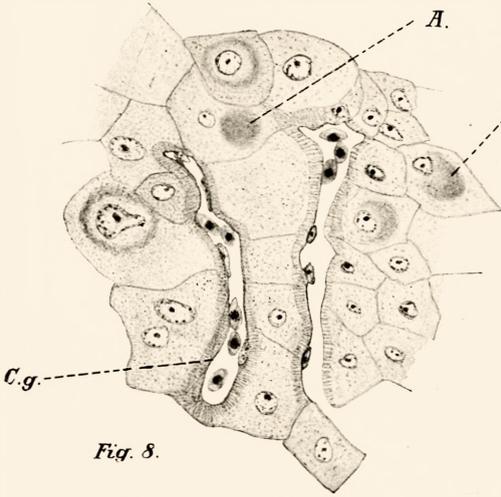


Fig. 8.

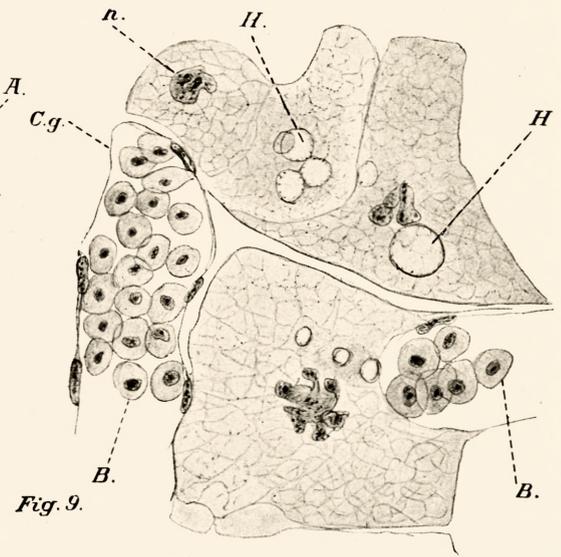


Fig. 9.

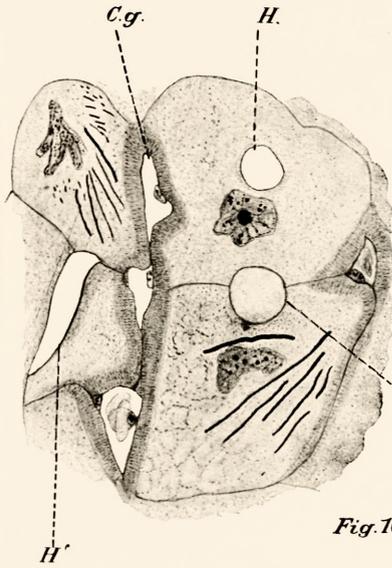


Fig. 10.

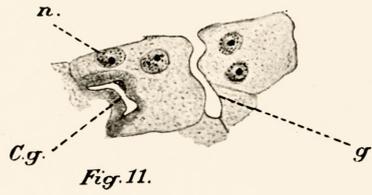


Fig. 11.



Fig. 12.



Fig. 14.

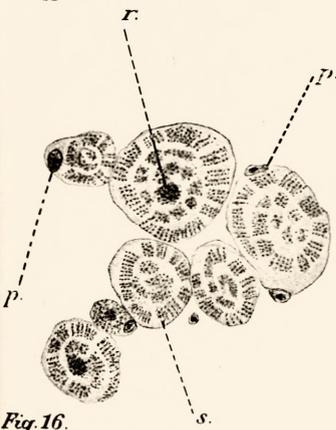


Fig. 16.

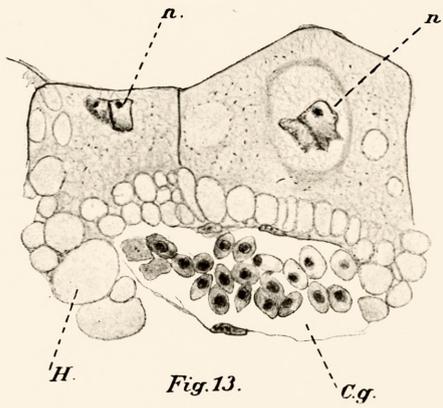


Fig. 13.

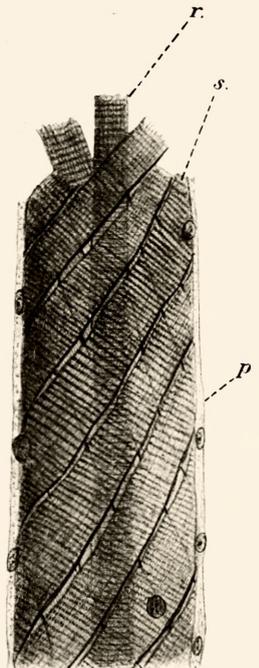


Fig. 15.



Im Vergleich zu der Literatur über die histolog. Struktur des Herzens der niederen Malakostraken, ist die über die Dekapoden ziemlich reichhaltig, doch bezieht sie sich nur auf das Astacusherz. Über dasselbe haben geschrieben: Haeckel, Lemoine, Dogiel, Plateau, Dezsö, Bergh, Stecka u. a. m. Da die Arbeit der zuletzt genannten Verfasserin sich speziell mit denselben Fragen beschäftigt wie die meinige, will ich den Inhalt derselben hier kurz referieren um so mehr, als sie in polnischer Sprache geschrieben ist.

Steckas Ansicht nach ist die äussere Hülle (Adventitia) des Herzens aus blasenförmigen Bindegewebszellen aufgebaut und von aussen mit einer Schicht platter Zellen (Endothelium) bedeckt, deren Vorhandensein jedoch nicht immer festzustellen war. Die Adventitia geht nach Stecka in das Bindegewebe der inneren Schicht (Muscularis) über; weshalb dieselbe nicht mit B. Dezsö einverstanden ist, nach welchem das Pericard eine besondere Hülle bildet, die einfach der Muskulatur des Herzens anliegt. Die reich entwickelte quergestreifte Muscularis bilden selbständige verästelte Fasern mit wellenförmigem Verlauf. Entgegen der Ansicht Dogiels besitzen die Fasern besondere Kerne, welche sich sehr von den Kernen des Bindegewebes unterscheiden. An manchen Stellen des Herzens sind die Fasern sternförmig angeordnet und glänzende Fasern wahrscheinlich elastischer Natur, die das Zentrum eines solchen Sternes bilden. Nach der Beschreibung der Topographie der Muskelfasern schildert Stecka das Bindegewebe, welches sich in der Muskelschicht findet. Das Protoplasma dieser Zellen ist nach Stecka von kompakterer Konsistenz und die Fasern einer Zelle vereinigen sich mit solchen anderer. Diese Zellen besitzen selbständige Kerne. Im weiteren betont Stecka, dass diese Zellen nicht mit Nervenzellen zu verwechseln sind. Am Ende des histologischen Teils macht sie darauf aufmerksam, dass ein inneres Endothel überhaupt fehlt, sagt dagegen: „an den Stellen, wo die Muskelfasern nicht in demselben Niveau liegen, macht ein kleiner Teil des Bindegewebes, welcher zwischen und um die Fasern ausgebreitet ist, den Eindruck einer dünnen Membran und die Kerne derselben gehören zum Teil zu dieser Substanz und zum Teil zu den Fasern. An den Stellen, wo die Fasern nicht in einem Niveau liegen und wo die Fläche des Lumens nicht glatt ist, ist keine innere Grenze

zu sehen und das Herzlumen setzt sich direkt in Lücken zwischen den Muskeln fort, welche mit Blut ausgefüllt sind“.

Zur Untersuchung habe ich drei Formen gewählt: *Palaemon*, *Pachygrapsus* und *Astacus*. Mehrere Exemplare der ersten beiden habe ich aus Triest bekommen.

Aus chloroformierten Tieren herauspräparierte Herzen habe ich in Sublimat (mit oder ohne Eisessigsäure) oder in Carnoys Flüssigkeit (Alk. abs 60 cm³, Chloroform 30 cm³, Acid. acet. gl. 10 cm³) fixiert. Zur Färbung habe ich hauptsächlich Eisenhämatoxylin oder Safranin gebraucht, unter Nachfärbung mit Erythrosin resp. Pikrinsäure.

Das Herz der Dekapoden besteht wie das anderer Malakostraken aus zwei Schichten; einer inneren Muscularis und einer äusseren Adventitia (viscerales Pericard sive Epicard).

Wie wir schon bei niederen Malakostraken gesehen haben, ist die Adventitia sehr verschieden gebaut (siehe meine frühere Arbeit), sie ist bei *Nebalia* aus grossen Zellen mit grossen Kernen gebildet, bei anderen Formen aus kleineren Zellen mit viel kleineren Kernen; sie ist bei den einen Formen mächtig bei anderen schwach entwickelt. Von einem Übergang der Adventitia ins Myocard sieht man keine Spur.

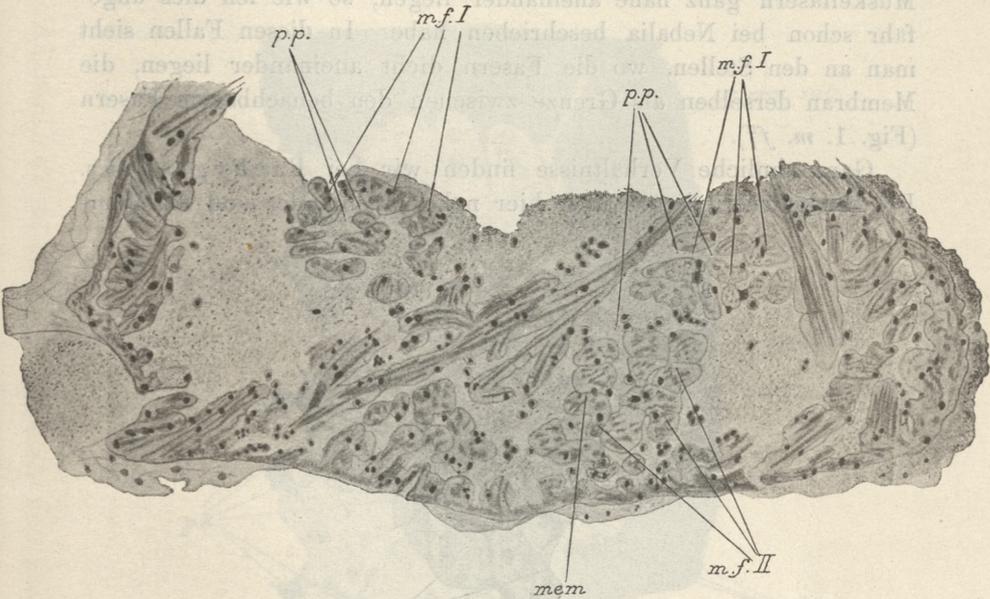
Die Adventitia ist bei Dekapoden viel mächtiger entwickelt, sie besteht aus blasenförmigen Zellen, welche in vielen Reihen angeordnet sind; wie schon *Stecka* bemerkt hat, machen diese Zellen den Eindruck eines mehrschichtigen Epithels. Bei *Astacus* und *Pachygrapsus* war diese Schicht mächtig, bei *Palaemon* sehr schwach entwickelt.

Wir sehen also, dass die Adventitia des Herzens der Malakostraken auch bei verwandten Gruppen so verschiedenartig gebaut ist, dass man sie unmöglich durch ein gemeinsames Schema darstellen kann.

Der Bau der zweiten inneren Schicht des Herzens, also des Myocards der Dekapoden erscheint im ersten Augenblick ziemlich kompliziert.

Wenn wir aber den Bau des Herzens bei niederen Malakostraken berücksichtigen, können wir Übergangsstadien zwischen den Dekapoden und den niederen Formen nachweisen.

Stellen wir uns nämlich vor, dass die Muskelfasern nicht so wie bei *Squilla* in einer oder zwei Schichten liegen und dass sie nicht in einer Richtung verlaufen wie bei niederen Malakostriken, sondern in verschiedenen Richtungen, so bekommen wir



c. f. — kontraktile Fibrille der Muskelfasern.

mem. — die die protoplasmatische Substanz der Muskelfasern umhüllende Membran.

m. f. I — Muskelfasern, welche ganz getrennt voneinander verlaufen.

m. f. II — Muskelfasern, welche benachbarten mit ihrer Membran anliegen.

p. k. — freie Räume (Löcher) zwischen Muskelfasern, mit Blut gefüllt.

p. p. — freie Räume ohne Blut.

prot. sub. — protoplasmatische Substanz der Muskelfasern.

v. k. — mit der protoplasmatischen Substanz der Muskelfasern verschmolzene Blutkörperchen.

z. k. — zerfallende Blutkörperchen resp. Blutkörperchenkerne.

Fig. 1.

Querschnitt durch den unteren Teil des Herzens bei *Palaemon*. 1×100 .

ähnliche Verhältnisse wie bei *Palaemon*. Unter den von mir untersuchten drei Dekapoden-Representanten ist die Muskulatur des Herzens bei *Palaemon* am einfachsten gebaut.

Die Muskelfasern verlaufen bei *Palaemon* gewöhnlich ge-

trennt von einander, (Fig. 1. *m. f'*.) und die freien Räume zwischen denselben sind gewöhnlich mit Blut erfüllt. An anderen Stellen liegen die Muskelfasern näher aneinander, so dass die freien Räume zwischen ihnen viel kleiner sind (Fig. 1. *p. p.*); auch können die Muskelfasern ganz nahe aneinander liegen, so wie ich dies ungefähr schon bei *Nebalia* beschrieben habe. In diesen Fällen sieht man an den Stellen, wo die Fasern dicht aneinander liegen, die Membran derselben als Grenze zwischen den benachbarten Fasern (Fig. 1. *m. f''*).

Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir bei *Pachygrapsus*. Die Muskelfasern liegen aber hier näher aneinander und die Mem-

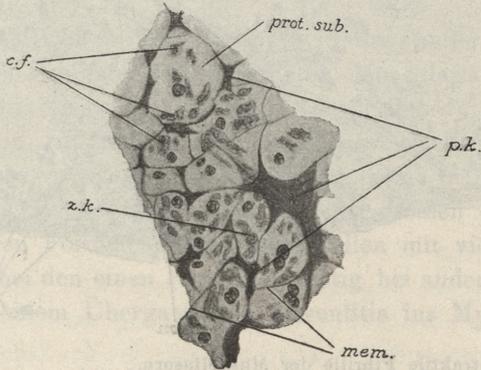


Fig. 2.

Querschnitt durch einen Teil der Muscularis bei *Pachygrapsus*. 1×200 .

branen derselben berühren sich; an vielen Stellen findet man zwischen den Membranen freie Räume, welche gewöhnlich mit Blut gefüllt sind (Fig. 2. *p. k.*). In Fig. 2. sind diese mit Blut gefüllten Räume schwarz dargestellt. In Fig. 4. sehen wir einzelne Muskelfasern bei *Palaemon* mit allen Bestandteilen im Längsschnitt. Fig. 5. zeigt einen ähnlichen Längsschnitt von *Pachygrapsus*, wo die Muskelfasern näher aneinander liegen. Wir sehen also bei Dekapoden die Tendenz zur Annäherung der Fasern sich geltend machen.

Bei *Astacus* liegen die Muskelfasern viel näher aneinander, die Membran einzelner Fasern kann fast ganz verschwinden, so dass sich die Grenze zwischen denselben ganz oder fast ganz ver-

wischt. Die Membran stellt sich hier hauptsächlich als ein netzartiges, im ganzen Myocard sichtbares Gebilde dar (Fig. 3. mem). An sehr vielen Stellen sehen wir bei *Astacus* kleine mit Blut erfüllte Lücken, welche den gleichen Gebilden bei *Pachygrap-*

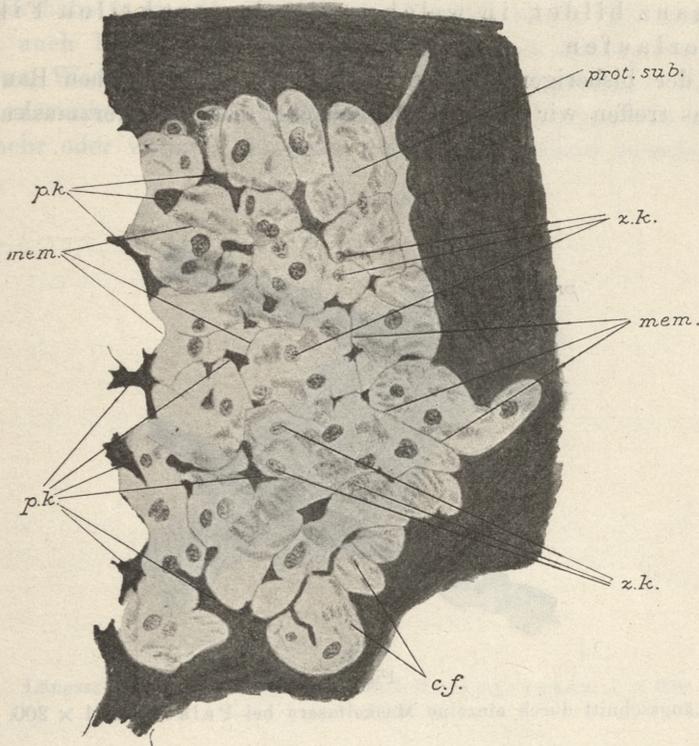


Fig. 3.

Querschnitt durch einen Teil der Muscularis bei *Astacus*. 1×300 .

sus und den freien Räumen bei *Palaemon* entsprechen. Von der Begrenzung solcher Lückenstrahlen gehen bei *Astacus* immer die netzartig sich ausbreitenden Reste der Membran der einzelnen Muskelfasern aus.

Wenn wir einen Querschnitt durch die Muskulatur des Herzens bei *Astacus* (Fig. 3.) mit einem solchen bei *Pachygrapsus* (Fig. 2.) und bei *Palaemon* (Fig. 1. *m. f''*.) vergleichen, kommen wir unbedingt zu dem Schlusse, dass wir es hier mit homologen

Teilen zu tun haben. Wir ersehen aus einer solchen Vergleichung, dass die Muskulatur des Herzens sich phylogenetisch (und vielleicht auch ontogenetisch?) aus einzelnen Muskelfasern bildet, deren protoplasmatische Substanz sich vereinigt hat und so eine allgemeine protoplasmatische Substanz bildet, in welcher alle kontraktile Fibrillen verlaufen.

In der bisherigen Literatur über den histologischen Bau des Herzens treffen wir niemals die Ansicht, dass die Herzmuskulatur

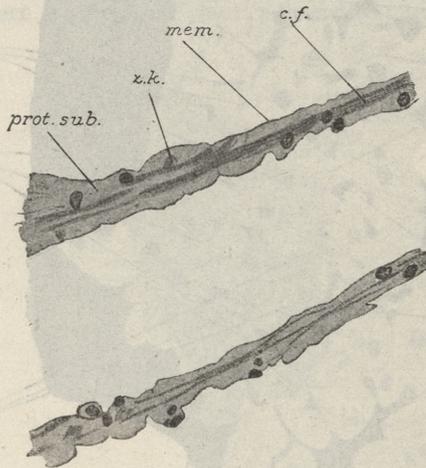


Fig. 4.

Längsschnitt durch einzelne Muskelfasern bei Palaemon. 1×200 .

bei *Astacus* aus einzelnen Muskelfasern im eigentlichen Sinne bestehe, der Grund hierfür ist wohl der, dass bisher immer nur *Astacus* untersucht wurde. Man muss unbedingt die anderen Formen herbeiziehen, um bestimmen zu können, was gerade bei *Astacus* eine Muskelfaser ist.

In der neuesten Arbeit über die histologische Struktur des Herzens bei *Astacus* von Steckla finden wir die Behauptung, dass sich in der Muscularis Bindegewebe findet und dasselbe eine Fortsetzung der äusseren Herzhülle (Adventitia) darstellt.

Bei sämtlichen Malakostraken (inkl. Dekapoden), welche ich untersucht habe, habe ich niemals irgendwo ein Übergehen der Adven-

titia in die Herzmuscularis beobachtet. Diese Behauptung Steckas scheint mir daher nicht genügend begründet; ich stimme in diesem Punkte mit B. Dezsö überein, welcher behauptet, dass die Adventitia (visc. Pericard) der Herzmuskulatur aufliegt und eine selbständige Hülle bildet.

Ich habe in der Muskulatur des Herzens weder bei Dekapoden noch auch bei niederen Malakostraken jemals Bindegewebe beobachtet. Was hielt nun aber Stecka für Bindegewebe? Die protoplasmatische Substanz der Muskelfasern im Herzen von *Astacus* ist mehr oder weniger zu einer einheitlichen Masse verschmolzen.

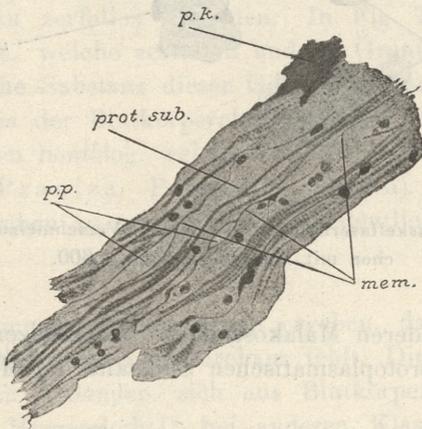


Fig. 5.

Längsschnitt durch Muskelfasern bei *Pachygrapsus*. 1×200 .

In derselben sind Stellen, welche ziemlich granuliert aussehen; es ist sehr leicht möglich, solche granulierten Stellen für Bindegewebe zu halten. In diesen Fehler kann man verfallen, wenn man zufällig nur Schnitte durch die protoplasmatische Substanz der Muskelfasern vor Augen hat, während die kontraktile Fibrillen zu diesen Fasern auf anderen Schnitten liegen.

Andere interessante Beobachtungen Steckas, z. B. die topographische Lagerung der kontraktile Substanz, die Anordnung der Muskulatur in Sternform an manchen Stellen, das Fehlen des „Herzendothels“ u. s. w. betreffend, kann ich völlig bestätigen und halte weitere Auseinandersetzungen hierüber für überflüssig.

Wie bei niederen Malakostraken nehmen auch bei Dekapoden

die Blutkörperchen Anteil am Aufbau des Myocards. Die Verhältnisse habe ich, soweit sie niedrigere Formen betreffen, ziemlich ausführlich in meiner früheren Arbeit beschrieben. Bei den Dekapoden

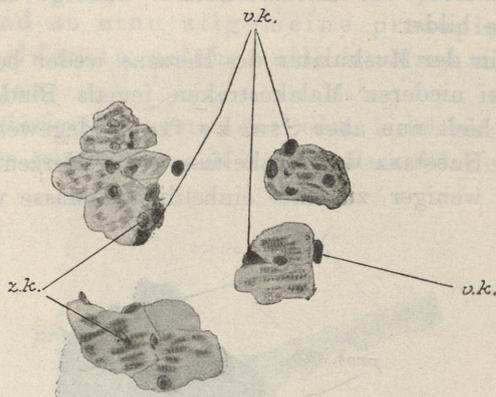


Fig. 6.

Querschnitt durch Muskelfasern bei Palaemon (Verschmelzung der Blutkörperchen mit Muskelfasern). 1×300 .

poden wie bei anderen Malakostraken verschmelzen viele Blutkörperchen mit der protoplasmatischen Substanz der Muskelfasern und



Fig. 7.

Gebilde im Inneren des Herzens bei Palaemon (sie sind aus Blutkörperchen aufgebaut). 1×300 .

gehen in derselben zu Grunde. Die Verschmelzung der Blutkörperchen mit der protoplasmatischen Substanz ist bei Palaemon deutlich zu sehen (Fig. 6).

Von der grossen Anzahl von Kernen, welche wir in der pro-

toplasmatischen Substanz der Muskelfasern bei Palaemon, Pachygrapsus und Astacus sehen, ist nur ein Teil Muskelkerne, andere, von denen viele in verschiedenen Zerfallsstadien sich befinden, (Fig. 3. z. k., 4. z. k., 6. z. k.) sind Blutkörperchen resp. Blutkörperchenkerne.

Im Innern des Herzens liegen bei Palaemon hie und da neben der protoplasmatischen Substanz der das innere Herzlumen abgrenzenden Muskelfasern Gebilde, in welchen eine grosse Zahl von Blutkörperchen resp. Blutkörperchenkernen in verschiedenen Stadien des Zerfalls sich finden. Diese Gebilde bestehen, anders ausgedrückt, aus verschmolzenen und veränderten Blutkörperchen, deren Kerne zu zerfallen beginnen. In Fig. 7. sehen wir viele derartige Kerne, welche zerfallen und in Granula übergehen; die protoplasmatische Substanz dieser Gebilde ist meiner Ansicht nach aus dem Plasma der Blutkörperchen gebildet und die ganzen Gebilde sind denen homolog, welche sich bei niederen Malakostraken finden (siehe Praniza, Porcellio, Cuma), wo der Übergang von Blutkörperchen zu solchen Gebilden deutlich zu sehen ist.

Diese und meine frühere Arbeit ergeben, dass ein „Herzendothel“ bei Malakostraken durchaus fehlt. Die Frage, ob die im Herzlumen sich findenden, sich aus Blutkörperchen aufbauenden Gebilde dem „Herzendothel“ bei anderen Klassen homolog sind, kann so lange nicht entschieden werden, bis die Genese des Herzendothels (ja auch der ganzen Gefässe!) bei diesen Klassen sicher festgestellt ist.

Aus meinen Beobachtungen ergibt sich, dass die Aufeinanderfolge der die Herzwand aufbauenden Schichten dieselbe ist, wie sie durch die Haemocoeltheorie meines hochverehrten Lehrers, Herrn Prof. Arnold Lang a priori zu erwarten ist. Nur die Intima ist nicht vorhanden. Die Intima wird aber meistens (so besonders auch von Bergh) lediglich als eine Verdickung der Membran der Muskelfasern (einer Art Sarkolemma) betrachtet, welche die Fasern gegen das Lumen abgrenzt. Demnach ist bei Malakostraken die dem Lumen zugekehrte Membran, welche die plasmatische Substanz der zu innerst liegenden Muskelfasern umgibt, der „Intima“ homolog.

Für die Haemocoeltheorie spricht im besonderen das Fehlen jeglichen Endothels.

Aus dem anatomischen Institut d. Jagellonischen Universität in Krakau.

Literatur.

1. Bergh. R. S. Beiträge zur vergleichenden Histologie. III Über die Gefäßwandung bei Arthropoden. Anatomische Hefte Bd. XIX Heft 2. 1902.
2. Dezsö B. Über das Herz des Flusskrebse. Zool. Anzeiger I Bd. 1878.
3. Dogiel J. Beitrag zur vergleich. Anatomie und Physiologie des Herzens. Arch. f. mikr. An. 1894.
4. Gądzikiewicz W. Über den feineren Bau des Herzens bei Malakostraken. Jenaische Zeitschrift für Naturwiss. Bd. XXXIX N. F. XXII 1904.
5. Haekel E. Über die Gewebe des Flusskrebse. Müller's Archiv für Anatomie 1857.
6. Lang A. Beiträge zu einer Trophocoeltheorie. Jenaische Zeitschrift. Bd. XXXVIII. N. F. Bd. XXXI.
7. Ortmann. Bronn's Classen und Ordnungen des Tierreiches. Malakostraken Bd. V Abt. II.
8. Schneider K. C. Lehrbuch der vergleich. Histologie 1902.
9. Stecka S. Przyczynek do anatomii serca raka rzecznego (*Astacus fluviatilis*). (Contributions à l'anatomie du coeur chez l'écrevisse) Kosmos XXVIII Lemberg 1903.

-
41. M. ADAM WRZOSEK. *Badania nad przechodzeniem mikrobow z krwi do zolci w warunkach prawidlowych. (Untersuchungen über den Durchgang von Mikroorganismen aus dem Blute in die Galle unter normalen Verhältnissen).* (*Recherches sur le passage des microbes du sang dans la bile dans les conditions normales*). Mémoire présenté par M. T. Browicz m. t.

Über die Frage, ob die im Blute zirkulierenden Mikroorganismen unter normalen Verhältnissen mit dem Urin, der Galle, dem Speichel, dem Schweiß und den Verdauungssäften ausgeschieden werden, ist schon vielfach verhandelt worden. Wiewohl aber die Lösung dieser Frage für die Pathologie der Infektionskrankheiten von höchster Bedeutung ist, so gehen doch die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen, besonders in Betreff der Ausscheidung der Mikroorganismen durch die Leber und die Nieren so sehr auseinander, dass aus denselben keine sicheren Schlussfolgerungen gezogen werden können. Die verschiedenen Anschauungen, welche

in Bezug auf diese Frage von zahlreichen Forschern an den Tag gelegt wurden, finden ihre Erklärung erstens in der unklaren Bestimmung der Bedingungen, unter welchen die Ausscheidung von Mikroorganismen aus dem Blute durch die genannten Organe als physiologisch zu betrachten ist und zweitens in der mangelhaften Kritik der Forschungsmethoden selbst.

Die vorliegende Arbeit verfolgt den Zweck, die Frage zu beleuchten, ob die Leber in normalem Zustande die im Blute zirkulierenden Mikroorganismen ausscheidet. Bevor ich aber zur Besprechung der Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen schreite, will ich den bisher angewandten Untersuchungsmethoden einige Bemerkungen widmen.

Zunächst muss bei solchen Untersuchungen womöglich genau bestimmt werden, unter welchen Umständen man berechtigt bzw. nicht berechtigt ist, die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die Leber als einen rein physiologischen Prozess zu betrachten. Meines Erachtens ist die Ausscheidung von Mikroorganismen aus dem Blute durch die Leber als physiologische Funktion zu betrachten, und zwar erstens, wenn die Ausscheidung bei vollkommen gesunden Tieren stattfindet; zweitens, wenn die ausscheidende Leber sowohl makroskopisch wie auch mikroskopisch keine Veränderungen zeigt; drittens, wenn die Ausscheidung *caeteris paribus* in jedem Falle stattfindet, weingstens in dem Falle, wenn eine beträchtliche Menge von Mikroorganismen sich im Blute befindet; viertens, wenn die Ausscheidung kurz nach der Einführung der Mikroorganismen ins Blut, nicht aber erst nach etlichen oder mehreren Stunden erfolgt. Benutzt man zu den Versuchszwecken virulente Mikroorganismen, wie dies die meisten Forscher getan haben, so muss die Galle so schnell als möglich untersucht werden, bevor im Organismus irgend welche Störungen eingetreten sind und bevor in der Leber etwaige anatomische Veränderungen zu erwarten sind. Demgemäss ist die Untersuchung der Galle von Tieren, bei welchen Krankheitserscheinungen bereits aufgetreten sind, sowie von Tieren, welche infolge der Infektion zugrunde gingen für die uns beschäftigende Frage gänzlich bedeutungslos. Denn der Umstand, dass die Mikroorganismen nicht sofort nach dem Einführen derselben ins Blut, sondern erst nach einiger Zeit mit der Galle ausgeschieden werden, spricht dafür, dass in der Leber gewisse Veränderungen eingetreten sind, welche bewirken, dass die

Leber, welche früher keine Mikroorganismen ausschied, jetzt diese Funktion ausübt. Die Ausscheidung der Mikroorganismen durch die Leber müsste sodann als eine Erscheinung betrachtet werden, welche auf irgend eine Störung dieses Organs hinweist.

Die Forscher, welche bisher die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die Leber untersucht haben, bedienten sich zweier Methoden. Die einen injizierten den Versuchstieren Mikroorganismen ins Blut, narkotisierten oder töteten die Tiere nach einer gewissen Zeit und nahmen zur bakteriologischen Untersuchung die Galle aus der Gallenblase mittels einer Pasteur'schen Pipette oder einer Spritze. Die anderen führten dem lebenden Versuchstiere eine Kanüle in den Ductus choledochus ein und nahmen die ausfließende Galle gleich zur bakteriologischen Untersuchung.

Erwägt man diese Methoden kritisch, so zeigen beide gewisse Mängel, und wenn auch die zweite den Schein der exakteren hat, so verdient sie doch nicht den Vorzug. Der Mangel der ersteren liegt zunächst darin, dass zur bakteriologischen Untersuchung nicht nur die Galle genommen wird, welche nach der Injektion der Mikroorganismen ins Blut aus der Leber ausgeschieden wird, sondern auch diejenige, welche schon früher in der Gallenblase vorhanden war. Ferner müssen die mit der Galle eventuell ausgeschiedenen Mikroorganismen durch die ganze Zeitdauer des Versuches in der Gallenblase verweilen und können, falls die Galle für sie baktericide Eigenschaften besitzt, zugrunde gehen, so dass wir dieselben trotz der stattgehabten Ausscheidung durch die Leber nicht mehr imstande sind nachzuweisen. Um dieser Möglichkeit vorzubeugen muss zuerst immer untersucht werden, ob die Galle nicht auf die zu injizierenden Mikroorganismen tötend einwirkt. Zwar machte sich in der letzteren Zeit die Überzeugung geltend, dass die Galle keine baktericide Wirkung hat, dass diese Eigenschaft nämlich nur den sauren Zersetzungsprodukten der Galle zukommt; doch muss dies mit Bezug auf einige Untersuchungen (Corrado, Cotton), als eine noch nicht erledigte Frage betrachtet werden. Endlich können bei dieser Methode beim Einstechen der Pipette oder der Hohnadel in die Gallenblase die Gefäße der Gallenblasenwand verletzt werden und infolgedessen kann etwas mikroorganismenhaltiges Blut in die Galle gelangen, so dass wir aus solcher Galle eine Kultur der in das Blut injizierten Mikroorganismen erhalten können, obwohl dieselben nicht mit der Galle ausgeschieden worden

sind. Diese Möglichkeit kann sogar bei grosser Geschicklichkeit nicht ganz ausgeschlossen werden, und müssen daher einige Procente der bei dieser Methode erzielten positiven Ergebnisse eben dieser Unvollkommenheit der Technik zugeschrieben werden. Wenn nun diese Methode keineswegs als vollkommen bezeichnet werden kann, so ist sie doch bei weitem besser als die andere, bei welcher die zu untersuchende Galle aus dem Ductus choledochus genommen wird. Ein Vorzug der letzteren Methode ist zwar, dass wir die Sicherheit haben, dass die aus dem Ductus choledochus ausfliessende Galle — nach vorheriger Unterbindung des Ductus cysticus — durch die Leber während des Versuches ausgeschieden worden ist; zwar kann hier auch die Zeit genau bestimmt werden, binnen welcher die ins Blut injizierten Mikroorganismen in der Galle erscheinen, was bei der ersten Methode nicht der Fall ist, dagegen können wir aber bei dieser Methode niemals die Sicherheit haben, ob nicht beim Einführen der Kanüle in den Ductus choledochus und bei der Unterbindung ein wenn auch sehr kleines Blutgefäss verletzt worden ist, wodurch mikroorganismenhaltiges Blut in die Galle gelangen konnte. Diese Möglichkeit ist bei dieser Methode um so grösser als bei der ersteren, als wir hier genötigt sind nicht blos den Ductus choledochus zu eröffnen, sondern auch die Kanüle in demselben mittels eines Fadens zu befestigen, wodurch eine Schädigung der Gefässe des Ductus choledochus sehr leicht hervorgerufen werden kann. Wir sind auch nicht imstande festzustellen, ob nicht geringe Blutmengen auf diese Weise in die Galle gelangt sind, da die Galle infolge ihrer haemolytischen Eigenschaften die roten Blutkörperchen rasch auflöst. Dabei ist hervorzuheben, dass die haemolytische Kraft der Galle eine sehr bedeutende ist, wie ich dies durch folgende Versuche, bei welchen ich verhältnismässig grosse Mengen Blutkörperchen in die Galle einführte, feststellen konnte.

I. Versuch. In drei Probierröhrchen, deren eines gar keine Galle, das zweite 0.08 cm^3 , das dritte 0.2 cm^3 Galle enthielt, wurden gleiche Mengen ausgewaschener und in 0.85% -ger Kochsalzlösung suspendierter Blutkörperchen von einem Hunde hineingebracht. Die Emulsion enthielt 5% Blutkörperchen. Das Verhältnis der roten Blutkörperchen zur Galle war im zweiten Probierröhrchen $3:2$, im dritten $1:2$. Die Probierröhrchen wurden bei 37°C ge-

halten und nach zwei Stunden war die Haemolyse im 1-sten Probierringläschen = 0, im 2-ten fast vollkommen, im 3-ten vollkommen.

II. Versuch. Ein analoger Versuch mit Kaninchenblut zeigte beim Verhältnis der Blutkörperchen zur Galle

5 : 0	—	Haemolyse = 0
5 : 1	--	Haemolyse deutlich
5 : 2	}	— Haemolyse vollkommen.
5 : 5		
5 : 10		

Die Haemolyse ist somit schon bei einem Verhältnis der Blutkörperchen zur Galle von 5 : 2 vollkommen.

III. Versuch. Ein analoger Versuch mit Kaninchenblut zeigte beim Verhältnis der Blutkörperchen zur Galle

25 : 0	—	Haemolyse = 0
10 : 3	}	— Haemolyse sehr schwach
5 : 2		
1 : 1	—	Haemolyse unvollkommen
1 : 2	}	— Haemolyse vollkommen.
1 : 3		
1 : 4		
1 : 8		

Die Haemolyse war somit hier wie beim 1. Versuche schon bei einem Verhältnisse der Blutkörperchen zur Galle von 1 : 2 vollkommen.

Bei der Unmöglichkeit, die Beimengung von geringen Blutmengen zur Galle zu kontrollieren, kann der Wert einer Methode, bei welcher die Galle mittels einer in den Ductus choledochus eingeführter Kanüle gewonnen wird, nicht unmittelbar geschätzt werden. Wohl aber ist die Schätzung dieser Methode auf mittelbaren Wege möglich, und zwar wenn wir die Ergebnisse der analogen Untersuchungen über den Durchgang von Mikroorganismen durch die Nieren in Betracht ziehen. Durch Zentrifugieren des Urins, welcher bekanntlich keine haemolytischen Eigenschaften besitzt, können wir uns nämlich immer überzeugen, ob derselbe Blutkörperchen enthält oder nicht. In acht Versuchen über die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die Nieren konnte ich feststellen, dass durch Zentrifugieren des Urins, welcher durch eine in den Ureter einge-

führte Kanüle ausfloss und ganz klar war, in fünf Fällen im Bodensatz rote Blutkörperchen enthalten waren, zuweilen in so grosser Menge, dass man sie mit blossem Auge wahrnehmen konnte. Im Bodensatz der drei übrigen Fälle wurden keine Blutkörperchen gefunden. Gleiche Verhältnisse werden höchst wahrscheinlich auch beim Einführen und Befestigen der Kanüle im Ductus choledochus statthaben. Wiewohl nun die in Rede stehende Methode bei den Versuchen über die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die Nieren mit Rücksicht auf die durchführbare Kontrolle gut anwendbar ist, so sollte sie jedoch bei analogen Untersuchungen an der Leber, wo diese Kontrolle unmöglich ist, keine Verwendung finden, wenigstens dürften uns die bei Anwendung dieser Methode erzielten positiven Resultate der bakteriologischen Untersuchung der Galle zu keinerlei Schlussfolgerungen berechtigen.

Prüft man die bisherigen Untersuchungen über die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die Leber, so gelangt man bald zu der Einsicht, dass keine von diesen Arbeiten den oben aufgestellten Postulaten entspricht.

Die einen Forscher (Trrambusti u. Maffucci¹⁾, Bernabei, Blachstein²⁾, Pernice u. Scagliosi³⁾, Corrado⁴⁾, Sherrington⁵⁾, Métin⁶⁾, Noetzel⁷⁾, äussern sich dahin, dass die Leber im normalen Zustande keine Mikroben aus dem Blute ausscheidet; die anderen (Fütterer⁸⁾, Biedl u. Kraus⁹⁾, Cotton¹⁰⁾, Pawlowsky¹¹⁾) behaupten das Gegenteil. Allen diesbezüglichen Arbeiten der oben genannten Forscher lassen sich gewisse Mängel nachweisen. Diejenigen Autoren, welche auf Grund der negativen Resultate ihrer Untersuchungen zu dem Schlusse gelangt sind, dass die im Blute zirkulierenden Mikroorganismen durch die Leber nicht

¹⁾ Rivista internazionale d. medicina e chir. 1886 Nro 9 u. 10.

²⁾ Bull. of the Johns Hopkins Hospital. Baltimore. Vol. 1891. Nro 14.

³⁾ Deutsch. med. Woch. 1892. Nr. 34.

⁴⁾ Atti d. R. Accademia medica di Roma. Anno XV. 1891. Ser. II. Vol. I.

⁵⁾ The Journal of Pathol. and Bacteriol. Vol. I. 1893. Nr. 3.

⁶⁾ Annal. de l'Inst. Pasteur 1900. Nr. 6.

⁷⁾ Wien. kl. Woch. 1903. Nr. 37.

⁸⁾ Münch. med. Woch. 1888. Nr. 19. Berl. kl. Woch. 1899.

⁹⁾ Centralbt. f. innere Medicin 1896. Nr. 29.

¹⁰⁾ Aus d. Sitzungsberichte d. k. Akademie d. Wissensch. in Wien. 1896. Math.-naturw. Classe. Bd. CV.

¹¹⁾ Zeitschr. f. Hyf. 1900 Bd. 33.

ausgeschieden werden, bedienten sich der erwähnten Methode, nach welcher die zu untersuchende Galle aus der Gallenblase genommen wird, ohne aber vorher untersucht zu haben (ausgenommen Corrado) ob nicht die Galle für die ins Blut der Versuchstiere einverlebten Mikroorganismen baktericide Eigenschaften besitzt. Es bleibt daher unentschieden, ob die negativen Ergebnisse, welche die genannten Autoren erhalten haben, nicht den baktericiden Eigenschaften der Galle zuzuschreiben sind, welche es bewirken konnten, dass die in die Gallenblase gelangten Mikroorganismen hier von der Galle getötet worden sind. Auch an den Arbeiten jener Autoren, welche behaupten, dass die normale Leber Mikroorganismen aus dem Blute ausscheidet, kann sehr viel ausgesetzt werden. Ich übergehe die Arbeiten von Fütterer und Pawlowsky, — denn über die Arbeit des letzteren kann man sich schwer ein Urteil schaffen, da er seine Untersuchungsmethoden nicht genau beschreibt; und in den Arbeiten von Fütterer finden wir recht wenig begründete, denn nur aus sehr wenigen Versuchen abgeleitete Schlüsse — und werde bloss die Arbeiten von Biedl und Kraus und Cotton des Näheren besprechen, da diese Arbeiten sich durch grössere Genauigkeit als die anderen auszeichnen.

Biedl und Kraus traten mit der kategorischen Behauptung auf, dass zu den physiologischen Funktionen der Leber auch die Ausscheidung der im Blute zirkulierenden Mikroorganismen mit der Galle gehört. Ihre Behauptung stützen die beiden Autoren auf eine geringe Zahl, denn nur sieben Versuche. Die genannten Forscher injizierten vier Hunden intravenös je 5 cm³ einer etliche Tage alten Bouillonkultur von *Staphylokokkus pyogenes aureus*, töteten dann die Tiere und nahmen die Galle aus der aseptisch geöffneten Gallenblase zur bakteriologischen Untersuchung. Die Galle zweier Hunde, welche zwei Stunden nach der Injektion getötet wurden, war steril, dagegen konnten in der Galle der anderen zwei Hunde, von denen einer 1 Stunde 40 Minuten, der andere 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion getötet wurde, die ins Blut einverlebten Mikroorganismen nachgewiesen werden. Biedl und Kraus erklärten diese Untersuchungsmethode für unzweckmässig und bedienten sich daher bei drei weiteren Versuchen einer anderen Methode: Sie kurarisierten oder chloroformierten die Tiere, unterbanden ihnen dann den Gallenblasengang (*Ductus cysticus*) und führten in den *Ductus choledochus* eine Kanüle ein; dann

injizierten sie den Tieren je 5—6 cm³ einer Kultur des Staphylokokkus pyogenes aureus, deren Alter nicht angegeben wurde ins Blut. Aus der ausfliessenden Galle wurden sofort Kulturen angelegt und das Ergebnis war in aller drei Fällen ein positives: Die injizierten Kokken wurden mit der Galle ausgeschieden, und zwar in einem Falle 13 Minuten, im anderen 20 Minuten, im dritten 35 Minuten nach der Injektion. Die Leber wurde mikroskopisch nicht untersucht.

Schon abgesehen davon, dass von einer physiologischen Ausscheidung von Mikroorganismen aus dem Blute durch die Leber schwerlich die Rede sein kann, wenn man nicht erst festgestellt hat, dass in diesem Organ keine Veränderungen vorhanden sind, wie man solche nach einer Injektion von so grossen Mengen virulenter Mikroorganismen ins Blut doch erwarten dürfte — schon davon abgesehen, kann uns die von Biedl und Kraus bei den letzteren drei Versuchen angewandte Methode bei Berücksichtigung des über diese Methode oben Gesagten zu keinerlei Schlüssen berechtigen.

In seinen Schlussfolgerungen vorsichtiger ist Cotton, wiewohl auch er geneigt ist, die Theorie der physiologischen Ausscheidung von Mikroorganismen durch die Leber anzunehmen. Auf Grund zahlreicher, im Laboratorium Weichselbaums ausgeführter Untersuchungen, welche in Bezug auf Exaktheit nicht viel zu wünschen übrig lassen, gelangte Cotton zu dem Schlusse, dass wenigstens gewisse Mikrobenarten, wenn sie in grosser Zahl im Blute vorhanden sind, durch die Leber ausgeschieden werden können, ohne in derselben vorher wahrnehmbare anatomische Veränderungen zu veranlassen. Nach Cotton können unter normalen Verhältnissen nur kleine Mengen von Mikroorganismen durch die Leber ausgeschieden werden, während grössere Mengen nur unter pathologischen Verhältnissen in die Galle gelangen.

Cotton injizierte Kaninchen in die Ohrvene eine Emulsion von Bouillon und verschiedenen Mikroorganismen aus einer Agarkultur. Im ganzen wurden von diesem Forscher 65 Versuche durchgeführt, und zwar 14 Versuche mit Anthraxbazillen, 3 mit Heubazillen, 6 mit Pneumokokken, 32 mit Staphylokokken (staph. pyog. aur.), 5 mit den Pneumoniebazillen Friedländers und 5 mit b. prodigiosum. Die dazu verwendeten Kulturen waren meist kaum mehrere Stunden, zuweilen einige Tage alt. Die Mengen der inji-

zierten Emulsion waren verschieden, von Zehnteln cm^3 angefangen sukzessive bis zu 9 cm^3 steigend. Die zu untersuchende Galle nahm Cotton aus der Gallenblase, nachdem die Tiere eine gewisse Zeit nach der Injektion getötet waren, bei einigen Versuchen erst nachdem die Tiere infolge der Infektion zugrunde gegangen waren. Die Gallenblasenwand wurde kauterisiert, der ganze Gallengehalt mittels einer Spritze herausgeholt und auf Agar geimpft. Das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung war folgendes: In 45 Fällen war die Galle steril, nur in 20 Fällen konnten Kulturen der ins Blut injizierten Mikroorganismen erzielt werden, und zwar in 1 Falle das *b. prodigiosum*, in 3 Fällen die Pneumoniebazillen Friedländers, in 1 Falle Pneumokokken und in 15 Fällen Staphylokokken (*staph. pyog. aur.*). In keinem Falle gelang es Cotton Anthrax- oder Heubazillen aus der Galle zu züchten. Diese negativen Resultate schreibt Cotton dem schädlichen Einflusse zu, welchen die Galle — wie er sich auf Grund eigener Untersuchungen überzeugte — auf die Entwicklung der beiden letzteren Bazillenarten ausübt.

Ein Teil der positiven Ergebnisse der Versuche Cottons ist zweifelsohne den pathologischen Bedingungen zuzuschreiben. So züchtete Cotton den Pneumokokkus aus der Galle erst zwei Tage nach der Injektion desselben ins Blut, wobei die mikroskopische Untersuchung in den Gallengängen Desquamation des Epithels zeigte, welches zuweilen das ganze Lumen ausfüllte. In diesem Falle ist somit vielmehr eine pathologische Ausscheidung der Mikroorganismen durch die Leber anzunehmen.

Die Pneumoniebazillen züchtete Cotton einmal $4\frac{1}{2}$ Stunden, ein anderes Mal $6\frac{3}{4}$ Stunden nach geschehener Injektion und in einem Falle aus einem Tiere, welches 20 Stunden nach der Injektion zugrunde gegangen war. Die beiden ersten Tiere waren schon im Augenblicke, als sie getötet wurden, krank, überdies wurden in der Leber eines dieser Tiere kapilläre Blutungen gefunden. So kann auch in diesen drei Fällen von einer physiologischen Ausscheidung der Mikroorganismen mit der Galle kaum die Rede sein.

Von 15 Fällen, in welchen Cotton Kulturen des Staphylokokkus *pyogenes aureus* erhielt, war die Galle in 4 Fällen von Tieren genommen, welche infolge der Infektion zugrunde gegangen waren, in drei Fällen erst lange Zeit (23 Stunden, 28 Stunden u. 6 Tage) nach der Injektion und nur in den 8 übrigen Fällen in kürzerer

Zeit, und zwar 10 Minuten, $\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$, $3\frac{1}{2}$, $5\frac{1}{2}$ Stunden und 2 mal in 6 Stunden nach der Injektion, wobei die Zahl der in der Kultur erhaltenen Mikroorganismen sehr gering war. Von einer physiologischen Ausscheidung der Mikroorganismen durch die Leber könnte somit nur in diesen acht Fällen die Rede sein, in welchen Cotton kurz nach der Injektion ins Blut Staphylokokken in der Galle fand, und in einem Falle, in welchem er eine Kultur des *b. prodigiosum* aus der Galle erhielt, falls die Unvollkommenheit der Technik bei dem Gewinnen der Galle auch den Wert dieser wenigen positiven Ergebnisse nicht in Zweifel ziehen liesse. So kann man auf Grund der obigen Ergebnisse sich schwer der Meinung Cottons anschliessen, dass die Leber im normalen Zustande Mikroorganismen aus den Blute ausscheidet.

Angesichts so verschiedener, oft gerade widerstreitender Untersuchungsresultate hat es den Anschein, dass es überhaupt schwer ist, sich über diese Sache ein entscheidendes Urteil zu schaffen. Dennoch gibt es Forscher, welche sich entschieden für die physiologische Mikroorganismenausscheidung durch die Leber erklären, sodass diese Anschauung als gewissermassen schon feststehend sogar in die neuesten Lehrbücher der Pathologie Eingang zu finden beginnt, obwohl es auch an Gegnern dieser Anschauung nicht fehlt. Dieser Sachverhalt bestimmte mich, die Untersuchungen in der Richtung dieser noch immer offen stehenden Frage wieder aufzunehmen.

Zu diesem Zwecke habe ich 20 Versuche gemacht, davon 16 an Hunden, 2 an Kaninchen und 2 an Meerschweinchen. Die Tiere wurden narkotisiert, dann wurden denselben in die Vena jugularis Mikroorganismenkulturen injiziert, und zwar teils Bouillonkulturen von *b. prodigiosum*, *b. fluorescens non liqu.*, *b. kiliense*, *b. coli commune*, *b. pyocyaneus*, *b. typhi*, und *staphylokokkus pyogenes aureus*, teils Agarkulturen derselben Mikroorganismen suspendiert in physiologischer Kochsalzlösung. Die Kulturen waren meist mehrere Stunden alt, nur ausnahmsweise waren sie älter. Die Menge der Bouillonkultur, welche zu einer Injektion verbraucht wurde betrug in den meisten Fällen ein Kubikcentimeter. Bei den meisten Versuchen wurde den Tieren nach etwa einer Stunde nach der ersten Injektion die gleiche Menge einer anderen Mikroorganismenkultur injiziert. Die Agarkulturen mischte ich, nachdem ich sie von der Unterlage abgeschabt hatte, mit einigen cm^3 physiologischer

Kochsalzlösung und von dieser Emulsion wurde nur ein Teil den Tieren injiziert. Um mich zu überzeugen, ob die ins Blut injizierten Mikroorganismen durch die ganze Zeit der Dauer des Versuches im Blute zirkulieren, entnahm ich von Zeit zu Zeit aus der Arteria carotis ungefähr 1 cm³ Blut und impfte dasselbe sofort auf Bouillon. Eine oder einige Stunden nach der Infektion wurde die Galle dem noch immer in der Narkose liegenden Tiere zu wiederholten Malen entnommen. Zur Entnahme derselben bediente ich mich einer Pasteurschen Pipette, welche ich in die Gallenblasenwand an einer vorher mit einem eisernen Cauterium angesengten Stelle einstach. Die Menge der auf diese Weise jedesmal gewonnenen Galle betrug $\frac{1}{4}$ bis 2 cm³. Bei 6 Versuchen gewann ich die Galle aus dem Ductus choledochus mittels der Ureterkanüle von Prof. Klecki. Bei 4 von diesen nahm ich zugleich auch die Galle aus der Gallenblase. Die herausgehobene Galle impfte ich sofort auf Agar-Bouillon- und Galatinenährböden. Die geimpften Nährböden wurden 10 Tage hindurch beobachtet und bei den meisten Versuchen in Zimmertemperatur gehalten. Sobald ich eine genügende Menge Galle zur Verfügung hatte, liess ich das Tier verbluten, untersuchte dann die Leber makroskopisch und entnahm ihr einige Stückchen für die mikroskopische Untersuchung.

Um im Falle negativer Ergebnisse dem Einwande vorzubeugen, dass diese Ergebnisse den bakterientötenden Eigenschaften der Galle zuzuschreiben seien, untersuchte ich, ob die Galle wirklich solche Eigenschaften gegenüber denjenigen Mikroorganismen besitzt, mit welchen ich die Versuchstiere infizierte. Zu diesen Untersuchungen nahm ich die Galle von denselben Tieren, welche ich zu den Versuchen benutzte, und zugleich Mikroorganismen grösstenteils von denselben Kulturen, welche den Tieren injiziert wurden. Diese Untersuchungen führte ich nach der Methode von Buchner aus. Auf Grund dieser Untersuchungen gelangte ich zur Überzeugung, dass die Galle auf die oben genannten Mikroorganismenarten, welche ich den Versuchstieren injizierte, keineswegs schädlich einwirke, dass die Galle im Gegenteil für manche Mikroorganismenarten, wie b. prodigiosum, b. coli commune und b. pyocyaneus sogar einen ziemlich guten Nährboden darstellt.

Bei Berücksichtigung aller dieser Umstände müsste man nun a priori erwarten, dass die in grosser Menge ins Blut injizierten Mikroorganismen stets in der Galle erscheinen werden, wenn die

Leber im normalen Zustande dieselben wirklich ausscheidet, wie dies manche Forscher behaupten. Widrigenfalls müssten die Ergebnisse entweder durchweg negativ ausfallen oder nur in wenigen Fällen positiv wegen der Unvollkommenheit der Technik bei der Entnahme der Galle, wobei nicht immer eine Beimischung von Blut vermieden werden kann, zumal wenn man sich dabei einer Kanüle bedient, welche in den Ductus choledochus eingeführt wird. Obwohl ich die letztere Methode, nach welcher die Galle mittels einer in den Ductus choledochus eingeführten Kanüle gewonnen wird, als unzweckmässig betrachte, da sie nur im Falle negativer Ergebnisse zu dem Schlusse berechtigt, dass die Leber keine Mikroorganismen aus dem Blute ausscheidet, dagegen im Falle positiver Ergebnisse keine Schlüsse gezogen werden können, so habe ich trotzdem diese Methode bei 6 Versuchen angewendet, um die Ergebnisse dieser Methode mit den Resultaten jener Versuche zu vergleichen, bei welchen ich die Galle nach einer anderen Methode direkt aus der Gallenblase gewonnen habe. Bei der Anwendung jener Methode unterband ich den Gallenblasengang absichtlich nicht, da es mir gar nicht daran gelegen war, nur jene Galle zu erhalten, welche während des Versuches ausgeschieden wurde, sondern lediglich, um den Wert dieser beiden Methoden zu vergleichen.

Um eine Vorstellung von der Art und Weise zu geben, wie meine Versuche durchgeführt wurden, will ich hier die Protokolle von einigen Versuchen anführen.

Versuch II am 4. VI. 1903.

Um 11 Uhr 25 M. wurde einem Hunde in die Vene 1 cm³ Bouillonkult. von *b. coli* com. injiziert
 „ 12 „ 30 „ wurde diesem Hunde in die Vene 1 cm³ Bouillonkult. von *b. kiliense* injiziert
 „ 1 „ 35 „ Galle aus Gallenblase auf Agar geimpft
 „ 1 „ 35 „ „ „ „ „ Bouillon geimpft
 „ „ „ 35 „ „ „ „ „ Gelatine „

Ergebnis negativ.

Versuch IX am 2. VII. 1903.

Um 10 Uhr 12 M. wurde einem Hunde in die Vene 0.17 Agarkultur von *b. pyocyaneus* suspendiert in 5 cm³ physiol. Kochsalzlös. injiziert

chung keineswegs durch die vermutlichen bakterientötenden Eigenschaften der Galle erklärt werden können, so muss man zu dem Schlusse gelangen, dass die Leber im normalen Zustande die im Blute zirkulierenden Mikroorganismen nicht ausscheidet.

Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie
der Jagiellonischen Universität in Krakau.

Source: <https://www.rcin.org.pl>

Nakładem Akademii Umiejętności,
Pod redakcją
Członka delegowanego Wydziału matem.-przyr., Dra Leona Marchlewskiego.

Kraków, 1904. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod zarządem J. Filipowskiego

15 Grudnia 1904



chung, keineswegs durch die verminderten bakterienhaltigen Eigenschaften der Galle erklärt werden können, so muss man zu dem Schluss gelangen, dass die Leber im normalen Zustande die im Blute zirkulierenden Mikroorganismen nicht ausschleibt.

Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Zoologie
der Kaiserlichen Universität in Kazan

Vergleichende

№	№	Charakteristika der Galle
1	20	Flüssigkeit gelblich, der Stachel sehr stark
2	21	"
3	22	"
4	23	"
5	24	"
6	25	"
7	26	"
8	27	"
9	28	"
10	29	"
11	30	"
12	31	"
13	32	"
14	33	"
15	34	"
16	35	"
17	36	"
18	37	"
19	38	"
20	39	"
21	40	"
22	41	"
23	42	"
24	43	"
25	44	"
26	45	"
27	46	"
28	47	"
29	48	"
30	49	"
31	50	"
32	51	"
33	52	"
34	53	"
35	54	"
36	55	"
37	56	"
38	57	"
39	58	"
40	59	"
41	60	"
42	61	"
43	62	"
44	63	"
45	64	"
46	65	"
47	66	"
48	67	"
49	68	"
50	69	"
51	70	"
52	71	"
53	72	"
54	73	"
55	74	"
56	75	"
57	76	"
58	77	"
59	78	"
60	79	"
61	80	"
62	81	"
63	82	"
64	83	"
65	84	"
66	85	"
67	86	"
68	87	"
69	88	"
70	89	"
71	90	"
72	91	"
73	92	"
74	93	"
75	94	"
76	95	"
77	96	"
78	97	"
79	98	"
80	99	"
81	100	"
82	101	"
83	102	"
84	103	"
85	104	"
86	105	"
87	106	"
88	107	"
89	108	"
90	109	"
91	110	"
92	111	"
93	112	"
94	113	"
95	114	"
96	115	"
97	116	"
98	117	"
99	118	"
100	119	"
101	120	"
102	121	"
103	122	"
104	123	"
105	124	"
106	125	"
107	126	"
108	127	"
109	128	"
110	129	"
111	130	"
112	131	"
113	132	"
114	133	"
115	134	"
116	135	"
117	136	"
118	137	"
119	138	"
120	139	"
121	140	"
122	141	"
123	142	"
124	143	"
125	144	"
126	145	"
127	146	"
128	147	"
129	148	"
130	149	"
131	150	"
132	151	"
133	152	"
134	153	"
135	154	"
136	155	"
137	156	"
138	157	"
139	158	"
140	159	"
141	160	"
142	161	"
143	162	"
144	163	"
145	164	"
146	165	"
147	166	"
148	167	"
149	168	"
150	169	"
151	170	"
152	171	"
153	172	"
154	173	"
155	174	"
156	175	"
157	176	"
158	177	"
159	178	"
160	179	"
161	180	"
162	181	"
163	182	"
164	183	"
165	184	"
166	185	"
167	186	"
168	187	"
169	188	"
170	189	"
171	190	"
172	191	"
173	192	"
174	193	"
175	194	"
176	195	"
177	196	"
178	197	"
179	198	"
180	199	"
181	200	"
182	201	"
183	202	"
184	203	"
185	204	"
186	205	"
187	206	"
188	207	"
189	208	"
190	209	"
191	210	"
192	211	"
193	212	"
194	213	"
195	214	"
196	215	"
197	216	"
198	217	"
199	218	"
200	219	"
201	220	"
202	221	"
203	222	"
204	223	"
205	224	"
206	225	"
207	226	"
208	227	"
209	228	"
210	229	"
211	230	"
212	231	"
213	232	"
214	233	"
215	234	"
216	235	"
217	236	"
218	237	"
219	238	"
220	239	"
221	240	"
222	241	"
223	242	"
224	243	"
225	244	"
226	245	"
227	246	"
228	247	"
229	248	"
230	249	"
231	250	"
232	251	"
233	252	"
234	253	"
235	254	"
236	255	"
237	256	"
238	257	"
239	258	"
240	259	"
241	260	"
242	261	"
243	262	"
244	263	"
245	264	"
246	265	"
247	266	"
248	267	"
249	268	"
250	269	"
251	270	"
252	271	"
253	272	"
254	273	"
255	274	"
256	275	"
257	276	"
258	277	"
259	278	"
260	279	"
261	280	"
262	281	"
263	282	"
264	283	"
265	284	"
266	285	"
267	286	"
268	287	"
269	288	"
270	289	"
271	290	"
272	291	"
273	292	"
274	293	"
275	294	"
276	295	"
277	296	"
278	297	"
279	298	"
280	299	"
281	300	"
282	301	"
283	302	"
284	303	"
285	304	"
286	305	"
287	306	"
288	307	"
289	308	"
290	309	"
291	310	"
292	311	"
293	312	"
294	313	"
295	314	"
296	315	"
297	316	"
298	317	"
299	318	"
300	319	"
301	320	"
302	321	"
303	322	"
304	323	"
305	324	"
306	325	"
307	326	"
308	327	"
309	328	"
310	329	"
311	330	"
312	331	"
313	332	"
314	333	"
315	334	"
316	335	"
317	336	"
318	337	"
319	338	"
320	339	"
321	340	"
322	341	"
323	342	"
324	343	"
325	344	"
326	345	"
327	346	"
328	347	"
329	348	"
330	349	"
331	350	"
332	351	"
333	352	"
334	353	"
335	354	"
336	355	"
337	356	"
338	357	"
339	358	"
340	359	"
341	360	"
342	361	"
343	362	"
344	363	"
345	364	"
346	365	"
347	366	"
348	367	"
349	368	"
350	369	"
351	370	"
352	371	"
353	372	"
354	373	"
355	374	"
356	375	"
357	376	"
358	377	"
359	378	"
360	379	"
361	380	"
362	381	"
363	382	"
364	383	"
365	384	"
366	385	"
367	386	"
368	387	"
369	388	"
370	389	"
371	390	"
372	391	"
373	392	"
374	393	"
375	394	"
376	395	"
377	396	"
378	397	"
379	398	"
380	399	"
381	400	"
382	401	"
383	402	"
384	403	"
385	404	"
386	405	"
387	406	"
388	407	"
389	408	"
390	409	"
391	410	"
392	411	"
393	412	"
394	413	"
395	414	"
396	415	"
397	416	"
398	417	"
399	418	"
400	419	"
401	420	"
402	421	"
403	422	"
404	423	"
405	424	"
406	425	"
407	426	"
408	427	"
409	428	"
410	429	"
411	430	"
412	431	"
413	432	"
414	433	"
415	434	"
416	435	"
417	436	"
418	437	"
419	438	"
420	439	"
421	440	"
422	441	"
423	442	"
424	443	"
425	444	"
426	445	"
427	446	"
428	447	"
429	448	"
430	449	"
431	450	"
432	451	"
433	452	"
434	453	"
435	454	"
436	455	"
437	456	"
438	457	"
439	458	"
440	459	"
441	460	"
442	461	"
443	462	"
444	463	"
445	464	"
446	465	"
447	466	"
448	467	"
449	468	"
450	469	"
451	470	"
452	471	"
453	472	"
454	473	"
455	474	"
456	475	"
457	476	"
458	477	"
459	478	"
460	479	"
461	480	"
462	481	"
463	482	"
464	483	"
465	484	"
466	485	"
467	486	"
468	487	"
469	488	"
470	489	"
471	490	"
472	491	"
473	492	"
474		